

## 고속 하틀리 변환에 의한 의약품 미분스펙트럼의 확인 시스템의 개발

이숙연 · 노일협 · 박만기\* · 박정일\* · 조정환\*

숙명여자대학교 약학대학, \*서울대학교 약학대학

(Received December 27, 1990)

## Development of Identification System of Derivative Spectra of Pharmaceuticals by Fast Hartley Transform

Sook Yun Lee, Ihl Hyeob Ro, Man Ki Park\*,  
Jeong Hill Park\* and Jung Hwan Cho\*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742

\*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**Abstract**—Fast Hartley transform(FHT) was used for the identification of derivative UV spectra of pharmaceuticals, with the advantages of relatively shorter computing time of FHT and more precise results. The arccosine value of dot product of two vectors of normalized FHT coefficients calculated from two compared derivative spectra was a reasonable parameter for the spectral identification. Using this parameter, the similar patterns of derivative spectra of 13 penicillins can be differentiated from each other. The concentration difference and the minor contamination did not interfere the results of identification procedures. All these procedures of identification were accomplished successfully by the computer program, [SPECMAN PLUS] version 1.30, which was developed for this article.

**Keywords** □ Fast Hartley transform(FHT), spectral comparison and identification, derivative UV spectrophotometry

미분스펙트럼을 이용하는 미분분광광도법은 여러 분야에서 상당한 유용성을 보여, 정성 및 정량분석에 있어서 여러 다양한 목적으로 사용되어 왔다. 자외부 영역에서의 응용은 1953년 처음으로 Hammond와 Price에 의해 소개된 바 있다. 그러나 미분스펙트럼을 얻는 방법상의 문제점들로 해서 본격적으로 쓰이지는 못하다가, 분석용 기기의 발달과 컴퓨터 공학의 발달로 점차 그 응용 예가 늘어나고 있다. 실제로 회토류원소 및 페닐류 화합물,<sup>1)</sup> 암페타민과 그 관련 마약류,<sup>2,3)</sup> 수종의 케톤,<sup>4)</sup> mitomycin C와 guanine의 adduct와 그 관련 화합물,<sup>5)</sup> 회화용 케인트 중의 유기색소,<sup>6)</sup> 페니실린계열의 항생물질<sup>7)</sup> 등의 정성적 확인동정 또는 구조분석의 보조수단으로서 미분분광광

도법이 쓰여져 왔다. 그러나 이러한 예에서도 몇 가지의 물질의 미분스펙트럼의 패턴을 단순히 육안에 의해 비교하고 있을 따름이다.

한편, 스펙트럼 상호간의 비교시, 비교대상이 된 두 스펙트럼의 상이도 또는 유사도를 수치화하기 위한 시도도 여러 측면에서 시도되었다. 적외 흡광스펙트럼의 경우에 많은 연구가 진행되어 있는데, 적외 흡광스펙트럼의 경우는 흡수대의 위치와 흡수대의 형태가<sup>8)</sup> 스펙트럼간의 상이도 또는 유사도를 결정하는 가장 중요한 인자가 되는 것으로 되어 있고 이를 실제로 적용하기 위해서 match sum,<sup>9)</sup> Hamming distance,<sup>10)</sup> Euclidean geometric distance<sup>11)</sup> 등의 파라미터들이 고안되어 쓰이기도 했으나 이들은 미분분광

광도법에서는 적용하는 것이 적절하지 못하다. 이외에 고속 푸리에 변환(Fast Fourier transform, FFT)에 의한 스펙트럼의 비교가 적외 흡광스펙트럼과<sup>12, 15)</sup> 자외부 및 가시부 흡광스펙트럼에<sup>16)</sup> 적용된 예가 있으나 FFT에 소요되는 비교적 긴 연산시간의 문제와, 흡광스펙트럼 자체는 별다른 패턴 차이를 보이지 않는다는 점을 고려할 경우, 실제적 적용은 의의가 적다고 할 것이다. 그런데 1984년에 Bracewell에 의해 처음 언급된 고속 하틀리 변환(Fast Hartley transform, FHT)<sup>17)</sup>은 FFT와 유사한 결과를 얻을 수 있으면서도 훨씬 빠르게 연산이 진행되고 컴퓨터의 연산기능을 최소로 사용하게 된다는 점이 알려져 있다.<sup>18)</sup> 이를 미분스펙트럼의 비교 동정에 이용하고자 했다.

