

요오드를 전자수용체로 한 항히스타민제의 분광학적 분석

문홍섭·백채선

조선대학교 약학대학

(Received March 22, 1989)

Spectrophotometric Determination of Antihistaminics by using Iodine as Electron Acceptor

Hong Seob Moon and Chai Sun Baik

College of Pharmacy, Chosun University, Kwang ju, 501-759, Korea

Abstract—The weak UV absorbing antihistaminics such as chlorpheniramine, triprolidine, tripelemnamine and diphenhydramine were analyzed by charge-transfer spectrophotometric method.

The results obtained are summarized as follows.

It was possible to determine a weak UV absorbing antihistaminics using the intense charge-transfer UV bands in chloroform.

Charge transfer complexes were formed in a 1:1 ratio between antihistaminics and iodine in chloroform.

Linear relationship was found between absorbance and concentration in the range of $1.0 \times 10^{-5}M$ – $5.0 \times 10^{-5}M$ for chlorpheniramine ($\epsilon = 2.082 \times 10^4$) and tripelemnamine ($\epsilon = 1.578 \times 10^4$), $1.0 \times 10^{-5}M$ – $8.0 \times 10^{-5}M$ for triprolidine ($\epsilon = 1.120 \times 10^4$) and $1.0 \times 10^{-5}M$ – $1.0 \times 10^{-4}M$ for diphenhydramine ($\epsilon = 9.900 \times 10^3$).

Charge transfer complexes of chlorpheniramine, triprolidine and tripelemnamine have absorption maxima at 293 nm and complex form of diphenhydramine has absorption maximum at 270 nm.

By UV, IR spectra, it could be inferred that CT-complexes were formed by interaction between the basic nitrogen of antihistaminics as electron donor (non bonding electron) and iodine as electron acceptor (σ bonding electron).

Keywords □ Antihistamine, iodine, charge transfer complex, UV, IR Spectrophotometry

항 histamine-제는 주로 allergy 질환인 기관지천식, 담마진, 약물진, 고초열, anaphylaxis 와 혈관성 부종 등에 널리 이용되는 약물¹⁾로서 공통적으로 ethylamine 기를 기본으로 하는 5종의 유도체로 분류되는데^{2,3)} 대부분 tertiary amine 화합물⁴⁾로서 구성되어 있다.

이들 항 histamine 제의 분석방법으로는 대부분 Chromatography 법⁵⁻¹²⁾을 많이 사용하는데 alkylamine 계 화합물인 chlorpheniramine maleate (CPA) 및 ethylenediamine 계 화합물인 tripelemnamine·HCl(TPA)은 cyanogen bromide 를 작용시킨 다음 p-anisidine blue 에 의한 비색

법,¹³⁾ dragendorff 시약에 의한 비색법,¹⁴⁾ reinecke's 시약을 유기용매에 녹여 비교하는 방법^{15,16)} 등이 알려져 있으며, ethanolamine 계 화합물인 diphenhydramine·HCl(DPH)은 중화학적정법, 질산 및 황산에 의한 정색반응¹⁷⁾ 및 Froehde 시약에 의한 반응을 이용하는 방법,¹⁸⁾ 산화제에 의한 형광광도정량법,¹⁹⁾ alkaloid 시약에 의한 정량법²⁰⁾ 등이 보고되고 있다.

그 외에 ¹³C-NMR 법^{21,22)}과 diphenhydramine·HCl, chlorpheniramine maleate 를 bromocresol purple 과 ion-pair 를 형성시켜 유기용매추출에 의한 법^{23,24)} 그리고 bromothymol blue 와

ion-pair를 형성시켜 정량하는 colorimetric method²⁵⁾ 등이 알려져 있으나 이 분석방법들은 시약의 고가와 분석조작상의 문제점들이 있으며, 공정서법인 비수적정법^{26,27)}은 그 적정법이 갖는 한계성과 목적성분을 분석하기 위해 방해성분의 분리정제 등으로 인한 분석시간이 길며 재현성이 나쁜 경우가 많다. 그러므로 저자는 제 3급 amine류 중에서 항 histamine 제로 이용되는 4종 의약품이 chloroform 중에서 요오드와 안정된 전하이동착물을 형성하는 특성을 이용하여 이들 항 histamine 제의 분석을 시도하였다.

