

Piperacillin Monohydrate Polymorphs의

溶出速度에 관한 研究

金 鍾 甲 · 魚 慶 男

中央大學校 藥學大學

The Study on Dissolution Rate of Polymorphs of Piperacillin Monohydrate

Johng Kap Kim and Kyung Nam Ur

(Received March 25, 1985)

Polymorphs of piperacillin monohydrate were prepared by various sedimentation methods from piperacillin base for the purpose of developing piperacillin preparations for oral use. Solubility and dissolution rate of each form of the polymorphs were compared with each other. It was found that Form N showed the highest solubility and the fastest dissolution rate among four forms of polymorphs.

In general, the solubility and dissolution rate of two amorphous forms, Form N and II were higher than those of two crystal forms, Form I and III.

The apparent dissolution rates in the artificial gastric juice within 60 minutes were $0.65 \times 10^{-6} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ for Form N, $0.36 \times 10^{-6} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ for Form II, $0.30 \times 10^{-6} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ for Form III and $0.18 \times 10^{-6} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ for Form I, respectively.

醫藥品の 吸收는 溶出速度에 依存하는 경우가 많으며 polymorphism를 나타내는 약물에 있어서는 그 polymorphs에 따라서 生體利用率이 달라질 수 있다. 이것은 熱力學的 活性도가 큰 polymorph가 더 溶解도가 크며, 各各의 polymorph에 따른 溶出速度의 差異로 因하여 吸

College of Pharmacy, Chung-Ang University

收速度에 影響을 미치지 때문이다¹⁾. 一般的으로 無晶型이 結晶型보다 溶出速度와 溶解도가 크다²⁾. 生體利用率이 問題가 되는 藥物의 大部分은 藥物의 粉末이나 結晶의 表面積, 溶媒和, polymorphism, 溶解度 및 pH依存性等 藥物의 물리화학적 性質의 差異로 說明되고 있다.³⁾ Polymorph는 그 結晶型에 따라 solubility, melting point, density, hardness, crystal shape, optical and electrical properties, vapor pressure 등이 서로 다르다^{4,5)}. Sekiguchi⁶⁾ 와 Mayersohn⁶⁾은 各各 urea와 sulfathiazole과의 共融混合物 및 polyvinyl pyrrolidone과 sulfathiazole과의 共沈物에 依한 方法 등으로 溶出速度와 生體利用率을 增加시켰다. 지금까지 보고된 많은 연구결과에 依하면⁷⁻¹¹⁾ 많은 藥物이 적어도 2가지 이상의 polymorph를 가지고 있다. 이러한 관점에서 本 研究에서는 最近에 開發된 piperacillin monohydrate가 溶解性이 낮다는 점에 착안하여 이의 4가지 polymorph를 製造하고 各各의 溶出速度 및 溶解度 등을 검토한 결과 多少의 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

實 驗 方 法

材料 및 機器—Piperacillin monohydrate (Sam Sung Pharm.), ethyl acetate (Junsei Chem Co., extra pure), polyethylene glycol 400(Kanto Chem. Co., 1st grade), 기타 acetone, triethylamine, hydrochloric acid는 모두 Junsei Chem Co.의 extra pure를 使用하였으며 dissolution tester (Hanson Research, Model No.72), UV spectrophotometer (Hitachi-Model No.200-20), polarizing microscope (Leitz Co. Model SM-Luxpol), differential thermal analyzer (Mettler Inst., Model No. Mettler TA 3000 system), X-ray diffraction scanner (Rigaku, Model Geigerflex III A), proton-NMR spectrophotometer (Varian-Model E.M 360, 60MHz) 및 기타 관련 기기를 使用하였다.

Polymorph의 製造—Piperacillin hydrate를 다음과 같은 조건으로 조제하였다.

Form I : Piperacillin monohydrate를 미리 加溫한 acetone에 용해시키고 冷却한 증류수를 가하고 dry ice box內에서 急冷시켜 一夜 방치 후 生成된 結晶을 여과하고 세척하여 乾燥시켜서 제조하였다.

Form II : Piperacillin monohydrate를 증류수에 懸탁시키고 triethylamine을 가하여 溶解시킨 후 묽은 염산으로 pH 1.5로 調節하여 生成된 結晶을 여과하고 증류수로 세척하여 乾燥시켜서 제조하였다.

Form III : Form I의 方法에서 triethylamine으로 용해시킨 후 ethyl acetate와 증류수의 혼합액(1:1)을 가하여 生成된 結晶을 여과하여 세척하고 건조하여 제조하였다.

Form IV : Form III의 方法중 ethyl acetate 대신에 polyethylene glycol 400을 使用하여 제조하였다. 以上の 結晶물질은 各 50~100mesh의 것을 試料로 使用하였다.

