약학회지 제27권 제 2 호 125~131 (1983)
Yakhak Hoeji, Vol. 27, No. 2

이온對 化合物의 참分配係數가 抽出定數 決定에 미치는 影響

沈 昌 求
서울大學校 藥學大學

(Received February 16, 1983)

Chang-Koo Shim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Effect of True Partition Coefficient on the Determination of Extraction Coefficient of Ion-Pair Complexes

Abstract—Whether $[AB_w]$ may be neglected against $[A_w^+]$ in the calculation of the extraction coefficient of ion-pairs was criticized by both experiments and theoretical consideration, where $[AB_w]$ and $[A_w^+]$ mean the molar concentration of ion-pair AB and cation A^+ in the aqueous phase. Ion-pair complexes were partitioned between phosphate buffer (pH 7.4) and *n*-octanol. Tetrabutylammonium, isopropamide and methylene blue were selected as cations and benzoic acid, *p*-toluenesulfonic acid, salicylic acid and taurodeoxycholic acid were selected as counter ions (anions). As a result, conventional methods which assume no existence of $[AB_w]$, were proven to lack generality. The equation proposed in my earlier report was confirmed to be valid as a general method.

이온對(ion-pair) 形成을 이용하여 어떤 약물의 겉보기分配係數(apparent partition coefficient; APC) 및 有機용매에의 抽出定數(extraction coefficient; K_e)를 증가시킴으로써 難吸收性 藥物의 胃腸管吸收[1~6] 또는 直腸吸收[7~8]를 促進시키고자 하는 試圖는 수많이 報告되어 있다. 그러나 吸收와의 相關關係를 定量的으로 연구하는데 필요한 抽出定數 또는 이온對 生成定數(formation coefficient; K_f)를 결정하는 종래의 計算法들[9~14]은 一般性이 결여되어 있어서, 경우에 따라서는 매우 不正確한 결과가 얻어졌기 때문에 종래의 방법들[9~14]을 써서 얻은 各定數로 부터 吸收와의 相關을 論하는데에는 다소 無理가 있으리라 생각되었다. 따라서 著者등은 前報[15]에서 이들 各定數들을 구하는 보다 一般的인 방법을 報告한 바 있다. 즉, 종래의 연구자들[9~14] 처럼 「이온對화합물(ion-pair complex)의 水—有機溶媒間 참分配係數(true partition coefficient; TPC)는 매우 커서 이 화합물을 유기용매로 抽出할 때, 水相中의 이온對 화합물의 존재는 무시할 수 있다」고 한 假定을 사용하지 않고 TPC=2.6에 불과한 iopropamide-benzoate 이온對系에 대해서도 정확한 K_f, K_e를 구할 수 있는 一般式을 提示하였다.

本報에서는 pH 7.4 부근에서 거의 완전하게 陽이온 상태로 解離되는 tetrabutylammonium bromide (TBA), isopropamide iodide(ISP) 및 methylene blue(MB)와 4種의 陰이온性 藥物과의 이온對 화합물에 대해서 K_f, K_e, TPC등의 物理定數를 前報[15]의 식에 따라 구한 후 TPC의 크기, 그리고 水相中의 ion對 화합물의 존재를 어떻게 評價해야 할 것인가에 대해서 보다 구체적으로 考察하고자 한다.

水相에서 완전히 解離하는 cation A_w^+와 anion B_w^-는 ion-pair AB_w를 形成한 후 자신의 고유한 참分配係數(TPC)에 따라 有機相에 分配하여 平衡에 이르게 된다. 그 과정을 알기 쉽게 Scheme I에 표시하였다. 그러면 K_f, TPC, K_e 및 APC는 각각 다음과 같이 정의된다.

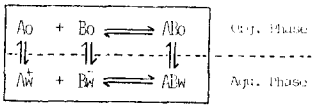
$$K_f = \frac{[AB_w]}{[A_w^+][B_w^-]} \quad (1)$$

$$TPC = \frac{[AB_o]}{[AB_w]} \quad (2)$$

$$K_e = \frac{[AB_o]}{[A_w^+][B_w^-]} = K_f \times TPC \quad (3)$$

$$APC = \frac{[A_o^T]}{[A_w^T]} = \frac{[A_o]+[AB_o]}{[A_w^+]+[AB_w]} \quad (4)$$

Scheme I—Equilibrium of ion-pair and ions between aqueous phase and organic phase. Suffixes +, −, w and o represent cation, anion, aqueous phase and organic phase respectively. For details, see text.