실험방법

시약—chlorpheniramine maleate(CPA; Yuhan Co.), triprolidine hydrochloride(TRP; Wellcome Co.), tripelemamine hydrochloride(TPA; Sigma Co.), diphenhydramine hydrochloride(DPH; Sigma Co.), iodine(E. merk), chloroform, 1, 2-dichloroethane, ether, carbontetrachloride, NaOH, 무수 Na₂SO₄(和光) 및 그의 다른 시약들은 모두 특급시약을 사용하였다.

실험장치—UV-spectra는 Shimadzu UV-240(Graphicord)을 IR-spectra는 KBr disc 법으로 Shimadzu IR-440을 이용하였다.

시료용액의 조제—각 항 histamine 제(CPA, TRP, TPA, DPH)의 10⁻³mol 되는 무게를 정칭하여 분액깔대기에 넣고 정제수 3ml, NaCl 포화 용액 5ml와 N-NaOH 10ml를 가하여 용해시키고, 유리된 base를 chloroform 25ml씩으로 4회 추출하여 추출액은 무수 Na₂SO₄가 들어있는 glass filter(3G4)를 통해 100ml 용량 flask에 넣은 후 chloroform으로 표선을 맞추어 시료용액으로 사용하였다.

정량조작법—항 histamine 제의 각 시료용액(CPA와 TPA는 1×10⁻⁵M~5×10⁻⁵M, TRP는 1×10⁻⁵M~8×10⁻⁵M 그리고 DPH는 10⁻⁴M~10⁻⁵M) 5ml와 chloroform을 용매로 한 iodine(10⁻³M) 5ml를 10ml 용량 flask에 취하여 혼합하고 10분간 방치한 다음 chloroform 용액을 대조액으로 하여 CPA, TPA, TRP는 293nm와 363

nm에서, DPH는 270nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

실험결과 및 고찰

전하이동 착물의 흡수곡선—각 항 histamine 제와 iodine 간에 형성된 CT-complex의 가시, 자외부 영역에서의 흡수 spectra는 Fig. 1~4와 같이 항 histamine 제와 iodine이 단독으로 존재시에는 UV 흡수가 매우 약하였으나 CT-complex의 형성에 의해서 흡광도가 현저히 증가되어 새로운 흡수곡선을 나타냈다.

이런 사실로 미루어서 항 histamine 제와 iodine은 chloroform 중에서 안정된 CT-complex를 형성하였음을 알 수 있었다. 이들 CT-complex의 λ_{max}은 CPA-iodine, TRP-iodine, TPA-iodine은 293nm, DPH-iodine은 270nm이었으며, 이들의 CT-complex 형성에 의한 UV 흡수특성을 요약하면 Table I과 같다.

추출용매의 선택—일정한 농도의 각 시료용액(CPA, TRP, TPA, DPH)에 대해 흔히 사용되

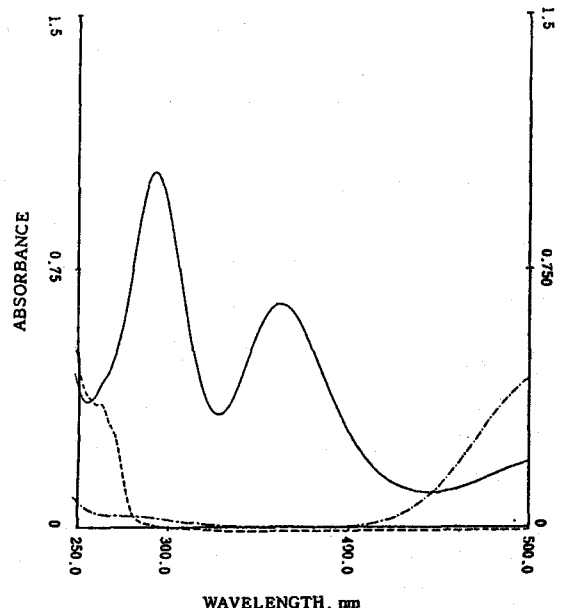


Fig. 1—Absorption spectra of complex and chlorpheniramine in chloroform.

