

原子吸光光度法에 의한 리팜피신의 定量에 관한 연구

李 王 圭·金 博 光·柳 炳 起

서울대학교 약학대학

(Received June 11, 1985)

Studies on the Determination of Rifampicin by Atomic Absorption Spectrophotometry

Wang-Kyu Lee, Bak-Kwang Kim and Byung-Ki Ryu

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

Abstract—Rifampicin reacts with cupric ion to produce rifampicin-Cu(II) chelate (2:1) at pH 6.5, which can be extracted with methylisobutylketone (MIBK). Therefore, rifampicin can be quantitatively determined by measuring the quantity of Cu(II) in the organic phase by atomic absorption spectrophotometry. Because higher absorbance ratio was obtained in pH 6.0~7.0, buffer solution at pH 6.5 was used in this measurement. Linear relationship was found between absorbance and concentration in the range of $1.0\sim 4.0\times 10^{-4}$ M. This method might be applicable to the determination of rifampicin in the preparations.

醫藥品の 微量定量에 錯化合物形成 및 有機溶媒抽出을 利用한 分析法^{1,2,3)}은 이미 報告된 바 있다. 이번에는 抗結核劑로서 널리 쓰이는 醫藥品中の 하나인 리팜피신의 定量法을 檢討하였다. 리팜피신의 定量法으로는 比色法⁴⁾, 分光光度法⁵⁾, HPLC法⁶⁾ 등이 있으나 本實驗에서는 리팜피신이 cupric acetate와 結合하여 金屬 錯化合物을 形成하는 것을 利用하여 이 錯化合物을 methylisobutylketone (MIBK)로 抽出하여 Cu(II)를 原子吸光光度法으로 定量함으로써 리팜피신을 間接的으로 定量하는 方法을 檢討하였다. 그 결과 부형제와 pH의 영향이 적고 安定하고 分解產物과 反應하지 않고 回收率이 良好한 定量法을 얻었기에 이에 報告하고자 한다.

實 驗 方 法

試藥—리팜피신 (Sigma製) 標準液을 메탄올 (和光製 特級)에 녹여 1×10^{-4} M 용액을 調製한 후 必要에 따라서 이를 稀釋하여 使用하였다. cupric acetate 용액은 和光製 特級品을 脫이온수에 녹여 1×10^{-4} M로 조제하여 使用하였다. MIBK와 其他 試藥도 特級品내지 一級品을 使用하였다.

Table I—Standard conditions of atomic absorption.

Wavelength	324.7 nm
Lamp current	10 mA
Slit width	1.9 Å
Burner height	4 cm
Acetylene flow	2.5 l/min
Air flow	10 l/min

裝置—原子吸光光度計는 Shimadzu AA-63-011型을 使用하였고, 光源은 Hamamatsu TV製 Cu 中空陰極 램프를 使用하였다.

定量操作—100ml 分液깔대기에 $1.0\times 10^{-4}\sim 1.0\times 10^{-3}$ M의 리팜피신의 메탄올용액 5ml, 1.0×10^{-3} M Cu(Ac)₂ 용액 5ml, pH 6.5의 완충액 (NaAc+HAc) 5ml를 加하고 15ml의 MIBK를 加하여 5分間 진탕 혼합하고 10分間 靜置

하여 有機溶媒層을 分離한 후 수층을 MIBK로 2회 더 抽出하여 3회 抽出의 MIBK層을 舍하여 3000rpm에서 5分間 遠心分離하여 Table I 과 같은 條件에서 原子吸光度를 測定하였다.

實驗結果 및 考察

pH의 影響— $1.0 \times 10^{-4}M$ 리팜피신 메탄올용액에 $5.0 \times 10^{-4}M$ cupric acetate용액을 加하여 acetic acid-sodium acetate완충액 (pH 3~7)과 $Na_2HPO_4-KH_2PO_4$ 완충액 (pH 7.5~10)을 pH별로 각각 5ml씩 가하여 정량조작대로 실험한 結果 Fig. 1. 과 같았다. 본 실험에서는 pH 6.5의 acetic acid-sodium acetate완충액을 使用하였다.

