

메칠오렌지에 의한 말레인산클로르페니라민의 분광광도 정량

全仁九

동덕여자대학 약학과

(1986년 9월 24일 접수)

Spectrophotometric Determination of Chlorpheniramine Maleate with Methyl Orange

In Koo Chun

Department of Pharmacy, Dongduck Women's University

(Received September 24, 1986)

A singly charged methyl orange (MO) anion was found to be extracted with chlorpheniramine maleate (CPM) as a 1:1 complex in chloroform. Of various solvents, MO-chloroform system gave a yellow color for CPM, while in the absence of CPM, an organic phase showed almost no color. In this way, the spectrophotometric method was investigated for the determination of CPM by solvent extraction. The addition of alcoholic bolic acid solution to the solvent extract gave a higher color stability and transparency at least 5 days, but the extract alone lost its color intensity significantly. CPM is determined by measuring the absorbance of the extracts over a range of $1\sim 7\times 10^{-4}$ M ($39\sim 273\ \mu\text{g/ml}$) in aqueous solution at 423 nm. The molar absorptivity was $2,26\times 10^3\ \text{l, mol}^{-1}, \text{cm}^{-1}$. The absorbance of the extract was constant in the range of pH 3.7~4.6. This novel method was applied for the determination of CPM in artificial and commercial preparations in comparison with the analytical method of CPM tablets in K.P.IV. The results obtained showed that the former was better in accuracy and time consumption than the latter.

말레인산클로르페니라민 (이하 CPM으로 약함)은 pyridine 핵을 갖는 제 3급 아민의 항히스타민제로서 單味 또는 종합감기약 등의 여러 복합제에 널리 사용되고 있다.

CPM의 비색정량법으로는 Reinecke salt 법¹⁾, picric acid 법²⁾, König 반응을 응용한 방법³⁾, 이의 개량법인 cyanogen bromide · p-anisidine 법⁴⁾, cyanogen bromide · aniline 법⁵⁾, chlorocyan 및 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone을 이용한 정량법⁶⁾, cobalthiocyanate에 의한 비색정량법⁷⁾ 등이 보고되어 있다. 그밖의 정량법으로는 계면

활성제에 의한 적정⁸⁾, 자외부흡광도 측정법⁹⁾, 유화비스마스로 침전시킨 후 chelate 적정하는 방법¹⁰⁾, 가스크로마토그래프법¹¹⁾ 및 고속액체크로마토그래프법¹²⁾ 등이 있다.

Reinecke법 및 picric acid법은 복합제제의 경우 공존성분의 영향으로 장애를 받으며 König 반응을 응용한 비색법은 감도가 나빠 실제 응용이 어렵다. 한편 개량법인 BrCN · p-anisidine 법⁴⁾ 과 BrCN · p-aniline 법⁵⁾은 감도가 좋고 실용적인 방법이나 aminopyrine 등 pyrazolone계 해열진통제가 다량 공존한 경우 正의 오차가 생기며 특히

dl-methylephedrine의 존재는 정량을 어렵게 한다. 또 chlorocyan⁶⁾을 이용하는 방법은 염산피리독신과 riboflavin의 공존시 현저한 영향을 받으며 추출등 분리조작이 필요하며 cobalthiocyanate⁷⁾를 이용한 착체 형성법은 수층으로부터 착체의 용매 추출시 pH 의존성이 크며 비색조건에 따라 흡광도의 변동이 있다.

한편 아민, 알카로이드 및 4급 암모늄염의 정량에 bromothymol blue¹³⁻¹⁶⁾, bromophenol blue¹⁷⁾, bromocresol green¹⁸⁾ 등의 diprotonic acid가 응용 되었으나 수층으로부터 추출시 해리가 일어나 pH 의존성이 매우 크며 재현성이 좋지 않다.

