

## 세포탁심나트륨의 결정형의 용출

손영택<sup>\*</sup> · 김희경

덕성여자대학교 약학대학

(1998년 4월 7일 접수)

### Dissolution of Crystal Forms of Cefotaxime Sodium

Young-Taek Sohn<sup>\*</sup> and Hee-Kyung Kim

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul, 132-714, Korea

(Received April 7, 1998)

Three polymorphic modifications and two pseudopolymorphic modifications of cefotaxime sodium were obtained by crystallization from different organic solvents. The isolated crystal forms were characterized by UV spectrophotometry, DSC, TGA and X-ray crystallography. Crystal forms of cefotaxime sodium were also compared by dissolution rate. The dissolution rate of form 1 was the highest, followed by form 2, form 4, form 6, form 5 and form 3. Among these polymorphic modifications the dissolution rate of form 3 and form 5 was much slower than that of cefotaxime sodium on the market. All forms showed no change after 2-month storage test in the silica gel desiccator. But after the storage of 2-month at 95% relative humidity condition, all forms were deliquesced by hygroscopic property except form 1 that showed the highest dissolution rate. At 52% relative humidity condition, form 1, form 2 and form 6 had no evidence of phase transformation, but form 3, form 4 and form 5 were also deliquesced.

**Keywords**—Cefotaxime sodium, Polymorphism, Hydrate, DSC, TGA, X-ray crystallography, Dissolution, Humidity

동일한 화학 구조를 갖는 고체 물질이 한가지 이상의 결정 격자 배열을 가질 수 있는 현상을 polymorphism이라 하며 이러한 화학 물질을 polymorph라 하고 각각의 결정 구조들을 polymorphic modification 또는 polymorphic form이라 칭한다.<sup>1)</sup> 결정화 시기에 용매 분자들이 특정한 위치에 stoichiometric entrapping되어 solvate를 형성하기도 하는데 이를 pseudopolymorphism이라 하고, 특히 용매 분자가 물인 경우 hydrate라 정의하며 이것이 가장 일반적인 solvate이다.<sup>2,3)</sup> 각각의 form들이 용해도와 안정성에 차이가 있다는 점 때문에 polymorphism과 pseudopolymorphism은 매우 중요하며 각 form들의 안정성은 form 자체의 특성이기도 하지만 보관 중에 변화를 받기도 한다.<sup>4)</sup>

Polymorphism을 보이는 각 form들은 화학적으로 동일한 물질이면서 물리적 성상이 다른 특성을 나타낸다.<sup>1)</sup> 용출(dissolution)은 약물의 흡수에 있어서 유효

단계이고, 각각의 polymorphic modification간에는 용출 속도와 용해도에 차이가 있으므로 어느 polymorphic modification이 더 잘, 그리고 신속히 용해되는가 하는 점을 이용하여 bioavailability를 향상시킬 수 있다. 이러한 점에서 polymorphism의 약제학적인 유용성을 찾아 볼 수 있다.

본 실험에서는 third-generation cephalosporin계의 광범위 항생물질인 Cefotaxime sodium(5-Thia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-ene-2-carboxylic acid)을 연구 대상으로하여 주약의 physico-chemical properties를 개선할 수 있는 방법 중 하나인 polymorphism과 pseudopolymorphism을 통해 시판품외에 Cefotaxime sodium의 다형 존재여부와 그것이 용출에 미치는 영향을 연구하였다. 이러한 연구를 통해 polymorphic modification을 제조하고 이를 DSC와 TGA, UV spectrophotometry, X-ray crystallography를 통해 확인하고자 하였다.

또한 제조된 각 polymorphic modification간 cry-

<sup>\*</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

stal habit이나 용매에 대한 용해 양상등 물리적인 특성들에서 가시적인 차이를 보일 것으로 예상하여 가장 대표적인 비교방법인 용해도(solubility)와 용출 속도로써 각 form들을 비교하였다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

시약은 모두 특급을 사용하였고 증류수는 Millipore Milli-Q™ Water System으로 제조하여 사용하였다. 기기로 Differential Scanning Calorimeter는 Mettler사의 DSC 12E를, UV/VIS spectrophotometer는 Hewlett Packard사의 8452A Diode-Array spectrophotometer를, X-ray crystallography는 Rigaku사의 DMAX-III를, Thermo Gravimetric Analyzer(TGA)는 Perkin-Elmer 7 Series를, Dissolution tester는 Erweka DT-D를 사용하였다.

