

글리벤클라미드 결정다형의 용출

손영택 · 엄보영

덕성여자대학교 약학대학

(1997년 6월 9일 접수)

Dissolution of Glibenclamide Polymorphs

Young-Taek Sohn and Bo-Young Um

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

(Received June 9, 1997)

Glibenclamide is a second generation sulfonylurea that is orally active as a hypoglycemic drug. It exists as a crystalline powder which is sparingly soluble in water. It was investigated that the potential of glibenclamide to exhibit polymorphism. Three polymorphic modifications (form 1, form 2 and form 3) and three pseudopolymorphic modifications (form 4, form 5 and form 6) were obtained by crystallization from different organic solvents. The isolated crystal forms were characterized by differential scanning calorimetry(DSC), thermogravimetric analysis(TGA) and X-ray crystallography powder diffraction studies. Form 1 was the most stable and melt at 175.4°C. Form 2 was metastable and melt at 151.0°C. Form 3 was a new polymorphic modification because it was different from form 1 and form 2 in X-ray crystallography powder diffraction data. Form 4 was a 1:7(toluene:glibenclamide) toluene solvate; form 5 was a 1:5(toluene:glibenclamide) toluene solvate; form 6 was a 3:8(pentanol:glibenclamide) pentanol solvate. All forms were stable in 3-month storage under 0% or 100% humidity condition. The dissolution rate of form 4 was highest; those of form 2, form 3, form 1, form 5 and form 6 followed.

Keywords—Glibenclamide, DSC, TGA, Dissolution, Polymorphism

Polymorphism은 화학적으로 동일한 물질이 하나 이상의 결정구조를 갖기 때문에 여러 가지 물리적 성상의 차이를 나타내는 현상을 말한다. 이러한 다른 결정구조를 갖는 여러 개의 결정형의 각각을 modification, 형 또는 form이라 칭한다.¹⁾ 또한, 용액이 고체화하면서 용매분자들이 특정위치에 stoichiometric entrapping될 때 그것을 solvate라하고, 이렇게 형성된 결정들 사이에 여러 가지 물리적인 차이가 나타나는 현상을 pseudopolymorphism이라 한다. 특히 용매분자가 물인 경우가 가장 흔하게 나타나며 이를 hydrate라 한다.²⁾ 많은 고형의약품들은 결정화시키는 조건을 다양하게 조절함으로써 그에 따른 다양한 polymorphic modification들이 제조될 수 있다고 보고되고 있는데 여기서 조건이라는 것은 nature of solvent, temperature, rate of cooling, heating, boil-

ing등 결정을 제조·석출시킬 때의 condition을 말한다. 그리고 여기서 나타날 수 있는 물성의 차이는 true density, crystal shape, solubility and dissolution rate, compaction behavior, flow properties, optical and electrical properties, solid state stability등이 대표적이다.¹⁾

Pseudopolymorphic modification들의 용출시험에 관한 연구결과들에서 일반적으로 같은 물질의 서로 다른 pseudopolymorphs간에는 solvate>anhydrate>hydrate의 순서로 용출속도가 감소된다고 보고되어 있기는 하지만 hydrate가 anhydrate보다 더 큰 용출속도를 가진다는 연구결과들 또한 계속 등장하고 있다.³⁾ Allen 등⁴⁾은 erythromycin을 인산염 완충액에서 용출시험을 하여 용출속도가 dihydrate>monohydrate>anhydrate의 순서라는 것을 알았으며, amoxicillin에서도 용출속도의 순서가 trihydrate>monohydrate>anhydrate>dihydrate로 나타남이

