약학회지 제34권 제6호 415~421(1990)
Yakhak Hoeji Vol. 34, No. 6

수용액 중 Trimebutine maleate의 안정성

박종현 · 이계주
충남대학교 약학대학

(Received September 26, 1990)

Studies on the Stability of Trimebutine maleate in Aqueous Solution

Jong Hyen Park and Gye Ju Rhee
College of Pharmacy Chung-Nam National University

Abstract—The effects of temperature, pH, light and concentration on the degradation of trimebutine maleate in aqueous solution were investigated on the basis of accelerated stability analysis, and the stabilization of the solution was attempted by addition of several additives. The decomposition of trimebutine maleate in solution followed first-order reaction the was not only accelerated by temperature elevation but also the lower the concentratin the more speeded up the reaction. The decomposition mechanism of trimebtine could be confirmed by hydrolysis of ester bond in the structure. It was assumed trimebutine maleate is so photosensitive that the solution of the drug underwent accelerated decomposition under UV rays. What is more, the degradation of trimebutine solution was supposed to catalyzed by specific acid-base catalysis considered the pH dependence for the hydrolysis of ester, and the solution was most stable over the range of pH 2-2.8 in solution. The additives, citric acid, asparitc acid and glutamic acid, inhibited considerably the decomposition of the drug solution, and these additives might be used as stabilizers in trimebutine maleate solution.

Keywords□ Stability, trimebutine maleate, first-order reaction, hydrolysis, UV, pH dependence

Trimebutine(3,4,5-trimethoxy benzoic acid 2-(dimethylamino)-2-phenyl butyl ester, $C_{22}H_{29}NO_5$)은 위염, 복통, 소화불량, 오심, 구토, 신경성 장질환 수술 후 장 폐색증 등 전반적인 위장장애 치료제로 사용되고 있는 gastrointestinal antispasmodic 약물로 1972년에 처음으로 Torossian Dieran과 Aubard Gilbert에 의해서 합성[1,2]되었고, 이어서 Trimebutine에 maleic acid를 처리한 것이 Trimebutine maleate이다.

이 약물의 Antispasmodic drug[3-5]로서 사용될 뿐만 아니라, 위장의 수축운동을 조절할 수 있는 효능[6-8]이 있으며, 소장과 대장에 대한 운동력을 각각 다르게 조절[9-18]하는 기능이 있다. 또한 말초신경계를 통하여 혈압과 박동수에 영향을 주지 않으면서 위장계의 운동능력을 조정하는 것으로 보고[19]되고 있다.

이 약물의 안정성에 대해서는 분말상태에서는 안정한 것으로 간주되고 있으나, 수용액에 대한 Trimebutine maleate의 안정성은 아직 보고되어 있지 않다. 따라서 저자들은 수용액 중 Trimebutine maleate의 안정성을 검토하고자 이 약물이 수용액에 대하여 온도 pH 광 및 농도의 영향을 속도론적으로 실험하여 속도정수 등 안정도 파라메타를 구하여 그 안정성을 예측하여 보았으며, 또한 몇 가지의 첨가제가 Trimebutine maleate 수용액의 안정화에 미치는 영향을 검토하였다.

실험방법

재료 및 시약—Trimebutine maleate, (Han-Mi

Pharm. Co) Acetonitrile, Methanol, Tetrahydrofuran, Water는 Merck사 HPLC용 시약, 기타 시약들은 특급 혹은 일급시약을 사용하였다.

기구—HPLC(Waters : Injector U6K, Integrator 740, Detector 481, Pump 510) pH meter-Delta 120(Corning), UVA : (Black-light fluorescent tube 40W, F40T 10B, FL40S BL-B, Sanyo Denki, Output은 10 cm에서 2.5 mW/cm², Emission peak는 350 nm) Constant temperature and humidity bath(Thelco), UV/Visible spectrophotometer PU8800(Pye Unicam)

시험방법—시료 일정량을 해당 농도의 수용액을 만들어 밀봉용기에 넣고 밀봉하여 일정한 가속안정도 분석법[20]에 따라 안정성 시험을 시행하였다. 분해요인으로는 온도, pH 광(UV) 및 농도를 선택하였으며, 각 실험결과의 약물분해량은 HPLC법으로 정량하였다.

