

## 고속액체 크로마토그래프법을 이용한 제제중 Aclatonium Napadisilate의 정량 및 함량균일성에 관한 연구

金冕鍾 · 朴世浩 · 盧會淑 · 金鑰柱 · 許才斗

일화기술연구소

(1985년 11월 24일 접수)

## High Performance Liquid Chromatographic Determination and Content Uniformity of Aclatonium Napadisilate Preparation

Myun Chong Kim, Sae Ho Pak, Hwoe Suk Roh, Yong Ju Kim and Jae Doo Huh

Il Wha Technical Research Institute

(Received November 24, 1985)

A convenient high performance liquid chromatographic method was established for the quantitative determination and content uniformity test of aclatonium napadisilate preparation. This method was more simple to make the sample solution for injection, and easy to determine the content in the preparation. Aclatonium napadisilate was chromatographed using a Lichrosorb-NH<sub>2</sub> column (4mm × 25 cm, and acetonitrile-water mixture (83:17) as an eluent at a flow rate of 1.8 ml/min. RI-detector response was linear over a range of 0.5~2.0% aclatonium napadisilate under above conditions. Reproducibility studies gave relative standard deviation of 1.29%.

aclatonium napadisilate는 漢方에서 빈용되는 갈근의 유효성분인 kassein R<sup>1-4</sup>)을 model로 하여 합성한 물질로서 소화관 운동 기능만 항진하고 위액분비에 거의 영향을 주지 않는 소화관 기능이상 치료제이다<sup>5)</sup>.

이 약물에 대한 정량법은 업소의 자가 기준 및 시험방법으로 산-알카리적정법이 설정되어 있을 뿐이며, 공인된 정량법은 보고된 바 없다.

산-알카리적정법은 그 조작에 많은 시간이 소요되며 data의 精度에도 문제점이 있으며 함량균일성시험<sup>6)</sup>에는 다량의 검체처리가 필요하게 되어 보다 진보된 정량법의 필요성이 요구되었다.

따라서 저자들은 시험방법의 간편성, 신속성, 정확성등을 고려하여 고속액체크로마토그래프법(HPLC)을 이용하여 aclatonium napadisilate 원료와 시판제제의 정량 및 함량균일성시험을 시도하였던 바 양호한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 실험방법

#### 재료 및 시약

aclatonium napadisilate캡셀(25mg 함유, 일본 D사제 및 국내 I사제 외 5종), aclatonium napadisilate표준품(도야마화학제), acetonitrile

(HPLC용) 및 증류수를 사용하였다.

### 장치 및 실험조건

Beckman HPLC 334를 사용하였으며 실험은 column:Lichrosorb-NH<sub>2</sub> (4mm×25cm, E. Merck), solvent:acetonitrile:redistilled water (83 : 17), flow rate:1.8ml/min, detector : RI(Shodex SE-11, Japan), attenuation: 8 ×, sample size:20μl 및 chart speed:0.5cm/min.의 조건으로 시행하였다.

### 정량법

aclatonium napadisilate 표준품을 105°에서 항량으로 건조하고, 약 25mg을 정밀하게 달아 5ml 메스플라스크에 넣고 acetonitrile-water 혼합액 (83 : 17)을 가하여 흔들어 녹이고 acetonitrile-water 혼합액으로 표선까지 채우고 섞어서 표준액으로 한다.

따로 시판 캡셀제 20캡셀을 취하여 그 내용물의 무게를 달고 aclatonium napadisilate 약 25mg에 해당하는 양을 정밀히 달아 5ml 메스플라스크에 넣고 acetonitrile-water 혼합액 소량을 가하여 20분간 진탕하여 추출한다. acetonitrile-water 혼합액으로 표선까지 채워 섞은 다음 Millipore filter (0.45μm)로 여과한 여액을 검액으로 한다.

표준액 및 검액을 각각 20μl씩 취하여 앞의 실험조건으로 액체크로마토그래피를 시행한 다음, 표준액과 검액의 peak 높이(H<sub>s</sub> 및 H<sub>T</sub>)를 측정하여, 다음 식에 의하여 aclatonium napadisilate의 함량을 계산한다.

aclatonium napadisilate (C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>)의 양(mg) = 표준품의 양(mg) × H<sub>T</sub>/H<sub>s</sub>

### 함량균일성 시험

aclatonium napadisilate 표준품을 105°에서 3시간 건조하고 약 25mg을 정밀히 달아 5ml 메스플라스크에 넣고 acetonitrile-water (83 : 17) 혼합액을 가하여 잘 흔들어 녹인 후, acetonitrile-water 혼합액으로 표선까지 채우고 진탕하여 표준액으로 한다.

