

Picric acid를 전자수용체로 한 Phenothiazine계 화합물의 정량법

옥 치 완 · 신 태 용

원광대학교 약학대학

(Received July 23, 1987)

Spectrophotometric Determination of Phenothiazine Derivatives by using Picric acid as Electron Acceptor

Chi Wan Ock and Tae Yong Shin

College of Pharmacy, Won Kwang University, Shinyong-Dong, Iri, Korea

Abstract—A rapid and sensitive spectrophotometric method has been developed for quantitation of some phenothiazine derivatives (PTZDS). The method depends on the formation of insoluble yellow complexes between PTZDS and picric acid (PCA) in aqueous layer. These complexes are quantitatively extracted from aqueous phase into chloroform. The binding ratio of PTZDS-PCA complexes were presumed as PTZDS-1 to PCA-1 by means of mole ratio and continuous variation methods. The complexes are stable for more than 24hours in chloroform layer at room temperature. Most of compounds associated with pharmaceutical preparation of PTZDS do not interfere with this method. However, chlorpheniramine and diphenhydramine interfere with the method. The binding state of PTZDS-PCA complexes were presumed by IR and ¹H-NMR spectra as intermolecular hydrogen bonding.

항히스타민제로 널리 사용되고 있는 phenothiazine계 화합물의 정량법으로 많은 방법들이 보고되어 있으나 공정서에는 주로 비수적정법¹이 사용되어 있고 비색정량법으로 Van Urk's reagent 법¹, thiocyanatocobaltate(II)법², thiocyanatochromate(II)법³, tetrathiocyanatocobaltate(II)법⁴ Reinecke salt법⁵⁻⁶ 및 기타 방법⁷⁻¹⁷이 있으며, 또한 chloranilic acid¹⁸, Nitroso-R salt¹⁹, I₂²⁰⁻²¹, chloranil²² 등을 전자수용체로 한 charge transfer법, 산성색소에 의한 방법 등²³⁻²⁴이 보고되어 있다. Reinecke salt법은 복합제제의 경우 공존성분의 영향으로 방해받을 수 있으며, cobaltothiocyanate를 이용한 착체형성 및 산성색소에 의한 방법은 수층으로부터 착체의 용매추출시에 pH의존성이 크고 재현성도 좋지 않다. 이러한 점을 개선코저 저자는 보다 신속하고 pH의존성이 적고 재현성이 비교적 좋은 분석법으로서

picric acid를 전자수용체로 한 phenothiazine계 화합물의 분석법을 검토하였던 바 좋은 결과를 얻었으며, 생성된 착체에 대하여 IR 및 NMR spectrometry에 의해 구조식을 추정하였기에 보고하고자 한다.

실험방법 및 결과

시약—본 실험에 사용된 phenothiazine derivatives(PTZDS)는 chlorpromazine·HCl(CPZ), levomepromazine·HCl(LMZ), oxomemazine·HCl(OMZ), promethazine·HCl(PMZ), trimeprazine-tartrate(TMZ), thioridazine·HCl(TRZ)이며, 모두 USP reference standard를 사용하였고 picric acid(PCA)는 Katayama사의 특급시약이며, 완충용액은 pH 1.2; tartrate buffer, pH 2-7; citrate buffer, pH8; phosphate buffer, pH9~10; borate

buffer를 사용하였고 chloroform은 E. Merck 사제의 특급시약, 기타 시약도 이에 준하는 것들이다.

장치—pH meter; Orion Research사 Model 399A, UV; Gilford사 Response recording UV-Vis spectrophotometer, IR; Perkin Elmer사 IR 683 double beam spectrophotometer, Melting point apparatus; perkin Elmer사 DSC Thermal analyzer, NMR; Bruker사 NMR Spectrometer (80 MHz)를 사용하였다.

정량조작법—PTZDS 10^{-4} mol용액 5ml를 각 분액깔대기에 취하고 PCA 10^{-4} mol 용액 6ml를 가한 다음 chloroform 10ml로 1분 이상 흔들어 추출하여 분액깔대기의 stem에 여과지를 끼워서 chloroform층을 시험관에 분취하여 시료용액으로 하고 공시험에 의한 chloroform층을 대조액으로 최대흡수파장에서 흡광도를 측정하였다.