¹⁾본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

보고된 바 있다. Ballard와 Biles⁵⁾이 발표한 prednisolone tert-butyl acetate와 hydrocortisone tert-butyl acetate의 흡수속도 결과를 비교해 보면 후자의 경우 monoethanol solvate 2형의 평균 흡수속도가 무수물보다 빨랐다. 또한 같은 monoethanol solvate 사이에서 1, 2형의 흡수속도가 4배차로 다를 수 있다는 점에 유의할 필요가 있다. 즉 한 가지의 pseudopolymorphic modification 내에서도 polymorphism이 존재할 수도 있다는 것이다. 그러므로 용출속도 및 용해도의 순서를 단순화시켜 예측하고 결정하기는 어려우며 실험을 통해서만 확인할 수 있으리라 생각된다. 이에 저자 등은 첨가제를 가하지 않고 처음부터 주약의 physico-chemical properties를 개선할 수 있는 방법 중 하나인 polymorphism과 pseudopolymorphism을 이용^{1,2,6,7)}하여 제2세대 sulfonyleurea로서 경구용 당뇨병 치료제로 널리 쓰이고 있는 5-chloro-N-(2-[4-(((cyclohexylamino)carbonyl) amino)sulfonylphenyl]ethyl)-2-methoxybenzamide(이하 glibenclamide)의 다형의 존재여부와 그것이 용출에 미치는 영향을 연구하고, 이를 통해 용출을 제어할 수 있는 제제의 개발, 안정성의 확보, 첨가제로 인한 side effect의 감소를 가져올 수 있는 polymorphic modification의 존재 확인을 목적으로 연구를 시작하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 연구에 사용한 glibenclamide는 (주)한독약품에서 기증 받아 사용하였으며, 기타 시약으로 1,4-dioxane과 1-pentanol, toluene은 Junsei Chemical Co.에서 특급시약을 구입하여 사용하였고 water는 3차 증류수를 사용하였다.

기기로는 Differential scanning calorimetry (DSC)는 Mettler사의 DSC 12E를 사용하였고, X-ray crystallography powder diffractometer는 Rigaku DMAX-III를, thermogravimetric analysis는 Dupont 2100을, UV/VIS spectrophotometer는 Hewlett Packard 8452A Diode-Array spectrophotometer를, 용출시험기는 Erweka DT-T를, 3차 증류수 제조에는 Millipore Milli-QTM Water System을 사용하였다.

Polymorphic modification들의 제조

Form 1은 glibenclamide 시판품 400 mg을 1,4-dioxane 40 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 -20°C에서 1일간 방냉하고 실온에서 해동시켜 여과하였다. 얻어진 여과잔사를 silica gel desiccator에서 건조하였다. Form 2는 glibenclamide 시판품 400 mg을 1-pentanol 40 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 -20°C에서 1일간 방냉하고 실온에서 해동시켜 여과하였다. 여액을 실온에서 증발시켜 얻은 결정을 silica gel desiccator에서 건조하였다. Form 3은 glibenclamide 시판품 400 mg을 toluene 60 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 실온에서 방냉하였다. 결정이 생성된 후 상등액을 따로 취하여 실온에서 증발시켜 얻은 결정을 silica gel desiccator에서 건조하였다. Form 4는 glibenclamide 시판품 400 mg을 toluene 40 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 여과하고 여액을 실온에서 증발시켰다. 얻어진 결정을 silica gel desiccator에서 건조하였다. Form 5는 glibenclamide 시판품 400 mg을 toluene 60 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 실온에서 방냉하였다. 얻어진 결정을 silica gel desiccator에서 건조하였다. Form 6은 glibenclamide 시판품 400 mg을 1-pentanol 40 ml에 끓을 때까지 가열하여 용해시킨 후 이를 실온에서 방냉하고 증발시켜 얻은 결정을 silica gel desiccator에서 건조하였다.

Polymorphic modification들의 확인

위에서 제조한 각 form들을 3차증류수에 녹여 UV/VIS spectrophotometer로 측정하여 화학적으로 동일한 물질인지를 확인하였다. 또한, DSC, TGA, X-ray crystallography를 이용하여 각 form들이 서로 다른 polymorphic modification들인지 확인하였다. DSC 분석조건은 다음과 같다.

- sample : Al crucible로 sealing
- 냉 매 : 물(water)
- reference : 공기가 채워진 Al crucible
- temperature range : 40~250°C
- heating rate : 10°C/min
- sampling interval : 1 sec.

TGA 분석조건은 다음과 같다.

- temperature range : 40~250°C
- heating rate : 10°C/min

X-ray crystallography 분석조건은 다음과 같다.

