

Alverine의 정량을 위한 Ion-Selective Electrodes

이은엽[†] · 김기묘 · 김성진 · 허문희 · 안문규

경성대학교 약학대학 약학과

(1995. 1. 13. 접수)

Ion-Selective Electrodes for the Determination of Alverine

Eun-Yup Lee[†], Ki-Myo Kim, Sung-Jin Kim, Moon-Hye Hur, Moon-Kyu Ahn

Department of Pharmacy, Kyung Sung University, #110-1, Daeyundong, Namgu PUSAN

608-736, Korea

(Received Jan. 13, 1995)

요약 : Alverine에 대한 anionic counter ion으로서 acid red 97의 이용 가능성을 살펴보았다. PVC와 가소제의 비율이 같을 때 적절한 감응과 긴 수명을 나타내었으며, 검량선은 $1.0 \times 10^{-5} M$ 까지 직선성이었고 그 감응 기울기는 $55.35 mV/dec.$, 변동계수는 0.61이었다. Methylephedrine에 대하여는 -2.626 , histidine에 대하여는 -2.216 등의 선택계수를 보였고 pH 7.0~4.0에서 안정된 전위값을 얻을 수 있었다. $10^{-4} M$ 이하에서 20~30초 이내, 그 이상의 농도에서는 약 10초 이내에서 안정된 전위값을 얻을 수 있었다.

Abstract : Ion-selective poly(vinyl chloride) membrane electrodes for the determination of the anticholinergic drug alverine in pure substances is described. Ion-pair complex of alverine with anionic counter ion acid red 97 is investigated as electroactive compound for the electrode membrane. On the optimal composition of membrane, its slope was $55.35 mV/decade$, relative standard deviation was 0.61 and lower limit of linear range was $1.0 \times 10^{-5} M$. The observed potentiometric selectivity coefficient was -2.625 toward methylephedrine and -2.216 toward histidine. We can get the stable potential at pH 7.0~4.0. Response time was 20~30 seconds for solutions $\leq 10^{-4} M$, about 10 seconds for solutions $\geq 10^{-4} M$ of these compounds.

Key words : Ion-selective electrode, anionic counter ion, acid red 97, alverine.

1. 서 론

이온 선택성 전극은 저렴, 간단하고 조작이 쉬우며 넓은 농도의 범위에서 직접적으로 시료의 활동도를 구할 수 있다는 장점을 가지고 있어 중요한 연구 대상으로서 자리잡고 있다. 최근 이온 교환계의 이온 선택성 전극을 아민기¹⁻⁶, 카르복실기^{7,8}, 황산기⁹ 등 중요 작용

기를 가진 의약품의 정량에 응용하고 있다. 이러한 이온 선택성 전극은 그 막을 구성하는 가소제의 종류에 의해 상당한 영향을 받는다고 알려져 왔으며¹⁰, 가소제로서 갖추어야 할 조건으로 인해 사용되는 종류가 비교적 한정되어 있다. 양이온 유기 의약품은 ion-exchanger로서 대개 봉산염류 화합물을 사용^{3,4,6,11-14}하였고, 음이온성 유기 의약품의 경우 crystal violet,

methyltridodecylammonium chloride⁹, bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium(PNP)¹⁰, 등을 사용하여 왔다. 그러나 tetraphenylborate(K^+ , Na^+ 염)류 이외의 붕산염류들은 고가인데다 산이나 빛 등에 의하여 분해되며¹⁵, 아울러 방해 이온에 대한 영향을 많이 받는다는 단점이 있다.¹⁶ 한편, 붕산염류 이외의 화합물을 이용한 것으로는 triphenylstilbenylborate¹⁴, 5-nitrobarbiturate⁵, dipicrylamine^{11, 12}, picrylsulfonate¹⁷, reineckate² 등이 보고된 바가 있다. 저자 등은 3급 아민인 alverine의 tetraphenylborate 착화합물이 수득률이 낮고 정제가 어려워 새로운 양이온-exchanger로 acid red 97의 사용 가능성을 검토한 결과 몇 가지 지견을 얻었으므로 이에 보고한다.

