

ORD 및 CD에 의한 Tropane Alkaloid의 定量에 관한 研究(I)

Hyoscine-N-butylbromide의 定量

白南豪 · 朴萬基 · 廉貞祿 · 金叡淑

서울대학교 藥學大學

(Received June 3, 1979)

Nam Ho Paik, Man Ki Park, Jeong Rok Youm and Ye Sook Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Studies on the Determination of Hyoscine-N-butylbromide by ORD and CD(I)

Abstract—The ORD and CD for hyoscine-N-butylbromide present curves of negative Cotton effect in 190~250nm region. The values of α_{232} , α_{208} , $|\alpha_{232}| + |\alpha_{208}|$ and $\theta_{221.5}$ have linearities in the range of lower concentration (hyoscine-N-butylbromide 0.01-0.1w/v%). It is possible to determine the optical purity of hyoscine-N-butylbromide by using these linearities. This experiment is extremely simple and less time-consuming than other methods for estimating optical purity.

光學異性體는 物理化學的 性質은 서로 비슷하나 生理活性이 전혀 다른 것이 많으며 藥을 製造하는 과정에서 열 等에 의해 racemization 되어 그 藥效가 減少하는 수가 많다. 따라서 정확한 藥效 評價를 위해서는 optical purity (racemate를 제외한 순수한 l-form 또는 d-form의 量)나 stereospecificity (l-form 또는 d-form의 總量)를 測定 研究할 必要가 있다.

이에 著者 등은 光學異性體를 主成分으로 하는 醫藥品의 ORD 및 CD에 의한 微量 定量法에 관한 研究의 一環으로서 hyoscine-N-butylbromide(이하 HNBB로 略)와 sulpyrine의 複合 製劑中の HNBB 定量法에 대하여 檢討하였다.

HNBB는 l-hyoscine(一名 l-scopolamine)의 誘導體로서 담낭계 소화비노기계 等の 격렬한 경련성 疼痛 등에 진동 진정제로 널리 服用되는 醫藥品이다. 이 약의 定量法으로는 UV法¹⁾, BTB를 利用한 比色法²⁾ 및 전위차 적정법 등이 있으나 이러한 定量法들은 optical purity를 測定할 수 없으므로 사실상 藥效에 대한 精確한 評價라고 볼 수 없다.

HNBB는 溶媒를 물로 했을 경우 $[\alpha]_{232} = -2.8 \times 10^3$, $[\alpha]_{208} = 6.8 \times 10^3$ 이고 $[\psi]_{221.5} = -5.4 \times 10^3$ 으로, negative Cotton effect를 보인다. α_{232} , α_{208} , $|\alpha_{232}| + |\alpha_{208}|$, $\theta_{221.5}$ 는 검체의 0.01~0.1% (w/v) 濃度 範圍에서 良好한 直線性을 나타낸다. ORD 및 CD 測定値는 optical purity를 나타내는 것이며 이를 利用하여 stereospecificity를 계산하므로써 HNBB의 l-form만을 定量할 수 있고, 또 그 실험 방법이 극히 簡單 신속하다는 利點을 가지고 있으므로 이에 報告하고자 한다.

實驗 方法

試 藥——標準品(HNBB)은 C. H. Boeringer 製물, chloroform은 Kanto Chem.의 特級 試藥

을, 그 외의 試藥들은 市販되는 特級 또는 一級 試藥을 使用하였다. 물은 一次 蒸溜水를 脫이온하여 使用하였다.

機器—recording spectropolarimeter 는 Jasco model J-20C 를, cell 은 層長이 1mm 인 石英 cell 을 使用하였다. ultraviolet spectrophotometer 는 Unicam SP 1750 을, cell 은 層長이 10mm 인 石英 cell 을 使用하였다.

標準 操作—HNBB(標準品) 일정량을 正確히 취해 脫이온水에 녹여 100, 250, 500, 750, 1000 μ g/ml 溶液을 만들어 標準溶液으로 한다. 試料溶液은 檢體 일정량(HNBB로 5mg 해당량)을 精確히 취해 50ml 共栓遠心管에 넣고 클로로포름 15ml 를 加한 다음 Vortex mixer 로 5분간 진탕한 후 glass filter 로 여과한다. 共栓 시험관에 모은 濾液을 온탕에서 질소 기류를 통하여 클로로포름을 완전히 追出한다. 잔사에 脫이온水 10ml 를 精確히 取해 넣고 이것을 ultrasonic cleaning tank 에 30 초 가량 浸漬하여 殘渣를 완전히 溶解시킨다(0.05w/v%). 필요하면 여과 또는 遠心分離하고 Table I 의 측정조건에서 α_λ (optical rotation) 및 θ_λ (ellipticity)를 측정한다. 각 標準溶液의 ORD 및 CD 의 측정에 의해 얻어진 α_λ 값과 θ_λ 값으로 각각의 檢量線을 작성한다. 각각의 檢量線에 의해 試料 용액중의 HNBB(*l*-form) 含量을 구한다.