- filter : Ni

- 30 kV, 20 mA
- angle range : 5~50°
- angle zoom : 3
- smoothing : 5
- peak width : 5
- peak steep : 5

용출시험

사별법으로 입자의 크기를 일정하게 한 후 검체 5 mg을 취하여 대한약전 제6개정판 용출시험법의 제1법인 검체통법으로 시험하였다. 시험액으로는 3차 증류수 1000 ml를 사용하였고, 37±0.5°C에서 300 rpm의 조건으로 시험하였다. 5, 10, 20, 30, 45, 60, 80, 100, 120분 간격으로 1 ml의 시료를 취하고 미리 가온한 새로운 시험액을 동량 가하여 보충하였다. 시험액을 blank로 하고 채취액을 226 nm에서 UV absorbance를 측정하여 미리 작성한 검량선으로부터 용출량을 산출하였다.

저장중의 polymorphic transformation 시험

각각의 form들을 silica gel상의 건조desiccator내에서와, 100% humidity의 조건에서 3개월간 저장보관한 후 형전환 여부를 DSC 분석을 통해 검색하였다.

결과 및 고찰

Glibenclamide를 여러 유기용매로부터 재결정시키는 방법을 통해 3개의 polymorphic modification들(form 1, form 2, form 3)과 3개의 pseudopolymorphic modification들(form 4, form 5, form 6)을

얻을 수 있었다. 이 form들은 각각 DSC, TGA 그리고 X-ray crystallography에 의해 확인되었다.

1,4-dioxane으로부터 재결정하여 얻은 form 1은 DSC 분석 결과(Figure 1) m.p.가 175.4°C로서 가장 높으므로 안정형이며 Figure 2의 TGA 분석 data상에서 아무런 변화를 관찰할 수 없으므로 solvate는 아님을 알 수 있었다. Form 2는 1-pentanol로부터 재결정하는 방법에 의해 얻어진 polymorphic modification로서 Figure 3에서 보듯이 m.p.가 151°C로 관찰되며 TGA분석 결과(Figure 4) solvate는 아니었다. Toluene으로부터 재결정한 것으로는 form 3, form 4, form 5가 있는데, form 3은 Figure 5의 DSC 분석 결과 153.5°C에서 첫 번째 endothermic peak를 나타내

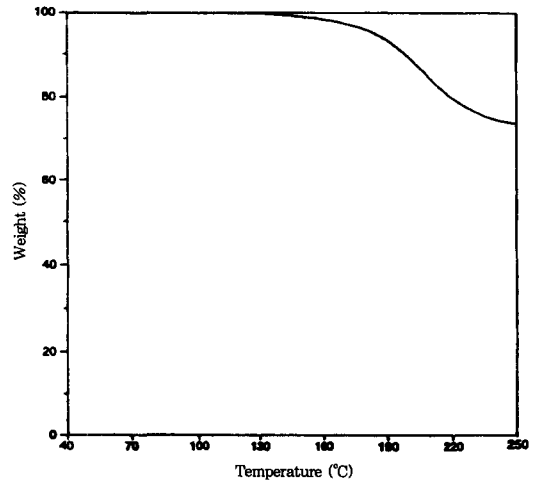


Figure 2—TGA curve of form 1.

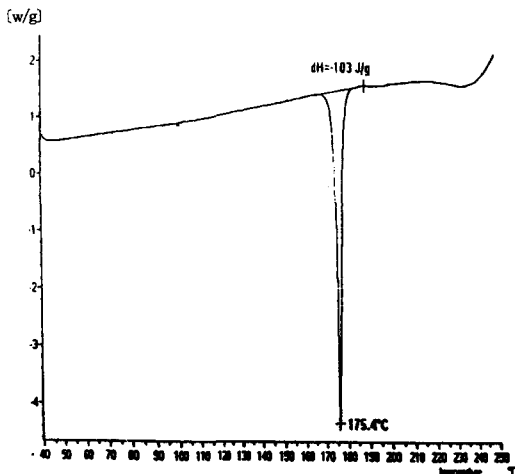


Figure 1—DSC curve of form 1.