정량조건의 검토

1) 최대흡수파장—각 시료용액을 정량조작법에 따라 추출한 착체의 chloroform층을 200~400 nm에서 흡수 spectrum을 측정한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 최대흡수파장(λ_{max})은 CPZ, LMZ, PMZ, TMZ 및 TRZ는 344nm이고 OMZ는 336nm이었다.

2) 추출용매의 선택—일정한 농도의 각 표준액과 PCA용액의 혼합액에서 생성되는 PTZDS-PCA 착체들의 각 용매에 대한 추출율은 Table 1에서 보는 바와 같이 1,2-dichloroethane이 가장 높은 흡광도를 나타내었으나 경시변화가 있기

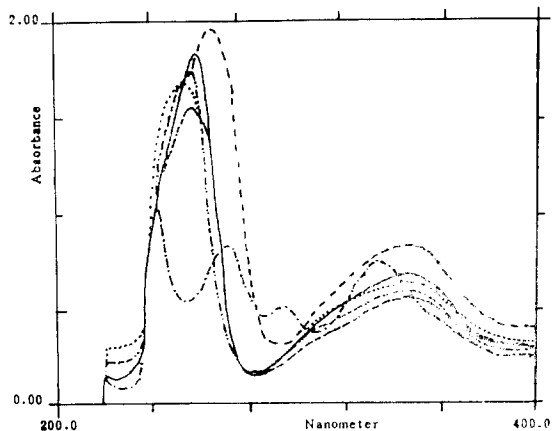


Fig. 1—Absorption spectra of PTZDS-PCA complexes in chloroform.

————— : CPZ-PCA complex.
 : LMZ-PCA complex.
 - · - · - : OMZ-PCA complex.
 - - - - - : PMZ-PCA complex.
 - · · · - : TMZ-PCA complex.
 - - - - - : TRZ-PCA complex.

Table I—Extractability test for solvents.

PTZDS solvents	CPZ				LMZ				OMZ			
	λ_{max}	Ab	As	A	λ_{max}	Ab	As	A	λ_{max}	Ab	As	A
Chloroform	344	0.002	0.691	0.689	344	0.002	0.639	0.637	336	0.002	0.747	0.745
1,2-dichloroethane	346	0.021	0.730	0.709	352	0.021	0.663	0.642	336	0.021	0.948	0.927
Dichloromethane	350	0.017	0.691	0.674	356	0.017	0.576	0.559	336	0.017	0.847	0.830
Benzene	340	0.015	0.475	0.460	336	0.015	0.589	0.574	340	0.015	0.566	0.551
Toluene	338	0.012	0.569	0.557	340	0.012	0.393	0.381	336	0.012	0.388	0.376
PTZDS solvents	PMZ				TMZ				TRZ			
	λ_{max}	Ab	As	A	λ_{max}	Ab	As	A	λ_{max}	Ab	As	A
Chloroform	344	0.002	0.583	0.581	344	0.002	0.555	0.553	344	0.002	0.812	0.810
1,2-dichloroethane	348	0.021	0.927	0.906	352	0.021	0.629	0.608	350	0.021	0.826	0.805
Dichloromethane	350	0.017	0.707	0.690	354	0.017	0.538	0.521	352	0.017	0.797	0.780
Benzene	340	0.015	0.574	0.559	340	0.015	0.440	0.425	340	0.015	0.681	0.666
Toluene	338	0.012	0.532	0.520	342	0.012	0.414	0.402	340	0.012	0.839	0.727

Ab: absorbance of reagent blank. As: absorbance of extracts.

The absorbances of extracts were determined at their λ_{max} using a corresponding pure solvents as a reference.

때문에 사용할 수 없었고 dichloromethane도 이와 유사하였으며, 추출된 착체의 chloroform 용액이 안정하고 흡광도가 비교적 높으므로 선택하게 되었다.

pH의 영향—PTZDS-PCA 착체가 생성될 때 물층의 pH에 따른 chloroform층의 흡광도 변화를 알기 위해 pH 범위 1.2~10으로 조절하여 정량법에 따라 시험한 결과 pH 2.0~5.5 사이에서는 흡광도치의 변화가 없었고 pH 2.0 이하에서는 흡광도치가 낮아졌고 pH 8.0 이상에서는 시료용액이 혼탁되었다.

