

水溶液에 있어서의 Indomethacin 分解

全仁九 · 李民和 · 禹鍾鶴

서울대학교 藥學大學

(Received February 10, 1976)

In Koo Jeon, Min Wha Lee and Chong Hak Woo (*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151*): The Degradation of Indomethacin in Aqueous Solution.

Abstract—The base-catalyzed hydrolysis of indomethacin over a range of pH 8.2 to 10.0 was investigated, according to the first order kinetic equation. The energy of activation for the reaction was calculated 20.18 kcal/mole from the Arrhenius plot. And the optimal pH of indomethacin in aqueous solution was estimated as pH 4.93 by the extrapolation of the log k-pH profiles in strong acidic and alkaline regions. And the influences of alkaline earth metals, heavy metals and some other compounds on the degradation of indomethacin were observed with no effect.

Indomethacin 은 近年에 開發된 非 steroid 性 消炎 鎮痛劑로 그 藥理的 性質, 代謝過程 등에 關해서는 相當數의 報告¹⁻⁵)가 있다. 또한 胃腸障害 등의 副作用이 있어 佐藤^{6,7})등은 凍結乾燥法에 의한 注射劑의 製法을 報告하였고 Morse⁸)등은 microcapsule 化를 試圖하였으며 最近에는 坐劑에 關한 研究報告⁹⁻¹³)가 많이 發表되었다.

그러나 indomethacin 의 水溶液에 있어서의 分解 및 安定성에 關해서는 斷片的인 現象報告¹⁴)가 있고 後藤^{15,16})등은 强酸性 및 알카리 領域에서 indomethacin 이 極히 不安定하며 加水分解反應의 速度論的 考察로 pH 2~8에서 速度定數가 極小이며 TLC 同定 및 GLC에 의하여 可能한 分解機構를 推定하고 또한 알카리 領域에서 indomethacin 關連化合物의 加水分解反應速度와 化學構造와의 相關關係를 檢討하여 amide 의 carbonyl 基에 共鳴效果가 큰 芳香環이 存在할 때 水酸 ion 의 攻撃에 對하여 强하게 抵抗한다고 說明하고 熱力學的 恒數를 算出하였다.

後藤등은 pH 2~8에서 反應速度定數가 極小라고 하였으나 이 範圍가 너무 넓기 때문에 著者 등은 全 pH 領域에서 가장 安定한 pH 를 決定하기 위하여 水溶液에 있어서 indomethacin 의 溶解度를 測定하고 알카리 領域에서 動力學的 檢討를 하여 log k-pH profile 의 直線性을 觀察하고 pH 10.0에서 活性化 energy 를 算出하였으며 酸性 領域에서 殘存濃度를 測定하였다. 또한 分解에 미치는 여러가지 金屬 ion 의 影響과 抗酸化劑의 安定化 與否를 檢討하였다.

實驗方法

試料, 試藥 및 裝置—試料로는 indomethacin (NF XIV, micronized)을 使用하였고 溶媒로서 methyl alcohol은 E. Merck의 試藥級을 使用하였고 金屬類로서 magnesium chloride, calcium chloride, ferrous ammonium sulfate, lead nitrate 및 cupric sulfate는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.의 一級試藥을 使用하였다. 抗酸化劑로서 glycerine, sodium sulfite, sodium bisulfite는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.의 一級試藥을, sodium pyrosulfite, citric acid 및 sodium citrate는 E. Merck의 試藥級을 使用하였다. 裝置로는 UV-VIS Spectrophotometer(Hitachi Perkin Elmer, 139), pH meter (Hitachi Horiba, M-5) 및 恒溫槽를 使用하였다.