이러한 점을 개선코저 단일 전하의 tetra-bromophenolphthalein ethyl ester (TBPE)¹⁹⁻²²⁾가 응용되어 아민¹⁹⁾, 알카로이드²⁰⁾, 4급 암모늄염²¹⁾ 등과의 molecular complex 또는 ion pair로서 예민하게 추출할 수 있었으나 많은 onium 화합물에 대하여 선택성이 결여 되었다. 이에 대해 1개의 acidic group을 갖는 2,6-dichlorophenol indophenol (DCIP)이 benzethonium²³⁾과 berberine²⁴⁾의 정량에 선택적으로 응용되었고, 산-염기의 적정지시약으로 널리 사용되는 methyl orange (이하 MO로 약함)가 pipethanate hydrochloride의 정량법²⁵⁾에 사용되었다. 그러나 색소를 이용한 CPM의 분석법은 보고된 바 없다.

저자는 종래의 CPM 정량법과 K.P.IV의 말레인산클로르페니라민정의 정량법의 조작이 복잡하고 재현성이 떨어지는 점을 감안하여 보다 신속하고 정확한 분석법을 개발하고자 MO를 사용하여 CPM의 분석법을 검토하고 인공처방 및 시판 CPM 정의 분석에 응용하였던 바 양호한 결과를 얻었다.

실험방법

기기 및 장치

spectrophotometer (DigiSpec, serial No. 60375, Helena H Laboratories 및 Beckman model 25, recorder 부착) 및 pH meter

(model 303, Nova Scientific Co.) 등을 사용하였다.

재료 및 시약

CPM (K.P.IV), MO (특급, Tokyo Kasei), chloroform (특급, Wako Pure Chem. Ind. Co.), 붕산 (일급, Shinyo Chem. Co. Ltd.), 무수에탄올 (특급, E. Merck) 등을 사용하였으며 기타 시약은 시판 일급 또는 특급품을 사용하였다.

0.2% MO 용액; MO를 건조한 후 0.2g을 달아 물을 넣어 녹이고 100 ml로 하였다. McIlvaine 원충액 (pH 4.0); 0.2M 인산일수소나트륨 용액에 0.1M 구연산 용액을 넣어 pH 4.0의 원충액을 조제하였다. 기타 pH가 다른 원충액도 같은 방법으로 조제하였다. pH 조절은 각기의 산 또는 알칼리를 사용하여 행하였다. alcoholic boric acid 용액; 붕산 1.3g에 무수에탄올을 넣어 가온하여 녹이고 100 ml로 하였다. CPM 표준원액; CPM 120mg을 정밀히 달아 물을 넣어 1 l로 한 것을 표준원액으로 하였다 (3.07×10^{-4} M). 실제 표준액은 이 원액을 실험에 필요한 농도로 희석하여 조제하였다.

표준 조작법

CPM 표준원액 (3.07×10^{-4} M) 3 ml, 0.2% MO 용액 3 ml 및 원충액 (pH 4.0) 10 ml를 분액여두에 넣고 섞은 다음 chloroform 25 ml를 정확히 취하여 넣고 3 분간 흔들어 추출하였다. 수층과 유층을 분리시킨 후 chloroform 추출액 15 ml를 정확히 취하여 25 ml 용량 플라스크에 넣고 알코올성 붕산 용액 5 ml 및 무수에탄올을 넣어 표선까지 채워 흔들어 섞은 다음 reagent blank 또는 chloroform를 대조로 하여 423 nm에서 흡광도를 측정하였다.

제제 중의 CPM 정량

임의의 처방 또는 시판 CPM 제제를 달아 가루로 하고 CPM으로서 약 3 mg에 해당하는 양을 정밀히 달아 물을 넣어 10분간 진탕한 후 100 ml로 하였다. 이 액을 여과하고 여액 3 ml를 취하여 상기 표준 조작법과 동일하게 조작하고 reagent blank를 대조로 하여 흡광도 E_T 를 측정하였다. 따로 CPM 표준액 ($30 \mu\text{g/ml}$) 3 ml에 관하여 동일한 조작을 행하고 흡광도 E_s 를 측정하여 표준

품의 양 $(3\text{ mg}) \times E_T/E_S$ 의 값으로부터 시료 중의 CPM 을 정량하였다.