- : Chlorpheniramine-iodine complex
- : Chlorpheniramine (5 × 10⁻⁵M)
- · - ·: Iodine (10⁻³M)

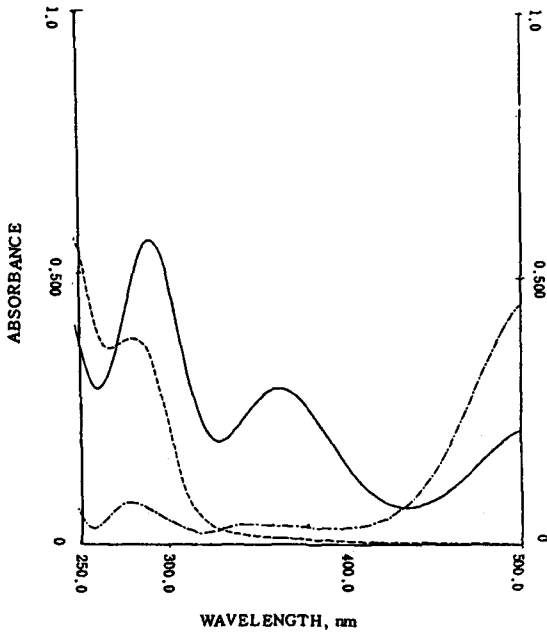


Fig. 2—Absorption spectra of complex and triprolidine in chloroform.

- : Triprolidine-iodine complex
- - -: Triprolidine ($5 \times 10^{-5}M$)
- · - ·: Iodine ($10^{-3}M$)
- · ·: Iodine ($10^{-3}M$)

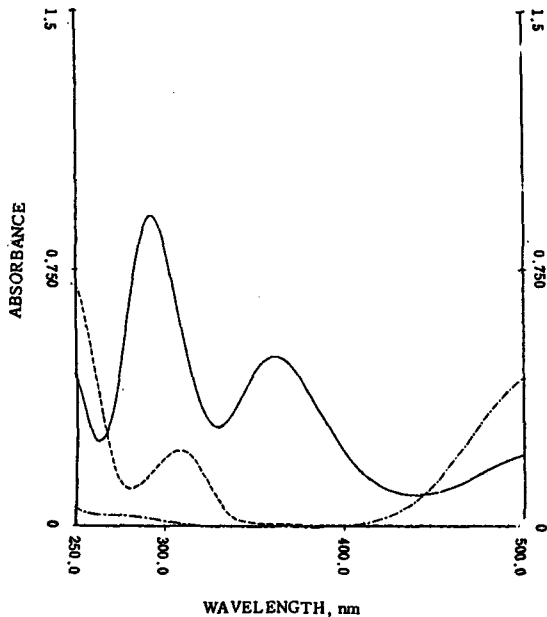


Fig. 3—Absorption spectra of complex and tripeleannamine in chloroform.

- : Tripeleannamine-iodine complex
- - -: Tripeleannamine ($5 \times 10^{-5}M$)
- · - ·: Iodine ($10^{-3}M$)
- · ·: Iodine ($10^{-3}M$)

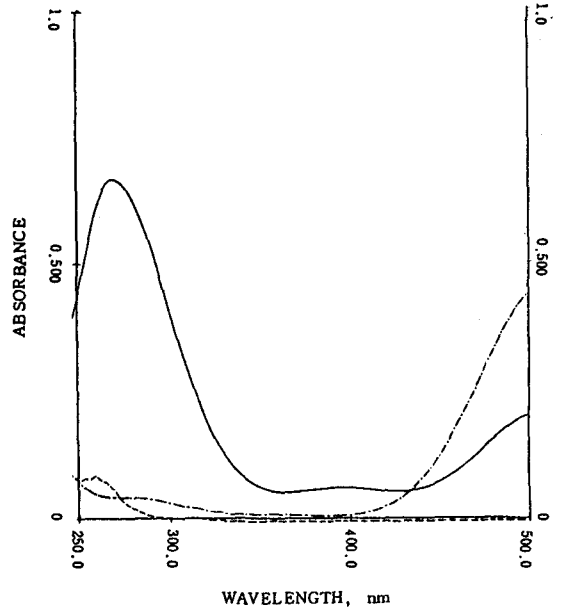


Fig. 4—Absorption spectra of complex and diphenhydramine in chloroform.