### 실험방법

**시약**— amoxicillin trihydrate, ampicillin trihydrate, bacampicillin HCl, sodium cabenicillin, carindacillin, cyclacillin, sodium floxacillin, potassium hetacillin, metampicillin, sodium penicillin G, sodium penicillin V, sodium piperacillin은 모두 시약용 표준품(Sigma제, 미국)을 그대로 사용하였다. 인산완충액은 USP XX에 수재된 방법에 준해서 조제하여 위 항생물질 표준품 및 시료를 녹여서 자외부 흡광스펙트럼을 얻는데 사용하였다.

**기기 및 컴퓨터프로그램**— 자외부 흡광스펙트럼은 Apple II plus 컴퓨터에 의해 RS-232c 통신선로를 통해 제어되는 LKB Biochrome(영국)의 Ultrospec 4050 자외/가시부 흡광광도계를 사용하여 1 nm 간격으로 디지털 신호의 형태로 얻었다. 이를 컴퓨터의 보조기억장치에 저장하고, 저장된 자료를 IBM/PC/AT 컴퓨터에 RS-232c를 통해 전달하여, 저자 등이 개발한 [SPECMAN PLUS]<sup>19)</sup>에서 받아들여 노이즈의 제거 및 미분연산의 실시, 스펙트럼의 그래픽화 등이 처리되도록 했다.

**고속 하틀리 변환(Fast Hartley Transform)**—Bracewell에 의해 언급된 고속 하틀리 변환은 다음의 식 (1), (2), (3)으로 표현될 수 있는 것으로 되어 있다.<sup>17)</sup> 이를 디지털 자료에 대해서 적용할 경우에는 식 (4), (5)에 표현된 것과 같이 discrete FHT를 사용하는 것으로 되어 있다.<sup>18)</sup> 따라서 본 연구를 위해서 개발된

[SPECMAN PLUS]의 개정판인 1.30판에서는 식 (4), (5)에 따라 FHT를 수행할 수 있는 별도 프로시저를 작성하여 스펙트럼의 비교에 사용되도록 했다. 이는 기존의 [SPECMAN PLUS]의 [COMPARE] 프로시저 내부에 [FHT] 프로시저를 추가하고 이를 사용자의 요구에 따라서 선택될 수 있도록 하였다.

$$H(f) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \cdot \text{cas}(2\pi ft) dt \quad (1)$$

$$X(f) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} H(t) \cdot \text{cas}(2\pi ft) dt \quad (2)$$

$$\text{cas}(2\pi ft) = \cos(2\pi ft) + \sin(2\pi ft) \quad (3)$$

$$H(f) = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} x(t) \cdot \text{cas}(2\pi ft/N) \quad (4)$$

$$X(f) = \sum_{n=0}^{N-1} H(t) \cdot \text{cas}(2\pi ft/N) \quad (5)$$

**스펙트럼의 비교**—비교대상이 되는 물질들의 자외부 흡광스펙트럼으로부터 자외부 미분스펙트럼을 얻고 이를 FHT해서 transform coefficient의 벡터를 얻고, 이 벡터를 normalization했다. normalization은 얻어진 coefficient들의 제곱의 합이 1이 되도록 한 것이다. 이렇게 얻어지는 비교 대상이 되는 두 스펙트럼의 벡터를 곱해서 스칼라값인 dot product를 구하고 이의 arccosine을 계산했다.

