

금속 니트로소 R 염 착물을 이용한 염기성 의약품 선택성 전극의 특성

이미나 · 안문규[#]

경성대학교 약학과

(Received August 22, 2003; Revised September 22, 2003)

Potentiometric Characteristics of Nitroso-R-Salt-Metal Complex Based Basic Drug Selective Electrodes

Mi-Na Lee and Moon-Kyu Ahn[#]

Department of pharmacy, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

Abstract — Nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonic acid, disodium salt (NRS) was used as an organic ligand to prepare basic drug-selective polymeric membrane electrode. The sensing membrane of the electrode consisted of basic drug-metal(II)-NRS as an ion-exchanger site in a poly(vinyl chloride) matrix plasticized with 2-nitrophenyl octyl ether (NPOE). The metal ions used were Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Cu^{2+} . The electrodes exhibited fast and wide linear response in the basic drug concentration of 10^{-5} ~ 10^{-3} mol/l with a response slope of 50~60 mV/decade in a buffer solution of pH 4~8. The electrodes exhibited good selectivity for many basic compounds.

Keywords □ NRS complex, organic ligand, basic drug

이온 선택성 전극(Ion Selective Electrode, ISE)^{1,2)}법은 1906년 Cremer가 $[H^+]$ 측정용 유리막 전극을 사용하고, 1937년 Kolthoff가 Cl^- , Br^- 의 분석에 $AgCl$, $AgBr$ 의 원판을 전극으로 각각 사용하면서부터 시작되었고, 오늘날 PVC 등의 matrix에 이온 선택성 활성물질을 첨가한 polymeric liquid-membrane으로 발전되어 임상 분석, 환경 분석, 의약품 분석 등 여러 방면에 이용되고 있다.

NRS는 Van Klooster가 1921년 Co^{2+} 의 검출시약으로 처음 사용하였으나 Fe^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} 과도 수용성 음이온성 착물을 형성하여 이들 금속착물과 tetradecyldimethyl benzylammonium chloride와의 삼성분 착물을 naphthalene(또는 thiol cotton, silanized glass beads, C_{18} -bonded silica gel, Amberite XAD-4 resin, cellulose, silica gel, green tea leaves, polythioether foam 등)에 흡착시켜 분광광도법, 3차미분 분광광도법 또는 원자흡광도법으로 이들 금속이온을 정량³⁻⁶⁾하는데 이용하였다. 염기성 의약품의 ISE에 의한 분석은 전기활성물질을 사용하지 않은 방법도 보고되어 있으나,⁷⁻¹⁰⁾ 주로 tetraphenyl borate류, flavianic

acid, dipicrylamine, reinecke salt, 5-nitrobarbituric acid, Meyer 시약 등¹¹⁾을 이용하는 많은 방법이 보고되어 있다. 금속의 삼성분 착물을 이용하여 산성의약품을 정량 시 감응성에서나 직선성의 범위를 개선하고 있으나,^{11,12)} 염기성의약품에 적용한 예는 배위자가 무기음이온인 Meyer 시약, Dragendorff 시약, $Fe(SCN)_6^{3-}$ ¹⁵⁾ 및 reinecke salt등이 있다. 이에 유기 배위자로서 NRS는 4급 ammonium 화합물과 금속간의 삼성분 착물을 형성한다는데 착안하여 4급 ammonium 화합물 대신 염기성의약품과의 삼성분 착물을 만들고, 이를 전기활성물질로서 사용하여 phenothiazine계 등^{13,14)} 염기성의약품의 ISE를 시도하여 전위특성을 산성의약품의 경우와 비교검토하여 보고자 하였다.