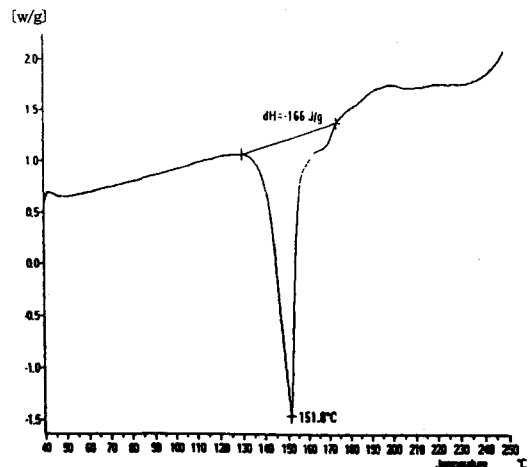


Figure 3—DSC curve of form 2.

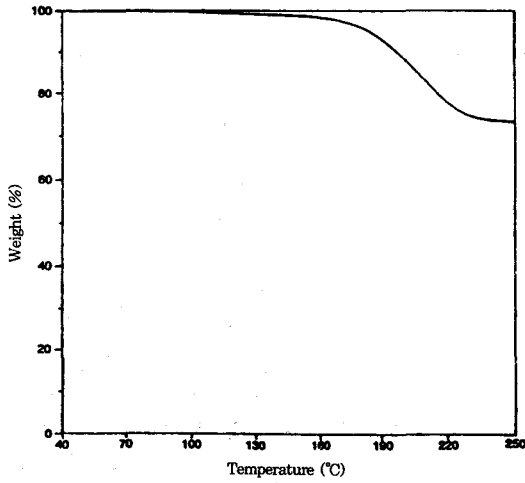


Figure 4—TGA curve of form 2.

고 174°C에서 두 번째 endothermic peak를 보인다. 이는 form 1과 form 2의 mixture가 아닌가 생각되었으나 X-ray crystallography 측정 결과(Table 3), form 3의 pattern은 form 1이나 form 2의 pattern(Table 1과 2)과는 확연히 구별되므로 form 3은 form 1이나 form 2와는 다른 새로운 polymorphic modification이라는 결론을 내릴 수 있었다. Form 3의 TGA 분석 결과(Figure 6) 질량의 변화는 관찰되지 않았으므로 이 form 또한 solvate는 아니라는 증거가 된다.

Form 4의 DSC 분석결과(Figure 7)를 보면 102.8°C에서 작은 endothermic peak가, 174.0°C에서 sharp한 두 번째 endothermic peak가 나타나는 것을 볼 수 있는데, TGA 분석 결과(Figure 8)를 살펴보면 첫 번째 endothermic peak와 같은 온도인 102.8°C에

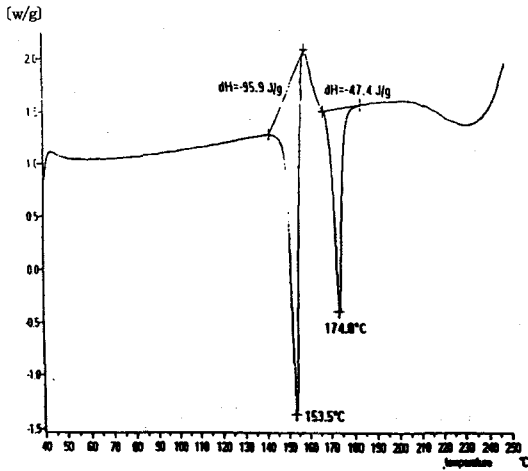


Figure 5—DSC curve of form 3.

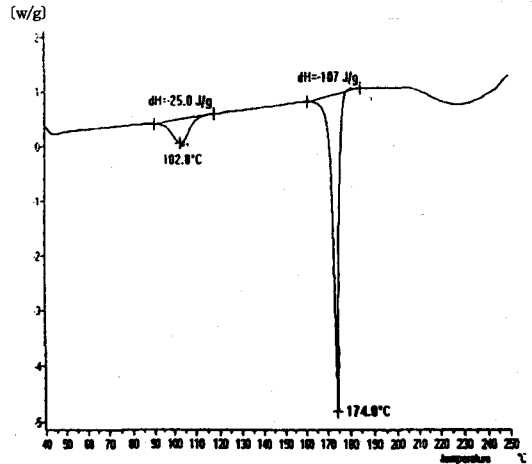


Figure 7—DSC curve of form 4.

