

이온교환체로서 금속 - 페난드롤린 - 메페남산 3원 착물을 이용한 메페남산의 정량

허문희[#] · 김대병 · 남수자 · 문현숙* · 이미나* · 정문모* · 안문규*

부산지방식품의약품안전청, *경성대학교 약학대학

(Received September 10, 2000; Revised December 21, 2000)

Determination of Mefenamic acid with ISEs Using Ternary Complex of Metal-phenanthroline-mefenamate as Ion-exchanger

Moon Hye Hur[#], Dae Byung Kim, Soo Ja Nam, Hyun Sook Moon*, Mi Na Lee*,
Moon Mo Jung* and Moon Kyu Ahn*

Pusan Regional Food & Drug Administration, #123-7, Yongdangdong,
Namgu, Pusan, 608-080, Korea

*Department of Pharmacy Kyungsung Univ., #110-1, Daeyundong,
Namgu, Pusan, 608-736, Korea

Abstract — A method for the determination of anionic drug, mefenamate with ion-selective electrode using Fe(II)-1,10-phenanthroline chelate as a counter ion was developed. Benzyl nitrophenyl ether (BNPE) plasticized membrane was more selective and sensitive than the other tested membranes. This membrane electrode exhibits a linear response for 10^{-2} M~ 5×10^{-5} M of mefenamic acid with a slope of -61.4 mV/dec. in borate buffer solutions (pH 9.0). Potentiometric selectivity measurements revealed negligible interferences from various organic and ionorganic anions. Direct potentiometry and potentiometric titration method of mefenamic acid in capsule preparations are presented and compared.

Keywords □ ISEs, Mefenamate, direct potentiometry, potentiometric titration, Fe(II)-1,10-phenanthroline

메페남산의 정량은 중화적정법¹⁾, 분광광도법²⁾, 형광법³⁾, 용매 추출분광법⁴⁾ 및 크로마토그래피법⁵⁾ 등 여러 가지의 방법으로 연구되었다. 4급 암모늄 화합물에 의한 산성의약품의 이온 선택성 전극법⁶⁾은 선택성이 다소 떨어지며 감응 속도가 느린 편이다.

Hassan 등은 warfarin과 ibuprofen,⁷⁾ diclofenac,⁸⁾ tetraphenyborate 및 금속류⁹⁾ 등의 정량에 phenanthroline 유도체를 사용하여, 높은 정확도, 낮은 검출한계, 넓은 검량범위 및 양호한 선택성 등의 장점을 보고한 바 있다. Phenanthroline 이외에도 organotin(IV) carboxylate,¹⁰⁾ metal porphyrin¹¹⁾ 등이 사용된 바

있다. 또한 금속 chelate를 titrant로 한 이들의 전위차 적정법⁷⁾을 시도하기도 하였다.

그러나, 최근까지 비스테로이드성 소염 진통제인 mefenamic acid, niflumic acid, flufenamic acid 등의 이온 선택성 전극법은 아직 보고된 바가 없다.

이에 본 연구진은 mefenamic acid와 Fe(II)-1,10-phenanthroline의 3원착물을 사용하여, 여러 가소제별 감응성 등을 검토하여 mefenamic acid의 이온선택성 전극법을 확립하고자 한다.

실험방법

시약 — 1,10-phenanthroline(Phen), mefenamic acid (MA) 등은 Sigma사제, *o*-nitrophenyl octyl ether

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 051-620-4882 (팩스) 051-628-6540

(NPOE), 2-fluorophenyl-2-nitrophenyl ether(FPNPE), BNPE, dioctyl phthalate(DOP), 등은 Fluka사제, dioctyl sebacate(DOS), tricresyl phosphate(TCP), poly(vinyl chloride)(PVC) 등은 Scientific polymer products사제, trioctyl phosphate(TOP), tetrahydrofuran(THF)은 Aldrich사제, 그외 시약들은 모두 시판 특급을 사용하였다. 본 실험에서 사용되는 모든 시약은 Milli-Q(Millipore사제) water system으로 털염된 2차 중류수로서 제조하였고, 원충용액으로는 0.1 M 봉산완충액을 사용하였다.