Table I—ORD & CD conditions

	ORD	CD
wavelength	208nm, 232nm	221.5nm
Scale	10m ^o /cm	5m ^o /cm
S. B. W	1	1
Time Constant	64	16
Cell	1mm	1mm

檢量線에 의해 試料 용액중의 HNBB(*l*-form) 含量을 구한다.

實驗 및 考察

測定 條件의 檢討—1) 測定 波長: HNBB의 ORD 및 CD 곡선은 Fig.1 과 2 에 나타난 바와 같이 208nm 와 232nm 에서 α 값이 最大 및 最小이 되고 221.5nm 에서 θ 값이 最小이 되므로 그 각 波長들을 測定 波長으로 選擇하였다.

2) 溶媒의 選擇: HNBB 를 Table II 에서와 같이 여러가지 溶媒에 溶解시켜본 결과 1,2-dichloroethane 과 dioxane 에는 不溶이었고, 클로로포름에는 易溶이나 클로로포름이 250nm 이하에서 强하게 吸光하므로 不適當하며, 에탄올, 메탄올, 물에는 易溶이며 200~240nm 부근에서의 溶媒 자체의 吸光이 거의 無視될 수 있었다. 그러나 Fig.1 과 2 에서와 같이 溶媒效果에 의해서 서로 다른 곡선을 나타내었다. 물을 용매로 사용했을 때 가장 큰 α_λ 와 θ_λ 값을 가지므로 물을

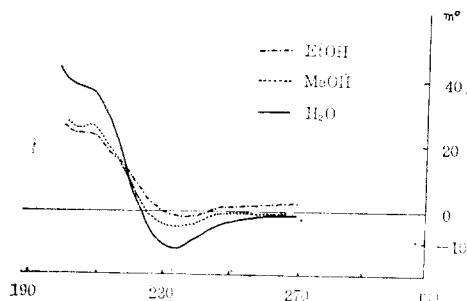


Fig. 1—ORD curves of hyoscine-N-butylbromide

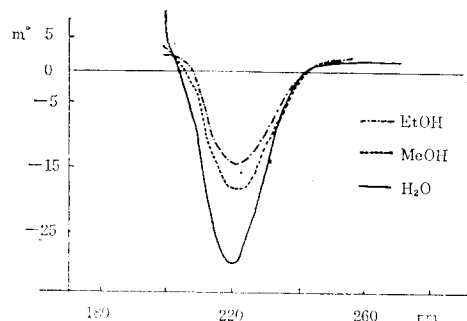


Fig. 2—CD curves of hyoscine-N-butylbromide

溶媒로選擇하였다.

3) 測定濃度 및 層長 : photomultiplier의 dinode voltage가安定域에 들어 있는範圍, 즉 $OD < 1.5$ 인範圍內에서 될 수 있는 한 높은濃度を選擇하는 것이 S/N ratio가 가장 좋으므로 測定溶液의吸光에 의한 영향을最小로 하고 가장感도가 좋은測定條件을檢討한結果, HNBB 0.01~0.1 w/v%에서 Table I의測定條件이 가장良好한 것을 알았다.

檢量線——標準操作에 의하여檢量線을作成한結果는 다음의 Fig. 3, 4, 5와 같았다.

共存成分의 영향——190~250nm에서光學活性이 있는物質 및 그波長 영역에서 강한吸光($OD > 1.5$)을 나타내는物質은 HNBB의 ORD 및 CD測定을妨害한다. 따라서 이러한物質이共存하는 경우에는測定하기前에除去해야 한다.市販 HNBB製劑中에含有되어 있는sulpyrine은 위波長領域에서光學活性은 없으나吸光度가 매우 크므로 제거해야 했다.

抽出溶媒의選擇 및 使用量——HNBB와 sulpyrine의 각 용매에 대한 용해성은 Table III과 같으며 따라서 클로로포름을抽出溶媒로選擇하였다. 클로로포름의 量을 5ml로부터 20ml까지 변화시켜가며抽出率을檢討한 결과, Fig. 6에 보이는 바와같이 5분간의 진탕으로 10ml以上에서 일정한抽出率을 보였다. 이 실험에서는 15ml를 사용하였다.

製劑에의 응용——最近에製造된市販 HNBB製劑 몇가지를取하여標準操作에 따라分析한 결과를Table IV에 나타내었다. 이 실험으로 알 수 있는 것은 optical purity이다.

