

合成樹脂 容器가 FAD 水溶液의 安定性에 미치는 影響

李 啓 胃 · 兪 炳 高

國立保健研究院 · 서울大學校 藥學大學

(Received August 3, 1979)

Gye Ju Rhee and Byung Sul Yu

National Institute of Health, Seoul 122, and College of Pharmacy, Seoul National University
Seoul 151, Korea

Effect of Synthetic Resin Container on the Stability of FAD Solution

Abstract—Experiments were carried out to investigate for the interaction between FAD solution and synthetic resin containers made of polyvinylchloride(PVC), polyethylene(PE), and polycarbonate(PC), and for the effect of glycyrrhizine or malic acid on stabilization of FAD in aqueous solution by accelerated stability analysis. Analysis of FAD was determined by means of spectrometer and by separating by paper chromatography and metal ions were detected by atomic absorption spectrophotometer, which were extracted from containers by means of Food and Additive Regulation Standard. The thermal decomposition of FAD in aqueous solution was pseudo first order reaction and it was inhibited by adding glycyrrhizine or malic into the solution. PVC, PE and PC containers accelerated the decomposition of FAD in solution. It is assumed that bivalent heavy metals in resin containers may catalize the hydrolysis of FAD. The metals detected from the containers were Ca, Zn, Cu, Fe, Pb and Cd. And the total amounts of detected metals from PVC were 6.2mcg/cm², PE, 5.5mcg/cm², and PC, 2.7mg/cm² which were proportional to the rate constant of FAD decomposition in aqueous solution.

FAD (flavin adenine dinucleotide)는 水溶性이며 生化學活性이 커서 riboflavin 에 의해서 잘 治癒되지 않는 riboflavin 缺乏 患者에 대하여 非經口的으로 投與되는 일이 많고, riboflavin 의 缺乏이나 代謝障害가 關與된다고 推定되는 角膜炎이나 眼瞼炎에 點眼劑로 使用되는 化合物이나 이 目的에 適合한 液劑의 安定性에 관해서는 아직 많은 問題點이 남아 있다.

FAD는 強酸性이나 鹽基性에서는 極히 不安定하여 riboflavin 또는 flavinmononucleotide, adenine, adenosine 등의 構成 成分으로 加水分解되어 FAD 本來의 生化學的 活性을 喪失할뿐 아니라, 比較的 安定한 中性이나 微酸性의 水溶液中에서도 長時間의 保存이나 2價 金屬이온의 夾雜에 의해서도 分解되어 活性을 잃는다. 2價 金屬中에서도 重金屬이온이 分解를 촉진시키며 특히 Cu⁺ Pb⁺ Zn⁺ 등은 FAD의 pyrophosphoric acid 結合의 解裂을 일으켜 活性이 없는 4'-5'-

cyclic flavin mono phosphate의 生成을 促進한다고 알려져 있다.

따라서 FAD의 分解를 防止할 目的으로 安定化方案이 많이 摸索되어 왔다. 즉 金屬이온에 의한 分解促進을 防止하고자 여러가지 金屬 chelate 試藥을 添加하였고, 그밖에 EDTA, 有機酸¹⁾ 혹은 아미노산의 添加가 FAD 水溶液을 安定化시킨다고 보고 되었다. 그외 Amingham³⁾, 石田⁴⁾, 八木⁵⁾를 비롯하여 日本特許^{6~12)}와 堀田¹³⁾ 畑¹⁴⁾ 등은 FAD 水溶液의 安定化方法으로서 安定劑의 添加面에서만 檢討하여 왔다. 그러나 아직까지 報告된 添加劑로서는 醫藥品으로 사용하기가 適當하지 못하거나 効력이 充分하지 못한 現實이다.

이에 著者들은 添加劑에 의한 FAD 水溶液의 分解阻止 効果와 근래 愛用되는 合成樹脂가 FAD 水溶液과 相互作用에 의하여 일어날 수 있는 分解를 把握하고자 polycarbonate, polyethylene 및 polyvinylchloride 容器가 glycyrrhizin 과 malic acid를 添加한 FAD 水溶液에 미치는 影響을 反應速度論으로 檢討하였다.

實驗 方法

試料—FAD는 日本 wakadenin社 製品, flavin adenine dinucleotide disodium 鹽을 사용하였고 容器로서는 2ml ampoule 과 polycarbonate, polyethylene 및 polyvinylchloride 眼藥 容器를 사용하였다.