여기에서 小文字 o를 붙인 곳은 有機相(organic phase)에 존재함을 뜻하고 大文字 T를 붙인 곳은 그 相에서의 總(total)농도을 뜻한다. 총농도는 언제나 그 相에서의 ion-pair의 농도와 그 ion 自體농도의 合으로 나타내 진다. 이 (1)～(4)식을 연립시키면 (5)식이 얻어진다.

$$\frac{[B_w^T]}{APC-dA} = \frac{1}{K_e} + \left(\frac{[B_w^T]\cdot dA}{APC-dA} + [A_w^T] + [B_w^T]\right) \times \frac{1}{TPC} - \frac{[AB_w]}{TPC} \quad (5)$$

여기에서 dA란 A_w^+의 分配係數, 즉 $\frac{[A_o]}{[A_w^+]}$을 의미한다. 이 (5)식에서 만약, (가) TPC가 종래의 연구자들[9~14]의 주장처럼 매우 크거나, 또는 (나) cation A_w^+에 비해 過多量의 anion B_w^-를 加해 同式의 等號 왼쪽項 $\frac{[B_w^T]}{APC-dA}$가 $\frac{[AB_w]}{TPC}$에 비해 비교할 수 없을 정도로 크게 된다면 同式은 (6)식과 같이 간단해진다.

$$\frac{[B_w^T]}{APC-dA} = \frac{1}{K_e} + \left(\frac{[B_w^T]\cdot dA}{APC-dA} + [A_w^T] + [B_w^T]\right) \times \frac{1}{TPC} \quad (6)$$

그런데 (6)식이 성립하는데 필요한 조건인 (가) 또는 (나)項은 실험시에 언제나 만족시킬 수 있으므로 (6)식은 TPC가 크건 작건간에 ion-pair의 結合 mole比가 1 : 1인 경우에는 언제나 쓸 수 있는 一般式이 된다. 즉 $\frac{[B_w^T]}{APC-dA}$와 $\left(\frac{[B_w^T]}{APC-dA} + [A_w^T] + [B_w^T]\right)$을 plot한 graph上에서 기울기의 역수가 TPC가 될 것이고 切片의 역수가 K_e가 될 것이다. 그러면 K_f는 (3)식에 따라 K_e를 TPC로 나눠서 구할 수가 있는 것이다.

한편 대표적인 종래의 연구자 Lee등[11]의 理論은 다음과 같다. 즉 上記 (1)～(5)식을 변형하여 (7)식을 얻었다.

$$\log\left(\frac{[A_o^T]}{[A_w^+]} - dA\right) = \log K_e + n\log[B_w^-] \quad (7)$$

여기에서 n은 ion-pair의 結合 mole比이다. 이 (7)식은 理論的으로 정확하나 K_f, TPC등을 구할 수 없다는 단점 이외에도, 이 (7)식을 써서 K_e를 實測하고자 할 때 실험상 $[A_w^+]$의 측정이 不可하다는 문제점을 갖고 있다. 즉 物質 A를 定量할 때 A_w^+만을 AB_w와 구별하여 정량할 수는 없고, 언제나 A_w^+와 AB_w의 合 즉 A_w^T가 정량된다는 것이다. 이 문제에 대해서 Lee등은 「ion-pair의 TPC는 매우 크므로 生成된 ion-pair의 대부분은 有機相에 移行하며 따라서 $[AB_w]$는 $[A_w^+]$에 비해 무시해도 좋을만큼 작다. 즉 $[A_w^+] \fallingdotseq [A_w^T]$이다」라고 생각하였다. 그러나 ion-pair의 TPC는 언제나 큰 것이 아니라는 것은 著者등의 前報[15]에서 밝혀진 바 있으므로 (7)식은 TPC가 매우 큰 경우에만 쓸 수 있는 식이 될 것이다.

