

2차 미분 자외부 분광광도법에 의한 정제중의 아세트아미노펜 정량

柳 京 秀 · 高 翊 培

全南大學校 藥學大學

(Received March 3, 1986)

Determination of Acetaminophen in Tablet Formulations by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry

Gyurng-Soo Yoo and Ik-Bae Koh

College of Pharmacy, Chonnam National University, Kwangju 500, Korea

Abstract—The second derivative absorption spectra of acetaminophen in commercial tablet forms were measured without prior separation from other pharmaceutical adjuvants. The second derivative spectra of acetaminophen were found to have no influence on the characteristic absorbance band of it. A plot of 25 sets of the ordinate (Z) values with various acetaminophen concentrations mixed in other additives gave a straight line (correlation coefficient, 0.9999) and the slope was $2.901 \times 10^{-2} Z$ value/ $(\mu\text{g/ml})$. The procedures were sufficiently sensitive, precise and economical for the assay of tablets of acetaminophen.

2차 미분 분광 광도법(이하 SDUS)의 개념을 Collier, Singleton¹⁾이 1956년에 정립한 이래 최근의 급격한 전자 마이크로 컴퓨터 기술의 발달로 이 원리를 응용한 분석 방법의 실용화가 가능해졌다. 특히 이 분석법은 미량분석^{2,3)}, 순도 시험,⁴⁾ 혼합물의 superimposed 스펙트라의 분리^{5,6)}, 현탁용액 상태에서의 분석⁷⁾ 등 비교적 분석 조작이 불편하고, 어려웠던 영역에서 활발히 연구되고 있다.

공정서에 수록된 아세트아미노펜 정제중의 아세트 아미노펜 정량법은 부형제를 여과제거해서 나트륨염 상태로 흡광도를 측정하거나⁸⁾ 혹은 크로마토그래피 칼럼을 사용해서 추출, 분리한 후 흡광도를 측정한다.^{9,10)} 또, HPLC^{11,12)}, GC,¹³⁾ 비색법^{14,15)} voltammetry,¹⁶⁾ 비수적정¹⁷⁾, 가수분해시켜 p-aminophenol로 만든 후 정량하는¹⁸⁾ 등 여러 방법이 쓰이고 있으나, 대부분 부형제를 여과하거나, 추출하는 등 여러 조작을 거쳐야 할 뿐만 아니라, 분석 시간과 시약 용매 등이 소요되는 단점이 있다.

본 연구에서는 SDUS를 이용하여 정제중의 아세트아미노펜 정량법을 확립하고자 하였다. SDUS는 부형제의 분리조작이 필요없으므로 조작이 간편하고 신속하며 아무런 시약도 쓰지 않고, 단지 증류수만을 용매로 사용하는 매우 경제적인 방법이므로, 아세트아미노펜 정제의 품질관리에 크게 도움을 줄 것으로 생각된다.

실 험 방 법

시료 및 기기—아세트아미노펜 (APAP)은 대한 약전품을 아세트산으로 재결정하여 사용하였고, 유당 전분은 대한약전품을 정제하지 않고 사용하였다. 아세트아미노펜정제는 제조 년월일이 1년 이내인 3개 회사 제품을 선택하였다.

SDUS은 Perkin Elmer Lamda 5 UV-visible double beam 스펙트로포토메타를 사용하였다.

실험 방법—APAP의 표준 용액은 증류수를 용매로 사용하여 stock 용액을 만든 후 이로부터 조제하였다. 검량선은 APAP 1.0, 2.0, 3.0,

5.0, 10.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 용액을 만들어 각농도에서 5회 측정하였다.

2차미분 스펙트럼의 측정조건은 slit폭 1nm, scan 속도 60nm/min, response시간 10sec., 피이크 threshold 0.05, delta 파장 6nm, ordinate min. -0.5, max. +0.5였다. 모든 실험은 기계적 오차를 최소로 하기 위하여 이 조건으로 고정하였다.