Trimebutine maleate의 정량—Trimebutine maleate 100 mg을 정확히 달아 증류수에 용해한 다음 100 m*l*를 만들고 항온기에서 일정시간 반응시킨 액 5 m*l*씩을 정확히 취하여 50 μg/m*l*의 농도로 희석하고, 0.45 μm의 Millex HV filter로 여과하여 아래와 같은 조건으로 고속 액체크로마토그래피법을 시행하였다.

Column : Novapak C_{18}, Mobile phase : 1*l*에 CH_3CN 600 m*l*, H_2O 350 m*l*, THF 50 m*l*, Doss 2.2g으로 섞은 후 인산으로 pH를 4.5로 조정, Flow rate : 0.8 m*l*/min, Sensitivity : 0.1 AUFS, Detector : 254 nm, Injection volume : 10 μ*l*, Concentration : 50 μg/m*l*

온도의 영향—Trimebutine maleate 100 mg을 정확히 달아 증류수에 용해하여 100 m*l*로 만든 후 이 액 10 m*l*씩을 용량 15 m*l*의 vial에 충전, 밀봉하여 40, 50, 60, 70 및 80℃의 각 온도에서 항온하여 일정한 시간간격으로 시료 5 m*l*씩을 취하여 100 m*l*로 희석한 다음, Triembutine maleate의 잔존량을 위의 HPLC법으로 정량하였다.

pH의 영향—Trimebutine maleate 100 mg을 정확히 달아 pH 1.0, 2.85(염산), pH 1.5, 2.0(U.S. P.XXI Hydrochloric acid buffer), pH 3.0, 3.4, 4.1 및 5.4(K.P. 시트르산 완충액)의 완충액으로 용해하여 0.1% 용액을 만들고 각 pH별 시료를 vial에 충전, 밀봉하여 60℃ 항온에서 방치시키면서 경시적으로 5 m*l*를 취하여 50 μg/m*l*의 농도로 희석시킨 다음, 수용액 중의 잔존 Trimebutine maleate 양을 HPLC법을 정량하였다.

광(U.V.) 분해시험—Trimebutine maleate 100 mg을 정확히 취하여 증류수에 용해하여 정확하게 100 m*l* 용액을 만들고 이 액 10 m*l*를 15 m*l* 용량의 cap tube에 넣고 Rack에 고정시킨 다음, 차광하에 10 cm 떨어진 곳에서 직각으로 자외선(UVA 350 nm)을 조사시켰다. 일정시간마다 시료 5 m*l*를 취하고 여기에 증류수를 가하여 50 μg/m*l*의 농도로 희석한 다음 수용액 중의 Trimebutine maleate의 잔존량을 HPLC법으로 정량하였다.

농도의 영향—Trimebutine maleate 100 mg을 정확히 달아 증류수에 용해시켜 0.05, 0.1, 0.2 및 0.5% 용액을 각각 만들고 각 시료 10 m*l*씩을 15 m*l* 용량의 vial에 충전, 밀봉하여 60℃에서 항온으로 반응시키면서 경시적으로 반응액을 취하여 용액 중의 잔존량을 HPLC법으로 정량하고 분해량을 산출하였다.