實 驗 方 法

實驗材料—cation性 藥物로서는 tetrabutylammonium bromide (TBA), isopropamide iodide (ISP) 및 methylene blue $2H_2O$ (MB)를, anion性 藥物로서는 sodium benzoate (BEN), sodium *p*-toluene sulfonate (PTSA), sodium salicylate (SAL) 및 sodium taurodeoxycholate (TDC)를 사용하였다. 이들은 이 실험의 조건인 pH 7.4(인산 buffer)에서 거의 100% 解離하는 藥物이다. 有機相으로서는 *n*-octanol을 사용하였으며, buffer 및 *n*-octanol은 本실험 전에 미리 相互飽和시켜 놓은 후 사용하였다. 上記 藥物 및 其他 試藥은 전부 市販 特級品을 그대로 사용하였다.

實驗方法—分配實驗 및 各 藥物의 定量은 前報[15]에 準하였다. 但, MB와 各 anion과의 分配실험을 할 때의 MB 및 各 anion은 다음과 같이 정량하였다. 水相中의 總 MB농도는 664*nm*에서의 吸光度를 測定하여 求하였고, *n*-octanol中의 總 MB농도는 660.5*nm*에서의 吸光度를 측정한 후 *n*-octanol中에서의 hypsochromic effect (blue shift)를 補正하기 위해 1.3014로 나눠서 求하였다. MB의 檢量線은 MB의 인산 buffer (pH 7.4) 용액으로 作成하였다. MB 分配時의 anion의 UV吸光度는 MB에 의해 그 측정이 不可해졌으므로 (8)式[15]에 의해 구하였다.

$$[B_w^T]=\frac{([B_i]-[A_i])+(1+dA)[A_w^T]}{1+dB} \tag{8}$$

여기에서 $[A_i]$ 및 $[B_i]$는 *n*-octanol을 加해 分配실험을 수행하기 전의 cation A 및 anion B의 初농도를 뜻하며 dB는 anion B_w^-의 水—有機溶媒間 分配係數, 즉 $\frac{[B_o]}{[B_w^-]}$을 의미한다.

實 驗 結 果 및 考 察

Anion添加에 依한 cation의 겉보기 分配係數의 增加—Fig. 1～Fig. 3은 4種의 anion 농도를 증가시킴에 따라 TBA, ISP 및 MB의 APC가 증가함을 보인 것이다.

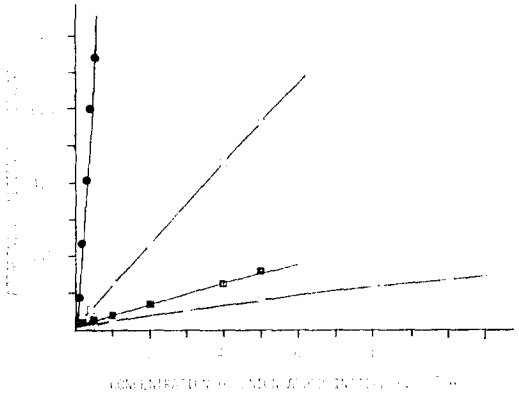


Fig. 1—Effect of anions on the apparent partition coefficients of 1.0×10^{-4}M tetrabutylammonium bromide equilibriated between *n*-octanol and pH 7.4 potassium phosphate buffer. Representative data from single experiment are shown. ●: taurodeoxycholate ion, □: salicylate ion, ■: *p*-toluenesulfonate ion, ○: benzoate ion.

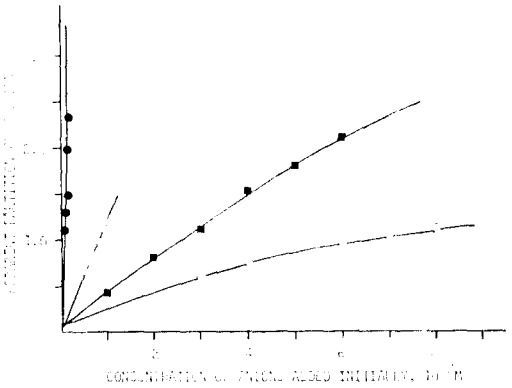


Fig. 2—Effect of anions on the apparent partition coefficients of 1.0×10^{-4}M isopropamide iodide equilibriated between *n*-octanol and pH 7.4 potassium phosphate buffer. Representative data from single experiment are shown. For symbols, see Fig. 1.