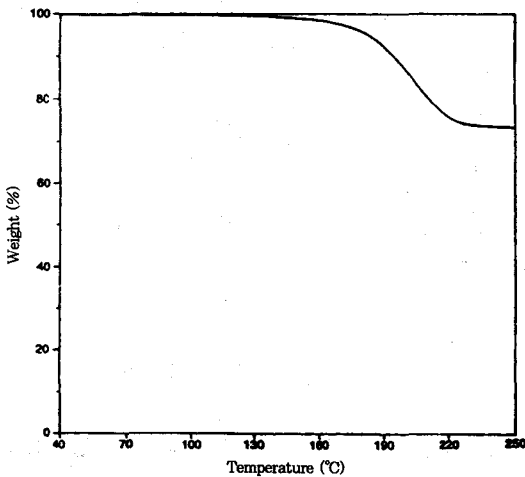


Figure 6—TGA curve of form 3.

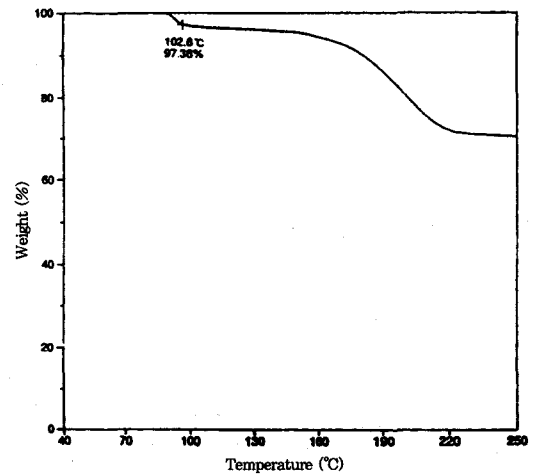


Figure 8—TGA curve of form 4.

서 2.62%의 질량이 감소되고 있음을 볼 수 있다. 이는 결정 내부의 solvent가 제거된 것으로서, 계산 결과 toluene : glibenclamide = 1 : 7인 toluene solvate로 판단된다. 이 form 4는 102.8°C에서 solvent인 toluene이 제거된 후 174°C에서 용융되는 것으로 보아 form 1로 형전환된다고 판단된다. Form 5는 Figure 9의 DSC 분석 결과에서 보듯이 109.8°C에서 첫 번째 endothermic peak를, 152.7°C에서 두 번째 endothermic peak를, 175.2°C에서 세 번째 endothermic peak를 보이는데 TGA 분석 결과(Figure 10)에서도 109.8°C에서 3.43%의 질량감소를 보여 toluene : glibenclamide = 1 : 5인 toluene solvate임을 알 수 있었다. Form 5 또한 form 4의 경우와 마찬가지로

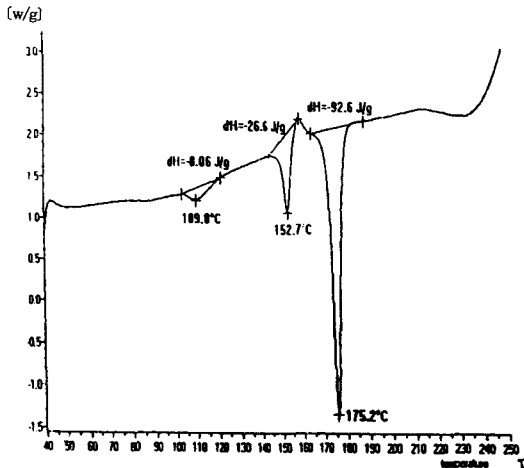


Figure 9—DSC curve of form 5.

