

# 混合溶媒중에서의 酸-鹽基 指示藥에 關한 研究(I). 水-有機溶媒 混合溶媒중 Ampicillin, Amoxicillin 및 Cephalexin 의 定量

李 王 圭 · 沈 昌 求

서울대학교 藥學大學

(Received February 25, 1976)

Wang Kyu Lee and Chang Koo Sim (*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151*): Studies on Acid-Base Indicators in the Mixtures of Some Solvents(I). Determination of Ampicillin, Amoxicillin and Cephalexin in Aqueous Organic Solvents

**Abstract**—The pH titration curves of ampicillin, amoxicillin and cephalixin in aqueous acetone, ethanol and *N,N'*-dimethylformamide by use of 0.02 N-KOH solution showed that 80% acetone was the most effective solvent for alkali titration of them. The pH jumps of samples in 80% acetone were sharp enough to determine the contents of them by use of potentiometric titration. The pKa value of brom thymol blue in 80% acetone (9.4) was coincided with each equivalent point of ampicillin, amoxicillin and cephalixin, but those of phenolphthalein, thymolphthalein, thymol blue and brom cresol purple were not. The color change of brom thymol blue at equivalent points was very clear except the case of amoxicillin that the determination of samples in 80% acetone with 0.02 N-KOH solution by the aid of brom thymol blue could be available.

抗生物質로 널리 이용되고 있는 ampicillin, amoxicillin, cephalixin 등의 水溶液은 酸 또는 alkali로 滴定할 때 현저한 pH jump가 생기지 않기 때문에 이들을 酸-鹽基 指示藥을 利用하여 酸 또는 alkali로 定量하는 것은 不可能하였다.

Hou 등<sup>1)</sup>은 ampicillin 등의 penicillin들이 alicyclacillinphatic amino acids 처럼 水溶液中에서 2段으로 解離되며 等電點의 pH(pI)에서 Zwitter ion (dipolar ions)으로 存在한다고 報告하였으며 Moll 등<sup>2)</sup>은 아미노산의 formol 滴定法<sup>3)</sup>을 應用하여 이들을 定量하였다.

그런데 아미노산은 高濃度の ethanol 水溶液이나 acetone 水溶液中에서  $\text{—NH}_3^+$  로의 解離가 抑制되기 때문에 alkali 로 滴定可能함이 報告되었으며<sup>4-8)</sup> penicillin G 의 경우는 80% ethanol 中에서 pK 가 약 2 倍로 增加함을 報告한 例도 있다<sup>9)</sup>.

著者は ampicillin, amoxicillin, cephalixin 等を alkali 로 滴定하였을 때 현저한 pH jump 를 이루어 주는 有機溶媒條件을 探索코자 하였다.

有機溶媒로는 于先 acetone, ethanol, *N,N'*-dimethylformamide 에 對해 檢討하고 현저한 pH 飛躍을 보인 acetone 의 境遇에 對해서는 酸-鹽基指示藥을 利用하여 定量을 試圖하였던 바 良好한 結果를 얻었다.

### 實驗方法

**試料 및 試藥**—Ampicillin trihydrate, amoxicillin trihydrate, cephalixin 은 各各 市販品을 使用하고 acetone 및 *N,N'*-dimethylformamide(D.M.F.)는 日本試藥 特級을, ethanol 은 E. Merck 의 分析用 無水晶을 使用하였다.

**滴定曲線의 作成**—ampicillin trihydrate 50 mg 을 250 ml 容 비이커에 넣고 증류수와 섞어 濃도가 90%인 acetone 100 ml 를 加한 後 질소氣流로 비이커 内部空氣를 置換하고 密封한 後 magnetic stirrer 로 교반하여 檢體를 完全히 溶解시켰다. 다음에 비이커 덮개를 벗기고 신속히 pH meter 와 뷰렛을 設置한 後 다시 密封하여 magnetic stirrer 로 서서히 교반하면서 0.02 N-KOH 水溶液으로 滴定하여 pH meter 의 눈금을 읽음으로서 滴定曲線을 作成하였다. 다음에 80%, 70%, 60% acetone 에 對해서도 이 操作을 反復하였고 ethanol, *N,N'*-dimethylformamide 에 대해서도 acetone 의 境遇와 同様の 實驗을 行한 後 amoxicillin trihydrate 및 cephalixin 各 50 mg 에 대해서도 ampicillin trihydrate 의 境遇와 同一한 實驗을 行하였다. 또 各 檢體 50 mg 을 증류수에 溶解시켜 同一한 實驗을 行하여 各 境遇와 比較하였다.

**Brom thymol blue 의 吸收 spectrum**—K.P.에 準하여 調製한 brom thymol blue 試液을 증류수로 稀釋하여 약 0.02%가 되게 한 後 이액 2.0 ml 적을 50 ml volumetric flask 에 넣고 各各의 pH 가 8~14 사이에서 段階的으로 다르게 調製한 數個의 80% acetone 으로 標線을 채워 液의 色이 黃色에서 靑色에 이르기까지 段階的으로 變換 溶液에 對해 pH 를 測定하고 即時 spectrophotometer (Beckman Model 25)로 350~750 nm 사이에서 各各의 80% acetone 을 對照로 하여 그 吸光值를 slow scanning 하였다. 이 實驗에서 pH 를 測定한 液은 迅速히 cell 에 옮겨 뚜껑을 하고 spectrum 을 測定하여  $\text{CO}_2$ 의 접촉을 可及的 防止하였다.