실험결과 및 고찰

정색액의 흡수곡선

CPM 표준용액 ($100\ \mu\text{g/ml}$) 3ml 를 취하여 표준 조작법에 따라 추출하여 조작한 정색액에 대하여 파장 350~500 nm 에서 흡수 spectra 를 측정 한 결과는 Fig.1과 같다. 곡선 1 및 2 는 각각 水相中에 CPM 이 존재한 경우와 존재하지 않은 경우로 chloroform 을 대조로 하여 측정 한 것이다. 정색액의 흡수 극대파장은 423 nm 이며 물 흡광계수는 $2.26 \times 10^5\ \text{l, mol}^{-1}, \text{cm}^{-1}$ 이었다. 이러한 추출 현상은 MO 와 CPM 간의 complex 로서 추출된다고 생각된다.

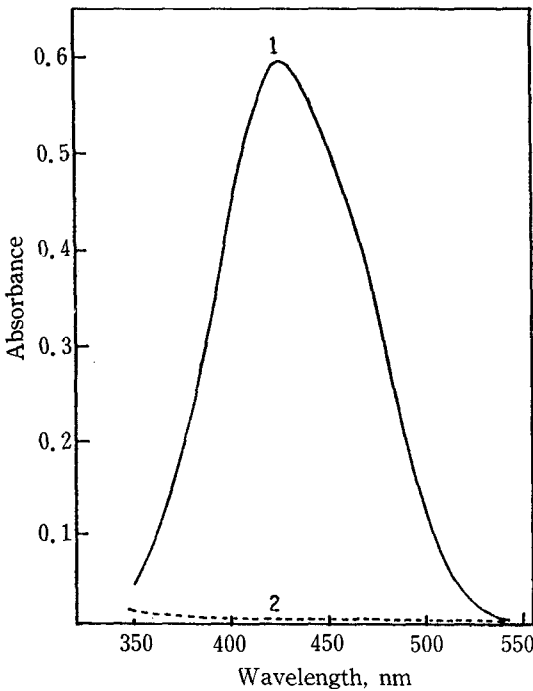


Figure 1—Absorption spectra.
Key: 1; spectrum of colored solution extracted from aqueous solution containing 3 ml of $2.56 \times 10^{-4}\ \text{M}$ CPM solution, 3 ml of 0.2% MO solution and 10 ml of pH 4.0 buffer, 2; spectrum of organic phase extracted from aqueous solution containing the same component as that of curve 1 but CPM is absent, reference; chloroform.

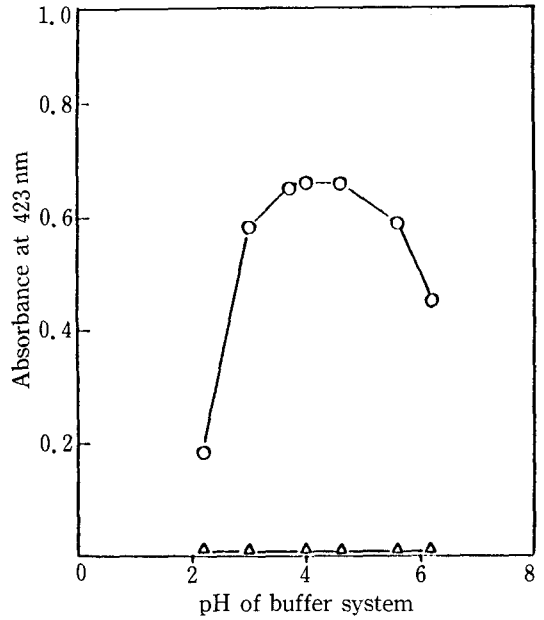


Figure 2—Effect of pH on the extraction of MO-CPM complex. The amount of CPM in aqueous layer was constant at 9.21×10^{-7} mole. Chloroform was used as a reference.
Key: ○; extract with CPM, △; extract without CPM.

추출에 미치는 pH의 영향

표준 조작에 있어서 수용액의 pH 를 변화시켜서 유기층의 흡광도에 미치는 영향을 조사하였다.

