

## 이온교환체 전극을 이용한 베라파밀 정량

이은엽\* · 김동오 · 장승현\* · 허문희 · 안문규

경성대학교 약학대학, \*대구대학교 화학과

(Received October 26, 1995)

### Determination of Verapamil with ISE based on Ion Exchanger

Eun-Yup Lee\*, Dong-O Kim, Seung-Hyun Chang\*, Moon-Hye Hur and Moon-Kyu Ahn

College of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

\*Department of Chemistry, Daegu University, Kyongsan 713-714, Korea

**Abstract**—Ion-selective poly(vinyl chloride)(PVC) membrane electrodes for the determination of the calcium antagonist verapamil and its pharmaceutical preparations were described. Verapamil-superchrome garnet Y (SGY), lumogallion (LG), acid red 97 (AR97), Dragendorff (DD) and Meyer reagent ion pairs were investigated as an electroactive compound for membrane electrode. Stable potentiometric response was obtained with azo dye at pH 6.5~4.0 and with DD, and Meyer reagent at pH 6.5~3.0. The best plasticizer was 49 w/w% 2-nitrophenyl octyl ether for azo dye, and 65.3 w/w% tri(n-butyl) citrate for DD and Meyer reagent.

Potentiometric response slopes of optimized membrane electrodes based on SGY, LG, AR97, DD, and Meyer complex for verapamil were 52.49, 54.88, 50.81, 54.13, and 49.31 mV/dec., respectively. Lower limits of linear range were  $1.0 \times 10^6$  M for SGY, LG, and AR97, while those for DD and Meyer reagent were  $4 \times 10^6$  M. Detection limits for all these electrodes were  $1 \times 10^5$  M,  $4 \times 10^6$  M,  $1.8 \times 10^6$  M,  $8 \times 10^7$  M, and  $1 \times 10^6$  M with relative standard deviation of 2.56, 3.6, 3.96, 2.56, 3.20%, respectively.

**Keywords** □ PVC membrane, verapamil, lumogallion, superchrome garnet Y, acid red 97, Dragendorff reagent, Meyer reagent.

이온 선택성 전극(ion-selective electrode, ISE)을 이용하는 방법은 내부용액과 분석용액을 분리하고 있는 막에 나타나는 전위차를 측정하여 농도를 구하는 것으로 의약품 분석등 여러 방면에 이용<sup>1-3)</sup>되고 있다. 시료중의 특정한 이온성 물질을 선택적으로 측정하기 위한 ISE는 수소이온 농도에 감응하는 유리전극을 시초로 하여 연구가 진전되었으며 1950년에 이르러 유리막을 이용한 pH 전극이 보편화되기에 이르렀다. ISE의 막은 주로 고분자 중합체를 막의 지지체로 사용하며, 이온 선택성을 주는 이온 감지물질(neutral carrier, ion-exchanger)과 함께 비휘발성 유기용매, 경우에 따라 소수성 첨가제등을 포함한다. ISE 방법은 우수한 선

택성, 빠른 감응속도, 간편성과 자동연속분석이 용이하므로 많은 연구가 진행되고 있다.

Counterion은 주로 tetraphenylborate 유도체, phosphotungstic acid 등<sup>4-8)</sup>과 그외에 flavianic acid, dipicrylaminat, reineckate, dinonylnaphthalene sulfonic acid, 5-nitrobarbituric acid, Meyer 시약 등<sup>9-13)</sup>이 사용되었다.

저자 등은 이온 교환 메커니즘에 따른 ISE법으로, 염기성 의약품과 이온 회합성 화합물을 형성하여 용매 추출 분광법에 사용되는 acid red 97, 용매 추출 형광 시약으로 사용되는 superchrome garnet Y, lumogallion과 alkaloid 침전 확인 시약인 Meyer 시약 및 Dragendorff 시약 등의 착물을 전기활성물질로 사용하여 아민 화합물의 정량법을 확립하고 또한 제제 분석에의 응용 가능성을 타진하였다.