실험방법

장치

Electrode body는 Phillips사의 IS-561, pH meter는 Orion사의 model 920A, pH electrode는 Orion사의 model 81-02 glass electrode, 기준전극은 Orion사의 model 90-01-00 $Ag/AgCl$ single junction electrode를 사용하였고, 그 외 일정 실험 조건하에서 동시에 여러 전극으로부터 데이터를 수렴하기 위해 고안된 16 채널 A/D converter와 실험 데이터를 수렴, 편집, 처리를 위

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 051-620-4882 (팩스) 051-628-6540
(E-mail) mkan@starkyungsoong.ac.kr

하여 Trigem 386+S(삼보) computer를 사용하였다. 원심분리기 는 Hani사의 table top multi-purpose centrifuge MF 550을 사용하였다.

시약의 조제

금속이온 용액으로는 $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $CoAc_2 \cdot 4H_2O$, $NiAc_2 \cdot 4H_2O$ 및 $CuAc_2 \cdot H_2O$ 를 물에 녹여 $5 \times 10^{-2} mol/l$ 용액 으로 하고, 0.01 mol/l EDTA로서 표정하여 사용하였다. 0.1 mol/l 초산 완충용액은 0.1 mol/l NaAc 용액에 HCl 용액을 가하여 pH 4.5로 조정해서 사용하였고, 0.1 mol/l 인산 완충용액은 0.1 mol/l KH_2PO_4 용액에 NaOH를 가하여 pH 8.0로 하였으며, 0.1 mol/l 붕산 완충용액은 0.1 mol/l $Na_2B_4O_7$ 용액을, pH 10 암모니아 완 충용액은 0.1 mol/l NH_4OH 용액에 0.1 mol/l NH_4Cl 용액을 가 해서 pH 10으로 하여 사용하였다. NRS 용액은 NRS를 물에 녹 여 $5 \times 10^{-2} mol/l$ 용액으로 조제하여 사용하였다.

전기 활성 물질의 제조

$5 \times 10^{-2} mol/l$ 금속이온 용액 5 ml에 $5 \times 10^{-2} mol/l$ NRS 15 ml 를 pH 4.5 초산 완충용액 중에서 혼화하여 각 금속의 착물을 만 든 다음(Ni^{2+} : pH 8.0 인산 완충액 사용), 여기에 $3 \times 10^{-2} mol/l$ 염기성의약품 용액 20 ml를 첨가하여 생성된 침전을 여과하고 세척한다. 각 삼성분 착물을 데시케이터에서 건조하고, 분말로 하여 사용하였다.

액체막 전극의 조립

이온교환체를 사용하지 않은 시스템에서의 PVC 액체막 제조 시에는 가소제/매트릭스로만 2/1의 비율로 취하고, 이온교환체 시 스템의 액체막 제조시에는 전기 활성 물질의 양을 2 w/w%로 고 정하고 가소제/매트릭스의 비율이 2/1이 되도록 정확히 취하여 각각을 2 ml의 THF에 녹인 후 이를 유리관(직경: 22 mm)에 부 었다.

유리관 위에 여과지를 올린 후 넓은 판을 올리고 이를 데시 케이터에 이틀동안 상온에 방치하여 THF를 휘발시켜 투명한 막 을 얻었으며 직경 7 mm로 잘라 이온 선택성 전극의 조립에 사 용하고 내부 충전용액은 $10^{-2} mol/l$ 의 NaCl과 의약품혼합용액을 사용하였다.

이를 $10^{-3} mol/l$ 염기성의약품이 함유된 0.1 mol/l 초산완충 용액(pH 4.5) 또는 0.1 mol/l 인산완충용액(pH 8.0)에 하룻동안 담근 후 사용하였으며 사용하지 않을 때는 동일한 용액에 보관 하였다.

정량법

기준전극과 지시전극을 0.1 mol/l 초산 완충액 또는 인산 완충 액에 담근 후 전위차계와 연결하고, 전위값을 $\pm 0.2 mV/min$ 으로

안정시킨 후 일정 농도의 각 염기성의약품 용액을 일정 간격으 로 넣어 전위값을 측정하여 염기성의약품에 대한 검정곡선을 구 하였다.

