

金屬 Chelate Ion 에 의한 醫藥品 定量에 關한 研究 (I)

Dimethylglyoxime-Fe (II)에 의한 Nicotinamide 의 比色定量

李 王 圭*

Wang-Kyu Lee:

Studies on Drug Analysis by Metal Chelate Ion. I.
Colorimetric Determination of Nicotinamide with
Dimethylglyoxime-Fe (II)

Nicotinamide Complex Compound was not formed in simple alkaline solution under two to one molar ratio of dimethylglyoxime and Fe (II), but it was formed with ammonia or pyridine under the same molar ratio.

Based on this fact, nicotinamide solution was added into dimethylglyoxime-Fe (II) complex solution, and the chelation product was extracted with chloroform. The extraction was Completed in a range of pH 8.4.-11.0. The chloroform solution shows stability and maximum absorption at 516m μ .

Dimethylglyoxime 은 L. Tschugaeff¹⁾氏에 의하여 처음으로 Ni*의 檢出 및 重量分析法²⁾에 사용된 後 오늘날까지 주로 Nickel reagent 로 사용되어 왔다. F. Feigl³⁾氏는 dimethylglyoxime 과 Fe(II)가 ammonia 或은 organic base alkali 性에서 赤色 可溶性 complex ion 을 形成한다고 報告하였으며 大井⁴⁾氏는 dimethylglyoxime-Fe(II) chelate 形成에 의한 Fe 의 定量法을 報告한바 있다.

著者는 dimethylglyoxime 과 Fe(II)가 2:1 molaration 에서 alkali 性 만으로는 赤色可溶性 錯鹽을 形成하지 못하고 반드시 NH₃ 나 pyridine 과 같은 ligand 가 共存하여야만 發色한다는 事實에 着眼하여 NH₃ 나 pyridine 代身에 amine 類나 pyridine 系列의 化合物을 代置하므로서 이와같은 系列의 化合物의 새로운 定量法을 試圖하였다. nicotinamide 定量法은 從來 比色法으로 König⁵⁾法에 의하여 CNBr 를 反應시켜서 생긴 螢光을 測定하는 螢光法과 Bandier Hald⁶⁾氏法等이 있지만 chelate 法에 의한 定量法은 報告된바 없다. 그러므로 著者는 dimethylglyoxime-Fe(II) Ion 에 의한 nicotinamide 의 定量法을 檢討하였던바 良好한 結果를 얻었기에 이에 報告코져 한다.

實 驗

1. 試藥 및 裝置

- ① Nicotinamide (U.S.P.)
- ② Ferric Sulfate (E. Merck)
- ③ Dimethylglyoxime (E. Merck)
- ④ Chloroform (Hanawa E.P)
- ⑤ Ammonium Chloride (E. Merck)
- ⑥ Ammonia Water (Hanawa, E.P.)
- ⑦ Sodium Sulfate (E. Merck)
- ⑧ Ethanol (Hanawa E.P.)
- ⑨ Dimethylglyoxime-Fe(Ⅱ) Chelate 標準溶液 : Dimethylglyoxime 의 一定量을 Ethanol 에 溶解시키고 이 용액에 Ferric sulfate 의 一定量을 녹여서 Dimethylglyoxime 과 Fe(Ⅱ)의 mole 比가 2 : 1 이 되도록 調劑한다.
- ⑩ Beckman G. type pH meter
- ⑪ Beckman DU spectrophotometer

2. 標準操作

Dimethylglyoxime-Fe(Ⅱ) Ion $4.2 \times 10^{-3}M$ 溶液 3ml 을 正確하게 取하고 緩衝溶液(pH=11.0) 5ml 및 nicotinamide 標準溶液 $2.4 \times 10^{-4}M$ 溶液 5ml 을 넣고 蒸溜水로 全量을 25ml 로 稀釋시킨다. 이 溶液을 分液깔대기에 넣고 $CHCl_3$ 10ml 를 加하여 1 分間 진탕시킨 다음 10 分間 放置하였다가 $CHCl_3$ 層을 分取하고 約 1g 의 無水硫酸소-다르 脫水시킨後 $CHCl_3$ 을 對照로 하여 $516m\mu$ 에서 吸光度를 測定한다.

3. 吸收曲線

Nicotinamide 標準溶液($2.4 \times 10^{-4}M$) 10 ml 를 取하여 標準操作에 따라 $CHCl_3$ 層의 吸光度를 測定해 본 結果 Fig 1 과 같이 $516m\mu$ 에서 極大吸收을 나타낸다.