아세트아미노펜정제의 분석은 10정을 분쇄하여 분말로 한 후 APAP 80mg에 해당하는 양을 취하여 약간 가운하여 용해시켜 1l 용량플라스크에 넣어 진탕한 후 포션을 채우고, 이중 10ml를 취하여 10배 희석한 용액(8 $\mu\text{g/ml}$)을 측정용 검체로 하였다. 각 sample을 5회씩 취하여 매회 5번 측정하며 모두 75회 측정하였다. 혼재하는 부형제의 영향을 검토하기 위해서 실험실 제제로서 아세트아미노펜, 유당, 전분(16:8:3.5)을 혼합하여 잘 섞은 후, 검량선 작성 때와 같은 방법으로 여러농도의 용액(1 $\mu\text{g/ml}$ →50 $\mu\text{g/ml}$)을 만들어 SDUS를 기록하였으며, 각 용액은 5회 측정하였다. 기존 방법으로 분석하였을 때의 결과와 비교하기 위하여 영국 약전법¹⁾으로 3종류의 동일 제제를 정량하였다.

실험결과 및 고찰

APAP의 흡수스펙트럼과 2차미분 스펙트럼—증류수를 용매로 사용한 APAP의 흡수극대파장(영차)은 242nm로서 메탄올 용매로 썼을때²⁰⁾보다 용매극성의 증가로 인해 7nm hypsochromic shift되었으며, 2차 미분 스펙트럼은 264nm와 299nm에서 satellite 피이크를, 241nm에서 trough를 나타냈다. (Fig. 1)

이 두 satellite 피이크 중에서 amplitude가 큰 264nm를 취하여 derivative zero abscissa로부터 피이크까지의 높이, 즉, Z값($d^2A/d\lambda^2$)을 취하는 피이크 zero method¹⁷⁾를 사용하였다. 메탄올 혹은 에탄올을 용매로 사용하였을 때에는 안정화를 위해 산의 첨가가 필요하였고, 증류수를 용매로 사용하였을 때보다도 농도에 따른 Z값의 오차가 더욱 컸다. 부형제를 여과 분리하지 않

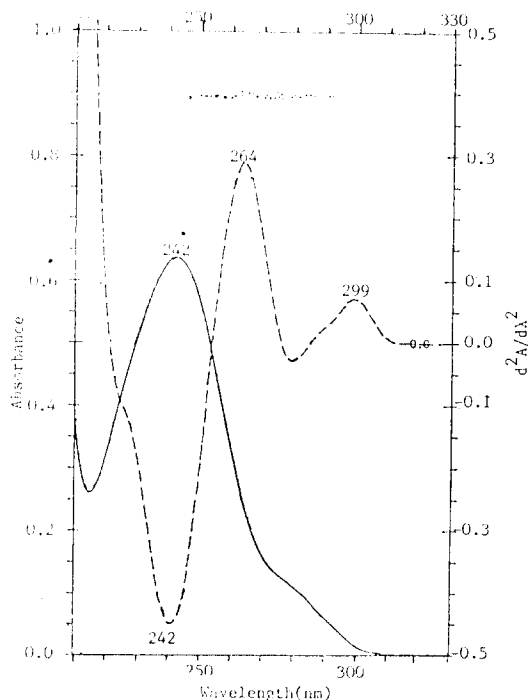


Fig. 1—Absorption (zero order) and second derivative spectra of acetaminophen standard solution, 10 $\mu\text{g/ml}$. Key; ---- second derivative, — absorption spectrum.

고 검액을 조제하였으므로, 부형제 중 용매에 녹지 않는 고형물질로 인한 빛의 흡수나 분산 등의 영향을 검토하기 위하여 검액(APAP 8 $\mu\text{g/ml}$)을 측정된 직후 부터 5분 간격으로 60분까지 측정하였으나, 침전으로 인한 APAP의 Z 값에 대한 변화는 전혀 나타나지 않았다. 따라서, 부형제를 여과, 분리하는 조작을 하지 않아도 위의 농도에서 APAP의 분석에 전혀 영향을 미치지 않음을 알았다.

부형제의 영향—정제나 캡셀에 흔히 사용하는 부형제인 유당 및 APAP와 혼합한 신제를 만들어서 이들 부형제가 SDUS에 미치는 영향을 검토하였다. Table I에서 보여 주듯이 APAP 표준용액과 부형제를 포함한 APAP 용액의 Z값이 APAP농도 3.0~15 $\mu\text{g/ml}$ 범위 이내는 Z값의 절대오차가 +0.001로 나타나는 것은 부형제의 영향이라기 보다는 실험오차로 생각되며, 부형제로 인한 영향은 완전히 제거되었다.

