

## 吸光光度法에 의한 殺鼠劑 *N*-3-Pyridylmethyl- *N'*-*p*-nitrophenyl Urea(RH-28787)의 定量

金 博 光

서울대학교 藥學大學

### Spectrophotometric Determination of *N*-3-Pyridylmethyl-*N'*-*p*- nitrophenyl Urea in Rodenticide

Bak-Kwang Kim\*

(Received June 14, 1976)

Microanalysis of rodenticide by visible absorption method was attempted. The following procedure was found to be very simple and to give accurate results.

RH-28787 was added to dimethylformamide (DMF), and extracted after stirring for about 20 minutes in extractor (30°C). After extraction, the absorbance of DMF solution, was measured at 346 nm by using spectrophotometer.

The result agrees closely with the experimentally determined value by means of the gas chromatograph.

### 緒 論

最近 Roszkowski들에 의하여 選擇性殺鼠劑 norbormide가 개발되었으며 人畜에 毒性이 적기때문에 주목을 받고 있다.

\* College of Pharmacy, Seoul National University

또한 미국 Rohm & Haas Co.에서 合成한 RH-28787도 종래의 殺鼠劑에 比하여 人畜에 현저하게 毒性이 적다는 사실을 보고하고 있으며,<sup>1)2)</sup> 또 RH-28787 混合製劑를 gas chromatography<sup>3)</sup> 및 非水溶媒滴定法으로 測定한 結果를 보고하였다<sup>4)</sup>.

이에 著者는 國內의 殺鼠劑品目中 RH-28787의 吸光度法의 定量法을 確立코저 混合製劑를 TLC로 分離한后 Ehrlich's試藥 및 紫外燈으로 確認하였으며, 또한 製劑는 DMF溶媒에 녹인다음 여과하여 이 여액을 最大吸光波長에서 吸光度를 測定하였던바 有意性있는 結果를 얻었기에 報告코저한다.

## 實驗方法

**試藥**—silicagel(E. Merck 7731), *N,N'*-dimethylformamide(EC, Kanto), acetonitrile(G. R.), benzene(G. R.), methanol(G. R.), *p*-nitroaniline (PNA:G. R.), 3-aminomethylpyridine(3-AMP:G. R.), 1,3-*bis-p*-nitrophenylurea(*bis*-urea:G. R.), *N*-3-pyridylmethyl-*N'*-*p*-nitrophenylurea (RH-28787:Rohm & Haas Co. 合成品)

Ehrlich's reagent—1g의 *p*-dimethylaminobenzaldehyde를 methanol 30ml, HCl 3ml, 1-butanol 18ml에 녹인것.

**標準檢液調製(TLC用)**—RH-28787 98%, *bis*-urea 1.0%, 3-AMP 0.5%, PNA 0.5%의 組成比率로 標準液을 만들었다.

**裝置**—spectrophotometer(Beckmann D. U.), TLC plates(10×20cm<sup>2</sup>), TLC developing tank, extractor.

**標準操作**—RH-28787를 포함하고 있는 試料 1.361g(RH-28787 標準品 27.226mg에 해당)을 정확히 달아, 100ml用의 volumetric flask에 取하여, 여기에 DMF溶媒를 적당하게 채운다음 진탕기에서 20분간 진탕 추출시킨다음 DMF溶媒를 標線까지 채운다. 이것을 여과한后 여액 5ml를 取하여 50ml用의 volumetric flask에 넣고 DMF溶媒를 標線까지 채운다.

다시 이 희석된 溶液 5ml를 取하여 50ml用의 volumetric flask에 넣은 다음 DMF를 標線까지 채운다. 이 溶液을 1cm cell을 使用하여 DMF溶媒를 對照液으로 하여 最大吸收波長에서 吸光度를 測定한다.