### Polymorphic modification들의 제조

form 1은 시판품 cefotaxime sodium을 0°C내에서 보관하면서 사용하였다. form 2는 cefotaxime sodium 10 g을 ethyl acetate 200 ml에 가하고 3시간동안 stirring한 후 0.5 g coal로 color를 제거하였다. 여기에 50 ml water를 가한 후 sodium bicarbonate로 pH 6.8을 맞춘 뒤 다시 cefotaxime sodium을 가해 pH를 8.95로 한다. 0°C에서 하룻동안 방냉한 후 실온에서 5시간동안 stirring하였다. 이를 phase분리하여 aqueous phase만 취하여 다시 0°C에서 4일동안 방냉한 뒤 rotary vacuum evaporator에서 건조시켜 얻은 결정을 채취하였다. form 3은 form 2의 결정을 채취하여 absolute ethanol 40 ml에 현탁시켰다. 이를 실온에 15분 방치한 후 -20°C에서 4일동안 방냉하였다. 실온에서 1시간 stirring한 후 여과하고 여액을 30°C로 급속히 heating한 후 -70°C에서 24시간 방냉한다. 이를 실온에서 2시간 stirring한 후 ice bath에서 여과하고 감압한 silica gel desiccator에 넣어 40°C의 oven에서 건조하였다. form 4 또한 form 2의 결정을 채취하여 form 3와 같이 조작하는데 여액대신 여과잔사에 다시 absolute ethanol 40 ml를 가해 현탁시켰다. 이를 여과하여 여액을 -20°C에서 24시간 방냉하였다. 이를 실온에서 2시간 stirring한 후 실온에서 건조하였다. form 5는 form 2와 같이 조작하되 rotary vacuum evaporator 대신 감압한 silica gel desiccator

에 넣어 40°C의 oven에서 건조시켜 얻은 결정을 채취하여 form 3와 같은 과정을 통해 제조하였다. form 6는 cefotaxime sodium 3 g을 ethyl acetate 60 ml에 가하고 1시간동안 stirring하였다. 여기에 ethyl acetate 50 ml를 가하고 2시간동안 stirring한 후 다시 ethyl acetate 40ml를 가하여 1시간동안 stirring한 뒤 실온에 24시간 방치한다. ethyl acetate 50 ml를 더 가하고 1시간동안 stirring하였다. 0.5 g coal로 color를 제거하고 water 50 ml를 가한 후 실온에 24시간 방치하였다. 이 용액을 sodium bicarbonate로 pH 6.8을 맞춘 뒤 phase분리하여 aqueous phase만 취하여 감압한 silica gel desiccator에 넣어 40°C의 oven에서 건조하였다.

### Polymorphic modification들의 확인

이상에서 제조한 각 form들을 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 화학적으로 동일한 물질임을 확인하였다. 또한 DSC, TGA, X-ray crystallography를 이용하여 각 form들이 서로 다른 polymorphic modification인지 확인하였다.

#### <DSC 분석조건>

- 냉매 : 물(water)
- sample : Al pan으로 sealing
- standard : Indium
- temperature range : 20-400°C
- dT/dt : 0°C/min
- sampling interval : 1 second

#### <TGA 분석조건>

- temperature range : 40-400°C
- dT/dt : 10°C/min

#### <X-ray crystallography 분석조건>

- angle range : 5°-50°
- 30 kV, 20 mA

### 용출시험

사별법으로 입자의 크기를 250 μm이하로 일정하게 한 후 검체를 취하여 대한약전 제6개정판 용출시험법의 제1법인 검체통법으로 시험하였다. 시험액으로는 3차 증류수 1000 ml를 사용하였고, 20±0.5°C에서 150 rpm의 조건으로 시험하였다. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 120분 간격으로 1 ml의 시료를 취하고 미리 준비한 같은 온도의 새로운 시험액을 동량 가하여 보충하였다. 시험액을 blank로 하고 채취액을 236 nm에서 UV 흡광도를 측정하여 검량곡선으로부터 용출률을 산출하였다.

**보관중의 형전환 시험**

각각의 form들을 silica gel desiccator내에서와 상대습도 52%( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 로 만듦)와 상대습도 95%( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 로 만듦)의 조건에서 2개월간 저장 보관한 후 형전환 여부를 DSC 분석을 통해 검색하였다.

**결과 및 고찰**

**결정형들의 확인**

제조된 각 form들의 분해여부를 알기 위하여 UV scanning을 행한 결과 시판품과 5개의 form 모두 236 nm에서 흡수 peak가 나타나 화학적으로 동일한 물질임을 확인할 수 있었다.

