

PVC 액체막 전극을 이용한 Norfloxacin의 정량

김동오* · 남수자 · 문현숙 · 정문모 · 허문화# · 김대병# · 안문규

경성대학교 약학대학, #부산지방식품의약품안전청

(Received July 10, 2000)

A PVC Liquid Membrane Electrodes for the Determination of Norfloxacin

D. O. Kim*, S. J. Nam, H. S. Moon, M. M. Jung,
D. B. Kim#, M. H. Hur# and M. K. Ahn

Dept. of Pharmacy Kyungsung Univ., #110-1, Daeyundong, Namgu, Pusan, 608-736, Korea

#Pusan Regional Food & Drug Administration, #123-7, Yongdangdong, Namgu, Pusan, 608-080, Korea

Abstract — The present method is to describe a potentiometric norfloxacin electrode system characterized by a membrane, based on the use of norfloxacin (NF) complex with ion-association reagents. These complexes were dissolved in DMSO, DMF, acetonitrile or acetone and dispersed in plasticized poly(vinyl chloride) matrix. The picric acid complex electrode exhibited near-Nernstian response for NF in acetate buffer solution (pH 4.0) with a slope of 53.03 mV/decade. And linear response over the range of 10^{-5} to 10^{-3} M solution of NF. The ingredients in tablet, capsule and biological important organic acids were not interfere.

Keywords □ Norfloxacin, potentiometric electrode, picric acid.

Quinolone 화합물들은 합성 항생제이다. 이들의 기본구조는 1-substituted-1,4-dihydro-4-oxopyridine-3-carboxylic moiety에 aromatic 또는 heteroaromatic ring이 결합되어 있고, 불소를 함유하고 있으므로 일반적으로 fluoroquinolone¹⁾이라고 부른다. 이들의 분석법으로는 분광광도법,^{2,3)} 용매추출분광법,⁴⁾ 형광법,⁵⁾ 전기화학적 방법,^{6,7)} HPLC^{8,9)} 등 많은 분석법이 개발되어 있다. 이온선택성 전극법에 의한 방법은 ciprofloxacin의 tetraphenylborate 착물을 전기활성물질로서 이용한 CW-ISE에 의한 방법¹⁰⁾과 최근의 금속 complex 및 tetraphenyl borate를 이용한 PVC 막 전극법^{11,12)} 등이 보고된 바 있다. 이들 방법들은 전기활성물질이 가소제에 녹지 않으므로 많은 양의 전기활성물질을 사용

한 CW-ISE를 이용한다든지 또는 막이 균일하지 못한 상태에서 ISE를 시행하므로써 재현성이 낮았다.

이에 본 연구진은 염기성 의약품의 정량에 가장 많이 사용하는 picric acid, Reinecke salt, tetraphenylborate, Dragendorff, phosphotungstic acid 및 Meyer 시액 등¹¹⁾과 norfloxacin과의 이온회합성 화합물을 만들어 이들을 전기활성물질로서 사용하였고, 가소제에 대한 난용성을 해결하기 위해 dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide(DMSO), acetonitrile, acetone 등의 용매를 혼합하여 보았다. 각 전극의 감응성을 검토하여 norfloxacin의 이온선택성 전극법을 확립하고자 하였다.

실험방법

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-290-7712 (팩스) 031-290-7732

장치 - Electrode body는 Phillips(Zrich)사제의 model

IS-561, pH meter는 Orion사의 model 920A, pH electrode는 Orion사의 model 91-02 glass electrode, 기준전극은 Orion사의 model 90-01-00 Ag/AgCl single junction electrode, coated wire 전극(CW-ISE)은 광운대 화학과 차근식교수(자체가공)로부터 제공받아 사용하였다. 또한 일정 실험 조건하에서 동시에 여러 전극으로부터 데이터를 수렴하기 위해 고안된 16 채널 A/D converter와 실험 데이터의 수렴, 편집, 처리를 위하여 Trigem 286+S(삼보) computer를 사용하였다.

