

抗히스타민劑의 吸光光度定量法

玉 致 完

(Received May 8, 1974)

Chi Wan Ock : Spectrophotometric Determination of Antihistamines by Using Metal Indicators NN, EBT and Calcon as Color Developing Agents.

Abstract—The metal indicator, acidic azo dyes NN, EBT and Calcon are utilized to analyse quantitatively chlorpheniramine, tripeleennamine and diphenhydramine forming insoluble ion pair in aqueous solution at proper pH values between the acidic azo dyes and the sample molecules, these complexes are extracted by organic polar solvents, and organic layer is determined spectrophotometrically. Generally, the absorption maxima of the complexes are shifted to longer wavelengths compare to the absorption maxima of the dyes themselves. The binding ratio of the ion pair forming complex molecules in chloroform soln. are as follows; NN-antihistamines (chlorpheniramine, tripeleennamine, diphenhydramine) are NN-1 to antihistamine-1, EBT-antihistamines are EBT-2 to antihistamines 1 and Calcon-antihistamines are Calcon-3 to antihistamines-1. These complexes in chloroform soln. are very stable, and show higher absorbance than the other organic polar solvents. The binding state of complexes were presumed intermolecular hydrogen bond by their infrared spectra. In the mixture solution of three samples, the aqueous phase is buffered at pH 1.0, and benzene is used to extract ion pair of diphenhydramine EBT complex selectively. At pH 1.0 of aqueous layer, Calcon-diphenhydramine complex is also extracted selectively by benzene. However, in this case very small amount of chlorpheniramine-calcon and tripeleennamine-calcon complex is extracted with diphenhydramine-calcon simultaneously. The binding state of diphenhydramine-EBT and diphenhydramine-calcon in benzene are same as the complexes in

From the Drug Division, National Institute of Health, Seoul, Korea.

chloroform. But the absorption maxima of the complexes in benzene are shifted to shorter wavelenlghts than the complexes in chloroform.

抗 histamine 劑의 分析法으로서 monoamine 系 化合物인 chlorpheniramine maleate 및 ethylene diamine 系 化合物인 tripeleennamine, HCl 은 cyanogen bromide 를 作用시킨 다음 *p*-anisidine blue 에 依한 比色法¹⁾, reineckate 鹽을 有機溶媒에 녹여 比色하는 方法^{2,3)} 및 螢光光度法⁴⁾ 등이 알려져 있다. Aminoether 系化合物인 diphenhydramine·HCl 은 中和滴定法, 질산 및 황산에 依한 呈色反應⁵⁾, 황산, 질산코발트 및 thiocyan 酸 칼륨에 依한 比色定量⁶⁾, Froehde 試藥에 對한 反應을 利用하는 方法⁷⁾, 酸化劑에 依한 螢光光度定量⁴⁾, Cu, Co, Ni 等과의 錯鹽形成에 依한 光度滴定⁸⁾ 및 alkaloid 試藥에 依한 定量法⁹⁾ 등이 알려져 있다.

1933年 Lamer¹⁰⁾ 등에 依해 酸性 및 鹽基性 色素들의 benzene 溶液에서 解離狀態의 研究報告가 있는 다음, 이것을 分析化學에 應用할려는 研究가 進行되어 指示藥인 여러가지 酸性色素를 水溶液狀態에서 鹽基性醫藥品들과 特定한 pH 에서 ion 對를 形成시켜 溶媒抽出하는 研究報告¹¹⁻¹⁹⁾가 있다. 이러한 方法에 依한 抗 histamine 劑의 溶媒抽出吸光光度法으로서 plas-mocorinth B 에 依한 chlorpheniramine maleate 의 定量²⁰⁾ 및 diphenhydramine·HCl 의 定量法²¹⁾이 있고, tripeleennamine·HCl, diphenhydramine·HCl 의 各各에 methyl orange 를 反應시켜 ethylene dichloride 로 抽出하고 이 溶液을 알코올성황산으로 逆抽出하여 吸光度를 測定하는 方法等^{22,23)}이 알려져 있으며 diphenhydramine·HCl 을 bromocresol purple 과 ion 對를 形成시켜 有機溶媒抽出에 依한 定量²⁴⁾, chlorpheniramine maleate 및 diphenhydramine·HCl 을 bromothymol blue 와 ion 對를 形成시켜 有機溶媒抽出定量하는 方法等⁽²⁵⁻³⁰⁾이 있다. 이와 같은 方法들은 分析操作이 比較的 複雜하며 複合製劑의 分離分析에 適用하기에는 難點이 許多하다.

著者は 抗 histamine 劑의 簡便하고 새로운 分析方法 및 이들의 混合劑中에서 相互 分離 定量法을 確立할 目的으로 第3級 amine 類中에 抗 histamine 劑로 使用되는 chlorpheniramine maleate, tripeleennamine·HCl 및 diphenhydramine·HCl 을 酸性 azo 色素인 金屬指示藥 NN³¹⁾ (2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthyl azo) -3-naphthoic acid), EBT^{32,33)} (1-(1-hydroxy-2-naphthylazo) -6-nitro-2-naphthol-4-sulfonic acid, Na salt) 및 Calcon³³⁾ (2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthylazo)-naphthalein, Na salt) 等과 特定한 pH 에서 ion 對를 形成시키고 이를 chloroform 및 benzene 으로 抽出하여 直接 吸光度를 測定하는 여러가지 定量法을 確立하고 이들을 相互比較 檢討했으며 各各의 ion 對形成物의 組成을 決定 하였고 混合醫藥品 製劑分析에 應用이 可能하였으므로 報告한다.

