

Metanil Yellow에 의한 4급 Amine류의 Ion Pair 추출 흡광도 정량(II)

Benzalkonium Chloride, Cetylpyridinium Chloride 및
Dimenhydrinate의 정량

김영수 · 최종환

조선대학교 약학대학

(Received January 15, 1991)

Spectrophotometric Determination of Ion Pair Extraction of Quaternary Amines with Metanil Yellow

Young Soo Kim and Jong Hwan Choi

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

Abstract—Quaternary amines which are widely used as medicines are nitrogen compounds. Metanil yellow(MY) and benzalkonium chloride(BKC) were mixed and added to 10 ml of the buffer solution and then the solution was shaken for 5 minutes. The maximum absorption wavelength of the reaction product was 402 nm. Dichloromethane was the best extracting solvent among the several organic solvents and the most suitable pH range was 2~8. When the BKC-MY calibration curve was made in the best experimental condition, the Lambert-Beer's law was obeyed in the range of BKC concentration of $2 \times 10^{-6} \sim 9 \times 10^{-6}$ M by UV spectrophotometer. This method was possible to determine quaternary ammonium salts in the pharmaceutical preparation.

Keywords □ quaternary amines, ion pair extraction, bezalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, dimenhydrinate.

합질소 유기화합물 중 tertiary, quaternary amine의 ion pair 추출에 의한 분석법으로 chromatography method,¹⁻⁴⁾ potentiometric titration method,⁵⁾ 그리고 UV-spectra techniques⁶⁻⁸⁾ 등의 방법은 이미 알려져 있으며 저자 등은 4급 amine류 중 방부제, 청정제로 이용되는 cetyltrimethyl ammonium bromide (CTA)⁹⁻¹²⁾를 비롯하여 항고혈압제, 교감신경차단제로 사용되고 있는 bretylium tosylate^{13,14)} 그리고 골근육 이완제로 이용되고 있는 gallamine triethiodide (GMT)와 같은 quaternary amine salt를 methyl orange(MO)로 ion pair를 형성시켜 dipole moment가 큰 dichloromethane(DCM)으로 추출하여 이들 4급 amine류인 의약품을 선택적으로 검출 정량하는 획

일성 있는 동일분석 조작법을 고안하여 본 회지에 발표한 바 있다.¹⁶⁾ 이어서 저자 등은 diazo 색소 중 MO와 유사구조를 갖은 metanil yellow(MY)와 안약, 안연고, 질정 등으로 이용되는 benzalkonium chloride (BKC),^{17,18)} 그리고 편도염, 구내염에 사용되는 cetylpyridinium chloride(CPM),^{19,20)} 그리고 신경안정제 및 멀미약으로 이용되는 dimenhydrinate(DHT)^{21,22)}를 미량 정량할 수 있는 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

실험방법

시약—BKC, CPM, DHT 표준용액은 Aldrich chem.

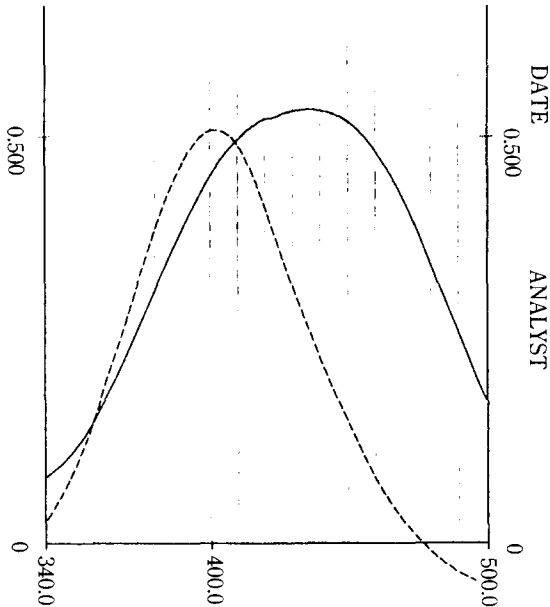


Fig. 1—Absorption spectra of BKC-MY complex extracted with 20 ml of DCM and MY-aqueous solution.