시약 - NF는 Sigma 사제, di(2-ethylhexyl) sebacate (DOS), di(2-ethylhexyl) phthalate(DOP), dioctyl phenylphosphonate(DOPP)등은 Scientific polymer products 사제, tris(2-ethylhexyl) phosphate(TEHP), tricresyl phosphate(TCP) 그리고 picric acid(PA)는 Fluka 사제, 2-nitrophenyloctyl ether(NPOE)와 Reinecke salt(RnS) 그리고 sodium tetraphenylborate (NaTpB) Aldrich사제 phosphotungstic acid(PTA)는 Yakuri pure chemicals 사제를 사용하였고 기타 시약들은 시판특급시약을 사용하였으며, 증류수는 모두 Millipore Q-water system으로 탈염된 2차 증류수를 사용하였다. NF 표준용액은 NF를 소량의 초산용액에 녹인 후 증류수를 채워 10^{-1} M 용액으로 만들고, 증류수로서 적당히 희석하여 사용하였다.

이온회합성 시액 - PA, RnS, NaTpB 및 PTA 용액 : 0.1M 수용액으로 조제한 다음 증류수로서 적당히 희석하여 사용하였다.

전기활성물질의 제조 - 10^{-2} M NF 10 mL에 과량의 이온회합성 시액을 넣어 생성되는 이온회합성 화합물을 흡인여과시킨 후 증류수로 세척하고, 50°C 이하의 건조기내에서 24시간 건조한 다음 분말로 만들어 사용하였다.

액체막 전극의 제조 - 전기활성물질의 양을 2 w/w%로 하고, 가소제와 PVC의 비율을 2:1로 유지하면서 전체량이 200 mg이 되도록 정확히 취하였다. 이 혼합물에 0.4 mg의 potassium tetrakis(4-chlorophenyl) borate와 50 μL 의 DMSO, DMF, acetonitrile 혹은 acetone을 첨가하였다. 이들을 THF 3 mL에 녹인 후 직경 22 mm의 유리관이 고정된 유리판 위에 붓고 이틀동안 방치하여 THF를 휘발시킨 다음 밀봉·차광하여 보관하였다. 완성된 액체막을 punch(i.d.: 7 mm)로 잘라 이를 screw-cap에 고정시킨 다음 전극 본체에 장착하였다. 전극의 내부 용액은 10^{-3} M KCl을

사용하였고 완성된 전극은 10^{-2} M NF의 초산 완충액 (pH 4.0)에 하룻동안 담귀 안정화시켰다. 실험이 끝난 뒤엔 증류수로 여러번 세척한 다음 위 용액에 담귀 실온에서 보관하였다.

CW 전극 제조 - PVC 65.4 mg, 가소제(NPOE) 130.6 mg에 전기활성물질 100 mg을 첨가한 다음 THF 3 mL를 넣고 혼합하였다. 이 혼합액을 건조기 중에서 60°C 로 20분간 가열한 다음, 여기에 silver wire의 노출된 부분을 침적하였다. 이를 꺼내어 공기 중에서 24시간 방치하여 silver wire에 얇은 막이 생기도록 하였다. 이렇게 만들어진 CW 전극을 10^{-3} M NF 용액에서 24시간 정도 안정화시킨 후 사용하였고, 사용하지 않을 때에는 위 용액에 담귀 보관하였다.

정량법 - 실험에 사용할 완성된 전극과 Ag/AgCl single-junction reference electrode를 일정량의 초산 완충액 (pH 4.0)에 담귀 교반하면서 전위값을 ± 0.2 mV/min.으로 안정화시켰다. 여기에 NF 표준용액을 일정 간격으로 점차 가하면서 전위값을 측정하여 전위값에 대한 NF의 상용대수로부터 검량선을 구하였다.

선택계수 - 10^{-4} M NF 용액 100 mL에 10배 과량의 농도가 되도록 0.5 M의 방해물질을 첨가하여 발생하는 전위값을 측정하여 선택계수를 구하였다.

실험 결과 및 고찰

pH 영향 - 액체막 전극을 일정 용량의 NF 용액에

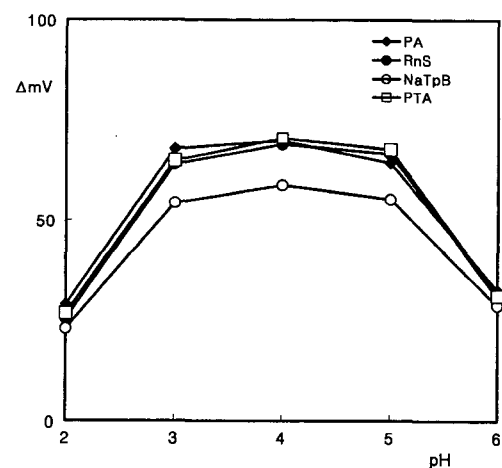


Fig. 1 - Effect of pH on ion-exchanger based membrane electrodes for norfloxacin. The concentration range from 10^{-5} M to 2×10^{-4} M.