試料중의 Piperacillin의 定量—Piperacillin monohydrate reference standard 50mg을 取

하여 methanol 2.0ml에 용해시키고 증류수로 희석하여 전량 100ml로 하고 이 액을 물로 적절히 희석하여 5, 10, 15, 20, 25mcg/ml의 농도로 調製하여 波長 225nm에서 UV吸光度를 測定하여 檢량선($y=0.0232x+0.0131$)을 얻었다. 각 試料에 대한 증류수 및 인공위액에 있어서의 분말 및 disk로부터 용출되어 나오는 piperacillin의 量을 檢량선으로부터 구하였다.

溶出試驗—각각의 piperacillin 결정형을 가지고 분말인 경우에는 1g을 정밀히 달아 증류수 및 인공위액(pH 1.2)을 용출용매로 하여 실험하였다. Disk인 경우에는 결정형을 각각 300mg씩 取하여 直徑이 10mm, 두께 2mm, 壓力 600~700kg/cm²의 조건으로 성형하여 solid paraffin으로 一面만 露出시키고 나머지 부분은 皮包處理하여 試料로 使用하여 역시 증류수 및 인공위액(pH 1.2)을 용출용매로 하여 실험하였다. 實驗方法은 USP XX의 paddle법을 사용하였다. 회전속도는 150rpm, 용매온도는 37.0±0.5°C로 유지하였으며 용출용매량은 각각 400ml씩 사용하였다. Piperacillin의 용출량은 5, 10, 20, 30, 45, 60분마다 5ml씩 取하여 0.45μm millipore filter로 여과하고 그 중 2ml를 정확히 取하여 25ml용량플라스크에 넣고 증류수로 표선까지 채워서 檢液으로 하였다. 증류수를 대조액으로 하여 波長 225nm에서 檢液의 吸光度를 測定하여 檢량선으로부터 용출량을 산출하였다. 이 때 取한 5ml는 용출용매로 즉시 補正하였다.

實驗結果 및 考察

TLC—各各의 polymorphs에 대한 TLC를 行한 結果를 Fig. 1에 表示하였다.

이에서 보는 바와 같이 polymorph의 造製과정중 分解産物의 形成은 없는 것으로 생각된다.

Polarizing Microscopy—편광현미경하에서 630×의 배율로 촬영한 결정사진을 Fig. 2에 나타내었다. Form I, III는 완전한 판상 및 막대형 결정을 보여 주고 있으며 Form II 및 IV는 미세한 무정형에 가까운 것으로 확인되었다.

Infrared Spectra—各 polymorph의 IR spectrum을 Fig. 3에 나타내었다. 試料는 KBr과 200:1의 농도로 disk화하였다. Form I~III은 모두 유사하였고 Form IV은 1750cm⁻¹부근에서 하나의 peak로 되었으며 이는 결정형 제조시 용매의 영향으로 사료되며 3200~3500cm⁻¹의 OH伸縮振動은 polymorph자체가 가지고 있는 結晶水에 의한 것으로 思料된다.

Differential Thermal Analysis—DTA의 藥劑學的 應用에는 melting point, purity investigation, hydration, incompatibility predictions, polymorphism, isomer] identification 等¹⁾이 있다. Program rate 20min⁻¹, range F.S. 10mw등의 條件으로 測定한 結果는 Fig. 4와 같다. Form I~IV는 모두 하나의 endothermic peak로서 各各 157.5°, 156°, 149°, 142°에서 分解하였으며 各 polymorph가 갖고 있는 一分子의 結晶水로 인하여 脫水現象을 보여 주고 있다.

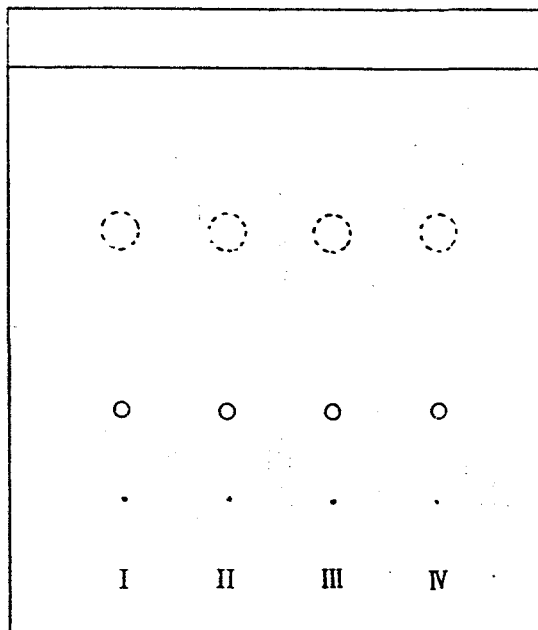


Figure 1—T.L.C. comparison of piperacillin monohydrate polymorphs.

