

Liquid-free milling to prepare a cocrystal of ibuprofen and nicotinamide

Jinok Ham, Jisun Jang and Il Won Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Soongsil University, Seoul 06978, Korea

(Received October 7, 2016)

(Revised October 14, 2016)

(Accepted October 21, 2016)

Abstract Cocrystallization of active pharmaceutical ingredients has been widely recognized as a versatile tool to regulate the physical properties of pharmaceutical compounds through designed crystal structures. Grinding or milling has been especially useful to screen the feasibility of cocrystal formation, and the addition of a small amount of liquid is routinely necessary. In the present study, the effect of temperature was studied for the milling cocrystallization of ibuprofen and nicotinamide to establish a liquid-free method. The milling-induced cocrystallization was more effective with liquid nitrogen cooling than at room temperature, which was confirmed by XRD and DSC analyses. This behavior was attributed to the limited molecular mobility below the glass transition temperatures of the cocrystal components, which made it effective to destruct the crystals of raw materials and consequently form the ibuprofen/nicotinamide cocrystal. Further studies would be necessary to establish the utility of the current conclusion to the field of pharmaceutical crystallization.

Key words Cocrystal, Ibuprofen, Nicotinamide, Liquid-free milling

액체 첨가가 없는 밀링법을 이용한 ibuprofen과 nicotinamide의 공결정 형성

함진옥, 장지선, 김일원[†]

송실대학교 화학공학과, 서울, 06978

(2016년 10월 7일 접수)

(2016년 10월 14일 심사완료)

(2016년 10월 21일 게재확정)

요약 약물의 공결정 형성은 결정구조를 디자인하여 물리적인 성질을 제어하는 방법으로 각광받고 있다. 특히, 밀링 결정화법은 약물 공결정의 형성 여부를 판단하기 위한 스크리닝 기법으로 널리 사용되고 있는데, 대부분의 경우에 소량의 액체를 첨가하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 액체의 첨가가 없는 밀링법을 가능하게 하기 위해서, ibuprofen/nicotinamide의 공결정화에 온도가 미치는 영향을 살펴보았다. 액체질소 냉각 온도와 상온에서의 밀링을 비교하였을 때, 액체질소 냉각 상태에서 공결정화가 상대적으로 효과적으로 진행된 것을 XRD, DSC 등의 분석법을 이용하여 확인하였다. 이러한 결과는 원료 물질의 유리전이 온도 이하에서 밀링하였을 때 분자의 운동성이 제한되어, 원료 결정구조의 파쇄와 공결정 유도가 효과적으로 일어나는 것으로 해석할 수 있다. 본 결과가 약물 밀링 공결정화에 응용되기 위해서는 여러 약물 공결정에 대한 추가 연구가 필요하다.

1. 서론

약물의 결정구조는 용해도, 안정성 등과 같은 물리적인 성질을 좌우할 뿐 아니라 분자간 상호작용과 결정구조에 따라 선호되는 결정의 모양에도 영향을 미치기 때문에, 약효와 제제공정 모두에 영향을 미치는 중요한 요인이다[1-3]. 약물의 결정구조를 디자인하는 주요한 방법에는 염(salt), 수화물(hydrate) 및 용매화물(solvate) 형성,

다형체(polymorph) 제어, 공결정(cocrystal) 유도 등이 있다[2-4]. 이 중에서 공결정 유도는 비교적 최근에 등장한 방법인데, 다양한 공결정 유도체(coformer)를 이용하기 때문에 다른 결정 디자인 방법에 비해 보다 폭넓은 물성 제어가 가능한 것으로 평가를 받고 있다[2, 4].

공결정 형성을 위한 방법으로는 전통적인 용매결정화법과 더불어 용융결정화법과 밀링 결정화법이 이용되고 있다[2, 5-7]. 특히, 밀링 결정화법은 소량의 시료를 이용하여 빠르게 공결정 형성 여부를 스크리닝할 수 있는 장점이 있어서, 새로운 구조의 약물 공결정 연구에 많이 이용되고 있다. 일반적으로 밀링 결정화법은 용매와 같

[†]Corresponding author
E-mail: iwkim@ssu.ac.kr

은 액체를 소량 첨가하는 경우가 다수인데, 이러한 액체 첨가는 원료 결정의 표면에 불안정층을 유발하여 약물과 공결정 유도체의 공결정 형성에 유리한 조건을 제공하는 것으로 알려져 있다[6]. 반면에 첨가할 수 있는 액체의 다양성은 약물과 공결정 유도체 사이의 본연의 공결정 선호도를 연구하는 것을 까다롭게 하기도 한다.