BKC : 2.6×10^{-6} M
 MY : 1.0×10^{-5} M
 pH : 7.0
 Reference : reagent blank(DCM)
 Solid line : MY curve
 Broken line: BKC-MY curve

Co. 제품인 guaranteed reagent를 각각 Milli-Q water system에서 얻은 정제수에 녹여 1×10^{-4} M 용액을 조제한 후 필요에 따라 이를 희석하여 사용하였고 MY는 Aldrich chem. Co.제 guaranteed reagent를 사용하였다.

장치—UV spectrophotometer는 Shimadzu 240 spectrometer(1.0 cm 석영 흡수 cell)를, NMR spectrometer는 FT-NMR 80 SY(Bruker Co.)를 IR spectrometer는 Shimadzu IR-440 with data processor를 사용하였으며 또한 thermolyne(Type 50000 Maxi-MixIII)도 사용하였다.

실험조작법—pH 7.0인 phosphate buffer solution 및 MY 용액 및 BKC 용액을 차례로, 내용 50 ml의 separatory funnel에 취하고 여기에 DCM을 가해서 5분간 Thermolyne으로 진탕, 혼합, 방치한 후 유기층을 분리 분취하고 수층에 새로운 DCM을 가해서

Table I—Variation of MY concentration.

MY(molarity)	Absorbance
5.0×10^{-7}	0.022
1.0×10^{-6}	0.342
2.6×10^{-6}	0.521
1.0×10^{-5}	0.519
5.0×10^{-5}	0.520
5.0×10^{-4}	0.521

BKC : 2.6×10^{-6} M(fixed)

Table II—Extracting effect of organic solvents.

Solvents	Absorbance
dichloromethane	0.521
dichloroethane	0.519
chlorobenzene	0.382
benzene	0.016
carbontetrachloride	0.005

또 다시 진탕 혼합한다. 이 조작을 4회 반복한다. 분리된 유기층을 모두 합하여 측정된 결과 최대흡광파장은 Fig. 1과 같이 402 nm에서 나타났다. 대조액으로는 BKC가 들어 있지 않는 동일조작을 한 용액을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

pH의 영향—MY와 BKC간에 생성된 ion-pair 생성의 최적 pH는 2~8범위였다. blank는 DCM을 탈 ion수로 포화시켜 동일처리한 것을 사용하였으며 강산성층의 액성 조절은 염산을 가하였다.

색소량의 영향—pH 7.0인 phosphate buffer solution 8 ml와 5.2×10^{-5} M BKC 1 ml를 50 ml separatory funnel에 각각 취하고 여기에 MY 농도를 $5.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ M까지 변화시켜 수층량이 10 ml가 되게끔 하였다. 여기에 각각 20 ml의 DCM을 4회로 나누어 5분간씩 진탕 혼합 추출시켰다. 잠시 방치한 후 유기층을 분리하여 흡광도를 분리한 결과는 Table I에 표시하였다. 따라서 본 실험에서는 1.0×10^{-5} M MY를 사용하였다.

추출 용매의 선택— 2.6×10^{-6} M BKC와 MY간 ion-pair 생성에 대하여 몇 가지 유기용매에 의한 추출 효과를 비교한 결과는 Table II에 표시하였다. benzene, 사염화탄소와 같은 무극성 용매는 거의 추출

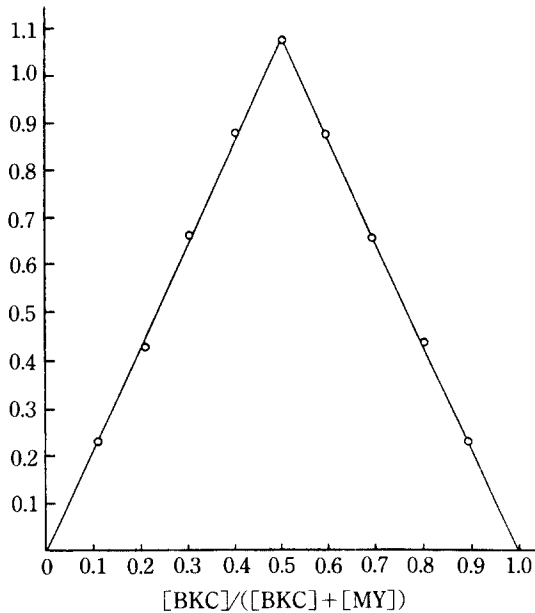


Fig. 2—Determination of the composition of the reaction product by continuous variation method.