Key: I, Form I; II, Form II; III, Form III; IV, Form IV

Conditions;

plate: thin layer chromatogram plastic sheets silicagel

developing Solvent: butyl acetate: 10 acetic acid: 5 isopropyl alcohol: 2
water: 3

developed distance: about 50mm

developed time: about 30 minutes

reagent: iodine vapor

Rf value for piperacillin monohydrate: about 0.56

Powder X-Ray Diffraction—粉末狀態에서 結晶性物質은 特定한 위치와 강도로서 一定한 X-ray diffraction pattern을 보여 준다. 이에 따라서 各 polymorph의 분말시료를 가지고 1mm-height, 20mm-length의 planchet에 충전시켜 Cu-target, monochro-filter, 30kV, 20mA, 1deg, Rs 0.33 slit, preset time 0.1sec, SC detector의 條件으로 측정된 결과는 Fig. 6과 같다.

溶解性の 檢討—各 polymorph의 용해성을 알아 보기 위하여 물에 4종의 polymorph 일정 과량을 각각 넣고 $20 \pm 0.5^\circ \text{C}$ 에서 30분간 혼든 다음 여과하여 溶解量을 225nm에서 흡광도법으로 측정된 결과는 Table I 과 같다.

이에서 보면 완전한 결정형을 이루었던 Form I 및 III는 거의 무정형이라고 보아지는 Form II 및 Form IV에 비하여 용해성이 현저히 낮았음을 알 수 있다.

粉末試料로부터의 溶出—各各의 粉末試料에 대하여 증류수 및 인공위역에서 용출시험을 시행한 결과는 Fig. 6a 및 Fig. 6b와 같다. Fig. 6a에서 보면 60分 경과후 용출율의 순서는 Form

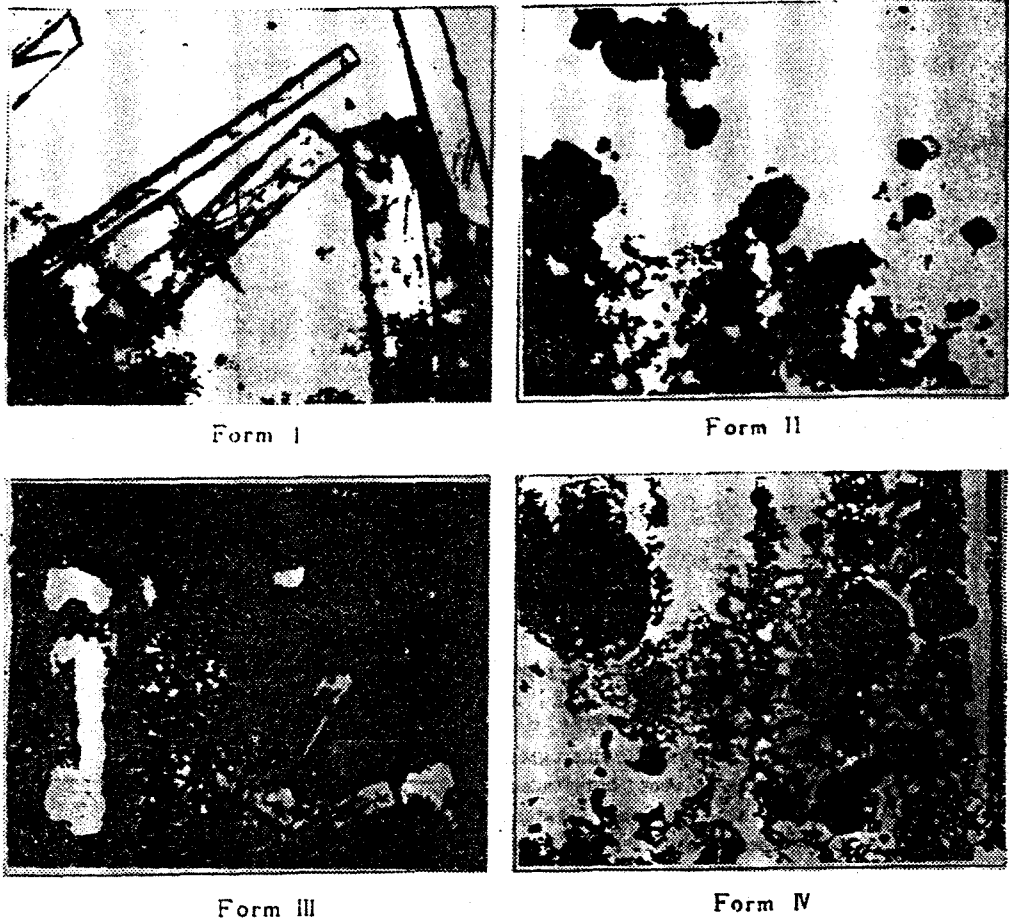


Figure 2—Comparison of the crystal forms of piperacillin monohydrate polymorphs under polarizing microscopic pictures at 10x63.