PCA 농도의 영향—PCA의 농도변화에 따른 흡광도치를 알기 위해 정량조작법에 따라 PTZDS의 농도를 일정하게 하고(10^{-4} mol 5ml) PCA 용액(10^{-4} mol)의 첨가량을 1ml로부터 10ml까지 변화시켜가며 검토한 결과 5ml 이상에서는 일정한 흡광도를 나타내었으므로 충분량인 6ml를 가하였다.

흡광도의 경시변화—착체들의 chloroform 용액

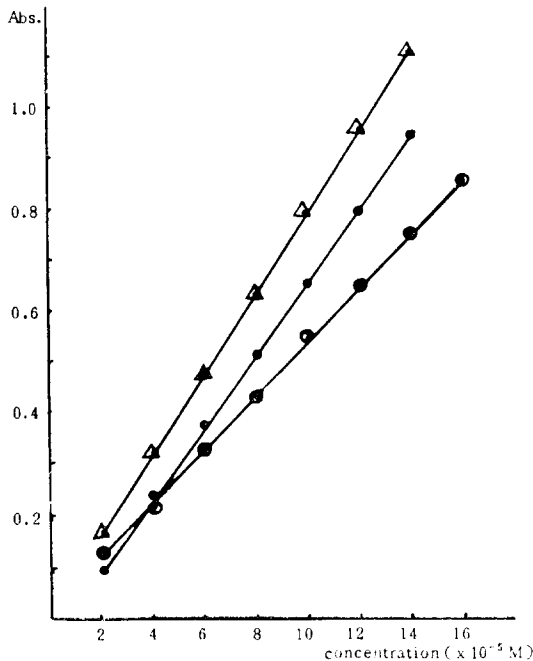


Fig. 2—Calibration curves of CPZ, LMZ and OMZ-PCA complexes in chloroform.

- : CPZ—PCA complex at 344nm.
- : LMZ—PCA complex at 344nm.
- △— : OMZ—PCA complex at 336nm.

의 방치시간에 따른 흡광도치의 변화를 측정할 결과 CPZ, LMZ, OMZ, PMZ, TMZ, TRZ의 착체들은 모두 실온에서 24시간 이상 일정하였다.

검량곡선—정량조작법에 따른 착체들의 검량선은 Fig. 2-3과 같다. 정색의 균일성을 검사하기 위해 5회 반복하여 정량조작을 하고 공시험액을 대조로 흡광도를 측정한 평균치에 의한 정량범위 및 분자흡광계수 등은 Table II와 같다.

공존물질의 영향—정량조작법을 일반제제분석에 응용하기 위해 공존물질에 대한 영향을 검토하였다. PTZDS의 약 32~75mg을 각각 달아 공존물질은 복합제제로 사용되고 있는 처방의 존재비이며, Table III에 표시된 비율로 가하고 증류수를 넣어 1l로 한 다음 정량하였다. 공존물질로서 acetaminophen 이외 14종은 정량조작법에 거의 영향을 주지 않으나 chlorpheniramine과 diphenhydramine은 영향이 있었다.

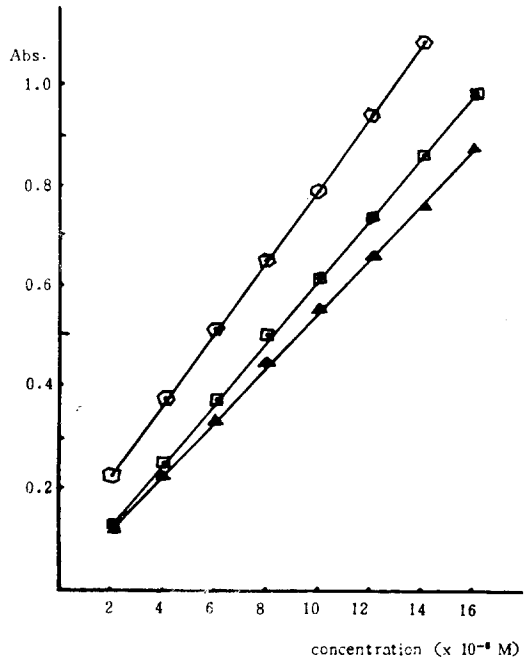


Fig. 3—Calibration curves of PMZ, TMZ and TRZ-PCA complexes in chloroform.

- : PMZ—PCA complex at 344nm.
- △— : TMZ—PCA complex at 344nm.
- : TRZ—PCA complex at 344nm.

