

點眼劑中 4-Morpholine Carboximidoylguanidine Hydrochloride의 分離定量

羅 雲 龍

서울大學校 藥學大學

A Study on the Isolative Determination of 4-Morpholine Carboximidoylguanidine Hydrochloride in Ophthalmic Solutions

Woon Lyong Lah*

(Received May 13, 1974)

The isolative determination of 4-Morpholine carboximidoylguanidine Hydrochloride in the ophthalmic solutions was examined by means of colorimetric method using oxidized nitroprusside and sodium hypobromite.

According to the results, the following could be summerzied.

- 1) The wave length of maximun absorption in 650 m μ .
- 2) Beer's Law is obeyed for 20~80 mcg/ml in colored solutions.
- 3) Absorptions of colored solutions must be measured 5 minutes after the addition of oxidized and 5 minutes after the completion of sodium hypobromite.
- 4) 4-Morpholine carboximidoylguanidine hydrochloride can be determined within standard deviation 2.0%.

緒 論

A. B. O. B. 는 1957年頃에 合成된 4-Morpholine carboximidoylguanidine hydrochloride

* College of Pharmacy, Seoul National University.

로서 1960年頃에 抗바이러스作用¹⁾이 報告된 後 influenza治療에 使用되었으며 最近에는 바이러스性眼科疾患에 使用되고 있다.

A. B. O. B.의 定量法으로서는 非水摘定法^{2,3)}, 紫外部分光度法⁴⁾, 螢光光度法⁵⁾ 등이 報告된 바 있고 比色法으로서는 oxidized nitroprusside에 依하여, alkali性에서 guanido部位를 赤色으로 呈色시키므로서 解熱鎮痛劑中에서 分析한 報告⁷⁾가 있으나 點眼劑에 對한 定量法은 없었기에 著者は oxidized nitroprusside 및 hypobromite에 依하여 A. B. O. B.의 guanido部位가 綠色으로 發色하는 것을 알고 이를 利用하여 複合點眼劑中의 A. B. O. B.의 分離定量을 試圖하여 結果를 얻었기에 報告한다.

實 驗 方 法

1. 試藥, 試液 및 測定裝置

A) A. B. O. B. ……4-Morpholine carboximidoylguanidine hydrochloride를 105°C에서 4時間 乾燥한 純品을 非水摘定으로 定量하여 含量 99.5% 以上인 것을 使用하였음.

B) Sodium nitroprusside ……特級試藥

C) Potassium ferricyanide ……特級試藥

D) Sodium hydroxide ……特級試藥

E) Bromine ……特級試藥

F) 10% Sodium nitroprusside液 ……Na₂[Fe(CN)₅NO] 10 g을 물에 녹여 100 ml로 한다.
(冷暗所에서 2個月間 安定)

G) 10% Sodium hydroxide液 ……NaOH 10 g을 물에 녹여 100 ml로 한다(polyethylene bottle에 密栓保管).

H) 10% Potassium ferricyanide液 ……K₃[Fe(CN)₆] 10g을 물에 녹여 100 ml로 한다(冷暗所에서 2個月 安定).

I) Oxidized nitroprusside液 ……10%-sodium nitroprusside液, 10%-potassium ferricyanide液 및 10%-sodium hydroxide液을 各各 10 ml씩 取하여 混合하고 30分間 放置하여 液이 맑은 黃色을 나타낼 때 물을 加하여 100 ml로 한다(用時調劑).

J) Sodium hypobromite液 ……Sodium hydroxide 10 g을 물 400 ml에 녹이고 bromine 5.5 ml을 加하여 흔들어 녹이고 물을 加하여 500 ml로 한다.

K) Ether (aldehyde free) ……Ether(特級試藥)를 再蒸溜하여 初溜液 및 最後의 10%에 該當하는 部分을 비린것.