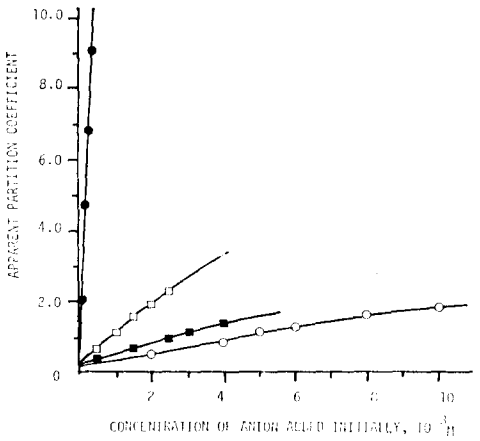


Fig. 3—Effect of anions on the apparent partition coefficients of 0.5×10^{-4}M methylene blue equilibriated between *n*-octanol and pH 7.4 potassium phosphate buffer. Representative data from single experiment are shown. For symbols, see Fig. 1.

Fig. 1~Fig. 3에서 4개의 曲線이 만나는 縱軸의 값이 各各 TBA, ISP 및 MB의 dA값이 된다. 한편 理論的으로 anion의 初농도 즉 $[B_i]$가 無限히 클 때의 APC値가 TPC이므로 Fig. 1~Fig. 3으로부터 TPC値의 대략의 크기(order)를 짐작할 수 있으며, 따라서 (6)式의 成立여부 또는 成立에 필요한 $[B_i]$의 범위등을 간단히 예측할 수 있게 된다. 本실험에서는 (6)式의 조건인 (가) 또는 (나)가 成立되겠끔 $[B_i]$를 조정하여 얻은 결과만을 표시하였다. 한편 Table I에는 實測한 各물질의 dA, dB와 함께 分子量과 pKa의 문헌치를 정리하였다.

Ion-pair의 K_f, TPC 및 K_e—(6)式에 따라서 $\frac{[B_w^T]}{APC-dA}$와 $\left(\frac{[B_w^T]\cdot dA}{APC-dA}+[A_w^T]+[B_w^T]\right)$을 plot한 결과中 MB의 例만을 Fig. 4에 보였다. graph의 各 직선은 最小自乘法을 써서 그었다. 各 直線의 기울기의 逆數, 縱軸과의 切片의 逆數로 부터 TPC와 K_e를 求한 다음 $\frac{K_e}{TPC}$로 부터 K_f를 求하여 그 결과를 Table II에 정리하였다. Table II에서 TDC와의 ion-

Table I—Partition coefficients of cations (dA) and anions (dB) between phosphate buffer (pH 7.4) and *n*-octanol with cited values of molecular weight and pKa. For abbreviations, see text.

Class	Compds.	Mol. wt	pKa	dA(dB)
Cation	TBA-Br	322.38	strong	0.101
	ISP-I	480.42	〃	0.073
	MB-$2H_2O$	355.89	〃	0.153
Anion	Na-BEN	144.11	4.19	0.061
	Na-PTSA	194.18	strong	0.000
	Na-SAL	160.11	2.75	0.042
	Na-TDC	521.60	1.93	0 set

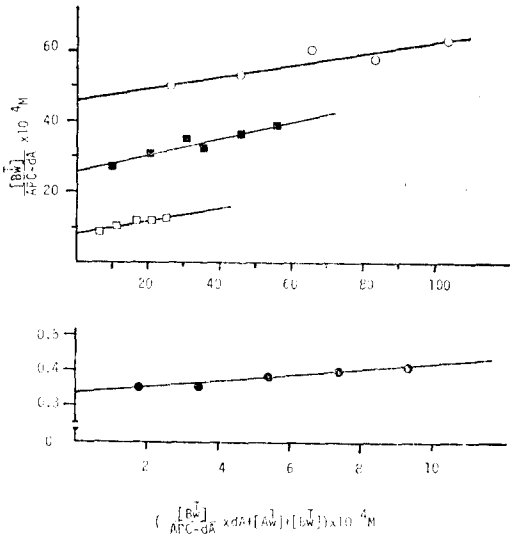


Fig. 4—Plots of $\frac{[B_w^T]}{APC-dA}$ *vs* $\left(\frac{[B_w^T]\cdot dA}{APC-dA}+[A_w^T]+[B_w^T]\right)$ for the ion-pairs of methylene blue with various anions. Representative data from single experiment are shown. Methylene blue (0.5×10^{-4}M) was equilibriated with various concentrations of anions at 25°C. Symbols and the initial concentrations of each anion ($[B_i]$) are: ●: taurodeoxycholate($2\sim8\times10^{-4}$M), □: salicylate ($5\sim25\times10^{-4}$M), ■: *p*-toluenesulfonate ($5\sim40\times10^{-4}$M), ○: benzoate ($20\sim100\times10^{-4}$M).