기기 – Electrode body는 Phillips사제의 IS-561, pH meter는 Orion 사의 model 920A, pH electrode는 Orion사의 model 91-02 glass electrode, 기준전극은 Orion사의 model 90-01-00 Ag/AgCl single junction electrode를 사용하였고 그외 일정실험 조건하에서 동시에 여러 전극으로부터 데이터를 수렴하기 위해 고안된 16 채널 A/D converter와 실험 데이터를 수렴, 편집, 처리를 위하여 Trigem 286+S(삼보) computer를 사용하였다.

전기활성물질의 제조 – 1.6×10^{-1} M의 Phen(90 v/v% EtOH) 20 mL과 5×10^{-2} M의 Fe^{2+} 수용액($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 20 mL을 5분간 혼화한 후 중류수로 100 mL로 하여 Fe-Phen 치물을 제조하였다. 1×10^{-1} M의 MA를 1×10^{-1} M NaOH에 녹인 후 물을 사용하여 5×10^{-2} M로 희석하였다. 이 액 10 mL와 위에서 제조한 Fe-Phen 치물을 용액 10 mL를 혼화하여 30분간 방치 후 여과하고, 세척한 다음 건조시켜 미세분말로 하여 사용하였다.

이온 선택성 전극 제작 – 전기활성물질 4 mg, PVC 65.4 mg, 가소제 130.6 mg을 정확히 취하여 2 mL THF에 녹인 후 이를 유리판에 고정된 유리판(직경 : 22 mm)에 부었다. 유리판 위에 여과지를 올린 후 넓적한 판을 올리고 이를 데시케이터에 이틀동안 상온에 방치하여 THF를 휘발시켜 투명한 막을 얻었으며 직경 7 mm로 잘라 이온 선택성 전극을 조립하였다. 내부충진용액은 10^{-2} M의 NaCl, sodium mefenamate 혼합 용액을 사용하였다. 이를 10^{-3} M MA 함유된 0.1 M 봉산 완충액(pH 9.0)에 하룻동안 담근후 사용하였으며 사용하지 않을 때는 10^{-3} M MA 함유된 0.1 M 봉산완충 용액에 보관하였다.

측정 – 기준전극과 지시전극을 0.1 M 봉산 완충액에 담근 후 전위차계와 연결하였다. 전위값을 ± 0.2 mV/

min으로 안정시킨 후 MA 표준용액 일정량을 일정 간격으로 넣고 전위값을 측정하여 검량선을 구하였다.

실험결과 및 고찰

pH 영향 – pH에 대한 영향을 살펴보기 위해, 10^{-1} M NaCl 용액 중에서 10^{-3} M MA에 대한 전위값을 측정한 후 진한 HCl 혹은 진한 NaOH로 pH를 조절하여 전위값을 측정한 결과, 전체적으로 pH 8.0~10.0 사이에서 최적인 양상을 보였다(Fig. 1).

pH 8.0 이하에서는 MA의 유리산이 석출되면서 감응이 되지 않아 전위값이 상승하였고, 강알칼리성에서 전위값이 상승한 원인은 확실하지 않다.

가소제의 영향 – 일반적으로 이온 화합 화합물에 대한 분배계수가 큰 유기용매를 사용함으로써 선택성 전극의 예민성과 선택성을 높이려고 하였다. 이때 다공질체를 이용한 의약품분석에서 nitro group이 힘유된 가소제가 다른 가소제에 비해 매우 좋은 결과를 주는 것으로 보고되고 있다. 이를 가소제로는 2-nitrobenzene, nitrotoluene, 4-ethyl-nitrobenzene, 4-nitro-hp-xylene 그리고 4-nitrocumene 등이 있다. 이후 PVC를 이용한 액체막 전극 제작 시 matrix와의 호환성을 고려하여 phthalate ester(예. dibutyl-, dioctyl- 그리고 didecyl phthalate 등), phosphate ester(tributyl-, tricresyl phosphate 등)이나 se-