Table II-Spectrophotometric results of PTZDS.

compound	Calibration range ($\mu\text{g/ml}$)	slope	intercept	*R	apparent molar absorptivity ($\times 10^3 \cdot \text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
CPZ	7.10~49.70	0.0679	-0.0397	0.998	6.85
LMZ	7.29~58.38	0.0536	0.0120	0.995	6.34
OMZ	7.34~51.37	0.0609	0.0132	1.000	7.45
PMZ	6.47~51.33	0.0620	0.0145	0.998	5.81
TMZ	14.97~104.97	0.0645	0.0172	0.998	5.53
TRZ	8.41~58.87	0.0812	0.1113	0.992	8.12

*R: Correlation.

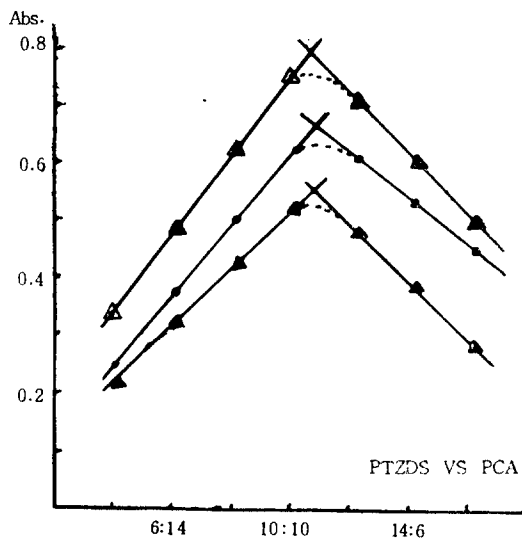
organic solvent: CHCl_3 **Table III**-Interference of coexisting drugs as a compound of prescriptions in forming complexes between PTZDS and PCA.

added drug	existing ratio	recovery (%)
CPZ	Caffeine anhydride 1:4	107
	Glucose 1:60	98
	Lactose 1:60	97
	Soluble starch 1:60	105
	Magnesium stearate 1:1	103
LMZ	Glucose 1:60	103
	Lactose 1:60	103
	Soluble starch 1:60	105
	Magnesium stearate 1:1	108
	OMZ	Guaifenesin 1:20
Sodium benzoate 1:20		140
Acetaminophene 1:20		96
Glucose 1:60		97
Lactose 1:60		95
Soluble starch 1:60		108
PMZ	Magnesium stearate 1:1	105
	Caffeine anhydride 1:1.5	98
	Sugar 1:0.5	107
	Ethyl alcohol 1:0.02	97
	Methylhydroxybenzoate 1:2	99
	Sodium saccharine 1:0.5	104
	Benzoic acid 1:2	106
	Citric acid 1:0.1	95
	Glucose 1:60	98
	Lactose 1:60	97
	Soluble starch 1:60	108
Magnesium stearate 1:1	103	
TMZ	S-Carboxymethylcysteine 1:40	89
	Glucose 1:60	106
	Lactose 1:60	101
	Soluble starch 1:60	96
TRZ	Magnesium stearate 1:1	99
	Glucose 1:60	107
	Lactose 1:60	97
	Soluble starch 1:60	101
TRZ	Magnesium stearate 1:1	102

착체의 검토

1) PTZDS-PCA 착체들의 제조 — PTZDS의 10^{-4}mol 수용액에 PCA의 10^{-4}mol 수용액을 1:0.9의 비로 가한 다음 생성된 착체를 chloroform으로 추출하고 chloroform을 날려보내고 증류수로 수회 세척하고 실온에서 건조후 methanol로 재결정하여 황색(CPZ, LMZ, TMZ는 Orange색)의 침상결정을 얻었다.

2) 착체들의 조성 — PTZDS 10^{-4}mol 용액 및 PCA 10^{-4}mol 용액으로 mol비법 및 연속변화법에 의한 조성비는 Fig. 4-7과 같이 PTZDS:PCA=1:1로 이루어져 있음을 추정할 수 있다.

**Fig. 4**—Continuous variation method of CPZ, OMZ and TMZ—PCA complexes in chloroform.

● : CPZ—PCA complex at 344nm.
 △ : OMZ—PCA complex at 336nm.
 ▲ : TMZ—PCA complex at 344nm.