Table II—Extraction constant (K_e), true partition coefficient (TPC) and formation constant (K_f) of ion-pairs.[a]

Cation	Anion	$K_e(M^{-1})$	TPC	$K_f(M^{-1})$
TBA[b]	BEN	$1.75(0.07)\times10^2$	5.3(0.2)	$3.29(0.28)\times10$
	PTSA	$3.33(0.03)\times10^2$	10.6(1.2)	$3.14(0.38)\times10$
	SAL	$1.37(0.07)\times10^3$	27.2(6.4)	$5.04(0.97)\times10$
	TDC	$1.55(0.05)\times10^4$	—	—
ISP[b]	BEN	$2.81(0.19)\times10$	2.6(0.1)	$1.08(0.04)\times10$
	PTSA	$4.33(0.27)\times10$	8.7(0.7)	$0.50(0.01)\times10$
	SAL	$1.37(0.05)\times10^2$	11.7(1.1)	$1.17(0.14)\times10$
	TDC	$2.44(0.32)\times10^3$	—	—
MB	BEN	$2.28(0.09)\times10^2$	6.3(0.1)	$0.36(0.01)\times10^2$
	PTSA	$4.18(0.24)\times10^2$	4.1(0.3)	$1.02(0.12)\times10^2$
	SAL	$1.29(0.03)\times10^3$	6.0(0.7)	$0.22(0.02)\times10^3$
	TDC	$3.06(0.07)\times10^4$	56.5(5.1)	$0.05(0.01)\times10^4$

a) Shown by the mean of 3 different experiments at 25°C with S.D. in the parentheses.
b) Cited from the previous report.[15]

pair에 대한 TPC값을 기입하지 않은 것은 Fig. 4에서 보듯 TDC와의 ion-pair의 기울기가 거의 0에 가까워 그 逆數인 TPC의 정확한 계산이 不可하였기 때문이다. 같은 이유로 K_f값도 이 경우에는 算出할 수 없었다.

또한 ISP-BEN의 例에서도 볼 수 있듯이 ion-pair의 分配係數는 언제나 큰 것이 아님을 알 수 있었다.

從來의 學說에 對한 批判—여기에서 從來의 學說의 代表로 Lee등[11]의 式 즉 (7)식을 例로 들어 그들의 假定의 妥當性을 檢討해 보고자 한다. 그들은 「ion-pair의 TPC는 매우 커서 $[AB_w]$는 0에 가깝고 따라서 $[Aw^+]\fallingdotseq[A_w^T]$」라고 하였는데 이는 ISP-BEN의 TPC=2.6이라는 결과에서 이미 그 妥當性이 否定된다. 그러면 $[A_w^+]\fallingdotseq[A_w^T]$라고 가정했을 때의 K_e는 (6)式에서 求한 K_e값과 얼마나 차가 나는지를 고찰하기 위해서 Table III에 (6)式과 (7)式으로 부터 구한 各各의 K_e값을 ISP의 ion-pair들을 例로 들어 정리하였다.

Table III—Difference between K_e values obtained by this study (Eq. (6)) and by Lee *et al.* (Eq. (7)).

Ion-Pair		This Study		Lee
		TPC	$K_e(M^{-1})$	$K_e(M^{-1})$
ISP	BEN	2.6	2.81×10	1.61×10^2
	PTSA	8.7	4.33×10	9.90×10
	SAL	11.7	1.37×10^2	1.69×10^2
	TDC	Large	2.44×10^3	2.41×10^3

Table III으로 부터 (6)式에 의한 著者등의 방법과 (7)식에 의한 Lee등[11]의 방법間에는 K_e에 상당한 差가 있는 것을 알았다. Lee式의 부정확함에 대해서는 (7)式의 n값이 自然數로 되지 않는 例가 종종 있다는 사실[15]이 뒷받침하고 있다.