Fig.2에서 보는 바와 같이 pH 3.7~4.6의 범위에서 흡광도가 가장 크고 거의 일정하였다. 따라서 본 실험에서는 pH 4.0의 완충액을 사용하였다. MO의 pKa는 3.7이다. 따라서 산성 영역에서 흡광도가 감소한 것은 MO의 분자형이 증가하여 CPM과 complex의 형성을 어렵게 한 때문으로 생각된다. 또 pH 5.0 이상에서의 흡광도 감소는 CPM 해리형이 감소된 때문으로 생각된다.

bromophenol blue (BPB)와 같은 이염기산색소를 사용하여 quinine을 추출할 때는 pH 6.2에서만 잘 추출된다¹⁷⁾. 이는 BPB가 친수성이 강한 설펜산기를 갖고 있고 동시에 이염기산색소이기 때문에 +2의 이온이므로 수화성이 강하여 추출되기 어렵고 지적 pH 영역도 매우 좁다고 추정된다. 반면에 MO는 TBPE, DCIP와 같이 monoacidic dye이므로 보다 넓은 pH 범위를 갖는다.

시약 농도의 영향

시약의 지적농도 및 용량을 결정하기 위하여 3.07×10^{-4} M CPM 3 ml 를 취하여 이것에 0.05~0.3% MO 용액 3 ml 씩을 넣고 추출 거동을 검토하였다. 그 결과는 Fig.3과 같다. MO의 농도가 0.2% 이상일 때 흡광도가 최대이며 일정하였다. 따라서 MO의 용해성을 고려하여 본 실험에서는 0.2%의 것을 사용하였다. 또 3.07×10^{-4} M CPM 3 ml 및 pH 4.0 완충액 10 ml 를 고정시키고 0.2% MO 용액의 용량을 0.05~4 ml 로 변화시켜 얻은 복합체의 추출 거동을 검토한 결과 Fig.4와 같이 2.0 ml 이상에서 최대이며 일정한 값을 얻었다. 따라서 본 실험에서는 0.2% MO 용액 3 ml 를 사용하였다.

추출 시간의 영향

표준 조작법에 따라 진탕시간을 조사한 결과 Fig.5와 같이 2 분 이상 진탕함으로써 추출 평형에 도달되었다. 본 실험에서는 3 분간 진탕하였다.

알코올성 봉산용액의 영향

표준 조작법에 따라 얻은 chloroform 추출액

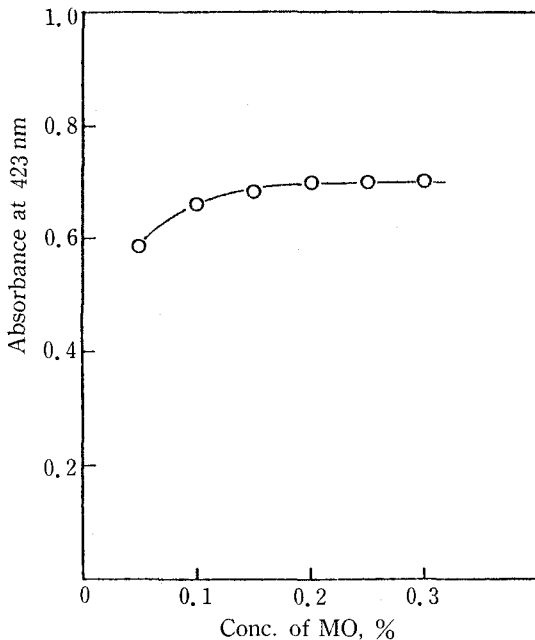


Figure 3—Effect of concentration of MO on the MO-CPM complex formation at pH 4.0. The amount of CPM in aqueous layer was constant at 9.21×10^{-7} mole.