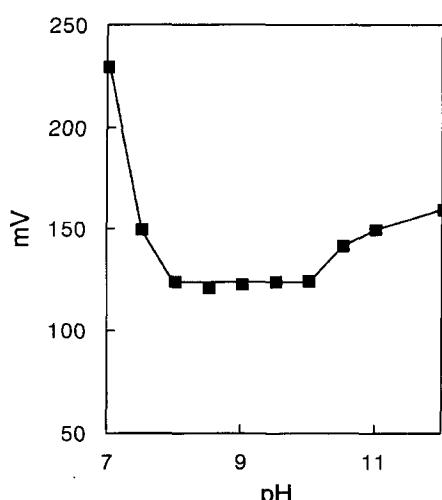


Fig. 1 – Effect of pH on the response of mefenamate selective electrode, plasticized with BNPE (mefenamic acid : 10^{-3} M)

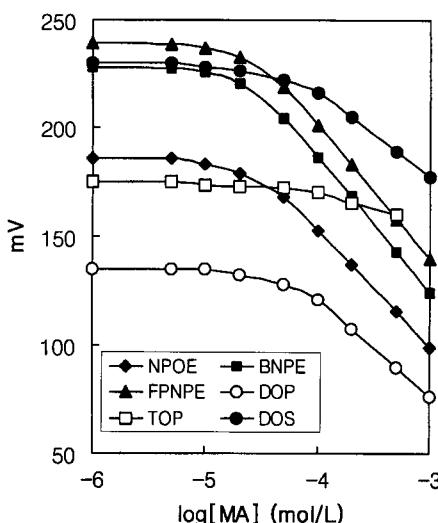


Fig. 2 – Calibration curves for mefenamic acid obtained with mefenamate-selective electrode. (0.1 M borate buffer, pH 9.0).

bacate, oxalate 유도체 등이 많이 이용되었다. 그외의 가소제는 nitro group이 있는 유기화합물의 ester 계가 대부분이다(2-nitrophenyl-, 3-nitrophenyl-, 2,4-dinitrophenyl-, 3-nitrophthalate, 4-nitrophthalate alkyl esters 등). 본 실험에서는 nitro group이 있는 NPOE, BNPE, FPNPE 등과 DOS, DOP 및 TOP 등을 사용하였다. TOP를 사용한 모든 전극에서는 MA가 거의 감응하지 않았으며, DOS, DOP의 경우 감응기울기가 각각 -38.7 , -42.3 mV/dec.로 나타났고, nitro group을 가진 NPOE, BNPE, FPNPE의 경우 -52.0 , -61.4 , -60.6 mV/dec.로 나타났다(Fig. 2, Table I). 염기성 의약품은 여러 계열의 가소제 중 phosphate류에서 가장 높은 예민성을 보였으나, NPOE는 다소 낮은 편이었던 것¹²과는 대조적인 결과였다. 그리고 이를 전극의 수명은 약 4주간이었다.

전위차 측정 – 직접적인 전위차 측정은 전위값이 감응물질 활동도의 log 함수에 비례하므로 ± 1 mV

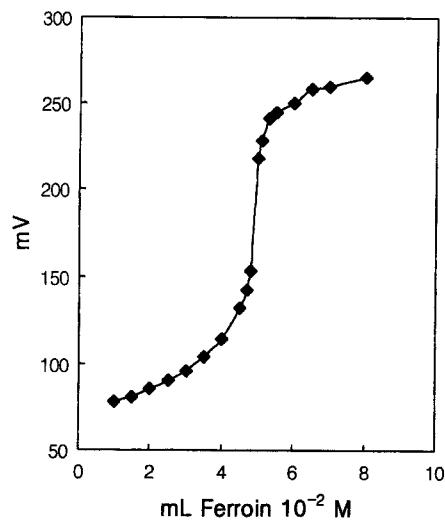


Fig. 3 – Typical potentiometric titration curve of 10 mL of 1.0×10^{-2} M sodium mefenamate with 1×10^{-2} M ferroin titrant (0.1 M borate buffer : pH 9.0, BNPE as plasticizer).

오차가 발생할 경우 약 $\pm 4\%$ 정도의 오차가 발생하게 되는 단점이 있으나, 전위차 측정법은 높은 재현성과 정확성을 보이며, 이온 선택성 전극이 높은 감응성을 가지고 있지 않아도 적용 가능하다는 장점을 가지고 있다. 대 이온으로서의 Fe-Phen과 BNPE를 이용한 전극을 사용하여 붕산 원충용액(pH 9.0) 40 mL와 10^{-2} M MA 용액 10 mL를 혼화한 용액에 1×10^{-2} M ferroin 용액으로 적정하여 그 전위값으로부터 Fig. 3과 같은 좋은 결과를 얻었다.

