

Column Chromatography에 의한 바르비탈류 분리 정량법에 관한 연구

정 인 명 · 심 수 일 · 최 광 식
전 성 환 · 고 미 혜 · 부 인 향

국립보건연구원 약품부

Quantitative Determination of Barbiturates by Column Chromatographic Method

I. M. Chung, S. I. Shim, K. S. Choi
S. W. Chun, M. H. Ko, I. H. Bu

(Received Nov. 9, 1979)

The analytical method of phenobarbital and mephobarbital in the pharmaceutical preparation were investigated by the partition chromatographic method.

The influence of 13 kinds of excipients and various kinds of ingredients such as 8 kinds of antipyretics and 5 kinds of antacids on the partition chromatographic analysis of phenobarbital and mephobarbital in the preparation were investigated.

The results were not affected by materials with the exception of caffeine, aspirin and sulpyrin.

Barbituric acid 유도체인 phenobarbital 및 mephobarbital은 최면진정제로서 다른 해열진통제, 산소화제 등과 배합되어 널리 사용되고 있다. 이들의 정량법으로는 적정법¹⁾, 자외분광법²⁻³⁾, thiosemicarbazide-dimethylglyoxim 비색법⁴⁾, partition column chromatograph법⁵⁻⁶⁾, gas-liquid chromatograph법⁷⁻¹³⁾, high pressure liquid chromatograph법¹⁴⁻¹⁵⁾ 등이 있다. 저자들은 column chromatograph법을 이용하여 시중에 유통되는 과립제, 정제, 캡셀제 등으로 되어있는 phenobarbital 또는 mephobarbital 함유 해열진통제, 제산소화제 등에서 분리 정량할 목적으로 부형제, 결합제 등 13종, 해열진통제 11종, 제산제 5종에 대하여 시험해본 결과 비교적 양호한 효과를 나타내었기에 보고하는 바이다.

* Drug Department, N. I. H.

실 험

시 약—Celite 545 (Johns-Manville, acid-washed), Na_2CO_3 , NaHCO_3 , K_3PO_4 , dimethyl sulfoxide, isooctane, ethylether, acetic acid, NH_4OH

시 액—탄산나트륨 완충액 (pH=10.3): M- Na_2CO_3 와 M- NaHCO_3 을 사용할때 5:1의 비율로 혼합하여 사용한다.

N-인산칼륨 용액 (pH=12.4): K_3PO_4 70.76g을 증류수에 녹여 1,000ml로 한다.

혼합용매: isooctane과 ethylether을 3:1, 2:1, 9:1 또는 1:3의 비율로 혼합하여 동량의 물로 혼합용매를 씻어 준다.

Ethylether: Ethylether을 동량의 물로 씻어주고 acetic acid 1ml을 넣어 100ml 되게 한다.

푼은 암모니아수: NH_4OH 30ml을 물로 1l되게 희석한다.

장 치—Column: 내경 20mm, 길이 300mm 및 내경 15mm, 길이 200mm의 목지가 달린 원통 유리관.

Spectrophotometer (Beckman Model 25, Beckman DK-2A),

pH meter (Beckman Expandomatic SS-2).

실험방법—Phenobarbital 표준액: phenobarbital 표준품(99.7%) 50mg을 정밀히 달아 푼은 암모니아수로 정확히 phenobarbital 10ug/ml되게 희석하였다.

Mephobarbital 표준액: mephobarbital 표준품(99.2%) 50mg을 정밀히 달아 푼은 암모니아수로 정확히 mephobarbital 10ug/ml되게 희석하였다.

Column 조제: phenobarbital의 column I의 조제; 검체중 phenobarbital 약 10mg 해당량을 정밀히 달아 에탄올에 가온하여 녹이고 식힌 다음 정확히 50ml 되게 한다. 이 액을 여과하여 처음 여액 10ml을 버리고 다음 여액 25ml을 정밀히 취하여 수욕상에서 증발 농축하여 물 1ml, HCl 3방울을 넣어 증기욕상에서 5분간 가온하고 식힌 다음 Celite 545 5g을 넣어 균질하게 될때까지 잘 섞은 다음 column에 충전한다. 물 0.5ml로 용기를 씻은 다음 Celite 545 1g으로 잘 씻어 상부에 충전시킨다. 소량의 glass wool로 spatula와 beaker를 닦고 column에 넣는다.