- : diphenhydramine-iodine complex
- - -: Diphenhydramine ($7.5 \times 10^{-5}M$)
- · - ·: Iodine ($10^{-3}M$)
- · ·: Iodine ($10^{-3}M$)

Table I—UV spectra of antihistamine complexes

CT-complexes of antihistaminics	Solvent	λ_{max}, nm	
CPA-iodine	chloroform	293	2.082×10^4
		363	1.446×10^4
TRP-iodine	chloroform	293	1.120×10^4
		363	5.840×10^3
TPA-iodine	chloroform	293	1.578×10^4
		363	8.840×10^3
DPH-iodine	chloroform	270	9.900×10^3

- * $5 \times 10^{-5}M$ CPA: chlorpheniramine
- $5 \times 10^{-5}M$ TRP: triprolidine
- $5 \times 10^{-5}M$ TPA: tripeleannamine
- $7.5 \times 10^{-5}M$ DPH: diphenhydramine

는 유기용매의 추출효과를 비교한 결과 Table II와 같았다. 즉 본 정량조작법에 따라 같은 농도로 유기용매 중에서 iodine에 의한 CT-complex의 형성률을 비교하여 검토했던 바, 1,2-dichloroethane, benzene이 가장 높은 흡광도를 나타냈으나 이것들은 경시변화가 있어 사용할 수 없었으며 추출된 착물의 chloroform 용액이 안정하고 흡광도가 비교적

Table II—Extractability test for CT-complex in various organic solvents

Solvents	CPA			TRP			TPA			DPH		
	λ_{max}	A_s	A	λ_{max}	A_s	A	λ_{max}	A_s	A	λ_{max}	A_s	A
Chloroform	293	0	1.041	293	0.258	0.560	293	0.225	0.789	270	0.031	0.495
1,2-dichloroethane	295	0	1.188	294	0	0.929	295	0.111	1.082	293	0	0.342
Ether	293	0.112	0.444	292	0.471	1.407	293	0	1.334	361	0	0.256
Carbontetrachloride	293	0.028	0.560	294	0.301	0.821	295	0.141	0.430	283	0.031	0.282
Benzene	295	0.042	0.410	295	0.021	0.618	295	0	2.208	294	0	1.708

A_s : absorbance of base

A : Absorbance of iodine complex with antihistaminics

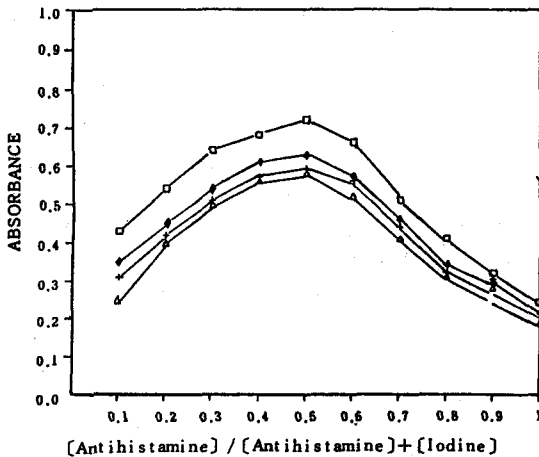


Fig. 5—Continuous Variation plots of antihistaminics to iodine ($10^{-4}M$).

- : CPA-Iodine complex at 293 nm
- + : TRP-Iodine complex at 293 nm
- ◆ : TPA-Iodine complex at 293 nm
- △ : DPH-Iodine complex at 270 nm

높으므로 본 실험에서는 chloroform 을 추출용매로 선택하였다.

온도의 영향 및 Stability—각 반응온도(10, 20, 30, 40°C)에서 정량조작을 하여 5, 10, 15, 20, 25, 30분 동안 방치시킨 후 얻은 각 시료의 흡광도를 비교하여 본 결과 10°C에서는 15분부터, 20°C에서는 5분부터 흡광도의 안정치를 보여주었으나 40°C 이상에서는 흡광도 변화가 심해 본 실험은 상온에서 10분간 방치 후 흡광도를 측정하였다.

전하이동 착물의 조성에 대한 검토—항 histamine 제와 요오드의 결합비; 각 $10^{-4}M$ 농도의 항 histamine 제 (CPA, TRP, TPA, DPH)와 iodine 의 CT-complex 의 결합비를 연속변화법 및

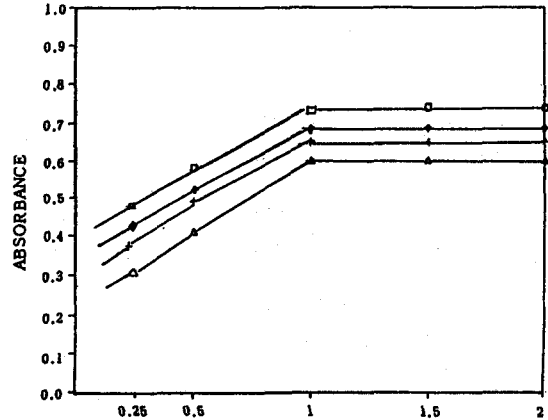


Fig. 6—Mole ratio plots of antihistaminics to iodine ($10^{-4}M$).

