

## 전하이동 착물형성에 의한 Ephedrine Alkaloids의 분석화학적 연구

옥 치 완 · 백 채 선\*

원광대학교 약대 · \*조선대학교 약대

(Received July 23, 1987)

### Spectrophotometric Determination of Ephedrine Alkaloids by Charge-Transfer Complexation

Chi Wan Ock and Chae Suen Baik\*

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

\*College of Pharmacy, Chosun University, Kwangjoo-500, Korea

**Abstract**—The weak UV absorbing ephedrine alkaloids such as ephedrine, pseudoephedrine, methylephedrine and norephedrine could be analyzed by charge-transfer spectrophotometric method. The results obtained are summarized as follows: (1) It was possible to determine a weak UV absorbing ephedrine alkaloids using the intense charge-transfer UV bands in chloroform. (2) This method was suitable for the spectrophotometric determination of ephedrine alkaloids in mixed pharmaceutical preparation. (3) Linear relationship was found between absorbance and concentration in the range of  $1.0 \times 10^{-5} \text{M} \sim 5 \times 10^{-5} \text{M}$  of ephedrine ( $\epsilon = 2.72 \times 10^4 \text{LM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) and pseudoephedrine ( $\epsilon = 2.84 \times 10^4 \text{LM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ),  $1.0 \times 10^{-5} \text{M} \sim 5 \times 10^{-5} \text{M}$  of methylephedrine ( $\epsilon = 1.68 \times 10^4 \text{LM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) and  $1/3 \times 10^{-4} \text{M} \sim 4/3 \times 10^{-4} \text{M}$  of norephedrine ( $\epsilon = 0.74 \times 10^4 \text{LM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ). (4) CT-complex of ephedrine, pseudoephedrine and methylephedrine has absorption maxima at 293nm and norephedrine have absorption maximum at 253nm. (5) CT-complexes were formed in a 1:1 ratio between ephedrine alkaloids and iodine in chloroform. (6) By UV, IR, and  $^1\text{H-NMR}$  spectra, it could be inferred that CT-complexes were formed by interaction between the basic nitrogen of ephedrine alkaloids as electron ( $n$ ) donor and iodine as electron ( $\sigma$ ) acceptor.

Ephedrine alkaloids인 ephedrine (EP), pseudoephedrine (PSE), methyl ephedrine (ME), norephedrine (NOR)은 sympathomimetic amine 화합물<sup>1)</sup>들로서 진해제, 산풍제, 항 allergy제 등으로 널리 이용되고 있는 약물이다. 이들 분자는 공통되게 hydroxyl propyl amino 구조를 갖고 있으며, UV흡수가 거의 없는 물질이기 때문에 대부분의 분석방법들은 chromatography법(TLC, 2,3) GLC, 4~7) HPLC<sup>3,8-13)</sup>으로 이루어져 있다. 그외에  $^{13}\text{C-NMR}$ 법<sup>3,14)</sup> 및 Isotachopheresis법<sup>15)</sup>들이 알려져 있으나 이들은 경비소요가 많고 조작이 번거로운 분체점들을 안고 있으며, 공정서 방법인 비수적정법<sup>16)</sup>과 그밖에 copper complex 또는 ion pair형성에 의한 비색법<sup>17-19)</sup>은 적정법

이 갖는 한계성과 Ion 대 또는 copper complex 형성을 위한 방해성분의 분리정제 등으로 인해 분석시간이 길어지고 재현성도 나빠지는 경우가 많다. 저자는 염기성 질소화합물인 ephedrine alkaloids 분석에 chloroform 중에서 iodine과 안전한 전하이동 착물<sup>20-23)</sup>을 형성시켜 ephedrine alkaloids 용액들의 UV흡수를 높여 흡광광도법으로 정량을 시도하였고 또한 전하이동 착물형성에 있어 선택성이 높아 이들 제제 분석에도 응용이 가능하였으므로 보고하고자 한다.