2. 실험 방법

2.1. 시약

Acid red 97, acid yellow 42, poly(vinyl chloride)(PVC), tetrahydrofuran(THF), tris(2-ethylhexyl)phosphate(TEHP), procaine 등은 Aldrich사제, alverine citrate(N-ethyl-3, 3'-diphenyldipropylamine), tetrabutylammonium hydrogen sulfate, diltiazem, dibucaine, nortriptyline 등은 Sigma사제, bis(2-ethylhexyl)phthalate(DOP), bis(2-ethylhexyl)sebacate(DOS), bis(2-ethylhexyl)adipate(DOA), o-nitrophenyl octyl ether(o-NPOE) 등은 Fluka사제, tetraphenylborate sodium salt는 일본 Hauashi사제, 그리고 histidine은 일본 Junsei사제를 사용하였다. 그외 시약들은 특급을 사용하였으며, 시약 제조사의 증류수는 모두 Millipore Milli-Q water system으로 탈염된 2차 증류수를 사용하였다.

2.2. 장치

일정 실험 조건하에서 동시에 데이터를 얻기 위해 고안된 16 채널 A/D convertor와 데이터를 수렴, 처리하기 위한 Trigem 286+S(삼보)를 사용하였고, 외부 기준 전극으로는 single-junction Ag-AgCl 전극(Orion Model 90-01-00)을 사용하였으며 전극으로는 Phillips사(Zürich)제의 IS-561를 사용하였다.

2.3. 전기활성물질의 제조

10^{-2} M Alverine 수용액에 과량의 acid red 97 용액

을 넣어 반응시켜 형성된 이온쌍-화합물을 dichloromethane으로 추출한 후 유기용매를 휘발시킨 다음 남은 침전물을 가루로 갈아서 사용하였다. 이때 acid red 97 수용액은 먼저 일정 함량의 액을 만든 후 하루 방치한 다음 그 상징액을 사용하였다.

별도로 막 저항을 줄일 목적으로 사용된 친유성염인 tetrabutylammonium-tetraphenylborate는 tetrabutylammonium hydrogensulfate 약 50mg에 tetraphenylborate 과량을 넣어 형성된 침전을 glass filter로 여과하여 건조시켜 만들었다.

2.4. PVC 액체막 및 전극 제작

전기활성물질의 양을 2w/w%로 정하고 o-NPOE/PVC 비율이 2/1, 1/1, 1/1.4, 1/2가 되도록 정확히 취한 후 이들을 2ml THF에 녹여 유리판에 고정된 직경 22mm의 유리관에 부은 다음 하룻동안 방치하여 THF를 휘발시켰다.

생성된 막을 직경 7mm인 punch로 잘라 이를 screw-cap에 고정하여 전극 본체에 장착하였다. 내부 기준용액으로는 1.0×10^{-2} M의 NaCl을 사용하였고, 외부 기준전극의 외부 기준용액으로는 AgCl이 포화된 KCl 용액인 Orion사의 기준 전극 충전액 90-00-01을 사용하였다. 완성된 전극은 먼저 1.0×10^{-2} M의 alverine 용액에 하루 담근 후 사용하였으며 보관시에는 탈염된 증류수에 담가 두었다.

2.5. 측정

완성된 전극과 Ag/AgCl 외부 기준전극을 컴퓨터에 연결된 16 채널에 같이 연결하고 이들 전극을 1.0×10^{-2} M의 NaCl액에 담가 약 30분 동안 condition시킨 후 측정하였다.

2.6. 검량선

Acid red 97-alverine 액체막 전극을 120ml 혹은 20ml의 1.0×10^{-2} M의 NaCl액에 담근 후 일정 농도의 alverine액을 점차적으로 첨가한 후 그 전위값을 측정하여 alverine 농도의 상용대수값에 대하여 그 전위값의 변화로부터 구하였다.

2.7. 전극막 선택성

막의 선택성은 분리법에 따라 산출하였다.¹⁰ 일정량의 10^{-2} M NaCl액에 전극을 담근 후 방해물질 일정량

을 첨가하여 그 전위값을 측정하고 다음의 식에 대입하여 산출하였다.

$$K_{A, B}^{pot} = 10^{\Delta E/S} (a_A / a_B^{1/2})$$

여기서 ΔE 는 방해물질(B)에 의한 전위값과 alverine(A)에 의한 전위값과의 차이이고($\Delta E = E_B - E_A$), Z는 방해 물질의 하전수, S는 alverine에 대한 전극의 감응 기울기이며 a_A 와 a_B 는 각각 alverine, 방해물질의 활동도이다.