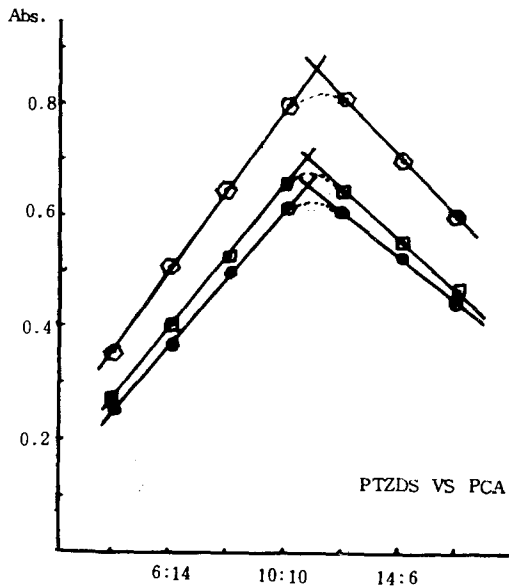


Fig. 5—Continuous variation method of LMZ, PMZ and TRZ-PCA complexes in chloroform.

—○— : LMZ-PCA complex at 344nm.
 —□— : PMZ-PCA complex at 344nm.
 —◇— : TRZ-PCA complex at 344nm.

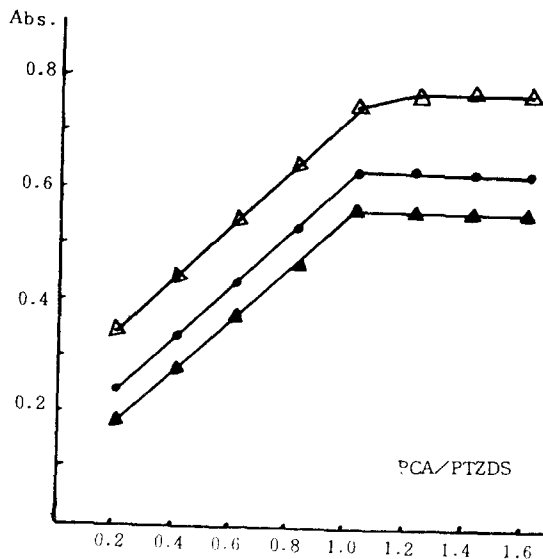


Fig. 6—Mole ratio method of CPZ, OMZ and TMZ-PCA complexes in chloroform.

—●— : CPZ-PCA complex at 344nm.
 —△— : OMZ-PCA complex at 336nm.
 —▲— : TMZ-PCA complex at 344nm.

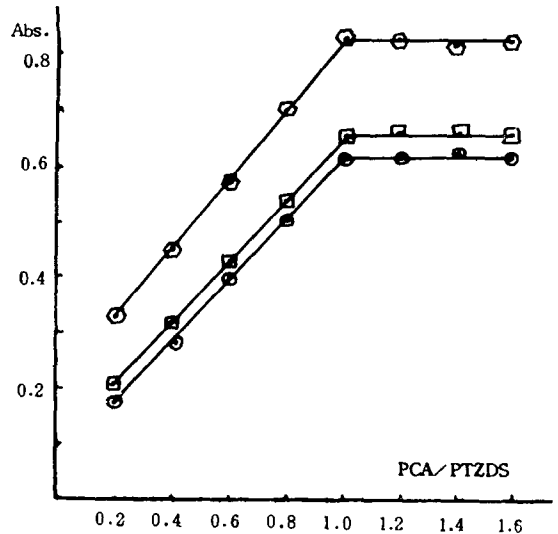


Fig. 7—Mole ratio method of LMZ, PMZ and TRZ-PCA complexes in chloroform.

—○— : LMZ-PCA complex at 344nm.
 —□— : PMZ-PCA complex at 344nm.
 —◇— : TRZ-PCA complex at 344nm.

3) 착체의 용점측정—앞서 말한 것과 같이 제조된 PTZDS-PCA 착체들을 다시 진공건조한 후 용점을 측정하였던 바 Table IV와 같다. 이것은 PTZDS에 비해 용점이 낮아졌다.