### 실 험 방 법

시약—Ephedrine base, ephedrine hydrochloro-

ride, pseudoephedrine base, pseudoephedrine hydrochloride, norephedrine base, norephedrine hydrochloride, methylephedrine base, methylephedrine hydrochloride(이상 sigma)와 iodine(E. Merck)은 특급시약을 사용하였고 NaOH, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , chloroform, 1,2-dichloroethane, ether, hexane, ethanol, carbontetrachloride(이상 Wako)와 그의 다른 시약들도 모두 특급시약을 더 이상 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

**실험장치 및 조건**—UV-spectra는 Shimadzu UV-240 (Graphicord)을 IR-spectra는 KBr disc 법으로 Shimadzu IR-440을 이용해서 얻었으며,  $^1\text{H-NMR}$  spectra는 Bruker FT 80-SY를 이용하여 목적물질들을  $\text{CDCl}_3$ 에 녹여 tetramethylsilane (TMS)을 내부표준물질로 삼아 측정하였고 X-ray diffraction spectra는 Rigaku사제 Geigerflex 형으로 DSC thermogram과 열역학적 data는 Mettler TA 3000 system을 이용하여 얻었다.

**시료용액의 조제**—각 ephedrine alkaloids (ephedrine·HCl, pseudoephedrine·HCl, methylephedrine·HCl, norephedrine·HCl)의  $10^{-3}\text{M}$ 되는 무게를 칭칭하여 분액 깔대기에 넣고 NaCl 포화수용액 5ml와 N-NaOH 10ml를 가하여 녹이고 유리된 염기를 chloroform 25ml씩으로 4회 추출하여 추출액은 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 가 들어 있는 glass filter (3G4)를 통해서 100ml 용량 flask에 모아 넣고 chloroform으로 표선을 맞추어 시료용액으로 하였다.

**정량조작법**—ephedrine alkaloids의 각 시료용액 ( $10^{-3}\text{M} \sim 10^{-5}\text{M}$ ) 5ml와 Iodine ( $10^{-3}\text{M} \sim 10^{-5}\text{M}$ ) 5ml를 10ml 용량 flask에 취하여 혼합하고 10분간 방치한 다음 chloroform용액을 대조액으로 하여 EP, PSE, ME는 293nm 및 360nm에서 NOR는 253nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

### 실험결과 및 고찰

전하이동 착물의 흡수곡선—각 ephedrine alkaloids와 iodine 간에 형성된 charge transfer (CT)-complex의 가치, 자외부 영역에서의 absorption spectra는 Fig. 1~4와 같이 ephedrine

alkaloids와 Iodine이 각각 단독으로 존재시에는 거의 UV 흡수가 없었으나 CT-complex의 형성에 의해 흡광도가 크게 증가되어 전혀 새로운 흡수곡선을 나타내었다. 이 UV 흡수 곡선들의  $\lambda_{\text{max}}$ 는 EP, PSE, ME는 293nm, NOR는 253nm이었으며, 이들의 CT-complex 형성에 의한 UV 흡수 특성을 요약하면 Table I과 같다.

전하이동 착물형성을 위한 용매선택—각 ephedrine alkaloids 일정량에 대해 여러가지 유기용매를 매질로 하여 CT-complexation시켜 각 complex의  $\lambda_{\text{max}}$ 에서 흡광도를 측정하여 Table II와 같은 결과를 얻었다. 이에 따라 본 실험에서는 chloroform 중에서 CT-complex를 형성시키

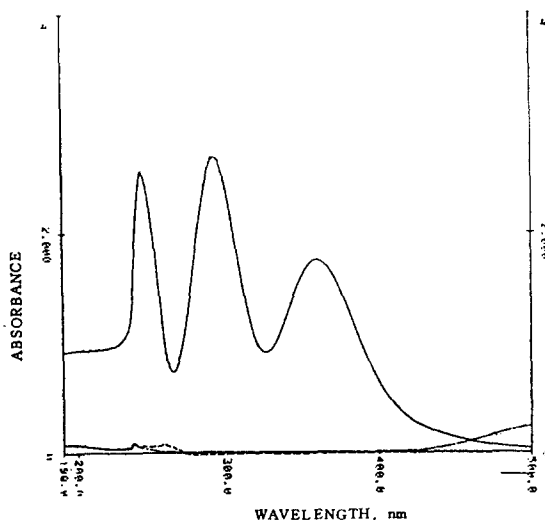
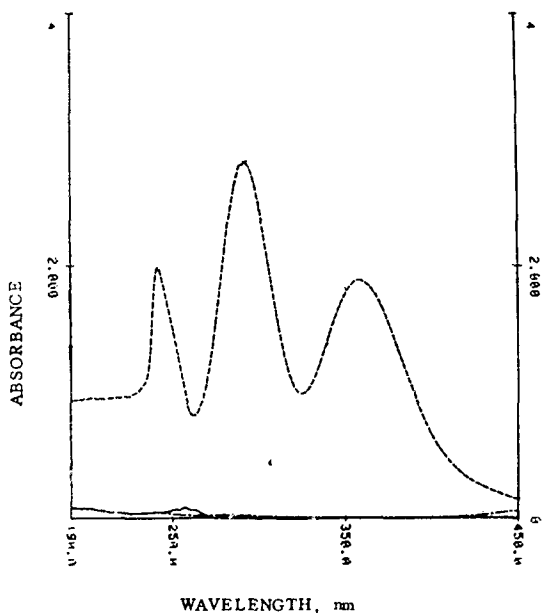