溶解度 測定—BP 1973의 pH 測定項의 磷酸鹽 및 프탈酸鹽을 使用하여 pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 및 8.0의 緩衝液을 調製하고 酸 알카리로 pH를 正確히 補正하였다. 이 液 50 ml에 indomethacin 500 mg 씩을 各各 加하여 30°로 加溫한 다음 magnetic stirrer를 使用하여 恒溫에서 24時間 攪拌하고 平衡에 到達할 때까지 30°에서 72時間 放置하였다. 이 液을 濾過하고 使用한 液으로 適切히 稀釋한 다음 318 nm에서 吸光度를 測定하여 溶解度を 算出하였다.

反應速度 測定—BP pH 測定項의 硼酸·鹽化칼륨 緩衝液을 使用하여 pH 8.2에서 pH 10.0까지 0.2單位로 緩衝液을 調製하고 酸 알카리로 pH를 正確히 補正한 다음 이 液을 30°로 豫熱하여 60 ml 씩을 取한 後 0.1% indomethacin-methanol 溶液 2 ml를 各各 精密하게 加하고 上記의 緩衝液으로 100 ml로 한 後, 30°恒溫에서 一定時間마다 波長 318 nm에서 吸光度를 測定하였다.

또 pH 10.0의 緩衝液을 使用하여 위와 同一한 方法으로 操作하고 30°, 40° 및 50°에서 一定時間마다 各各 그 殘存濃度を 測定하였다. 또 pH 7.0, 8.0 및 9.0에서는 45°에서 위와 同一한 方法으로 實驗하였다.

酸性 領域에 있어서 殘存濃度 測定—BP pH 測定項의 프탈산鹽을 使用하여 pH 4.4에서 pH 6.0까지 適當한 間隔으로 緩衝液을 調製하고 이 液으로 위와 同一하게 操作하여 45°를 維持하면서 一定期間마다 318 nm에서 吸光度를 測定하여 殘存濃도를 求하였다.

알카리 土類金屬 및 重金屬의 影響—Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺, Pb²⁺ 및 Cu²⁺의 ion 濃도가 5.6×10⁻³ mole/liter 되게 液을 調製하여 各各 1 ml 씩 精密하게 取하고 위와 同一하게 操作하여 30°로 豫熱한 pH 8.0의 緩衝液으로 100 ml로 하고 30°를 維持하면서 一定期間마다 318 nm에서 吸光度를 測定하였다. 이때 空試驗液으로서는 同一濃度の 金屬溶液을 使用하였다.

抗酸化劑의 安定化 與否—抗酸化劑로서 glycerine, sodium sulfite, sodium bisulfite, sodium pyrosulfite, citric acid 및 sodium citrate를 適當量씩 pH 8.0의 緩衝液으로 溶解하여 適當한 濃도로 하고 pH를 測定하였다. 이때 各各에 있어서 液성이 pH 8.0에 比하여 酸性쪽으로 기울기 때문에 1N NaOH로 pH를 8.0±0.01로 調節하였다 30°에서 24時間 放置한 後 다시 pH를 測定하고 pH를 8.0으로 確認 補正하였다. 0.1% indomethacin-methanol 溶液 2 ml를 取하여 抗酸化劑가 含有한 pH 8.0의 緩衝液으로 100 ml로 하고 30°를 維持하면서 一定期間마다 吸光度를 測定 比較하였다.

結果 및 考察

溶解度—Krasowska¹⁷⁾ 등은 여러가지 溶媒를 使用하여 indomethacin 의 溶解度를 測定하고 溶媒의 極性이 減少함에 따라 indomethacin 의 溶解度가 增加한다고 報告하였다. Indomethacin 은 물에 難溶性으로 水溶液의 液性의 變化에 따른 溶解度의 變動은 Table I과 같으며 液性이 酸性에서 알칼리性으로 갈수록 溶解度가 急速히 增加되어 pH 8.0에서는 0.2671%로 pH 4.0에서보다 약 424배이었다. 이는 indomethacin 이 pka 4.2¹⁵⁾의 acidic drug 이므로 酸性으로 갈수록 解離가 더욱 抑制되고 알칼리性에서는 解離가 促進되는 것으로 생각된다.