L) 測定裝置 ……Hitachi Perkin-Elmer, UV-VIS Spectrophotometer Coleman 139

Type

2. 定 量 法

- 1) 檢液 및 標準液의 調製……A. B. O. B. 約 20 mg에 該當하는 量을 精取하여 水를 加하여 正確히 50 ml로 한다. 이 液 10 ml를 取하여 水를 加하여 50 ml로 하고 이를 檢液으로 한다. 따로 A. B. O. B. 標準品 約 20 mg을 精取하여 檢液과 같이 操作하여 이를 標準液으로 한다.
- 2) 操 作……標準液 및 檢液을 各各 5 ml씩을 正確히 取하여 試驗管에 옮기고 oxidized nitroprusside 液 1 ml을 加하고 正確히 5分間 放置한 後 sodium hypobromite 液 4 ml를 加하여 때때로 흔들면서 正確히 5分間 放置한다. 따로 水를 使用하여 위와 같이 操作한 液을 對照로 하여 層長 10mm, 波長 650m μ 에서 檢液 및 標準液의 吸光度를 測定한 다음 아래의 式으로 含量을 算出한다.

$$\text{A. B. O. B. 의 量(mg)} = \text{標準品の 量(mg)} \times \frac{\text{ET}}{\text{ES}}$$

ES: 標準液의 吸光度

ET: 檢液의 吸光度

實驗結果 및 考察

1. 吸收曲線

標準液(80 mcg/ml)을 가지고 實驗 方法의 2-2에 準하여 發色시킨 다음 可視部吸收 spectrum을 測定한 結果 Fig. 1. 과 같이 波長 650m μ 에서 吸收極大를 나타냈다.

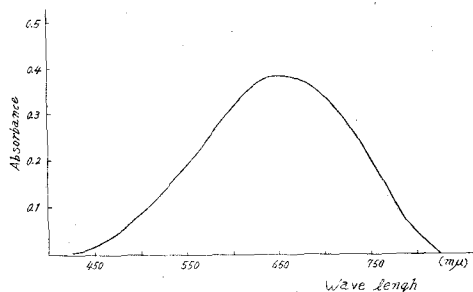


Fig. 1. Absorption spectrum of the colored solutions.

2. 檢量線의 作成

A. B. O. B. 標準品을 水에 녹여 40, 80, 120, 160 및 200 mcg/ml의 液을 調製하여 實驗方法

의 2-2) 準하여 發色시킨 다음 各各의 吸光度를 測定하여 濃度와 吸光度의 關係를 보면 Fig. 2. 와 같이 最終濃度 20~80 mcg/ml의 範圍에서 Beer's法則이 成立된다.

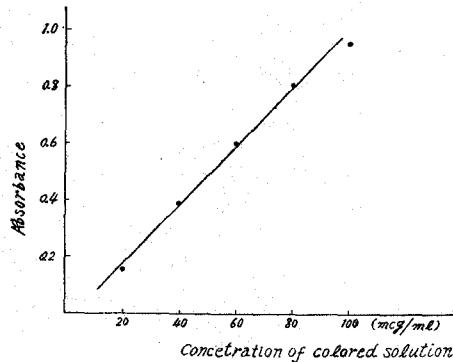


Fig. 2. Calibration curve of A.B.O.B. at 650m μ .

3. 放置時間의 檢討

標準液(80mcg/ml)을 갖이고 實驗方法의 2-2에 準하여 發色시킨 다음 sodium hypobromite液을 加한 다음 時間의 經過에 따르는 吸光度의 變化를 檢討한 結果는 Fig. 3. 와 같으며 sodium hypobromite液을 加하고 5分後가 가장 吸光度가 높았다.

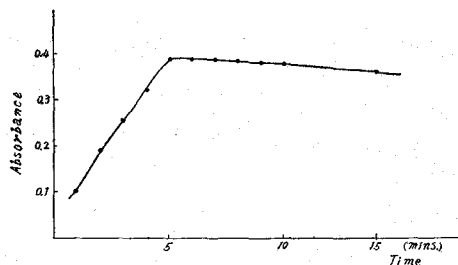


Fig. 3. Effect of standing time after the addition of sodium hypobromite.

4. 共存物質의 影響

共存物質의 影響을 檢討하기 위하여 10種의 藥品에 對하여 Table 1. 과 같은 比率로 配合하여 實驗方法의 2-2에 準하여 定量한 結果는 Table 1. 右端에 表示한 바와 같다. 이 때 naphazoline hydrochloride는 positive方向으로 妨害를 받았다.

Table 1. Influence of various ingredients.