Fig. 1—Absorption spectra of iodine complexed and uncomplexed ephedrine in chloroform.

— : Iodine complexed ephedrine  
 ..... : Ephedrine    - · - · : Iodine

Table I—UV characteristic of ephedrine alkaloids

CT Complexes of ephedrine alkaloids	Solvent	$\lambda_{\text{max}}$ , nm	$\epsilon$ ( $\text{LM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )
Ephedrine-Iodine	Chloroform	293	$2.72 \times 10^4$
		360	$1.76 \times 10^4$
Pseudoephedrine-Iodine	Chloroform	293	$2.84 \times 10^4$
		360	$1.92 \times 10^4$
Methylephedrine-Iodine	Chloroform	293	$1.68 \times 10^4$
		360	$1.01 \times 10^4$
Norephedrine-Iodine	Chloroform	253	$0.74 \times 10^4$



**Fig. 2**-Absorption spectra of iodine complexed and uncomplexed pseudoephedrine in chloroform.  
 ..... : Iodine complexed pseudoephedrine.  
 — : Pseudoephedrine.      - - - - : Iodine.

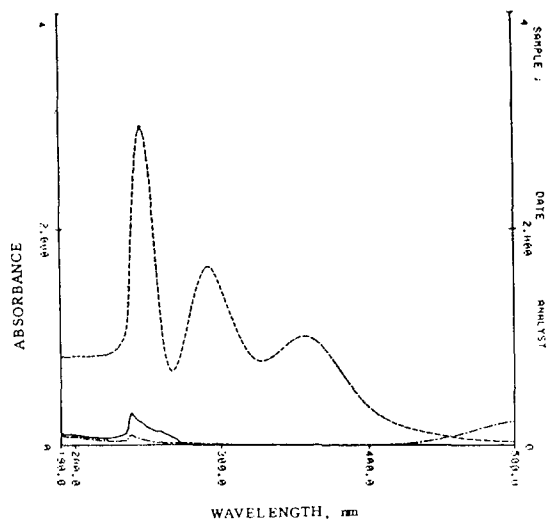
게 되었다.

**NaOH 농도의 영향**—각 ephedrine alkaloids의 염산염의 농도를 일정하게 하고 정량조작법에 따라 N-NaOH시액의 첨가량을 1ml로부터 10ml 까지 변화시키면서 검사하였던 바 3ml 이상에서 일정한 흡광도를 나타내었다. 따라서 본 실험에서는 충분한 양인 N-NaOH 10ml를 가했다.

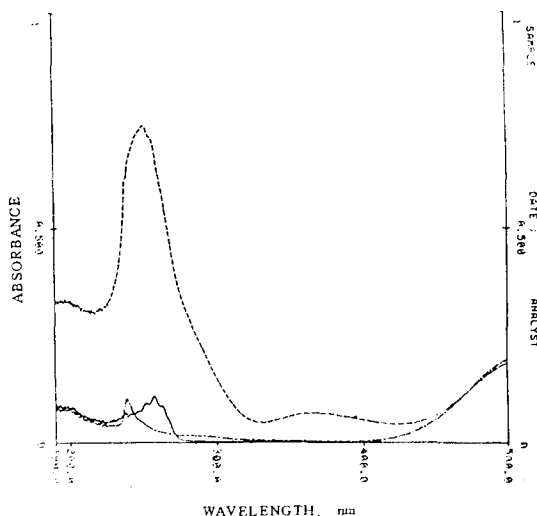
**온도 및 방치시간의 영향**—각 반응온도(10°C, 25°C, 40°C)에서 정량조작을 한 후 5, 10, 15, 20, 30분 동안 방치시켜 얻어진 각 시료의 흡광

