

## 吸光光度法 및 原子吸光光度法에 의한 Pipethanate·HCl의 定量

李王圭 · 朴萬基 · 金博光 · 孫采妍

서울대학교 藥學大學

(Received October 9, 1983)

Wang Kyu Lee, Man Ki Park, Bak-Kwang Kim and Chae Yun Sohn

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

### Determination of Pipethanate·HCl by Spectrophotometry and Atomic Absorption Spectrophotometry

**Abstract**—Pipethanate·HCl reacts with ammonium cobalthiocyanate to form a stable ion pair which has an absorption maximum at 626nm. The reaction product was insoluble in water but freely soluble in most organic solvents. 1, 2-Dichloroethane was the best extracting solvent among the several organic solvents. Pipethanate·HCl can be determined not only by the spectrophotometry but also indirectly by estimation of cobalt in the organic phase by atomic absorption spectrophotometry. Linear relationship was found between absorbance and concentration in the range of  $1.0 \times 10^{-3} \sim 4.0 \times 10^{-3} M$  by spectrophotometry and  $1.5 \times 10^{-4} \sim 4.0 \times 10^{-4} M$  by atomic absorption spectrophotometry. With this method it was possible to determine pipethanate·HCl in the pharmaceutical preparations.

의약품의 미량정량법에 관한 연구의 일환으로서,錯體形成 및 溶媒抽出을 이용한 3급 amine 화합물의 分析法<sup>1,2,3)</sup>이 이미 보고된 바 있다. 이번에는 choline 효능 차단제로서 진통진경제로 널리 쓰이는 의약품인 Pipethanate·HCl의 정량법을 검토하였다. 이 약의 정량법으로는 UV법<sup>4)</sup>, Bromothymol Blue를 이용한 比色法<sup>5)</sup> 및 電位差滴定法 등이 있으나 이 방법들은 pH의 영향이 크고 製劑인 경우 부형제의 영향을 받으며 정량성이 좋지 않다.

Pipethanate·HCl은 ammonium cobalthiocyanate와 반응하여 ion pair를 형성한다. 이것을 유기 용매로 추출하여 선택적으로 比色分析을 할 수 있으며 또한 有機溶媒層의 Cobalt를 原子吸光光度法으로 정량함으로써 pipethanate·HCl을 간접 정량할 수 있을 것이다. 이러한 점을 감안하여 저자들은 부형제 및 pH에 의한 영향이 적고 안정하며 분해산물과 반응하지 않는, 재현성이 양호한 정량법을 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

### 實驗方法

**試藥**—Pipethanate·HCl 표준용액은 탈이온수에 녹여  $1 \times 10^{-2} M$  용액을 조제한 후 필요에 따라서 이를 희석하여 사용하였고, ammonium-cobalthiocyanate 용액은 Cobaltous nitrate(Hayashi製 特級試藥) 3.5g과 ammonium thiocyanate (Kanto製 特級試藥) 15g을 탈이온수에 녹여 100ml로 만들었다. 1, 2-Dichloroethane은 Kokusan chemical 製特級試藥을 사용하였다.

**裝置**—原子吸光光度計는 Rank Hilger H1550형을 사용하였고, 光源은 Hilger and Watts製 Fe·

Mn·Ni·Cr·Co복합中空陰極 lamp를 사용하였다. 分光光度計는 Pye Unicam SP 1750型으로 총장이 10mm인 석영 cell을 사용하였다.

定量操作—검체 일정량을 정밀히 평량하여 탈이온수에 용해하여 pipethanate HCl  $10^{-4} \sim 10^{-3}$

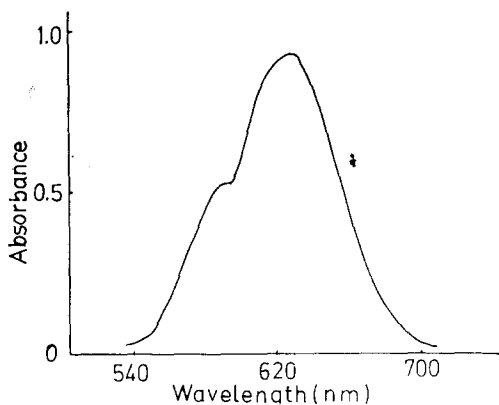
**Table I**—Standard conditions of atomic absorption.