결과 및 고찰

금속이온의 영향

각 금속의 NRS 착물은 Fe^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} 은 pH 4.5 초산 완 충액 중에서, 그리고 Ni^{2+} 은 pH 8.0의 인산 완충액 중에서 만 들고, 이들의 조성은 각각 Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} 은 1:3, Cu^{2+} 는 1:2 이었다. NRS의 삼성분 착물의 조성을 확인한 결과 금속착물 과 chlorpromazine(CPZ) 간에 1:2(Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+})와 1:1 (Cu^{2+})였으며, 이는 Na^+ 가 금속착물의 bulky anion⁶⁾에 회합한 것으로 생각된다. 선택성 전극의 pH 영향은 Fig. 1과 같다. 전기 활성물질 중의 금속이온 종류에 따른 감응성은 Fe, Cu, Co, Ni 을 사용한 전극에서는 비교적 높게 나타났으나 Zn과 Cd는 너무 낮게 나타나 선택성 전극으로 사용하기엔 부적절하였다. 이는 산 성의약품 정량시와 같은 양상을 보여주었다.¹²⁾ Promazine 정량시 NPOE에 첨가제 potassium tetrakis(4-chlorophenyl) borate(T) 를 첨가한 Fe^{2+} 착물은 slope이 52.5, Co^{2+} 는 49.2, Cu^{2+} 는 49.8 mV/dec이었으나, Ni^{2+} 은 50 mV/dec 이하로서 선택성 전극으로 는 부적당하였다. CPZ은 Fe착물인 경우 NPOE(T), bis(2-ethylhexyl)sebacate(DOS)와 tricresyl phosphate(TCP)에서만 slope이 각각 50.48, 50.14, 50.50 mV/dec로서 선택성 전극으로 적당하였다. 첨가제를 첨가 시 첨가하지 않은 전극에 비하여 훨씬 slope이 크게 나왔는데 이는 이 시약 자체의 염기성 의약품 과의 착물형성능에 기인한 것이라고 생각된다. 한편 amitriptyline, nortriptyline, quinine 등은 slope이 30 mV/dec 이하이었다. 이상 으로 미루어보면 Fe^{2+} 를 사용 시 가장 양호한 결과를 얻을 수

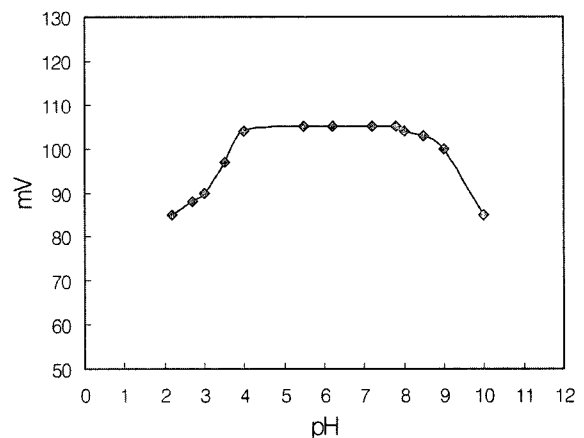


Fig. 1 - Effect of pH on the response of chlorpromazine-selective electrode which was plasticized with NPOE(T). Fe(II)-Nitroso R salt complex ion was employed as a counter ion.

있었고, 이는 산성의약품을 정량 시와 같은 양상을 보여 주었다. 각 전극의 감응시간은 10^{-3} mol/l 이상의 농도용액에선 약 30초, 10^{-3} mol/l 이상의 농도용액에서 약 60초를 나타내었으며, 평균수명은 선택성전극의 전위가 약 ± 0.2 mV 이내에서 유지하는 것을 기준으로 하였을 때 약 20일이었다.