**Table II**-Effect of organic solvents in charge transfer complexation.

Solvent	Absorbance			
	EP	PSE	NOR	ME
Chloroform	0.391	0.439	0.364	0.458
1,2-Dichloroethane	0.150	0.105	0.098	0.125
Ether	0.000	0.000	0.000	0.000
Carbontetrachloride	0.088	0.090	0.050	0.097
Benzene	0.000	0.001	0.000	0.000



**Fig. 3**-Absorption spectra of iodine complexed and uncomplexed methylephedrine in chloroform.  
 ..... : Iodine complexed methylephedrine.  
 — : Methylephedrine.      - - - - : Iodine.



**Fig. 4**-Absorption spectra of iodine complexed and uncomplexed norephedrine in chloroform.  
 ..... : Iodine complexed norephedrine.  
 — : Norephedrine.      - - - - : Iodine.

도를 비교해 본 바 10°C에서는 20분부터, 25°C에서는 3분부터 흡광의 도안정치를 보여 주었으나 40°C 이상에서는 흡광도치의 변화가 생기므로 본 실험에서는 상온에서 10분간 방치한 다음

흡광도를 측정하였는.

전하이등 착물에 대한 검토

a) 연속변화법 및 Mole비법—각 ephedrine alkaloids(EP, PSE, ME, NOR)와 Iodine의 chloro-

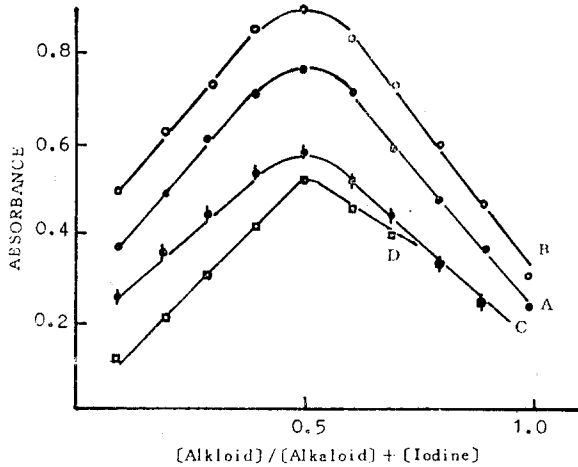


Fig. 5-Continuous variation plots of ephedrine alkaloids to iodine.

- A: EP+I at 293nm ●
- B: PSE+I at 293nm ○
- C: ME+I at 293nm ■
- D: NOR+I at 253nm □

form 중에서의 CT-complexation에 있어 결합비를 연속변화법 및 Mole 비법에 의해 검토하였던 바 Fig. 5~6에서 보는 바와 같이 1:1의 결합비를 나타내었다.

b) IR-spectra-EP, PSE, ME, NOR의 각 base와 이들의 CT-complex spectrum을 비교한 바 대

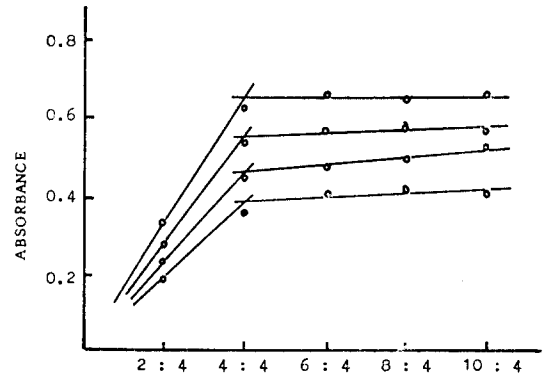


Fig. 6-Mole ratio plots of ephedrine alkaloids to iodine.