시차열 분석을 행한 결과 시판품인 form 1은 104.6°C에서 매우 broad한 endotherm을 나타냈으며, 200°C 이상에서 또한 broad한 exotherm을 보였다(Figure 1). form 2는 153.9°C에서 비교적 깊고 sharp한 endothermic peak를 나타냈으며(Figure 3), form 3는 60.9°C, 82.2°C, 137.8°C, 325.1°C에서 endothermic peak를, 253.7°C에서는 매우 작고 얇은 exothermic peak를 보였다(Figure 5). form 4는 62.7°C에서 매우 깊고 sharp한 endothermic peak를,

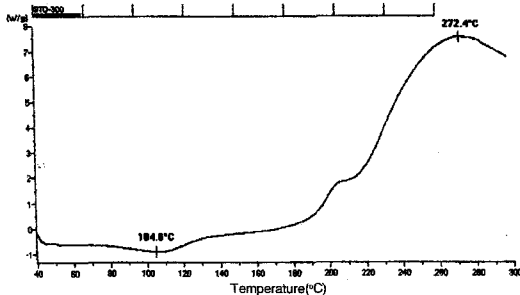


Figure 1—DSC curve of form 1.

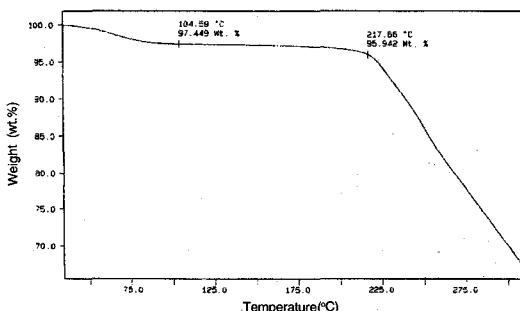


Figure 2—TGA curve of form 1.

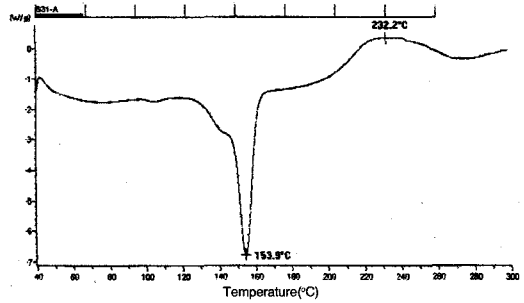


Figure 3—DSC curve of form 2.

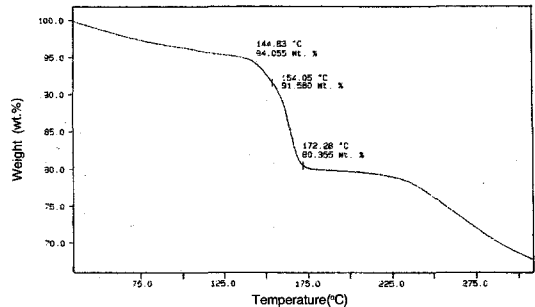


Figure 4—TGA curve of form 2.

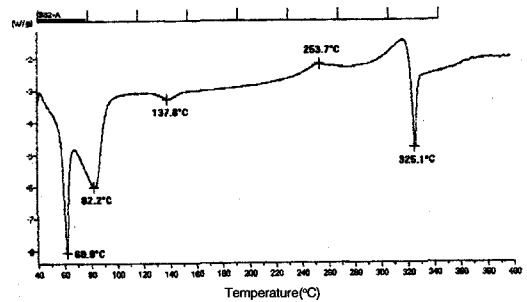


Figure 5—DSC curve of form 3.

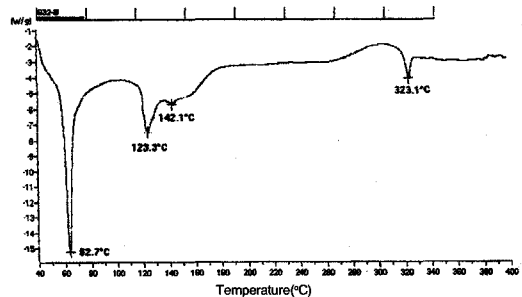


Figure 6—DSC curve of form 4.

123.3°C와 323.1°C에서도 endothermic peak를 보였다(Figure 6). form 5는 61.5°C와 79.6°C에서 각각 크고 작은 endothermic peak를 나타내었고(Figure 7), form 6은 49.8°C, 110.2°C, 154.1°C에서 endother-

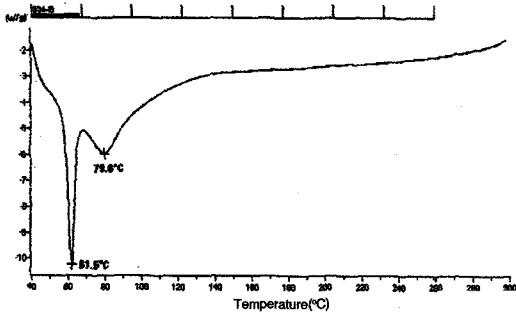


Figure 7—DSC curve of form 5.