따로 시판 aclatonium napadisilate 캡셀 (1캡셀당 25mg 함유) 1캡셀씩의 내용물을 각각의 5ml 메스플라스크에 넣고 acetonitrile-water

혼합액을 넣어 잘 흔들어 녹이고, 이 혼합액으로 표선까지 채우고 잘 흔들어 섞어 Millipore filter를 써서 여과한 여액을 검액으로 한다. 상기 표준액 및 검액을 가지고 정량법의 조작조건에 따라 시험한다.

aclatonium napadisilate (C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>)의 양(%) = C × H<sub>T</sub>/H<sub>s</sub> × 100/W,

C : 표준액의 농도(μg/ml)

W : 검액의 농도(μg/ml)

## 실험결과 및 고찰

### 이동상검토

Fig. 1은 동일한 실험조건에서 이동상인 acetonitrile-water의 혼합비율을 바꾸어 시도한 1.2~1.5% aclatonium napadisilate 용액의 크로마토그램이다. Fig. 2는 설정된 실험조건에서 얻은 aclatonium napadisilate의 크로마토그램이며 유지시간은 약 4분으로 나타났다.

이동상의 혼합비율에 있어서 88 : 12는 sharp한 크로마토그램으로 보이지만 유지시간이 너무 짧으므로 용매와 겹쳐질 우려가 있어 정량성이 희박하고 78 : 22에서는 유지시간이 너무 길며 sharp하지 못한 반면에 83 : 17에서는 비교적 알맞은 유지시간과 정확한 분리상을 나타내어 본 혼합비율을 이동상으로 선정하였다.

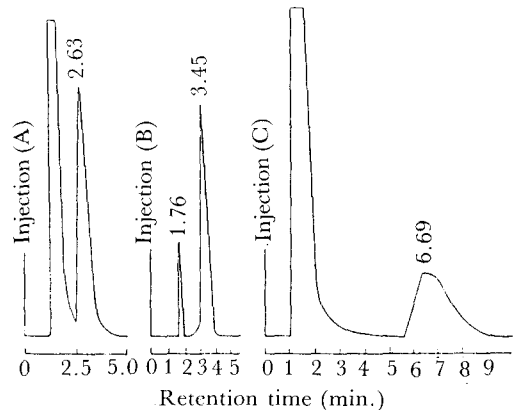


Figure 1 — Comparison of peak shape with mobile phase.

Key: (A), acetonitrile: water = 88:12; (B), acetonitrile : water = 83:17; (C), acetonitrile : water = 78:22

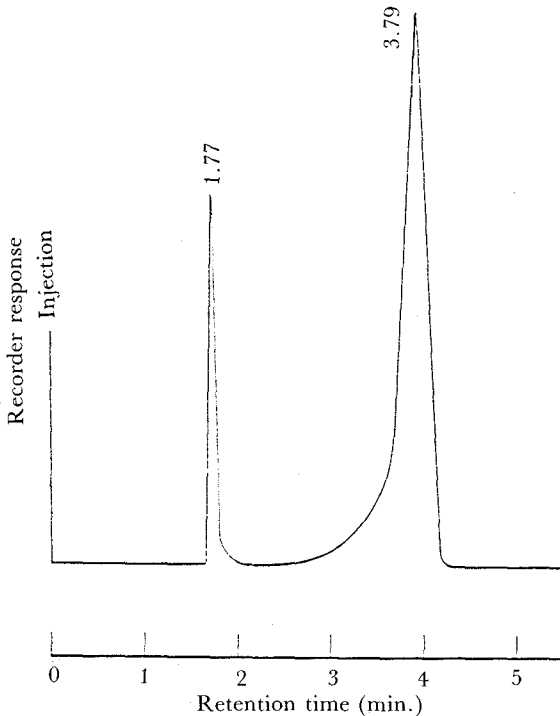


Figure 2 — Chromatogram of aclatonium napadisilate.

검량선 검토

Fig. 3은 aclatonium napadisilate 표준액 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0% 용액을 각각 20 $\mu$ l 씩 5회 注入하여 얻은 peak의 높이를 종축으로

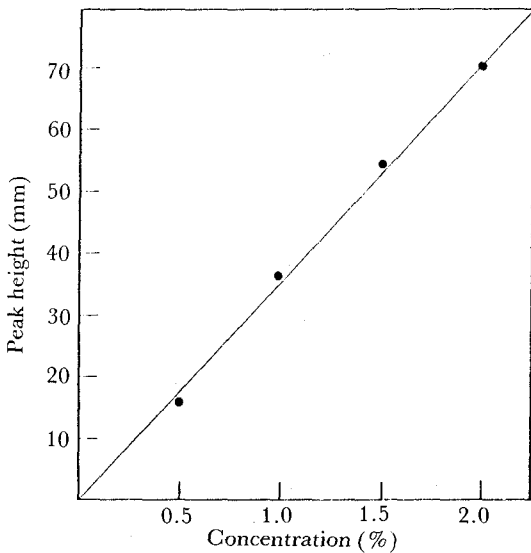


Figure 3 — Calibration curve for aclatonium napadisilate.

Table I — Reproducibility and Precision of HPLC.