分解에 미치는 pH의 影響—一次反應, 즉 $\log \frac{a}{a-x} = \frac{k}{2.303} \cdot t$ 에서 $\log \frac{a}{a-x}$ 의 값을 時間 t에 對하여 plot한 바, slope가 $\frac{k}{2.303}$ 인 直線을 얻을 수 있으며 半減期는 初濃度에 關係없이 $t_{1/2} = 0.693/k$ 이다. 30° 및 pH 8.2~10.0에서 indomethacin 의 degradation curve의 結果는 Fig. 1과 같다. Fig. 1로부터 求한

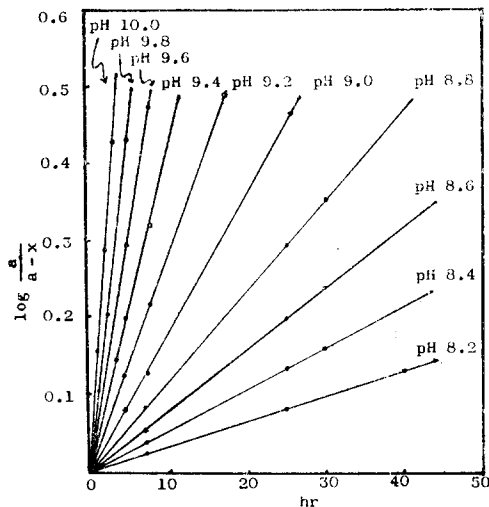


Fig. 1—First order degradation of indomethacin at pH 8.2~10.0 and 30°.

Table I—Solubility of indomethacin in aqueous solution at 30°

pH	Solubility(mg/100 ml)
4.0	0.63
5.0	2.34
6.0	12.50
7.0	80.17
8.0	267.10

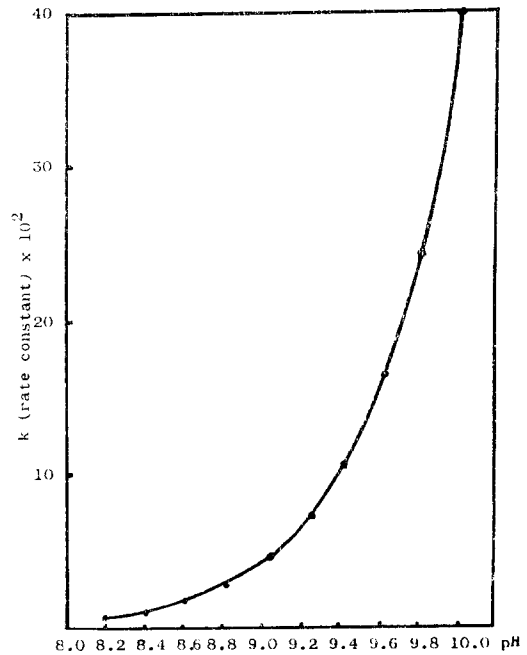


Fig. 2—Rate-pH profile for the degradation reaction of indomethacin at 30°.

速度定數를 pH에 對하여 plot한 것이 Fig. 2이며 Fig. 3은 $\log k$ 값을 pH에 對하여 plot한 $\log k$ -pH profile이다. 이는 slope가 +1인 直線이다. 알칼리性에서 反應은 모두 一次反應이며 따라서 apparent first order rate constant는

$$k = k_{OH^-} [OH^-] + k_0$$

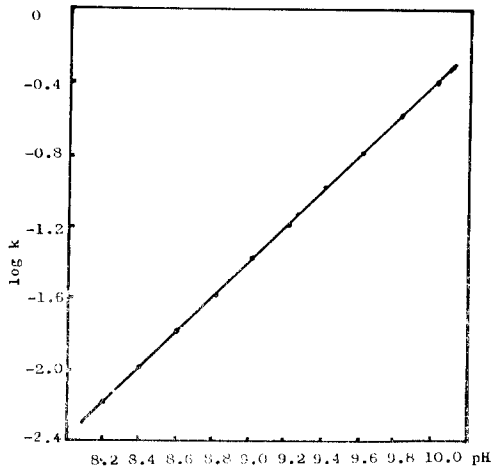


Fig. 3—The log k-pH profile for the degradation of indomethacin in alkaline region.