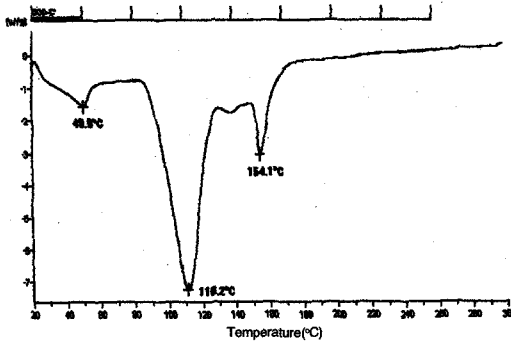


Figure 8—DSC curve of form 6.

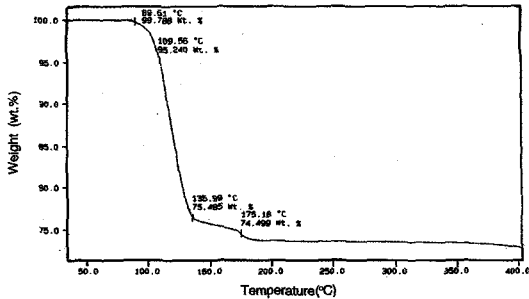


Figure 9—TGA curve of form 6.

mic peak를 각각 하나씩 보였다(Figure 8).

Thermogravimetric analysis를 행한 결과 form 3, form 4, form 5에서는 DSC data상의 endothermic peak에 해당하는 온도에서의 감량을 관찰할 수 없었다. 그러나 시판품을 그대로 사용한 form 1은 DSC상의 endothermic peak인 104.6°C에서의 감량을 TGA를 통해 확인할 수 있었으며, 계산 결과 이는 표면수로 생각된다(Figure 2). 또한 form 2와 form 6는 endothermic peak에 해당하는 부분에서의 감량을 계산해 본 결과 각각 5개와 9개의 H<sub>2</sub>O가 빠짐을 알 수 있었다(Figure 4, 9). 따라서 이들은 모두 pseudopolymorph로서 각각 5수화물과 9수화물임을 알 수 있었다.

X-Ray crystallography로 2θ angle의 5-50°에서 각 form들을 측정한 결과 각각 다른 양상을 나타내며

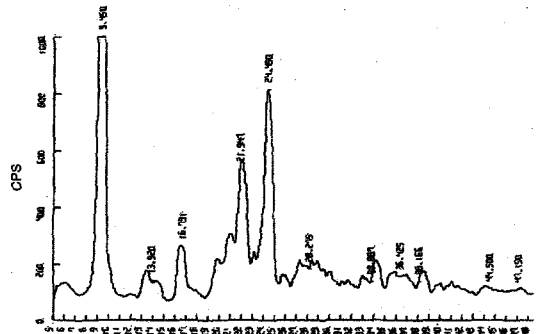


Figure 10—X-ray crystallographic pattern of form 1.

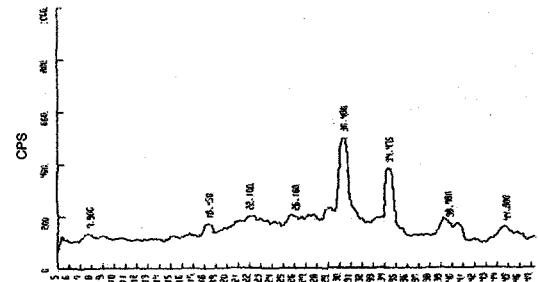


Figure 11—X-ray crystallographic pattern of form 2.

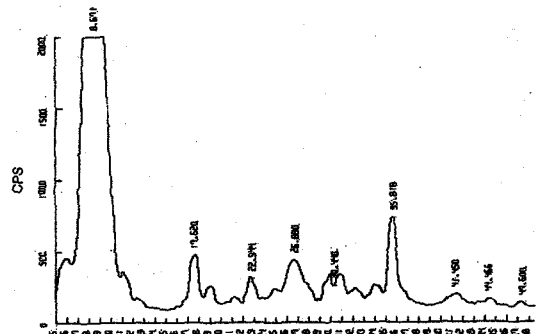


Figure 12—X-ray crystallographic pattern of form 3.