Fig. 5와 Fig. 6은 ISP-BEN의 分配系에서 $[AB_o]$, $[AB_w]$ 및 $\frac{[A_w^T]}{[A_w^+]}$, $\frac{[AB_w]}{[A_w^+]}$를 APC에 대해 simulation한 것이다. 各各의 값은 다음의 (9)～(12)식으로 부터 求하였다.

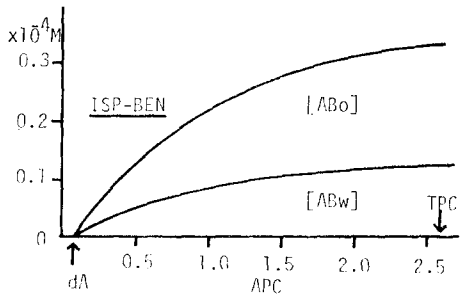


Fig. 5—Simulated relationship between $[AB_o]$ or $[AB_w]$ and APC of isopropamide-benzoate ion-pair equilibriated in phosphate buffer (pH 7.4)—*n*-octanol system. $[AB_o]$ and $[AB_w]$ were calculated theoretically according to Eq. (9) and (10) respectively. For abbreviations, see text.

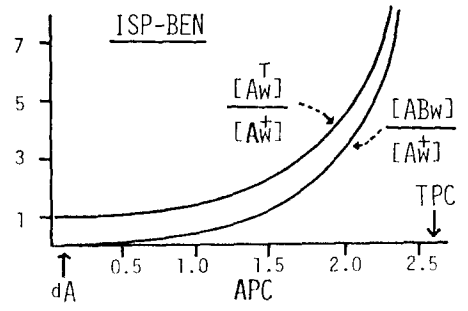


Fig. 6—Simulated relationship between $\frac{[A_w^T]}{[A_w^+]}$ or $\frac{[AB_w]}{[A_w^+]}$ and APC of isopropamide-benzoate ion-pair. $\frac{[A_w^+]}{[A_w^+]}$ and $\frac{[AB_w]}{[A_w^+]}$ were calculated according to Eq. (11) and (12) respectively. For others, see Fig. 5.

$$[AB_o] = \frac{TPC}{TPC+dA} \times \frac{APC-dA}{APC+1} \times [A_i] \tag{9}$$

$$[AB_w] = \frac{1}{TPC-dA} \times \frac{APC-dA}{APC+1} \times [A_i] \tag{10}$$

$$\frac{[A_w^T]}{[A_w^+]} = \frac{TPC-dA}{TPC-APC} \tag{11}$$

$$\frac{[AB_w]}{[A_w^+]} = \frac{APC-dA}{TPC-APC} \tag{12}$$

Fig. 5로 부터 APC가 커짐에 따라 $[AB_o]$는 물론, $[AB_w]$도 함께 증가함을 알 수 있었다. Fig. 6에서 Lee등[11]의 假定이 만약 옳다고 한다면 (12)식의 값, 즉 $\frac{[AB_w]}{[A_w^+]}$의 값은 언제나 0이 되어야 하며 (11)식의 값 즉 $\frac{[A_w^T]}{[Aw^+]}$의 값은 언제나 1이 되어야 할 것이다. 그러나 Fig. 6에서 보듯이 APC가 dA에 가까운 범위에서는 (12)식의 값과 (11)식의 값이 각각 0 및 1에 가까워 그들의 假定이 成立하나 APC가 TPC인 2.6에 가까이 가면 그 값들은 급격히 커짐을 알 수 있다. 즉 APC가 dA에 가까운 범위가 아닌 한 $[AB_w]$를 $[A_w^+]$에 대해 무시한다는 것은 不可함을 명확히 알 수 있었다. 그러나 APC가 dA에 가까운 값을 갖게끔 실험조건을 맞추면 Lee등[11]의 式인 (7)식의 左邊, 즉 log(APC−dA)의 相對오차가 너무 커져서, 이로부터 求한 K_e 및 n값을 신뢰할 수 없게 되는 문제점이 생긴다. 요컨대 TPC값이 그리 크지 않을 경우에 $[AB_w]$를 무시하고 (7)식에 따라 K_e를 구하는 것은 一般的으로 옳지 않다고 思料되었다.