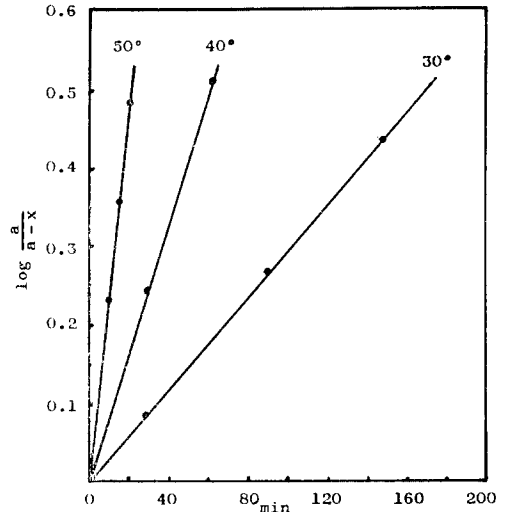


Fig. 4—First order degradation of indomethacin at pH 10.0.

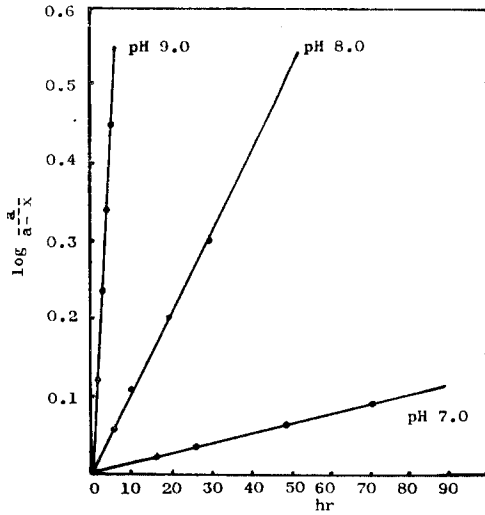


Fig. 5—Arrhenius plot for the degradation reaction of indomethacin at pH 10.0.

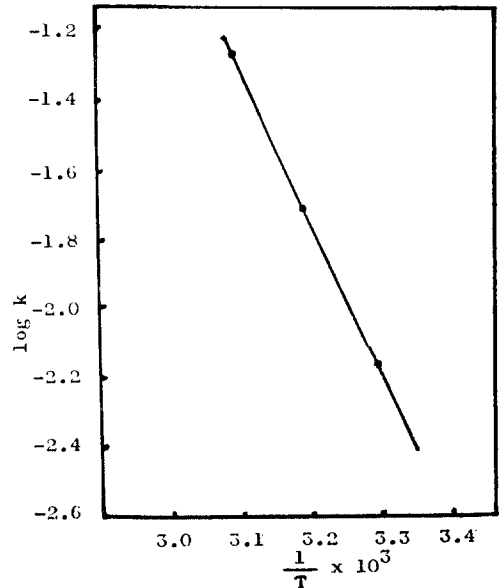


Fig. 6—First order degradation of indomethacin at 45°.

$$\log(k-k_0) = \log k_{OH} - pOH = \log k_{OH} - pK_w + pH$$

pK_w는 一定溫度에서 그 값이 一定하며 또 k₀가 k에 比하여 極히 작을 때는 log k-pH profile의 slope는 +1이 될 것이며 또한 +1이 되면 이 反應은 鹽基燭媒反應이 支配的이라고 생각할 수 있다.