$N > II > III > I$ 의 순이었고 결정형인 Form I은 Form N의 약 1/3에 불과하였다. Fig. 6b에서 보더라도 역시 용출속도의 순서는 마찬가지이었으며 Form N가 Form I보다 대략 4배의 높은 용출속도를 보여 주고 있다. 전반적으로 증류수에서의 용출속도가 인공위액에서의 그것보다 높은 경향을 보여 주고 있다.

Disk로부터의 용출—粉末狀態의 용출실험에서는 용출에 따라 粒子들의 表面積이 시간의 函數로 변하므로 용출特性도 변화한다. 따라서 表面積이 일정한 崩解하지 않는 disk를 回轉함으로써 piperacillin의 용출特性을 檢討하였다. Transport controlled type인 용해에서는 Noyes-Nernst式이 適用된다.

$$dc/dt = \frac{D}{h} \cdot \frac{S}{V} (C_s - C)$$

dc/dt : 溶出速度, 時間(t)에서 藥物이 溶解되는 量

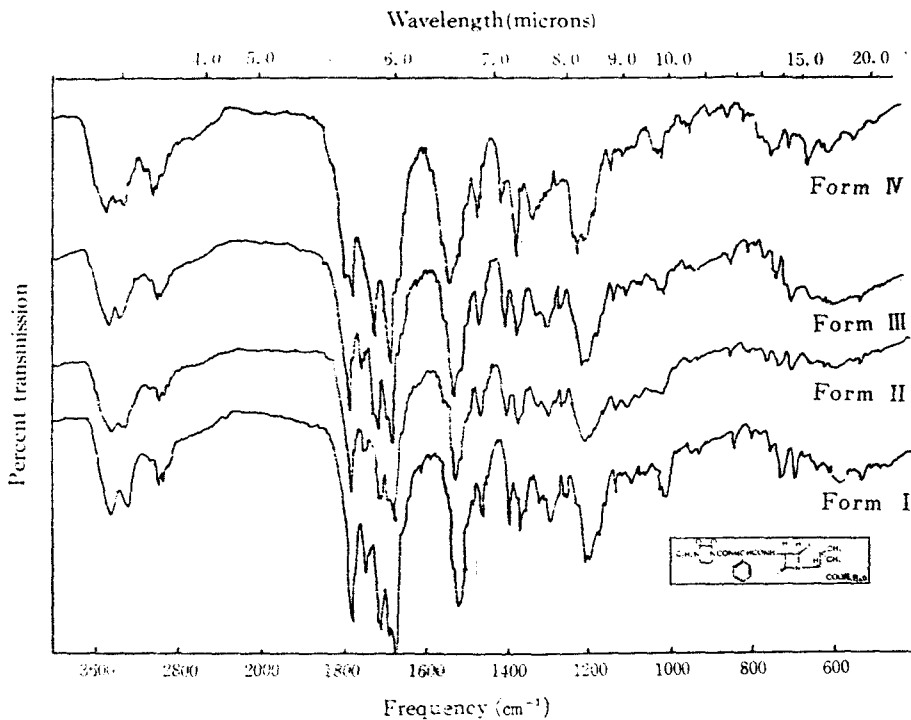


Figure 3—IR spectra of piperacillin monohydrate polymorphs.

C_s: 溶解度

S: 溶出媒質에 直接 노출되는 藥物의 表面積

V: 溶出媒質의 容積

D: 擴散係數

h: 擴散層의 두께

D, *C_s* 및 *h*는 一定하며 *c*는 *C_s*에 比하여 용해초기에는 무시할 수 있으므로 앞의 식은 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$dc/dt = k' \frac{S}{V} C_s, \quad c = k' \frac{S}{V} C_s t$$

一定한 表面積下에서 piperacillin의 溶出量을 증류수 및 人工위액에서의 Fig. 7a 및 Fig. 7b에 나타내었다. Fig. 7a에서 보면 Form IV가 Form I보다 거의 3배가 높아 분말시료로 행했을 때와 같은 결과를 보여 주고 있다. 기울기 (*α*)를 比較하면 Form IV의 *α*는 0.4222, Form