가소제의 선택

이온선택성 전극의 막은 일반적으로 가소제의 비율을 PVC의 약 2배로 한다. 그러나 때에 따라서는 전혀 다른 비율에서 최적의 성능을 발휘하기도 한다. 금속착물을 이용한 이온교환체로서 산성의약품과 금속이온을 각각 정량 시 대부분의 경우 nitro group이 함유된 가소제가 우수하였다. 본 실험에서의 가소제는 NPOE, TCP, DOS의 순으로 slope이 높게 나타났고, 첨가제 T를 함유한 경우 가소제의 종류에 상관 없이 slope은 월등하게 높게 나타났다. Ferric thiocyanate¹⁵⁾를 대 이온으로 사용시 가소제는 diethylhexyl phthalate(DEHP), reineke salt¹¹⁾ 역시 DEHP가 우수하였다고 보고되어 있다. NRS의 금속 삼성분 착물을 이용한 염기성의약품 정량 시 금속 삼성분 착물을 이용한 금속이온 정량시의 가소제 선택경향과는 비슷한 양상을 보였으나, HgI_4^{2-} 나 reineke salt를 사용 시와는 전혀 관련성이 없는 다른 경향을 보였다.

검정곡선

각 선택성 전극의 염기성의약품에 대한 linear range와 slope을 나타낸 검량선과 감응성은 Fig. 2와 Table I~III와 같다.

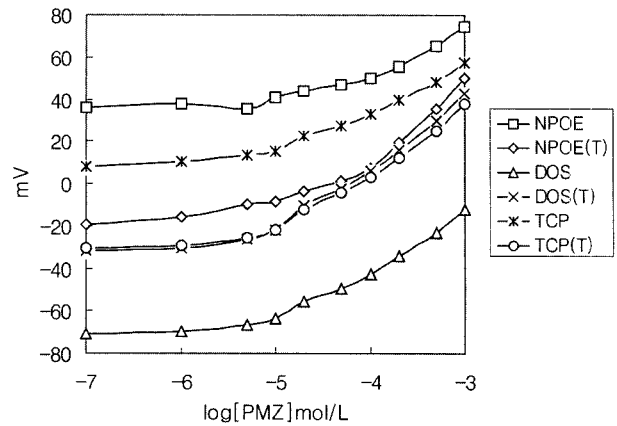


Fig. 2 - Calibration curves for chlorpromazine measured with Fe(II)-NRS-promazine based PVC membrane electrode (in 0.1 mol/l acetate buffer solution, pH 4.5).

재현성

25 mg/100 ml 농도의 chlorpromazine 용액 10 ml를 미리 전위차를 측정한 50 ml 완충액(pH 4.5 또는 8.0)에 넣어 전위차를 측정 한 다음 그 회수율을 구한 결과는 Table IV와 같이 Fe 착물을 사용한 경우 회수율 99.35%, 상대표준편차는 2.8%이었다.

선택계수

각 의약품선택성전극으로 lactose 등 부형제와 procain, dopamin 등이 공존 시 선택계수를 구한 결과는 Table V과 같았다. Procain, dopamine 등은 영향이 많았으나 lactose 등은

Table I - Response characteristics of Co(II)-NRS-chlorpromazine based PVC membrane electrodes

Plasticizer	Slope (mV/dec.)	Correlation coefficient	Lower limit of linear range (mol/l)	Detection limit (mol/l)	Working pH
NPOE	40.2	0.995	5×10^{-5}	10^{-5}	4~8
NPOE(T)	49.2	0.998	5×10^{-5}	10^{-5}	4~8
DOS(T)	49.9	0.999	5×10^{-5}	10^{-5}	4~8

T : added potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate as additives.

Table II - Response characteristics of Cu(II)-NRS-chlorpromazine based PVC membrane electrodes

Plasticizer	Slope (mV/dec.)	Correlation coefficient	Lower limit of linear range (mol/l)	Detection limit (mol/l)	Working pH
NPOE	43.2	0.996	5×10^{-5}	10^{-5}	4~9
NPOE(T)	49.8	0.998	5×10^{-5}	10^{-5}	4~9

T : added potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate as additives.