BKC : 5.0×10^{-6} M

MY : 5.0×10^{-6} M

pH : 7.0

Reference : reagent blank(DCM)

되지 아니하였으며 benzene, chlorobenzene, dichloroethane, dichloromethane의 순으로 추출효과가 증대되었으므로 본 실험에서는 dichloromethane을 추출용매로 선택하였다.

추출시간과 방치시간의 영향—BKC와 MY간에 생성된 ion-pair 추출시간은 3분이면 충분하였으며 경시변화는 48시간 후에도 흡광도에 영향이 없었으므로 매우 안정된 ion-pair 착화합물이 생성되었다고 생각된다.

반응생성물의 조성—MY와 BKC간의 ion-pair 생성물의 조성비를 연속변화법으로 검토한 결과는 Fig. 2와 같이 MY와 BKC는 1 : 1의 mole비로 결합함을 알 수 있다.

공존 이온의 영향—BKC 정량시 다른 공존금속 이온의 영향을 검토한 결과는 Table III에 표시되어 있다. BKC 10 μ g이 함유된 1ml의 액에 Ba(II), Ca(II)를 각각 10배량 첨가시 약간 negative diversion이 일어나고 있으며 Co(III), Mg(II)를 10배량을 첨가시는 약간 positive diversion이 생김을 알 수 있으나

Table III—Absorbance of BKC-MY complex in the presence of diverse metal ions.

Form of added metal ion	Added amount (μ g)	Absorbance	Deviation from blank
—	—	0.521	—
Pb(CH ₃ COO) ₂	100	0.551	0.030
Bi(NO ₃) ₃	100	0.548	0.027
Zn(NO ₃) ₂	100	0.483	-0.038
Co(NO ₃) ₃	100	0.587	0.066
Ca(NO ₃) ₂	100	0.458	-0.063
MgCl ₂ ·H ₂ O	100	0.560	0.039
Ni(CH ₃ COO) ₂	100	0.503	-0.018
FeSO ₄ ·H ₂ O	100	0.500	-0.021
Ba(NO ₃) ₂	100	0.489	-0.032

(BKC : 10 μ g/ml)

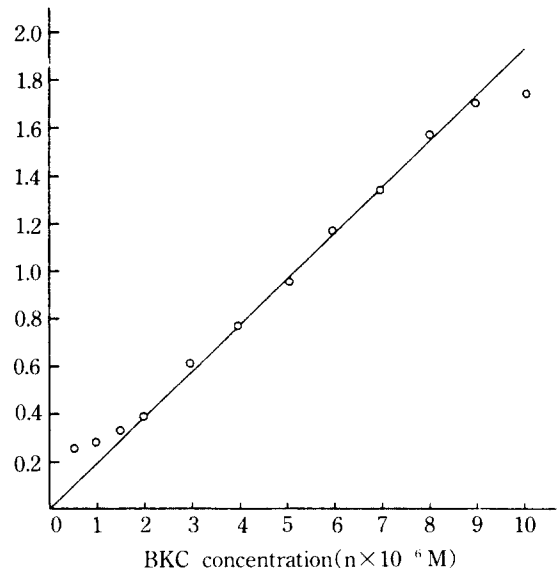


Fig. 3—Calibration curve of BKC by spectrophotometry.

MY : 1.0×10^{-5} M

pH : 7.0

Wavelength: 402 nm

Reference : reagent blank(DCM)

Fe(II), Cu(II), Bi(III) 등의 첨가시는 별로 방해를 받지 않음을 알 수 있다.