본 연구에서는 액체의 첨가 없이 밀링 결정화를 수행하는 최적의 조건을 찾기 위한 기초 단계로서 온도가 밀링 결정화에 미치는 영향을 살펴보았다. 즉, 원료 물질의 유리전이 온도 이하와 이상에서 밀링 결정화를 수행하여 그 차이를 비교하였다. 밀링 중 원료 결정의 구조가 파괴되며 공결정이 유도되는데, 유리전이 온도 이하에서 분자의 운동성이 제한되는 조건을 활용하면 밀링의 충돌에 따른 파쇄와 이에 수반되는 공결정화가 효과적일 것으로 가정하였다. 약물 공결정 모델 시스템으로는 ibuprofen 약물과 nicotinamide 유도체를 이용하였는데, 이 시스템에 대해서는 결정 구조를 포함하여 다양한 연구가 이루어져 있다[5, 7-9]. Ibuprofen과 nicotinamide의 유리전이 온도는 각각 약 -42°C 와 -6°C 이기 때문에[10, 11], 유리전이 온도 이하의 밀링 결정화를 위해서는 액체질소를 이용하는 freezer mill을 이용하였으며, 유리전이 온도 이상의 밀링 결정화는 상온에서 이용하는 ball mill을 이용하였다.

2. 실험 방법

2.1. 시약

공결정화 실험에 사용된 ibuprofen(IBU, >98%)과

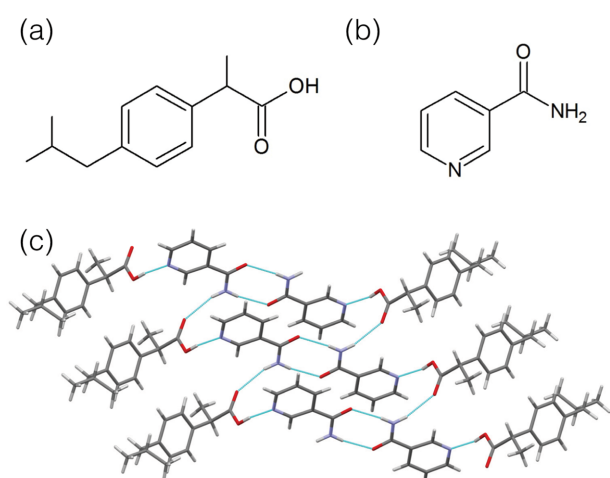


Fig. 1. Chemical structures of (a) ibuprofen (IBU) and (b) nicotinamide (NCT); (c) molecular arrangements of IBU/NCT cocrystal where hydrogen bonding is indicated as turquoise lines [5].

nicotinamide(NCT, >99.5%)는 Sigma-Aldrich에서 구매하였다. IBU와 NCT의 분자구조는 Fig. 1(a)와 (b)에 각각 나타냈으며, IBU/NCT = 1 : 1(mole비)의 알려진 공결정 구조는 Fig. 1(c)에 보였다[5, 8]. 용매를 첨가한 공결정화를 문헌을 따라 재현하기 위하여 이용한 ethanol(99.9% HPLC grade)은 삼전순약공업에서 구입하였다. 적외선 분광법(FTIR spectroscopy) 분석용 KBr(FTIR grade, >99%)은 Sigma-Aldrich의 제품을 이용하였다.

2.2. 결정 제조

밀링에 의한 공결정 제조는 액체질소로 냉각한 온도와 상온에서 각각 진행하였다. 액체질소 온도에서의 밀링은 SPEX SamplePrep의 Freezer/Mill 6770을 이용하였는데, 동사의 6757 microvial set(지름 7 mm, 길이 110 mm)와 6757P stainless steel impactor(지름 3 mm, 길이 64 mm)를 사용하였다. 상온에서의 밀링은 Retsch의 MM 200을 이용하였는데, 실린더 형태의 stainless steel jar(지름 52 mm, 길이 52 mm)와 2개의 stainless steel ball(지름 18 mm)을 사용하였다.