Table III - Response characteristics of Fe(II)-NRS-chlorpromazine based PVC membrane electrodes

Plasticizer	Slope (mV/dec.)	Correlation coefficient	Lower limit of linear range (mol/l)	Detection limit (mol/l)	Working pH
NPOE	37.9	0.983	5×10^{-5}	10^{-5}	4~7
NPOE(T)	50.4	0.995	5×10^{-5}	10^{-5}	4~7
DOS(T)	50.1	0.996	5×10^{-5}	10^{-5}	4~7
TCP(T)	50.5	0.994	5×10^{-5}	10^{-5}	4~7

T : added potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate as additives.

Table IV – Recovery test results of chlorpromazine measured with ISE in which metal-ligand complex was employed as a counter ion (in 0.1 mol/l buffer solution, pH 4.5 or 8.0, plasticizer; NPOE(T))

Metal	Fe	Co	Ni	Cu
Found (% ±R.S.D [#])	99.35±2.8	98.54±2.9	98.25±3.9	98.79±2.9

[#]Relative standard deviation (n=7).

Table V – Potentiometric selectivity coefficients K for various compound when determined with metal (Fe, Co, Cu)-NRS-promazine complex based membrane electrodes

Interferant, B	Metal	Fe	Co	Cu
Lactose		1.2×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²
Glucose		1.3×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²	1.1×10 ⁻²
Fructose		1.2×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²	1.3×10 ⁻²
Procaine		1.2×10 ⁻¹	1.3×10 ⁻¹	1.2×10 ⁻¹
Dopamine		1.1×10 ⁻¹	1.1×10 ⁻¹	1.2×10 ⁻¹

Plasticizer : NPOE(T).

Measured at 10⁻³ mol/l chlorpromazine solution in 0.1 mol/l-acetate buffer pH 4.5.

Table VI – Determination of chlorpromazine in pharmaceutical preparations (Fe-ligand-complex as a counter ion, 0.1 mol/l-acetate buffer pH 4.5, plasticizer : NPOE(T))

Product	Tablet			Injection
	A Co.	B Co.	C Co.	D Co.
Nominal content	100 mg	25 mg	100 mg	25 mg
Found (% ±R.S.D [#])	98.24±2.9	97.87±3.1	98.73±2.9	97.81±3.0

[#]Relative standard deviation (n=7).

10⁻² K_{drug, B}^{pot} 정도를 나타내어 좋은 선택성을 보였다.

시료분석

CPZ 25 mg에 해당하는 정제 또는 주사제를 취하여 0.1 mol/l acetate 완충액(pH 4.5)에 용해시킨 다음 전량 100 ml 되도록 물로 희석하였다. 이 용액 10 ml를 미리 전위값을 측정한 0.1 mol/l acetate 완충액(pH 4.5) 50 ml에 넣어 혼합한 다음 Fe(II)-NRS-CPZ 삼성분 착물을 사용한 CPZ 선택성 전극으로 그 전위를 측정한 후 검정곡선으로부터 정량한 결과 정제로부터 97.81~98.73%의 회수율과 상대표준편차 2.9~3.1%를 얻었다(Table VI).

결론

1. NRS를 사용한 전극은 phenothiazine계 의약품에 적용할 수 있었으나 다른 염기성 의약품의 선택성 전극으로는 이온교환체 자체의 생성문제로 부적합하였다.

2. 선택성 전극의 전위차 측정은 금속으로서 Fe, Co, Cu의 경우는 pH 4.5의 아세테이트 완충용액 중에서 Ni의 경우는 pH 8.0

의 인산 완충용액 중에서 측정하였고, 금속이온 중에서 Fe²⁺를 사용시 slope이 가장 크게 나타나, 산성의약품을 정량시와 같은 결과를 얻었다.

3. 가소제는 phenothiazine계 의약품의 경우 nitro group을 가진 NPOE계가 우수하여 역시 산성의약품을 정량시와 같은 양상이었다.

