

## GC/FPD를 이용한 $\beta$ -락탐系 抗生物質의 分析(I)

朴萬基 · 曹榮鉉 · 楊貞善

서울대학교 藥學大學

Man Ki Park, Yung Hyun Cho and Jeong Seon Yang

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

### Determination of $\beta$ -Lactam Antibiotics by Gas Chromatography with Flame Photometric Detector (I)

**Abstract**—Some  $\beta$ -lactam antibiotics—penicillins and cephalosporins—were determined by gas chromatography (GC) with flame photometric detector (FPD) which was selective and sensitive to sulfur-containing compounds. Methyl ester derivatives of carboxyl group in  $\beta$ -lactam antibiotics were prepared using 0.5M-methyl iodide in methylene chloride and were taken for gas chromatography with 0.9% or 0.6% QF-1 on Chromosorb WAW-DMCS. We have found that it is possible to determine methyl esters of  $\beta$ -lactam antibiotics by GC/FPD.

여러가지 명균에 대해 넓은 항균력을 갖고 있는  $\beta$ -lactam계 항생물질을 gas chromatography (GC)로 分析한 例들이 많다. 河合등<sup>1)</sup>은 페니실린류를 알칼리로 가수분해시켜 생성되는 유기산을 메칠에스테르화 시켜 분석하였으며, Mullen<sup>2)</sup>은 cephaloridine을 역시 알칼리로 처리하여 생성되는 pyridine을 分析함으로써 目的物質을 간접정량하였다. 페니실린류를 직접 분석하는 방법으로서 分子內 carboxyl基를 diazomethane으로 methyl ester化시키는 Evrard 등의 방법<sup>3)</sup>과 hexamethyl disilazane으로 silyl ester化 시키는 Hishta 등의 방법<sup>4)</sup>이<sup>5)</sup> 보고되어 있으며 이들은 모두 불꽃 이온화 검출기(FID)로 분석하였다.

市中에 판매되는  $\beta$ -락탐계 항생물질들은 대개가 Na-또는 K염으로 되어 있는 경우가 많다. 이들을 Evrard<sup>3)</sup> 또는 Hishta등<sup>4)</sup>의 방법으로 분석하고자 하면 황산암모늄등으로 유리 카복실산으로 한 다음 chloroform 또는 benzene등 유기용제로 추출하여야 한다. 그런데 유리형 페니실린이나 세팔로스포린 중 상당수(cloxacillin류나 cefazolin등)는 脂溶性 有機溶劑에 잘 용출되지 않는다. 따라서 저자들은 이러한 항생제들을 알칼리성에서 에스테르화 시키는 조작을 검토하여 前述한 단점을 보완하였다. 페니실린류와 세팔로스포린류는 分子구조내 유허원자가 함유되어 있으므로 이들을 검출할 때 유허원자에 感應度가 큰 FPD를 이용하여 양호한 결과를 얻었다.

### 實驗 方法

**材料**—페니실린류 및 세팔로스포린류는 모두 市販品을 사용하였다.

**試藥**—tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate(TBA-HSO<sub>4</sub>, E. Merck製)를 탄산 완충액(pH 9.0)에 녹여 0.1M이 되도록 하였으며, methyl iodide(E. Merck製)는 methylene chloride에 녹여 그 농도가 0.5M이 되도록 하였다. 기타 다른 시약은 모두 市販特級을 이용하였다.

**方法**—재료 약 10mg을 반응용기에 취하여 TBA-HSO<sub>4</sub>용액 2ml와 0.5M-CH<sub>3</sub>I용액 5ml를 가하고

25°C에서 때때로 교반하면서 약 2시간동안 반응시켰다. 상층액을 취하여 무수 염화칼슘으로 脱水시키고 질소가스로 유기용제를 완전히 날려 보낸 후 무수 methylene chloride 1ml에 녹여 GC 분석에 이용하였다.

### 實驗結果 및 考察

$\beta$ -lactam계 항생물질의 분자내 carboxyl기를 알칼리 용액 중에서 methyl iodide로 methyl ester化 시킨 후 지용성 용매로 추출하는 편이 Hishta등의 방법<sup>4)</sup>, 즉 遊離抗生物質을 지용성 용매로 추출하여 methyl ester化 시키는 조작보다 쉽고 대체적으로 추출효율이 좋았다.

페니실린과 세팔로스포린의 methyl ester 유도체들은 fluorinated silicone polymer인 QF-1을 不活性 담체인 Chromosorb WAW-DMCS에 입혀 충전한 column에서 쉽게 용출시킬 수 있었다(Table I). 그러나 QF-1을 Chromosorb W 또는 Chromosorb WAW에 입혀 충전한 column상에서 용출되지 아니하였다.

Table I에 나타난 바와 같이 위의 分析조건에서 methyl ester유도체중 몇가지들은 保持시간이 서로 유사하였다. 지자들은 含硫黃醫藥品을 分析할 때 일반적으로 널리 이용되는 FID에 비하여 尤淸원자에 대해 選擇性과 特異性이 높은 FPD의 感應度가 좋으며, 단 한개의 함유량 표준물질의 檢량선 만으로 여러가지 함유량의약품들을 定量할 수 있음을 보고한 바가 있다.<sup>5)</sup>  $\beta$ -락탐계 항생물질들을 GC-FPD로 신속간편하게 분석할 수 있을 것으로 생각된다.

Table I- Gas chromatography<sup>a)</sup> of methyl esters of penicillin and cephalosporin.

Antibiotics	Relative retention time	
	0.6% QF-1	0.9% QF-1
Phenoxymethyl penicillin	1.00 <sup>b)</sup>	1.00 <sup>c)</sup>
Benzyl penicillin	0.87	0.98
Carbenicillin	0.84	—
Cloxacillin	0.24	—
Carindacillin	0.88	—
Dicloxacillin	0.31	—
Floxacillin	0.22	—
Piperacillin	—	0.71
Cephalothin	—	0.90
Cephaloridine	—	0.70
Cefuroxime	—	1.24
Cephacetrile	—	0.88
Cefazolin	—	0.97

a) GC condition-instrument, Pye-Unicam GCV chromatograph and FPD with 394nm interference filter; column, a coiled glass column 4mm i.d.  $\times$  1.5m; support, Chromosorb WAW-DMCS (80~100mesh); flow rate, N<sub>2</sub> carrier gas 25ml/min, H<sub>2</sub> 3.5lb/in<sup>2</sup>, air 19lb/in<sup>2</sup>, purge air 30lb/in<sup>2</sup>; temperature, oven 200°, detector, 280°, injector 250°.

b) Retention time: 8.70min.

c) Retention time: 10.60min.

## 結 論

페니실린과 세팔로스포린을 알칼리성에서 methyl ester化 시킨 후 함유황화합물에 감도가 좋은 GC-FPD를 이용하여 양호하게 分析하였다. 본 실험 방법은 市販되는  $\beta$ -락탐계 항생물질들을 신속간편하게 분석하는데 적용할 수있을 것이다.

## 文 獻

1. 河合 聰, 橋場茂子, 分析化學, **13**, 1223(1964).
2. P.W. Mullen. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **7**, 85 (1974).
3. E. Evrard, M. Claesen and H. Vanderhaeghe, *Nature* **201**, 1124 (1964).
4. C. Hishta, D.L. Mays and M. Garofalo, *Anal. Chem.* **43**, 1530 (1971).
5. K.H. Kim, Y.H. Cho, M.K. Park, and W.K. Lee, *Arch. Pharm. Res.* **6**, 103 (1983).