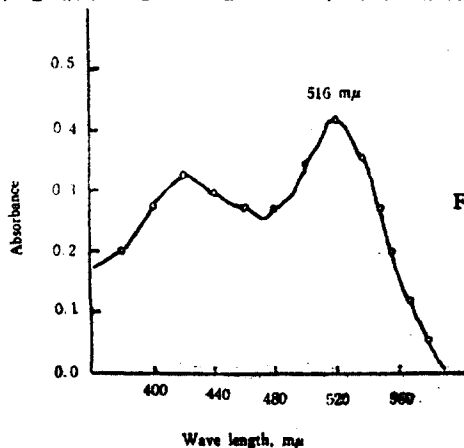


Fig. 1. Absorption Spectrum of DMG-Fe(Ⅱ) Nicotinamide Chelate Compound

實驗結果 및 考察

1. 抽出에 미치는 pH 및 緩衝溶液 添加量의 影響

抽出의 最適 pH 를 決定하기 위하여 標準操作에서 加하는 緩衝溶液의 pH 를 各各 8.4, 9.2, 10.3, 11.0, 로 하여 吸光度를 測定한 結果 Fig. 2에서 보는바와 같이 pH가 上昇하에 따라 吸光度가 높아지며 이와같은 結果로 보아 pH 11.0 일때가 最適 pH 임을 알 수 있다.

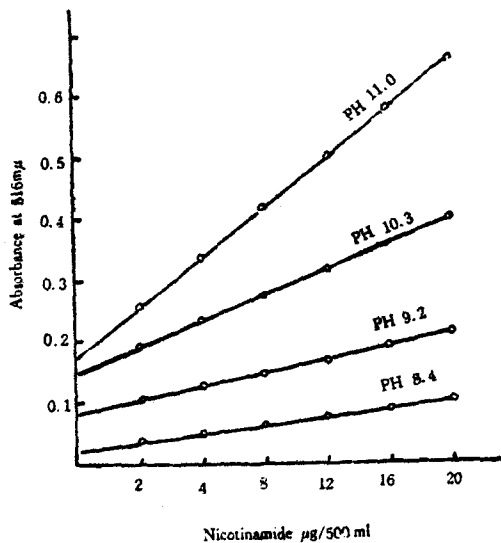


Fig. 2. Effect of Calibration Curves for DMG-Fe(II) Nicotinamide chelate at various pH values
DMG-Fe(II) $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ammonium buffer soln $1.2 \times 10^{-3} \text{M}$, Temp.: 20°C , Solv.: CHCl_3

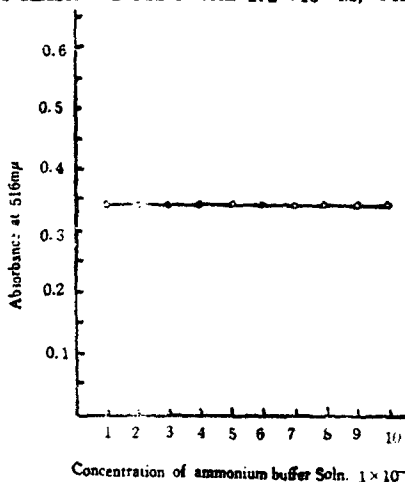


Fig. 3. Effect of concentration of ammonium buffer (pH 11.0)
DMG-Fe(II) $1 \times 10^{-4} \text{M}$ Nicotinamide $4.2 \times 10^{-4} \text{M}$
Temp.: 20°C Solv.: CHCl_3

다음 緩衝溶液의 添加量에 의한 影響을 檢討하기 위하여 標準操作에서 加하는 緩衝溶液의 添加量을 여러가지로 變化시켜서 吸光度를 測定해본 結果 Fig 3에 나타낸바와 같이 緩衝溶液 添加量에는 影響이 없음을 알 수 있다.

2. 呈色液의 安定性 및 抽出溶媒의 選擇

呈色液의 安定性을 檢討하기 위하여 標準操作에서 分取한 液을 30分間 放置하고 各 時間에 따라 吸光度를 測定해본 結果 Fig. 4에서 表示한바와 같이 經時變化를 받지 않았다.

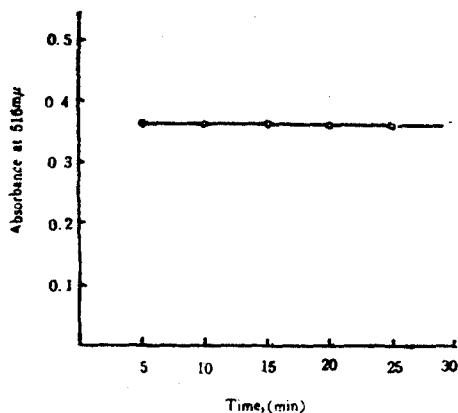


Fig. 4. Stability of the Colored Solution
DMG-Fe(II) $4.2 \times 10^{-4}M$. Nicotinamide $4.2 \times 10^{-4}M$
Ammonium buffer (pH=11.0), Temp.: $20^{\circ}C$. Solv.: $CHCl_3$

抽出溶媒를 選擇하기 위하여 여러가지 溶媒에 對한 抽出結果를 檢討하였던바 benzene, ether, $CHCl_3$, buthylalcohol, hexane, amylalcohol, 및 allylalcohol, 等の 溶媒에서는 [有機層의 吸光度가 試藥 blank와 거의 같으며 nitrobenzene에서는 抽出되지만 곧 退色되며, $CHCl_3$ 가 가장 適當한 抽出溶媒라는 것을 알 수 있었다.