Phenobarbital의 column II의 조제: Celite 545 3g에 탄산나트륨 완충액 2ml을 잘 섞은 다음 충전한다. 소량의 glass wool로 용기를 씻은 다음 column에 넣는다.

Mephobarbital의 column I의 조제: 검체중 mephobarbital 약 10mg 해당량을 정밀히 달아 에탄올에 가온하여 녹이고 식힌 다음 정확히 50ml 되게 한다. 이 액을 여과하여 처음 여액 10ml을 버리고 다음 여액 25ml을 정밀히 취하여 수욕상에서 증발 농축하여 물 1ml, dimethyl sulfoxide 1ml, HCl 3방울을 넣고 수욕상에서 5분간 가열하여 식힌 다음 Celite 545 3g을 넣어 잘 섞은 다음 column에 충전시킨다. 소량의 glass wool로 spatula와 beaker를 씻어 column에 넣는다.

Mephobarbital의 Column II의 조제: N-인산칼륨액 2ml을 Celite 545 4g과 잘 섞은 다음 충전한다. 소량의 glass-wool로 용기를 씻은 다음 column에 넣는다.

조작법—phenobarbital column II 위에 column I을 올려놓고 혼합용매 (3:1) 50ml씩으로 3회 통과시킨 다음 column I을 분리시킨다. 혼합용매 (2:1) 50ml로 column II를 통과시

키고 통과된 액을 버린다. column II 아래 분액여두(250ml)을 넣고 ethylether 115ml로 column II를 유출시킨다. 유출액을 묽은 암모니아수 30, 30, 25ml 씩으로 진탕 추출하여 100ml 용량 플라스크에 모아 표선까지 묽은 암모니아수로 채운다. 이 용액 10ml을 취하여 묽은 암모니아수로 50ml 되게 희석한다. 표준액과 검액을 묽은 암모니아수를 대조액으로 하여 층장 10mm, 파장 239nm에서 흡광도를 측정한다.

Mephobarbital—Column II 위에 column I의 올려놓고 혼합용매(9:1) 50ml씩으로 2회 통과시키고 column I을 분리시킨다. 혼합용매(9:1) 50ml로 1회 column II을 통과시키고 통과된 액을 버린다. column II에 ethylether 10ml, 혼합용매(1:3) 100ml를 차례로 넣어 통과시키고 통과된 액을 분액여두(250ml)에 모은다. 유출액은 묽은 암모니아수 30, 30, 25ml 씩으로 진탕 추출하여 100ml 용량 플라스크에 모아 표선까지 묽은 암모니아수로 채운다. 이 용액 10ml을 취하여 묽은 암모니아수로 50ml 되게 희석한다. 표준액과 검액을 묽은 암모니아수를 대조액으로 하여 층장 10mm, 파장 245nm에서 흡광도를 측정한다.

검량곡선—상기 시험법에 따라 최종농도를 phenobarbital $5\mu\text{g/ml}\sim 30\mu\text{g/ml}$, mephobarbital $5\mu\text{g/ml}\sim 30\mu\text{g/ml}$ 로 하여 흡광치를 측정한 결과 phenobarbital의 경우 Fig.1 mephobarbital의 경우 Fig.2와 같이 직선성으로 Beer의 법칙에 성립됨을 알 수 있다.