첨가제의 영향—수용액 중 Trimebutine maleate의 분해속도를 억제하는 안정제를 검색하고자 아미노산(Glycine, Alanine, Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid), 유기산(Citric acid), 항산화제($Na_2S_2O_5$, $NaHSO_3$), 킬레이트화제(EDTA-2Na) 및 다가 알코올(Sorbitol) 등을 Trimebutine maleate 수용액에 첨가하고 이들 첨가제가 분해반응에 미치는 영향을 검토하였다. 즉, Trimebutine maleate 100 mg을 증류수에 용해하고 첨가제를 각각 100 mg씩 넣은 후 증류수를 가하여 전체량을 100 m*l*로 하였다. 이 액 10 m*l*씩을 vial에 충전, 밀봉하여 60℃에서 10일간 방치하면서 일정시간 간격으로 그 액 5 m*l*씩을 취하여 대략 50 μg/m*l*의 농도로 희석한 다음 HPLC법으로 수용액 중의 잔존 Trimebutine maleate의 양을 측정하였다.

결과 및 고찰

Trimebutine maleate의 정량법—본 실험에 사용하기 위하여 모색한 HPLC법은 그 결과가 만족할만한 조건으로서 다음과 같은 크로마토그램을

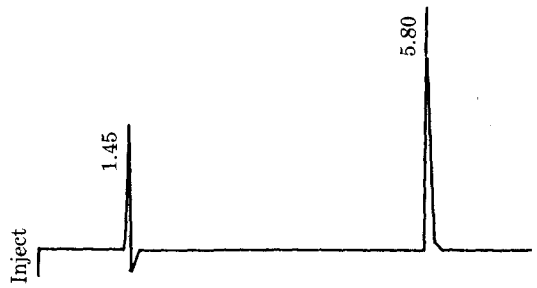

Fig. 1—HPLC chromatogram of TMBM standard solution.

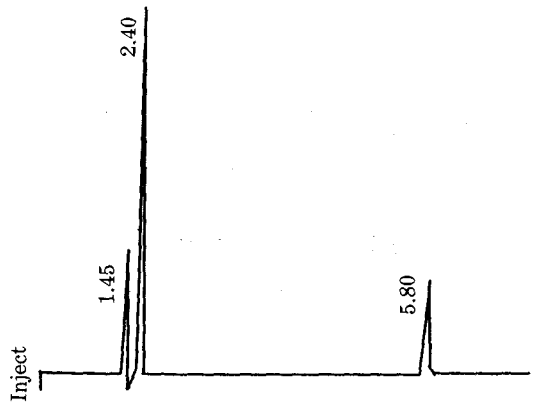

Fig. 2—HPLC chromatogram of TMBM after degradation at 60°C for 7 days.

얻었다(Fig. 1). 즉, 유지시간 5.80분에서 Trimebutine의 peak를 얻을 수 있었으며 1.45분에서는 Trimebutine maleate 중 meleic acid의 peak를 확인할 수 있었다.

Trimebutine maleate 수용액을 60℃에서 7일간 확대시킨 시료에 대하여 이 방법으로 고속 액체크로마토그래피를 행하여 얻은 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 즉, 유지시간 2.40분에서 3,4,5-trimethoxy benzoic acid의 peak를 확인할 수 있었다. 따라서 이 약물의 분해 메카니즘은 ester bond가 가수분해되어 분해성적체로 3,4,5-trimethoxy benzoic acid와 2-(dimethylamino)2-phenyl butanol가 생성되는 과정임을 확인할 수 있다.

위의 정량법을 사용하여 Trimebutine maleate의 농도별 크로마토그램으로부터 얻은 검량선은 Fig. 3에서와 같으며 이 논문에서 측정한 농도범위 0.5~5.0 mg/m*l*의 농도범위에서 직선성을 나타내었다. 동일농도의 Trimebutine maleate 표준액을