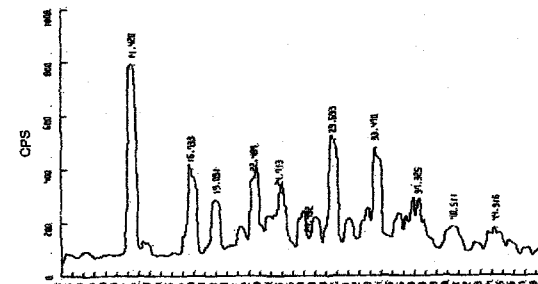


Figure 13—X-ray crystallographic pattern of form 4.

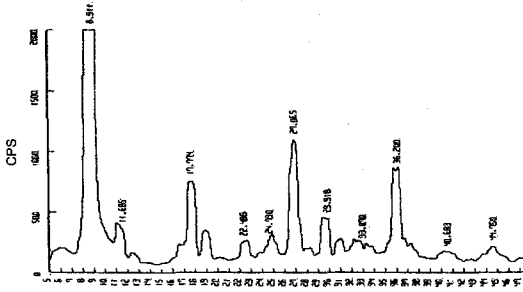


Figure 14—X-ray crystallographic pattern of form 5.

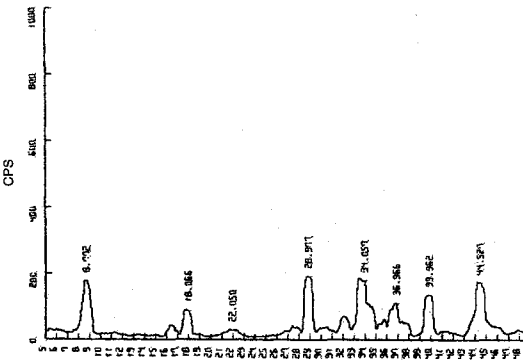


Figure 15—X-ray crystallographic pattern of form 6.

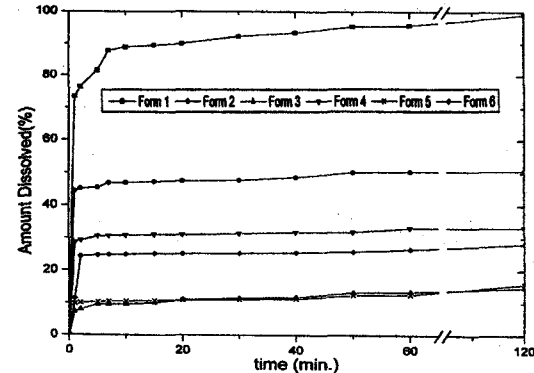


Figure 16—Dissolution behaviors of each polymorphic modification of Cefotaxime sodium in distilled water at  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ .

로 서로 다른 polymorphic modification임을 확인할 수 있었다(Figure 10-14).

### 용출시험

Figure 11에 결정형들의 120분간의 용출양상이 나와있다. form 1의 용출 속도가 가장 빠르고, form 2 > form 4 > form 6 > form 5 > form 3의 순으로 감소하였다. 이 결과는 무수물이 수화물보다 빨리 용출된다는 이론이 항상 성립될 수는 없음을 보여주고 있다.<sup>2)</sup> 또한 이러한 polymorphic modification들은 시판중인 cefotaxime sodium보다 용출 속도가 현저히 느리므로, 이 form들을 사용하여 제제화한다면 서방형 제제를 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

### 보관중의 형전환 시험

각 polymorphic modification들을 실온, silica gel desiccator에서 2개월간 보관 시험한 결과 형전환은 관찰되지 않았다. 그러나 상대습도 95%에서 2개월간 보관하였을 경우 시판품을 제외한 모든 form들이 흡습하여 조해되었으며, 상대습도 52%의 경우 form 1, form 2, form 6의 형전환 여부는 관찰되지 않았지만 form 3, form 4, form 5는 조해되었다. 따라서 습도가 높은 경우 각 form들이 불안정하므로 제제의 보관시주의를 해야할 것으로 사료된다.

### 문헌

- 1) J. Halebian and W. McCrone, Pharmaceutical Applications of Polymorphism, *J. Pharm. Sci.*, **58**(8), 911-929 (1969).
- 2) E. Shefter and T. Higuchi, Dissolution Behavior of Crystalline solvated and nonsolvated forms of some pharmaceuticals, *J. Pharm. Sci.*, **52**(8), 781-791 (1963).
- 3) T. Matsumoto, N. Kaneniwa, S. Higuchi and M. Otsuka, Effect of Temperature and Pressure during Compression on Polymorphic Transformation and Crushing Strength of Chlorpropamide Tablets, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 74-78 (1991).
- 4) Y. T. Sohn, Pharmaceutical Applications of Polymorphism, *Pharmacon*, **21**(4), 500-516 (1991).