3. 실험 결과 및 고찰

이온 선택성 전극의 막은 여러 가지 조건에 의해서 영향을 받지만 막의 구성 성분으로서 가장 많은 비율로 함유되는 가소제에 따라 큰 영향을 받는다. 특히 이온 교환계의 경우 이온의 선택성이 이온의 수용액과 유기 용매에 대한 분배계수, 이동성 혹은 추출성에 따라 큰 영향을 받으므로¹⁸ 막의 효율성을 높이기 위하여 가소제의 비율을 PVC의 약 2배로 하여 막을 만든다.¹⁰ 그러나 경우에 따라서는 전혀 다른 비율에서 최적의 성능을 발휘하는 경우가 있으며⁹, 이때에는 막의 높은 저항성을 줄이기 위해 친유성 염을 전기활성물질에 일정량을 첨가한다.¹⁰ 또, 막을 구성하는 전기활성물질의 친유성의 정도가 막의 효율성과 연관되는데, 지나친 친유성인 경우 시료 중의 분석물이 막의 전기활성물질과 쉽게 접촉할 수 없게 되어 전위 측정에 어려움이 생기며, 친수성이 강해지면 시료 중의 분석물과의 접촉은 쉬우나 막 밖으로 유출될 가능성이 높을 뿐만 아니라 낮은 친유성으로 인해 분석물질의 막의 내부로의

Table 1. Solubility of acid red 97-alverine complex

Plasticizer	Solubility
DOA	0%
DOS	0%
TEHP	20~30%
DOP	30~40%
o-NPOE	100%

이동에 어려움이 생긴다. 또한 가소제의 선택은 가소제의 dielectric constant와 막성분의 가소제에 의한 효율적인 용해 및 막 내에서의 적절한 이동성을 고려하여야 한다.⁹ 본 실험에서 가장 적절한 가소제를 선택할 목적의 하나로 전기활성물질의 각 가소제에 대한 용해 정도를 알아보기 위해 4mg의 acid red 97-alverine complex에 각 가소제 130.6mg을 첨가하여 강하게 혼합하여 하루동안 방치한 후 육안으로 관찰하였다 (Table 1). 그 결과 DOS, DOA에는 녹지 않았으며 DOP, TEHP 등에는 소량만 녹는 등 이들 가소제에는 용해성이 낮았으나 극성이 높은 o-NPOE에만 녹았다. 이는 기존의 TpB 유도체나 중성 ionophore들의 친유성과는 달리 acid red 97의 $-OH$ 기와 $-SO_3^-$ 기에 의한 극성으로 인해 극성이 낮은 가소제인 DOS, DOA, DOP, TEHP 등은 부적절한 것으로 생각된다. Acid red 97과 유사 구조를 가진 acid yellow 42의 경우 OH -기 외에 $N-N=$ 기가 있어 보다 증가된 극성으로 인해 전기활성물질의 유출이 심하여 이온 선택성 전극에 사용하기에는 부적절한 성질을 보였다.

o-NPOE를 사용하여 막 구성 비율을 달리하여 감응성을 비교하여 보았다. Table 2와 Fig. 1에서 본 바와

Table 2. Composition of electrode membrane and its characteristic response.
(total weight is 200mg)

No.	Electroactive Compound	Plasticizer	PVC	Slope (mV/dec.)	Relative Standard Deviation
1	2%	65.3%	32.7%	50.75	1.20
2	2%	49.0%	49.0%	55.35	0.61
3	2%	40.8%	57.2%	37.11	-
4	2%	32.7%	65.3%	33.90	-

The value of correlation coefficient was above 0.997 for 1 electrode and above 0.998 for 2 electrode. But most was above 0.999.

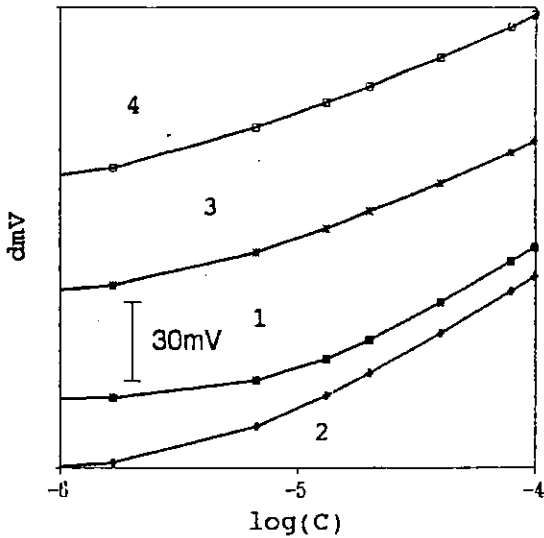


Fig. 1. Calibration curve of electrodes based on acid red 97 complex.

Numbers in figure are electrode number. See table 2 for more detail.