공결정의 제조는 IBU/NCT = 1 : 1(mole비) 혼합물을 정해진 밀링 시간과 frequency에서 처리하여 수행하였다. 액체질소 온도 밀링과 상온 밀링에서 공통으로 5, 10, 20분의 밀링 시간과 5, 10, 15 Hz의 밀링 frequency를 이용하여 밀링 시간과 frequency에 따른 공결정 형성 정도를 비교하였는데, 밀링 시간은 5분 밀링과 1분 정지의 주기에서 밀링 시간만을 더하여 계산하였다. 또한 액체질소 온도 밀링에서는 밀링 시작 전에 3분의 사전냉각 시간을 두었다.

마지막으로 공결정 기준 시료를 얻기 위해서 이미 잘 알려진 liquid-assisted grinding 방법을 이용하였다[2, 6]. 막자사발에 역시 IBU/NCT = 1 : 1(mole비) 혼합물을 넣고 30분 동안 갈아 주었는데, ethanol을 1~2분 간격으로 한 방울씩 넣어 밀링 중 자연스럽게 증발되게 하였다.

2.3. 결정 분석

밀링을 통해 얻은 시료의 X-ray 회절(XRD) 분석은 Bruker AXS의 D2 PHASER diffractometer와 Si low background 샘플 홀더를 이용하였고, 2 θ - θ 모드에서 2 θ 범위 8° - 35° 를 $1^{\circ}/\text{min}$ 으로 스캔하였다. 시료의 용융 특성은 Mettler-Toledo의 DSC3를 이용한 시차주사열량분석법(DSC)을 통해 살펴 보았다. DSC는 사용 전에 In을 이용하여 엔탈피와 온도를 보정하였으며, N_2 분위기에서 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 의 속도로 승온하였다. 밀링에 따른 시료의 분자간 상호작용 변화를 분석하기 위하여 적외선 분광법(FTIR)을 이용하였다. 이를 위해 Thermo Fisher Scientific

의 Nicolet iS10 FT-IR Spectrometer를 사용하였으며, 소량의 시료가 포함된 KBr 디스크를 만들어 transmission mode에서 wavenumber $3500\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ 영역을 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 밀링 조건에 따른 공결정 형성 정도

밀링에 따른 공결정 형성 정도를 XRD를 통해 분석하였다. Fig. 2와 3에서는 액체질소 온도와 상온에서의 밀링 시간과 frequency에 따른 XRD 패턴의 변화를 보였는데, 공결정의 형성 정도는 원료 및 공결정 기준 시료와의 비교를 통해 정성적으로 추정할 수 있었다.

Fig. 2(a)에는 액체질소 온도에서 5 Hz로 밀링하였을 때, 밀링 시간에 따른 XRD pattern 변화를 보였다. 잔여 원료는 14.64° 에서의 NCT peak(\triangle)에서 가장 뚜렷이 나타나며, 공결정 형성은 15.01° 와 17.05° 에서 각각

나타나는 peak(\blacklozenge)를 통해 확인할 수 있다. 밀링 시간에 따른 공결정 형성의 증가가 뚜렷이 관찰되지만, 20분 후에도 여전히 잔여 원료가 다량 존재하는 것으로 보인다. Fig. 2(b)에는 액체질소 온도에서 20분 동안 밀링하였을 때, 밀링 frequency에 따른 XRD pattern 변화를 보였다. 5, 10 Hz에서 뚜렷이 관측되었던 14.64° 에서의 NCT peak(\triangle)이 15 Hz에서는 거의 사라진 것으로 보아, 대부분의 원료가 공결정화된 것으로 추정할 수 있었다.