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 051-620-4882 (팩스) 051-628-6540

## 실험방법

### 시약 및 기기

**시약** - Isodecyl diphenyl phosphate, 2-ethylhexyl diphenyl phosphate, di(2-ethylhexyl) azelate, glycerol triacetate, di(2-ethylhexyl)maleate, triethyl citrate, methyl laurate, tri(n-butyl) butyl citrate, n-butyl acetyl ricinoleate, acetyl tri(n-butyl) citrate 등은 Scientific Polymer Products 사제, 2-nitrophenyl octyl ether (NPOE)은 Sigma사제, AR97, PVC (high molecular weight), tetrahydrofuran (THF), dioctyl phenylphosphonate (DOPP), di(2-ethylhexyl) adipate (DOa) 등은 Aldrich사제, di(2-ethylhexyl) phthalate (DOP), di(2-ethylhexyl) sebacate (DOS) 등은 Fluka사제, LG은 일본 TCI사제를 사용하였으며 SGY는 H. Keizo 방법<sup>14)</sup>에 따라 합성, 정제하여 사용하였다. DD, Meyer 시약 용액 등은 대한약전에 따라 제조하여 사용하였다. 그의 시약들은 특급 시약을 사용하였으며, 탈염수는 모두 Millipore Q-water system으로 탈염된 2차 증류수를 사용하였다.

**기기** - Electrode body는 Phillips사(Zürich)제의 IS-561, pH meter는 Orion사의 model 920A, pH 전극은 Orion사의 model 91-02 유리 전극, 기준 전극은 Orion사의 model 90-01-00 Ag/AgCl single junction 전극을 사용하였고 그의 일정 실험 조건하에서 동시에 여러 전극으로부터의 데이터를 수렴하기 위해 고안된 16 채널 A/D 변환기와 실험 데이터를 수렴, 편집, 처리를 위하여 Trigem 286+S(삼보) 컴퓨터를 사용하였다.

### 이온 교환 전기활성 물질의 제조

**Azo dye 용액** - SGY, LG, AR97 모두  $5 \times 10^{-2}$  M 이상의 진한 수용액으로 만들고, AR97의 경우 비색소 부분을 제거하기 위해 하룻동안 방치한 후 그 상정액을 사용한다.

**이온회합성 착물** -  $10^{-2}$  M의 verapamil 용액에 과량의 이온 회합성 시약을 넣어 형성된 착물을 dichloromethane으로 추출하고, 유기 용매를 휘발시킨 다음 남은 침전물을 가루로 갈아서 사용하였다.

### PVC 액체막 및 전극 제작

**PVC 액체막 제조** - 전기활성물질의 양을 2 w/w%로 정하고, 가소제/PVC 비율이 2/1, 1/1가 되도록 정확히 취한 후 이들을 THF 2 ml에 녹여 유리판 위에 고정된 직경 22 mm의 유리관에 부은 다음 이를 동안 방치하여 THF를 휘발시켰다.

**액체막 전극의 조립** - 직경 7 mm의 punch를 사용하여 잘라 Screw-cap에 고정하여 전극 본체에 장착하였다. 내부용액은  $10^{-2}$  M NaCl 용액을 사용하였고 완성된 전극은 pH 5.0의 초산 완충액으로 만든  $10^{-2}$  M verapamil 용액에 하룻동안 담귀 안정화시켰다. 사용하지 않을 시에는 pH 5.0 초산 완충용액에 담귀 실온에 보관하였다.

### 측정

완성된 전극과 Ag/AgCl 기준 전극을 컴퓨터에 연결된 16 채널에 연결하여 이들 전극을 일정량의 반응액에 담귀서 일정 시간동안 안정화시킨 후 verapamil 표준 용액을 점진적으로 첨가하여 1초 단위로 전위값을 측정한다.