4) IR 및 $^1\text{H-NMR}$ spectra에 의한 착체들의 구조식 추정—IR spectra는 KBr disc법으로 측정하였으며, Fig. 8에서는 대표적으로 PMZ-PCA 착체의 IR spectrum을 나타내었으나 일반적으로 PTZDS-PCA 착체들의 spectra는 PCA spectrum에서 나타난 $1,350\text{cm}^{-1}$ 및 $1,540\text{cm}^{-1}$ 에서 ν_{asNO_2} 와 ν_{sNO_2} 의 intensity가 감소하고 PMZ, 혹은 PTZDS의 $2,400\sim 2,600\text{cm}^{-1}$ 의 ν_{NH^+} 이 intensity가 현저하게 감소하든지 또는 없어졌다. $3,100\text{cm}^{-1}$ 근처의 PCA의 ν_{OH} 에 의한 peak가 착체에서는 shift되어 있고 intensity가 감소하고 있으며

Table IV—Melting points of complex molecules consisting of PTZDS and PCA. ($^{\circ}\text{C}$)

CPZ-PCA	176.4	PMZ-PCA	154
LMZ-PCA	182.8	TMZ-PCA	134.1
OMZ-PCA	202.9	TMZ-PCA	100.8

3, 100~2, 000 cm^{-1} 의 분자간 수소결합으로 인한 NH^+ stretching의 peak가 나타나 있다.

$^1\text{H-NMR}$ spectra의 내부표준물질로 TMS를 용매는 CDCl_3 를 사용하였다. 대표적으로 PMZ-PCA 착체의 $^1\text{H-NMR}$ spectra를 Fig. 9에 나타내었으나 일반적으로 11.5ppm 부근의 broad한 peak는 phenol성 OH기가 있음을 나타내고 2.55~2.85ppm 부근에서 $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$ (TRZ에서는 N -

CH_3)의 singlet가 나타나고 있다. 이것은 IR spectra의 분자간 수소결합으로 인한 peak와 동일한 결과이다. 이러한 사실들로 보아 착체들은 PTZDS의 3급 aminonitrogen 원자와 PCA의 OH group 사이에 intermolecular hydrogen bonding이 이루어진 것으로 추정되며, 그 구조식은 Fig. 10과 같다.

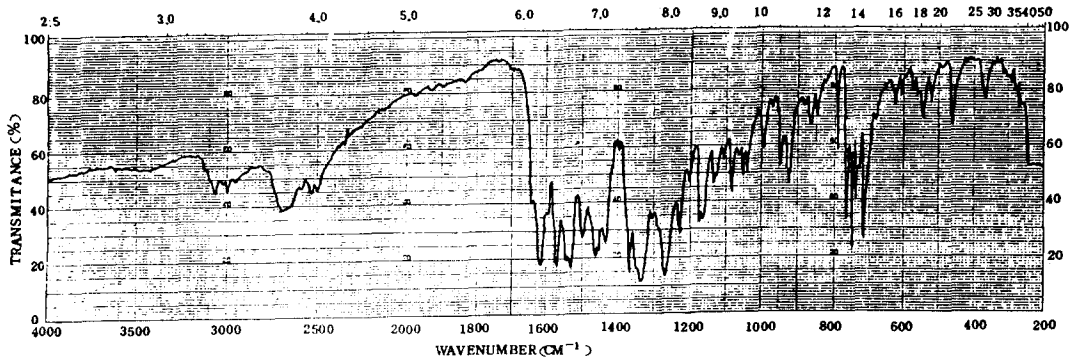


Fig. 8—IR Spectrum of PMZ—PCA complex.