1	Run (peak height)				Average	Std. Dev.	RSD (%)
	2	3	4	5			
36.00	35.15	36.01	35.03	35.50	35.538	0.4599	1.29

Table II — Recovery Data of Aclatonium Napadisilate.

1	Run (Content %)				Average (%)
	2	3	4	5	
100.0	105.9	102.9	100.0	100.0	101.76

하고 aclatonium napadisilate의 농도를 횡축으로 하여 plot한 것이다. 여기서 얻은 검량선은 원점을 통과하는 직선으로 5 $\mu$ g/ml~20 $\mu$ g/ml 범위내의 실험조건에서 정량성이 있음을 알 수 있다.

재현성 검토

Table I은 상기 정량조건에서 aclatonium napadisilate 1.0% 표준액을 20 $\mu$ g씩 5회 注入하여 얻은 peak의 높이를 나타낸 것이다.

상대표준편차는 1.29%로서 재현성이 있음을 알 수 있다.

회수율 검토

Table II는 옥수수전분 205mg에 aclatonium napadisilate 25mg을 첨가한 다음 정량법에 따라 시험하여 얻은 결과이다. 회수율은 101.76%로 비교적 정확성이 있음을 알 수 있다.

Fig. 4는 시판품에 대해 본 정량법에 따라 시험하여 얻은 크로마토그램이다.

standard에 의한 peak와 시판품 5종의 peak

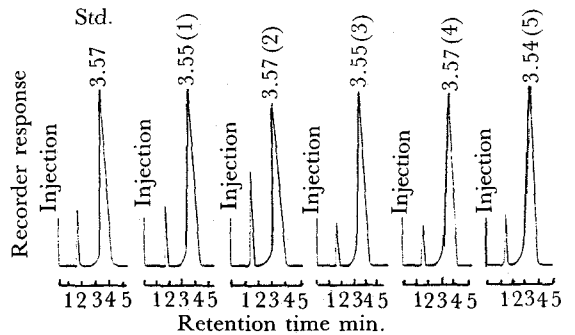


Figure 4 — Chromatogram of 5 marketed samples.

**Table III** - Content Uniformity of Aclatonium Napadisilate Preparations.

Sample No.	Assay (%)					$\bar{x}$	RSD (%)
1	100.0	105.9	102.9	100.0	100.0	101.75	2.05
	100.0	102.9	102.9	100.0	102.9		
2	94.1	100.0	88.2	91.2	91.2	94.39	0.13
	100.0	102.9	88.2	94.1	94.1		
3	105.9	100.0	100.0	97.1	100.0	99.13	3.91
	102.9	100.0	91.2	97.1	97.1		
4	100.0	100.0	91.2	105.9	97.1	100.31	5.25
	97.1	97.1	105.9	108.8	100.0		
5	102.9	94.1	97.1	97.1	94.1	97.06	4.16
	105.9	94.1	94.1	94.1	97.1		

로부터 정량성이 있음을 알 수 있다.

Table III은 시판되고 있는 2개 회사제품 5 Batch, 즉 sample No. 1은 일본 D회사의 제품 1 batch, sample No. 2~5는 국내 I회사의 제품 4 batch를 각각 10캡셀 씩을 취하여 함량균일성시험을 시행하여 나타낸 결과이다. sample No. 1에서 No. 5까지 5제품의 평균치는 각각 101.75, 94.39, 99.13, 100.31, 97.06%로서 비교적 회수율측정치에 접근하고 있으며 각 batch의 함량균일성은 그 상대 표준편차가 각각 2.05, 0.13, 3.91, 5.25 및 4.16%로서 비교적 양호하나 sample No. 4와 No. 5의 상대표준편차값이 다소 큰 것은 원료혼합과 중량 편차에 문제가 있는 것으로 생각된다.

5종 sample 모두 K. P. IV의 함량균일성시험 규정에 적합한 것으로 나타났다. 그러나 sample 2의 경우 10캡셀의 평균치가 94.39%로서 단일성분 캡셀제의 함량규정인 95.0~105.0%에는 약간 미달하지만 20캡셀의 내용물에서는 규정범위내에 들었다.

## 결 론

1. 이상과 같이 aclatonium napadisilate 및 그 제제를 정량하는 새로운 HPLC방법은 매우 정확하고 신속하였으며 조작법도 간편하여 그 활용이 크게 기대되었다.

2. 캡셀간의 함량균일성도 비교적 양호하였으며 회사간의 균일성도 비교적 양호하였다.

## 문 헌

- 1) 三浦考次 等, 應用藥理, 13(4), 569 (1977)
- 2) 城所 功 等, 医薬の向かう, 112(10), 640 (1980)
- 3) 伊藤 漸 等, 日本消化器病学会雑誌 76(7), 1449 (1979)
- 4) 杉山 貢 等, 基礎と臨床, 15(6), 5 (1981)
- 5) 杉山 讓 等, 臨床藥理 11(4), 619 (1981)
- 6) 대한약전, 제 4 개정, 文聖社, 1982
- 7) U. S. Pharmacopeia XXI, United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1985