Table I—Effect of adjuvants on the Z value of APAP.

APAP concentration ($\mu\text{g/ml}$)	z^a value of standard APAP	z^b of APAP with adjuvants	contrast ($z^a - z^b$)	deviation (%)
1.00	0.029	0.029	0.000	0.00
2.00	0.060	0.058	0.002	3.33
3.00	0.087	0.087	0.000	0.00
5.00	0.144	0.143	0.001	0.69
10.00	0.291	0.291	0.000	0.00
15.00	0.440	0.439	0.001	0.23
20.00	0.575	0.588	0.013	2.26
30.00	0.865	0.880	0.015	1.73
40.00	1.111	1.134	0.023	2.07
50.00	1.425	1.453	0.028	1.97

z^a and z^b are mean value of the five duplicate measurement. deviation: $100(z^a - z^b)/z$.

Table II—Accuracy in second derivative UV spectrometric determination of APAP.

\bar{x}^a ($\mu\text{g/ml}$)	z value	\bar{x}^b	% accuracy $100 \times (\bar{x} - \bar{x})/\bar{x}$
1.00	0.029	0.999	0.04
2.00	0.060	2.068	-3.41
3.00	0.087	2.999	0.04
5.00	0.144	4.964	0.73
10.00	0.291	10.031	0.31

a: prepared APAP amount, b: calculated value from z value by the equation.

아세트아미노펜의 검량선—SDUS에 의해 1.0~10.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 5가지 농도에서 측정된 아세트아미노펜의 스펙트럼으로부터 25쌍의 Z 값(y)과 아세트아미노펜 농도(x)를 얻어 plot하였을 때 직선을 나타냈으며, 상관계수는 0.9999였고, 외삽시 y 절편은 영점이었다. 기울기는 2.901×10^{-2} 이었고, 이로부터 아세트아미노펜의 농도($\mu\text{g/ml}$)는 $\frac{1}{\text{slope}} \times Z$ 값로부터, $x = 34.469 \times Z - (1)$ 로 나타났다.

아세트아미노펜표준액의 검량선에 대한 2차 미분스펙트럼의 정확도(상대 평균편차)는 다음 식 (2)에 의해 구했다.

$$\% \text{ accuracy} = (x - \bar{x})/\bar{x} \times 100(\%) - (2)$$

Table III—Assay result of APAP in commercial acetaminophen tablets by second derivative spectrometry.

	concentration ($\mu\text{g/ml}$)	z value of sample	assay (%)	
A	8.006	0.230	99.03	
	8.118	0.226	97.23	mean ^a ;
	8.018	0.229	98.45	98.18 \pm 1.15
	8.018	0.226	97.16	$s/\bar{x}^b = 0.95\%$
	8.006	0.230	99.03	
B	8.000	0.242	104.27	
	8.026	0.242	103.93	mean;
	8.000	0.242	104.27	103.86 \pm 0.54
	8.000	0.240	103.41	$s/\bar{x} = 0.42\%$
	8.000	0.240	103.41	
C	8.000	0.236	101.68	
	8.000	0.236	101.68	mean;
	7.993	0.236	101.77	101.46 \pm 0.43
	8.020	0.235	101.00	$s/\bar{x} = 0.34\%$
	8.007	0.235	101.17	

a: confidence limits at 95% level

b: relative standard deviation.

\bar{x} 는 표준품 아세트아미노펜용액의 농도이며, x 는 각 5개의 z 값으로부터 식 (1)에 의하여 계산된 아세트아미노펜농도의 평균값이다. Table II의 결과와 같이 아세트아미노펜 SDUS 측정치

Table IV-Assay result of APAP in commercial acetaminophen tablets by B.P. method.

concentration ($\mu\text{g/ml}$)	absorbance	assay (%)	
A 7.051	0.530	98.19	mean ^a ;
7.500	0.526	97.44	97.75 \pm 0.97
7.500	0.527	97.63	$s/\bar{x}^b=0.40\%$
B 7.502	0.556	103.00	mean;
7.501	0.558	103.37	103.00 \pm 0.92
7.502	0.554	102.63	$s/\bar{x}=0.36\%$
C 7.500	0.545	101.00	mean;
7.501	0.544	101.77	100.85 \pm 0.32
7.498	0.544	100.78	$s/\bar{x}=0.13\%$

a: confidence limit at 95% level

b: relative standard deviation.