검량선의 작성—실험조작법에 따라 조제한 DCM 층에 포함된 여러 가지 농도의 BKC는 Fig. 3과 같이 $2.0 \times 10^{-6} \sim 9.0 \times 10^{-6}$ M 범위에서 Lambert Beer's law가 잘 성립함을 알 수 있다. 그리고 이 정량법을

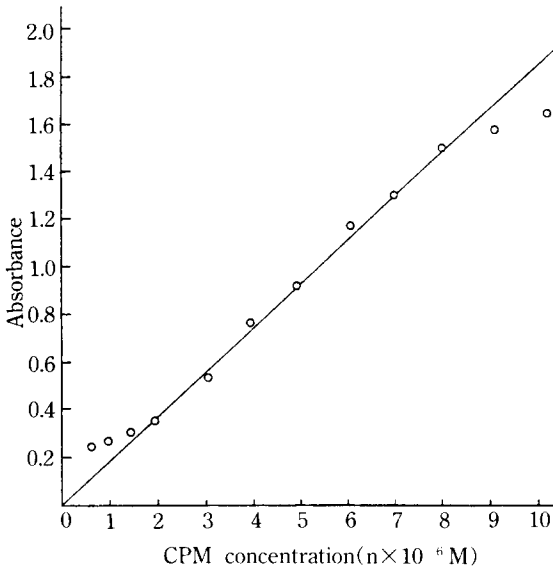


Fig. 4—Calibration curve of CPM by spectrophotometry.

MY : 1.0×10^{-5} M
 pH : 7.0
 Wavelength: 401 nm
 Reference : reagent blank(DCM)

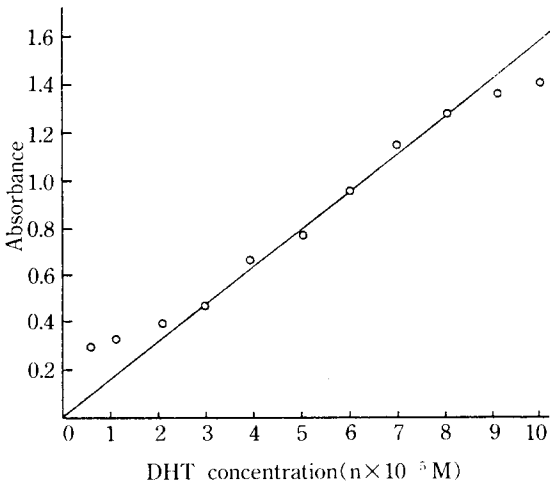


Fig. 5—Calibration curve of DHT by spectrophotometry.

MY : 1.0×10^{-3} M
 pH : 7.0
 Wavelength: 404 nm
 Reference : reagent blank(DCM)

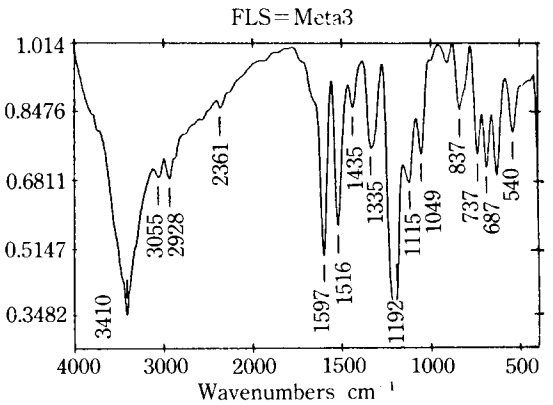


Fig. 6—IR spectrum of MY.

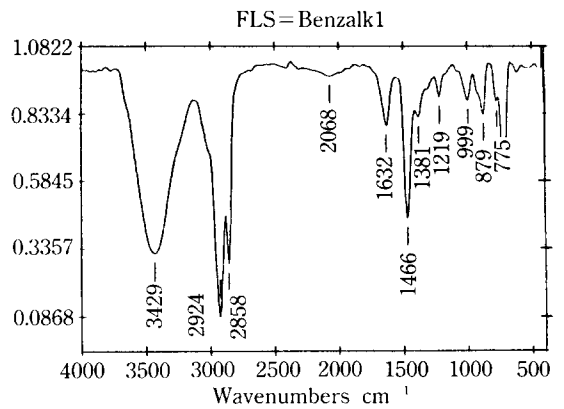


Fig. 7—IR spectrum of BKC.

