

유동성이 우수한 분체특성을 갖는 세파졸린 나트륨 진공동결건조 분말의 제조

조정식 · 정은주*

제일제당 제약사업부

(Received December 24, 1997)

Preparation of Freeze-dried Cefazolin Sodium Bulk Powder with Good Flowability

Jeong Sik Cho and Eun Ju Jeong*

Pharmaceutical Division, Cheiljedang Corp.

Abstract—The effect of reaction condition, solvent addition and thermal treatment on the bulk density, crystallinity and chemical properties of the freeze-dried cefazolin sodium was investigated to prepare the cefazolin sodium powder for injection with good flowability. Crystalline cefazolin sodium powder with high untapped-bulk density (about 45%) and low compressibility (about 40%) was obtained by solvent addition to the very highly concentrated cefazolin sodium solution followed by subsequent thermal treatment before freeze-drying. The desirable solvent was low substituted alcohol such as isopropyl alcohol and anhydrous ethanol with the final concentration of about 9%. The pH adjustment and nitrogen gas purging during the reaction did not give significant effect on the chemical properties such as content, color, transmittance and pH of the reconstituted cefazolin sodium aqueous solution.

Keywords □ Cefazolin sodium, crystallinity, flowability, freeze-dry, solvent addition, thermal treatment, bulk density.

세파졸린은 *Cephalosporium acremonium* 또는 *Cephalosporium salmosynnematum*의 배양에 의해 얻어지는 항생물질의 유도체로 유리산은 물에 대한 용해도가 좋지 않으므로 (1.1 mg/ml) 나트륨염의 형태로 사용하고 있다. 세파졸린 나트륨은 제조 방법에 따라 α , β , γ 및 π 형의 결정다형 및 무정형으로 존재하는데,¹⁾ 의약품 원료로는 주로 주상 결정인 α 형과 판상 결정인 β 형 및 무정형의 동결건조분말이 사용되고 있다. 의약품의 제조에 있어서 결정 석출 조작 및 건조 조작은 단순히 결정을 석출하는데에만 국한되는 것이 아니라, 생성되는 입자의 결정형, 입자경, 형상, 용해도, 생체이용률, 안정성 등 제품의 물리적, 화학적, 생물약제학적 특성에 큰 영향을 미치므로 제품의 품질을 제어하기 위한

제조 과정의 정밀화 및 규격화가 요구되고 있다.^{2,3)}

결정다형과 관련하여 세파졸린 나트륨의 제조방법은 크게 유기용매 처리에 의하여 결정을 석출시킨 후 분리 건조하는 방법⁴⁾과 세파졸린 나트륨 용액을 동결건조하여 제조하는 방법⁵⁾의 두가지로 나눌 수 있다. Bornstein과 Cise는 결정형의 세파졸린 나트륨을 동결건조에 의해 제조하는 방법,⁶⁾ Koyama등은 용매 첨가 및 열 처리에 의한 세파졸린 나트륨의 동결건조법 개선에 대하여 보고⁷⁾하였으나 어느 방법도 세파졸린 나트륨의 분체특성과 관련하여 유동성 및 충전성이 좋은 분말 원료를 제조하는 방법에 대해서는 언급하고 있지 않다. 최근 Mononaga등은 에탄올-이소프로필알콜-아세톤으로 구성된 용매혼액을 세파졸린 나트륨액에 추가하여 주로 β -형 결정으로 구성된 세파졸린 나트륨을 제조하는 방법을 보고⁸⁾하였으나, 이 방법은 다량의 용매를 사용하여야 하며, 유동성의 척도가 되는 비용적(specific

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0336-39-4266 (팩스) 0336-34-9824

volume)도 첨가제를 사용하지 않을 경우는 4.5 ml/g 이고, L-리신, L-히스티딘 등의 첨가제를 사용할 경우 만 2.5~3.74 ml/g 정도로 바람직한 분체 특성을 나타 내지는 못하고 있다.

