

〔原 報〕

水溶液中 Caffeine 또는 Nicotinamide 에 의한 Complex 形成에 관한 研究

Lidocaine 또는 Saccharin 에 對한 Caffeine 또는 Nicotinamide 의 相互作用

蔡 東 圭

Dong Kyu Chae: Studies on Complex Formation in Aqueous Solution
by Caffeine and Nicotinamide

Interaction of Caffeine and Nicotinamide with Lidocaine and Saccharin

(College of Pharmacy, Seoul National University)

This investigation is the studies on the solubility analysis for several pharmaceuticals. The equilibrium reactions leading to complex formation of Caffeine and Nicotinamide with Lidocaine and Saccharin have been studied. The equilibrium constant of each complexes have also been calculated. It is shown that complex formation may lead to an increase in the solubilities of the reactants, and that Nicotinamide has more complexing activity than Caffeine. The influence of chemical structure of each components on interaction is also discussed.

(Received November 10, 1962)

緒 論

最近 藥學的 및 生物化學의 分野에 있어서 水溶液中 數種 成分系의 interaction(相互作用)에 의하여 形成된 complex 에 관한 檢討가 많이 遂行되고 있다. 卽 藥品, Hormone, 酵素等의 作用이 complex 의 形成에 의하여 媒介되며, 또한 藥品의 熱力學의 作用이나 溶解度가 complex 形成에 의하여 支配되는例가 많다는 事實은 大端히 興味있는 일이다.

水溶液中 complex 의 形成에 관한 歷史的考察로는 1921년에 Emery 와 Wright¹⁾가 complexing agent 로서 Sodium benzoate, Sodium salicylate 및 Citric acid 등을 使用하여 Caffeine 의 溶解度와 擴散係數를 測定한것이 이 分野에 있어서 가장 意義있는 研究였다. 過去 Caffeine, Theophylline 또는 Theobromine 등 Xanthine 誘導體가 많은 藥物과 complex 를 形成한다는것이 알려져 있으나, 平衡關係와 같은 理論面은 究明된바 없었다.

1930年 Labes²⁾는 Salicylate ion 과 Caffeine 間의 平衡恆數를 測定하였고, 1937年 Chanbon³⁾ 등은 Caffeine-Sodium benzoate-Water 3成分系의 相律에 關하여 報告하였으나, 生成한 complex 의 安定度에 關하여는 報告한바 없었다. 1948年 Neish⁴⁾는 Caffeine 이 Naphthyl amine, Sulfapyridine, Sulfathiazole 및 數種의 染料를 包含하는 aromatic amine 의 溶解度를 增進한다고 報告하였다.

水溶液中 2成分間의 interaction 에 關한 綜合的 研究는 Higuchi等에 의하여 遂行되었으며 Caffeine 을 complexing agent 로하여 Benzoic acid⁵⁾, Benzoic acid 및 Benzoate ion⁶⁾, Aspirin, *p*-Hydroxybenzoic acid, *m*-Hydroxybenzoic acid, Salicylic acid, Salicylate ion 및 Butyl paraben⁷⁾, Sulfathiazole, Sulfadiazine, *p*-Aminobenzoic acid, Benzocaine, Phenobarbital 및 Barbital⁸⁾ 등, 또는 Caffeine, Theobromine, Theophylline 및 그 alkyl 誘導體와 *p*-Hydroxybenzoic acid⁹⁾ 사이의 interaction 을 分配法, 氷點降下法 및 溶解度分析法으로 實驗

하여 complex 形成을 確認하였다. 即 이들 藥品의 溶解도가 添加된 Caffeine 또는 其他 Xanthine 誘導體의 量에 比例하여 增加하고 이 增加는 兩者間의 complex 形成에 起因한다는 것을 報告하였다. 또한 加水分解에 依한 藥品의 効力低下를 化學的方法으로 抑制하기 爲하여 Higuchi 等은 complex 形成에 依한 藥品의 安定化를 처음으로 試圖하였으며 Benzocaine¹¹⁾, Procaine¹²⁾ 또는 Tetracaine¹³⁾等 ester 의 水溶液中 加水分解가 Caffeine 또는 1-Ethyltheobromine¹⁴⁾의 添加로 因하여 complex 를 形成하여 顯著하게 加水分解가 抑制된다는 것을 報告한 것은 刮目할만한 事實이다.