實驗方法

裝 置—Beckman DK-2A recording spectrophotometer, Beckman IR4 infrared spectrophotometer 및 L&N 社製 pH meter 等を 使用하였다.

試 藥—NN, EBT 및 Calcon(日本 同仁藥化學研究所製)을 蒸溜水에 녹여 10^{-3} mole 溶液으로 한다.

Buffer solution—pH 1~3 은 tartaric acid-sodium tartrate, pH 4 은 acetic acid-sodium ace-

tate, pH 5~6 은 sodium citrate-sodium hydroxide, pH 7 은 potassium dibasic phosphate-sodium monobasic phosphate buffer system 을 使用하였다.

chlorpheniramine maleate(CPA), tripeleminamine · HCl(TPA) 및 diphenhydramine · HCl(DPA) — 다 같이 ethanol로 再結晶한 純品을 使用하고 chloroform, 1, 2 dichloroethane, benzene, ethyl acetate, petroleum ether 및 nitrobenzene 等은 E. Merck 社製를 使用하였다.

定量操作法. NN에 의한 CPA, TPA 및 DPA의 定量 — CPA, TPA의 10^{-3} mole 溶液 각 1~10ml, DPA의 10^{-3} mole 溶液 1~6ml를 각 取하여 5×10^{-3} mole NN 溶液 5ml를 각각 加하고 CPA 및 TPA는 pH 5.2, DPA는 pH 2.0 buffer를 각각 10ml를 加한다음 chloroform: 10ml씩을 加하여 5分間 强하게 흔들어서 抽出하고 chloroform 層을 遠心分離한다음 blank test에 의한 chloroform 層을 對照液으로 CPA-NN는 540nm, TPA-NN는 550nm, DPA-NN는 612nm에서 吸光度를 測定하여 檢量曲線을 作成하였다.

EBT에 의한 CPA, TPA 및 DPA의 定量 — CPA, TPA의 10^{-3} mole 溶液 각 2~8ml, DPA의 10^{-4} mole 溶液 1~4ml를 取해 5×10^{-3} mole EBT 溶液 5ml를 각각 加하고 CPA는 pH 5.0, TPA 및 DPA는 pH 4.0 buffer 10ml를 각각 加하고 chloroform 10ml씩을 加하여 5分間 强하게 흔들어서 抽出하고 chloroform 層을 遠心分離한다음 blank test에 의한 chloroform 層을 對照液으로하여 CPA-EBT, TPA-EBT 및 DPA-EBT를 510nm에서 吸光度를 測定하여 檢量曲線을 作成하였다.

Calcon에 의한 CPA, TPA 및 DPA의 定量 — CPA, TPA 및 DPA의 10^{-3} mole 溶液 各 1~5ml를 取하여 5×10^{-3} mole Calcon 溶液 5ml를 각각 加한 다음 pH 2.0, pH 3.0 buffer 10ml씩을 각각 加하여 5分間 强하게 흔들어서 抽出하여 遠心分離한다음 blank test에 의한 chloroform 層을 對照液으로하여 CPA-Calcon, TPA-Calcon 및 DPA-Calcon을 510nm에서 吸光度를 測定하여 pH 2.0 및 pH 3.0의 檢量曲線을 作成하였다.

CPA, TPA 및 DPA 混合溶液中 DPA의 分離定量

EBT - 抗 histamine ion 對 形成量에 對한 pH의 影響 — 10^{-3} mole CPA, TPA 및 DPA 溶液 各 5ml를 取하여 pH 1.0~7.0 buffer 10ml를 각각 加하고 5×10^{-3} mole EBT 溶液 5ml를 加한다음 benzene 5ml씩을 加하여 5分間 强하게 흔들어서 抽出하고 遠心分離하여 blank test에서 얻은 benzene 層을 對照液으로 하여 500nm에서 吸光度를 測定하였다.

Calcon-抗 histamin ion 對 形成量에 對한 pH의 影響 — 10^{-3} mole CPA, TPA 및 DPA 溶液 各 2ml를 取하여 pH 1~7 buffer 5ml씩을 加하고 5×10^{-3} mole Calcon 溶液 5ml씩을 加한다음 benzene 5ml씩을 加하여 5分間 强하게 흔들어 抽出하고 遠心分離하여 blank test에서 얻은 benzene 層을 對照液으로 하여 500nm에서 吸光度를 測定하였다.

EBT 및 Calcon에 의한 CPA, TPA 및 DPA 混合物中 DPA의 定量 — 10^{-3} mole DPA 溶液을 DPA-EBT ion 對는 2~10ml, DPA-Calcon ion 對는 1~5ml를 각각 取해 pH 1.0 buffer 10ml씩을 각각 加하고 5×10^{-3} mole EBT 溶液 5ml 및 5×10^{-3} mole Calcon 溶液 5ml를 각각 加한다음 benzene 10ml씩을 加해 5分間 强하게 흔들어 抽出하고 遠心分離하여 blank test에서 얻은 benzene 層을 對照液으로 하여 500nm에서 吸光度를 測定해서 檢量曲線을 作成하였다.