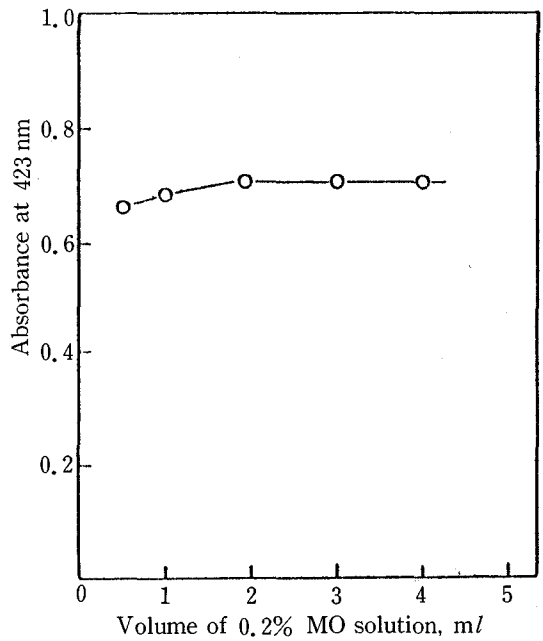


Figure 4—Effect of volume of 0.2% MO solution on the MO-CPM complex formation at pH 4.0. The amount of CPM in aqueous layer was constant at 9.21×10^{-7} mole.

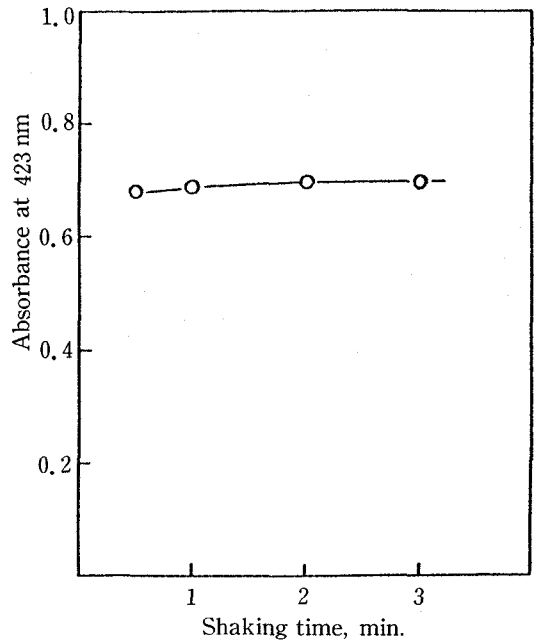


Figure 5—Effect of shaking time on the extraction of MO-CPM complex at pH 4.0. The amount of CPM was constant at 9.21×10^{-7} mole.

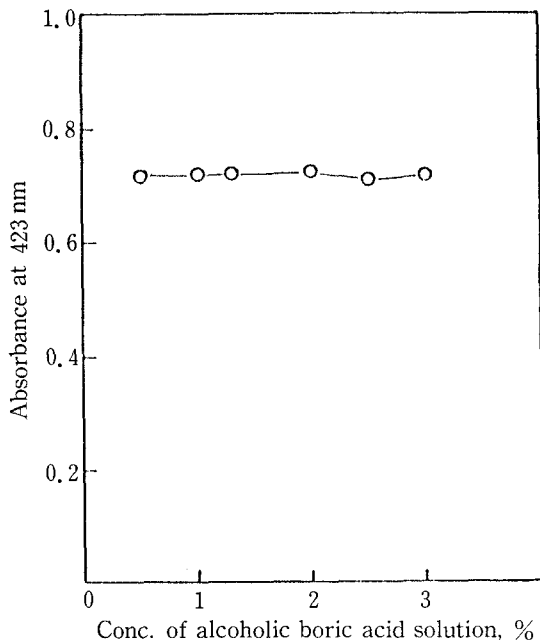


Figure 6—Effect of concentration of alcoholic boric acid solution on the absorbance of colored solution.