酸 Amide 를 complexing agent 로 하는 研究로서는 Higuchi¹⁵⁾¹⁶⁾等은 N,N,N',N'-Tetramethylphthalamide 등이 *p*-Hydroxybenzoic acid, Salicylic acid, Chloramphenicol 및 Phenol 과 물에 可溶 또는 不溶性인 complex 形成을 報告하였고, 黑柳¹⁷⁾는 Nicotinamide, Isonicotinamide 가 Succinimide, *p*-Nitrophenol, *m*-Aminophenol 等과 分子化合物을 形成한다는 것을 報告하였으며, Arshid¹⁸⁾等은 Acetamide 등이 Phenol, Aniline, Urea 等과 溶液中에서 complex 를 形成한다는 것을 報告하였다. 鮫島¹⁹⁾는 各種 酸 Amide 類의 溶解補助機構에 關하여 檢討한 結果 被溶解物에 關係없이 그 溶解도가 一般의 酸 Amide 의 濃도에 比例하여 增加함을 報告하였다.

著者は 過去 complexing agent 로서 가장 많이 使用되어온 Caffeine 과 酸 Amide 中 溶解補助作用이 큰 것으로 報告¹⁹⁾된 Nicotinamide 의 complex 形成能을 比較하기 爲하여 Benzocaine, Procaine 等과는 少許 相異한 構造를 갖인 Lidocaine 또는 acidic hydrogen 을 갖인 Saccharin 等 물에 거의 不溶性인 化合物間의 水溶液中 interaction 을 各各 檢討한 結果 Lidocaine 또는 Saccharin 의 溶解도가 增加하였고 特히 Nicotinamide 를 使用했을 때 顯著하였으며 이것은 2成分間의 complex 形成에 起因한다는 것을 Solubility analysis 를 實施하여 究明하였기에 이에 報告하는바이다.

本研究를 遂行함에 있어서 貴重한 文獻을 欣然히 보내주신 Wisconsin 大學의 Higuchi 教授와 諸般便宜를 圖謀하여 주신 洪文和教授에게 深甚한 謝意를 表하며 實驗에 協力하여 주신 鄭源根, 金貞淑 講師에게 感謝한다.

實 驗

1. 試 藥

Ethanol 또는 물에서 再結晶하여 使用하였다. Caffeine m.p. 235~237°, Nicotinamide m.p. 128~131° Lidocaine 66~69°, Saccharin m.p. 224~226°.

0.1 N H₂SO₄ 溶液, 0.1 N NaOH 溶液, Phenolphthalein 指示液, Methyl red 指示液.

2. 溶解度の 測定法

a) 操作. 過量의 Lidocaine (150 mg) 또는 Saccharin(300 mg)을 여러 重量差異로 正確하게 秤量한 Caffeine 또는 Nicotinamide(0.00~0.20 M) 및 蒸溜水 10 ml 와 함께 內容 20 ml 의 共栓 小瓶에 넣어 機械的振盪機를 裝置하여 電氣恒溫水槽中에서 1分間 約 150回 電動振盪한다. 30±0.1°에서 15時間 操作하여 溶解平衡에 到達한 後 filter 를 붙인 pipette 로 各瓶에서 一定量을 採取하여 各成分을 定量한다.

b) 定量法. Lidocaine 의 定量은 滴定法에 依하여 試料 5 ml 에 micro burette 로 0.1 N H₂SO₄ 3 ml 를 加하고 過量의 H₂SO₄ 를 0.1 N NaOH 溶液으로 逆滴定한다. (指示液: Methyl red).

0.1 N H₂SO₄ 1 ml = 23.435 mg C₁₄H₂₂N₂O.

Saccharin 의 定量은 試料 5 ml 를 取하여 0.1 N NaOH 溶液으로 滴定한다. (指示液: Phenolphthalein).