$$\theta = \cos^{-1}(\text{DP}) \quad (6)$$

DP = Dot product of two FHT coefficient vectors

이 때 얻어지는 값,  $\theta$ (theta)는 두 벡터사이의 각도가 되는 것이고 동일한 스펙트럼으로부터 계산한 경우라면 0이 될 것이고 유사한 것일수록 0에 가까워지는 것이다. 스펙트럼 비교의 방법으로서의 FHT의 적합성 여부와 스펙트럼 비교 기능의 효율성 여부를 시험하고자 페니실린계열의 항생물질 13종을 그 대상으로 설정하였다. 이들은 특별한 발색단이 없는 경우가 대부분이어서 자외부의 흡광스펙트럼은 별다른 패턴의 차이를 보이지 않는 것으로 되어 있다.<sup>7)</sup> 이들의 표준품을 각각 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 인산완충액에 녹이고 이들의 흡광스펙트럼을 210 nm에서 360 nm까지 1 nm간격으로 얻어서 이를 미분하여 미분스펙트럼을 얻고, 그 중 220 nm에서 347 nm까지의

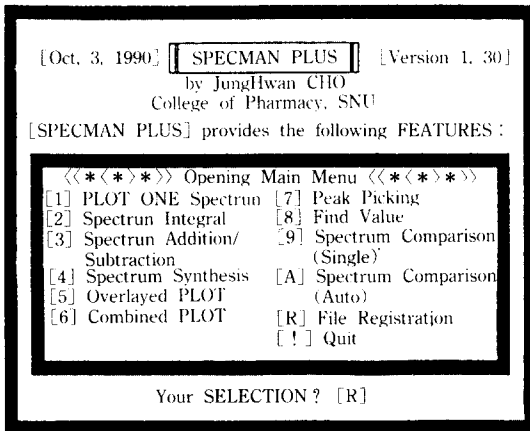


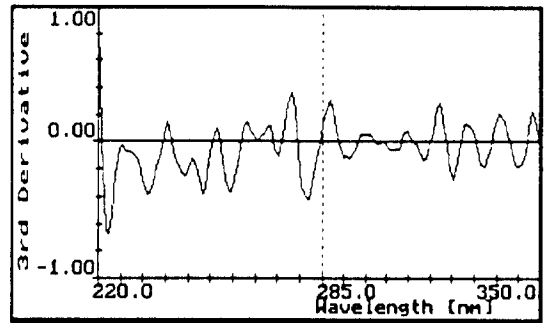
Fig. 1—Opening screen of [SPECMAN PLUS] version 1.30.

128개 데이터에 대해서 FHT를 실시하여 스펙트럼의 비교를 수행하였다. 스펙트럼의 비교는 이들 표준스펙트럼에 대해서 농도를 달리해서 얻은 스펙트럼과 다른 항생물질용 소량 섞어준 경우의 스펙트럼에 대해서 실시하였다. 이 때 위의 식 (6)에서 구한  $\theta$ 값을 가장 작게 하는 것을 대응되는 스펙트럼인 것으로 설정하였다.