結果 및 考察

pH에 의한 ion對形成量에 미치는 影響—抗 histamine劑의 NN, EBT 및 Calcon과의 ion對形成은 酸性溶液에서 이어나므로 pH 1~7의 各種 Buffer水溶液에서 CPA, TPA 및 DPA에 NN, EBT 및 Calcon을 각각 作用시킨다음 chloroform으로 抽出하여 吸光度를 測定하였는데 Fig. 1~3과 같이 CPA-NN 및 TPA-NN는 pH 5.2, DPA-NN는 pH 2.0, CPA-EBT는 pH 5.0, TPA-EBT 및 DPA-EBT는 pH 4.0, CPA-Calcon, TPA-Calcon 및 DPA-Calcon은 pH 2.0에서 ion對形成量이 最大値를 나타내었다.

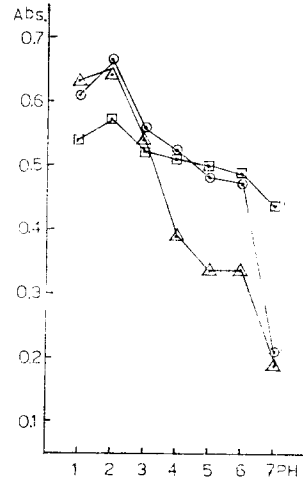
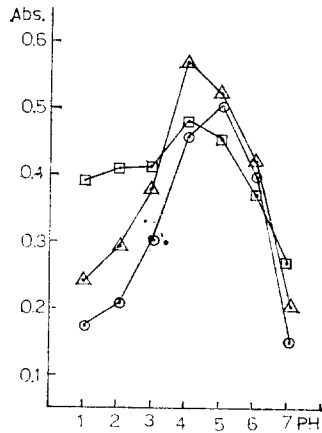
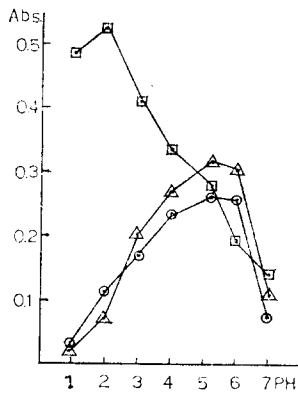


Fig. 1—Absorbance variation of CPA, TPA and DPA-NN complexes in chloroform according to change of pH in aqueous layer.

Fig. 2—Absorbance variation of CPA, TPA and DPA-EBT complexes in chloroform according to change of pH in aqueous layer.

Fig. 3—Absorbance variation of CPA, TPA and DPA-Calcon complexes in chloroform according to change of pH in aqueous layer.

- : CPA-NN complex at 540nm ⊙ : CPA-EBT complex at 510nm ⊖ : CPA-Calcon complex at 510nm
- △ : TPA-NN complex at 550nm ▲ : TPA-EBT complex at 510nm ⊕ : TPA-Calcon complex at 510nm
- : DPA-NN complex at 612nm ⊞ : DPA-EBT complex at 510nm ⊡ : DPA-Calcon complex at 510nm

抽出溶媒選擇— Table I에서 보는 바와 같이 chloroform을 抽出溶媒로 하였을때 吸光度가 가장 큼으로 抗 histamine-酸性 azo 色素 ion對의 抽出溶媒로 選定하였고 benzene에 依해서는 DPA-EBT 및 DPA-Calcon 단이 抽出됨으로 CPA, TPA, DPA 混合物中 DPA 定量에 있어서는 benzene을 抽出溶媒로 決定하였다.

溶媒中 ion對形成物의 吸收曲線— CPA-NN 및 TPA-NN는 pH 5.2, DPA-NN는 pH 2.0에서 CPA-EBT는 pH 5.0, TPA-EBT 및 DPA-EBT는 pH 4.0에서 CPA, TPA 및 DPA의 Calcon complex는 pH 2.0에서 ion對를 形成시켜 각각 chloroform으로 抽出하고 DPA-EBT 및 DPA-Calcon은 pH 1.0에서 ion對를 形成시켜 benzene으로 抽出한 吸收曲線은 Fig. 4~6과 같다.

Table. I— Extractability test for solvents.

Solvent	Dichloroethane (abs.)			Chloroform (abs.)			Ethylacetate (abs.)		
Metal indicator	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon
Antihistamines									
C P A	0.21	0.28	0.74	0.3	0.39	0.84	0.13	0.14	—
T P A	0.25	0.36	0.75	0.36	0.373	0.87	0.15	0.165	—
D P A	0.46	0.73	0.83	0.60	0.83	0.86	0.2	0.365	—

Solvent	Benzene (abs.)			Petroleum-ether (abs.)			Nitrobenzene (abs.)		
Metal indicator	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon
Antihistamines									
C P A	—	0.082	0.04	0	0	0	0	0	0
T P A	—	0.097	0.045	0	0	0	0	0	0
D P A	—	0.53	0.73	0	0	0	0	0	0

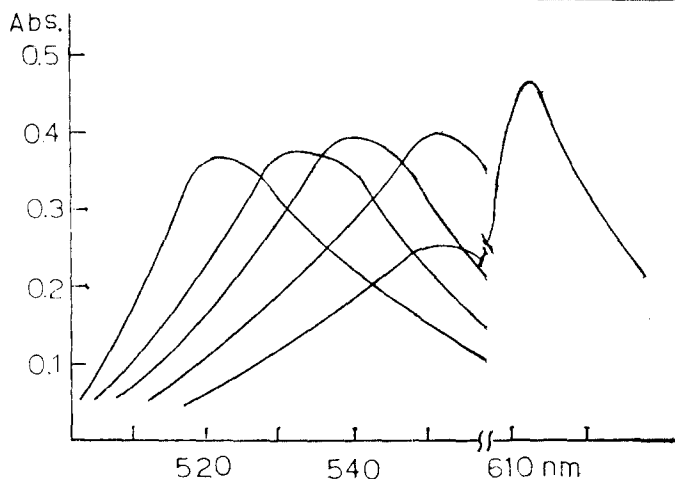


Fig. 4— Absorption curves of NN in aqueous solution at pH 2.0 and 5.2. Absorption maxima at pH 2.0 is 520nm and pH 5.2 is 535nm. Absorption curves of CPA-NN and TPA-NN complexes in chloroform at pH 5.2 of aqueous layer and DPA-NN complex in chloroform at pH 2.0 of aqueous layer. Absorption maxima are at 540nm(CPA-NN), 550nm(TPA-NN) and 612nm(DPA-NN).