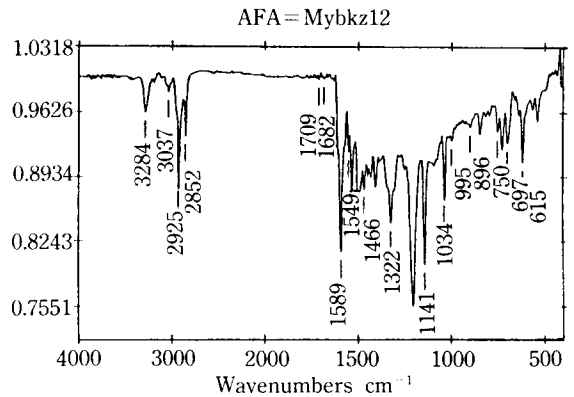


Fig. 8—IR spectrum of MY-BKC complex.

다른 4급 Ammonium 염류 실험의 확실성 있는 용가능성의 일환으로 시판되고 있는 의약품 중 CPM, DHT를 BKC 때와 동일실험 조작법으로 처리된 검

Table IV—Assignments of MY and MY-BKC.

No.	Hydrogen number	Original	Complex
a	2	7.15~7.20	7.16~7.22
b	3	7.78~7.80	7.76~7.80
c	4	7.34~7.43	7.37~7.44
d	1	8.01	8.40
e	1	6.60~6.76	7.01~7.06
f	1	7.70	7.50
g	1	7.10	7.11

Table V—Assignments of BKC and MY-BKC.

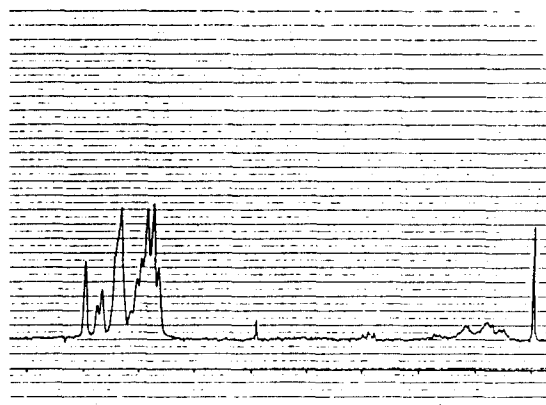
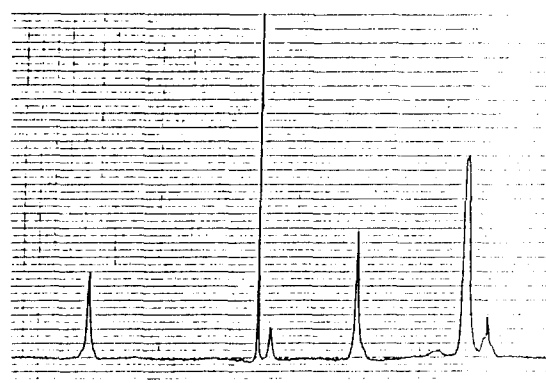
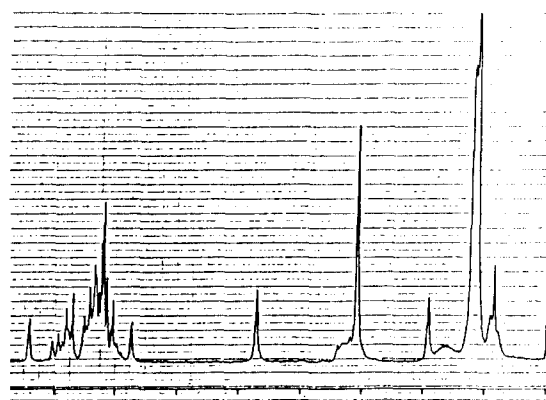
No.	Hydrogen number	Original	Complex
a	5	7.43	7.44
b	4	4.48	4.73
c	6	2.91~3.10	2.98~3.20
d	n	1.15~1.29	1.16~1.12
e	3	0.90~0.98	0.93

량을 검토한 결과는 Fig. 4, 5와 같다.