- : CPA-Iodine complex at 293 nm
- + : TRP-Iodine complex at 293 nm
- ◆ : TPA-Iodine complex at 293 nm
- △ : DPH-Iodine complex at 270 nm

Mole 비법에 의해 검토하였던 바 Fig. 5~6에서와 같이 1 : 1의 결합비를 나타냈다.

그리고 각 항 histamine 제의 $10^{-2}mol$ 되는 무게를 정량하여 시료용액의 조제법에 따라 base 를 만들고 $10^{-2}M$ iodine 과 1 : 1로 혼합하여 20°C 이하에서 증발시켰다. 각 base 와 이들의 CT-complex 의 IR spectra 를 측정하였다. 그 한 예로 chlorpheniramine-iodine complex 의 IR spectrum 을 Fig. 7에 표시한 바와 같이 CT-complex 의 형성으로 인해 전반적인 spectrum 의 변화가 있었고, 특히 1360 cm^{-1} 근처에서 aromatic tertiary amine 의 ν_{C-N} peak 의 shift 를 볼 수 있으므로 basic nitrogen 위치에 iodine 이 결합한 것으로 추정할 수 있었다.

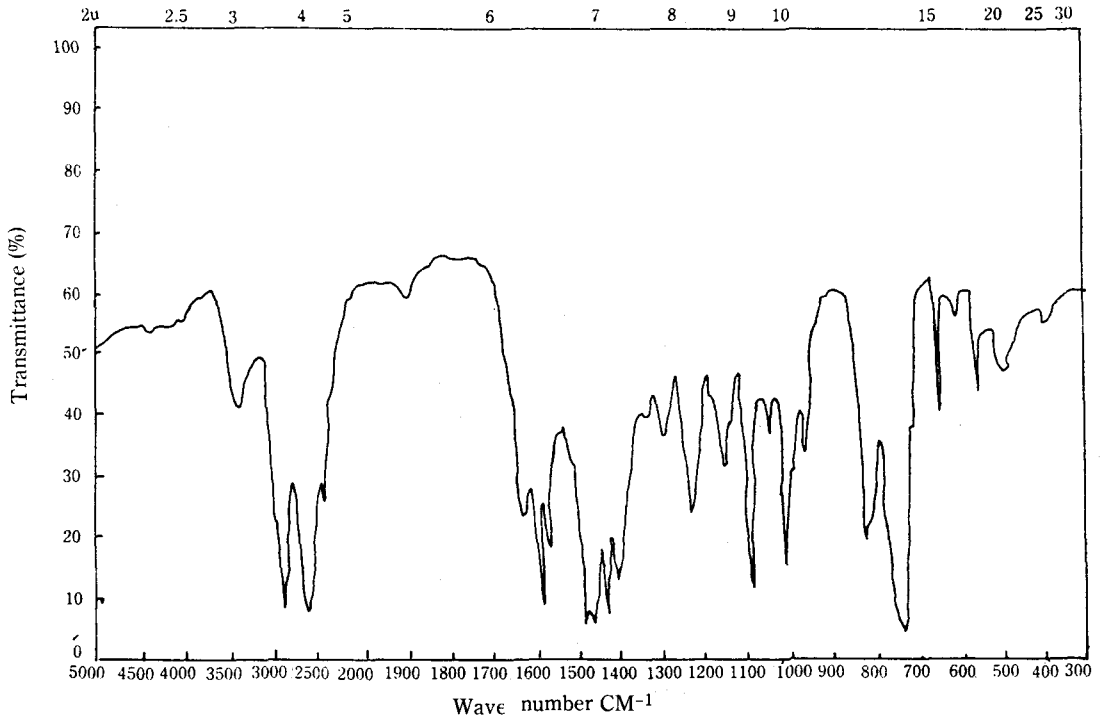


Fig. 7—IR Spectrum of chlorpheniramine-iodine complex.