NN complex 들의 IR-spectra 는 1590cm^{-1} 의 carboxylate ion 의 伸縮振動 $2250\sim 2700\text{cm}^{-1}$ 의 第三級 amine 鹽으로 인한 NH 伸縮振動 또한 DPA-NN complex 는 1050cm^{-1} 의 S=O 의 吸收帶 變位를 볼 수 있다. EBT 및 Calcon complex 들의 ir-spectra 는 1055cm^{-1} 의 S=O 吸收帶變位 및 $2250\sim 2700\text{cm}^{-1}$ 의 NH 伸縮振動을 볼 수 있다.

Ion 對 形成物의 抽出量과 抽出回數의 關係— CPA, TPA 및 DPA의 NN, EBT 및 Calcon 의 각종 ion 對 形成物을 chloroform으로 抽出할때 2, 3, 5ml로 나누어 3회 抽出하여 混合것, 5, 5ml로 2회 抽出하여 混合것 및 10ml로 1회 抽出한것 등의 吸光度를 測定하였든 바 모두 定量的이었으므로 1회 抽出으로 充分하였다.

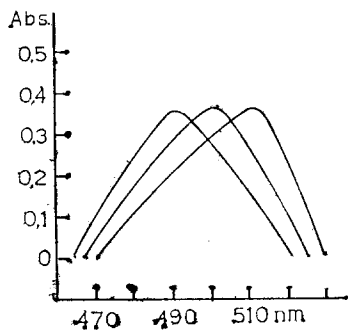


Fig. 5—Absorption curve of EBT in aqueous solution at pH 4.0 and 5.0. Absorption maxima is 490nm. Absorption curves of CPA, TPA and DPA-EBT complexes in dichloroethane, in chloroform and in benzene. Absorption maxima of the complexes are 500nm in dichloroethane, in benzene and 510 nm in chloroform.

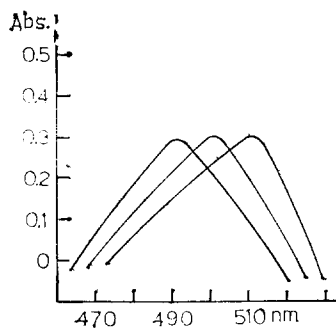


Fig. 6—Absorption curve of Calcon in aqueous solution at pH 2.0 and 3.0. Absorption maxima is 490nm. Absorption curves of CPA, TPA and DPA-Calcon complexes in dichloroethane, in chloroform, and in benzene. Absorption maxima of the complexes are 500nm in dichloroethane, in benzene and 510nm in chloroform.

吸光度の 經時變化 — CPA, TPA 및 DPA 에 對한 NN, EBT 및 Calcon 의 各種 ion 對形成物의 chloroform 및 benzene 溶液의 吸光도를 5, 10, 15, 20, 30分 間격으로 測定한 結果 吸光度の 變化가 없다.

NN, EBT 및 Calcon에 依한 CPA, TPA 및 DPA 의 檢量曲線 — 定量操作法에 따른 檢量曲線은 Fig. 7~9 와 같다.

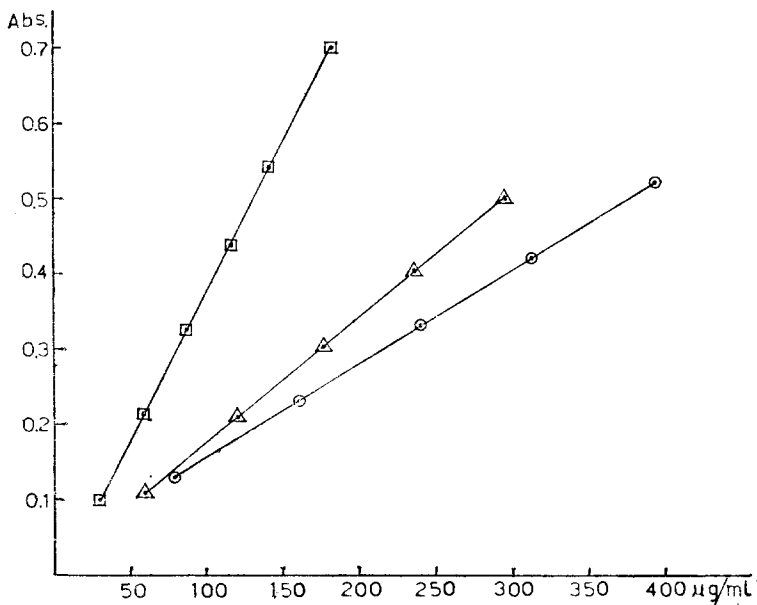


Fig. 7— Calibration curves of CPA, TPA and DPA-NN complexes in chloroform.