Wavelength	240.7nm
Lamp current	6 mA
Slit width	30 nm
Burner height	30 mm
Second air flow	0 cm
Acetylene flow	1.8cm

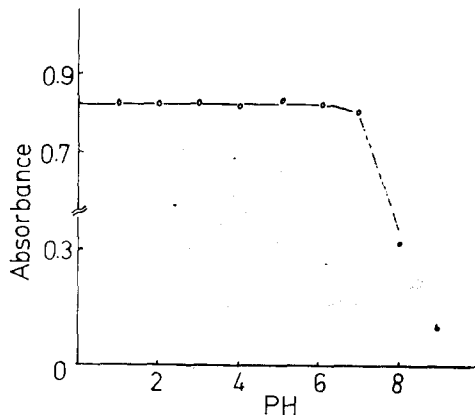
M이 되도록 조제한 다음 여과한다. 여액 10 ml를 정확히 취하여 50ml 공전원심관에 넣고 ammonium cobaltothiocyanate용액 5ml를 가한 다음 3分間 진탕 혼합한 후 1,2-Dichloroethane 10ml를 가하고 2분간 진탕 추출하여 3,000rpm에서 원심분리하였다. 有機溶媒層을 취하여 흡수극대파장인 626nm에서 흡광도를 측정하거나 또는 Table I과 같은 조건에서 원자흡광도를 측정하였다.

### 實驗結果 및 考察

反應生成物の 可視部 吸收曲線—Pipethanate·HCl과 ammonium Cobaltothiocyanate와의 반응 생성물의 가시영역에서의 흡수 곡선은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 626nm에서 흡수 극대를 나타내었으므로 吸光光度法의 경우 이 파장에서 吸光度를 측정하여 정량하였다.



**Fig. 1**—Absorption spectrum of the reaction product.



**Fig. 2**—Effect of pH on absorbance of the reaction product (pipethanate HCl  $5 \times 10^{-3}M$ )

pH의 影響—Fig. 2는 pipethanate·HCl이 ammonium cobaltothiocyanate와 산성 조건에서 錯體를 형성함을 보여 주고 있다. pipethanate는 물에 難溶이며 製劑인 경우 모두 酸鹽으로 되어 있으므로 0.1N-HCl 용매중에서 試料에 ammonium cobaltothiocyanate를 가하였다.

抽出溶媒의 選擇—pipethanate·HCl ( $5.2 \times 10^{-3}M$ ) 일정량의 반응 생성물에 대해 흔히 쓰이는 몇 가지의 유기용매에 의한 추출효과를 비교한 결과를 Table II에 기록하였다.

Benzene이나 사염화탄소에 의해서는 反應生成物이 거의 抽出되지 아니하였으며 Ether, Chloroform, 1,1-Dichloroethane, dichloromethane, 1,2-dichloroethane 순으로 抽出 효과가 증대되었다. 따라서 본 실험에서는 1,2-Dichloroethane을 추출 용매로 선택하였다.

**Table II**—Extracting effect of organic solvents.

Solvent	Absorbance
1, 2-Dichloroethane	0.472
1, 1-Dichloroethane	0.356
Dichloromethane	0.372
Ether	0.182
Chloroform	0.237
Benzene	—
Carbontetrachloride	—

**Ammonium Cobalthiocyanate 濃度の影**

響—정량 조작에 따라 pipethanate·HCl의 농도를  $5.2 \times 10^{-3}M$ 로 일정하게 하고 0.12M ammonium cobalthiocyanate 시액의 첨가량을 1ml로부터 15ml까지 변화시켜가며 검토하였더니 3ml 이상에서는 일정한 흡광도를 나타내었다. (Fig. 3). 본 실험에서는 충분량인 5ml를 가했다.

經時變化—反應生成물을 시험관에 넣고 마개를 하여 10°, 25°, 40°C에서 2일간 방치한 후에도 그 吸光度가 일정하였으므로 pipethanate·HCl과 ammonium cobalthiocyanate의 반응 생성물은 매우 안정한 화합물이라고 생각된다.