분말 주사제의 원료에 있어서는 충전의 용이성이 최종제품의 함량균일성 등 품질을 결정하는데 중요한 역할을 한다. 입자의 유동성이 우수하면 분말 충전시 바이알 당 중량편차가 적어 함량이 균일한 제품을 얻을 수 있으며, 또한 작업 속도도 향상되어 작업을 효율적으로 진행할 수 있다. 한편, 세파졸린 나트륨에 있어서는 결정형이 무정형보다 경시 안정성이 우수한 것으로 보고 되어 있다.⁷⁾ 본 연구에서는 유동성이 좋아 충전이 용이한 결정형 세파졸린 나트륨의 진공동결건조 제조방법을 설정하기 위하여 반응액의 농도, 용매 및 열처리 조건이 최종 분말에 미치는 영향을 시험하였다. 유동성은 겔보기 밀도와 압축율의 측정으로 가름하였으며, 각 반응 조건이 미치는 영향은 최종산물 중 세파졸린의 함량, 수용액의 색도, 투과도, pH 변화 등을 측정하여 평가하였다.

실험방법

시약 및 기기 - 세파졸린(제일제당), 무수에탄올, 이소프로필알콜(이상 Merck, 미국) 등을 사용하였으며, 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

사용한 기기 및 장치는 진공동결건조기(RLE-52, Kyowa, 일본), UV흡광측정기(UV-1601PC, UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, 일본), X-선 회절 분석기(X-ray Diffractometer, Enraf-Nonius, 네델란드), 고속액체크로마토그래피(Waters HPLC System 600S Controller, 616 Pump, 717plus Autosampler, 486 Tunable Absorbance Detector, 미국), 광학현미경(BH-2, Olympus, 일본) 등을 사용하였다. 주사전자현미경(Jeol JSM-T200 Scanning Microscope, JEOL, 일본)은 서울대학교 공과대학에 의뢰하여 측정하였다.

세파졸린 나트륨의 제조 - 세파졸린과 탄산수소나트륨의 투입순서, pH 및 반응 온도를 달리하여 다음과 같이 세파졸린 나트륨 수용액을 제조하였다.

세파졸린을 증류수에 현탁시킨 후 탄산수소나트륨을 소량씩 가하여 반응시키거나(A방법), 미리 탄산수소나트륨 수용액을 제조한 후 세파졸린을 소량씩 가하여 반응(B방법), 또는 세파졸린과 탄산수소나트륨을 동시에

증류수에 소량씩 가하면서 반응시켰다(C방법).

진공동결건조 - 세파졸린 나트륨 최종반응액을 0.2 μm 필터로 여과한 후 $-70\sim 23^\circ\text{C}$ 의 각 온도에서 하룻밤 방치 후 진공동결건조기에 넣고, -40°C 에서 2시간 냉동시킨 후 2 mbar 이하에서 20시간 1차 건조, $20\sim 40^\circ\text{C}$ 에서 1~8 시간 2차 건조하였다. 용매첨가에 의한 영향을 시험할 때에는 0.2 μm 필터로 여과한 세파졸린 나트륨 수용액에 최종농도 3.23~11.76%가 되도록 무수 에탄올 또는 이소프로필알콜을 가한 후 진공동결건조를 행하였다.

겔보기 밀도(untapped-bulk density) 및 압축율(compressibility)의 측정 - 약 5 g의 시료를 깔대기를 통하여 10 ml의 눈금실린더에 붓고 부피를 측정하여 다음 식에 따라 계산하였다.

Untapped-bulk density (%) = $100 \times \text{weight (g)} / \text{volume (ml)}$

Compressibility (%) = $100 \times [\text{specific volume (ml/g)} - \text{tapped specific volume (ml/g)}] / \text{specific volume (ml/g)}$

색도 및 투과도의 측정 - 세파졸린 나트륨 10 w/v% 용액의 400 nm에서의 투과도($T_{\%400\text{nm}}$)를 용해 직후 및 1시간 경과 후 측정하고, 450 nm에서의 흡광도($\text{Abs}_{450\text{nm}}$)를 측정하여 세파졸린 나트륨의 분해여부를 판단하였다.

세파졸린나트륨의 함량 - USP23 수재 세파졸린 나트륨 주사제의 정량법에 따라 pH 3.6 구연산 완충액: 아세트니트릴 (9:1) 용액을 이동상으로 하고 LiChrosorb C₁₈ 칼럼을 사용하여 254 nm에서 고속액체크로마토그래피로 분석하였다.