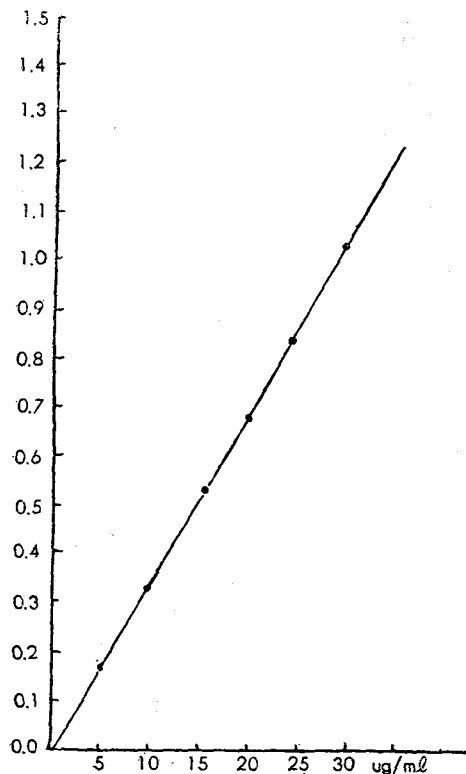
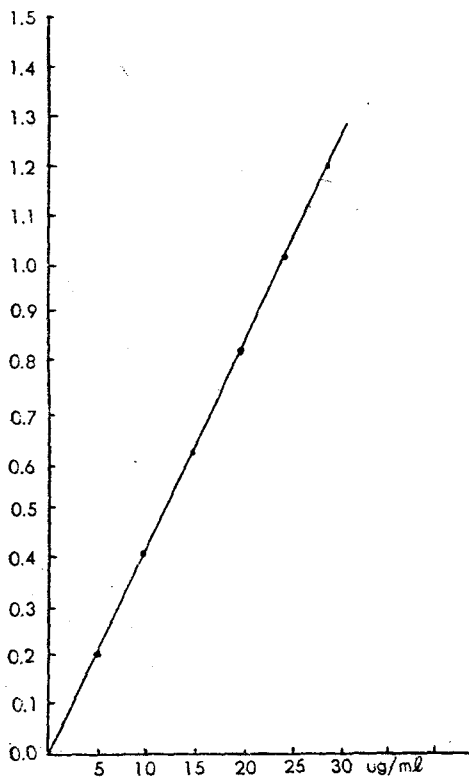


Figure 1—Calibration curve of phenobarbital. Figure 2—Calibration curve of mephobarbital

결 과 및 고 찰

재현성의 검토

Phenobarbital—Phenobarbital의 단일제제에 대하여 실험 결과는 Table I 과 같으며 회수를 99.6% 표준편차 1.05이다.

Mephobarbital—Mephobarbital의 단일제제에 대하여 실험 결과는 Table II와 같으며 회수율 100.4% 표준편차 1.32이다.

Table I—Recovery Test of Phenobarbital

Exp. No.	Taken (mg)	Found (mg)	Found (%)
1	20.1	20.2	100.5
2	20.3	20.5	101.0
3	19.8	19.3	97.5
4	20.6	20.4	99.0
5	20.4	20.5	100.5
6	18.7	18.6	99.5
7	19.5	19.7	101.0
8	19.2	19.1	99.5
9	20.5	20.3	99.0
10	20.7	20.4	98.6
11	19.2	19.1	99.5
12	19.6	19.4	99.0
Mean	19.9	19.8	99.6
Standard Deviation	0.65	0.67	1.05

Table II—Recovery Test of Mephobarbital

Exp. No.	Taken (mg)	Found (mg)	Found (%)
1	25.2	24.8	98.4
2	24.2	24.5	101.2
3	28.8	24.1	101.3
4	25.4	25.7	101.2
5	25.8	26.0	100.8
6	24.6	24.2	98.4
7	23.5	24.0	102.1
8	24.8	24.4	98.4
9	25.6	25.3	98.8
10	25.7	25.9	100.8
11	24.1	24.4	101.2
12	24.9	25.4	102.0
Mean	24.8	24.9	100.4
Standard Deviation	0.77	0.74	1.32

공존성분의 영향

Phenobarbital—Table III과 같이 공존성분에 대하여 실험한 결과 비교적 양호한 회수율을 얻었다.

Mephobarbital—Table IV와 같이 공존성분에 대하여 실험한 결과 비교적 양호한 회수율을 얻었다.

Table III—Influence of Various Ingredients on the Determination of Phenobarbital

Components	Mixing Ratio	Found (%)
Lactose	1 : 5	99.8
Sucrose	1 : 5	100.7
Glucose	1 : 5	99.5
Starch	1 : 5	100.2
Methyl cellulose	1 : 5	101.2
Cal. phosphate	1 : 5	99.8
Silicagel	1 : 1	99.7
Arabia gum	1 : 2	100.5
Agar	1 : 2	100.8
Mag. stearate	1 : 1	100.7
Stearic acid	1 : 1	98.8
Talc	1 : 5	99.3
Citric acid	1 : 1	98.9
Sod. bicarbonate	1 : 4	99.1
Al. silicate	1 : 1.5	99.7
Mag. oxide	1 : 1	99.4
Dawsonite	1 : 5	99.8
dl-Methylephedrine HCl	1 : 1	98.8
Glyceryl guaiacolate ether	1 : 5	101.1
Caffeine	1 : 8	—
Chlorpheniramine maleate	1 : 0.1	99.4
Acetaminophen	1 : 10	99.2
Aspirin	1 : 20	—
Phenacetin	1 : 1	100.3
Diphenylhydantoin	1 : 1	100.6
Papaverine HCl	1 : 1	99.1
Sulpyrin	1 : 10	—
Quinine HCl	1 : 1	100.9
Cal. carbonate	1 : 2	98.2