### 結果 및 考察

各 檢體를 各各 80% acetone, ethanol, *N,N'*-dimethylformamide 에 용해시킨 경우의 滴定曲線은 Fig. 1~3과 같다. 여기에서 90% 경우는 80% 경우보다 다소 良好한 滴定曲線을 이루어 주었으나 檢體의 溶解가 매우 어려우므로 實用性이 적다고 思料되어 Fig. 1~3에 나타냄을 省略하였고 70%, 60% 경우는 80% 경우에 비해 濃도가 낮아질수록 pH jump 가 나빠졌기 때문에 省略하였다.

Fig. 1~3에서 各 檢體에 가장 銳敏한 pH jump 를 이루어 주는 有機溶媒는 共히 80% acetone 이다. 이때 ampicillin trihydrate, amoxicillin trihydrate, cephalixin 의 各各의 當量點은 pH

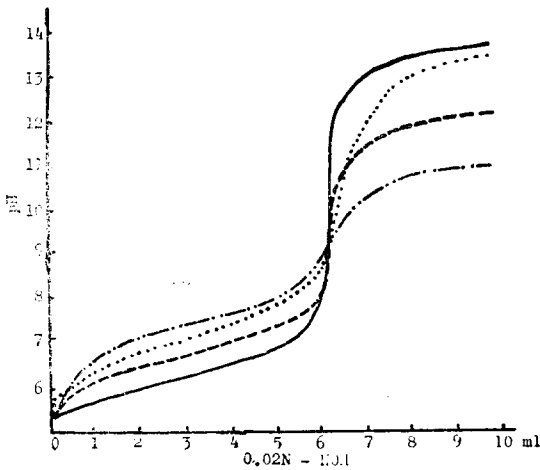


Fig. 1—pH titration curves of ampicillin trihydrate in 80% aqueous organic solvents.

Key: —, acetone; — —, ethanol; ·····, D.M. F; - · - ·, water solution

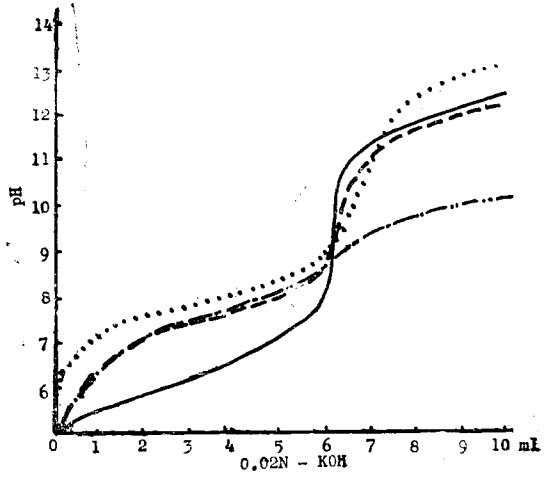


Fig. 2—pH titration curves of amoxicillin trihydrate in 80% aqueous organic solvents.

Key: —, acetone; — —, ethanol; ·····, D.M. F.; - · - ·, water solution

9.8, pH 9.0, pH 10.0 부근이며 pH 飛躍은 各 各 8~12, 8.5~10.5, 8~12 이므로 電位差 滴 定이 可能함을 알 수 있다.

酸-鹽基 指示藥을 고려할 때 brom cresol purple 과 methyl yellow 의 80% acetone 中에서의 pKa 는 7.34 및 2.41<sup>10)</sup>이며 著者의 豫備試驗에 依하면 phenolphthalein, thymolphthalein 等도 各 各 경우에 있어서의 指示藥으로 적합치 않았다. 그러나 brom thymol blue 는 그 變色點이 各 檢體의 80% acetone 溶液의 當量點에 近似하였다. 80% acetone 中에서 brom thymol blue 의 吸收 spectrum 은 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서 brom thymol blue 의 pKa 를 다 음과 같이 求하였다. 指示藥을 HI 로 表示하고 吸收 spectrum 中 解離領域 吸收 極大波長에서 吸光值의 最大値를  $D_I^-$ , 最小値를  $D_{HI}$  로 하고 그 中間의 spectrum 의 吸光值를  $D$  라 하면 測定 溶液의 指示藥의 濃度는 전부 같기 때문에

$$pKa = pH - \log \frac{(D_I^- - D)}{(D - D_{HI})}$$

라 할 수 있다.

이 式을 利用하여 實測한 pH 值와 그때의  $\log \frac{(D_I^- - D)}{(D - D_{HI})}$  를 graph 紙에 plot 하여 各點을 연결한 直線과 pH 軸과의 交點을 읽으니 pKa 는 약 9.4이었다.