Fig. 3(a)에는 상온에서 5 Hz로 밀링하였을 때, 밀링 시간에 따른 XRD pattern 변화를 보였다. 14.64° 에서의 NCT peak(\triangle)와 15.01° 및 17.05° 에서 각각 나타나는 공결정 peak(\blacklozenge)를 비교하면, 공결정 형성 정도가 아주 미미한 것을 확인할 수 있었다. Fig. 3(b)에 보인 것처럼 상온에서 20분 동안 밀링하는 조건에서 밀링 frequency를 15 Hz까지 증가시켜도, 공결정 diffraction peak 보다 원료의 peak이 훨씬 뚜렷하게 관측되었다.

위의 결과를 종합하면, (i) 액체질소 온도에서의 밀링이 상온에서의 밀링 보다 상대적으로 IBU/NCT 공결정

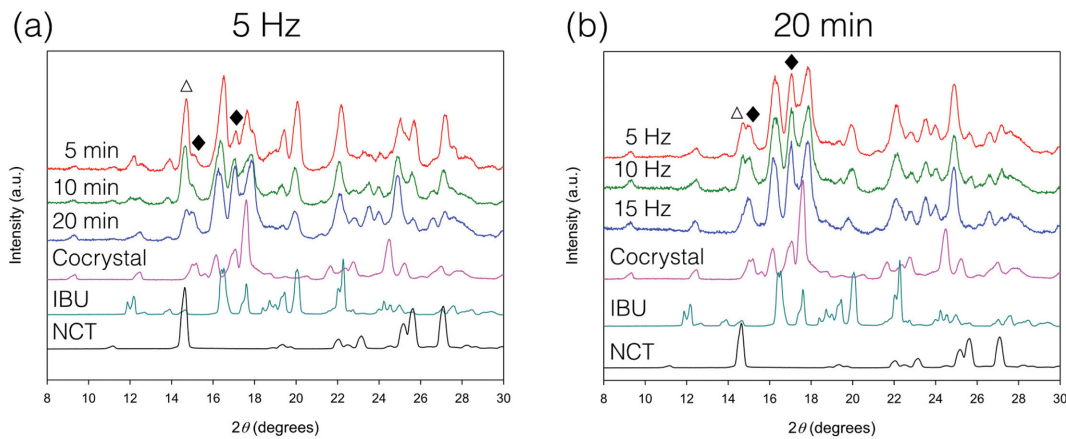


Fig. 2. XRD patterns of crystals obtained by grinding IBU/NCT = 1 : 1 mixture in the freezer mill: effects of (a) milling time (5 Hz) and (b) frequency (20 min). Also shown are those of IBU/NCT cocystal, IBU, and NCT.

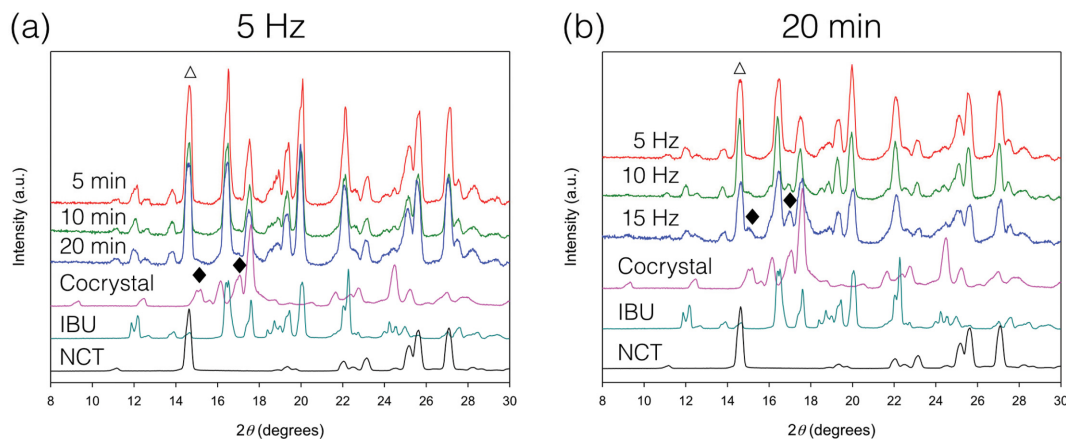


Fig. 3. XRD patterns of crystals obtained by grinding IBU/NCT = 1 : 1 mixture in the room temperature mill: effects of (a) milling time (5 Hz) and (b) frequency (20 min). Also shown are those of IBU/NCT cocystal, IBU, and NCT.