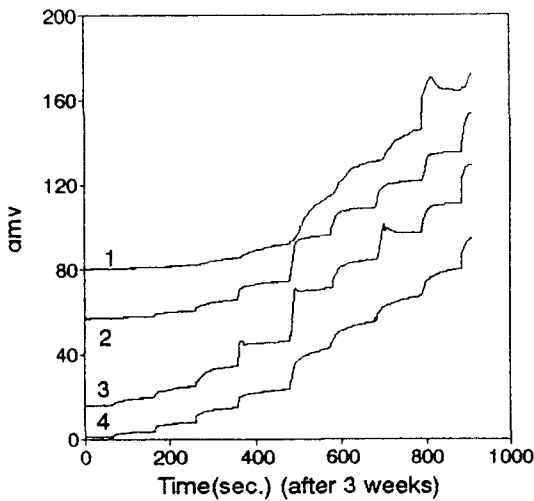
선택 계수는 분리용액법에 따라 일정량의 초산 완충 용액 (pH=5.0)에 전극을 담귀 후, 방해물질 일정량을 첨가한 후 그 전위를 측정, 산출하였다.

## 결과 및 고찰

**가소제의 선택** - 전기활성물질 4 mg을 130  $\mu$ l의 여러 가소제와 혼합한 후 하룻동안 방치하고 그 용해 여부를 육안으로 관찰한 결과 Table I로 부터 DOPP, NPOE, 2-ethylhexyl diphenyl phosphate, isodecyl diphenyl phosphate, glycerol triacetate, triethyl citrate, tri(n-butyl) citrate 등 극성이 있는 가소제들은 이온회합성 착물을 녹였으나 DOP, DOA,

**Table I** - Solubility of electroactive compounds in plasticizers

soluble	insoluble
DOPP	DOP
NPOE	DOA
2-ethyl diphenyl phosphate	DOS
isodecyl diphenyl phosphate	di(2-ethylhexyl) azelate
glycerol triacetate	di(2-ethylhexyl) maleate
triethyl citrate	methyl laurate
tri(n-butyl) citrate	n-butyl acetyl ricinoleate
	acetyl tri(n-butyl) citrate

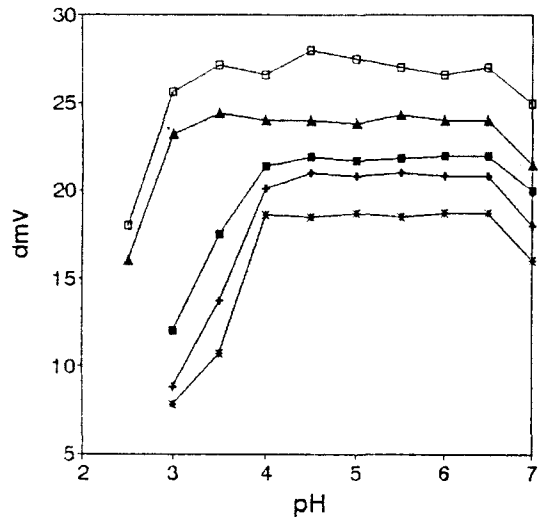


**Fig. 1**—Dynamic response of electrode versus time. (measured after 3 weeks.) plasticizer: DOPP  
 1) LG complex with 65.3 w/w% DOPP  
 2) LG complex with 49 w/w% DOPP  
 3) DD complex with 65.3 w/w% DOPP  
 4) DD complex with 49 w/w% DOPP

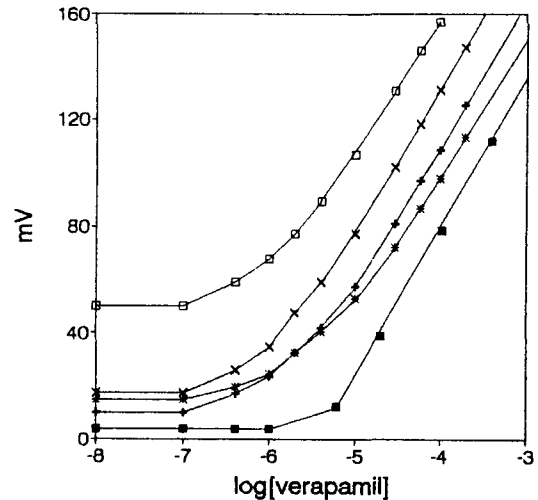
DOS, di(2-ethylhexyl) azelate, di(2-ethylhexyl) maleate, methyl laurate, n-butyl acetyl ricinoleate, acetyl tri(n-butyl) citrate 등 극성이 매우 적은 가소제들은 이온회합성 착물을 용해시키지 못하였다. 가소제는 착물을 용해시킬수 있는 것을 사용하여 실험하였다.

