

Thinlayer Chromatography 및 Oxygen Combustion Flask Method 에 의한 有機硫黃藥品の 分離定量

白 南 豪 · 金 博 光*

(Received June , 30, 1969)

Nam Ho Paik, Bak Kwang Kim: Determination of Sulfur
Containing Organic Drugs by Means of Thin Layer
Chromatography and Flask Combustion Method

Microanalysis of organic sulfur compounds by means of combining thin layer chromatography and oxygen combustion flask method was attempted. The following procedure was found to be very simple and to give accurate results. The mixture of sulfa drugs was separated with T.L.C., and it was burned in a flask filled with oxygen, and the gas formed was absorbed in a dilute solution of sodium hydroxide.

The solution was neutralized with hydrochloric acid and heated in a water bath. The sulfate ion formed was then treated with barium chromate solution and its absorbancy at $370m\mu$ was measured.

緒 論

Thin-layer chromatography(以下 T.L.C 라 略記)을 混合製劑의 分離定量法에 적용하려는 試圖가 여러가지 방법으로 研究되고 있다.¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾ 最近 著者の 研究室에서 有機 Halogen, 硫黃, 磷 化合物을 T.L.C 로 分離한 spots 를 굽어모아, oxygen combustion flask method⁶⁾⁷⁾⁸⁾ 에 의하여 試料를 定量하려는 研究의 一環으로서 著者는 sulfathiazole, sulfamerazine, sulfadimethoxine 等の 混合 sulfa 劑를 T.L.C 로 分離시킨 다음 oxygen combustion flask method 로 검체를 연소시켜 檢체中 硫黃을 黃酸 ion 으로 하고 이것을 分光光度法⁹⁾¹⁰⁾ 으로 定量을 함으로서 有機硫黃藥品の 分離定量을 하였다.

實 驗

試藥 및 裝置

- 1) Silica Gel: E. Merck 7731(T.L.C 用)
- 2) Sulfathiazole: 藥典品
- 3) Sulfamerazine: 藥典品
- 4) Sulfadimethoxine: 藥典品

* College of Pharmacy, Seoul National University

- 5) N,N-dimethyl formamide: Kanto Chem. E.P.
- 6) Ether: G.R
- 7) Benzene: G.R
- 8) Diethylamine: Merck E.P.
- 9) Methanol: Redistillation
- 10) Van Urk Reagent: 1.0g의 *p*-dimethylaminobenzaldehyde 를 25% HCl 50ml 와 96% Ethanol 50ml 혼액에 용해.
- 11) N/10-NaOH: G.R
- 12) N/10-HCl: G.R.
- 13) 크롬酸 바륨酸, 현탁액: 특급의 市販 크롬酸 바륨을 재침하여 정제, 그 0.5g 을 초산을 써서 N/2, 염산을 써서 N/100 의 혼합용액 200ml 에 넣어 잘 진탕, 혼화하고 현탁액을 만들어 Polyethylene 병에 보존한다.
- 14) Ca⁺⁺을 포함한 Ammonia 水(6N): 6N의 Ammonia 水 500ml 에 CaCl₂ · 2H₂O 1.85g 을 용해하여 Polyethylene 병에 보존한다.
- 15) Thin layer chromatography set.
- 16) Lambda pipette: U.S.A
- 17) Oxygen combustion apparatus.
- 18) Spectrophotometer: Beckmann D.U.

定量法

1. T.L.C 法

Sulfa 劑中 Sulfathiazole Sulfamerazine Sulfadimethoxine 各各 一定量を 精稀하여 10ml 의 Volumetric flask 에 取하고, N,N-dimethylformamide 로 용해시킨 다음 표선까지 채운다.

Lambda pipette 로 검액 0.25ml 를 T.L.C.板(20×20cm) 上에 Band 로 올리고, 同時に 표준용액을 spot 하여 風乾한 후 Ether 30ml, Benzene 10ml, Methanol 5ml, diethylamine 3 滴의 混溶液을 전개제로 하여 전개시킨 후 풍건하여, 표준용액 spots 를 van urk 시약으로 발색시켜 이것을 대조로하여 분리된 검체를 채취하였다.