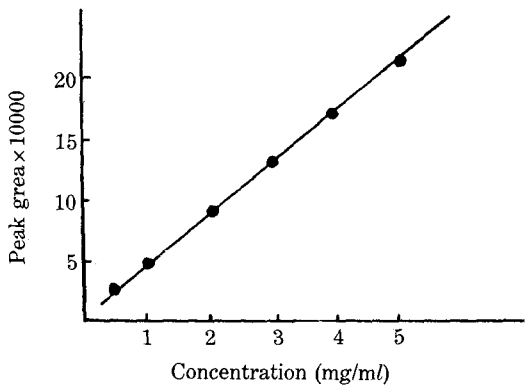

Fig. 3—HPLC Calibration curve of TMBM

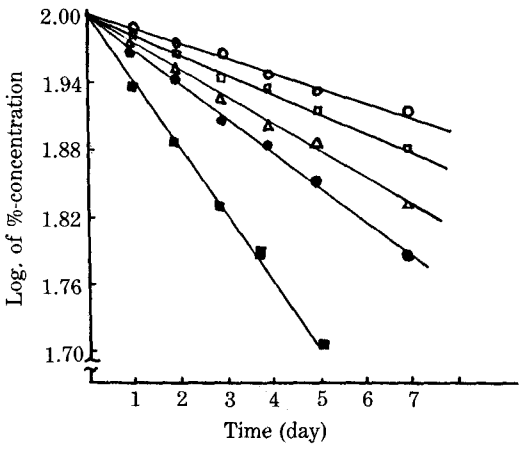

Fig. 4—First-order plots for degradation of TMBM at various temperatures.
Key; ○ --- 40°C, □ --- 50°C, △ --- 60°C, ● --- 70°C, ■ --- 80°C

가지고 5회 동일조작하여 정량할 때 얻은 함량의 평균값은 100.6%, 상대표준편차는 0.38%이었으며 최소자승법으로 구한 직선의 상관계수는 1.00이었다.

온도의 영향—Trimebutine maleate 수용액의 분해에 미치는 온도의 영향은 Fig. 4와 같이 직선으로 나타나서 수용액 중 Trimebutine maleate의 분해는 1차 반응적으로 분해됨을 알 수 있고 이로부터 구한 그들의 속도상수는 Table I과 같다.

각 온도에서의 속도상수를 사용하여 Arrehenius plot을 하면 Fig. 5와 같이 직선으로 나타나며 이 Arrehenius plot한 직선회귀방정식은 $\log K = 4.36 - 1.870 \times 10^3/T$이며 activation energy는 8.56 kcal/mole이고 frequency factor는 2.29×10^4

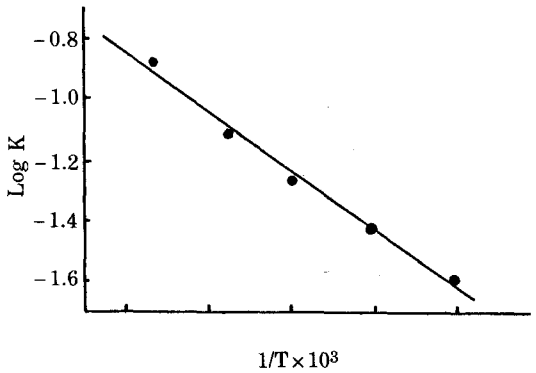

Fig. 5—Arrehenius plot for degreadation of TMBM.

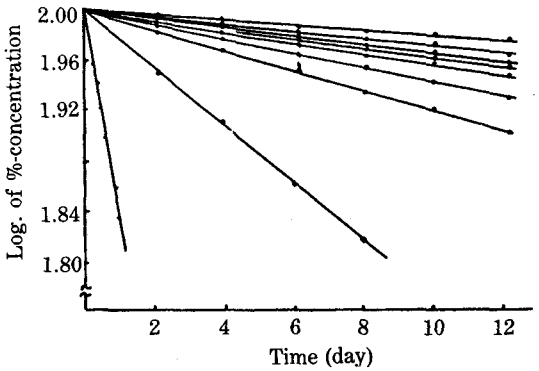

Fig. 6—First-order plots for the pH-dependent of TMBM at 60°C.
Key: 1; pH 2.85, 2; pH 2.00, 3; pH 1.50, 4; pH 3.00, 5; pH 1.00, 6; pH 3.20, 7; pH 3.40, 8; pH 4.10, 9; pH 5.40

Table I—Rate Constants (K), Half-life (t1/2) and Shelf-life (t90) of Trimebutine maleate at various Temperature