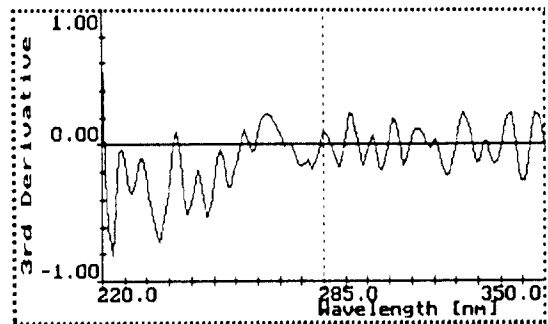
### 실험결과 및 고찰

실험을 위해 개발된 프로그램은 [SPECMAN PLUS] 1.30판으로 명명되었으며, 이 프로그램에서는 컴퓨터의 자기디스크장치에 기록된 스펙트럼 자료를 읽어들이어서 스펙트럼과 관련한 다양한 자료처리가 가능하도록 설계되었다. 특히 스펙트럼의 비교부분에서는 사용자가 선택한 기준에 따라서 스펙트럼들을 상호비교하고 그 결과를 컴퓨터의 모니터, 디스크의 화일 또는 프린터로 출력할 수 있도록 설계되었으며, 대응되는 표준스펙트럼과 미지스펙트럼을 컴퓨터의 모니터상에서 상호비교할 수 있도록 설계되어 있다. Fig. 1은 [SPECMAN PLUS] 1.30판의 시작 화면이다.

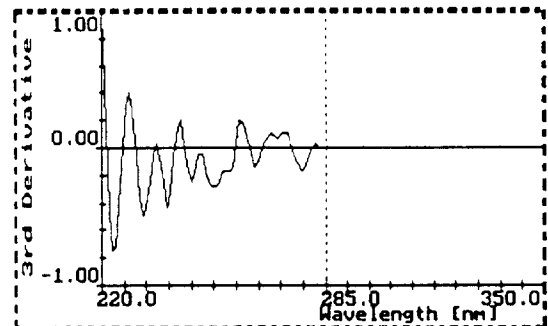
이 프로그램의 스펙트럼 비교 기능을 검토하기 위해서 13종의 페니실린 계열의 항생물질들이 사용되었다. 이들 중 ampicillin, bacampicillin, hetacillin, metampicillin 등의 4종의 항생물질들은 특히 자외부흡광스펙트럼의 패턴이 구분하기 어려울 정도로 유사한 것이다. 그러나 이들의 경우도 Fig. 2에 보인



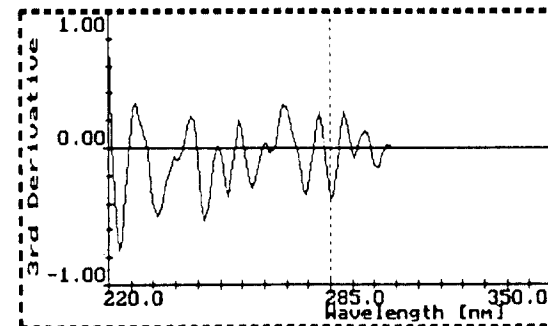
(1) Ampicillin



(2) Bacampicillin



(3) Hetacillin



(4) Metampicillin

Fig. 2—Third derivative spectra of ampicillin, bacampicillin, hetacillin, and metampicillin.

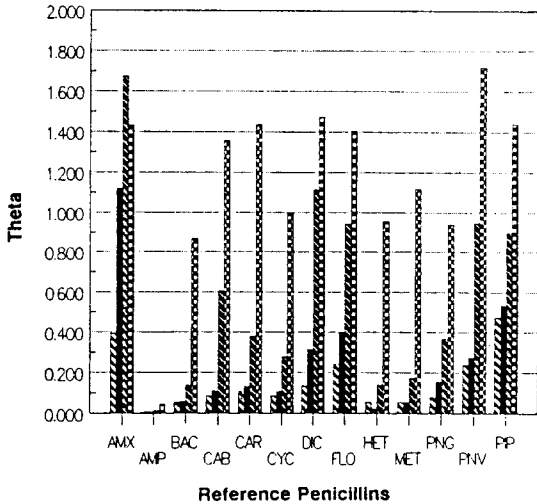


Fig. 3—Comparison result of ampicillin of higher concentration (200% of reference).

Y-axis value, theta, is the arccosine of dot product of two comparing vectors. AMX : amoxicillin ; AMP : ampicillin ; BAC : bacampicillin ; CAB : carbenicillin ; CAR : carindacillin ; CYC : cyclacillin ; DIC : dicloxacillin ; FLO : floxacillin ; HET : hetacillin ; MET : metampicillin ; PNG, PNV : penicillin-G,-V ; PIP : piperacillin

▨ Absorbance 1st Deriv. 2nd Deriv. 3rd Deriv.