X-선 회절분석 - 20 mA 30 kV의 CuK α 광원을 사용하여 $2^\circ/\text{min}$ 의 속도로 $\omega/2\theta$ scan을 행하여 각 시료의 결정의 동일성을 확인하였다. 시료의 crystallinity를 판단하기 위하여 base-line correction은 행하지 아니하였다.

결과 및 고찰

세파졸린 나트륨의 반응방법 개선 - 기지의 방법인 A방법에 따라 세파졸린의 수현탁액에 탄산수소나트륨을 가하여 반응시킬 경우에는 탄산수소나트륨의 투입속도에 따라 pH 변화가 매우 심하므로 반응 시간이 장시간 소요된다. 또한 20% 이상의 고농도로 용액을 제조할

Table I — Chemical properties of freeze-dried cefazolin sodium.

Method	Assay (%)	Transmittance ($T_{\%400\text{nm}}$)		Color ($\text{Abs}_{450\text{nm}}$)
		zero time	1 hr after	
A	93.96±0.69	85.79±3.86	87.56±3.09	0.031±0.017
B	94.87±0.57	81.34±5.65	81.96±4.69	0.036±0.016
C	98.77±4.63	89.98±1.30	88.73±0.77	0.015±0.003

경우에는 출발물질인 세파졸린 현탁액의 농도가 진하므로 격렬히 교반하지 않으면 반응액이 호화상태와 같이 되어 반응이 더 이상 진행하지 않았다. 탄산수소나트륨 수용액에 세파졸린을 소량씩 투입하는 B방법의 경우에는 반응 시간이 단축되는 장점이 있으나, 반응액의 pH가 8.0까지 이르는 단점이 있었다. 그러나 C방법의 경우에는 반응 시간도 단축되고 pH도 원료의 투입속도와 무관하게 5.4~5.6의 일정한 범위로 유지되었다.

각 반응 방법으로 제조후 진공동결건조하여 얻은 분말에 대하여 함량, 색도 및 투과도를 측정된 결과 C방법으로 제조한 분말이 가장 우수하였고 B방법으로 제조한 분말이 가장 좋지 않았다(Table I). 이는 B방법의 경우 pH가 8.0에 까지 이르러 세파졸린의 분해를 일으켰기 때문으로 생각된다. 따라서 반응소요시간, 반응액의 pH, 반응후 생성물의 함량 변화, 수용액의 색도 및 투과도 면에서 C방법이 가장 우수한 것으로 평가되었다.

세파졸린 나트륨의 농도에 따른 동결건조 분말의 겉

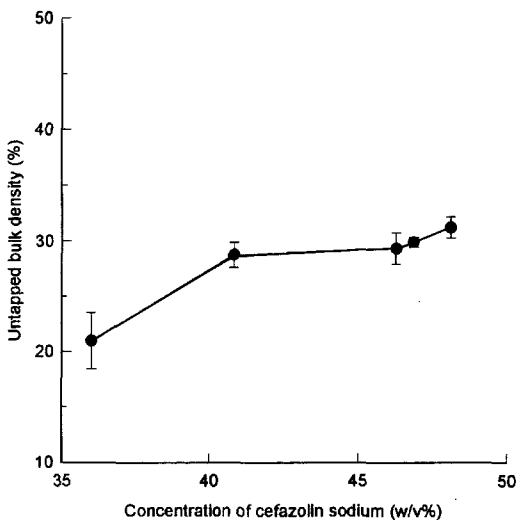


Fig. 1 — Effect of the concentration of cefazolin sodium on the untapped-bulk density of the freeze-dried cefazolin sodium powder.

보기 밀도 변화 - 세파졸린 나트륨의 농도를 증가시키면서 제조하여 진공동결건조하여 분말을 제조한 후 겉보기 밀도를 측정하였다. 이때 시료는 -70°C에서 급속동결한 후 2 mbar이하에서 진공동결건조하였다.

Fig. 1에서 알 수 있는 바와 같이 세파졸린 나트륨의 농도가 증가할수록 진공동결건조 분말의 겉보기 밀도가 증가하여, 포화농도에 가까운 48 w/v%로 제조하였을 때의 겉보기 밀도는 31%에 달하였다.