Temp (°C)	K (day^{-1})	$t_{1/2}$ (day)	t_{90} (day)
40	0.0265	28.9	4.39
50	0.0380	18.7	2.85
60	0.0540	12.4	1.88
70	0.0720	8.7	1.32
80	0.1360	6.0	0.92

Table II—Rate Constants for the Degradation of TMBM at Various pH at 60°C

pH	$K\times10^3$ (day^{-1})
1.00	9.4
1.50	7.9
2.00	6.4
2.85	5.3
3.00	9.0
3.20	12.8
3.40	18.0
4.10	53.0
5.40	321.0

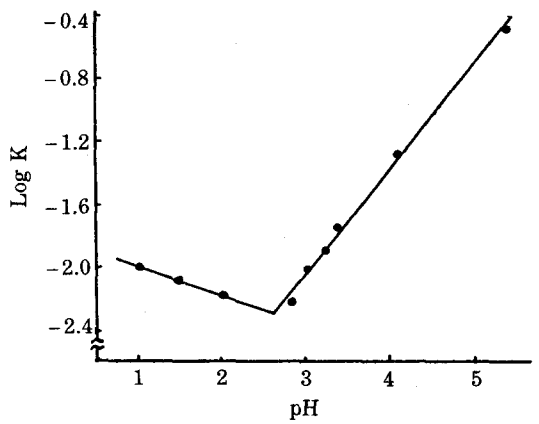

Fig. 7—Rate constants for the degradation of TMBM under various pH.

day^{-1}이다. 또한, Fig. 5의 직선으로부터 외삽하여 상온에서의 속도정수를 구하면 $K_{25}=1.2\times10^{-2}$이고 반감기 및 보존기간은 각각 57.8일과 8.8일인 것으로 나타나, 이 약물은 수용액 중에서 분해가 상당히 빠른 불안정한 약물인 것을 확인할 수 있었다. 또한 각 온도별 속도상수로부터 구한 반감기 및 보존기간은 Table I과 같다.

pH의 영향—각종 완충액으로 pH를 조정한 0.1% Trimebutine maleate 수용액을 밀봉용기에 넣고 60℃에서 확대시키면서 경시적으로 측정한 Trimebutine maleate 잔존량을 시간에 대하여 plot한 결과 Table II 및 Fig. 6에서 보는 바와 같이 분해곡선은 직선으로 나타나서 1차반응임을 확인하여 주었고 분해속도는 pH 2.85에서 가장 안정하였으며, pH 5.4에서 분해가 가장 신속하게 진행됨을 알 수 있고, 그 속도는 pH 5.40, 4.10, 3.40, 3.20, 1.00, 3.00, 1.50, 2.00, 2.85의 순서로 감소되었다.

다시 속도상수의 대수를 pH에 대하여 도시한 그림은 Fig. 7과 같다. 즉 Fig. 7에서 볼 수 있듯

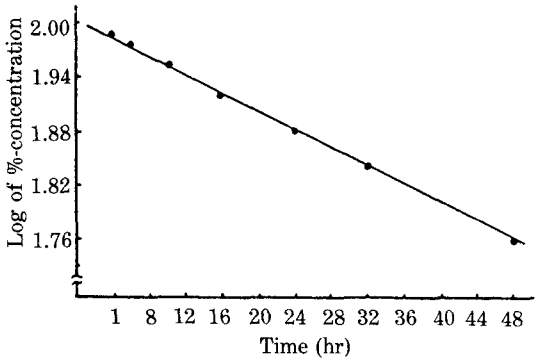

Fig. 8—Degradation of TMBM under UV light.