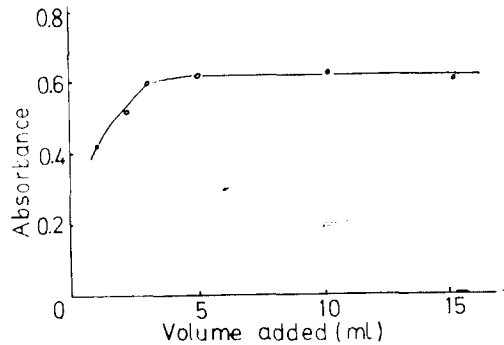
共存成分 및 共存이온의 影響—市販 pipethanate·HCl製劑 중에 과량으로 함유되어 있는 sulpyrine의 영향을 吸光度法에 의한 정량조작에 따라 실험한 결과, 정색이 되지 않았다.

pipethanate·HCl  $10^{-3}M$ 의 용액에 다른 이온을 각각 공존시켜 그 농도가 약 150ppm이 되도록 한 후 原子吸光度法에 의한 정량조작에 따라 실험한 결과 Table III과 같이 다른 이온이 Cobalt의 약 100배 공존하였을 때에도 거의 영향이 없었다.

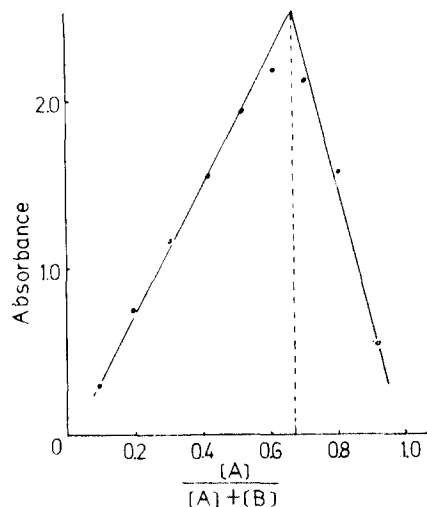
**反應 生成物에 대한 檢討—連續變化法을 이**

**Table III**—Effect of foreign ions in measuring cobalt ion by atomic absorption spectrophotometry.

Ion	Added(ppm)	Recovery(%)
Na <sup>+</sup>	150	100.3
Mg <sup>2+</sup>	150	101.6
Al <sup>3+</sup>	150	98.7
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	150	97.8
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	150	99.2
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	150	102.0



**Fig. 3**—Effect of ammonium cobalthiocyanate concentration on absorbance of the reaction product.



**Fig. 4**—Determination of the composition of the reaction product by continuous variation method.

A: pipethanate·HCl  $5 \times 10^{-3}M$   
 B: ammonium cobalthiocyanate  $5 \times 10^{-3}M$

Table IV—Recovery of pipethanate·HCl.

Taken (mg)	Found (mg)		Recovery (%)	
	Spect.	Atomic abs.	Spect.	Atomic abs.
10.2	9.8	9.8	96.1	96.1
17.7	17.9	18.5	101.1	104.5
25.1	24.5	25.1	97.6	100.0
40.3	40.0	39.7	99.3	98.5
54.9	55.9	57.0	101.8	103.8
70.5	69.4	67.9	98.4	96.3
	mean value		99.1	99.9
	coefficient of variation		1.96	3.13

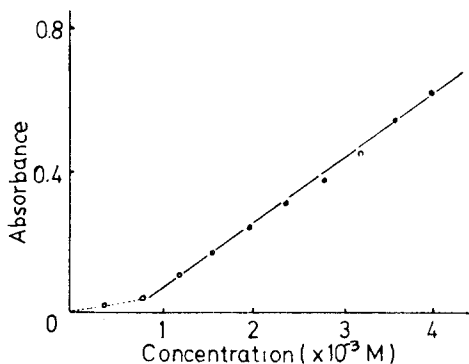


Fig. 5—Calibration curve by spectrophotometry.