형성에 효과적이었으며, (ii) 밀링의 시간과 frequency에 비례하여 공결정 형성 정도가 증가하였다.

3.2. 밀링 가공한 시료의 DSC 및 FTIR 분석

밀링하지 않은 IBU/NCT 단순 혼합물의 DSC 결과를 Fig. 4(a)에 보였는데, 이는 밀링 가공한 시료의 DSC 결과를 해석하기 위한 기초 정보가 된다. IBU/NCT 혼합물을 승온하면 조성에 따라서 세 종류의 녹는 현상을 관측할 수 있었다. 먼저 녹는점이 낮은 IBU가 67.8~70.5°C에서 녹는데(▽), NCT의 작용으로 원래의 IBU 녹는점인 75.5°C 보다 낮은 온도에서 녹았다. 이후 89~90°C 정도의 온도에서 관측되는 용융현상(◆)은 IBU/NCT 공결정의 용융으로 해석할 수 있는데, IBU melt의 존재 하에 NCT가 반응하여 공결정이 형성되는 것으로 보인다. 이러한 해석은 용융 결정화를 통한 IBU/NCT 공결정 형성 결과와 일치하는 것이다[5, 7]. 110.7~122.3°C에서 관측되는 용융현상(△)은 잔여 NCT의 용융으로 해석할 수 있는데, IBU의 작용으로 원래의 NCT 녹는점

인 128.2°C 보다 낮은 온도에서 녹았다. IBU/NCT 혼합물의 조성에 따른 용융 phase diagram을 Fig. 4(b)에 보였다.

Fig. 5(a)에는 액체질소 온도에서 5 Hz로 밀링하였을 때, 밀링 시간에 따른 DSC thermogram을 나타내었는데, 비교를 위해 원료 및 공결정 기준 시료의 thermogram을 같이 표시하였다. IBU 용융(▽)을 모든 시료에서 관측할 수 있었으며, IBU 용융 enthalpy는 5, 10, 20분 동안의 밀링에서 각각 5.0, 2.0, 0.48 kJ/mol으로 나타났다(밀링하지 않은 IBU/NCT = 1:1 혼합물에서의 IBU 용융 enthalpy는 30 J/g이었다.). Fig. 5(b)에는 액체질소 온도에서 20분 동안 밀링하였을 때, 밀링 frequency에 따른 DSC thermogram을 보였는데, IBU 용융 enthalpy는 5, 10, 15 Hz 밀링에서 각각 0.48, 0.48, 0.20 kJ/mol으로 나타났다. 이러한 결과는 밀링 시간과 frequency에 따른 공결정 증가를 관측한 XRD 분석과 일치하는 것이다. 한편, IBU 용융 후에는 공결정의 용융(◆)이 92.2~92.7°C에서 일관되게 관측되었으며, 이는 Fig. 4를 통해 예상할 수 있었던 결과이다.

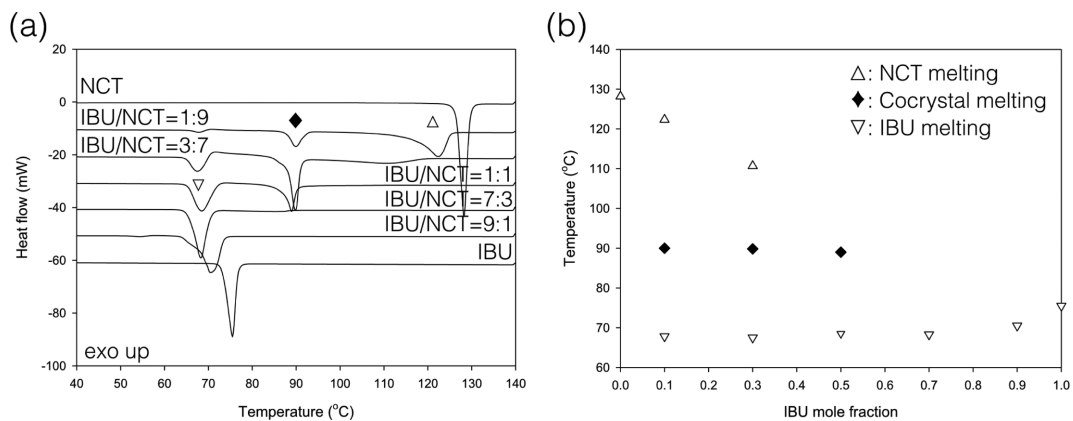


Fig. 4. (a) DSC thermograms and (b) phase diagram of IBU/NCT mixtures in various mole ratios.