- A: EP+I at 293nm
- B: PSE+I at 293nm
- C: ME+I at 293nm
- D: NOR+I at 253nm

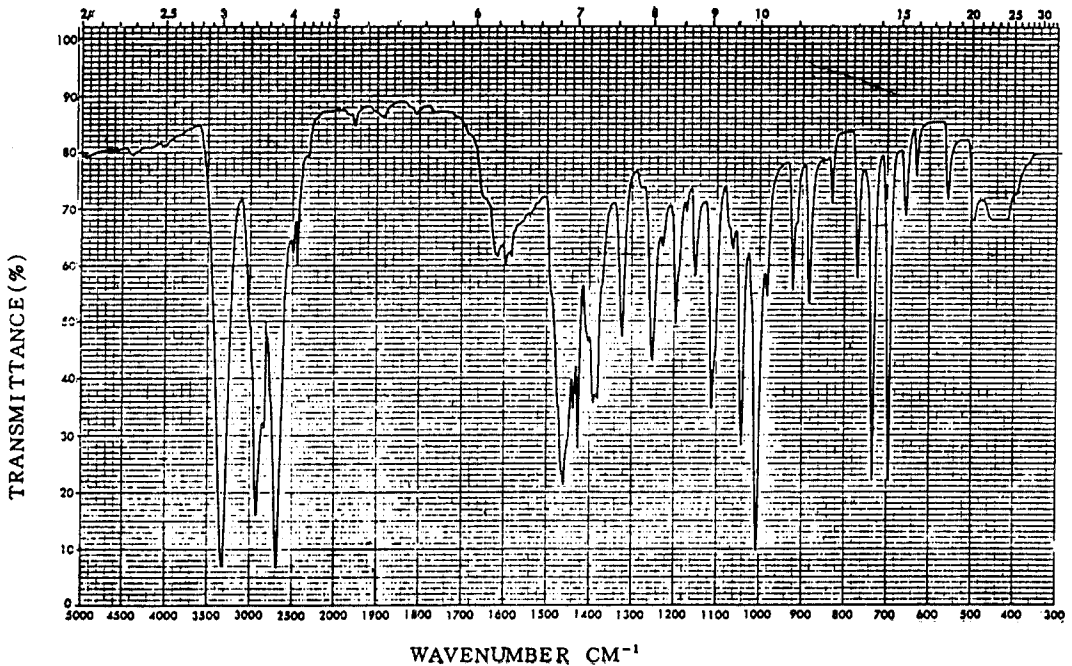


Fig. 7-IR spectrum of methylephedrine-iodine complex,

표적으로 Fig. 7에서 나타낸 methylephedrine-iodine complex에서 보는 바와 같이 원래 각 base의 spectrum은  $3100\sim 3500\text{cm}^{-1}$ 에서  $\nu_{\text{H-C-OH}}$ , aromatic ring의  $\nu_{\text{CH}}$  및  $\nu_{\text{NH}}$  peak를 나타내었으나 CT-complex의 형성으로 전반적인 spectrum의 변화가 있었고, 특히  $1360\sim 1250\text{cm}^{-1}$ 에서 aromatic amine의  $\nu_{\text{CN}}$  peak의 shift를 볼 수 있으므로 alkaloid의 basic nitrogen 위치가 Iodine과 결합하는 부위로 추정되었다.

c)  $^1\text{H-NMR}$  spectra—Ephedrine alkaloids의 각 base와 이들의 CT-complex의 proton NMR-spectra는 internal standard로 tetramethylsilane을 사용하여 deuterated chloroform 중에서 얻었으

**Table III**—Chemical shifts in  $^1\text{H}$  NMR spectra of ephedrine alkaloids and their CT-complexes.

Compound	Chemical Shifts, ppm		
	Aromatic proton	Benzylic proton	Methine proton adjacent to nitrogen
Ephedrine	7.31	4.78	2.49
Ephedrine-iodine	7.25	5.75	2.82
Pseudoephedrine	7.32	4.12	2.43
Pseudoephedrine-iodine	7.35	4.46	2.62
Methylephedrine	7.30	4.96	2.34
Methylephedrine-iodine	7.50	5.25	2.90
Norephedrine	7.33	4.62	2.48
Norephedrine-iodine	7.31	4.53	1.00

며, chemical shift별로 정리하면 Table III에서와 같이 CT-complex형성으로 인해 base spectrum에 비하여 현저한 차이점을 보여주었고, 특히 methylamino group에 인접한 hydrogen의 protonation과 Nitrogen에 인접한 methine proton의 큰 shift로 보아 ephedrine alkaloids의 basic nitrogen 부위에 iodine과 전하수소가 일어난다는 사실을 뒷받침해 주었다.