結 論

光學活性이 있는物質의 정확한藥效評價를 하는데 있어서는 optical purity와 stereospecificity

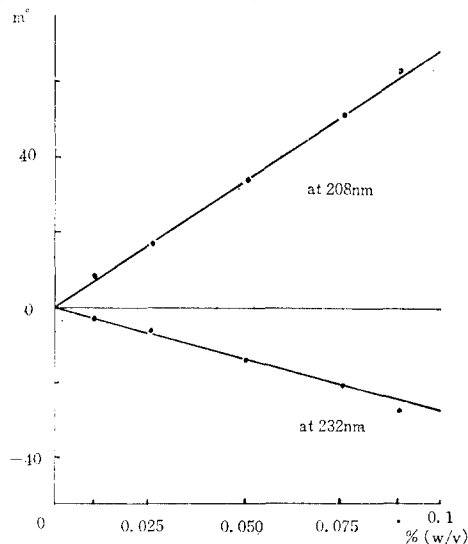


Fig. 3—ORD calibration curve of hyoscine-N-butylbromide.

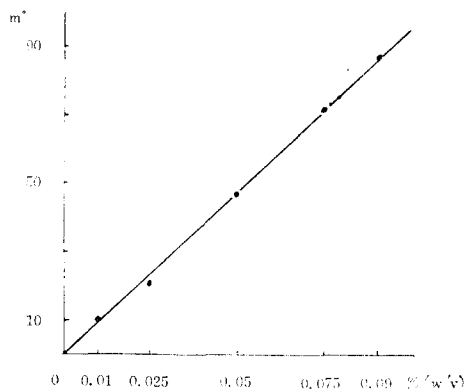


Fig. 4—ORD calibration curve of hyoscine-N-butylbromide. ($|\alpha_{232}| + |\alpha_{208}|$)

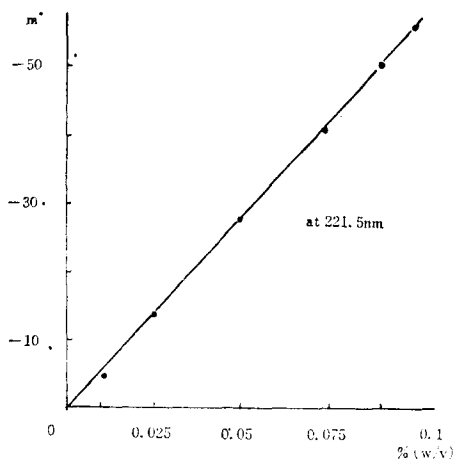


Fig. 5—CD Calibration curve of hyoscine-N-butylbromide.

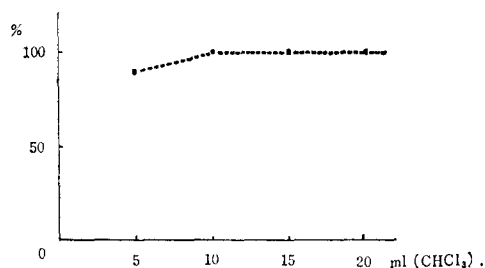


Fig. 6—Effect of extracting solvent volume

Table III—Solubility of hyoscine-N-butylbromide and sulphyrine

Solvent	Hyoscine-N-butylbromide	Sulpyrine
water	++++	++++
ethanol	++	+
methanol	+++	++
ether	--	--
acetone	--	--
benzene	--	--
chloroform	+++	---

Table IV—Determination of hyoscine-N-butylbromide in preparations

Sample	P (%)*	Optical Purity (%)	Racemate (%)**	Stereospecificity (%)***
A	83.9	77.8	6.1	80.9
B	106.1	94.4	11.7	100.3
C	104.8	92.6	12.2	98.7
D	100.7	80.2	20.5	90.7

*P: HNBB Percentage by VIS & AA Spectrophotometry.

**Racemate = P - Optical Purity.

***Ste. Sp. = Opt. Pur + 1/2 Race.

를測定하는 것이 가장 效果的인 바 ORD 및 CD를 使用하므로써 이들을 簡單, 迅速, 正確히 알아낼 수 있다. HNBB는 光學活性物質로서 ORD 및 CD測定値는 0.01~0.1 w/v% 濃度範圍에서 良好한 直線性を 보였다. HNBB의 市販 製劑에 응용해 본 결과, 이 實驗 方法은 賦形劑, 溫度 등의 影響이 적고, 극히 簡單 迅速하므로 醫藥品의 品質管理에 많은 活用이 기대된다.

文 獻

1. E. G. C. Clarke, Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, 2, 1050(1971).
2. E. G. C. Clarke, *ibid.*, 2, 917(1971).
3. 令堀和夫, 旋光性, 東京化學同人, 東京 1963.
4. C. Nicolau, Experimental Methods in Biophysical Chemistry, John Wiley and Sons, Ltd., New York, p. 67, 1973.
5. C. Djerassi, Optical Rotatory Dispersion Application to Organic Chemistry, McGraw-Hill Co., Ind., U. S. A., 1960.