는 2.00 $\mu\text{g/ml}$ APAP를 제외하고는 좋은 정확성을 나타냈다. 다만 2.00 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우 정확도가 떨어지는 것은 APAP의 농도가 너무 낮기 때문에 생기는 상대평균편차에 기인한 것이며, 따라서 적어도 김체중 APAP의 함량이 3~15 $\mu\text{g/ml}$ 사이를 취하는 것이 가장 적합하였다. (Table I)

SDUS와 영국 약전법에 의한 시판 아세트아미노펜 정제의 정량—시판 아세트아미노펜정 A, B, C에 대한 SDUS법과 영국 약전법에 의한 정량 결과를 Table III 및 Table IV에 표시하였다. 각 제품은 모두 함량이 약전 규격 이내이었으며 영국 약전법에 의한 정량은 2차 미분스펙트럼에 의한 방법보다 대략 0.6%정도 적은 함량치를 보여주었다. 이것은 알칼리 첨가로 인한 APAP의 가수분해로 인해 함량이 감소하는 것으로 사료된다.

결 론

해열제로 빈용되는 아세트아미노펜정제를 추출, 여과등의 복잡한 전처리 과정을 거치지 않고, 다만 용매로서 증류수만을 사용하여 SDUS를 얻어 분석하였던 바, 3~15 $\mu\text{g/ml}$ 범위 내에서 부형제의 영향없이 간단하고 신속하게 정량이 가능하였으며 정밀도와 정확도도 매우 우수하였다.

이 분석법은 의약품 생산시의 품질관리에 충분히 응용가치가 있을 뿐만 아니라 유기용매나 각종 시약을 사용하지 않으므로 매우 경제적인 분석방법이라고 사료된다.

문 헌

- 1) Singleton, F., and Collier, G.L.: *J. Appl. Chem.* **6**, 495 (1956).
- 2) Perkin Elmer, Firms Literature, *Applied UV Spectroscopy, Derivative Spectroscopy* No. 1 (1977).
- 3) Robert, N., and Hager, Jr.: *Anal. Chem.* **45**, 13, 1131A (1973).
- 4) Kitamura, K., and Majima, R.: *ibid*, **55**, 54 (1983).
- 5) Anthony F. Fell, and Smith, G.: *Anal. Proc.* 28 Jan. (1982).
- 6) Inagaki, K., Yonehara S., and Kidani, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* **33**(8), 3369 (1985).
- 7) Butler, W.L., and Hopkins, D.W.: *Photochem. Photobiol.* **12**, 439 (1970).
- 8) *British Pharmacopoeia, Vol. II*, 9,799 (1980).
- 9) *USP XXI, Official Monographs*, 13 (1985).
- 10) 대한약전, 제 4 개정, p.289 (1982).
- 11) Riggin, R.M., Schmidt, A.L., and Kissinger, P.T.: *J. Pharm. Sci.* **64**, 4,680 (1975).
- 12) Henry, R.A., and Schmidt, J.A.: *Chromatographia* **3**, 116 (1970).
- 13) Klutch, A., and Borden, M.: *J. Pharm. Sci.* **57**, 524 (1968).
- 14) Vaughan, J.B.: *ibid*, **58**, 469 (1966).
- 15) Belal, S., Elsayed, M.A., EL-Waliely, A., and Abdine, H.: *ibid*, **68**, 6, (1979).
- 16) Shearer, C.M., Christenson, K., Mukherji, A., and Papariello, G.J.: *ibid*, **61**, 1627 (1972).
- 17) Blake, M.I., Hunt, J., and Rhodes, H.J.: *ibid*, **63**, 89 (1974).
- 18) Sotiropoulos, J.B., Deutisch, T., and Plakogiannis, F.M.: *ibid*, **70**, 4, 422 (1981).
- 19) Talsky, G., Mayring, L., and Kreuzer, H.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **17**, 785 (1978).
- 20) Clarke, E.G.C.: Isolation and identification of drugs. The Pharm. Press. p.465(1971).