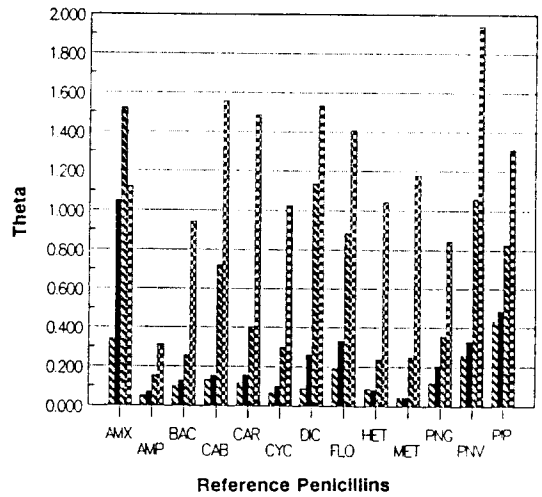


Fig. 4—Comparison result of the mixture of ampicillin and amoxicillin(10 : 1).

Y-axis value, theta, is the arccosine of dot product of two comparing vectors. AMX : amoxicillin ; AMP : ampicillin ; BAC : bacampicillin ; CAB : carbenicillin ; CAR : carindacillin ; CYC : cyclacillin ; DIC : dicloxacillin ; FLO : floxacillin ; HET : hetacillin ; MET : metampicillin ; PNG, PNV : penicillin-G,-V ; PIP : piperacillin

▨ Absorbance 1st Deriv. 2nd Deriv. 3rd Deriv.

것처럼 미분의 차수가 3차에 이르면 패턴의 구별이 나타나고 있다. 이러한 패턴의 차이를 Fast Hartely transform에 의한 비교로 확인할 수 있었다.

우선 농도를 달리하면서 표준스펙트럼과 비교를 실시한 결과, Fig. 3에 ampicillin을 예로 보인 것과 같이, 표준스펙트럼의 농도보다 두 배인 경우에 농도에는 무관하게 표준스펙트럼과의 정확한 대응을 얻어낼 수 있었다. 농도가 표준스펙트럼의 농도의 50%가 되는 경우에도 같은 결과를 얻을 수 있었다. 즉, 흡광, 1차, 2차 및 3차 미분스펙트럼으로 진행하면서 표준스펙트럼들 중에서 비교대상 물질의 것이 가장 작은 theta값을 보여서 정확히 동정되어, 농도의 차이는 FHT에 의한 비교에 거의 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

Fig. 4는 ampicillin에 amoxicillin이 10 : 1로 혼재하는 경우의 비교결과이다. 다른 물질이 혼재하더라도

분석대상 시료 중의 주성분에 해당되는 물질의 스펙트럼이 가장 작은 theta값을 보여서 정확한 동정이 가능하였다. 대체적으로 혼합물의 상태인 경우에도 주성분의 스펙트럼이 표준스펙트럼들 중에서 동정됨을 알 수 있었으나, 낮은 차수보다는 높은 차수의 미분스펙트럼에서 정확한 결과를 얻을 수 있는 것으로 나타났다. Table I은 몇 가지 다른 혼합물에 대한 비교결과이다. Table I에서 볼 수 있듯이 미분의 차수가 높아지면, 혼합물의 경우라도 그의 주성분을 동정할 수 있었다.

Fig. 5는 [SPECMAN PLUS] 1.30판이 제공하는 비교결과 화면이다. 화면상에 그래프에 의해 비교대상 스펙트럼과 표준스펙트럼을 함께 도시하고 그에 따른 theta값을 함께 제시하도록 설계하여 비교결과를 명확히 알 수 있도록 되어있다.