진공동결건조 시료의 열처리 - 진공동결건조 이전 단계에서 시료의 결정화 온도를 조절하여 최종 분말의 겉보기 밀도를 개선하고자 48 w/v% 세파졸린 나트륨 용액을 -70~23°C의 온도로 각 각 하루밤 처리하고 전술한 방법으로 진공동결건조를 행하였다. 그 결과 Fig. 2에서 알 수 있는 바와 같이 -23°C에서 전처리하였을 때 가장 낮은 겉보기 밀도를 나타내고 -70°C 및 23°C 처리하였을 때 높은 겉보기 밀도를 나타내었다.

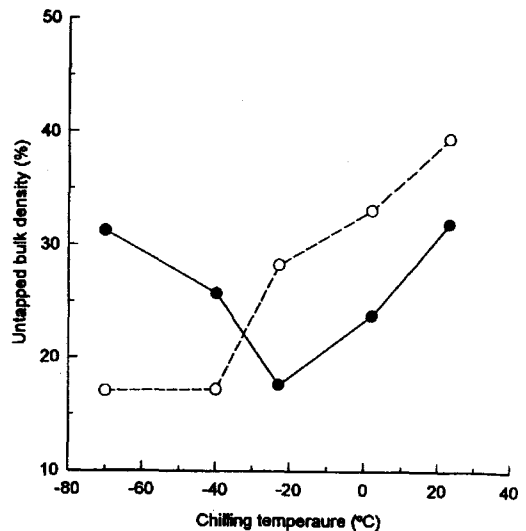


Fig. 2 — Effect of the thermal treatment on the untapped-bulk density of the freeze dried cefazolin sodium powder.
Key: ●: without solvent addition, ○: with solvent addition.

용매 첨가에 의한 겉보기 밀도의 개선 - 공용혼합물 형성에 의하여 얼음 입자의 승화를 촉진하여 결정의 석출을 증진하고자 이소프로필알콜을 48 w/v% 세파졸린 나트륨 용액에 대하여 6.25 v/v% 혼합 후 같은 조건으로 전처리하여 진공동결건조를 행하였다. 이소프로필알콜로 전처리하였을 경우에는 처리 온도가 상승할수록 겉보기 밀도가 증가하여 23°C에서 전처리 하였을 때의 겉보기 밀도가 40%에 달하였다(Fig. 2). 따라서 최적 용매 농도를 구하고자 이소프로필알콜 및 무수에탄올을 48 w/v% 세파졸린 나트륨 용액에 대하여 3.23~11.76 v/v% 가하고 23°C에서 전처리 하여 전술한 방법으로 동결건조를 행하였다. Fig. 3에서 나타난 바와 같이 이소프로필알콜 및 무수에탄올을 9.09 v/v% 처리하였을 때 가장 높은 겉보기 밀도를 나타내었다.

진공동결건조 세파졸린 나트륨의 결정 특성 - 용매를 첨가하여 진공동결건조한 세파졸린 나트륨의 결정 특성을 알아보기로 분말 X-선 회절분석(powder X-ray diffractography) 및 주사전자현미경(scanning electromicrography) 관찰을 행하였다. 분말 X-선 회절분석 결과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 용매처리 진공동결건조 분말의 경우 용매처리하지 않은 진공동결건조 분말에 비하여 결정성이 증가하였는데, 이는 주사전자현미경 관찰 결과(Fig. 5)와도 일치하였다. 즉, 용매

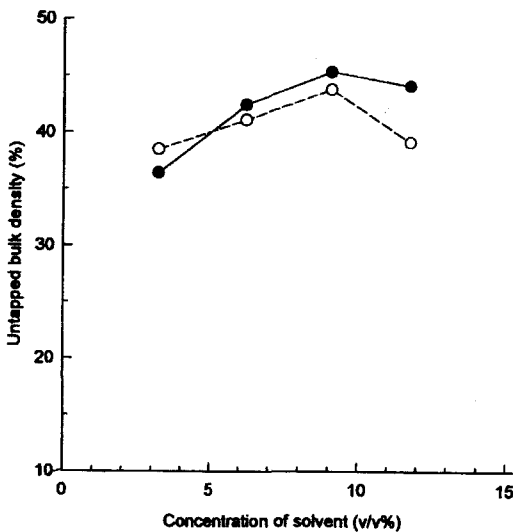


Fig. 3 — Effect of the concentration of solvent on the untapped-bulk density of the freeze-dried cefazolin sodium powder.
Key: ●: isopropyl alcohol addition, ○: anhydrous ethanol addition.