3. 抽出時間에 對한 影響

標準操作에 있어서 $4.2 \times 10^{-4}M$ nicotinamide 溶液 5ml에 dimethylglyoxime-Fe(II) 標準溶液 ($4.2 \times 10^{-4}M$) 3 ml를 加하고 pH=11.0에서 $CHCl_3$ 10 ml로 抽出할때 진탕하는 時間을 5, 10, 15, 20, 25, 30分間으로 하여 吸光度를 測定하여 본 結果 Fig. 5에서 보는바와 같이 5分 以上 抽出할 때는 變化가 없는 것을 알 수 있다.

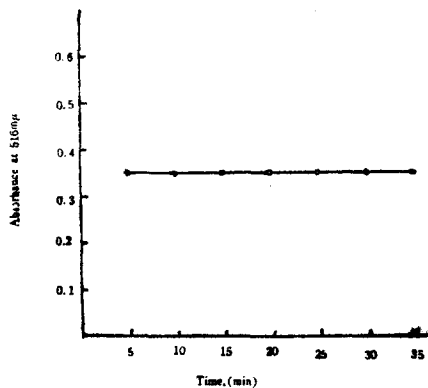


Fig. 5. Effect of shaking time
 DMG-Fe(II) $4.2 \times 10^{-4}M$, Nicotinamide $2.4 \times 10^{-4}M$
 ammonium buffer (pH=11.0), Temp.: 20°C. Solv.: CHCl₃

4. 檢量線

以上과 같은 여러가지 條件을 檢討한 結果로부터 얻은 最適 條件下에서 標準操作에서 加하는 標準試料溶液을 여러가지 濃度로 變化시켜서 試藥 Blank 를 對照로 檢量線을 作成한 結果 Fig. 6 에서 보는바와 같이 nicotinamide 溶液 $10^{-3} \sim 10^{-4}M$ 의 範圍內에서 Beer 法則이 適用된다.

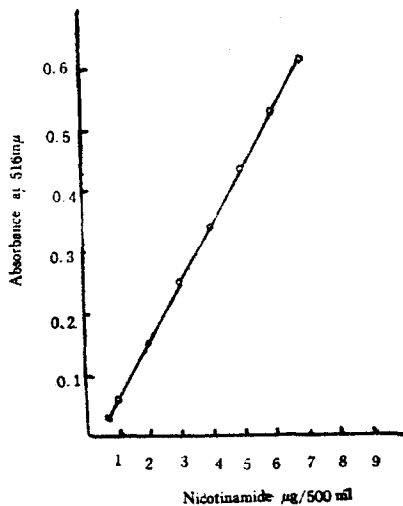


Fig. 6. Calibration Curve
 DMG-Fe(II) $4.2 \times 10^{-4}M$, ammonium buffer solution $1.2 \times 10^{-3}M$ (pH 11.0)
 Temp.: 20°C. Solv.: CHCl₃

5. 共存物質에 對한 影響

Sulfamerazine 을 各各 5mg, 10mg 씩을 取하여 여러가지 物質의 共存時의 影響을 檢討하였 으나 Table I 과 같다. 같은 Sulfa 劑는 (同量程度共存 하여도) 100%의 誤差가 나타나며 p-aminohippuric acid, anthranilic acid 및 p-nitrobenzoic acid 등은 倍 가량의 濃度가 共存하면 10% 内外의 誤差가 생기는 것을 볼 수 있다. 此外 物質일 境遇에는 共存하여도 妨害가 되 지 않았다.

Table 1. Effect of foreign substances

	Sample taken (mg as foreign subs.)	Sulfamerazine added mg	Sulfamerazine found mg
	0	5.0	5.0
Tartaric acid.	15.0	5.0	5.0
		10.0	10.3
		0.0	3.0
Sulfadimethoxine	3.0	5.0	7.9
		10.0	12.8
		0.0	0.2
p-Aminohippuric acid	14.0	5.0	5.3
		10.0	10.2
		0.0	0.2
Anthranilic acid	13.0	5.0	5.1
		10.0	10.3
		0.0	0.2
P-nitrobenzoic acid	15.0	5.0	5.2
		10.0	11.8
		0.0	0.2

結 語

Dimethylglyoxime-Fe(II)에 의한 nicotinamide 의 定量法은 從來의 方法과 그 原理를 根本 的으로 달리하는 chelate 法으로 amine 類나 pyridine 系列 化合物 以外는 共存하여도 定量에 妨害가 되지 않는다는 것과 다른 方法때 呈色에 比해 비교적 安定하다는 것 흔히 있는 試藥으로 施行할 수 있다는 利點을 가지고 있다.

References

- 1) L.H. Tschugaeff. *Z. anorg. Chem.*, **46**, 144 (1905)
- 2) O. Brunck, *Z. angew. Chem.*, **20**, 1844 (1907)
- 3) Spot test in inorganic analysis. p. 165 (1937)
- 4) 大井信一, 日化. **75**, 1069 (1954)
- 5) A.M. LeClerc, and P. Douzon, *Compt rend.*, **236**, 2006 (1953)
- 6) Bandier: *Biochem. J.*, **33**, 2467, 1130. (1939)