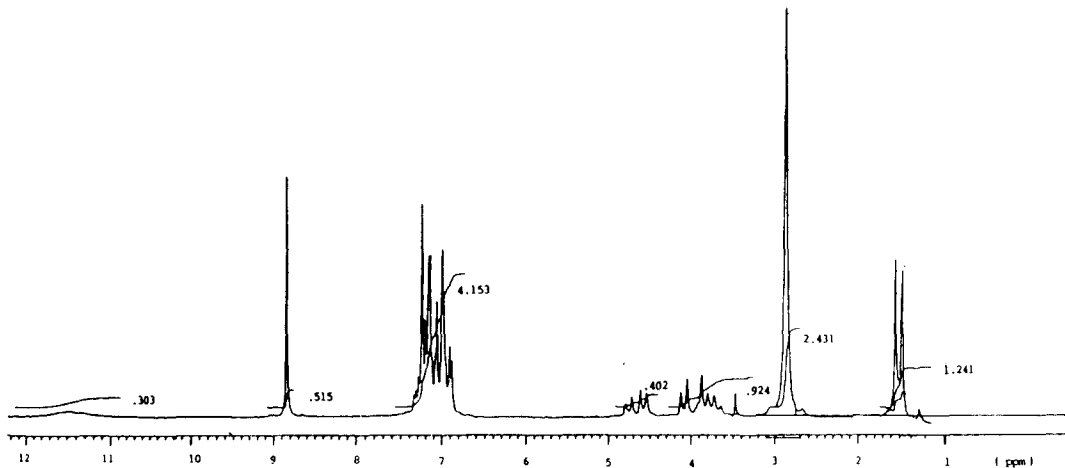
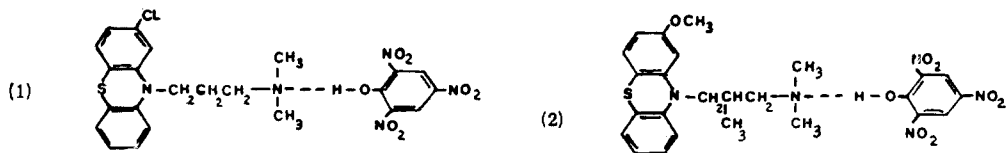


Fig. 9—NMR spectrum of PMZ—PCA complex.



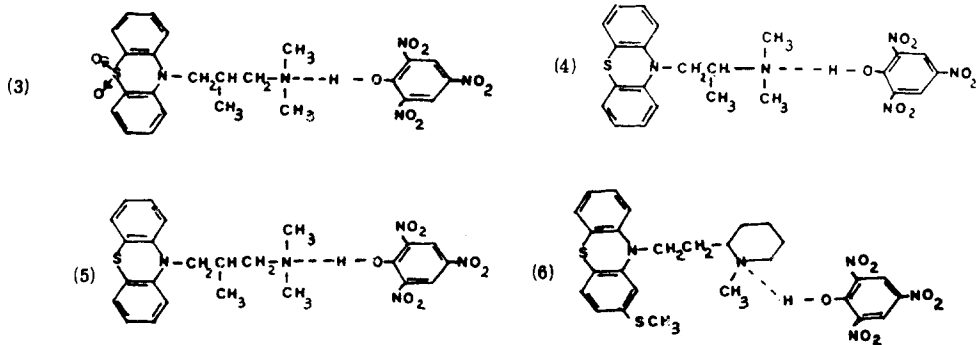


Fig. 10—Possible structures of PTZDS—PCA complexes.

- (1) CPZ—PCA complex. (2) LMZ—PCA complex.
 (3) OMZ—PCA complex. (4) PMZ—PCA complex.
 (5) TMZ—PCA complex. (6) TRZ—PCA complex.

결 론

1) PTZDS와 PCA간의 착체형성에 의한 용매 추출법으로 신속하고 재현성이 비교적 좋은 PTZDS의 정량법을 확립하였으며, 그 정량범위는 CPZ, OMZ 및 TRZ는 $2 \times 10^{-5} \text{M} \sim 1.4 \times 10^{-4} \text{M}$, LMZ, PMZ 및 TMZ는 $2 \times 10^{-5} \text{M} \sim 1.6 \times 10^{-4} \text{M}$ 에서 직선성을 나타내었다.

2) 이 착체들의 chloroform 용액의 최대 흡수 파장은 344nm(OMZ는 336nm)이었으며, CPZ, LMZ, OMZ, PMZ, TMZ 및 TRZ의 몰흡광계수는 6.85, 6.34, 7.45, 5.81, 5.53 및 $8.12 (\times 10^3 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$ 이었다.

3) Chloroform 중의 PTZDS-PCA 착체들의 결합비는 PTZDS:PCA=1:1이며, IR 및 $^1\text{H-NMR}$ spectra에 의하면 분자간수소결합을 이루고 있는 것으로 추정되고 이들의 구조식은 Fig. 10과 같다.