회수율 – 250 mg/100 mL 농도의 시험액 10 mL를 미리 전위값을 측정한 40 mL 붕산 원충용액(pH 9.0)에 넣어 전위값을 구하여 검량선에 따라 정량하거나 (직접 전위차 측정법), 미리 40 mL 붕산 원충용액(pH 9.0)에 시험액 10 mL를 넣은 후 1×10^{-2} M ferroin을 0.1~0.5 mL 간격으로 적하하면서 그때의

Table I – Response characteristics of mefenamate-selective electrode

	Plasticizer					
	NPOE	BNPE	FPNPE	DOS	TCP	DOP
Slope (mV/dec.)	-52.0	-61.4	-60.6	-38.7	-26.4	-42.3
Correlation coefficient	0.996	0.998	0.995	0.999	0.996	0.995
Lower limit of linear range (M)	5×10^{-5}	5×10^{-5}	5×10^{-5}	1×10^{-4}	1×10^{-4}	1×10^{-4}
Working pH	8~10	8~10	8~10	8~10	8~10	8~10

Table II – Selectivity coefficient ($K_{\text{drug},B}^{\text{Pot}}$) of Fe-1,10-phenanthroline-MA membrane electrodes for various anions (separate solution method)

Interferent (B)	$K_{\text{drug},B}^{\text{Pot}}$	
	BNPE	FPNPE
Acetate	2.3×10^{-2}	2.1×10^{-2}
Amino salicylate	4.0×10^{-2}	3.5×10^{-2}
Benzoate	3.2×10^{-2}	3.7×10^{-2}
Citrate	2.5×10^{-2}	2.7×10^{-2}
Glutamate	2.0×10^{-2}	2.2×10^{-2}
Glycinate	7.7×10^{-2}	7.9×10^{-2}
Oxalate	6.8×10^{-2}	7.5×10^{-2}
Phosphate	4.3×10^{-2}	4.8×10^{-2}
Sulfate	2.1×10^{-2}	2.5×10^{-2}

전위값으로부터 정량한(전위차 적정법) 결과(found % \pm R.S.D)는 각각 98.3 ± 2.5 와 99.1 ± 1.0 (n=6, BNPE)으로 나타났다.

선택계수 – 제제중에 함유될 수 있는 음이온성 이온들에 대한 선택계수를 구하여본 결과는 Table II와 같다. NPOE, BNPE 및 FPNPE 등의 가소제에 따른 선택계수의 양상은 일정치 않았으나, 전반적으로 BNPE가 다소 양호한 결과를 보였고, 그 다음은 FPNPE, NPOE 순이었다. Glycinate, oxalate, phosphate 등의 음이온에 의한 영향은 다른 음이온에 비하여 많이 받았으나, 전반적으로 10^{-2} M 정도의 $K_{\text{drug},B}^{\text{Pot}}$ 을 보여 좋은 선택성을 보였다.

제제분석 – 직접 전위차 측정법으로는 시판 capsule 제제 중 250 mg에 해당하는 양을 취하여 0.1 M 봉산 완충액(pH 9.0)에 녹여 100 mL로 한 검액 10 mL를, 미리 전위값을 측정한 0.1 M 봉산 완충액(pH 9.0) 40 mL에 넣어 혼화한 후 그 전위값을 측정한 다음, 검량선으로부터 정량하였다. 전위차 적정법으로는 위의 검액 10 mL을 0.1 M 봉산 완충액(pH 9.0) 40 mL에 넣어 혼화한 후 1×10^{-2} M ferroin 용액을 0.1~0.5 mL 단위로 적정하여 정량하였다. 250 mg MA capsule로부터 얻은 결과(found % \pm R.S.D)는 직접 전위차 측정법, 전위차 적정법 그리고 대안약전 방법에서 각각 97.1 ± 4.2 , 98.1 ± 2.0 및 101.3 ± 1.2 (n=6, BNPE)로 나타났다. Ferroin 용액은 당량점에 해당되는 적정량이 약 10 mL이었다. 이때, 0.1 mL 오차는 1% 오차이나 표준액이 2가 이온이므로 이론상 2% 오차가 발생할 수 있게 되어 측정시 상대표준편차가 2.0%인 것으로 나타났다. 또한 제제중의 여러 부형제의

영향으로 회수율에서의 오차보다 다소 높은 수치를 보인 것으로 사료된다.