**Table IV**—Absorbances of ephedrine alkaloids and other compounds by forming CT-complexes with iodine in chloroform.

Compounds	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbance		
		253nm	293nm	360nm
Ephedrine	20	—	0.699	0.476
Pseudoephedrine	20	—	0.710	0.488
Methylephedrine	15	—	1.092	0.765
Norephedrine	20	0.364	—	—
Acetaminophen	200	0.002	0.003	0.000
Salicylamide	200	0.013	0.011	0.004
Aspirin	200	0.005	0.001	0.001
Caffeine	200	0.529	0.435	0.008
Theophylline	200	0.058	0.029	0.001
Tetracycline	200	0.004	0.000	0.001
Cloxacillin	200	0.000	0.000	0.000
Antipyrine	200	1.601	1.189	0.019
Bromhexine	200	1.051	0.389	0.126
Ascorbic acid	200	0.000	0.000	0.000
Thiamine	200	0.001	0.000	0.000
Riboflavin	200	0.002	0.001	0.000

**Table V**—Recovery percents of ephedrine alkaloids in mixed preparations by quantitation process.

	Sample A				Sample B			
	EP	PSE	NOR	ME	EP	PSE	NOR	ME
	102.12	100.51	99.96	98.97	99.95	101.40	100.32	98.79
	99.49	102.05	100.12	103.67	101.55	99.97	98.99	100.70
	99.97	99.97	101.03	99.89	98.99	100.98	99.95	99.86
	108.97	99.89	99.91	101.50	100.90	99.90	100.94	99.79
	99.97	103.33	100.35	100.02	99.78	99.94	100.01	100.56
$\bar{X}(\%)$	102.10	101.15	100.27	100.81	100.23	100.26	100.04	99.94

Sample A: Acetaminophen 300mg, Riboflavin 20mg, Starch 200mg, Ephedrine alkaloids 200mg

Sample B: Salicylamide 500mg, Vitamin C 50mg, Starch 200mg, Ephedrine alkaloids 200mg

**공존약품의 영향**—Ephedrine alkaloids와 상용되는 12종의 공존약품에 의한 영향을 검사해 본 결과 Table IV에서와 같이 대부분의 공존약품이 정량조작법에 영향을 주지 못했으나 ephedrine과 pseudoephedrine 분석에 bromhexine이 norephedrine 분석에서는 bromhexine, antipyrine 및 caffeine이 다소 방해작용을 하였다.

**조제시료에서의 회수율**—Table V에서와 같이 조제시료 A, B에 각 ephedrine alkaloids 200mg씩 함유되게 조제하여 정량조작법에 따라 실험한 결과 99% 이상의 회수율을 얻을 수 있었다.

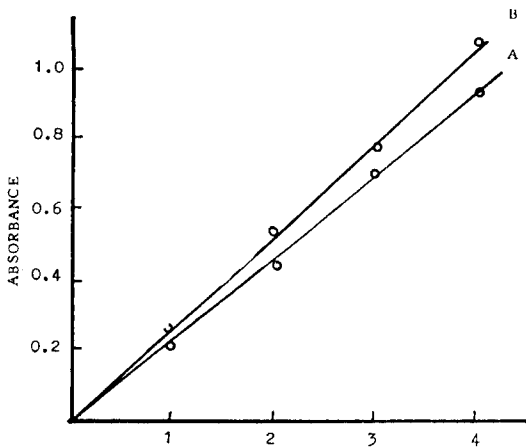


Fig. 8—Calibration curves of CT-complex of ephedrine (A) and pseudoephedrine (B) at 293nm.

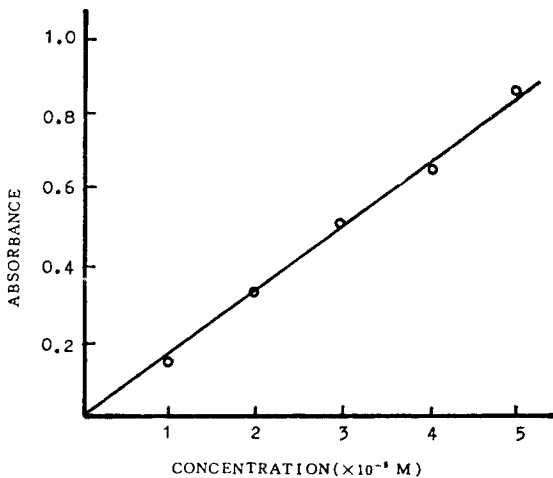


Fig. 9—Calibration curve of CT-complex of methylephedrine at 293nm.