Table IV— Influence of Various Ingredients on the Determination of Mephobarbital

Components	Mixing Ratio	Found (%)
Lactose	1 : 5	98.7
Sucrose	1 : 5	99.3
Glucose	1 : 5	99.6
Starch	1 : 5	100.2
Methyl cellulose	1 : 1	98.4
Cal. phosphate	1 : 5	99.8
Silicagel	1 : 1	99.8
Arabia gum	1 : 2	99.3
Agar	1 : 2	98.9
Mag. stearate	1 : 1	100.6
Stearic acid	1 : 1	101.3
Talc	1 : 5	99.4
Citric acid	1 : 1	99.7
Sod. bicarbonate	1 : 4	99.6
Al. Silicate	1 : 1.5	98.6
Cal. Carbonate	1 : 2	99.1
Mag. Oxide	1 : 1	99.4
Dawsonite	1 : 5	99.2
dl-Methyl ephedrine HCl	1 : 1	101.3
Glyceryl guaiacolate ether	1 : 5	101.6
Caffeine	1 : 8	—
Chlorpheniramine maleate	1 : 0.1	99.4
Acetaminophen	1 : 10	98.9
Aspirin	1 : 20	—
Phenacetin	1 : 1	100.8
Diphenylhydantoin	1 : 1	100.1
Papaverine HCl	1 : 1	100.4
Sulpyrine	1 : 10	—
Quinine HCl	1 : 1	99.3

결 론

상기 실험 방법과 같이 phenobarbital과 mephobarbital에 대해 각각 부형제, 결합제 등 13종, 제산제 5종, 해열진통제 11종과 배합하여 공존성분의 영향에 대하여 검토 해본 결과 비교적 양호한 결과를 나타내었으나 caffeine, aspirin, sulpyrin에 대하여는 방해됨을 받아 앞으로 계속 이들에 대한 영향을 검토 하려고 한다.

文 獻

- 1) The National Formulary (1975) 14th Ed., American Pharmaceutical Association, Washington, DC.
- 2) U.S. Pharmacopeia (1975) 19th Rev., Mack Publishing Co, Easton, PA
- 3) E.G.C Clarke; Isolation and Identification of Drugs, 425, (1971)
- 4) 立澤政義方: 分析化學, 17. 430(1968)
- 5) G.B., Kaplan and J. Levine, *JAOAC* 58, 525~527 (1972)
- 6) C.G. Cunningham, C.G. and S. Barkan, *JAOAC* 58, 525 (1975)
- 7) K.D. Parker, and P.L. Kirk, *Anal. Chem.*, 33, 1378 (1961)
- 8) E. Brochmann-Hanssen, and A. Baerheim Svendsen, *J. Pharm. Sci.*, 51, 318~321 (1962)
- 9) A.A. Neckopulos, *J. Chromatogr. Sci.*, 9, 173 (1971)
- 10) J.L. Sibert, and F.L. Fricke, *JAOAC*, 51, 1326 (1968)
- 11) E. Brochmann-Hanssen and OKe, T. Olawuy, *J. Pharm. Sci.*, 58, 370 (1969)
- 12) K.D. Parker, C.R. Fontan, and P.L. Kirk, *Anal. Chem.*, 35, 356 (1963)
- 13) L.I. Braddock, and N. Marec, *J. Gas Chromatogr.*, 3, 247~277 (1965)
- 14) M.W., Anders, and J.P. Latorre, *Anal. Chem.*, 42, 1430 (1970)
- 15) R.W., Roos, *J. Pharm. Sci.*, 61, 1979 (1972)
- 16) Susan Barkan and Doyle Thomas D. *JAOAC* 60, 1022 (1977)