**막의 안정성** - 3주 경과한 막을 사용하여 막의 변화를 살펴보았다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 azo dye 착물을 사용하고, 가소제의 비율을 65.3 w/w%로 한 결과 시간에 대한 감응 곡선은 상당한 변화가 발생하였으며 반면에 alkaloid 침전 시약 착물의 경우 별반 변화가 없었다. 그러나 azo dye 착물 사용시 가소제 비율을 49 w/w%로 조정한 결과 막의 안정성이 상당히 상승되었다. 특히 가소제를 65.3 w/w%로 한 경우 막이 상당히 탈색되었으나 49 w/w%로 줄인 결과 탈색 경향이 상당히 감소되었다.

한편, alkaloid 침전 시약 착물을 사용하고 가소제를 49 w/w%로 한 결과 막의 감응 속도가 오히려 떨어지는 경향을 보였으나 별반 차이는 없었다. 이러한 결과를 미루어 보아 azo dye 착물은 가소제의 비율을 49 w/w%로 하는 것이 감응성과 안정성이 좋은 것으로 사료되며, alkaloid 침전 시약의 착물은 65.3 w/w%로 유지하는 것이 좋을 것으로 사료된다.



**Fig. 2**—Effect of pH on ion-exchanger-based membrane electrodes for verapamil from  $10^{-5}$  M to  $4 \times 10^{-5}$  M.  
 ■: SGY complex (NPOE)  
 +: LG complex (NPOE)  
 \*: AR97 complex (NPOE)  
 □: DD complex (tri(n-butyl)citrate)  
 ▲: Meyer complex (tri(n-butyl)citrate)



**Fig. 3**—Calibration curves of verapamil-selective electrode for verapamil.  
 ■: LG complex (NPOE)  
 +: SGY complex (NPOE)  
 \*: Ar97 complex (NPOE)  
 ×: DD complex (tri(n-butyl)citrate)  
 □: Meyer complex (tri(n-butyl)citrate)

**pH의 영향** - 각 verapamil 착물에 대한 전극을 이용하여 pH에 대한 영향을 살펴보았다. Azo dye 계열의 경우 NPOE, alkaloid 침전 시약의 경우 tri(n-

**Table II**—Composition of electrode membranes for verapamil and their characteristic responses. (total weight: 200 mg)

electroactive compd. (%)	plasticizer		PVC (%)	slope (mV/dec.)	linear range (mole/L)	detection limit (mole/L)
	%					
SGY complex	NPOE	49	49	52.49	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$
	DOPP	49	49	51.5	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	49	49	34.55	$2 \times 10^{-2} \sim 3 \times 10^{-5}$	$3.5 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	65.3	32.7	50.02	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-6}$
LG complex	NPOE	49	49	54.88	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-6}$
	DOPP	49	49	50.58	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$3.5 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	49	49			
AR97 complex	NPOE	49	49	50.81	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1.8 \times 10^{-6}$
	DOPP	49	49	48.98	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$3.5 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	49	49	49.14	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1.8 \times 10^{-6}$
DD complex	NPOE	65.3	32.7	46.41	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$
	DOPP	65.3	32.7	50.81	$2 \times 10^{-2} \sim 4 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$
	DOPP	49	49	47.83	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$2 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	65.3	32.7	54.13	$2 \times 10^{-2} \sim 4 \times 10^{-6}$	$8 \times 10^{-7}$
Meyer complex	NPOE	65.3	32.7	39.17	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-6}$
	DOPP	65.3	32.7	47.38	$2 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^{-5}$	$2 \times 10^{-6}$
	tri(n-butyl) citrate	65.3	32.7	49.31	$2 \times 10^{-2} \sim 4 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$