加速度 測定 試驗—0.1%-FAD 溶液(磷酸緩衝液 pH=7.0)을 각 容器에 넣고, 添加劑로는 glycyrrhizine(0.01%)과 malic acid(0.001%)를 加하여 ampoule 에 넣은 다음 密封하여, 40° 60° 및 100°C에서 加速度測定試驗을 行하고 一定時間마다 試料를 採取하여 FAD 殘留量을 測定하였다.

FAD 定量—試料溶液 0.1ml를 濾紙에 點滴하고 paperchromatography 法으로 暗所에서 分離(*n*-Butanol: Ethanol:H₂O=10:3:7)한 다음, 乾燥後 FAD 帶를 紫外線下에서 確認하고 切取하여 10ml의 飽和 (NH₄)₂SO₄ 溶液으로 抽出¹⁵⁾한 다음 spectrophotometer (Varian, Cary 219)로 448nm 波長에서 吸光度를 測定하여 定量하였다.

吸收 曲線—FAD 溶液과 添加劑를 加한 溶液을 60°C에서 8時間 加溫한 다음, 上記 spectrophotometer(chart display 10, scan rate 1.0, Rang 1.0)로 測定하였다.

金屬이온 測定—合成樹脂 容器 一定量을 取하여 食品 및 添加物規格基準¹⁶⁾ 合成樹脂製의 容器 및 包裝試驗法中 重金屬試驗法을 準用하여 單位面積當 浸出液 2ml/cm²로 浸出하여 蒸發 乾固시킨 다음, 5%-HNO₃ 一定量에 溶解시켜 atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer, Model 403, air acetylene flame)로, Pb Cd Zn Ca Cu Fe 金屬에 대하여 檢出 및 定量하였다.

結果 및 考察

加速度 測定 試驗 結果에서 얻은 FAD 分解殘留量을 對數로 取하고 時間에 대하여 plot 하면 Fig. 1~3 과 같이 直線關係가 成立하였고, 이를 試料別로 表示하면 Fig. 4~7 과 같다. 따라서 水溶液中의 FAD 分解反應은 擬 1次 反應으로 看做되며 反應速度式으로부터 速度定數를 求해보면 Table I 과 같다. 즉 FAD 水溶液은 glycyrrhizine 이나 malic acid의 添加로 分解速度를 상당히 阻止시킬 수 있다. 安定劑의 添加에 의한 FAD 分解의 阻止機轉에 대해서는 報告된바 없으나 이들의 可視部 吸收 spectrum의 變化를 보면 Fig. 9와 같다. FAD 極大吸收波長 448nm

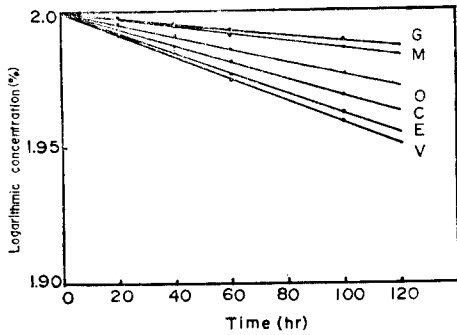


Fig. 1—Decomposition rate of FAD solutions in resin containers and in addition of stabilizers at 40°

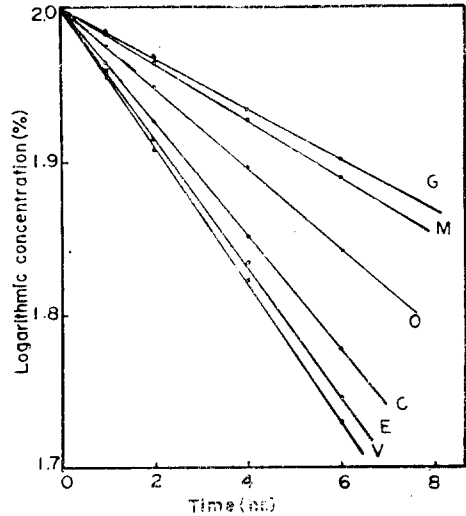


Fig. 2—Decomposition rate of FAD solutions in resin containers and in addition of stabilizers at 60°