銅(II)濃度の 影響— $1.0 \times 10^{-4}M$ 리팜피신 메탄올용액에 $1.0 \times 10^{-4}M$ cupric acetate용액을 加해 정량 操作대로 실험한 結果 銅의 濃도가 리팜피신濃도의 3배 이상일 때는 흡광도의 차이가 없었다(Fig. 2).

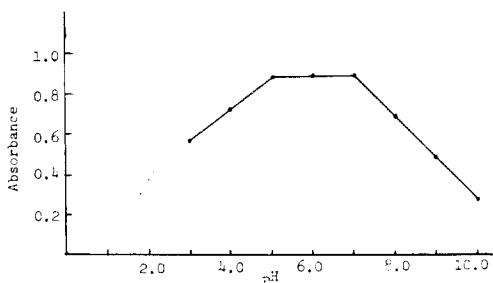


Fig. 1—Effect of pH on the extraction of the reaction product.

Rifampicin: $1 \times 10^{-4}M$, Cu(II): $5.0 \times 10^{-4}M$

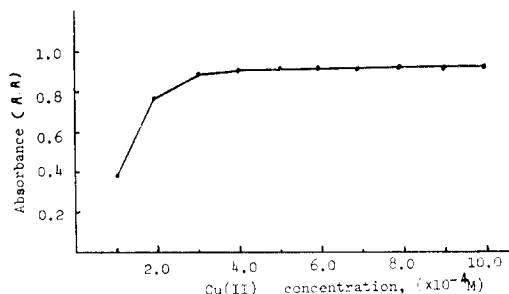


Fig. 2—Effect of metal concentration.

Rifampicin: $1.0 \times 10^{-4}M$, pH: 6.5

抽出時間과 抽出回數—抽出 진탕 시간을 1分에서 10分까지 검토한 결과 3分 이상에서는 吸光度가 일정하였다. 본 실험에서는 5分間 진탕하였다(Fig. 3). 또 추출 회수를 결정하기 위해 1~4 회까지 추출하여 흡광도를 검토한 結果 2회 추출로 만족하여 본 실험에서는 3회 추출하였다(Fig. 4).

反應生成物의 結合比—반응 생성물의 組成을 알기 위하여 連續變化法(Continuous variation method)을 利用하여 리팜피신—銅(II)의 結合비를 검토해 본 결과 Fig. 5에 나타난 바와 같이 리

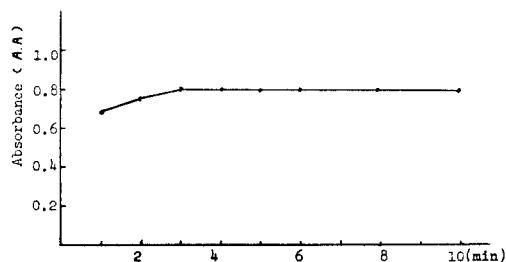


Fig. 3—Effect of shaking time.

Rifampicin: $1.0 \times 10^{-4}M$, Cu(II): $5.0 \times 10^{-4}M$, pH: 6.5

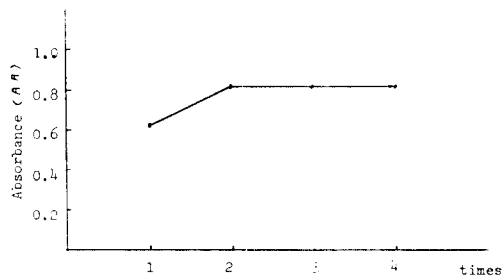


Fig. 4—Effect of extraction time.

Rifampicin: $1.0 \times 10^{-4}M$, Cu(II): $5.0 \times 10^{-4}M$, pH: 6.5

팜피신 : 銅(II) = 2 : 1 이었다.