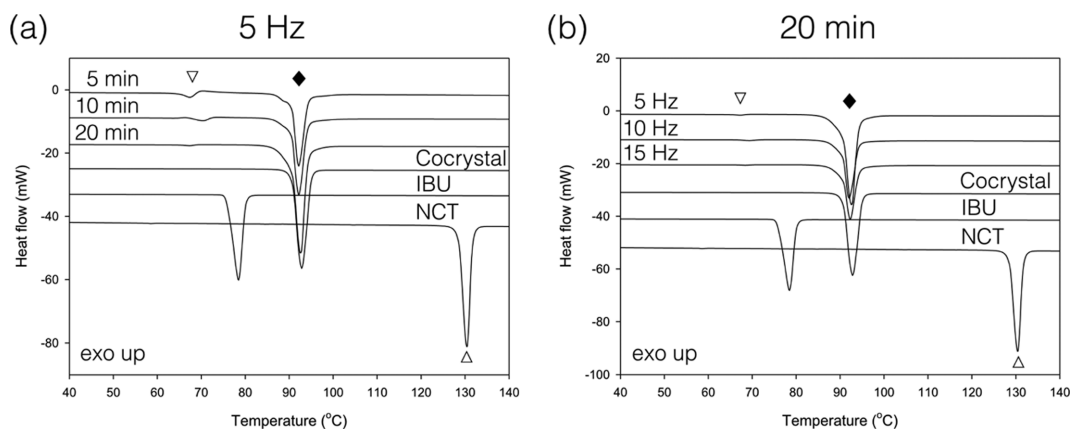


Fig. 5. DSC thermograms of crystals obtained by grinding IBU/NCT = 1:1 mixture in the freezer mill: effects of (a) milling time (5 Hz) and (b) frequency (20 min). Also shown are those of IBU/NCT cocrystal, IBU, and NCT.

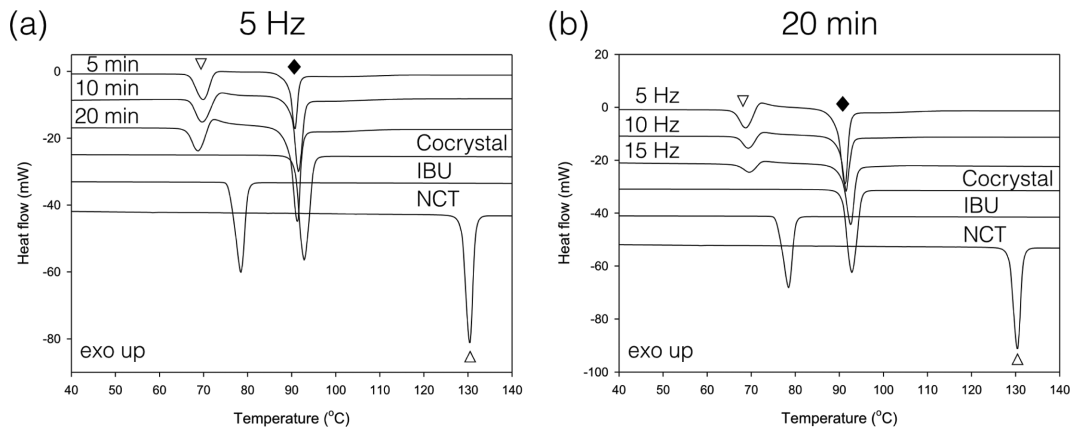


Fig. 6. DSC thermograms of crystals obtained by grinding IBU/NCT = 1 : 1 mixture in the room temperature mill: effects of (a) milling time (5 Hz) and (b) frequency (20 min). Also shown are those of IBU/NCT coccrystal, IBU, and NCT.