2. 연소 및 정량조작

T.L.C.로 분리한 Bands 를 긁어모아 N,N-dimethylformamide 5ml 로 추출, 여과후 그 中 1 ml 를 Fig. 1 에 표시한 여지에 올려 말린다음 백금선⁶⁷⁾(Fig. 2)에 매어 달고 300ml 의 연소 flask 에는 N/10-NaOH 용액 25ml 를 加하고, 산소를 Bombe 로 부터 약 15초간 취입하여 flask 中の 공기를 산소로 치환한 다음 백금선에 단 여지선단에 점화하여 즉시 flask 內에 넣고 손으로 매개를 누르면서 옆으로 경사시켜 연소시킨다. 연소 후 5분간 진탕한 다음, 이 溶液 5ml 을 取하여 M.O.를 지시약으로 하여 N/10-HCl 로 中和시켜 소요량을 求하고, 별도로 이 溶液 20ml 에 소요량의 N/10-HCl 을 加하여 中和시키고 비등수에서 加熱하여 CO₂ 를 제거 생각후 50ml 의 Volumetric flask 에 옮겨 CO₂ 를 포함치 않는 증류수를 표선까지 채워 이 中에서 10ml 를 50ml 의 Volumetric flask 에 取해 크롬酸 바륨현탁액 2ml 을 加해 혼합하고, 2,3 분후 CaCl₂ · 2H₂O 를 포함한 6N Ammonia 水 1ml 를 加해 混和하고 다음에 Ethyl-

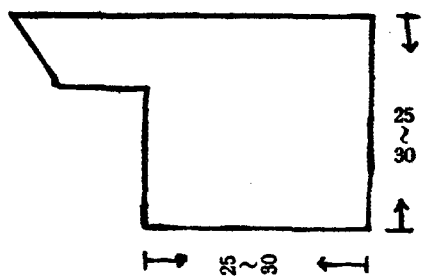


Fig. 1. Filter paper

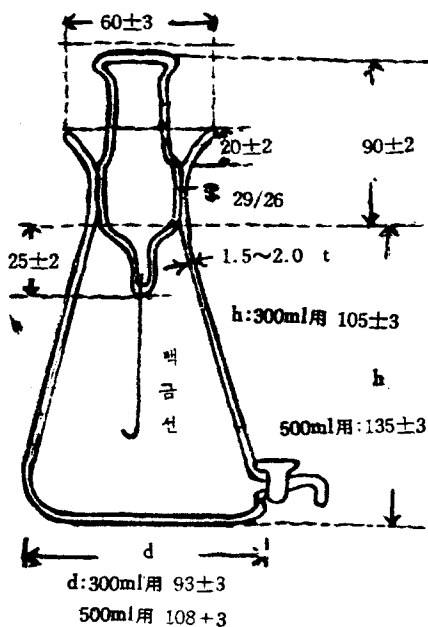


Fig. 2. Oxygen combustion flask

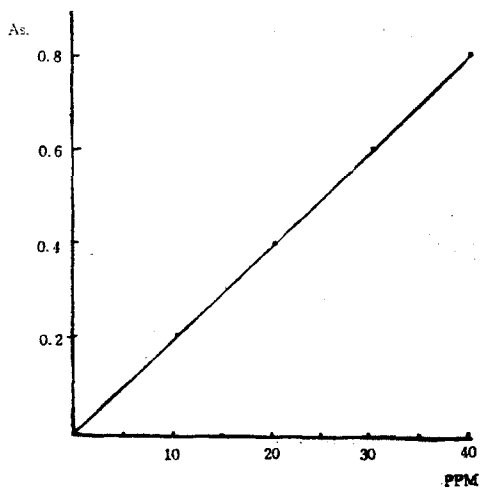
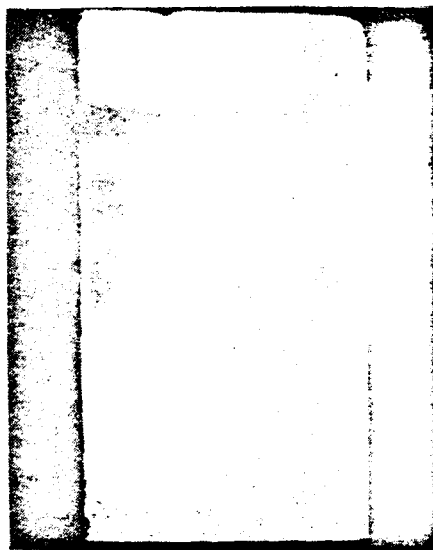