결 론

1. MA와 Fe(II) phenanthroline로부터 생성된 3원착물을 전기활성물질로서 사용한 MA선택성 전극의 여러 가소제별 MA에 대한 감응성을 살펴본 결과 nitro group을 함유하는 NPOE, BNPE, FPNPE 등이 높은 예민성을 보였다.

2. 측정 시 용액의 최적 pH는 8.0~10.0이었다.

3. BNPE를 사용한 전극은 MA에 대하여 5×10^{-5} M~ 1×10^{-2} M까지 직선성이었으며, -61.4 mV/dec.의 감응기울기를 나타내었고 선택계수도 가장 양호하였다.

4. 직접 전위차 측정법과 전위차 적정법으로 10^{-2} M MA 10 mL에 대한 회수율이 각각 98.3%(RSD 2.5%), 99.1%(RSD 1.0%)를 나타내었다.

5. 직접 전위차 측정법과 전위차 적정법으로 제제를 분석한 결과 각각 97.1%(RSD 4.2%), 98.1%(RSD 2.0%)로 나타났다.

문 헌

- 1) Issopoulos, P. B. : Analysis of various very slightly water-soluble drugs in micellar medium. I. Potentiometric and visual determination of non-steroidal anti-inflammatory therapeutic agents. *Anal. Lett.* **28**, 861 (1995).
- 2) Toral, M. I. Richter, P. and Fuentes, E. A. S. : Determination of mefenamic acid and paracetamol by first derivative spectrophotometry. *Anal. Lett.* **29**, 2679 (1996).
- 3) Sabry, S. M. : Determination of flufenamic and mefenamic acids in pharmaceutical preparations using organized media. *Anal. Chim. Acta* **367**, 41 (1998).
- 4) Khier, A. A., Sadek, M. E. and Baraka, M. : Spectrophotometric method for the determination of flufenamic and mefenamic acids. *Analyst* **112**, 1399 (1987).
- 5) Guechot, C. and Nicolle, P. : Purity assay of niflumic acid by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **303**, 440 (1984).
- 6) Bunaci, A. A., Grasu, A. and Hassan, Y. A. E. : Pharmaceutical applications of a flurbiprofen sensor.

- Anal. Chim. Acta* **311**, 193 (1995)
- 7) Hassan, S. S. M., Mahmoud, W. H. and Mohamed, S. A. : Direct potentiometry and potentiotitrimetry of warfarin and ibuprofen in pharmaceutical preparations using PVC ferroin-based membrane sensors. *Mikrochim. Acta* **129**, 251 (1998).
- 8) Hassan, S. S. M., Ragab, M. A. A. and Mohamed, S. A. S. : Plastic membrane electrode for selective determination of diclofenac(Voltaren) in pharmaceutical preparations. *Analyst* **119**, 1993 (1994).
- 9) Hassan, S. S. M. and Badr, I. H. A. : PVC membrane electrodes for manual and flow injection determination of tetraphenylborate : Application to separate and sequential titrations of some metal ions. *Talanta* **41**, 523, (1994).
- 10) Wen-Can, D. L., Shen, G. T. and Yu, R. Q. : Polymeric membrane salicylate-sensitive electrodes based on organotin(IV) carboxylates. *Analyst* **121**, 1495 (1996).
- 11) Gao, D., Gu, J., Yu, R. and Zheng, G. D. : Substituted metalloporphyrin derivatives as anion carriers for PVC membrane electrodes. *Anal. Chim. Acta* **302**, 263 (1995).
- 12) Ahn, M. K., Lee, J. Y., Jung, M. M., Hur, M. H., Kim, E. J. : Determination of basic drugs with ion-selective membrane electrodes using ion-exchanger. *Yakhak Hoeji* **43**, 289 (1999).