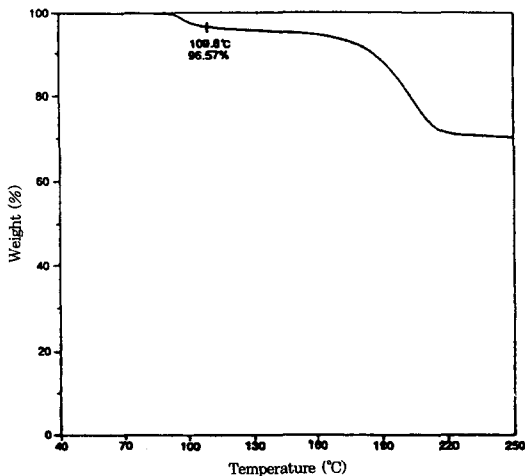


Figure 10—TGA curve of form 5.

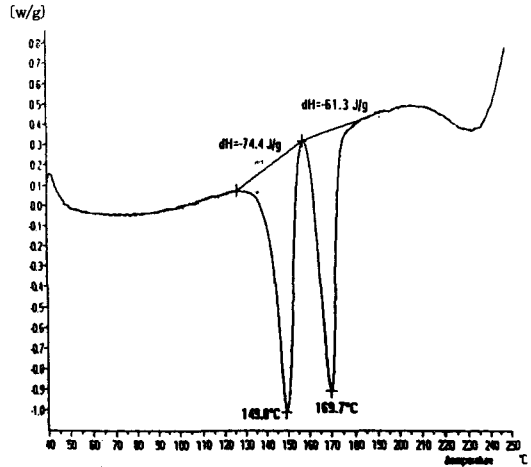


Figure 11—DSC curve of form 6.

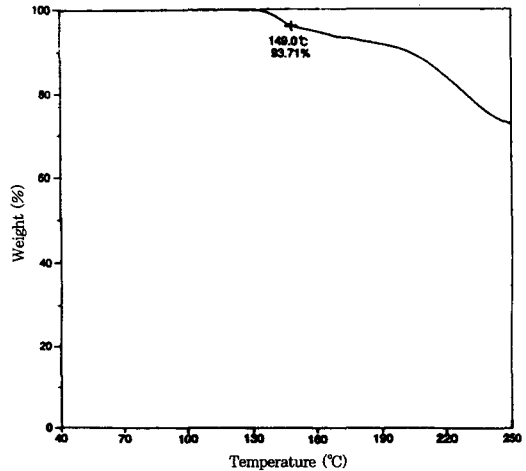


Figure 12—TGA curve of form 6.

로 solvent가 제거되면 form 3으로 형전환된다고 판단된다. Form 6은 1-pentanol로부터 재결정된 form으로서 Figure 11의 DSC 분석 결과에서 보듯이 149°C에서 첫 번째 endothermic peak를, 169.7°C에서 두 번째 endothermic peak를 보였다. TGA 분석 결과(Figure 12) 149.0°C에서 6.29%의 감량이 관찰되므로 이는 pentanol : glibenclamide = 3 : 8인 solvate로 판단된다. 이상의 6가지 form들의 X-ray crystallography 측정결과를 Table 1-6에 나타내었다.

한편, 각 form들 모두에서 보관조건에 따른 형전환은 관찰되지 않았다. Figure 13의 용출시험 결과 용출 속도는 form 4)form 2)form 3)form 1)form 5)form 6의 순이었다. 위에서 본 바와 같이 form 1, form 2, form 3은 anhydrate이고 form 4, form 5는

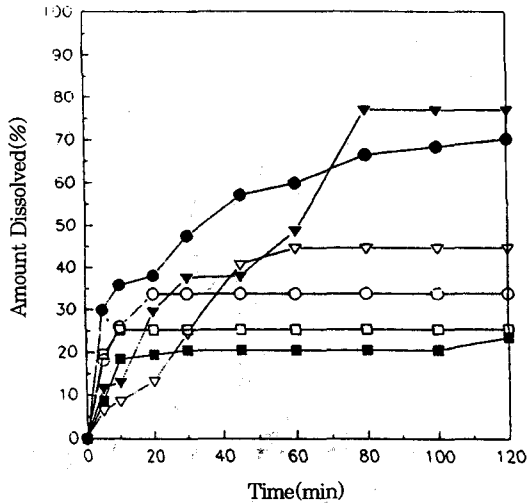


Figure 13—Dissolution patterns of each polymorphic modification of glibenclamide in distilled water at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Key: ●: form 1, ●: form 2, ▽: form 3, ▼: form 4, □: form 5, ■: form 6