Fig. 3. Calibration curve



Thin-layer chromatogram of mixture of sulfa drugs. Developing Reagent; ether 30ml. benzene 10ml. methanol 5ml. diethylamine 3 drops.

alcohol 7ml를 加해서 약 1분간 진탕, 혼합한 후, 水道水中에서 약 10分間 냉각 후 遠心分離器에 넣는다. 그 상층액을 10mm의 cell에 취해 증류수를 同一조작으로 한 것을 대조액으로 하여 370m μ 의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 미리 黃酸 ion 표준 용액을 同一조작으로 하여 작성한 검량선(Fig. 3)에서 흡수액中的 黃酸 ion의 농도를 求하여 검체中の SO₄²⁻을 定量하였다.

有機硫黃藥品中の SO₄²⁻의 定量結果

Determination of Standard Samples by TLC-Oxygen Combustion Flask Method.

Samples	Rf.	Weight taken (mg)	SO ₄ ²⁻ calcd (P.P.M)	SO ₄ ²⁻ Found		%
				Abs.	P.P.M	
Sulfathiazole	0.511	1.662	9.99	0.198	9.74	97.51
		2.461	14.8	0.296	14.55	98.34
		2.913	17.51	0.348	17.20	98.22
Sulfamerazine	0.655	3.441	10.0	0.201	9.85	98.50
		3.834	11.14	0.225	11.06	99.29
		4.112	11.95	0.248	12.16	101.76
Sulfadimethoxine	0.794	4.045	10.01	0.200	9.79	98.83
		4.661	11.53	0.241	11.77	102.11
		6.321	15.64	0.323	15.93	101.85

Developing solvent: ether 30ml, benzene 10ml, methanol 5ml, diethylamine 3drops

總 括

混合 Sulfa 劑를 Thin Layer Chromatography로 分離하고 Oxygen Combustion Flask Method로 分解시켜 연소生成物을 N/10-NaOH 溶液에 흡수시키고 그 일부를 分取하여 1/10N-HCl을 加하여 中和시켜 비등수中에서 加熱하여 CO₂를 제거, 냉각한 後 크롬酸 바롬酸 현탁비색법으로 定量하였다. 從來의 方法에 比하여 조작이 간단하며 재현성이 양호하고, $\pm 3\%$ 이 내의 편차로서 定量할 수 있었다.

References

- 1) L.G. Chatten; *Pharmaceutical Chemistry.*, 1, 183 (1966)
- 2) Cassidy, H.G., *J.Am. Chem. Soc.*, 62, 3073~3076 (1940)
- 3) Bravo, R., and F.Hernandez, *J.Chromatog.*, 7, 60 (1962)
- 4) Martin, A.J.P. and R.L.M. Synge, *Biochem. J.*, 35, 1358 (1941)
- 5) 石川正幸: 薄層크로마토그래피 61 (1963)
- 6) *Japan Analyst* 2, 133 (1967)
- 7) *Japan Analyst* 7, 674 (1967)
- 8) 津田恭介: 有機分析 73 (1965)
- 9) 武藤: 比色分析法 4th, ed. 203 (1959)
- 10) D.F. Boltz, *Selected Topics in Modern Instrumental Analysis* (Prentice-Hall)