문 헌

- 1) Murty, B.S.R. and Baxter, R.M.: Spectrophotometric determination of chlorpromazine in pharmaceutical dosage forms, *J.Pharm. Sci.* **59**, 1010 (1970).
- 2) Tarasiewicz, M.: Assays of phenothiazine derivatives, *Acta Polon. Pharm.* **31**, 201 (1974).
- 3) Varhelyi, CS., Ganescu, I. and Boboc, L.: Thiocyanatochrom (III)-komplexe in der chemischen analyse, *Pharmazie* **29**, 348 (1974).
- 4) 嚴東玉: 3급 Amine鹽과 4급 Ammonium鹽의 Tetrathiocyanatocobaltate (II)에 의한 分析化學의 研究, 成大博士學位論文(1979).
- 5) Olech, A.: The determination of chlorpromazine and some phenothiazine derivatives by means of the Reinecke's Salt, *Acta Polon. Pharm.* **29**, 57 (1972).
- 6) Ortenblad, B. and Jonsson, K.: *Acta Chem. Scand.*, **5**, 510 (1951). CA: 45; 9801g.
- 7) Tarasiewicz, M. and Puzanowska-Tarasiewicz, H.: Studies on the determination of phenothiazine derivatives, *Acta Polon. Pharm.* **27**, 263 (1970).
- 8) Tarasiewicz, M. and Puzanowska-Tarasiewicz, H.: Kolorymetryczne Oznaczenie chlorpromazyny I Perazyny, *Farm. Pol.* **26**, 393 (1970).
- 9) Istvan, F. and Valeria, H.: Klorpromazine meghatatarozasa keszitmenyeiben, *Acta Pharm. Hung.* **27**, 152 (1957).
- 10) Rieder, H.P.: Einige spektrophotometrische charakteristika von phenothiazin und thioxanthenderivat, *Med. Exp.* **3**, 353 (1960).
- 11) Basinska, H., Puzanowska-Tarasiewicz, H. and Tarasiewicz, M.: Colorimetric determination of

- perfenazine, perazine and promazine with hydrogen peroxide, *Chem. Anal.* **15**, 405 (1970).
- 12) Davidson, A. G.: The determination of phenothiazine drugs in pharmaceutical preparations by a difference spectrophotometric method, *J. Pharm. Pharmac.* **28**, 795 (1976).
- 13) Meunier, J. and Viossat, B.: Action de la benzo-paraquinone sur les derives de la phenothiazine utilisees en therapeutique, *Ann. Pharm. Franc.* **26**, 429 (1968).
- 14) EL-Shabouri, S.R.: Determination of certain phenothiazine drugs with diazotized p-nitroaniline, *Talanta* **32**, 999 (1985).
- 15) Hussein, F.T., Ismaiel, S.A. and Gadel-Rub, L. N.: Colorimetric determination of some phenothiazine, *Pharmazie* **28**, 322 (1973).
- 16) Issa, A.S., Beltagy, Y.A. and Mahrous, M.S.: Spectrophotometric determination of some phenothiazine derivatives and opipramol with chloramine-T, *Talanta* **25**, 710 (1978).
- 17) 田中紀久代, 上釜兼人, 四柳智久, 池田 憲,: フェノチアジン系薬物とアルキルスルホン酸とのイオン對形成およびアルコール溶媒和, *藥學雜誌* **98**, 1236 (1978).
- 18) Zakhari, N.A., Rizk, M., Ibrahim, F. and Walash, M.I.: Determination of phenothiazines by charge-transfer complex formation with chloranilic acid, *Talanta* **33**, 111 (1986).
- 19) Jayarama, M., D'Souza, V., Yathirajan, H.S. and Rangaswamy,: Interaction of phenothiazines with nitroso-R salt and extractive spectrophotometric determination of phenothiazine drugs, *Talanta* **33**, 352 (1986).
- 20) Foster, R. and Hanson, P.: Electron-Donor-Acceptor complex formation by compounds of biological interest (I), *Biochim. Biophys. Acta.* **112**, 482 (1966).
- 21) Foster, R. and Fyfe, C.A.: Electron-Donor complex formation by compounds of biological interest (II), *Biochim. Biophys. Acta.* **112**, 490 (1966).
- 22) Saucin, M. and Van De Vorst, A.: On the electron donating properties of the major tranquilizers, *Biochem. Pharmacol.* **20**, 909 (1971).
- 23) Nybeg, L.: *J. Pharm. Pharmac.*, **22**, 500(1970). CA: **73**:64533r.
- 24) Pellerin, F., Gautier, J.A., Barat, O. and Demay, D.: *Chim. Anal.(paris)* **45**, 395 (1963). CA:**59**: 1189h.