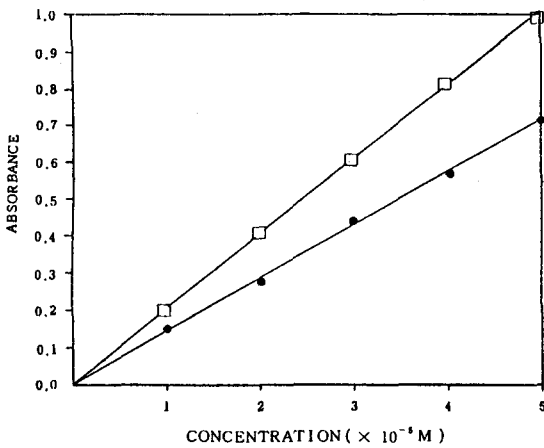


Fig. 8—Calibration curves of CT-complex of chlorpheniramine at 293 nm and 363 nm.

□ - □ : CPA-Iodine complex at 293 nm
● - ● : CPA-Iodine complex at 363 nm

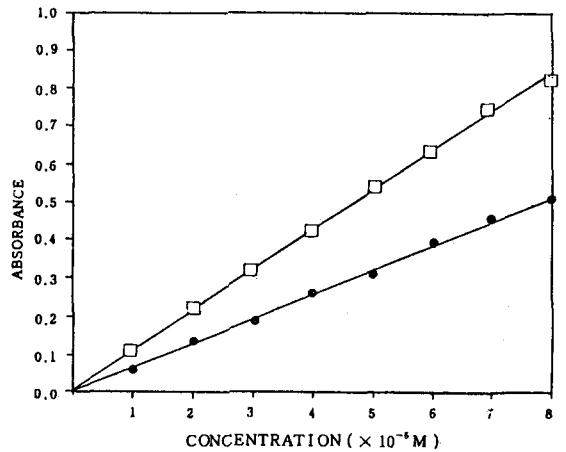


Fig. 9—Calibration curves of CT-complex at triprolidine at 293 nm and 363 nm.

□ - □ : TRP-Iodine complex at 293 nm
● - ● : TRP-Iodine complex at 363 nm

검량선의 작성—본 정량조작법에 따라서 여러가지 농도의 표준용액으로 검토한 착물들의 검량선은 Fig. 8~11에서와 같이 CPA와 TPA는 $1 \sim 5 \times 10^{-5} M$, TRP는 $1 \sim 8 \times 10^{-5} M$, DPH는 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4} M$ 의 농도범위에서 Beer의 법칙이 성립

하였다.

상용처방약품들의 영향 검토—본 정량조작법에 따라 시료용액을 만들어 항 histamine 제와 상용되는 14종의 공존약품에 의한 영향을 검토하여 본 결과 Table III에서와 같이 대부분 공존약품이 본 정량

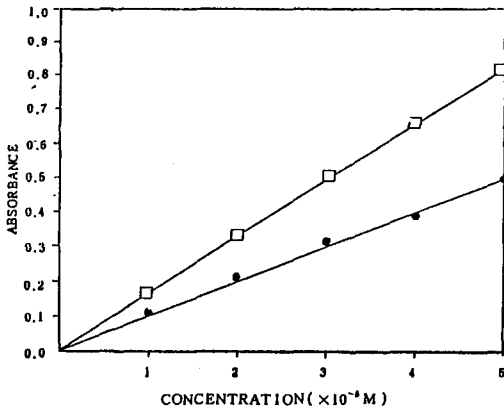


Fig. 10—Calibration curves of CT-complex of tripeleennamine at 293 nm and 363 nm.
 □ - □ : TPA-Iodine complex at 293 nm
 ● - ● : TPA-Iodine complex at 363 nm

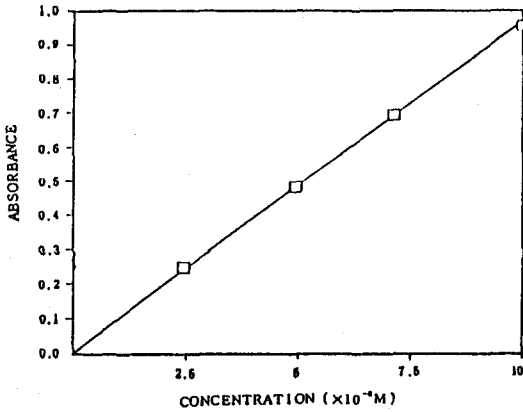


Fig. 11—Calibration curves of CT-complex diphenhydramine at 270 nm.
 □ - □ : DPH-Iodine complex at 270 nm