Table II—Residual percentage of indomethacin at pH 4.4~6.0 and 45°

day	pH						
	4.4	4.6	4.8	5.0	5.2	5.4	6.0
0	100	100	100	100	100	100	100
2	97.7	98.2	99.0	99.2	98.7	97.9	96.4
5	95.9	96.8	98.2	98.5	97.2	96.4	92.5
8	94.3	95.9	97.4	97.7	96.4	94.9	88.4
12	93.1	94.9	96.4	96.6	95.4	93.6	84.4

The initial concentration of indomethacin used was 5.59×10^{-5} mole/liter.

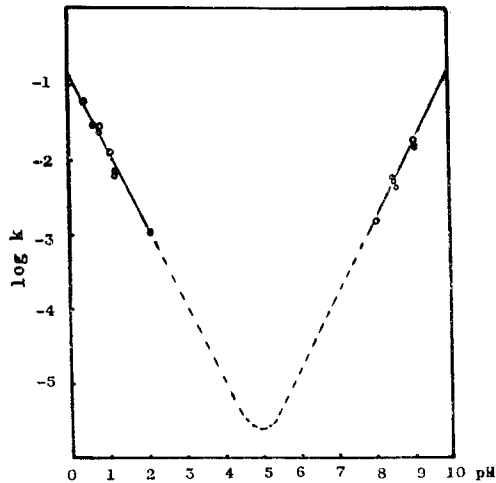


Fig. 7—Determination of optimal pH of indomethacin in aqueous solution at 60°.

Table III—Influence of alkaline earth metals and heavy metals on the rate of degradation of indomethacin at pH 8.0 and 30°

Metal ion	Concn.(mole/liter)	Effect
Mg ²⁺	5.6×10^{-5}	—
Ca ²⁺	5.6×10^{-5}	—
Ca ²⁺	5.6×10^{-4}	—
Fe ²⁺	5.6×10^{-5}	—
Pb ²⁺	5.6×10^{-5}	—
Cu ²⁺	5.6×10^{-5}	—
Cu ²⁺	5.6×10^{-4}	—

分解에 미치는 溫度의 影響—pH 10.0에서 溫度의 影響을 觀察하기 위하여 30°, 40° 및 50°에서 殘存濃度를 一定時間마다 測定한 결과, Fig. 4와 같이 一次分解反應이고 이로부터 求한 一次反應速度定數의 對數와 絕對溫度 T의 逆數와의 plot는 Fig. 5와 같으며 여기에서 求한 activation energy는 20.18 kcal/mole 이었다.

45° 및 pH 7.0, 8.0 및 9.0에서도 Fig. 6에서 보는 바와 같이 모두 一次反應이었으며 速度定數는 pH 7.0에서 $k=0.00327/\text{hr}$, pH 8.0에서 $k=0.0242/\text{hr}$ 및 pH 9.0에서는 $k=0.262/\text{hr}$ 이었다.

Table IV—Influence of some compounds on the rate of degradation of indomethacin at pH 8.0 and 30°

Compound	Concn. (%)	Effect
Glycerine	4%	—
Glycerine	8%	—
Glycerine	30%	—
Sod. sulfite	0.5%	—
Sod. bisulfite	0.01%	—
Sod. pyrosulfite	0.1%	—
Citric acid	0.3%	—
Citric acid	0.5%	—
Sod. citrate	0.1%	—
Citric acid+Sod. bisulfite	0.1+0.5%	—

酸性領域에 있어서의 殘存濃度—Table II에서 볼 수 있는 것과 같이 indomethacin 이 水溶液에 있어서 가장 安定한 pH 範圍는 4.8~5.0이었다. 後藤¹⁵⁾등이 研究한 强酸性과 알카리性에서의 log k—pH profile 을 外插하여 Fig. 7에서와 같이 至適 pH 를 4.93으로 決定하였으며 이것은 殘存濃度の 測定結果와 잘 一致되었다.