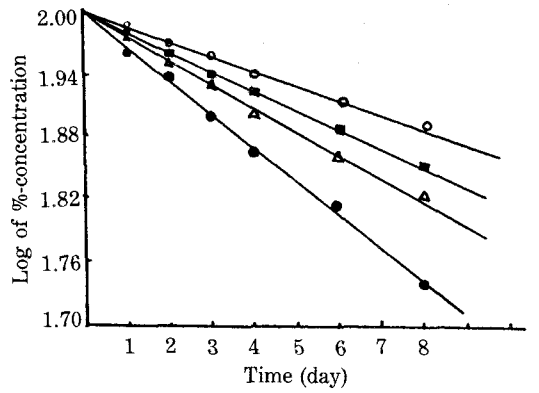

Fig. 9—Degradation for TMBM solutions of various concentration at 60°C.
Key: ○; 0.5%, ■; 0.2%, ▲; 0.1%, ○; 0.05%

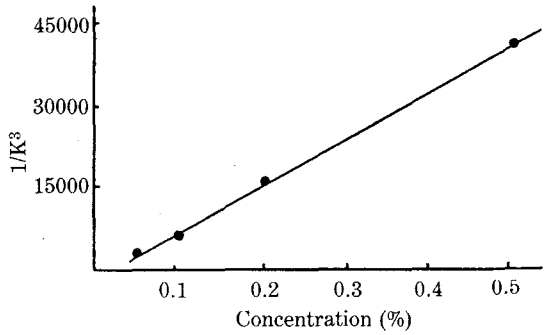

Fig. 10—Relationship between concentration and rate constants for the degradation of TMBM solution.

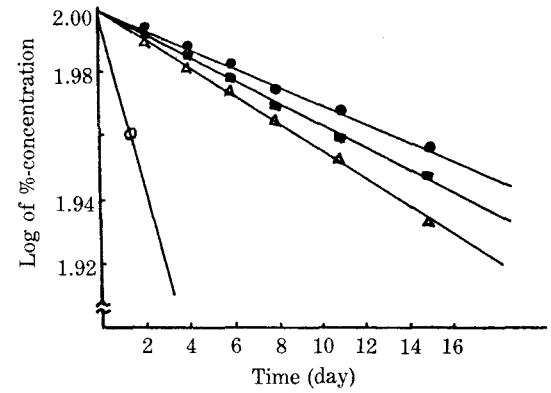

Fig. 11—Stability of TMBM solution stabilized with Citric acid, Aspartic acid and Glutamic acid
Key: ●; Citric acid, ■; Aspartic acid, ▲; Glutamic acid, *; Reference

이 반응속도에 미치는 pH의 영향은 크게 나타나서 수용액 중 Trimebutine maleate의 분해는 pH가 커다란 요인으로 작용함을 알 수 있다. 특히 Trimebutine maleate 수용액의 분해에 미치는 pH의 영향은 pH 2.0 이하와 pH 2.85 이상에서는 분해가 촉진되고, 약 pH 2.0~2.85 범위에서 안정하다. 이 결과는 본 약물의 분해반응이 고유 산-염기 촉매반응임을 알 수 있었다. 그러나 일반 산-염기 촉매효과는 확인되지 않았다.

광(U.V.) 분해—Trimebutine maleate 수용액의 분해속도에 미치는 자외선(UVA)의 영향은 Fig. 8과 같이 직선으로 나타났으며 이로부터 구한 속도상수는 $9.4\times10^{-3}hr^{-1}$로서 광(UV)이 수용액 중에서 Trimebutine maleate의 분해에 크게 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

농도의 영향—수용액 중 Trimebutine maleate의 분해에 미치는 농도의 영향은 Fig. 9와 같다.

Fig. 9에서 보는 바와 같이 농도 0.5% 수용액의 분해속도가 실험농도 범위에서 가장 안정하였고, 농도가 작아질수록 분해속도가 촉진되는 것을 볼 수 있어서 가장 묽은 0.05% 수용액의 속도상수가 $7.7\times10^{-2}day^{-1}$에 이른다. 또한, 속도상수를 농도에 대하여 도시하면 Fig. 10과 같이 직선관계가 성립하는 것을 확인할 수 있었으며 반응속도는 농도에 반비례함을 나타내었다.