15 ml 에 여러 농도의 알코올성 붕산 용액 5 ml 씩을 넣어 붕산 농도의 영향을 조사한 결과 Fig.6과 같이 0.5~3%의 검토 범위에서는 흡광도의 변화가 없었다. 따라서 붕산의 농도는 전보²⁵⁾와 같이 1.3%를 채택하였다. 알코올성 붕산 용액의 사용시는 chloroform 추출액의 투명성을 증대시키며 Fig.7과 같이 추출액의 정색 안정성이 chloroform 추출액 단독에 비하여 매우 높았으며 5 일 동안 방치하여도 흡광도의 감소가 없었다. 이는 알코올성 붕산 용액의 첨가로 CPM-MO 복합체의 해리가 억제된 때문으로 생각된다. 한편 붕산 용액의 용매로서 95.5% 에탄올을 사용한 경우 2.0% 이상에서는 혼탁이 생성하였으나 무수에탄올을 사용한 경우는 그러한 현상이 나타나지 않았다. 이는 chloroform-무수 ethanol system 중에서 붕산의 相溶性이 증가된 때문으로 생각되며 95.5 v/v% 에탄올보다 무수에탄올이 보다 양호한 용매로 생각된다. 또 유기층 중에 혼재하는 물방울을 제거하는 방법으로 여지 여과법 및 무수황산 나트륨으로 탈수하는 방법등을 검토할 수 있으나 MO의 흡착으로 인한 오차가 크므로 본 실험에서

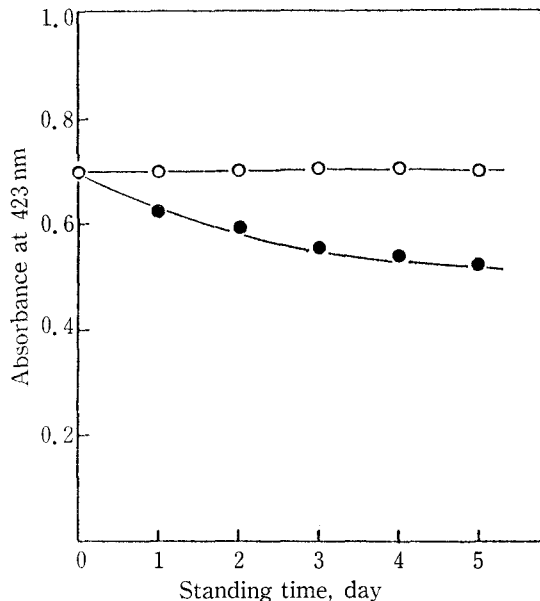


Figure 7—Color stability of extract species in chloroform-alcoholic boric acid system (○) and chloroform alone (●) at room temperature.

는 이를 적용하지 않고 분리후 유기층으로부터 물방울을 피하여 직접 일정량을 채취하여 바로 알코올성 붕산 용액과 혼화하는 방법을 택하였다.

추출용매의 선택

추출 용매로서는 Table I에서와 같이 투전항수가 높은 nitrobenzene 과 isoamyl alcohol에서는 CPM의 공존으로 추출액이 각각 황색과 적황색을 띠었으나 공시험액에서도 MO가 각각 미황색과 적황색으로 다소 추출되어 추출 용매로는 적합하지 않았다. 한편 1,2-dichloroethane, dichloromethane, chlorobenzene, chloroform, benzene 과 같이 투전항수가 낮은 용매류에서는 CPM의 공존으로 추출액이 황색을 나타내고 공시험액에서는 거의 무색을 나타내어 추출 용매로의 가능성이 시사되었다. 이러한 황색 색조의 발현은 CPM과 MO간의 complex가 형성되어 수용성이 감소하고 지용성이 증대하여 이들 용매에 추출이 용이하여진 때문으로 추정된다. 그러나 carbon tetrachloride, cyclohexane, n-hexane 과 같이 극성이 매우 낮은 용매에서 CPM의 공존 유무에 관계없이 그 추출액은 모두 무색이었다.

따라서 추출액의 색조가 황색인 5종의 용매에

Table I —Colors of Extracts with Various Solvents for Extraction of Methyl Orange–Chlorpheniramine Maleate Complex at pH 4.0.

Solvent	Dielectric constant, ϵ	Boiling point, $^{\circ}\text{C}$	Color of extracts	
			Blank	with CPM
Nitrobenzene	34.38	210-211	pale yellow	yellow
Isoamyl alcohol	14.70	132	reddish yellow	reddish yellow
1,2-Dichloroethane	10.36	83.7	colorless	yellow
Dichloromethane	9.08	39.9	colorless	yellow
Chlorobenzene	5.62	131-132	colorless	yellow
Chloroform	4.81	61-62	colorless	yellow
Benzene	2.28	80.1	colorless	yellow
Carbon tetrachloride	2.24	76.7	colorless	colorless
Cyclohexane	2.02	80.7	colorless	colorless
n-Hexane	1.89	69	colorless	colorless

3.0 ml of CPM standard solution (3.07×10^{-4} M), 3.0 ml of 0.2% MO solution and 10.0 ml of McIlVaine buffer (pH 4.0) were used in the aqueous layer.