- : CPA-NN complex at 540nm, pH 5.2
- △ : TPA-NN complex at 550nm, pH 5.2
- : DPA-NN complex at 612nm, pH 2.0

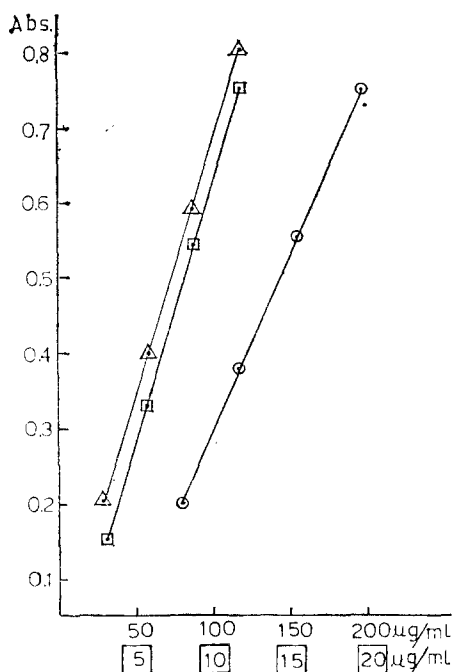


Fig. 8— Calibration curves of CPA, TPA and DPA·EBT complexes in chloroform.

- : CPA-EBT complex at 510nm, pH 5.0
- △ : TPA-EBT complex at 510nm, pH 4.0
- : DPA-EBT complex at 510nm, pH 4.0
- : Contents of DPA related to calibration curve of DPA-EBT complex.

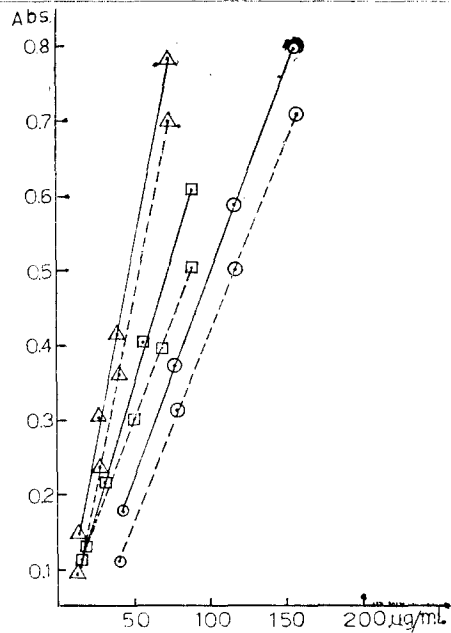


Fig. 9— Calibration curves of CPA, TPA and DPA-Calcon complexes in chloroform.

- : CPA-Calcon complex at 510nm, pH 2.0 (solid line) and pH 3.0 (dotted line) respectively.
- △ : TPA-Calcon complex at 510nm, pH 2.0 (solid line) and pH 3.0, (dotted line) respectively.
- : DPA-Calcon complex at 510nm, pH 2.0 (solid line) and pH 3.0, (dotted line) respectively.

CPA, TPA 및 DPA 混合溶液中 DPA 의 分離定量— EBT 및 Calcon 에 依한 DPA 의 分離定量은 Table II 에서는 pH 1.0 에서 DPA-EBT ion 對 만이 選擇的으로 抽出되고 Table III 에서는 pH 1.0 에서 CPA-Calcon 및 TPA-Calcon ion 對의 吸光度는 無視할 수 있을 程度이며 DPA 의 分離 定量이 可能하고 同一한 濃度에서는 DPA-EBT 보다 DPA-Calcon 의 吸光度가 높으며 檢量曲線은 Fig. 10 과 같다.

Table II— Extractability of CPA, TPA and DPA-EBT complexes by benzene according to change of pH in aqueous layer.

pH	Absorbance		
	CPA-EBT	DPA-EBT	TPA-EBT
1.0	0	0.585	0
2.0	0.013	0.585	0.002
3.0	0.025	0.557	0.01
4.0	0.082	0.53	0.097
5.0	0.194	0.435	0.205
6.0	0.188	0.246	0.132
7.0	0.081	0.074	0.037

Table III— Extractability of CPA, TPA and DPA-Calcon complexes by benzene according to change of pH in aqueous layer.

pH	Absorbance		
	CPA-Calcon	DPA-Calcon	TPA-Calcon
1.0	0.04	0.73	0.045
2.0	0.06	0.73	0.066
3.0	0.06	0.76	0.25
4.0	0.39	0.745	0.39
5.0	0.46	0.725	0.43
6.0	0.31	0.415	0.264
7.0	0.125	0.115	0.08