첨가제에 의한 안정화—Trimebutine maleate 수용액의 안정화제로 사용한 첨가제 중 효과가 별무한 것을 제외하고 이 중 가장 좋은 분해억제효과를 나타낸 Citric acid, Aspartic acid 및 Glutamic acid 등 3종에 대한 영향은 Fig. 11과 같다.

Fig. 11에서 보는 바와 같이 3종의 첨가제가 refercence에 비해서 현저히 분해억제작용이 있다. 즉, 수용액 중 Trimebutine maleate의 분해에 미치는 첨가제의 안정화 순서는 reference의 속도상수가 5.4×10^{-2} day^{-1}인데 비해서 Citric acid(7.1×10^{-3} day^{-1}) > Aspartic acid(8.8×10^{-3} day^{-1}) > Glutamic acid(1.0×10^{-2} day^{-1})순으로 안정화되었고 그 중 Citric acid는, reference에 비해서 높은 안정화 효과가 있었다. 따라서 본 첨가제들은 Trimebutine maleate 수용액에 대하여 안정화제로서 활용이 가능하다고 생각된다.

Trimebutine maleate 수용액에 위의 첨가제를 가한 수용액의 pH는 Citric acid가 2.85, Aspartic acid가 3.20, Glutamic acid가 3.4로서 pH 증가가 이들의 안정화 순서와 일치한다. 이는 pH 2.85보다 pH가 상승함에 따라 Trimebutine maleate의 분해가 촉진되는 결과로서 앞서 검토된 용액의 완충 pH 영향의 결과와 잘 일치한다. 그러나 같은 pH에서 완충액의 경우와 첨가제의 경우 각각의 속도상수를 비교하여 보면, pH 2.85에서는 완충액($K=5.3\times10^{-3}$ day^{-1})이 첨가제(Citric acid, $K=7.1\times10^{-3}$ day^{-1})보다 크고 pH 3.2에서는 완충액($K=12.8\times10^{-3}$ day^{-1})이 첨가제(Aspartic acid, $K=8.8\times10^{-3}$ day^{-1})보다 작고 pH 3.4에서는 완충액($K=6.8\times10^{-2}$ day^{-1})이 첨가제(Glutamic acid, $K=1.0\times10^{-2}$ day^{-1})보다 작게 나타나서 같은 pH일지라도 pH 2.85에서만 완충액이 더 안정하고 pH 3.2와 pH 3.4에서는 첨가제를 가한 경우가 안정성이 크므로 이 약물의 안정성은 반드시 pH 의존성만이 아니라 첨가제 자체의 영향도 있는 것으로 사료된다.

결 론

수용액 중 Trimebutine maleate의 안정성에 미치는 온도, pH, 광 및 농도의 영향을 반응속도론적으로 검토하고 몇 가지 첨가제가 Trimebutine maleate 수용액의 분해억제에 미치는 효과를 검토한 결과 다음과 같다.

1. 수용액 중 Trimebutine maleate의 분해반응은 ester의 가수분해반응으로 1차반응 형태이며 온도상승에 따라 분해가 촉진되었으며($K_{25}=1.2\times10^{-2}$ day^{-1}, Ea=8.56 kcal/mole), 농도는 클수록 분해가 억제되었고 작을수록 촉진되었다.

2. Trimebutine maleate 수용액에서 광은 약물의 분해를 현격히 촉진시켰다($K_{25}=2.26\times10^{-1}$ day^{-1}).

3. 수용액 중 Trimebutine maleate의 분해에 미치는 pH의 영향이 가장 컸으며 그 반응기전은 고유 산-염기 촉매반응으로 pH 2~2.85에서 가장 안정하였고($K_{60°}=5.3-10^{-3}$ day^{-1}), pH 2.0 이하에서는 pH가 낮을수록, pH 2.85 이상에서는 pH가 높을수록 반응이 촉진되었다.