## 結果 및 考察

**吸收曲線**—RH-28787 標準 DMF 溶液( $3.272 \times 10^{-5}M$ )을 標準操作에 따라 吸光度를 測定해본 結果 Figure 1과 같이 346 nm에서 極大吸收를 나타내었다.

抽出溫度 및 時間의 影響—試料에 DMF溶媒를 加하여 抽出함에 있어, 溫度20~35° 범위 내에서는 Figure 2와 같이 영향을 미치지 않았다. 抽出時間은 Figure 3과 같이 10分 정도 이면 抽出이 完結됨을 알 수 있었다.

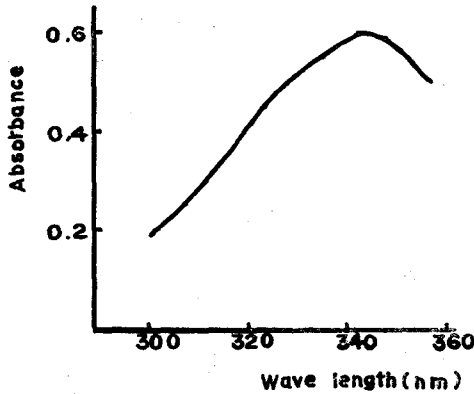


Figure 1—Absorption spectrum of RH-28787 DMF solution ( $3.272 \times 10^{-5}M$ ).

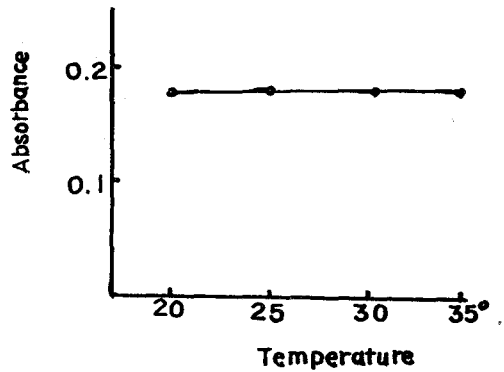


Figure 2—Effect of temperature on RH-28787 DMF solution ( $1 \times 10^{-5}M$ ) in the extraction procedure.

添加劑에 依한 影響—RH-28787 製劑中에 첨가되어있는 물엿, 가용성사카린, 식용유, tar 색소, 곡물 등은 波長 346nm에서 標準物質의 DMF溶液의 吸光度測定에 있어서 영향을 미치지 않으므로 一定量의 製劑에 DMF溶媒 一定量을 加하여 진탕 抽出한 后, 여과하여 이여 액을 上記의 最大吸收波長에서 바로 測定을 할 수 있었다.

檢量線—RH-28787 標準物質의 DMF 標準溶液( $1 \times 10^{-2}M$ )을 조제하여 이 溶液을 DMF 溶媒로 적당히 희석시켜 濃度범위가  $1 \times 10^{-5}M \sim 1 \times 10^{-4}M$ 이 되도록하여 1cm cell을 使用하여

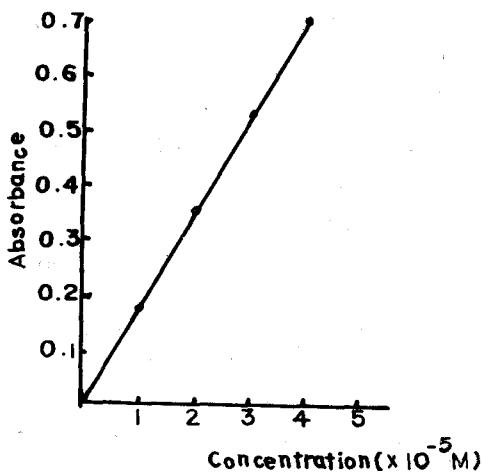


Figure 3—Effect of time on RH-28787 DMF solution ( $1 \times 10^{-5}M$ ) in the extraction procedure ( $\lambda_{max}$ :346nm, 30°C).