처리하지 않은 진공동결건조 분말의 경우에는 부정형과 매우 큰 응집체들이 주로 관찰되었으나, 용매처리 진공동결건조 분말의 경우에는 주상 결정이 대부분이 이루어 약간의 판상 결정이 관찰되어 주로 α형으로 존재하였다. 본 논문의 방법으로 제조한 이소프로필알콜 처리 세파졸린 나트륨 분말은 specific volume 1.88 ml/g, tapped-specific volume 1.13 ml/g, 압축율 40.00% 로서 용매처리하지 않고 통상의 방법으로 제조한 분말(specific volume 4.77 ml/g, tapped-specific volume 2.42 ml/g, 압축율 49.26%)과 비교할 때 매우 우수한 유동성을 나타내었다. 또한 동결건조 후 잔류 이소프로필알콜의 농도는 3 ppm 이하로서 주사제 원료로 사용하기에 적당하였다.

pH 조절제 사용 및 질소 충전이 진공동결건조 전후의 pH 변화에 미치는 영향 - 세파졸린 나트륨의 진공동결

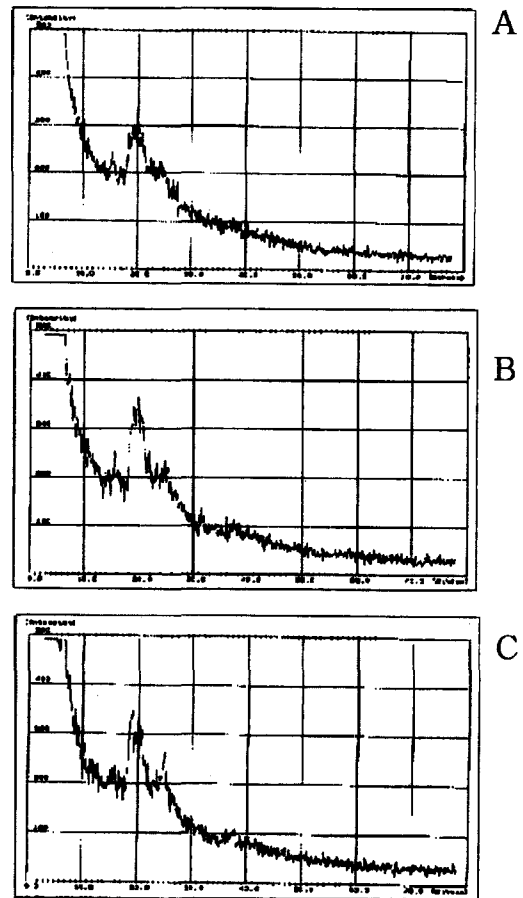


Fig. 4 — X-ray powder diffractograph of the freeze-dried cefazolin sodium powder.