即 brom thymol blue 의 80% acetone 中에서의 pKa 는 各 檢體의 80% acetone 溶液의 滴 定時의 pH 飛躍內에 들며 當量點에 近似하므로 이 指示藥을 各 檢體 定量時의 indicator 로 쓸

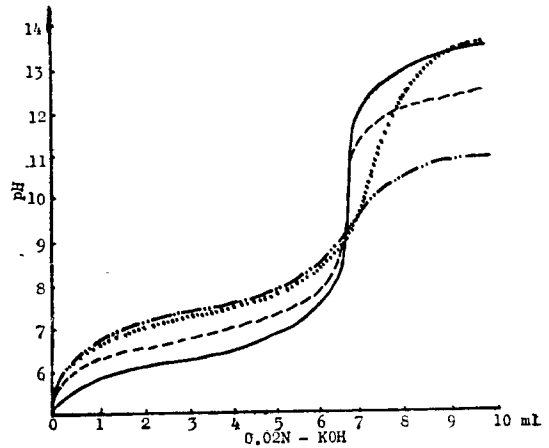


Fig. 3—pH titration curves of cephalixin in 80% aqueous organic solvents.

Key: —, acetone; — —, ethanol; ·····, D.M.F; - · - ·, water solution

Table I—Analytical results

Sample	Recovery percentage			
	1st	2nd	3rd	Mean
Ampicillin trihydrate	100.3	99.7	100.0	100.0
Amoxicillin trihydrate	98.2	102.4	101.4	101.0
Cephalexin	100.6	100.8	99.8	100.2

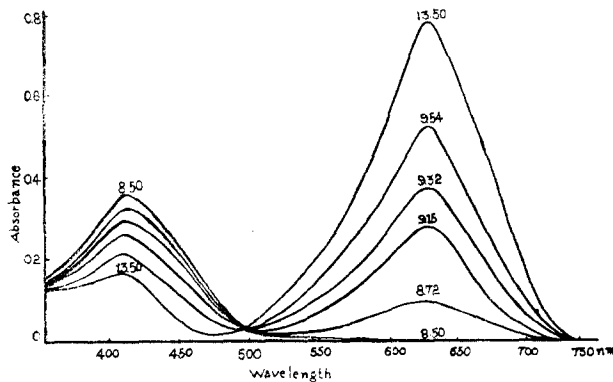


Fig. 4—Absorption spectra of brom thymol blue in several pH conditions in 80% aqueous acetone media.

수 있다고 思料되었다. 實際로 各 檢體 50 mg 을 80% acetone 100 ml 에 용해시켜 brom thymol blue 3~5滴을 加하고 0.02 N-KOH 수용액으로 液의 色이 맑은 靑色이 될 때까지 滴定하고 같은 式으로 blank test 를 하여 필요한 補正을 한 後 얻은 結果는 Table I 과 같다.

이 滴定에서 CO<sub>2</sub>의 混入은 終末點에서 의 靑色을 多少 退色시키기 때문에 질소 氣流로 CO<sub>2</sub>의 混入을 防止하면서 精確함이 必要하였다.

## 結 論

1. 水-有機溶媒 acetone, ethanol, *N,N'*-dimethylformamide 와 물의 混合溶媒에 ampicillin trihydrate, amoxicillin trihydrate, cephalixin 을 溶解시킨 溶液을 alkali 로 精確할때 水溶液의 경우보다 훨씬 銳敏한 pH jump 가 생겼다.
2. 이 效果는 acetone > ethanol > *N,N'*-dimethylformamide 의 順으로 良好하였으며 同一한 有機溶媒 中에서는 濃도가 進할수록 良好하였으나 檢體의 溶解를 考慮할 때 80% acetone 이 各 檢體에 共히 가장 良好한 溶媒條件이었다.
3. 이때 定量時의 酸-鹽基指示藥으로는 brom thymol blue (pKa 9.4) 가 適合하였다.
4. 實際 定量時 CO<sub>2</sub>의 影響을 防止하면 brom thymol blue 의 變色이 銳敏하여 良好한 結果를 얻을 수 있었다.
6. 특히 ampicillin trihydrate 및 cephalixin 의 定量法으로 實用성이 있다고 思料된다.

## 文 獻

1. J.P. Hou and J.W. Poole, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1510 (1969).
2. Moll, F. and Doeker H., *Arch. Pharm. Berl.*, **305**, 548 (1972).
3. Malfatti, H., *Z. anal. Chem.*, **47**, 273 (1908).
4. Foreman, F.W., *Biochem. J.*, **14**, 451 (1920).

5. Martens, R., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **9**, 454 (1927).
6. Willstätter, R. and E. Waldschmidt-Leitz, *Ber. Chem. Ges.*, **54B**, 2388 (1921).
7. Linderstrøm-L.K., *Compt. rend. Lab. Carlsberg*, **17**, 1 (1927).
8. Linderstrøm-L.K., *Z. Physiol. Chem.*, **173**, 32 (1928).
9. R.B. Woodward, A. Neuberger, and N.R. Trenner, in "The Chemistry of Penicillin," H.T. Clarke, J.R. Johnson, and B. Robinson, Eds., Princeton University Press, Princeton, N.J., **1949**, p-415.
10. 龍群鎬, 藥學會誌, **19**, 30 (1975).