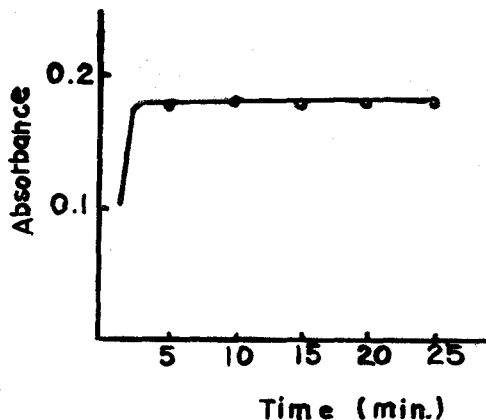


Figure 4—Calibration curve for the RH-28787 in DMF solution.

波長 346nm에서 各各의 吸光度를 測定하여 檢量線을 作成하였다. 檢量線은 Beer法則이 成立하였다(Figure 4).

標準物質의 分離 및 確認—試料檢液 (TLC用) 50ml와 對照標準液을 syringe로 TLC板에 點滴하여 건조시킨후 methanol 10ml와 benzene 90ml를 混合하여 만든 전개액속에 넣어 전개시킨다.

展開后 plate를 약간 加熱하여 溶媒를 휘산시킨다음 냉각시킨다. 다음 이 plate를 Ehrlich's시약으로 發色시키면 bis-urea, RH-28787과 PNA는 黃色, AMP는 黃綠色을 띠는 點으로 나타난다. 다른 方法으로는 紫外燈으로 照射하면 간단히 TLC板上의 위치를 確認할 수 있다. Rf値는 Table I과 같다.

Table I—Rf Valuer of RH-28787 Mixture by TLC

Compound	Rf Values	Colors <sup>a)</sup>
3-AMP	0.03	Yellowish-green
PH-87	0.31	Yellow
bis-Urea	0.56	Yellow
PNA	0.81	"

a): Spray reagent; Ehrlich's reagent

Recovery Test—下記處方, 即 RH-28787(27.2mg), 물엿(q. s.), 사카린(q. s.), 식용유(q. s.), tar색소(q. s.), 곡물(q. s.)을 調製하여 標準으로 하였다.

이 處方을 標準操作에 따라 實驗한 결과 本 定量法에 따른 recovery test의 結果는 平均 98.9%를 나타내었다(Table II).

Table II—Recovery Data of RH-28787

Test	Found(%)
1	97.6
2	101.3
3	98.2
4	100.6
5	96.8
Average	98.9

製劑中 RH-28787의 定量—市販되는 RH-28787製劑 적당량을 取하여 유발에서 가루로 만든 다음, 이 試料 1.361g을 달아, 標準操作에 따라 實驗한 結果는 Table III과 같이 첨가제의 分離操作을 하지않고 바로 定量할 수 있음을 잘 나타내고 있다.

**Table III**—Determination of RH-28787 in Preparation

Sample	Manufacturer	Contents of RH-28787(%)
1	A	98 <sup>a)</sup>
2	A	103
3	A	101

a): Average of three determinations.

## 結 論

RH-28787의 原料 및 製劑中 成分의 基準分析法을 確立함에 있어서 測定操作이 簡便하고 再現性이 良好하며 實用的인 面에서도 應用性이 있는 吸光光度法을 고안하여 市販 RH-28787 單一製劑의 成分含量을 測定해 본 結果 gas chromatography法으로 산출한 結果와 一致하였다.

## 文 獻

- 1) D.L. Peardon, *A New Selective Rodenticides Proceedings-Sixth Vertebrate Pest Conference* 58-69 (1974)
- 2) A.P. Roszkowski, *Selective Rat Toxicant Sci.*, **144** (1974)
- 3) C.R. Carpenter, *Technical Bulletin*, 1438, *January* (1974)
- 4) C.R. Carpenter, *Company Confidential*, Philadelphia Research, *December* 13, p017 (1973)