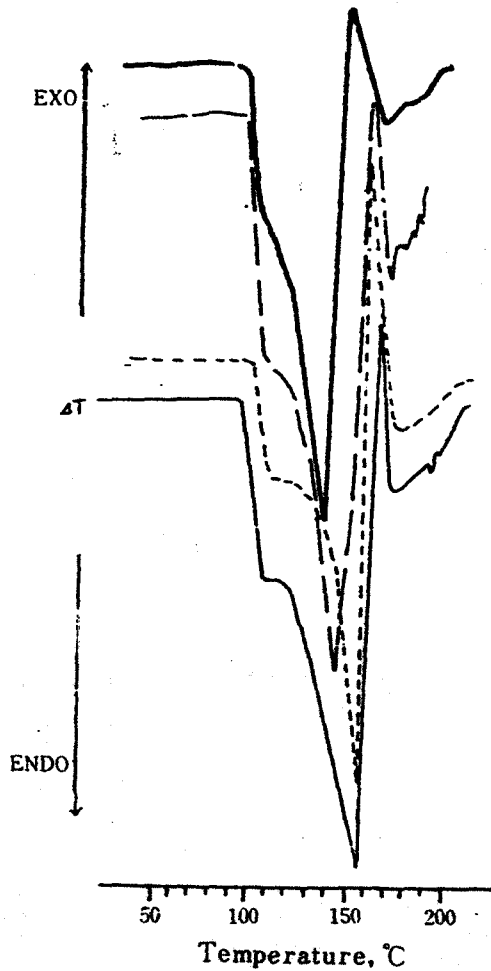


Figure 4—Comparison of differential calorimetric scan of piperacillin monohydrate polymorphs.

Key: —, Form I; ---, Form II; - · -, Form III; - - - , Form IV

I의 α 는 0.1278이었고 60분까지의 單位時間當 單位面積에서의 용출속도는 Form IV이 $1.08 \times 10^{-4} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, Form III가 $0.59 \times 10^{-4} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, Form II는 $0.44 \times 10^{-4} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, Form I은 $0.36 \times 10^{-4} \text{mole} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ 이었다. 한편 Fig. 7b에서 보는 바와 같이 인공위액에서는 증류수에서 실시하였던 것보다는 용출속도가 낮게 나타났으며 60분

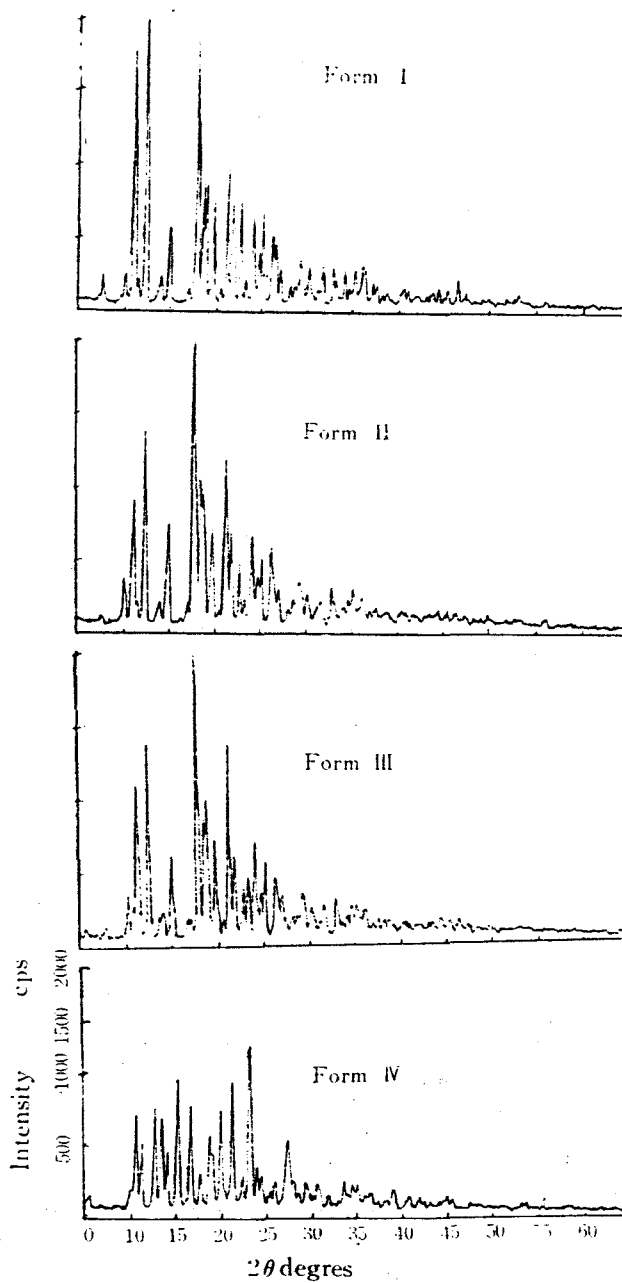


Figure 5—Comparison of X-ray diffraction patterns of piperacillin monohydrate polymorphs.