반응생성물의 IR spectrum—Fig. 6과 Fig. 7에 MY와 BKC의 IR spectrum을 나타내었고 Fig. 8은 BKC-MY 착화합물에 대한 IR spectrum을 표시하였다. BKC-MY간에 형성된 착화합물의 spectrum에서는 MY에 있는 $-\text{SO}_3^-$ 의 vibration이 1192 cm^{-1} 에서 1203 cm^{-1} 로 단파장 전이가 일어났으며 또 1335 cm^{-1} 에서 1322 cm^{-1} 로 장파장 전이도 일어나는 한편 BKC의 amine site에 인접된 $-\text{CH}_3$ 의 spectrum은 1381 cm^{-1} 에서 1405 cm^{-1} 로 단파장 전이가 확실히 관찰됨으로 MY와 BKC간에 ion-pair 착화합물의 형성이 예상된다.

반응생성물의 NMR spectrum—양성자 공명 주파수 80 MHz에서 internal locking 물질로서 CDCl_3 를 넣고 기준물질로 TMS(tetramethyl silane)를 넣어 $^1\text{H-NMR}$ 을 얻었다. 그리고 counter compound로 사용한 MY와 BKC 그리고 MY-BKC의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 assignment들을 Table IV, V에 표시하였다.

Table IV, V에서 볼 수 있듯이 amine site에 있는 proton의 경우 대부분 chemical shift가 down field 쪽으로 옮겨짐을 알 수 있고 MY의 $-\text{SO}_3^-$ 에 의한 착화합물 형성시 전자밀도가 증가하고 특히 MY의 $-\text{SO}_3^-$ 가까이에 있는 b, c, proton의 chemical shift가

**Fig. 9**—NMR spectrum of MY.**Fig. 10**—NMR spectrum of BKC.**Fig. 11**—NMR spectrum of MY-BKC complex.

$0.2\sim 0.41\text{ ppm}$ 만큼 변화된 것으로서도 확실히 착화합물 형성이 입증되며 이에대한 결과는 Fig.9~11에 표시하였다.

Table VI—Experimental results of assay by UV spectrometry.

Drugs	λ_{max}	Determination range	Shift interval	pH	Mole ratio (Drugs-MY)	Extraction solvent
BKC	402	$2.0 \times 10^{-6} \sim 9.0 \times 10^{-6}$ M	33 nm	7.0	1 : 1	DCM
CPM	401	$2.1 \times 10^{-6} \sim 8.5 \times 10^{-6}$ M	34 nm	7.0	1 : 1	DCM
DHT	405	$3.1 \times 10^{-5} \sim 8.2 \times 10^{-5}$ M	30 nm	7.0	1 : 1	DCM

결 론

1) BKC와 MY간에 매우 안정성이 높은 ion-pair 착물이 형성되어 dipole moment가 큰 DCM으로 추출 정량되었으며 BKC 이외의 4급 amine류인 CPM, DHT도 동일 기본조작법에 의한 UV spectrum법으로 정량된 결과는 Table VI에 표시하였다.

2) IR-spectrum에 의한 구조적 고찰의 측면에서 볼 때 MY에 있는 $-SO_3^-$ radical의 vibration이 각각 장파장과 단파장 쪽으로 shift가 되었으며 BKC의 amine site에 인접된 $-CH_3$ spectrum은 1382 cm^{-1} 에서 1405 cm^{-1} 로 단파장쪽 전이가 관찰됨으로써 MY와 BKC간에 ion-pair 착물의 형성이 예비된다.

3) NMR-spectrum의 구조적 고찰에서도 BKC의 amine site에 인접된 proton의 경우 대부분 chemical shift가 down field쪽으로 전이되었으며 MY의 $-SO_3^-$ 에 가까이 있는 b, c proton의 chemical shift가 0.2~0.41 ppm만큼 전이된 것으로서도 확실히 착화합물 형성이 입증된다.