0.1 N NaOH 1 ml = 18.32 mg C₇H₅NO₃S. 一方 對照試驗으로 上記 操作法에 準하여 各濃度の Caffeine 또는 Nicotinamide 에 對하여 滴定하여 前記 滴定量에서 控除한다.

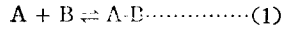
結 果 및 考 察

分子間의 interaction 을 研究하는 方法²⁰⁾으로는 赤外線吸收에 依한 分析法, 紫外部吸收 Spectrum 法²¹⁾, 透電恒數測定法²²⁾⁻²⁵⁾, 解離恒數測定法, 屈折率測定에 依한 方法¹⁹⁾ 其他 溶液中 安定恒數 또는 平衡恒數 測定에 依한 方法²⁶⁾²⁷⁾이 있다.

今般 著者가 實施한 Solubility analysis 에 依한 complex 形成의 定量的 檢討의 理論은 다음과 같다.

溶液中 化合物分子間의 interaction 에 依하여 形成된 complex 의 어떤 一定溫度에 있어서의 性質이나 安定

도는 反應의 平衡恒數(equilibrium constant)를 實驗에 依하여 算出하여 究明할수 있다. complex 形成反應에 있어서 被溶解物을 A, 溶解補助劑를 B, 生成된 complex 를 A-B 로 하면 다음 式이 成立한다.



$$K_c = \frac{[A \cdot B]}{[A][B]} \dots\dots\dots(2)$$

(2)式에 있어서 모든 成分의 濃度를 알면 平衡恒數 K_c 가 決定될것이다.

上記反應이 化學量論的으로 進行된다면 最初 使用한 溶解補助劑의 濃度가 變함에 따라, 過剩量 使用한 被溶解物이 作用하여 兩者間에 形成된 complex 의 量도 一定한 比例로 變할것이며, 따라서 어떤 特定溫度에 있어서의 K_c 는 一定할것이다. 이 K_c 値가 클수록 다른 interaction 이 일어나지않는限 安定한 complex 가 形成되었다고 思料할수 있다. 또한 complex 形成反應에 있어서는 比較의 低溫 ($0^\circ, 15^\circ, 30^\circ$ 또는 $10^\circ, 25^\circ, 35^\circ$ 등)에서 實驗하여 算出한 平衡恒數에서 遊離 energy 差나 complex 生成 energy 및 entropy 差를 求하여 熱力學的으로 解析을 行할수도 있다.

溶解度曲線은 Solubility analysis 에 依하여 溶解補助劑의 量과 被溶解物의 溶解度의 變化된 量에서 얻을 수 있으며, slope 에 依하여 溶解度 增減을 判定할수 있다.

平衡恒數計算法

a) 實驗値에서 求하는 方法.

特定溫度에 있어서의 被溶解物의 溶解度, complex 및 遊離溶解補助劑의 量에서 算出한다.

예를 들면 Table I 에 있어서 X =最初에 加한 Caffeine 量(左第 1 列), Y =飽和된 全 Lidocaine 量(左第 2 列), Z =Lidocaine 自體의 溶解度로 하면,

$$\begin{aligned} \text{生成된 complex 의 量} &= Y - Z \times 10^{-2} \\ \text{遊離 Caffeine 의 量} &= X - (Y - Z \times 10^{-2}) \end{aligned}$$

로 表示되고 이것을 Eq.(2)에 依하면,

$$K_c = \frac{(Y - Z \times 10^{-2})}{(Z \times 10^{-2}) [X - (Y - Z \times 10^{-2})]}$$

b) 溶解度 關係式에서 求하는 方法.

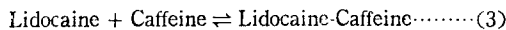
平衡恒數는 溶解補助劑의 量과 被溶解物의 溶解度의 增加量이 比例하는 故로 이兩者의 量的 關係式을 實驗値에서 求하고, 다시 이關係式에서 平衡恒數를 다음과 같이 求할수있다.

$$\begin{aligned} Y &= Z + \frac{\text{complex}}{X} \times X \\ K_c &= \frac{\frac{\text{complex}}{X}}{Z \left(1 - \frac{\text{complex}}{X}\right)} \end{aligned}$$

1. Lidocaine—Caffeine system

水溶液中 平衡狀態에 있을 Lidocaine 의 量에 對한 Caffeine 의 濃度別 影響은 Table I 과 Fig.1 에 表示된바 와 같다.