Table I—The Water Solubility of Piperacillin Monohydrate Polymorphs after 30 min. at $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Polymorphs	Form I	Form II	Form III	Form IV
Water solubility $\text{mcg}\cdot\text{ml}^{-1}$	285.2	427.9	305.6	718.0

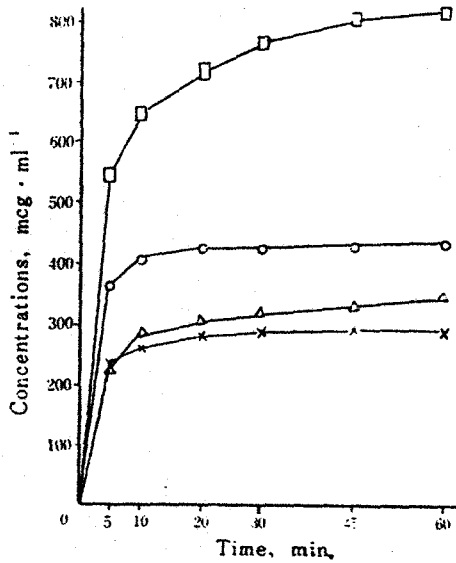


Figure 6a—Dissolution rates of powder state piperacillin monohydrate polymorphs in distilled water at $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key: $\times-\times$, Form I; $\circ-\circ$, Form II;
 $\triangle-\triangle$, Form III; $\square-\square$, Form IV

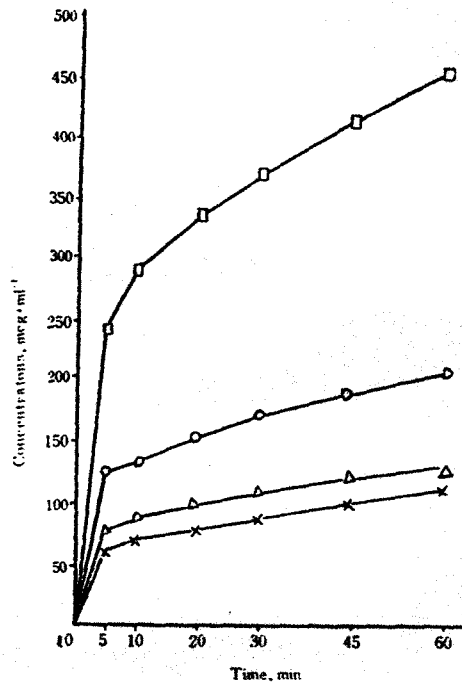


Figure 6b—Dissolution rates of powder state piperacillin monohydrate polymorphs in artificial gastric juice at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key: $\times-\times$, Form I; $\circ-\circ$, Form II;
 $\triangle-\triangle$, Form III; $\square-\square$, Form IV

까지의 용출속도는 Form IV는 $0.65 \times 10^{-6} \text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$, Form II는 $0.36 \times 10^{-6} \text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$, Form III가 $0.30 \times 10^{-6} \text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ 이었으며 Form I은 $0.18 \times 10^{-6} \text{mole}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 가장 작았다.

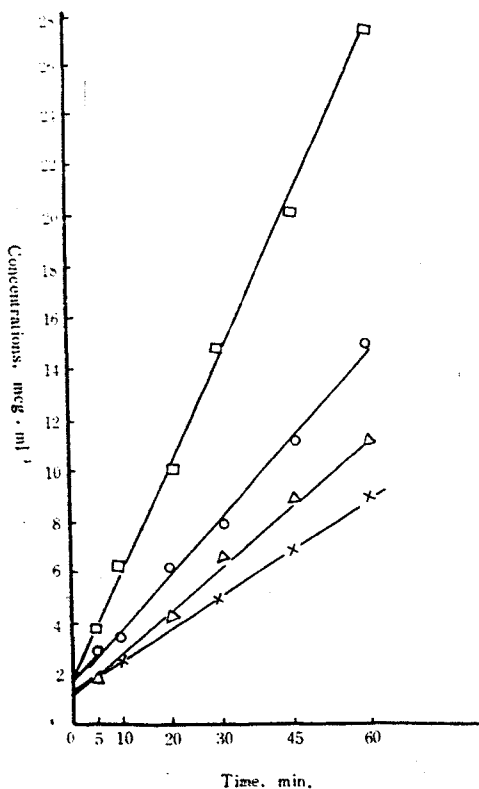


Figure 7a—Dissolution behaviors of disk state piperacillin monohydrate polymorphs in distilled water at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key : x-x, Form I ($y=0.1278x+1.1228$); o-o, Form II ($y=0.2219x+1.4784$); Δ - Δ , Form III ($y=0.1723x+1.0511$); \square - \square , Form IV ($y=0.4222x+1.8220$)