담근 후 pH를 2.0에서 6.0까지 변화시켜 가면서 그 감응성을 살펴본 결과 pH 3.0~5.0사이에서는 일정한 전위값의 변화를 나타내었다(Fig. 1). pH 3 이하에서의 전위 저하는 전기활성물질의 불안정성과 막 내의 NF의 해리에 의한 것으로 생각된다. 그리고 pH 5 이상에서의 전위 저하는 NF의 석출 때문이라고 생각된다. 이후 본 실험에서는 pH 4.0의 초산완충용액 중에서 측정하였다.

용매의 영향 - 전기활성물질이 가소제에 용해되지 않으므로 Avsec 등¹⁰⁾은 ciprofloxacin의 tetraphenyl borate 이온회합성 화합물을 THF에 현탁시켜 CW-ISE법으로 시도하였다. 이 방법은 coating되는 막이 불균일하여 재현성에 문제점이 있다. 그러므로 유전상수가 큰 DMSO, DMF, acetonitrile, acetone 등을 첨가하여 액체막을 제조한 다음 그 감응성을 검토한 결과 대 이온의 종류와는 관계없이 비슷한 수준을 나타내었다(Date not shown). 그러나, 본 실험에서는 용매의 휘발속도에 의한 막의 균일성을 고려하여 DMSO를 선택하였다.

가소제 선택 - 대 이온의 종류와는 관계없이 NPOE가 가장 적합하였으나 나머지 가소제는 감응성이 매우 낮았다(Table I). Avsec 등¹⁰⁾은 CW-ISE에서 DOP를 사용하였으나 본 실험에서의 DOP는 감응성이 매우 낮아 차이점을 볼 수 있었다.

검량선 - NF에 대한 각 전극의 감응기울기는 PA, RnS, PTA 그리고 NaTpB를 사용시 각각 53.03, 50.68, 49.29, 48.11 mv/dec. 등으로 나타났다(Fig. 2). Linear range와 detection limit는 PA와 PTA에서는 모두 10^{-5} ~ 10^{-3} M, 5×10^{-6} M이었고, RnS와 NaTpB 경우에는 각각 2×10^{-5} ~ 10^{-3} , 5×10^{-6} M 그리고 2×10^{-5} ~ 10^{-3} , 10^{-6} M 으로 나타났으며, 감응시간은 대개 5~20초 정도 소요되었다. 따라서 NF의 정량을 위

Table I - Effect of plasticizer on the response of norfloxacin-selective membrane electrodes

Plasticizer	Electrodes (slope: mV/dec.)			
	PA	RnS	NaTpB	PTA
NPOE	53.03	50.68	48.11	49.29
DOP	21.65	20.96	18.53	20.66
TCP	22.34	22.11	19.63	20.54
DOS	10.21	9.68	5.65	11.26
TEHP	10.60	9.25	7.76	8.9
DOPP	15.62	16.55	13.54	15.96

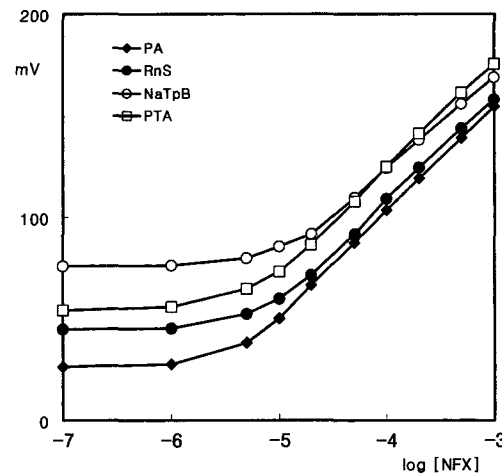


Fig. 2 - Calibration curves for norfloxacin obtained with norfloxacin complex-based membrane electrodes.