같이 1, 2번 막에 비해 3, 4번 막의 경우 낮은 감응 기율을 보여 이 이후 1, 2번 막을 중심으로 하였고, 그리고 2번 막의 조성을 전기활성물질의 양에 대하여 10%, 30%, 50%, 70%에 해당되는 양의 tetrabutylammonium-tetraphenylborate염을 첨가하여 5~8번 막 등을 만들어 이들 6개의 막의 감응 속도와 안정도를 비교하고 기울기와 선택계수를 구하였다. 가소제의 비율이 낮은 경우 막 저항성으로 인해 감응 속도 등에 장애가 생길 것으로 예상되나 높은 비율의 것과는 별반 차이

가 없었고, 오히려 Table 3에서 본 바와 같이 막 저항성을 줄이기 위한 목적으로 첨가된 tetrabutyl ammonium-tetraphenylborate염의 영향으로 막의 선택성이 감소되었다.

pH의 영향을 살펴볼 목적으로 각 pH에서의 전위값을 측정된 결과 pH 4.0 이상에서는 일정한 재현성과 slope를 보였으나 그 이하에서는 slope가 감소하는 것으로 나타났으며, pH 7 이상에서는 alverine 자체가 혼탁되었으므로 본 실험은 pH 7~4의 NaCl 용액에서 행하였다.

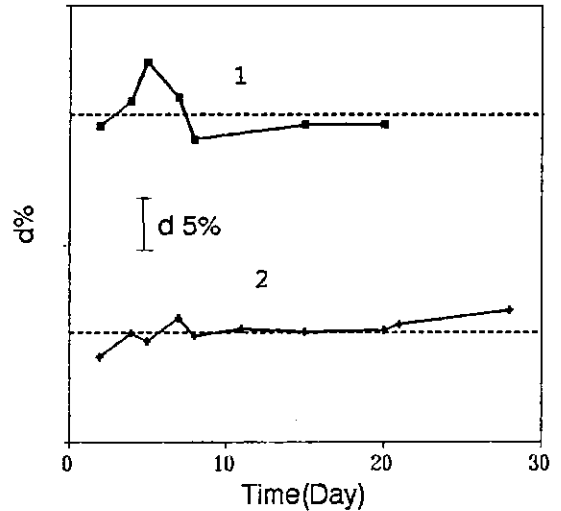


Fig. 2. Variation of electrode's slope for 4 weeks. For electrode 2, average slope was 55.35 and relative standard deviation was 0.61. See table 2 for more detail.

Table 3. Characteristic response of electrode membrane containing lipophilic salt.

Electrode No.	Lipophilic salt* (%)	Slope (mV/dec.)	Selective Coefficient (log K)					
			Histidine	Dibucaine	Nortriptyline	Procaine	Methyl-ephedrine	Diltiazem
1	0	50.75	-2.064	-1.024	-0.614	-1.447	-2.494	-1.418
2	0	55.35	-2.216	-0.994	-0.965	-1.546	-2.625	-1.555
5	10	53.16	-2.051	-0.949	-0.934	-	-	-
6	30	53.12	-2.145	-0.878	-0.870	-	-	-
7	50	52.49	-2.139	-0.639	-0.700	-	-	-
8	70	53.89	-2.180	-0.644	-0.661	-	-	-

*Lipophilic salt is tetrabutylammonium-tetraphenylborate complex. And it's percentage is that to electroactive compound weight.

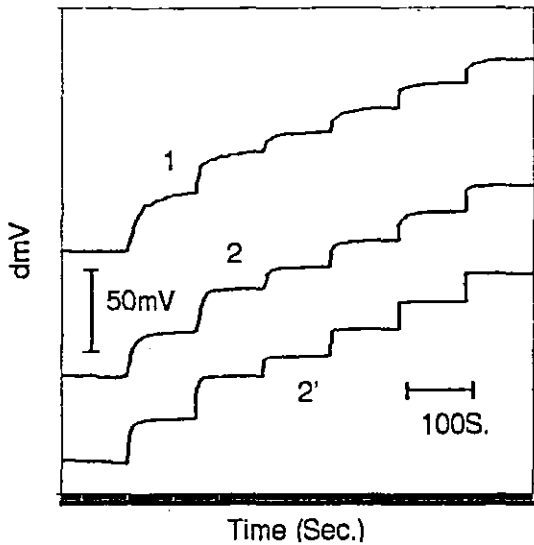


Fig. 3. Dynamic response of electrode versus time after 3 weeks. 2': electrode 2 made again after 10 days.