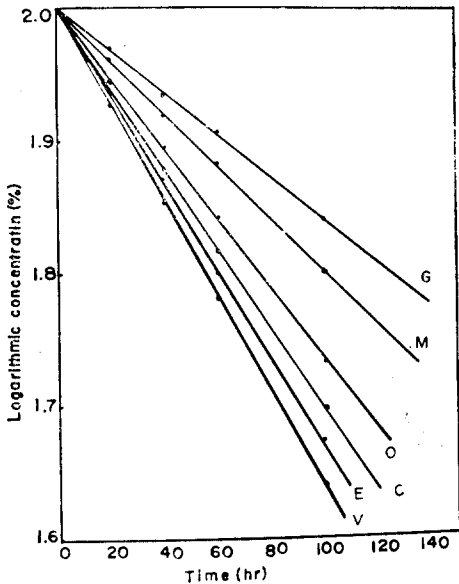


Fig. 3—Decomposition rate of FAD solutions in resin containers and in addition of stabilizers at 100°

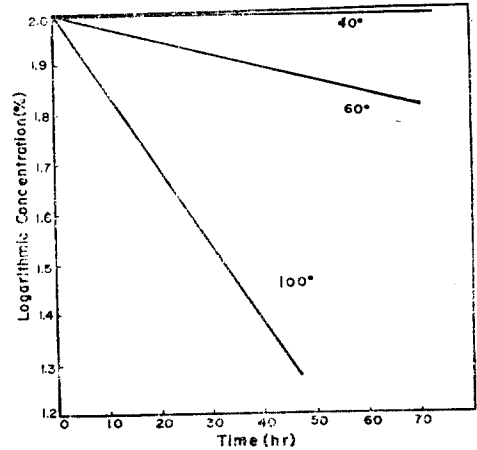


Fig. 4—Accelerated breakdown of FAD solution added glycyrrhizine at elevated temperature.

가 glycyrrhizine 444nm의 添加로 444nm로 變하며, malic acid가 添加되었을 때는 456nm로 變化되었고, 369nm의 吸收波長은 glycyrrhizine의 경우 374nm로, malic acid의 경우는 377nm로 變化되었다. 이는 添加劑에 의한 安定化作用이 FAD와 添加劑 사이에 어떠한 電子的 相互作用이 일어난다고 推定된다.

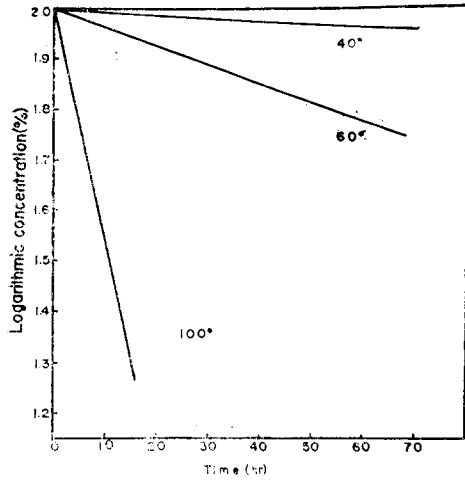


Fig. 5—Decomposition rate of FAD solution in PC container at elevated temperature

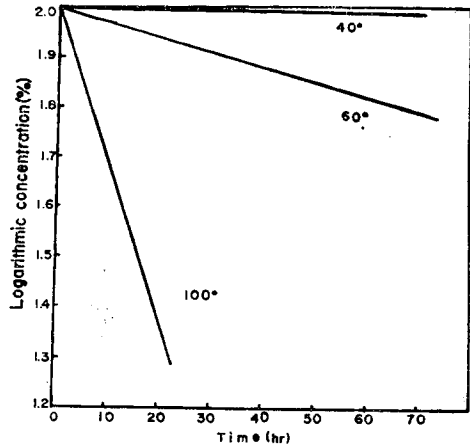


Fig. 6—Accelerated breakdown of FAD solution in PE container at elevated temperature

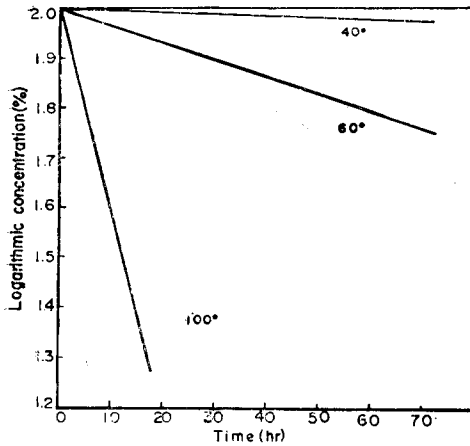


Fig. 7—Accelerated breakdown of FAD solution in PVC container at elevated temperature.