Table I—X-ray Crystallography Data of form 1

Angle 2θ	Intensity	D-value
11.648	869	7.590
16.105	586	5.498
18.868	1312	4.699
21.183	1128	4.190
23.120	906	3.844
25.233	273	3.526
27.807	484	3.206
29.858	259	2.990
32.213	352	2.776
37.433	226	2.400
41.860	171	2.156
44.966	146	2.014
47.600	133	1.908

Table II—X-ray Crystallography Data of form 2

Angle 2θ	Intensity	D-value
9.733	288	9.079
11.738	601	7.532
13.790	350	6.415
16.100	428	5.501
19.206	696	4.618
21.588	984	4.112
24.000	433	3.705
27.357	354	3.257
30.350	292	2.943
32.642	246	2.741
37.583	205	2.391
43.200	187	2.092

toluene solvate, form 6은 pentanol solvate인데, 이 용출시험의 결과는 그 동안의 이론, 즉 solvate)

Table III—X-ray Crystallography Data of form 3

Angle 2θ	Intensity	D-value
9.497	773	9.299
11.283	261	7.831
14.960	314	5.915
18.039	489	4.913
22.266	2350	3.989
27.038	467	3.294
29.036	586	3.073
31.243	359	2.861
34.566	283	2.592
39.880	199	2.258
44.633	187	2.028
47.533	138	1.911

Table IV—X-ray Crystallography Data of form 4

Angle 2θ	Intensity	D-value
9.497	773	9.299
11.283	261	7.831
14.960	314	5.915
18.039	489	4.913
22.266	2350	3.989
27.038	467	3.294
29.036	586	3.073
31.243	359	2.861
34.566	583	2.595
39.880	199	2.258
44.633	187	2.028
47.533	138	1.911

Table V—X-ray Crystallography Data of form 5

Angle 2θ	Intensity	D-value
8.900	274	9.929
11.166	535	7.914
15.090	383	5.865
19.103	934	4.643
22.443	951	3.957
28.566	341	3.122
31.375	293	2.848
38.600	206	2.330
44.800	196	2.021

Table VI—X-ray Crystallography Data of form 6

Angle 2θ	Intensity	D-value
11.630	729	7.604
16.066	466	5.513
18.936	1060	4.683
21.240	1074	4.179
23.218	850	3.827
27.754	457	3.211
30.044	288	2.971
32.454	289	2.756
37.600	227	2.390
42.150	183	2.142

anhydrate>hydrate의 순서로 용출속도가 차이가 난다는 이론과는 다른 결과를 보여주고 있다.

현재 시판되고 있는 glibenclamide인 form 1보다 dissolution rate가 빠른 form으로는 form 2, form 3, form 4가 있었다. 이 form들을 사용하여 제제화 한다면 첨가제를 가하지 않고도 기존의 제제에 비해 더 나은 bioavailability를 나타낼 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 덕성여자대학교 연구비의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) J. Haleblan and W. McCrone, Pharmaceutical Applications of Polymorphism, *J. Pharm. Sci.*, **58**(8), 911 (1969).
- 2) E. Shefter and T. Higuchi, Dissolution behavior of crystalline solvated and nonsolvated forms of some pharmaceuticals, *ibid.*, **52**, 781 (1963).
- 3) K.S. Kim and Y.T. Sohn, Study on Polymorphism of Cimetidine, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**(2), 81 (1993).
- 4) P.V. Allen, P.D. Rahn, A.C. Sarapu and A.J. Vanderwielen, Physical characterization of erythromycin : anhydrate, monohydrate and dihydrate crystalline solids, *J. Pharm. Sci.*, **67**(8), 1087 (1978).
- 5) B.E. Ballard, and J.A. Biles, *Steroids*, Vol. **4**, pp. 273 (1964).
- 6) H.A. Lieberman, A. Lachman and J.B. Schwartz, *Pharmaceutical dosage form : tablets*, Marcel Dekker Inc., New York, U.S.A., pp. 34 (1989).
- 7) Y.T. Sohn, Pharmaceutical application of Polymorphism, *Pharmacon*, **21**(4), 500 (1991).