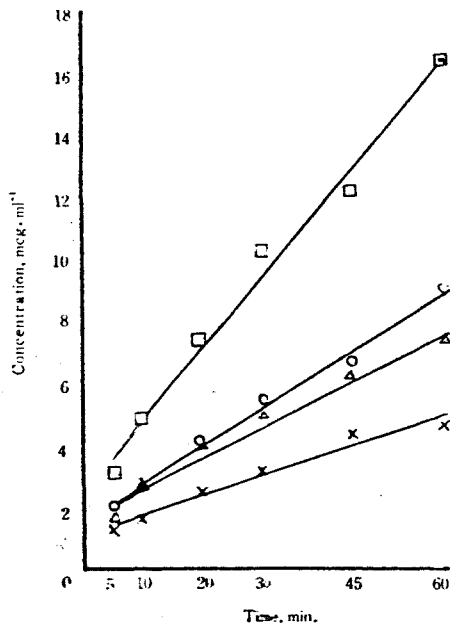


Figure 7b—Dissolution behaviors of disk state piperacillin monohydrate polymorphs in artificial gastric juice at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key : x-x, Form I ($y=0.0644x+1.1096$); o-o, Form II ($y=0.1245x+1.5231$); Δ - Δ , Form III ($y=0.0966x+1.6127$); \square - \square , Form IV ($y=0.2337x+2.5131$)

結 論

1. Piperacillin monohydrate의 polymorph를 Form I, II, III, IV로命名하여 사용하였으며 Form I, III는 완전한 판상 및 막대형 結晶型이었고 Form II 및 IV는 無晶型으로 판단되었다.

2. 蒸溜水 및 人工胃液에서의 溶解性 및 溶出速度는 Form IV > II > III > I의 順이었다. 또한 人工胃液에서 보다는 蒸溜水에서 溶解速度가 더 높았다.

3. 人工胃液에서 60분까지의 용해속도는 다음과 같았다.

Form N : 0.65×10^{-6} mole·min⁻¹·cm⁻²

Form II : 0.36×10^{-6} mole·min⁻¹·cm⁻²

Form III : 0.30×10^{-6} mole·min⁻¹·cm⁻²

Form I : 0.18×10^{-6} mole·min⁻¹·cm⁻²

4. DTA로 測定한 piperacillin monohydrate polymorph의 endothermic peak는 Form I 이 157.5°, Form II가 156°, Form III가 149°, Form N가 142° 附近에서 最大吸熱反應을 나타내었다.

文 獻

- 1) J. T. Carstenson, Theory of Pharmaceutical System, Vol. I, Academic Press, New York, p. 113(1973)
- 2) 鈴木得治, 藥物의 Bioavailability, 藥業時報社(1976)
- 3) J. Halebian, W. McCrone, *J. Pharm. Sci.*, 58, 911(1969)
- 4) D.C. Monkhouse, J.L. Lach, *Can. J. Pharm. Sci.*, 7, 29(1972)
- 5) K. Sekiguchi and N. Obi, *Chem. Pharm. Bull.*, 9, 866(1961)
- 6) M. Mayersohn and M. Gibaldi, *J. Pharm. Sci.*, 55, 1323(1966)
- 7) E.G. Shami, P.D. Bernardo, E.S. Rattie and L.J. Ravin, *ibid.*, 61, 1319(1972)
- 8) D.L. Simmons, R.J. Ranz, N.D. Gyanchandani and P. Picotte, *Can. J. Pharm. Sci.*, 7, 121(1972)
- 9) J.A. Clements, S.D. Popli, *ibid.*, 8, 89(1973).
- 10) D.L. Simmons, R.J. Ranz and N.D. Gyanchandani. *ibid.*, 8, 125(1973)
- 11) F. Jamali, A.G. Mitchell, *Acta. Pharm. Suecica*, 10, 343(1973)
- 12) M.A. Moustafa, S.A. Khalil, A.R. Ebian and M.M. Motawi, *J. Pharm. Sci.*, 63, 1103(1974)
- 13) M.A. Moustafa, A.R. Ebian, S.A. Khalil and M.M. Motawi, *ibid.*, 64, 1485(1975)
- 14) S.R. Gunning, M. Freeman and J.A. Stead, *J. Pharm. Pharmac.*, 28, 758(1976)
- 15) A.T. Florence, E.G. Salole, *ibid.*, 28, 637(1976)
- 16) G. Ghielmetti, T. Bruzzese, C. Bianchi and F. Recusani, *J. Pharm. Pharmac.*, 28, 87(1976)
- 17) G.P. Bettinetti, F. Giordano, A.L. Manna and G. Gluseppetti, *J. Pharm. Pharmac.*, 28, 87(1976)
- 18) R. Kaliszan, E. Hac, *Pharmazie*, 31, 453(1976)
- 19) K. Yamamoto, S. Matsuda, M. Nakano, *Yakugaku Zasshi*, 97, 367(1977)
- 20) H.G. Ibrahim, F. Pisano and A. Bruno, *J. Pharm. Sci.*, 66, 669(1977)
- 21) A.L. Thakkar, C. A. Hirsch, J.G. Page, *J. Pharm. Pharmac.*, 29, 783(1977)
- 22) T. Eckert, J. Müller, *Pharm. Acta, Helv.*, 52, 45(1977)
- 23) A. Hadi, J. Mezosi, G. Kedvessy and J. Morvacy, *Pharmazie*, 32, 791(1977)
- 24) T. Yokoyama, T. Umeda, K. Kuroda, T. Nagafuku, T. Yamamoto and S. Asada, *Ya-*