알카리 土類金屬, 重金屬 및 抗酸化劑가 分解에 미치는 影響—Table III 및 Table IV에서 보는 바와 같이 金屬ion 및 抗酸化劑가 indomethacin 의 分解에 미치는 影響은 없는 것으로 나타났다. Allen¹⁶⁾등에 의하면 indomethacin 坐劑에서 glycerine 이 安定化劑로 使用될 수 있음을 報告하였으나 水溶液中에서는 그러한 効果는 나타나지 않았다.

알카리性으로 갈수록 溶解度는 增加하나(Table I) 加水分解反應速度가 커지므로 새로운 安定化劑에 關한 問題는 하나의 研究課題가 될 것으로 생각한다.

結 論

以上的 結果로 보아 다음과 같은 結論을 얻었다.

- 1) 水溶液에 있어서 indomethacin 의 溶解度는 液性이 酸性에서 알카리性으로 갈수록 增加하여 pH 8.0에서는 0.2671%이었으며 pH 4.0에 比하여 424倍이었다.
- 2) pH 10.0에서 indomethacin 의 activation energy 는 20.18 kcal/mole 이었으며 알카리 領域에서의 分解反應은 一次反應이었으며 log k—pH profile 은 slope 가 +1인 直線이었다.
- 3) Indomethacin 이 가장 安定한 水溶液의 pH 는 4.93이었다.
- 4) 金屬 ion 으로서 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} 및 Cu^{2+} 는 水溶液에 있어서 indomethacin 의 分解에 影響을 미치지 않았으며 抗酸化劑로서 glycerine, sodium sulfite, sodium bisulfite, sodium pyrosulfite, citric acid 및 sodium citrate 도 水溶液에 있어서 indomethacin 의 安定化에 影響을 미치지 않았다.

文 獻

1. T.Y. Shen, R.L. Ellis, T.B. Windholz, A.R. Matzuk, A. Rosegay, S. Lucas, B.E. Witzel, C.H. Stammer, A.N. Wilson, F.W. Holly, J.D. Willett, L.H. Sarett, W.J. Holtz, E.A. Risley, G.W. Nuss and C.A. Wirten, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 488 (1963).
2. C.A. Winter, E.A. Risley and G.W. Nuss, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **141**, 369 (1963).
3. R.E. Harman, M.A.P. Meisinger, G.E. Davis and F.A. Kuehl, *ibid.*, **143**, 215 (1964).
4. H.B. Hucker, A.G. Zacchei, S.V. Cox, D.A. Brodie and N.H.R. Cartwell, *ibid.*, **153**, 237 (1966).
5. C.A. Winter, *Arzneim. Forsch.*, **21**, 1805 (1971).
6. 日本特許, 69, 09, 291 (1969).
7. 日本特許, 70, 37, 560 (1970).
8. U.S. Patent, 3, 557, 279 (1971).
9. L.P.J. Holt, and C.F. Hawkins, *Brit. Med. J.*, **1**, 1354 (1965).
10. Bo Lindquist, K.M. Jensen, H. Johansson and T. Hansen, *Clin. Pharmacol. Therap.*, **15**, 247 (1974).

11. British atent, 1,284,192 (1970).
12. British Patent, 1,384,760 (1974).
13. U.S. Patent, 3,849,549 (1974).
14. Report Merck Sharp & Dohme, 1964, No. 5.
15. 後藤 茂, 曾 文燮, 甲斐美智子, 合澤幸子, 井口定男, 藥劑學, 29, 118 (1969).
16. 後藤 茂, 村尾典昭, 井口定男, 藥劑學, 33, 139 (1973).
17. H. Krasowska, L. Krowczynski and E. Glab, *Diss. Pharm. Pharmacol.*, 24, 923 (1972).
18. J.G. Morris, *A Biologist's Physical Chemistry*, Addison-Wesley Publishing Co., 1968, p-231.