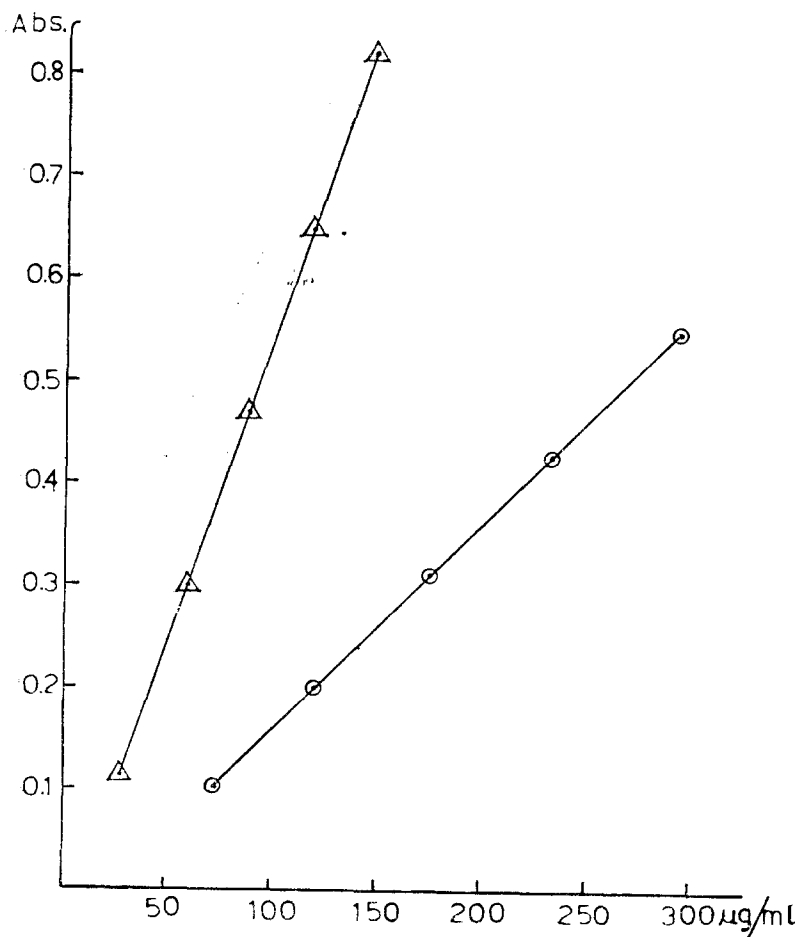


Fig. 10— Calibration curves of DPA-EBT and DPA-Calcon complexes in benzene.

\circ : DPA-EBT complex at 500nm, pH 1.0

\triangle : DPA-Calcon complex at 500nm, pH 1.0

溶媒抽出된 ion 對形成物の 組成—CPA, TPA 및 DPA의 10^{-4} mole 溶液 및 NN, EBT 및 Calcon 의 10^{-4} mole 溶液으로 CPA-NN 및 TPA-NN는 pH5.2, DPA-NN는 pH2.0에서 CPA-EBT는 pH5.0 TPA-EBT 및 DPA-EBT는 pH4.0에서 CPA, TPA 및 DPA의 Calcon ion 對 complex는 pH2.0에서 각각의 ion 對를 一定量의 chloroform으로 抽出하고 또한 DPA-EBT 및 DPA-Calcon ion 對 complex는 pH1.0에서 각각의 ion 對를 一定量의 benzene으로 抽出하여 각각의 最大吸收波長에서 吸光度를 測定하는 條件으로 각 complex들을 mole 比法 및 連續變化法을 實施한 바 Fig. 11~16과 같고 CPA-NN, TPA-NN 및 DPA-NN는 다 같이 1:1, CPA-EBT, TPA-EBT 및 DPA-EBT는 다 같이 1:2, CPA-Calcon, TPA-Calcon 및 DPA-Calcon은 다 같이 1:3의 組成比임을 決定하였다.

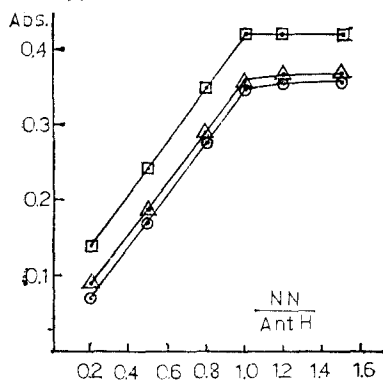


Fig. 11—Mole ratio method of CPA, TPA and DPA-NN complexes in chloroform.

- : CPA-NN complex at pH 5.2, 540nm
- △ : TPA-NN complex at pH 5.2, 550nm
- : DPA-NN complex at pH 2.0, 612nm

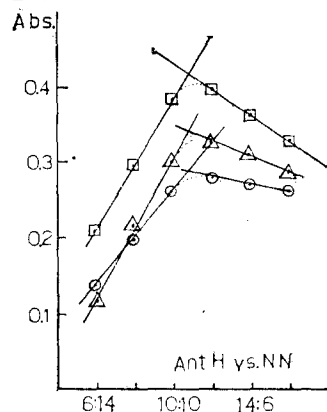


Fig. 12—Continuous variation method of CPA, TPA and DPA-NN in chloroform. Experimental conditions and denotations are same as Fig. 11.

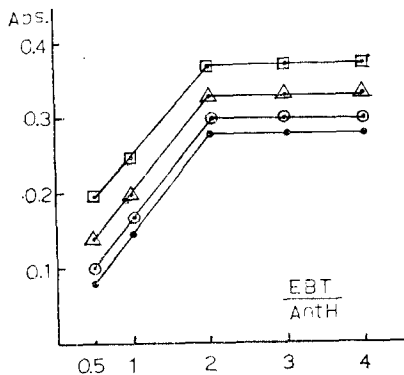


Fig. 13—Mole ratio method of CPA, TPA and DPA-EBT complexes in chloroform and in benzene.

- , DPA-EBT complex in benzene at pH 1.0, 500nm
- : CPA-EBT complex in chloroform at pH 5.0, 510nm
- △ : TPA-EBT complex in chloroform at pH 4.0, 510nm
- : DPA-EBT complex in chloroform at pH 4.0, 510nm

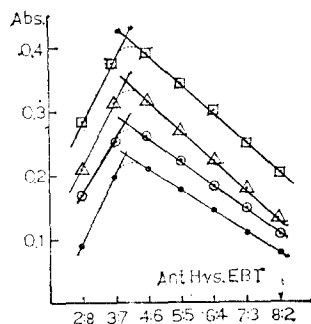


Fig. 14—Continuous variation method of CPA, TPA and DPA-EBT complex in chloroform and in benzene. Experimental conditions and denotations are same as Fig. 13.