**Table I**—Result of identification of contaminated samples.

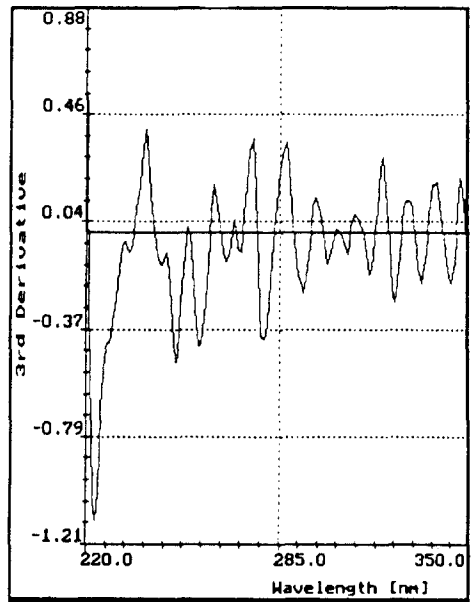
Derivative	Order	1st	2nd	3rd
Ampicillin	(10 : 1) <sup>a)</sup>	X <sup>b)</sup>	O	O
Amoxicillin	(5 : 1)	X	O	O
Bacampicillin	(10 : 1)	X	O	O
Amoxicillin	(5 : 1)	X	O	O
Hetacillin	(10 : 1)	X	O	O
Amoxicillin	(5 : 1)	X	O	O
Metampicillin	(10 : 1)	O	O	O
Amoxicillin	(5 : 1)	O	O	O

<sup>a)</sup>Numbers in the parenthesis are mixing ratio of two compounds.

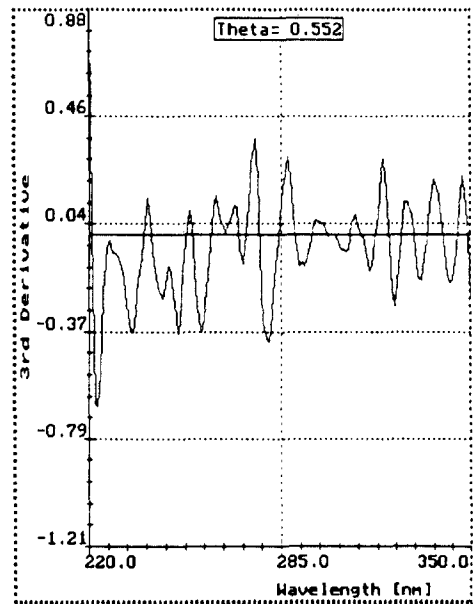
<sup>b)</sup>'O' means the exact identification of major compound of the mixture, while 'X' means the wrong identification.

**결 론**

자외부 미분스펙트럼을 고속 하틀리 변환(Fast Hartley transform)해서 얻어지는 변환계수들(transform coefficient)을 얻고, 이들로부터 벡터들을 구성하여 비교하고자 하는 두 스펙트럼의 벡터들을 normalization하고, 이들의 dot product의 arccosine을 계산하면, 이때 얻어지는 값인 두 벡터사이의 각도, theta는 이 파장영역에서의 미분스펙트럼의 정성적 확인분석에 적절한 하나의 판단기준이 될 수 있다는 것을 알 수 있었다. 그리고 이에 의한 의약품들의 미분스펙트럼의 확인분석에는 농도의 차이나 약간의 다른 물질의 혼입이 영향을 주지 않았다. 또한 [SPEC-MAN PLUS] 1.30판은 다양한 자료처리 능력을 가지도록 설계되어 스펙트럼의 비교를 원활히 할 수 있도록 하였다. 따라서 고속 하틀리 변환을 이용한 미분스펙트럼의 비교를 위한 시스템인 [SPECMAN PLUS] 1.30판은 의약품을 자외부의 스펙트럼을 대상으로 확인 동정함에 있어 유용한 도구가 되어질 수 있을 것으로 사료된다.