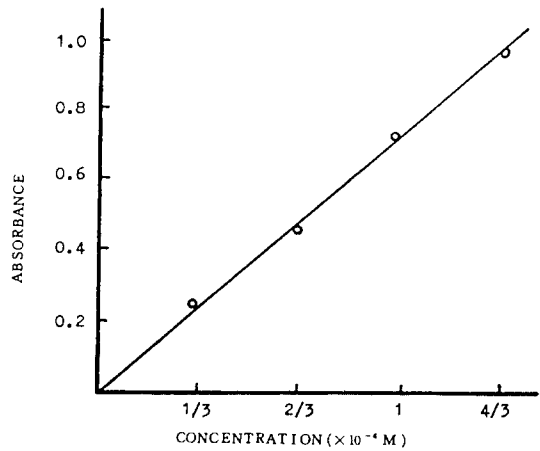


Fig. 10—Calibration curve of CT-complex of norephedrine at 253nm.

**검량선의 작성**—정량조작법에 따라 여러가지 농도의 표준용액으로부터 작성한 검량선은 Fig. 8~10에서와 같이 ephedrine·HCl과 pseudoephedrine·HCl은  $1 \times 10^{-5}$ M~ $4 \times 10^{-5}$ M, methylephedrine·HCl은  $1 \times 10^{-5}$ M~ $5 \times 10^{-5}$ M 및 norephedrine·HCl은  $1/3 \times 10^{-4}$ M~ $4/3 \times 10^{-4}$ M의 농도범위에서 직선성을 나타내었다.

## 결 론

전하이동 착물(charge transfer complex)이 갖는 선택성으로 ephedrine alkaloids분석의 문제점들을 개선하고자 이들을 iodine으로 CT-complex를 형성시켜 UV-spectrometry로 정량법을 확립하고 제제분석에 대한 활용방안을 모색하였으며 UV, IR,  $^1$ H-NMR spectra에 의해 분자구조 특성을 연구하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) UV흡수가 매우 약한 ephedrine alkaloids는 iodine과 chloroform 중에서 안정한 charge transfer complex를 형성하여 흡광도를 현저하게 증가시키므로써 정량가능하였고 Mole비법 및 연속변화법에 의하면 각 ephedrine alkaloids와 iodine 간의 결합비는 1 : 1이었다.

2) ephedrine과 pseudoephedrine은 293nm에서  $1 \times 10^{-5}$ M~ $4 \times 10^{-5}$ M( $\epsilon_{ep}=2.72 \times 10^4$  l mol $^{-1}$ cm $^{-1}$ ,

$\epsilon_{pse}=2.84 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), methylephedrine은 293nm에서  $1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ M}$  ( $\epsilon_{me}=1.68 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), Norephedrine은 253nm에서  $1/3 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 4/3 \times 10^{-4} \text{ M}$  ( $\epsilon=0.74 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )의 농도범위에서 직선성을 나타내었다.

3) 공존약물에 대한 영향에 있어 선택성이 비교적 높고 복합제제에서의 회수율실험에서 99% 이상의 좋은 결과를 보여줌으로써 일반제제 분석에 적용할 수 있었다.

4) UV, IR,  $^1\text{H-NMR}$  spectra에 의해 ephedrine alkaloids와 iodine 간의 CT-complex는 ephedrine alkaloids의 basic nitrogen이 lone pair(n) electron의 donor로서 작용하고 iodine은 electron ( $\sigma$ ) acceptor로서 상호작용하므로써 형성되었음을 추정할 수 있었다.