Table III—Interference test of other compounds contained in usual prescription

Compounds	Concentration (ug/ml)	Absorbance		
		270 nm	293 nm	360 nm
Acetaminophen	200	0.038	0.035	0.008
Salicylamide	200	0.065	0.064	0.014
Aspirin	200	0.022	0.023	0.005
Caffeine	200	3.285	1.156	0.007
Theophylline	200	0.291	0.142	0.036
Tetracycline	200	0.039	0.036	0.012
Bromhexine	200	0.892	1.287	0.489
Vitamin C	200	0.055	0.042	0.015
Thiamine	200	0.064	0.044	0.013
Riboflavine	200	0.024	0.020	0.005
Antipyrine	200	3.775	2.984	0.107
Trimetoprim	200	2.558	3.163	0.077
Ephedrine	20	0.626	2.118	1.414
Pseudoephedrine	20	0.396	1.309	0.871
Chlorpheniramine	20	—	1.041	0.723
Triprolidine	16	—	0.560	0.292
Tripeleennamine	15	—	0.789	0.442
Diphenhydramine	15	0.495	—	—

조작법에 영향을 주지 않았으나 CPA, TRP, TPA 분석에서는 bromhexine, ephedrine, pseudoephedrine 이 방해가 되었고, DPH 분석에서는 caffeine, theophylline, bromhexine, antipyrine, trimetoprim, ephedrine, pseudoephedrine 이 방해작용을 하였다.

Table IV—Recovery test of antihistaminics in preparation

	Sample A				Sample B			
	CPA	TRP	TPA	DPH	CPA	TRP	TPA	DPH
	100.12	99.98	102.12	100.32	101.55	100.70	100.51	100.43
	99.89	101.03	99.49	99.95	99.93	99.86	99.97	100.78
	101.50	102.14	99.97	100.94	100.90	100.56	99.75	99.96
	100.04	99.97	101.95	100.01	99.78	99.79	100.48	100.23
	99.98	103.10	99.99	98.99	99.01	100.29	100.21	100.06
Average	100.31	101.24	100.70	100.04	100.23	100.24	100.18	100.29

Sample A: Acetaminophen 300 mg Riboflavin 20 mg
 Tetracycline 250 mg Antihistaminics 20 mg
 Sample B: Aspirin 500 mg Vitamin C 500 mg
 Starch 200 mg Antihistaminics 20 mg

조제시료에서의 회수율—조제시료 A, B에 각 항 histamine 제 (CPA, TRP, TPA, DPH) 20 mg 씩 함유되도록 처방조제하여 본 정량조작법에 따라 각각 5회 반복하여 실험한 결과 Table IV에서와 같이 99% 이상의 양호한 회수율을 얻었다.

결 론

항 histamine 제를 chloroform 용매 중에서 iodine에 의한 charge transfer complex를 형성시켜 UV spectrophotometry에 의한 새로운 정량법을 확립하고 제제분석에 대한 활용방안을 모색하였으며 UV, IR에 의해 분자구조 특성을 연구하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) UV 흡수가 매우 약한 항 histamine 제가 iodine과 chloroform 중에서 안정된 전하이동착물을 형성하는 것을 이용하여 용매추출법으로 신속하고 재현성이 비교적 좋은 항 histamine 제의 분석법을 확립하였다.

2) chloroform 중에서 Mole비법 및 연속변화법에 의한 항 histamine 제와 iodine의 결합비를 검토한 결과 그 결합비는 1:1이었다.

3) chlorpheniramine, tripeleminamine은 최대 흡수 파장 293 nm에서 $1 \sim 5 \times 10^{-5} M$ ($\epsilon_{CPA} = 2.082 \times 10^4$, $\epsilon_{TPA} = 1.578 \times 10^4$), triprolidine은 최대 흡수 파장 293 nm에서 $1 \sim 8 \times 10^{-5} M$ ($\epsilon_{TRP} = 1.120 \times 10^4$), diphenhydramine은 최대 흡수 파장 270 nm에서 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4} M$ ($\epsilon_{DPH} = 9.900 \times 10^3$)의 농도범위에서 Beer 법칙이 성립하였다.