經時變化—反應生成物을 시험관에 넣고 마개를 하여 상온에서 이틀간 방치한 후에 그 吸光度를 측정 한 결과 吸光度의 變化가 없었다. 리팜피신과 cupric acetate의 反應生成物은 매우 안정한

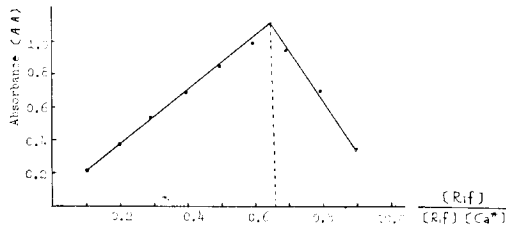


Fig. 5—Determination of composition of the reaction product by continuous variation method.
A : Rifampicin $1 \times 10^{-4}M$, B : Cupric acetate $1 \times 10^{-4}M$

화합물이라고 생각된다.

回收率 및 檢量線 作成—一定量操作法에 따라 조제한 여러가지 농도의 표준용액으로 회수율을 檢討한 결과를 Table II에 나타냈으며, 검량선은 Fig. 6에 나타냈다. MIBK에 의한 회수율은 99.8%로 대체로 양호하였다. 또 變異係數는 2.5%로 나타났다. 檢量線은 리팜피신의 농도가 $1.0 \sim 4.0 \times 10^{-4}M$ 의 범위에서 직선성이 일어졌다.

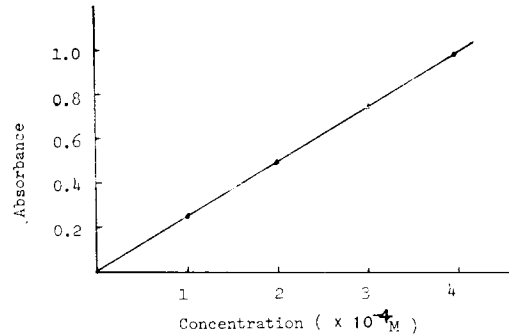


Fig. 6—Calibration curve by absorption spectrophotometry

Table II—Recovery of rifampicin.

Taken(mg)	Found(mg)	Recovery(%)
5.3	5.2	98.1
10.1	9.9	98.0
15.2	15.4	101.3
20.2	19.7	98.5
25.3	26.1	103.2
Mean value		99.8
Coefficient of variation		2.5

結 論

리팜피신을 銅(II) ion과 金屬錯化合物을 形成하여 有機溶媒로 추출하여 原子吸光光度法으로 定量할 수 있었다. 정량은 리팜피신의 농도가 $1.0 \sim 4.0 \times 10^{-4}M$ 에서 가능하였다. 리팜피신과 銅(II)ion과의 反應生成物은 즉시 生成되며, 매우 安定하였으며 그 結合比는 2:1로 나타났다. 본 실험 방법은 pH, 반응시간, 온도 등의 영향이 적어 리팜피신을 간편하게 定量할 수 있으며 재현성 및 회수율이 良好하므로 醫藥品の 品質 管理에 효과적으로 利用할 수 있을 것으로 사료된다.

文 獻

1. Y. Kidani, K. Inagaki, T. Saotome and H. Koike, *Bunseki Kagaku* **22**, 896 (1973)
2. E.G.C. Clarke, *Isolation and Identification of Drugs*. The Pharmaceutical Press (London) p.428 (1971).
3. G. Pitel and T. Luce, *Ann. Pharm. France* **23**, 673 (1965).
4. T.P. Gandhi, A. A. Patel, P.R. Patel and V.C. Patel, *Indian Drugs* **16**, 10(1978).
5. K.P.R. Chowdary and K.V.R. Murty, *Indian J. Pharm. Sci.* **44**, 29(1982).
6. B. Ratti, R. Parenti, A. Toselli and L.F. Zerilli, *J. Chromatogr.* **225**, 526(1981).