Fig. 6(a)에는 상온에서 5 Hz로 밀링하였을 때, 밀링 시간에 따른 DSC thermogram을 나타내었다. IBU 용융 (∇) enthalpy가 5, 10, 20분 동안의 밀링에서 각각 22, 22, 20 kJ/mol으로 나타났다. 이러한 결과는 액체질소 온도에서의 밀링과 대비되는 것으로, 상온의 5 Hz 밀링 조건에서 공결정화가 효과적으로 이루어지지 못한 것을 의미한다(밀링하지 않은 IBU/NCT = 1 : 1 혼합물에서의 IBU 용융 enthalpy는 30 J/g이었다.). 또한 공결정의 용융(\blacklozenge)이 90.8~91.5°C에서 관측되었는데, 이는 공결정 기준 시료의 녹는점인 92.8°C 보다 다소 낮은 온도이며 승온 중 일어나는 용융 공결정화가 불완전하여 잔여원료의 영향으로 녹는점이 감소한 것으로 추정할 수 있다. Fig. 6(b)에는 상온에서 20분 동안 밀링하였을 때, 밀링 frequency에 따른 DSC thermogram을 보였는데, IBU 용융 enthalpy는 5, 10, 15 Hz 밀링에서 각각 20, 14, 9.9 kJ/mol로 나타났다.

위의 DSC 결과를 통해 액체질소 온도에서의 밀링이 상온에서의 밀링 보다 상대적으로 IBU/NCT 공결정 형성에 효과적이라는 것을 재확인할 수 있었다.

XRD, DSC에서 관측한 밀링의 효과를 FTIR 분석을 통해서도 확인할 수 있었는데, Fig. 7에는 액체질소 온도에서 5 Hz로 밀링하였을 때, 밀링 시간에 따른 FTIR spectra를 대표적으로 보였다. 특징적인 현상은 NCT의 NH vibration이 나타나는 3367 cm^{-1} 의 peak(\triangle)가 공결정 형성에 따라 3402 cm^{-1} (\blacklozenge)로 이동하는 것과 IBU의 C=O vibration이 1722 cm^{-1} (∇)에서 공결정 형성에 따라 1707 cm^{-1} (\blacklozenge)로 이동하는 것이다. 이러한 wavenumber shift는 Fig. 1(c)에 보인 공결정의 N-H...O=C hydrogen bonding으로 인해 N-H와 O=C 각각의 상호작용 환경이 순물질 결정에서의 환경과 다르기 때문에 일어나는 것으로 해석할 수 있다[12]. 이러한 FTIR 결과를 통해 액체질소 온도에서의 밀링은, 잘 알려진 liquid-assisted grinding 방법과 비교하였을 때, 분자 수준에서도 유사한 공결정 형성을 유도한다고 판단할 수 있었다.

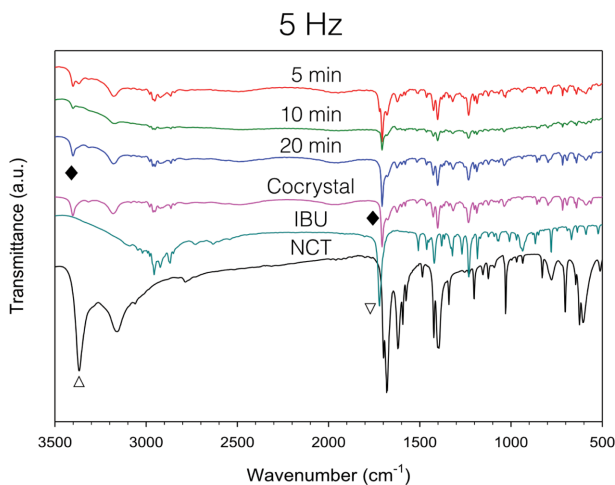


Fig. 7. FTIR spectra of crystals obtained by grinding IBU/NCT = 1 : 1 mixture in the freezer mill (5 Hz and 5, 10, 20 min). Also shown are those of IBU/NCT coccrystal, IBU, and NCT.