문 헌

- 1) Van Liedekerke, B.M. and Nelis, H.J. and Lambert, W.E. and De Leenheer, A.P. : High performance liquid chromatography of quaternary ammonium compounds on a polystyrene-divinylbenzene column. *Anal. Chem.* **61**, 729(1989).
- 2) Frank, H and Heinisch, G. and Neumayer, E. : Identity control of formulate drugs by thin-layer chromatography. Part 1. *Sci. Pharm.* **54**, 305(1986).
- 3) Yuan, Y. and Wang, Y. and Qu, K. : Flow injection analysis micellar solubilization spectrophotometry. *Fenxi Huaxue* **16**, 546(1988).
- 4) Giebelmann, R. : Ion-pair absorption thin-layer chromatography of quaternary ammonium ions. *Pharmazie* **36**, 385(1981).
- 5) Diamandis, E.P and Christopoulos, T.K.Y. Potentiometric titration of pharmaceutical compounds in formulation with sodium tetraphenyl borate. *Anal. Chem. Acta* **152**, 281(1983).
- 6) Fang, G. and Luo, R. and Xie, Q. : Simultaneous spectrophotometric determination of mercury(II) and lead with tetrakis(p-trimethylammonium phenyl) by dual-wavelength technique. *Fenxi Huaxue* **16**, 444(1988).
- 7) Wang, D.J and Xiao, Z. and Pan, Q.H. : Highly sensitive spectrophotometric determination of gallium with 4,5-dibromophenylfluorone and cetyltrimethylammonium bromide. *Huaxue Shiji* **8**, 138(1986).
- 8) Chen, T. and Xiao, Y. : Dual-wavelength spectrophotometric determination of microamounts of chromium in steels with salicylfluorone and N-cetylpyridinium chloride. *Fenxi Huaxue* **15**, 234(1987).
- 9) Martire, C. and Hainberger, L. : Sensitive and selective spectrophotometric determination of aluminium with chrome FAST PURE BLUE B and cetyltrimethylammonium bromide. *Mikro. Chem. Acta* **2**, 223(1985).
- 10) ABT Zuhri, A.2. : Spectrophotometric determination of lead with 2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-diethyl aminophenol and cetyltrimethylammonium bromide. *Spectroc. Lett.* **19**, 333(1986).
- 11) Jin, Y. : Spectrophotometric determination of trace zinc in aluminium alloys with 4,5-dibromophenylfluorone-cetyltrimethylammonium bromide after anion exchange separation. *Fenxi Shiyanshi* **7**, 9(1988).
- 12) Amire, O.A. : A spectrophotometric determination of the acid strength of an indicator in a cetyltrimethylammonium bromide water-in-oil microemulsion water 'pool'. *J. Colloid Interface Sci.* **126**, 508(1988).

- 13) Toda, N. : Interaction of bretylium and drugs that inhibit the neuronal membrane transport of norepinephrine in isolated rabbit atria and aortas. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **181**, 318(1972).
- 14) Markis, J.E. and Koch-Weser, J. : Characteristic and mechanism of inotropic actions of bretylium tosylate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **178**, 94(1971).
- 15) Mourier, P.A. : Determination of gallamine and its impurities by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography and comparison with thin-layer chromatography. *Chromatogr.* **462**, 281(1989).
- 16) Kim, Y.S. and Choi, J.H. : Spectrophotometric determination of ion pair extraction of quaternary amines with methyl orange. *Yakhak Hoeji* **31**, 45 (1987).
- 17) Pesavento, M. and Riolo, C. and Achilli, M. : Extraction atomic absorption spectrophotometric determination of palladium as its anionic complex with a sulfonated azo dye. *Anal. Chem.* **60**, 332 (1988).
- 18) Kurihara, H. and Kuwabara, H. and Kurihara, T. : Spectrophotometric determination of germanium with phenylfluorone and benzalkonium chloride. *Bunseki Kagaku* **29**, 560(1988).
- 19) Bouzid, B. and MacDonald, A.M.G. : Flow-injection spectrophotometric determination of aluminium based on chrome azurol S and cetylpyridinium chloride. *Anal. Chim. Acta* **207**, 337(1988).
- 20) Sakai, T. and Ohsugi, Y. and Kamoto, T. and Ohno, N. and Sasaki, H. : Spectrophotometric determination of cetylpyridinium chloride in pharmaceuticals by ion-pair extraction with quinidine and bromocresol green. *Bunseki Kagaku* **37**, 174(1988).
- 21) Kar, A. and Aniuha, G.I. : Spectrophotometric determination of dimenhydrinate with reinecke salt. *J. Pharm. Sci.* **70**, 690(1981).
- 22) Matba, H. and Maki, M. and Yamanaka, M. and Kitamori, N. : Formation of hydrate crystal forms of dimenhydrinate. *Takeda Kenkyushoho* **44**, 98 (1985).