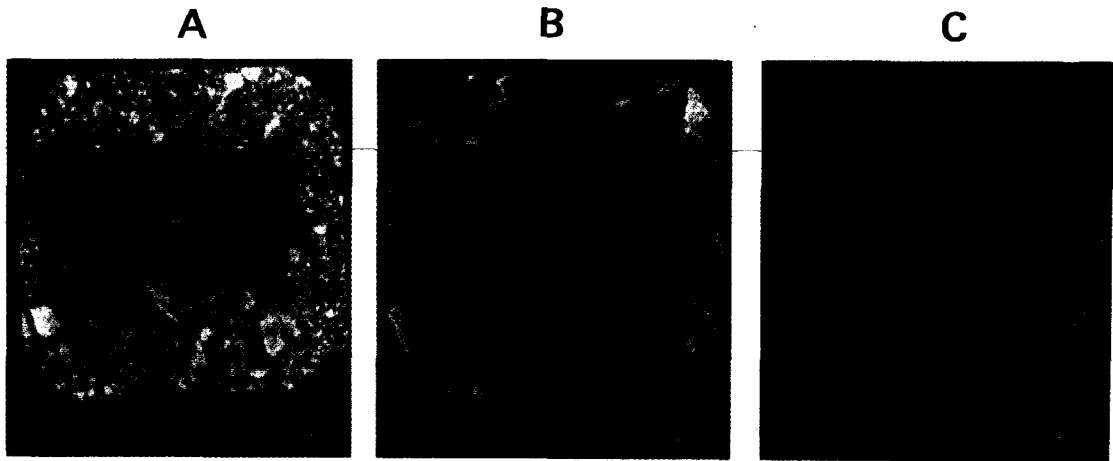


Fig. 5— Scanning electron micrograph of the freeze-dried cefazolin sodium powder.

Key: A: without solvent addition, B: isopropyl alcohol addition, C: anhydrous ethanol addition.

Table II— pH of the cefazolin sodium solution before and after freeze-drying (FD)

Treatment		pH		
pH adjustment	nitrogen purge	before FD	after FD	difference
-	-	5.20±0.05	4.80±0.08	0.41±0.04
-	+	5.53±0.04	4.81±0.17	0.52±0.13
+	-	5.99±0.22	5.29±0.18	0.70±0.12
+	+	5.97±0.26	5.25±0.30	0.73±0.39

건조 제품은 동결건조 전후에 pH 변화가 일어나며, 이것이 제품의 품질에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 따라서 pH 조절제(1N-수산화나트륨액)의 사용 및 질소충전이 진공동결건조 전후의 pH 변화에 미치는 영향을 시험하였다. 진공동결건조 전의 pH는 최종 반응액의 pH를, 진공동결건조 후의 pH는 10 w/v% 수용액의 pH를 측정하였다. Table II에서 알 수 있는 바와 같이 pH 조절제를 사용하지 않았을 경우에는 진공동결건조 후의 pH가 평균 0.41±0.04, pH 조절제를 사용하였을 경우에는 평균 0.70±0.12 저하하여 pH 조절을 행한 경우 오히려 그 변화 폭이 증가했다. 또한 질소 충전에 의한 효과는 pH 조절제를 사용하지 않았을 때와 사용하였을 때 모두 큰 차이가 없었다.

결 론

본 연구에 따라 고농도의 세파졸린 나트륨용액을 제조하고 이소프로필알콜, 에탄올 등의 저급알코올을 첨가 후 열처리하여 진공동결건조하면 결정성이 높은 분말을 얻게 되어, 결과적으로 유동성 및 충전성이 우수한

분말을 얻을 수 있었다.

문 헌

- 1) Kariyone, K., Harada, H., Kurita, M. and Takano, T. : Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic I: synthesis and chemical properties of cefazolin. *J. Antibiot.* **23**, 131 (1970).
- 2) Lund, W. : The pharmaceutical codex: principles and practice of pharmaceuticals. 12th ed., The pharmaceutical press, London, p. 178 (1994).
- 3) Sohn, Y. T. and Park, S. H. : Effects of crystal modification of cephalothin sodium on dissolution and stability. *Yakhak Hoeji* **41**, 321 (1997).
- 4) Cise, M. D. and Osborne, H. E. : Crystallization process for cefazolin sodium. *US Patent* 4, 104, 470 (1978).
- 5) Bornstein, M. and Carone, S. M. : Method of preparing sterile essentially amorphous cefazolin for reconstitution for parenteral administration. *US Patent* 4,002,748 (1977).

- 6) Bornstein, M. and Cise, M. D. : Method of preparing rapidly dissolving powder of sterile crystalline cefazolin for reconstitution for parenteral administration. *US Patent* 4, 002, 748 (1977).
- 7) Koyama, Y., Kamat, M., De Angelis, R. J., Srinivasan, R. and DeLuca, P. P. : Effect of solvent addition and thermal treatment on freeze drying of cefazolin sodium. *J. Parenteral Sci. Tech.* **42**, 47 (1988).
- 8) Mononaga, M., Onishi, K and Yazawa, H. : Additive effect and scale-up in selective crystallization of sodium cefazolin polymorphs. *化學工學論文集* **18**, 553 (1992).