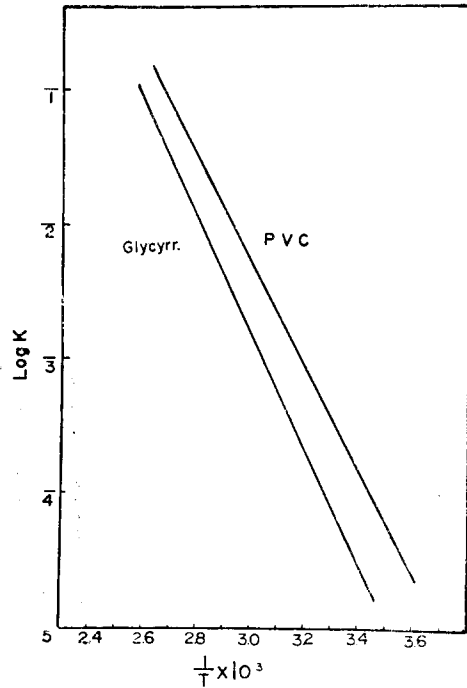


Fig. 8—Plot of log against $1/T$ the thermal decomposition of FAD solution

Table 1의 分解의 比反應 速度 定數의 對數를 絕對溫度의 逆數에 대하여 圖表를 그리면 直線을 얻을 수 있다(Fig. 8). 이 結果로 나타나는 直線은 室溫(25°)으로 外插시킬 수 있어서 半

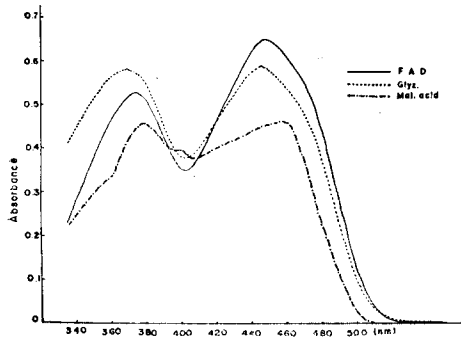


Fig. 9—Visible absorbance spectra curve of FAD solution with and without addition stabilizer

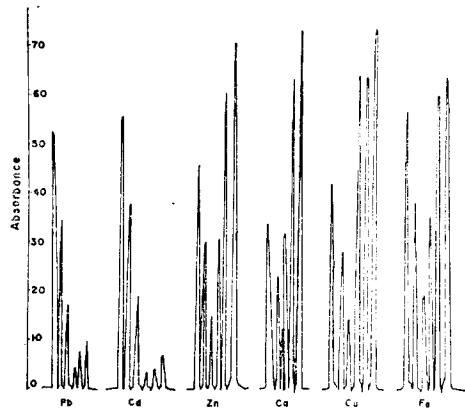


Fig. 10—Atomic absorbances of metals detected from resin containers.

Table I—Apparent Rate Constants, Activation Energies and Half-lives of FAD Decomposition

Sample	Rate Constant (hr ⁻¹)			Activation Energy cal. mole ⁻¹ deg. ⁻¹	Half-life (day)
	40°	60°	100°		
Glycyrr.	3.823 × 10 ⁻²	1.763 × 10 ⁻³	2.533 × 10 ⁻⁴	571	401
Mal. acid	4.222 × 10 ⁻²	2.8 × 10 ⁻³	2.993 × 10 ⁻⁴	613	336
Control	6.137 × 10 ⁻²	3.407 × 10 ⁻³	5.296 × 10 ⁻⁴	771	299
Polycarb.	8.486 × 10 ⁻²	4.427 × 10 ⁻³	6.909 × 10 ⁻⁴	908	160
Polyethyl.	9.815 × 10 ⁻²	5.047 × 10 ⁻³	8.29 × 10 ⁻⁴	970	107
PVC	1.009 × 10 ⁻²	5.582 × 10 ⁻³	9.672 × 10 ⁻⁴	1021	84

減期를 算出하면 Table I 과 같다. FAD 水溶液의 半減期는 약 300 日이고 添加劑에 의해 安定化된 試料는 약 400 日이며 그外 樹脂 容器 試料는 84~160 日로서 分解가 상당히 促進된다.