4. 결 론

밀링을 이용한 약물의 공결정 유도는 소량의 시료를 이용하여 공결정 형성 여부를 확인할 수 있는 중요한 결정화 방법이고, 일반적으로 약간의 액체를 첨가하여 공결정화를 촉진시킨다. 본 연구에서는 액체 첨가없이 밀링에 의한 공결정화를 효과적으로 유도하기 위하여 원료 물질의 유리전이 온도 이하에서 밀링 결정화를 수행하였다. 모델 시스템으로 이용한 IBU/NCT의 경우에 액체질소로 냉각하여 밀링한 경우에 공결정 형성의 정도가 상온 밀링에 비해서 현저하게 증가하였으며, 공결정 형성은 밀링 시간과 frequency에 따라 증가하였다. 이러한 결과는 XRD, DSC, FTIR 등의 분석을 통해 종합적으

로 확인하였다. 따라서, 적어도 본 연구에 이용한 IBU/NCT의 경우에는 유기 분자의 운동성이 제한되는 유리전이 온도 이하에서 밀링하는 것이, 밀링에 따른 원료 결정의 파쇄와 공결정 형성에 효과적인 것으로 결론 내릴 수 있었다. 본 연구의 결과가 다양한 약물 공결정화에 응용되어 약물과 공결정 유도제 사이의 공결정 형성 경향을 파악하는데 도움을 주기 위해서는, 여러 약물 공결정에 대한 추가적인 확장 연구가 필요하다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2015R1D1A1A01058116).

References

- [1] J. Bernstein, "Polymorphism in molecular crystals", (Oxford University Press, New York, 2002) p. 1.
- [2] W. Jones, W.D.S. Motherwell and A.V. Trask, "Pharmaceutical cocrystals: an emerging approach to physical property enhancement", *MRS Bull.* 31 (2006) 875.
- [3] G.G.Z. Zhang and D. Zhou, "Crystalline and amorphous solids" in *Developing Solid Oral Dosage Forms*, Y. Qiu, Y. Chen, G.G.Z. Zhang, L. Liu and W.R. Porter, Eds. (Academic Press, New York, 2009) p. 25.
- [4] N. Shan and M.J. Zaworotko, "The role of cocrystals in pharmaceutical science", *Drug Discov. Today* 13 (2008) 440.
- [5] D.J. Berry, C.C. Seaton, W. Clegg, R.W. Harrington, S.J. Coles, P.N. Horton, M.B. Hursthouse, R. Storey, W. Jones, T. Friscic and N. Blagden, "Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: a study of nicotinamide with seven active pharmaceutical ingredients", *Cryst. Growth & Des.* 8 (2008) 1697.
- [6] T. Friscic and W. Jones, "Recent advances in understanding the mechanism of cocrystal formation via grinding", *Cryst. Growth & Des.* 9 (2009) 1621.
- [7] A.L. Kelly, T. Gough, R.S. Dhumal, S.A. Halsey and A. Paradkar, "Monitoring ibuprofen-nicotinamide cocrystal formation during solvent free continuous cocrystallization (SFCC) using near infrared spectroscopy as a PAT tool" *Int. J. Pharm.* 426 (2012) 15.
- [8] T. Friscic and W. Jones, "Cocrystal architecture and properties: design and building of chiral and racemic structures by solid-solid reactions", *Faraday Discuss.* 136 (2007) 167.
- [9] F.L.F. Soares and R.L. Carneiro, "Green synthesis of ibuprofen-nicotinamide cocrystals and in-line evaluation by Raman spectroscopy", *Cryst. Growth Des.* 13 (2013) 1510.
- [10] D.-J. Lee, S. Lee and I.W. Kim, "Effects of humidity and surfaces on the melt crystallization of ibuprofen", *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 10296.
- [11] T. Hino and J.L. Ford, "Characterization of the hydroxypropylmethylcellulose-nicotinamide binary system", *Int. J. Pharm.* 219 (2001) 39.
- [12] J. Jang and I.W. Kim, "Poly(acrylic acid) to induce competitive crystallization of a theophylline/oxalic acid cocrystal and a theophylline polymorph", *J. Cryst. Growth* 434 (2016) 104.