Lidocaine 의 溶解度의 增加는 complex 의 形成에 起因하며 平衡恒數는 다음 式에 依하여 算出한다.



$$K_c = \frac{(\text{Lidocaine-Caffeine})}{(\text{Lidocaine})(\text{Caffeine})} \dots\dots\dots(4)$$

實驗의 結果 平衡恒數의 平均値는 3.43 을 나타내며 比較的 적은 數値를 나타낸은 Lidocaine 과 Caffeine 의 interaction 이 強力하지 못하다는것을 알수있다.

Table I. Interaction between Lidocaine and Caffeine in Aqueous Solution at 30°

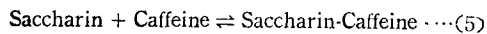
Orig. Caffeine Conc., $\times 10^3 M$	Satd. Total Lidocaine Conc., $\times 10^3 M$	Lidocaine Conc. as Complex, $\times 10^3 M$	Free Caffeine Conc., $\times 10^3 M$	Equilibrium Constant
0.000	2.057
1.000	2.127	0.070	0.930	3.66
2.000	2.200	0.143	1.857	3.74
3.000	2.255	0.198	2.802	3.43
5.000	2.377	0.320	4.680	3.32
7.000	2.502	0.445	6.555	3.30
10.000	2.712	0.655	9.345	3.41
15.000	3.027	0.970	14.030	3.32
17.000	3.165	1.108	15.892	3.39
20.000	3.350	1.293	18.707	3.43

Av. 3.43

2. Saccharin-Caffeine system

강한 acidic hydrogen 을 갖인 Saccharin 에 對한 Caffeine 의 complex 形式影響은 Table II 와 Fig.1에 表示한바와 같이 溶解度의 增加率은 Lidocaine 보다 훨씬 크다.

또한 平衡恒數는 平均值 4.02를 나타내며 2成分 間에 강한 interaction 이 일어났음을 알 수 있다.



$$K_c = \frac{(\text{Saccharin-Caffeine})}{(\text{Saccharin})(\text{Caffeine})} \dots(6)$$

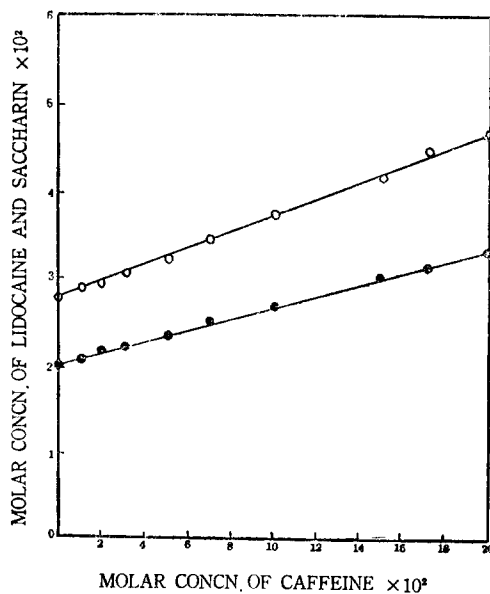


Fig. 1. Solubilizing action of Caffeine on Lidocaine(•) and Saccharin(○) in water at 30, 0°C

Table II. Interaction between Saccharin and Caffeine in Aqueous Solution at 30°

Orig. Caffeine Conc., $\times 10^2 M$	Satd. Total Saccharin Conc., $\times 10^2 M$	Saccharin Conc. as Complex, $\times 10^2 M$	Free Caffeine Conc., $\times 10^2 M$	Equilibrium Constant
0.000	2.776
1.000	2.876	0.100	0.900	4.01
2.000	2.984	0.208	1.792	4.18
3.000	3.076	0.300	2.700	4.01
5.000	3.276	0.500	4.500	4.02
7.000	3.472	0.696	6.304	3.97
10.000	3.768	0.992	9.008	3.96
15.000	4.250	1.474	13.526	4.03
17.000	4.546	1.770	15.230	4.18
20.000	4.717	1.941	18.059	3.87
				Av. 4.02

3. Lidocaine—Nicotinamide system

Nicotinamide의 強力한 電子供與性 carbonyl 基는 Lidocaine의 電子受容能力이 比較的 적음에도 不拘하고 interaction에 依하여 complex 形成量이 Caffeine보다 越等 많았으며 實驗結果 Table III 및 Fig. 2에서 算出한 解離恒數도 8.96을 나타내어 큰 安定性을 엿볼수 있다.