1, 2번 막을 대상으로 3주 동안 지속적으로 그 감응성의 변화를 측정하고, 아울러 2번 막을 제조한지 10일 후에 다시 만들어서 비교하여 그 재현성을 검토하여 보았다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 2번 전극이 1번 전극의 경우에 비해 감응 기울기의 변화가 안정되어 있었다. 동시에 감응 속도의 변화를 관찰한 결과 1번 전극의 경우 감응속도가 점점 느려져 3주 이후로는 더 이상 사용할 수가 없게 되었다. 반면 Fig. 3에 나타난 바와 같이 처음 만든 2번 전극과 10일 후에 다시 만든 전극의 경우 다소의 차이는 있으나 큰 변화는 나타나지 않았고, 5주 후에도 사용이 가능하였다. 2번 막의 경우 $10^{-4}M$ 이하에서는 약 20~30초 이내에서 안정된 값으로 도달되며 그 이상에서는 수초 내에서 안정된 값으로 도달되어 매우 빠른 감응성을 보였다. 처음 만든 2번 전극의 평균 감응 기울기와 변동계수는 각각 55.35mV/dec., 0.61이었고, 다시 만든 것은 각각 54.97mV/dec., 0.64를 보여 좋은 재현성을 보였다.

참고문헌

1. R. Aubeck, C. Brauchle and N. Hampp, Ion-selective membrane electrodes for the determination of the muscle relaxants pancuronium, tubocurarine, gallamine and succinylcholine, *Anal.*

Chim. Acta., **238**, 405(1990).

2. E. Bo and X. Lu, Poly(vinyl chloride) membrane electrode for the determination of verapamil, *Anal. Chim. Acta.*, **235**, 461(1990).
3. C. Epplesheim, R. Aubeck, N. Hampp and C. Bräuchle, Determination of ethaverine and papaverine using ion selective electrodes, *Analyst*, **116**, 1001(1991).
4. M. Zareh, R. El-Sheikh, Y. M. Issa and A. F. Shoukry, Plastic membrane and coated wire ion-selective electrodes for propylhexedrine, *Anal. Lett.*, **25**, 663(1992).
5. M. A. Ahmed, Poly(vinyl chloride) matrix membrane electrodes for the selective determination of bufomin, *Analyst*, **119**, 1367(1994).
6. R. Fuglein, C. Bräuchle and N. Hampp, Ion selective electrodes for the determination of the antibiotic drug chlortetracycline, *Anal. Sci.*, **10**, 959(1994).
7. W. H. Chem, W. M. Lee, C. L. Foo and W. K. Tang Ion-selective electrodes in organic analysis-determination of vanillin by a vanillate-selective electrode, *Analyst*, **112**, 845(1987).
8. R. Aubeck, C. Brauchle and N. Hampp, Indomethacin ion selective electrode based on a bis [triphenylphosphoranylidene]ammonium-indomethacin complex, *Analyst*, **116**, 811(1991).
9. B. Fu, E. Bakker, J. H. Yun, V. C. Yang and M. E. Meyerhoff, Response mechanism of polymer membrane-based potentiometric polyion sensors, *Anal. Chem.*, **66**, 2250(1994).
10. D. Ammann, "Ion-selective microelectrodes : principles, design and application", p. 43-96, Springer-Verlag, Germany(1986).
11. A. Mitsana-Papazoglou, T. K. Christopoulos, E. P. Diamandis and T. P. Hadjiioannou, Construction of ion selective electrodes for chlorpromazine, amitriptyline, propantheline and meperidine : analytical study and application to pharmaceutical analysis, *Analyst*, **110**, 1091(1985).
12. A. Mitsana-Papazoglou, E. P. Diamandis and T. P. Hadjiioannou, Ion-selective electrodes for the H_2 -receptor antagonists cimetidine and ranitidine, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 485(1987).
13. B. Li, Z. Zang and X. You, PVC membrane electrodes of anisodamine, N-butylscopolamine and homatropine, *Analyst*, **113**, 57(1988).
14. A. A. Bunaciu, M. S. Ionescu, C. Palivan and V.

- v. Cosofret, Amitriptyline selective plastic membrane sensors and their pharmaceutical application, *Analyst*, **116**, 239(1991).
15. K. Seiler, "Ion-selective optode membranes", p. 38, Fluka Bhemie AG, Switzerland(1993).
16. S. S. M. Hassan and G. A. Rechnitz, New liquid membrane electrode for the determination of ephedrine, epinephrine and norepinephrine, *Anal. Chem.*, **58**, 1052(1986).
17. S. S. Hassan, M. A. Ahmed and M. M. Saudi, Caffeine-picrylsulfonate liquid membrane electrode for selective determination of caffeine in analgesic preparations, *Anal. Chem.*, **57**, 1126 (1985).
18. V. V. Cosofret, R. P. Buck, "Pharmaceutical applications of membrane sensors", p. 17, CRC press, U. S. A.(1992).