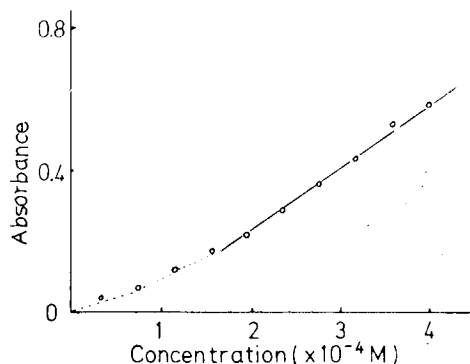


Fig. 6—Calibration curve by atomic absorption spectrophotometry.

용하여 pipethanate·HCl과 ammonium cobalthiocyanate와의 결합비를 검토해 본 결과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 pipethanate·HCl과  $[\text{Co}(\text{SCN})_4]^-$ 의 결합비가 2 : 1로 나타났다.

회수율 및 검량선작성—定量操作法에 따라 조제한 여러 가지 농도의 표준용액으로 회수율을 검토하여 Table IV에 표시하였으며 검량선은 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다. 吸光光度法에서는 pipethanate·HCl의 농도가  $1.0 \times 10^{-3} \sim 4.0 \times 10^{-3} \text{M}$  범위에서, 原子吸光光度法에서는  $1.5 \times 10^{-4} \sim 4.0 \times 10^{-4} \text{M}$ 의 범위에서 직선상의 검량선이 얻어졌다. Table IV에 나타난 바와 같이 1, 2-Dichloroethane에 의한 pipethanate·HCl의 회수율은 吸光光度法으로 측정하면 99.1%, 原子吸光光度法으로 측정하면 99.9%로 대체적으로 양호하였다. 吸光光度法에 의한 變異係數는 1.96%이고, 原子吸光光度法에 의한 것은 3.13%로서 再現性은 吸光光度法이 좋았으나 Fig. 5와 Fig. 6에서 나타난 것처럼 吸光光度法에 비해 原子吸光光度法이 더 낮은 농도에서 시료를 분석할 수 있음을 보여주고 있다.

製劑에의 應用—최근에 제조된 시판 pipethanate·HCl 製劑를 구하여 pipethanate로서 약 10mg에 해당하는 양을 정확히 평량하여 탈이온수에 녹여 50ml가 되게 한 후 여과하여 여액 10ml를 취

해 실험 방법에 따라 분석한 결과 Table V와 같았다. 제품에 기재된 함량과 실제 분석하여 나온 함량이 거의 일치함을 볼 수 있으며 본 실험에서 pipethanate의 회수율이 양호하였으므로 본 실험 방법에 의해 市販되는 pipethanate 제품의 품질관리에 유효적절히 이용할 수 있을 것이다.

**Table V**-Determination of pipethanate·HCl in commercial preparations.

Sample	Theoretical amount(T mg)	Found (F mg)	F/T
A	10.02	10.38	1.04
B	10.01	9.72	0.97
C	10.02	9.88	0.99

## 結 論

Pipethanate·HCl을 cobalthiocyanate로 ion pair를 형성시켜 유기용매로 추출하여 比色法 또는 原子吸光度法으로 3급 amine 화합물을 정량할 수 있었다. 吸光度法의 경우는 pipethanate·HCl의 농도가  $1.0 \times 10^{-3} \sim 4.0 \times 10^{-3}M$ , 原子吸光度法의 경우는  $1.5 \times 10^{-4} \sim 4.0 \times 10^{-4}M$  범위에서 정량이 가능하였다. pipethanate·HCl의 반응생성물은 매우 안정하여 ammonium cobalthiocyanate와의 조성비는 2 : 1이었다.

본 실험 방법은 부형제, pH, 반응 시간, 온도 등의 영향이 적어 製劑중의 pipethanate·HCl을 간편하게 정량할 수 있으며, 再現性 및 回收率이 양호하므로 의약품의 품질 관리에 효과적으로 이용할 수 있을 것이다.

## 文 獻

1. E.G.C. Clarke, *Isolation and Identification of Drugs*. The Pharmaceutical Press(London) p.428 (1971).
2. M.K. Park, B.R. Lim, K.S. Yu and K.H. Yong, *Yakhak Hoeji*, **22**, 27 (1978).
3. G. Pitel and T. Luce, *Ann. Pharm. France.*, **23**, 673 (1965).
4. 野上 春, *藥劑學*, **19**, 162 (1959).
5. 掘岡正義, *藥劑學*, **34**, 22 (1974).