4. Lactose, glucose, fructose 등의 부형제 공존시 분석성분보다 약 100배 mol 정도에서도 정량가능 하였다.

5. 시판제제 중 CPZ의 정제와 주사제는 Fe 착물을 전기활성 물질로서 사용하여 정량시 회수율 97.81~98.73%, 상대표준편차 2.9~3.1%의 결과를 얻었다.

문헌

- 1) Amman, D. : Ion-selective microelectrodes, principles, design and application, Springer-Verlag Germany (1986).
- 2) Spichiger-Killer, U. E. : Chemical sensors and biochemical sensors for medical and biological applications. Wiley-VCH (1998).
- 3) Ali Taher, M. : Preconcentration of trace nickel with the ion pair of disodium 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonate and tetradecyldimethylbenzylammonium chloride on microcrystalline naphthalene or by the column method and determination by third derivative spectrophotometry. *Talanta* **50**, 559 (1999).
- 4) Ali Taher, M. : Derivative spectrophotometric determination of cobalt in alloys and biological samples after preconcentration with the ion pair of disodium 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonate and tetradecyldimethylbenzylammonium chloride on microcrystalline naphthalene or column method. *Anal. Sci.* **16**, 501 (2000).
- 5) Liu, X. and Fang, Z. : Flame atomic absorption spectrometric determination of cobalt in biological materials using a flow-injection system with on-line preconcentration by ion-pair adsorption. *Anal. Chim. Acta* **316**, 329 (1995).
- 6) Zhang, L. and Terada, K. : Spectrophotometric Determination of cobalt (II) in water after preconcentration by sorption of its nitroso R complex with poly(chlorotrifluoroethylene)resin. *Anal. Sci.* **10**, 161 (1994).
- 7) Craggs, A., Moody, G. J., Thomas, J. D. R. : PVC matrix membrane ion-selective electrodes. *J. Chem. Ed.* **51**, 8 (1974).
- 8) Eugster, R., Rosatzin, T., Rusterholz, B., Aebersold, B., Pedrazza, U., Ruegg, D., Schmid, A., Spichiger, U. E. and Simon, W. : Plasticizers for liquid polymeric membrane of ion-selective chemical sensors. *Anal. Chim. Acta* **289**, 1 (1994).
- 9) Suzuki, H., Nakagawa, H., Mifune, M. and Saito, Y. : A widely applicable electrode sensitive to basic drugs based on poly(vinyl chloride) membrane plasticized with tricresyl

- phosphate. *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1123 (1993).
- 10) Takashi, M., Toshihiko, I., Shin-ichi, W., Kunishige, H. and Yasukazu, A. : Relationship between the hydrophobicity of cations and the cationic response of a plasticized poly(vinyl chloride) membrane electrode with no added ion-exchanger. *Anal. Sci.* **16**, 383 (2000).
 - 11) Cosofret, V. V. and Buck, R. P. : Pharmaceutical application of membrane sensor. CRC press. U.S.A. (1992).
 - 12) Ahn, M. K., Oh, W. J., Lee, E. K., Lee, J. Y., Jung, M. M. and Hur, M. H. : Determination of acidic drug with ISEs using ternary complex of metal-di-2-pyridyl ketone oxim-acidic drug as ion-exchanger. *Yakhak Hoeji* **46**, 320 (2000).
 - 13) Puzanowska-Tarasiewicz, H. and Karpinska, J. : Determination of phenothiazines in drugs. *Pharmazie* **45**, 887 (1992).
 - 14) Karpinska, J., Starczewska, B. and Puzanowski-Tarasiewicz, H. : Analytical properties of 2,10-disubstituted phenothiazine derivatives. *Anal. Sci.* **12**, 161 (1996).
 - 15) Mostafa, G. A. E. : PVC matrix membrane sensor for potentiometric determination of cetylpyridium chloride. *Anal. Sci.* **17**, 1043 (2001).