**Table III**—Potentiometric selective coefficient of verapamil-selective membrane electrodes

electroactive compd.	selectivity coefficient (log K)			
	histidine	methyl-ephedrine	procaine	diltiazem
SGY Complex	-2.65	-2.0	-0.82	-0.52
LG Complex	-2.69	-2.04	-0.87	-0.56
AR97 Complex	-2.74	-2.1	-0.86	-0.58
DD Complex	<-4	-2.39	-0.93	-0.765
Meyer Complex	<-4	-2.41	-0.94	-0.79

-Plasticizer : NPOE (49%)

butyl)citrate로 구성된 액체막 전극을 일정 용량의 완충용액에 담근 후 verapamil 표준액 농도를  $1 \times 10^{-5}$  M에서  $4 \times 10^{-5}$  M로 변화시킬 때의 그 전위값의 차이를 이용하였다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 azo dye의 경우 pH 6.5 ~ 4.0까지 안정된 수치를 보였으나, alkaloid 침전 시약의 경우 pH 6.5 ~ 3.0까지 안정된 수치를 보였다. 그러므로 본 실험에서는 pH 5.0에서 행하였다.

**검량선** - DD, Meyer, SGY, LG 그리고 AR97의 verapamil 액체막 전극을 일정량의 초산 완충용액

(pH=5.0)에 담근 후 일정 농도 verapamil 용액을 점차적으로 첨가하고, 이때의 전위값으로부터 각각의 검량선을 작성하였다. 각 전극들의 감응성은 Table II와 같았으며, 이들을 이용하여 verapamil을 정량한 결과 SGY, LG, AR 97, DD 및 Meyer 시약에 대한 변동계수는 각각 2.56, 3.60, 3.96, 2.56, 3.20%를 나타냈다. azo dye를 사용하는 경우와 Meyer, DD 시약을 사용하는 경우에 가소제에 의한 영향은 달리 나타났다. Azo dye의 경우 NPOE, DOPP 등이 양호한 결과를 보였으나, Meyer, DD 시약은 NPOE, DOPP 등에 비

**Table IV**— Analytical results of verapamil from pharmaceutical preparation

sample	found(%)±R.S.D.*				
	SGY complex	LG complex	AR97 complex	DD complex	Meyer complex
tablet	96.51±2.56	97.58±0.75	96.05±3.09	97.75±2.29	97.23±1.96
granule	97.61±1.06	98.29±1.44	96.69±1.59	98.67±0.23	98.66±2.28

\* Relative standard deviation for 6 measurements.

해 tri(n-butyl) citrate를 사용한 것이 더 좋은 결과를 보였다. 그리고 azo dye의 경우 가소제의 비율을 전체의 49%와 65.3%로 구성하여도 큰 차이점이 없었고 수명은 49%로 구성하는 것이 양호한 것으로 나타났다 (Fig. 1). 다만 SGY 착물은 tri(n-butyl) citrate의 비율이 65%가 49%에 비하여 그 감응 기울기가 상승되었으나 그 감응도는 다른 가소제를 사용하는 것보다 다소 낮은 수치를 보였고 수명이 짧아 적합지 못한 것으로 생각된다. 또한 DD 혹은 Meyer 시약은 azo dye와 같이 수명은 별반 문제점이 없었으나 가소제가 49%로 구성된 것보다 65.3%로 구성된 것이 오히려 좋은 결과를 보였다.

**선택계수** - 이들 전극의 선택 계수는 Table III과 같았다. Histidine, methylephedrine 등의 경우 그 수치가 낮게 나타난 반면에 procaine, diltiazem의 경우 이들 ion-exchanger와의 친화성이 verapamil에 대한 것보다 비슷하였으며 ion-exchanger를 사용할 경우 유사 유기화합물에 대한 선택성의 문제가 있다.

그의 2-ethylhexyl diphenyl phosphate 등도 전기활성 물질을 녹일 수 있으나(Table I), 이들은 phosphate염과 같은 이온성을 가지고 있으므로 전기활성물질에 의한 막 감응의 성질을 저해하는 것으로 사료되어 부적합한 것으로 생각되며, glycerol triacetate, triethyl citrate 등의 막은 굳어졌으며 전혀 감응성을 보이지 않았다. 이는 막내에 있던 가소제가 타 가소제에 비해 쉽게 수중으로 빠져나오므로 가소제로서 사용하기에 부적합하였다.