4) 상용처방 의약품들의 본 정량조작법에 대한 영향을 검토한 결과 chlorpheniramine, triprolidine, tripeleminamine 분석에서는 bromhexine, ephedrine, pseudoephedrine이, diphenhydramine 분석에서는 caffeine, theophylline, bromhexine, antipyrine, trimetoprim, ephedrine, pseudoephedrine이 영향을 주었고, acetaminophen, salicylamide, aspirin, tetracycline, vitamin C, thiamine, riboflavin 등은 방해작용을 하지 않았다.

5) 회수율 실험에서 99% 이상의 양호한 결과를 보여줌으로써 일반제제 분석에 적용할 수 있는 가능

성을 보여주었다.

6) UV, IR spectra에 의해 항 histamine 제와 iodine 간의 전하이동 착물은 항 histamine 제의 basic nitrogen이 lone pair electron(non bonding electron)의 donor로서 작용하고, iodine은 electron acceptor(σ bonding electron)로 상호 작용하여 형성되었음을 알 수 있었다.

감사의 말씀

본 논문은 故 유영중 교수님의 지도 논문입니다.

문 헌

- 1) Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W., and Murad, F.: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th ed. Macmillan Publishing Company, New York, 618 (1985).
- 2) Donald, R.B., Sandra, M. and Beverly, J.R.: AMA Drug Evaluations, 5th ed. U.S.A., 1467 (1983).
- 3) Heftmann, E.: Chromatography, Van Nostrand Reinhold Co., 3rd ed. New York, 686 (1975).
- 4) McEvoy, G.K. and McQuarrie, G.M.: American Hospital Formulary Service, Drug Information, U.S.A., 2-28 (1986).
- 5) Williams, S.: Official methods of analy., -AOAC, 14th edition, U.S.A., 682 (1984).
- 6) Charles, G.E. and Thomas, M.: Anal. Profiles of Drug Substances, 7, 67 (1978).
- 7) Steven, A.B. and Chen-HWA, Y.: Anal. Profiles of Drug Substances, 8, 523 (1979).
- 8) Hazel, G.P.: Anal. Profiles of Drug Substances, Vol. 14, 126 (1985).
- 9) IRA, J.H. and Salvatore, A.F.: Anal. Profiles of Drug Substances, 3, 212 (1974).
- 10) Celeste, A.C. and Polito, M.V.: *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists* 49, 541 (1966).
- 11) Hoffman, D.J., Leveque, M.J., and Thomson, T.: *J. Pharm. Sci.* 1342 (1983).
- 12) Massart, D.L. and Detaevernier, M.R.: *J. Chromatogr. Sci.* 18, 139 (1980).
- 13) Jones, H.M. and Brody, E.S.: *J. Am. Pharm. Associ. Sci.* 38, 579 (1949).

- 14) Harborne, J.B.: *Phytochemical Methods*, 2nd edition, New York, 189, 190 (1984).
- 15) Bandelin, F.J., Slifer, E.D., and Pankratz, R.E.: *J. Am. Pharm. Assoc.* **39**, 277 (1950).
- 16) Kum-Tatt, L.: *J. Pharm. Pharmacol.* **12**, 866 (1960).
- 17) Molle, L.: *J. Pharm. Belg.* **5**, 339 (1950).
- 18) Reymond-Hamet, *Bull. Sci., Pharmacol.* **41**, 481 (1934).
- 19) Jersen, R.E. and Pelaum, R.T.: *J. Pharm. Sci.* **53**, 835 (1964).
- 20) Haley, T.J.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* **47**, 294 (1958).
- 21) Charles, G.E. and Chen-HWA. Y.: *Anal. Profiles of Drug Substances*, **7**, 49, 66 (1978).
- 22) Hazel, G.P.: *Anal. Prof. of Drug Sub.* **14**, 114 (1985).
- 23) Matsui, F. and French, W.N.: *J. Pharm. Sci.* **60**, 287 (1971).
- 24) Horioka, M. and Ishioka, H.: *Yakugaku Zasshi* **81**, 76 (1961).
- 25) Spencer, R.D. and Beggs, B.H.: *J. Chromatog.* **21**, 52 (1966).
- 26) K.P.V., 149, 355, 433 (1987).
- 27) U.S.P., XXI, 202, 340, 1097, 1098 (1985).