$$K_c = \frac{(\text{Lidocaine-Nicotinamide})}{(\text{Lidocaine})(\text{Nicotinamide})} \cdots (8)$$

Table III. Interaction between Lidocaine and Nicotinamide in Aqueous Solution at 30°

Orig. Nicotinamide Conc., $\times 10^2 M$	Satd. Total Lidocaine Conc., $\times 10^2 M$	Lidocaine Conc. as Complex, $\times 10^2 M$	Free Nicotinamide Conc., $\times 10^2 M$	Equilibrium Constant
0.000	2.057
1.000	2.223	0.166	0.834	9.67
2.000	2.375	0.318	1.682	9.16
3.000	2.527	0.470	2.530	9.03
5.000	2.826	0.769	4.231	8.84
7.000	3.130	1.073	5.927	8.81
10.000	3.582	1.525	8.475	9.28
15.000	4.320	2.263	12.737	8.64
17.000	4.624	2.567	14.433	8.65
20.000	5.061	3.004	16.996	8.59
				Av. 8.96

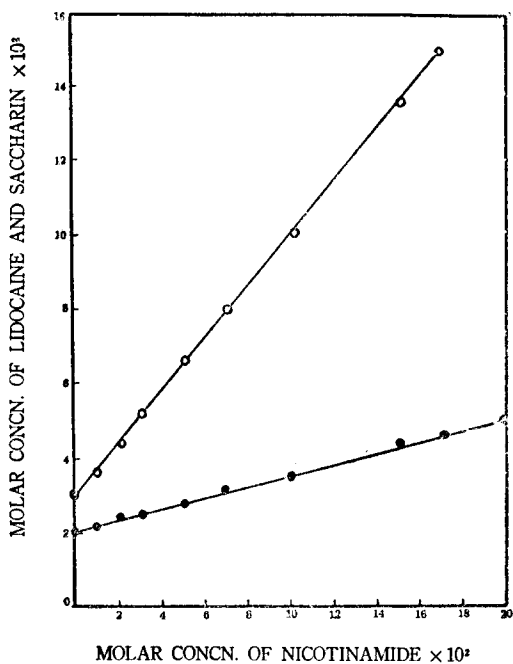
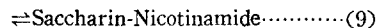


Fig. 2. Solubilizing action of Nicotinamide on Lidocaine(●) and Saccharin(○) in water at 30.0°C

4. Saccharin-Nicotinamide system

Saccharin의 높은 電子受容性은 Nicotinamide와 水溶液中에서 interaction에 의하여 가장 安定한 complex를 形成하였으며 Caffeine의 量에 比例하여 Saccharin의 溶解度는 顯著하게 增加하였다. 實驗結果는 Table IV 및 Fig.3에 表示된바와 같으며 平衡恒數의 平均値는 88.02를 나타내었다.

Saccharin + Nicotinamide



$$K_c = \frac{\text{Saccharin-Nicotinamide}}{(\text{Saccharin})(\text{Nicotinamide})} \dots \dots \dots (10)$$

以上 4種의 interaction에 있어서 反應生成物의 溶解度가 큰 關係로 complex 形成反應의 正確한 Stoichiometry를 決定하기는 困難하나, 實驗結果 complexing agent의 各濃度別 平衡恒數가 一定値를 나타낼것으로 미루어 이와같은 境遇 1:1 mole比의 complex를 形成하였다고 論斷할 수 있다.

Table IV. Interaction between Saccharin and Nicotinamide in Aqueous Solution at 30°

Orig. Nicotinamide Conc., × 10 ² M	Satd. Total Saccharin Conc., × 10 ² M	Saccharin Conc. as Complex, × 10 ² M	Free Nicotinamide Conc., × 10 ² M	Equilibrium Constant
0.000	2,776
1.000	3,475	0,699	0,301	91,02
2.000	4,175	1,399	0,601	80,34
3.000	4,900	2,124	0,876	87,37
5.000	6,325	3,549	1,451	88,11
7.000	7,750	4,974	2,026	88,46
10.000	9,900	7,124	2,876	89,23
15.000	13,485	10,709	4,291	89,15
17.000	14,935	12,159	4,841	90,48

Av. 88.02

結 論

1. Caffeine 또는 Nicotinamide 는 Lidocaine 또는 Saccharin 과 水溶液中에서 interaction 할때 강한 complex 形成의 影響을 가져온다.

2. 溶解度曲線은 直線을 나타내며 生成된 complex 가 물에 可溶性임을 證明하고, complexing agent (Caffeine 및 Nicotinamide)의 量에 比例하여 被溶解物의 溶解度가 增加한다.