Arrhenius' equation 으로부터 activation energy 를 求하여 溫度의 影響을 검토하여 보면 Table I 과 같다. 즉 安定化시킨 FAD 水溶液은 activation energy 가 약 600cal mole⁻¹ deg⁻¹ 인데 樹脂 容器 試料는 약 1000 cal mole⁻¹ deg⁻¹ 로서 反應速度가 比例的으로 커진다.

樹脂 容器로부터 溶出되는 2價 金屬을 Table II 와 Fig. 10 에서 보면 檢出對象으로한 金屬鹽으로 Pb, Cd, Zn, Ca, Cu, Fe 를 모두 檢出할 수 있었으며 金屬中에서는 Ca 이 가장 많이 檢出되었고 (1.79~4.25mcg/cm²), Zn, Cu, Fe, Pb, Cd 의 順으로 그 量을 測定할 수 있었다. 容

Table II—Detected Metals from Resin Containers(ug/cm²)

Sample	Pb	Cd	Zn	Ca	Cu	Fe	Total
Polycarbonate	0.0387	0.0026	0.6543	1.7986	0.1503	0.0606	2.7048
Polyethylene	0.0730	0.0031	1.5098	3.7034	0.1499	0.1025	5.54317
Polyvinylchlor	0.0915	0.0062	1.5963	4.2507	0.1443	0.1105	6.1995

器別로는 Cu를 除外하고 모든 金屬이 PVC, PE, PC의 順으로 檢出되었다. 즉 PVC는 總 金屬量 6.2mcg/cm², PE는 5.5mcg/cm², PC는 2.7mcg/cm²이다. 溶出된 金屬量은 FAD의 分解 速度와 相關性을 갖으며, 이들 金屬이온은 FAD의 pyrophosphoric acid bond의 解裂을 일으켜 非活性體가 된다는 說과 一致하였으며, 이는 合成樹脂가 FAD 分解를 促進시키는 原因의 하나가 合成樹脂에서 溶出된 2價 金屬이온의 觸媒作用에 其因한다고 생각할 수 있다. 따라서 FAD 液劑의 容器로서 合成樹脂를 사용할 경우에는 FAD와의 相互作用에 의한 分解促進 與否를 검토하여 原料樹脂에 配合되는 金屬비누와 같은 安定劑나 可塑劑의 選擇 등 適切한 規格이 필요할 것으로 思料된다.

結 論

1) 合成樹脂 PVC, PE 및 PC 容器는 水溶液中の FAD 分解를 促進시키며, 이는 樹脂로부터 溶出된 2價 金屬量과 相關關係를 갖는다.

2) 合成樹脂에서 溶出된 2價 金屬의 總量은 PVC가 6.2mcg/cm²로 가장 많고, PE가 5.5mcg/cm²이며 PC가 2.7mcg/cm²로 가장 작았다.

3) 樹脂容器로부터 檢出한 2價 金屬은 Ca(4.25~1.8mcg/cm²)이 가장 많고, Cd(0.0062~0.0026mcg/cm²)이 가장 작았으며, Zn(1.6~0.65mcg/cm²), Cu(0.15~0.14mcg/cm²), Fe(0.11~0.06mcg/cm²), Pb(0.09~0.04mcg/cm²)의 順이다.

4) glycyrrhizine과 malic acid의 添加는 水溶液中の FAD 分解를 상당히 阻止하였으며, 이들 FAD 水溶液의 分解反應은 擬1次 反應이다.

文 獻

1. 日本 特許, 昭 35-15600(1960).
2. *ibid.*, 昭 43-10861(1968).
3. E. S., Amingham, *J. Biol. Chem.*, **158**, 49(1945).
4. 石田實, *비타민* **14**, 900(1958).
5. 八木國夫·原田實 *ibid.*, **20**, 218(1960).
6. 日本 特許, 昭 35-3047(1960).
7. *ibid.*, 昭 37-744(1962).
8. *ibid.*, 昭 37-17589(1962).
9. *ibid.*, 昭 38-11642(1963).
10. *ibid.*, 昭 38-25389(1963).
11. *ibid.*, 昭 39-20709(1964).
12. *ibid.*, 昭 49-30520(1974).
13. 堀田直樹 *et al.*, *藥劑學* **25**, 297(1965).
14. 畑俊一 *et al.*, **27**, 132(1967).
15. 原田實 *et al.*, *비타민* **18**, 425(1959).
16. 保健社會部, 食品 및 添加物 規格 基準 p-75(1978).