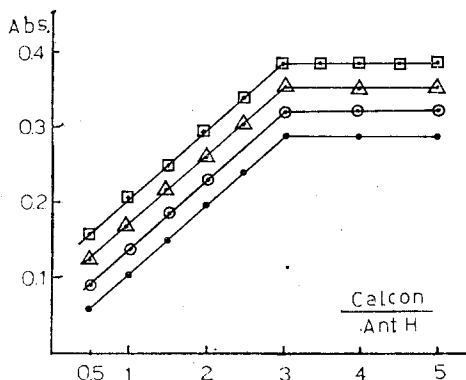


Fig. 15.—Hole ratio method of CPA, TPA and DPA-calcon complexes in chloroform and in benzene.

—: DPA-calcon complex in benzene at pH 1.0, 500nm

⊙: CPA-calcon complex in chloroform at pH 2.0, 510nm

△: TPA-calcon complex in chloroform at pH 2.0, 510nm

⊠: DPA-calcon complex in chloroform at pH 2.0, 510nm

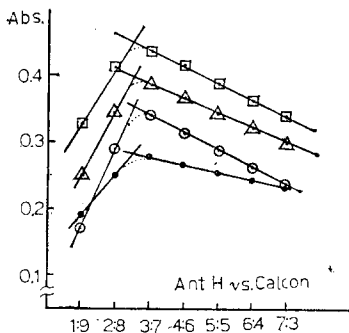


Fig. 16—Continuous variation method of CPA, TPA and DPA-Calcon complexes in chloroform and benzene.

Experimental conditions and denotations are same as Fig. 15.

Ion 對 形成物의 融點測定—CPA, TPA 및 DPA의 NN, EBT 및 Calcon의 각종 complex 들의 chloroform 溶液을 水浴上에서 蒸發건조하고 다시 眞空乾燥한 다음 融點을 測定하였던 바 Table IV와 같다.

Table IV—Melting points of complex molecules consisting of antihistamines and acidic azo dyes.

CPA-NN	94~98°	TPA-NN	77~88°	DPA-NN	72~75°
CPA-EBT	167~170°	TPA-EBT	108~117°	DPA-EBT	107~111°
CPA-calcon	98~103°	TPA-Calcon	89~97°	DPA-Calcon	81~85°

共存醫藥品이 抗 histamine-酸性 azo 色素 ion 對 吸光度에 주는 影響—CPA, TPA 및 DPA에 配合될 수 있는 醫藥品들에 對해 NN, EBT 및 Calcon과 CPA, TPA 및 DPA가 ion 對를 잘 形成하는 水層의 pH에서 各醫藥品들과 CPA, TPA 및 DPA의 NN, EBT 및 Calcon complex들을 각각 混合하여 chloroform으로 抽出한 溶液을 各 Complex의 最大吸收波長에서 吸光度를 測定하였다.

Table V—Interference effect of coexisting drug as a component of prescription in forming ion pair between antihistamines and acidic azo dyes.

Added drug	Existing ratio	Chlorpheniramine maleate, recovery (%)			Tripeleennamine. HCl recovery (%)			Diphenhydramine. HCl recovery (%)		
		NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon
Phenacetin	1 : 100	100	109.5	86.3	100	106.6	95.3	113.5	109.2	109.7
Caffein	1 : 20	100	50.0	100	100	48.2	96.4	105.8	70.3	104.5
Ethoxybenzamide	1 : 50	100	133.3	105.5	100	128.0	128.1	100	118.9	110.8

Added drug	Existing ratio	Chlorpheniramine maleate, recovery (%)			Tripeleennamine · HCl. recovery (%)			Diphenhydramine · HCl recovery (%)		
		NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon	NN	EBT	Calcon
Vitamin B ₁	1 : 1	100	166.6	102.7	100	112.6	118.8	105.8	122.6	114.0
Vitamin B ₂	1 : 1	100	69.0	79.5	100	52.4	98.4	100	78.2	111.8
Vitamin B ₆	2 : 1	100	53.1	91.8	100	47.6	100	100	62.5	102.8
Sulpyrine	1 : 50	100	48.1	※	100	33.5	※	125.0	52.5	※
Na-Salicylate	1 : 100	100	114.3	98.6	100	98.2	96.9	100	94.1	97.8
Phenobarbital	1 : 10	100	123.8	116.4	100	102.1	98.4	100	110.5	108.6
Aminopyrine	1 : 50	125.0	71.4	※	144.2	53.1	※	※	96.7	※
Antipyrine	1 : 50	101.9	100	265.8	100	99.5	195.3	165.4	105.1	197.8
Acetanilide	1 : 100	100	128.6	105.4	115.4	106.0	106.3	134.6	113.2	105.4
Acetaminophen	1 : 100	100	128.6	102.7	100	106.0	107.0	100	111.9	107.5
Dihydrocodeine	1 : 10	134.6	※	※	132.7	※	※	138.5	※	※
Narcotine	1 : 10	119.2	371.4	※	123.1	219.9	※	※	※	※
Ephedrine	1 : 10	111.5	57.1	263.0	113.5	47.6	171.9	100	62.0	197.8
Methyl ephedrine	1 : 10	121.2	100	※	123.1	62.8	※	152.3	83.6	※
Glyceryl guajacolate	1 : 30	107.7	61.9	89.0	106.5	45.9	96.1	100	71.4	101.1

※ Coloration with antihistamines simultaneously.