Components	Coexisting Ratio	Found(%)
Chondroitine sodium sulfate	1 : 0.5	98.8
Dipotassium glycyrrhizinate	1 : 0.5	99.0
Chlorpheniramine maleate	1 : 0.1	101.2
Diphenhydramine HCl	1 : 0.1	98.8
Naphazoline HCl	1 : 0.1	105.2 (99.2)
Thimerosal	1 : 0.1	99.2
Borneol	1 : 0.1	98.8
Sodium chloride	1 : 1	100.5
Boric acid	1 : 1	100.5
Potassium chloride	1 : 1	100.0

5. 妨害物質의 除去

Naphazoline hydrochloride의 共存時……A. B. O. B. 約 20 mg에 該當하는 量을 精取하여 水를 加하여 50 ml로 한다. 이 液 10 ml을 取하여 分液瀝斗에 넣고 0.1N-NaOH 10 ml을 加하고 ether 15 ml, 5 ml, 10 ml씩을 加하여 振盪抽出하고 ether層을 捨쳐 水 10 ml씩으로 2回 洗滌한다. 이 水層을 捨하고 水를 加해서 50 ml로 하여 檢液으로 한다. 따로 標準品 A. B. O. B. 約 20 mg을 精取하여 上記한 바와 같이 操作하여 標準液으로 하고 以下 實驗方法의 2-2에 準하여 naphazoline hydrochloride 共存時에 定量한 結果는 Table 1.의 右端中 괄호內의 數値와 같다.

6. 調製試料의 分析

複合製劑에서 A. B. O. B.의 分離定量 可能性을 檢討하기 위하여 Table 2.와 같은 比率로 配合한 調製試料中 試料 A, B는 實驗方法의 2-2에 準하고 試料 C는 實驗結果 및 考察 5.에 準하여 定量한 結果는 Table 2.의 下端에 表示한 바와 같다.

그밖에 pH는 alkali性에서 安定하여 檢討의 餘地가 없으며 溫度는 常溫에서 安定하였다.

Table 2. Analytical results of mixed preparations

Components	A	B	C
Chondroitine sodium sulfate	100 mg	200 mg	750 mg
Dipotassium glycyrrhizinate	300 mg	300 mg	
Naphazoline HCl			3 mg
Vitamine A	50,000 IU		
Chlorpheniramine maleate		10 mg	10 mg
Borneol	3		2
Potassium chloride			

Boric acid	2,000		
Sodium chloride			
A. B. O. B.	5,000	5,000	5,000
added water	100 ml	100 ml	100 ml
n	9	9	9
Found(%)	101.2	98.8	99.4
Standard deviation(%)	1.4	1.2	1.7

結 論

複合點眼劑中 A. B. O. B. 의 分離定量을 試圖코자 本實驗을 行하였던 바 아래와 같은 結果를 얻었다.

- 1) 呈色된 液의 極大吸收波長은 650m μ 이다.
- 2) 本實驗方法으로 定量possible한 最終濃度는 20~80 mcg/ml이다.
- 3) 吸光度測定時間은 各 發色試液을 加한 5分後가 適當하다.
- 4) 複合點眼劑의 分析에 本法을 應用하여 標準偏差 $\pm 2.0\%$ 以內의 分析結果를 얻었다.

끝으로 本實驗을 實施함에 있어 直接協力하여 주신 國立保健研究院 藥品部 李啓胃 研究官外 關係職員 여러분들께 感謝드리는 바이다.

文 獻

- 1) Melander (A/B Kabi, Stockholm); *Antibiotics & Chemotherapy*, **10**, 34 (1960)
- 2) Fritz, T.S.; *Acid-Base Titration in Non-Aqueous Solvents*, G.F. Smith Chemical Co., Ohio (1952)
- 3) Hillenbrand E.F.; *et al.*; *Pentz Organic Analysis*, Vol. III, Interscience New York London, p. 145~148 (1956)
- 4) Thomas L.F., *et al.*; *Anal. Biochem.*, **2**, 231 (1961)
- 5) Halina Sledlanowska; *Acta Poln. Pharm.*, **21** (1), 33 (1964)
- 6) H. J. Koerting; *Math Naturweiss Reiche.*, **15** (3), 661 (1966)
- 7) C. H. Lee, *Bull. K. H. ; Pharma. Sci.* **1**, (1973)