Table II - Analytical results of NF with NF selective membrane electrodes

Electrode	Average response (Δ mV) (RSD(%)) [#]					
	NPOE	DOP	TCP	DOS	TEHP	DOPP
PA	110.4 (1.9)	108.4 (2.5)	123.1 (1.9)	130.9 (2.6)	121.6 (3.7)	107.2 (2.7)
RnS	124.5 (1.5)	121.7 (2.2)	141.5 (2.5)	140.8 (2.8)	110.9 (2.9)	109.8 (3.2)
NaTpB	74.2 (1.8)	82.1 (2.2)	74.7 (2.8)	77.6 (2.4)	81.4 (2.4)	69.7 (2.7)
PTA	141.1 (1.8)	144.8 (1.8)	138.6 (2.4)	150.4 (2.8)	143.9 (3.2)	133.9 (3.2)

[#]Average response of five measurements

한 전기활성물질은 PA 이온회합성 화합물이 가장 우수함을 알 수 있었다.

재현성 - 10^{-4} M의 NF 용액에 대하여 각 전극의 가소제별 감응성을 5회 측정하여 재현성을 구한 결과는 Table II와 같았으며, 대 이온의 종류와는 관계없이 NPOE가 가장 우수하였다.

선택계수 - 각 선택성 전극은 oxalic acid 등 유기산에는 영향을 거의 받지 않았고 penicillin G 등의 항생제의 공존에도 영향을 받지 않았다(Table III).

제제분석 - 20개의 정제 또는 캡셀을 취하여 잘 혼합하고, 분쇄한 다음 1개의 정제 또는 캡셀에 해당하는 양을 정밀히 칭량한다. 빙초산 또는 물 소량에 녹이고, NF의 PA 이온회합성 화합물을 이용한 선택성 전극을 사용하여 정량법에 따라 각 제제를 분석한 결과는 Table IV과 같았다.

Table III – Selectivity coefficient ($\log K K_{MB}^{Pot}$) of norfloxacin-selective electrode, plasticized with NPOE, using mixed solution method

Interferent	$\log K_{MB}^{Pot}$			
	PA	RnS	NaTpB	PTA
Oxalic acid	-2.08	-1.30	-2.20	-1.34
Acetic acid	-2.13	-1.31	-2.24	-1.40
Salicylic acid	-2.24	-1.31	-2.43	-1.38
Citric acid	-2.11	-1.41	-2.42	-1.38
Penicillin G	-2.21	-1.40	-2.28	-1.29
Cefoxitin	-2.31	-1.51	-2.39	-1.42
Cefotaxime	-2.13	-1.28	-2.27	-1.26
Ampicillin	-2.09	-1.16	-2.15	-1.26
Amoxicillin	-2.45	-1.31	-2.31	-1.27
Methicilline	-2.33	-1.21	-2.25	-1.26

Table IV – Determination of NF in some pharmaceutical preparations using NF-PA-PVC-based membrane electrodes

Trade name	Source	Nominal contents (mg/tablet)	found (%) (mean \pm RSD*)
Norfloxacin	Dong Kwang	100	98.3 \pm 2.1
Baccidal	Chong Kun Dang	100	105.4 \pm 1.7

*Relative standard deviation ($n=6$)

CW-ISE – 전극 끝에 표출된 wire에 막을 입히는 조작은 전기활성물질, PVC, 가소제 및 THF 혼합용액의 농도, 온도, 용매 휘발시간 등 그때의 조건에 따라 다르므로 조건의 설정이 어려웠다. Avsec¹⁰ 등은 전기활성물질로서 ciprofloxacin 자체 또는 ciprofloxacin-NaTpB 이온회합성 화합물을 사용하였으나 본 실험에서는 Avsec 등의 방법과 비교하기 위하여 NF와 NF-PA를 각각 사용하였다. NF-PA를 사용한 경우 slope은 53~55 mV/dec. 이고, linear range $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}$ M, detection limit 2×10^{-5} M, response time 0.2~1.0분, life time 8주일 정도였다. 그러나, NF 자체를 전기활성물질로 사용한 전극의 감응특성은 slope은 48~50 mV/dec.였고, response time은 1.0~1.5분으로 다소 길었고, life time이 약 2주 정도로 NF-PA 전극에 비하여 훨씬 짧은 편이어서 사용하기에는 부적절하였다. 측정 시의 pH와 전기활성물질을 용해시키기 위한 용매 등은 ISE법과 같은 조건으로 하여 실험하였다. NF를 정량시 본 법은 DMSO 등의 용매와 PA 이온회합성 화합물과 NPOE를, Avsec 등은 tetra-