- kugaku Zasshi*, 99, 837(1979)
- 25) P. Seth, *Pharm. Acta Helve.*, 47, 457(1972)
 - 26) J.K. Halebaun, *J. Pharm. Sci.*, 64, (8), 1269(1975)
 - 27) U. Conte, *et al.*, *Farmaco Ed. Prat.* 30, 164(1975)
 - 28) G. Mascellani, *et al.*, *ibid.*, 30, 555(1975)
 - 29) M.L. Huang, *J. Pharm. Sci.*, 66, 608(1977)
 - 30) K. Yamamoto, *et al.*, *Yakukaku Zasshi*, 97, 367(1977)
 - 31) L. Borka, *et al.*, *Acta Pharm. Suec.*, 12, 479(1975)
 - 32) K.C. Lee, *et al.*, *J. Pharmacol.*, 29, 249(1977)
 - 33) A. Burger, *Sci. Pharm.*, 43, 161(1975)
 - 34) M. Kuhnert-Brandstatter, *et al.*, *ibid.*, 43, 112(1975)
 - 35) R. Kaliszan, *ibid.*, 43, 243(1975)
 - 36) A. Burger, *ibid.*, 43, 152(1975)
 - 37) A. Burger, *ibid.*, 43, 107(1976)
 - 38) F. Giordano, *et al.*, *Boll. Chim. Farm.*, 116, 433(1977)
 - 39) K.C. Lee, *et al.*, *Acta Pharm. Suec.*, 14, 213(1977)
 - 40) H. Bundgaard, *Arch. Pharm. Chemi. Sci. Ed.*, 5, 141(1977)
 - 41) D.E. Drayer, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 22, 251(1977)
 - 42) L. Borka, *Acta Pharm. Suec.*, 14, 210(1977)
 - 43) H. Junginger, *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 117, 456(1977)
 - 44) C. Larsen, *et al.*, *Arch. Pharm. Chemi. Sci. Ed.*, 5, 201(1977)
 - 45) P. Girgis-Takla, *et al.*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 29, 640(1977)
 - 46) Z. Galdeck, *et al.*, *Acta Pol. Pharm.*, 34, 521(1977)
 - 47) L.T. Tenconi, *et al.*, *Farmaco Ed. Prat.*, 32, 284(1977)
 - 48) L. Borka, *et al.*, *Norg. Apotekerforen. Tidsskr.*, 85, 440(1977)
 - 49) M.W. Gouda, *et al.*, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 3, 273(1977)
 - 50) I.A. Hadi, *et al.*, *Pharmazie*, 32, 791(1977)
 - 51) A.T. Florence, *J. Pharm. Pharmacol.*, 28, 637(1976)
 - 52) S.R. Gunning, *et al.*, *ibid.*, 28, 758(1976)
 - 53) K.C. Lee, *et al.*, *Aust. J. Pharm. Sci.*, 6, 1(1977)
 - 54) J.C. Bellows, *et al.*, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 3, 451(1977)
 - 55) Y. Kato, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 3410(1981)
 - 56) H. Takenaka, *et al.*, *J. Pharm. Sci.* 70, (1981)
 - 57) H. Kala, *et al.*, *Pharmazie*, 36, 12(1981)
 - 58) K.M. Hollenbach, *et al.*, *Pharmazie*, 37, H8, 562(1982)
 - 59) K.S. Kim and M.H. Lee, *Yakhak Hoeji*, 26, 231(1982)
 - 60) K.S. Kim and M.H. Lee, *J. Korean Pharm. Sci.*, 12, 55(1982)
 - 61) K. Szulzewsky, *et al.*, *Acta Pharm. Suec.*, 19, 457(1982)