(1) Ampicillin/Amoxicillin(5 : 1)



(2) Ampicilline 3H<sub>2</sub>O

**Fig. 5**—Presentation of comparison result by [SPEC-MAN PLUS] version 1.30.

**감사의 말씀**

이 논문은 1990년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 연구

되었음.

## 문 헌

- 1) Shibata, S., Furukawa, M., and Goto, K. : Dual-wavelength spectrophotometry Part IV. Qualitative and quantitative analysis by means of first-derivative spectra. *Anal. Chim. Acta* **65**, 49(1973).
- 2) Lawrence, A.H., and MacNeil, J.D. : Identification of amphetamine and related illicit drugs by second derivative ultraviolet spectrometry. *Anal. Chem.* **54**, 2385(1982).
- 3) Meal, L. : Identification of ketones by second derivative ultraviolet spectrometry. *Anal. Chem.* **55**, 2448(1983).
- 4) Lawrence, A.H. : Analysis of heroin-morphine mixtures by zero order and second derivative ultraviolet spectrometry. *Anal. Chem.* **56**, 1731(1984).
- 5) Verdine, G., and Nakanishi, K. : Use of differential second derivative UV and FTIR spectroscopy in structural studies of multichromophoric compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 6118(1985).
- 6) Talsky, G., and Ristic-Solajic, M. : High-resolution/higher-order derivative spectrophotometry for identification and estimation of synthetic organic pigments in artists' paints. *Anal. Chim. Acta* **196**, 123(1987).
- 7) Park, M.K., Cho, J.H., and Park, Y.H. : Qualitative analysis by derivative UV spectrophotometry(I) : Identification of penicillins and cephalosporins. *SNU J. Pharm. Sci.* **12**, 67(1987).
- 8) Fox, R.C. : Computer searching of infrared spectra using peak location and intensity data. *Anal. Chem.* **48**, 747(1976).
- 9) Penki, E.C., Padowski, D.A., and Bouck, J.B. : Computer storage and search system for infrared spectra including peak width and intensity. *Anal. Chem.* **46**, 955(1974).
- 10) Woodruff, H.B., Lowry, S.R., Ritter, G.L., and Isenhour, T.L. : Similarity measures for the classification of binary infrared data. *Anal. Chem.* **47**, 2027(1975).
- 11) Delaney, M.F., Warren, F.V., Jr., and Hallowell, J. R., Jr. : Quantitative evaluation of library searching performance. *Anal. Chem.* **55**, 1925(1983).
- 12) Owens, P.M. and Isenhour, T.L. : Infrared spectral compression procedure for resolution independent search systems. *Anal. Chem.* **55**, 1548(1983).
- 13) Nyden, M.R., Pallister, J.E., Sparks, D.T., and Salari, A. : Computer-assisted spectroscopic analysis using orthonormalized reference spectra. Part II : Application to the identification of pure compounds. *Appl. Spectro.* **41**, 63(1987).
- 14) Yu, J. -P. and Friedrich, H.B. : Odd moments of the cross-correlation function for library searching of infrared spectra. *Appl. Spectro.* **41**, 869(1987).
- 15) Kawata, S., Noda, T., and Minami, S. : Spectral searching by Fourier-phase correction. *Appl. Spectro.* **41**, 1176(1986).
- 16) Brown, C.W. and Donahue, S.M. : Searching a UV-Visible spectral library. *Appl. Spectro.* **42**, 347(1988).
- 17) Bracewell, R.N. : The fast Hartley transform. *Proceedings of the IEEE* **72**, 1010(1984).
- 18) O'Neil, M.A. : Faster than fast Fourier, *BYTE*, 293 (April 1988).
- 19) Park, M.K., Park, J.H., and Cho, J.H. : Qualitative analysis by derivative spectrophotometry(II)-Computer-assisted spectral analysis using derivative spectra and root mean of squares of differences. *Arch. Pharm. Res.* **12**, 289(1989).