4. 첨가제 Citric acid($K_{60°}=7.1\times10^{-3}$ day^{-1}), Aspartic acid($K_{60°}=8.8\times10^{-3}$ day^{-1}) 및 Glutamic acid($K_{60°}=1.0\times10^{-2}$ day^{-1})는 Trimebutine maleate 수용액의 분해를 억제하여서 Trimebutine maleate 수용액의 안정화제로서 활용이 가능하였다.

문 헌

1) Torossian Dieran R, Aubard Gilbart G. *Ger. Offen.*, **2**, 151, 716 (1972).
2) Torossian Dieran R. and Aubard Gilbart, G. *ibid.*, **2**, 151, 718 (1972).
3) Linhart. P. Colo Irritable. *Therapiewoche*, **27**, 6396-6403 (1977).
4) Luttecki, K. *J. Int. Med. Res.*, **6**, 86-88 (1978).
5) D. Sasaki, A. Kido and Y. Yohsida. Effect of anitspasmodic drug on colonic motility Part 1, Laboratory study of the drug. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther and Toxicol.*, **22**, 33-337 (1984).
6) Riv. Farmacol. *Ther.*, **10**(4), 339-345 (1979).
7) Moshal, M.G.A Clinical Trial of Trimebtine (Mebutine) in spastic colon. *J. Int. Med. Res.*, **7**, 231-234 (1979).
8) Luttecke, K., A three-part controlled study of trimebutine in treatment of irritalbe colon syndrome. *Cur. Med. Res. Opin.*, **6**, 437-443 (1980).
9) Malavaud, A. Anesth. *Analy. Reanim.*, **29**, 65-69 (1972).
10) R. boa, G. Berto Lio, G. Terrizzi, A. and Parodi, E. The action of triembutine on the electrical and manometric activity of normal and pathological colon, *Rlv. Gastroenterol.*, **28**, 3-16 (1976).

11) Saito R., Hosono T. and Himeno S, *et al.* Effect of Trimebutine on human gastrointestinal tract motility. *Clin. Pharmacol.*, **9**, 237-250 (1978).

12) Mazzonone, O., Trovato G.M., Mandala, M.L. and Monello S, Trimebutine e motilita gastrica, Studio testiografica. *Clin. Ther.*, **95**, 625-235 (1980).

13) Tagenaga, H. Magaribuchi, T. Nosaka, K. and Tamaki, H. Effect of trimebutine maleate (TM-906) on the gastrointestinal motility in conscious dogs. *Folia Pharmacol Jpn.*, **80**, 271-278 (1982).

14) Takenaga, H., Magaribuchi, T. and Tamaki, H., Effects of trimebutine maleate (TM-906) on the spontaneous contraction of the isolated guinea pig stomach. *ibid.*, **80**, 163-168 (1982).

15) Kenji Yamada, Motohiro iizzuka and Osasi Takaiti. Effect of Trimebutine maleate on bethanecol- induced contractions of gastrointestinal tract in conscious and anesthetized dogs. *Jap. J. Pharmacol.*, **33**, 301-308 (1983).

16) Kenji Yamade, Motohiro iizzuka and Osasi Takaiti, *ibid.*, **33**, 177-181 (1984).

17) Hideyuki Takenaga, Tetsuo Magaribuchi and Hajime Tamaki. Effects of Trimebutine maleate (TM-906) on the smooth muscle of isolated guinea-pig gallbladder. *ibid.*, **35**, 439-443 (1984).

18) Fioramonti, J., Fageas, M., Bueno, L. The involvement of opiate receptors in the effects of trimebutine on intestinal motility in the conscious dog, *J. Pharm. Pharmacol.* **36**, 618-621 (1984).

19) Nosaka, Kunio, Takenaga, Magaribuchi and Tamaki. *Nipon Heikatsakin Gakkai Zasshi*, **20**, 407-412 (1984).

20) E.R. Garrett and R.F. Carper, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **44**, 515 (1955).

21) E.R. Garrett, *ibid.*, **45**, 171-470 (1956).