이상으로부터 azo dye를 사용하는 경우 가소제는 NPOE가 DD, Meyer 시약을 사용한 경우 tri(n-butyl)citrate가 적합한 것으로 생각된다.

**제제분석** - 시중의 verapamil 제제를 Table II에서 얻은 최적 조건의 전극을 이용하여 그 함량을 조사하여 보았다.

Verapamil 정제는 verapamil·HCl으로서 약 2 mg에 해당하는 량을 취하여 초산 완충 용액에 녹여 전

량 25 ml로 하고, verapamil 과립도 정제와 같이 조작하고, 일정 용량의 완충 용액(pH 5.0)에 담겨서 10~30분동안 안정화시킨 전극으로 용액의 전위차값을 측정하여 그 함량을 구하였다.

Table IV의 나타난 바와 같이 verapamil 정제는 본 실험에서 사용한 ion-exchanger를 사용한 전극으로서 만족할만한 결과를 얻을 수 있었으며, verapamil 과립의 경우에도 적용할 수 있음을 알 수 있었다.

## 문 헌

- 1) Cosofret, V. V. and Buck, R. P.: *Pharmaceutical applications of membrane sensors*. CRC press, U.S. A., (1992).
- 2) Gopel, W., Jones, T. A., Kleitz, M., Lundstrom, J. and Seiyama, T.: *Sensors. A comprehensive survey*, Vol. 2 VCH, Germany.
- 3) Vytras, K.: Potentiometric titrations based on ion-pair formation. *Ion-Selective Electrode Rev.* **7**, 77 (1985).
- 4) Issa, Y. M., Rizk, M. S. and Mohamed, S. S.: Performance and characteristics of new cyproheptadine hydrochloride selective plastic membrane electrodes based on cyproheptadine tetraphenylborate. *Anal. Lett.* **25**, 1617 (1992).
- 5) Mitsana-Papazoglou, A., Christopoulos, T. K., Diamandiss, E. P. and Hadjiioannou, T. P.: Construction of ion-selective electrodes for chlorpromazine, amitriptyline, propantheline and meperidine: analytical study and application to pharmaceutical analysis. *Analyst* **110**, 1091 (1985).
- 6) Mitsana-Papazoglou, A., Diamandiss, E. P. and Hadjiioannou, T. P.: Ion-selective electrodes for the H<sub>2</sub>-receptor antagonists cimetidine and ranitidine. *J. Pharm. Sci.* **76**, 485 (1987).
- 7) Zhaang, B., Li, Z. and You, X.: PVC membrane

- electrodes of anisodamine, n-butylscopolamine and homatropine. *Analyst* **113**, 57 (1988).
- 8) Zareeh, M., El-Sheikh, R., Issa Y. M. and Shoukry, A. F.: Plastic membrane and coated wire ion-selective electrodes for propylhexedrine. *Anal. Lett.* **25**, 633 (1992).
- 9) Eppelsheim, C., Brauchle, C. and Hampp, N.: Ion-selective electrodes for the determination of the antiarrhythmic drug bretylium. *Analyst* **117**, 1609 (1992).
- 10) Ahmed, M. A.: Poly(vinyl chloride) matrix membrane electrodes for the selective determination of buformin. *Analyst* **119**, 1367 (1994).
- 11) Aubck, R., Brauchle, C. and Hampp, N.: Ion-selective membrane electrodes for the determination of the muscle relaxants pancuronium, tubocurarine, gellamine and succinylcholine. *Anal. Chim. Acta* **238**, 405 (1990).
- 12) Bunaciu, A. A., Ionescu, M. S., Palivan, C. and Cosofret, V. V.: Amitrip tyline-selective plastic membrane sensors and their pharmaceutical applications. *Analyst* **116**, 239 (1991).
- 13) Bo, E. and Lu, X.: Poly(vinyl chloride) membrane electrode for the determination of verapamil. *Anal. Chim. Acta* **235**, 461 (1990).