3. 各成分間 complex 形成機構는 Caffeine 또는 Nicotinamide 의 電子供與性 carbonyl 基와 Lidocaine 및 Saccharin 의 電子受容性 活性水素間의 attraction 에 起因한 것으로 推定한다.

4. 本實驗을 통한 各成分系의 interaction 에 依한 溶解度의 增加 및 安定度의 增大는 藥學的 製劑分野에 있어서 應用價値가 있는것으로 思料한다. (서울大學校藥學大學)

文 獻

- 1) Emery, W.O. and Wright, C.D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **43**, 2323 (1921).
- 2) Labes, R.: *Arch. exptl. Path. Pharmacol.*, **158**, 42 (1930).
- 3) Chambon, M., Bouvier, J. and Duron, P.: *J. pharm. chim.*, **26**, 216 (1937).
- 4) Neish, W.J.P.: *Rec. trav. chim.*, **67**, 343 (1948).
- 5) Higuchi, T. and Zuck, D.A.: *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **41**, 10 (1952).
- 6) Higuchi, T. and Zuck, D.A.: *ibid.*, **42**, 132 (1953).
- 7) Higuchi, T. and Zuck, D.A.: *ibid.*, **42**, 138 (1953).
- 8) Higuchi, T. and Lach, J.L.: *ibid.*, **43**, 349 (1954).
- 9) Higuchi, T. and Lach, J.L.: *ibid.*, **43**, 524 (1954).
- 10) Higuchi, T., Bolton, S. and Guttman, D.: *ibid.*, **46**, 38 (1957).
- 11) Higuchi, T. and Lachman, L.: *ibid.*, **44**, 521 (1955).
- 12) Higuchi, T., Lachman, L. and Ravin, L.J.: *ibid.*, **45**, 290 (1956).
- 13) Higuchi, T. and Lachman, L.: *ibid.*, **46**, 32 (1957).
- 14) Higuchi, T., Lachman, L. and Guttman, D.: *ibid.*, **46**, 36 (1957).
- 15) Higuchi, T. and Kostenbauder, H.B.: *ibid.*, **45**, 518 (1956).
- 16) Higuchi, T. and Kostenbauder, H.B.: *ibid.*, **45**, 810 (1956).
- 17) 黑柳: 藥學雜誌, **73**, 1004 (1953).
- 18) Arshid, F.M., et al.: *J. Chem. Soc.*, **1956**, 72
- 19) 鮫島: 藥學雜誌, **80**, 86, 92, 95, 99 (1960).
- 20) Braude, E.A. and Nashod, F.C.: "Determination of Organic Structures by Physical Method" (1955). (Academic Press, Inc., New York).
- 21) 長倉: 日化, **74**, 154 (1957).
- 22) Briedled, G. and Kambeits, J.: *Z. physik. Chem.*, **B25**, 251 (1934).
- 23) Chrétin, A. and Laurent, P.: *Compt. rend.*, **195**, 792 (1932).
- 24) Trink, N.Q.: *ibid.*, **226**, 403 (1948).
- 25) Giles, C.H., Rose, T.S. and Vallance, D.G.M.: *J. Chem. Soc.*, **1952**, 3799.
- 26) Rossotti, F.J.C. and Rossotti, H.: "The Determination of Stability Constant and Other Equilibrium Constants in Solution"(1961). (McGraw-Hill Book Co., Inc., New York).
- 27) Schläfer, H.L.: "Molekülverbindungen und Koordinationsverbindungen in Einzeldarstellungen. Komplexbildung in Lösung. Methoden der Bestimmung der Zusammensetzung und der Stabilität Konstanten gelöster Komplexverbindungen".(1961) (Springer-Verlag, Germany).