結 論

Ion-pair 화합물을 어떤 有機溶媒로 抽出할 때의 K_p, K_f 및 TPC값은 著者등의 (6)식을 써서 구하는 것이 妥當하며, $[A_w^+]$에 대해 $[AB_w]$를 무시하는 從來의 假定[9~14]에는 일반성이 결여되어 있음이 증명되었다. (6)식은 TPC의 大小에 관계없이, 실험조건을 맞추어 주기만 하면 K_e, K_f 및 TPC를 한꺼번에 구할 수 있는 일반적인 방법이나 ion-pair AB의 結合 mole比가 1 : 1이어야 한다는 前提조건만은 필요하였다.

文 獻

1. J. Nakamura, N. Muranishi, T. Kimura, S. Muranishi and H. Sezaki, Further studies on the mechanism of the absorption of ion-pair complex from the rat small intestine. *Chem. Pharm. Bull.* **25**, 851, (1977).
2. J.H. Perrn and J.J. Vallner, The effect of the anion on the absorption of tetracycline from the rat stomach. *J. Pharm. Pharmac.* **22**, 758, (1970).
3. T.S. Gaginella, P. Bass, J.H. Perrin and J.J. Vallner, Effect of bile salts on partitioning behavior and GI absorption of a quaternary ammonium compound, isopropamide iodide. *J. Pharm. Sci.* **62**, 1121, (1973).
4. G.M. Irwin, H.B. Kostenbauder, L.W. Dittert, R. Staples, A. Misher and J.V. Swintosky, Enhancement of gastrointestinal absorption of a quaternary ammonium compound by trichloroacetate. *J. Pharm. Sci.* **58**, 313 (1969).
5. M. Gibaldi, Enhancement of intestinal absorption of a quaternary ammonium compounds by salicylate and trichloroacetate., *J. Pharm. Sci.* **62**, 343 (1973).
6. W.D. Walkling, A.C. Bonfilio and H.I. Jacoby, Possible ion-pair-mediated absorption of mixidine I: Partitioning and lethality studies. *J. Pharm. Sci.* **67**, 945 (1978).
7. K. Kakemi, H. Sezaki, S. Muranishi and Y. Tsujimura, Absorption and excretion of drugs. XL. Enhancement of the rectal absorption of pharmaceutical amines with lauryl sulfate and saccharinate anions. *Chem. Pharm. Bull.* **17**, 1641 (1969).
8. E. Suzuki, M. Tsukigi, S. Muranishi, H. Sezaki and K. Kakemi, The absorption from the gut of quinine and chlorpheniramine given with various anionic agents. *J. Pharm. Pharmac.* **24**, 138(1972).
9. H.L. Fung and Y.H. Ow, Functional group contribution in ion-pair extraction of tricyclic amines. *J. Pharm. Sci.* **61** (1972).
10. T. Kitakawa, Y. Adachi and E. Hirai, Ion pair extraction of trimethoprim with sulfonphthalein dyes. *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 843 (1980).
11. H.K. Lee, Y.W. Chien, T.K. Lin and H.J. Lambert, Functional group contribution of bile salt molecules to partitioning of a quaternary ammonium N,N-dimethyl derivative of propranolol. *J. Pharm. Sci.* **67**, 847 (1978).
12. R. Modin, and G. Schill, Quantitative determinations by ion-pair extraction. Part 1. Ion-pairs of quaternary ammonium ions with organic anions. *Acta Pharm. Suecica* **4**, 301 (1967).
13. B.A. Persson and G. Schill, Extraction of amines as complexes with inorganic anions. Part 2. Determination of constants when the amine is extracted as complex and base. *Acta Pharm. Suecica* **3**, 281(1966).
14. G. Schill, Photometric determination of amines and quaternary ammonium compounds with bromthymolblue. Part 4. Extraction constants and calculation of extraction condition. *Acta Pharm. Suecica* **2**, 13 (1965).
15. C.K. Shim, R. Nishigaki, T. Iga and M. Hanano, Determination of extraction constant, true partition coefficient and formation constant of ion-pair complexes of quaternary ammonium salts, tetrabutylammonium bromide and isopropamide iodide with some organic anions by a solvent extraction technique. *Int. J. Pharm.* **8**, 143 (1981).