結 論

1. 抗 histamine 劑인 chlorpheniramine maleate(CPA), tripeleennamine·HCl(TPA) 및 diphenhydramine·HCl(DPA) 등을 適切한 pH 에서 金屬指示藥 NN, EBT 및 Calcon 등과 ion 對를 形成시켜 chloroform 으로 抽出하는 각종 吸光度定量法을 比較檢討하였든 바 EBT 를 使用하였을때 가장 良好하였고 CPA, TPA 및 DPA 의 適切한 pH 는 5.0, 4.0, 4.0 이었으며 吸光係數는 各 3.240, 6.678 및 61.644(g/l)이었다.

2. CPA, TPA 및 DPA 의 混合溶液을 pH 1.0 으로 하고 EBT 를 加하여 선택적으로 DPA 만의 ion 對를 形成시켜 benzene 으로 抽出하여 吸光도를 測定함으로써 DPA 의 새로운 分離定量法을 確立하였다.

3. CPA-NN, TPA-NN 및 DPA-NN complex 의 形成條件은 各 pH 5.2, 5.2 및 2.0 에서 chloroform 으로 抽出하였을때 最大吸收波長은 各 540, 550 및 612nm 이다. CPA-EBT, TPA-EBT 및 DPA-EBT complex 의 形成條件은 pH 5.0, 4.0 및 4.0, CPA-Calcon, TPA-Calcon 및 DPA-Calcon complex 의 形成條件은 다같이 pH 2.0에서 chloroform 抽出溶液의 最大吸收波長은 다같이 510nm 이다. CPA, TPA 및 DPA 의 NN, EBT 및 Calcon 의 ion 對 形成物의 용점은 各 固有한 溫度를 나타내었다.

4. 各 ion 對를 形成한 complex 의 組成比는 CPA-NN, TPA-NN 및 DPA-NN 는 1 : 1, CPA-EBT, TPA-EBT 및 DPA-EBT 는 1 : 2, CPA-Calcon, TPA-Calcon, 및 DPA-Calcon 은 1 : 3이며 이들은 ir-spectra 에 依하면 分子間水素結合을 이루고 있는 것으로 推定된다.

本 研究를 指導하여 주신 서울大學校 藥學大學 白南豪教授任에게 深謝하는 바이다.

文 獻

1. H. M. Jones, and E. S. Brody, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* **38**, 579 (1949)
2. F. J. Bandelin, E. D. Slifer and R. E. Pankratz, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **39**, 277 (1950)
3. Lee Kum-Tatt *J. Pharm. Pharmacol.*, **12**, 866 (1960)
4. R. E. Jersen and R. T. Pelaum, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 835 (1964)
5. L. Molle, *J. Pham. Belg.*, **5**, 339 (1950)
6. G. Sekulses, and G. Guadagnini., *Boll. Chim. Farm.*, **103**, 432 (1964)
7. Reymond-Hamet, *Bull, Sci, Pharmacol.*, **41**, 481 (1934)
8. Ac. Andrews, T. D. Lyons and T. D. O'Breu, *J. Chem., Soc.* **1962** p-451
9. T. J. Haley, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **47**, 294 (1958)
10. Lamer and H. C. Downes, *J. Am. Chem.*, **55**, 1840 (1933)
11. B. Bernard Brodie, Sidney Udenfiend and John E. Baer, *J. Biol. Chem.*, **109**, 1947
12. F., Durick, J. S. King, Jr., P. A. Ware, and G. Cronheim. *J. Am. Pharm. Assoc., Sci, Ed.*, **39**, 680 (1950)
13. M. E., Auerbach, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **15** 492 (1943)
14. P. B., Marshall, and E.W. Rogers, *Biochem. J.*, **39**, 258 (1945)
15. G., Cronheim, and P. A. Wore, *J. Phamacol. Exptl. Therap.*, **92**, 98 (1948)
16. *J. Pharmacolo Exptlo Therap* **158**, 705 (1949)
17. A. O., Gettler, and I. Sunshine, *Anal. Chem.*, **23**, 779 (1951)
18. V. A., Christensen *Dansk Tidsskr. Farm.*, **19**, 29 (1945); *Chem. Abst.* **39**, 5405
19. C. C., Scott and K. K.Chen, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **87**, 63 (1946)
20. 大橋, 松尾, 分析化學, **17**, 843 (1968)
21. 小池, 大橋, 松尾, 分析化學, **17**, 603 (1968)
22. W. A. Dill and A. J. Glazko, *J. Biol. Chem.*, **179**, 395(1949)
23. 掘岡, 日藥誌, **77**, 200 (1956)
24. F. Matsui and W. N. French, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 287 (1971)
25. F. Matsui, J. R. Watson and W. N. French, *J. Chromatog.* **44**, 109 (1969)
27. W. N. French and B.A. Riedel, *Can. J. Pharm. Sci.*, **1**, 80 (1966)
28. W. N. French, F. Matsui and J. F. Truelove, *Can. J. Pharm. Sci.*, **3**, 33 (1968)
29. J. W. Fairbain and S.J. Relph, *J. Chrometog.*, **33**, 494 (1968)
30. R. D. Spencer and B. H. Beggs, *J. Chromatog.*, **21**, 52 (1966)
31. J. Patton and W. Reeder, *Anal. Chem.*, **28**, 1026 (1956)
32. 西村, 中谷, 分析化學, **16**, 463 (1967)
33. G. P. Hildebrand and E. N. Reilley, *Anal. Chem.*, **29**, 258 (1957)