## 문 헌

- 1) Pelletier, S.W.: *Chemistry of the Alkaloids*, Van Nostrand Reinhold Co., New York, p. 24 (1970).
- 2) Hundson, J.C. and Rice, W.P.: Rapid detection of some basic drugs by thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.* **117**, 449 (1976).
- 3) Barkan, S., Weber, J.D. and Smith, E.: Determination of cross-contamination of the diastereomers ephedrine and pseudoephedrine by high-performance liquid chromatography, thin-layer chromatography and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Chromatogr.* **219**, 81 (1981).
- 4) Kazuo, Y., Kikuko, F., Minoko, S., Kazuko, O., Michiyo, Y. and Osamu, T.: Separation and quantitative analysis of ephedra alkaloids by gas chromatography and its application to evaluation of some ephedra species collected around himalaya. *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 2898 (1974).
- 5) Midha, K.K., Cooper, J.K. and Mcgilveray, I.J.: Simple and specific electron-capture GLC assay for plasma and urine ephedrine concentrations following single dose. *J. Pharm. Sci.* **68**, 557 (1979).
- 6) Schultz, H.W. and Paveenbampen, C.: Quantitative GLC analysis of theophylline, ephedrine hydrochloride, and phenobarbital suspension. *J. Pharm. Sci.* **62** 1995 (1973).
- 7) Kruse, K., Francke, W. and König, W.A.: Gas chromatographic separation of chiral alcohols, amino alcohols and amines. *J. Chromatogr.* **170**, 423 (1978).
- 8) Masataka, M., Masaru, E., Ritsuko, K., Yosei, H., Atsushi, K. and Mizuo, M.: High-performance liquid chromatographic determination of organic substances by metal chelate derivatization. III. Analysis of ephedra bases. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 744 (1984).
- 9) Gal, J.: Resolution of the enantiomers of ephedrine, norephedrine and pseudoephedrine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **307**, 220 (1984).
- 10) Wainer, I.W. and Doyle, T.D.: Application of high-performance liquid chromatographic chiral stationary phases to pharmaceutical analysis. Resolution of ephedrine. *J. Chromatogr.* **261**, 123 (1983).
- 11) Roverts, S.E. and Delaney, M.F.M.: Simultaneous determination of ephedrine sulfate, hydroxyzine hydrochloride and theophylline in tablet by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **242**, 364 (1982).
- 12) Chen, T.M. and Chafetz, L.: High-pressure liquid chromatographic assay of theophylline, ephedrine hydrochloride, and phenobarbital tablets. *J. Chromatogr.* **70**, 844 (1981).
- 13) Kazuhiko, S., Toshiyuki, O. and Tetsuo, M.: A simultaneous determination of norephedrine, pseudoephedrine ephedrine and methylephedrine in ephedrine herba and oriental pharmaceutical preparations by ion-pair high-performance liquid chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 2359 (1983).
- 14) Kazuo, Y. and Kimiko, F.: Quantitative analysis of ephedra alkaloids in ephedrine herba by carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 43 (1979).
- 15) Yoshimasa, K. and Hiroshi, H.: Determination of ephedrine alkaloids by isotachopheresis. *J. Chromatogr.* **324**, 503 (1985).
- 16) K.P. IV, 387 (1976).

- 17) Matek, M.B., Gearien, J.E. and Blake, M.I.: Chemical and spectroscopic analysis of a phenobarbital-ephedrine complex. *J. Pharm. Sci.* **66**, 1019 (1977).
- 18) Tadao, S., Itsuko, H. and Masahiro, T.: Spectrophotometric determination of quinine, emethime and ephedrine in pharmaceutical preparations with tetrabromophenolphrhalein ethyl ester by solvent extraction. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 1254 (1976).
- 19) Gupta, V.D. and de lara, J.L.: Colorimetric determination of chlorpheniramine maleate, ephedrine hydrochloride, and Guaiacolsulfonate potassimu in a cough syrup. *J. Pharm. Sci.* **61**, 2001 (1975).
- 20) Foster, R.: *Organic charge-transfer complexes*, Academic Press, London and New York (1969).
- 21) Huyskens, Z.: Charge transfer properties of molecular complexes involving carbonyl bonds. *J. Molecular Structure* **26**, 329 (1975).
- 22) Taha, A.M., Ahmad, A.K.S., Gomaa, C.S. and EL-fatatry, H.M.: Charge—Transfer complexes id alkaloid assay. *J. Pharm. Sci.* **63**, 1853 (1974).
- 23) Taha, A.M. and Gomaa, C.S.: Analysis of alkaloid mixtures by charge transfer complexation. *J. Pharm. Sci.* **65**, 986 (1976).