phenylborate 이온회합성 화합물과 DOP를 각각 사용한 점이다. 그러나 본 법에서 DOP는 예민성이 NPOE에 비하여 훨씬 낮았다. 그리고 slope은 본 법에서는 53~55 mV/dec., Avsec 등의 방법으로는 52~55 mV/dec.이고, 10^{-4} M에 대한 변동계수는 각각 2.5%, 3.4%로서 본 법이 Avsec 등의 방법에 비하여 감응성이나 재현성 면에서 우수함을 알 수 있었다.

결 론

1. 전기활성물질의 가소제에 대한 용해성 문제를 해결코자 DMF, DMSO, acetonitrile 혹은 acetone 등을 첨가하였으나, 각 용매에 대한 감응전극의 slope은 거의 비슷한 수준으로 나타났다.
2. 가소제는 이온회합성 물질의 종류에는 관계없이 NPOE가 가장 우수하였다.
3. 전기활성물질로서 PA, RnS, NaTpB 및 PTA 화합물이 비슷한 예민성을 보였다.
4. PA와 NPOE를 사용시 감응기울기는 53.03 mV/dec., linear range $10^{-5} \sim 10^{-3}$ M, detection limit 5×10^{-6} M, 재현성 1.9%(R.S.D), 전극의 감응시간은 20초 이내이었다.
5. 체제 분석이 가능하였으며, CW-ISE법에 적용시 기존방법보다도 재현성이 우수하였다.

문 헌

- 1) Andriole, The quinolones, 2nd Ed. Academic press, (1995).
- 2) Mishra, P. and Jain, S. A. : New colorimetric method for the estimation of norfloxacin in formulations. *Ind. J. Pharm. Sci.*, **54**, 114 (1992).
- 3) Xuguang, Z., Jianzhang, F. and Shenyang, T. : Charge transfer reaction and its application in the analytical chemistry. *Fenxi Huaxue*, **21**(2), 184 (1993).
- 4) Sastry, C. S. P., Rao, K. R., and Prasad, D. S. : Extractive spectrophotometric determination of some fluoroquinolone derivatives in pure and dosage forms. *Talanta*, **42**, 311 (1995).
- 5) Djurdjevic, P. T., Stankov, M. J. and Stankov, D. : Fluorescence reaction and complexation equilibria between norfloxacin and aluminium (III) ion in chloride medium. *Anal. Chim. Acta*, **300**, 253 (1995).

- 6) Jaber, A. M. Y. and Lounici, A. : Adsorptive differential-pulse stripping voltammetry of norfloxacin and its analytical application. *Analyst*, **119**, 2351 (1994).
- 7) Xunjian, L., Guonan, C., Dongcun, X., Shoujian, W., Jianfang, Z., Runqiang, J., Lizhu, D. and Lan, M. : The study of adsorptive voltammetry for norfloxacin. *Yaowu Fenxi Zazhi*, **15**, 33 (1995).
- 8) Mascher, H. J. and Kikuta, C. : Determination of norfloxacin in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, **812**, 381 (1998).
- 9) Carlucci, G. : Analysis of fluoroquinolones in biological fluids by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **812**, 343 (1998).
- 10) Avsec, H. and Gomiscek, S. : A study of the prospects for a ciprofloxacin PVC coated wire ion-selective electrode based on 4-quinolones. *Anal. Chim. Acta*, **268**, 307 (1992).
- 11) Guo, L., Wang, Y. Z. and Lim, J. : Preparation and application of an ion-selective electrode for norfloxacin. *Fenxi Huaxue*, **24**(3), 308 (1996).
- 12) Li, D. H., Wang, M. and Ping, Y. D. : Preparation and application of a poly(vinyl chloride) membrane-selective electrode for norfloxacin. *Fenxi Huaxue*, **24**(8), 931 (1996).