대하여 가장 적당한 용매를 선택하기 위하여 표준 조작법에 따라 CPM의 공존시와 공존하지 않은 경우의 흡광도를 각기의 용매를 대조로 하여 측정하였다. 그 결과는 Table II와 같다. 이에서 보는

Table II—Determination of Best Solvents for Extraction of MO-CPM Complex at pH 4.0.

Solvent	λ_{max}	Ab	As	ΔA
1,2-Dichloroethane	422	0.017	0.701	0.684
Dichloromethane	420	0.008	0.723	0.715
Chlorobenzene	420	0.004	0.320	0.316
Chloroform	423	0.008	0.680	0.672
Benzene	422	0.015	0.125	0.110

Ab, absorbance of reagent blank, As, absorbance of sample.

3.0 ml of CPM standard solution (3.07×10^{-4} M), 3.0 ml of 0.2% MO solution and 10.0 ml of McIlVaine buffer (pH 4.0) were used in the aqueous solution. The absorbances of extracts were determined at the maximum wavelength using a corresponding pure solvent as a reference.

바와 같이 1,2-dichloroethane, dichloromethane 및 chloroform이 가장 양호하였다. 1,2-dichloroethane은 reagent blank의 흡광도가 다소 높고 dichloromethane은 비점(39.9°C)이 낮은 점등을 고려하여 본 실험에서는 chloroform을 추출 용매로 선택하였다.

추출종의 조성

유기상에 추출된 추출종의 조성을 연속변화법 및 몰비법으로 검토하였다. 그 결과는 각각 Fig.8 및 9와 같다. 연속변화법에서는 최대 흡광도가 [CPM]/{[CPM]+[MO]}의 비 0.5에서 나타났고 몰비법에서는 [MO]/[CPM]의 비 1.0에서 직선의 교점이 얻어진 것으로 보아 MO와 CPM간에는 1:1의 complex가 형성된 것을 알 수 있다.

검량선

표준 조작법에 따라 검량선을 작성하였다. 그 결과 Fig.10과 같이 수용액 중 CPM의 농도가 $1 \sim 7 \times 10^{-4}$ M에 걸쳐 Beer의 법칙에 따랐다. 또 추출액의 정색균일성을 검토하기 위하여 3.07×10^{-4} M CPM을 가지고 표준 조작법에 따라 7회 반복하여 추출 조작을 행하고 reagent blank를 대조로 하여 그 흡광도를 측정하였을 때 평균 흡광도는 0.694이었으며 변동계수는 약 1%이었다

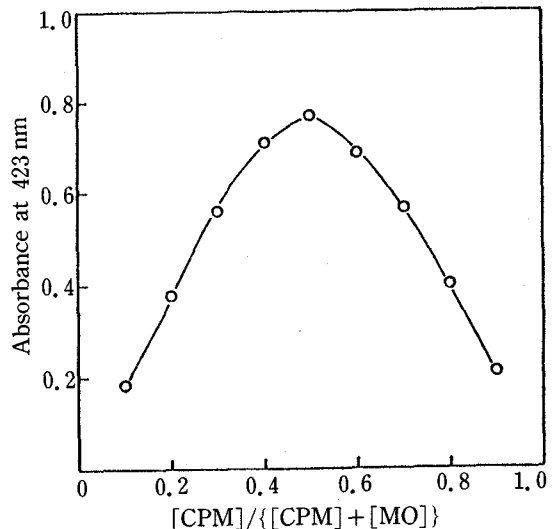


Figure 8—Continuous variation plots of chlorpheniramine maleate-methyl orange systems. The total concentration of chlorpheniramine maleate plus methyl orange was constant at 1.0×10^{-3} M.

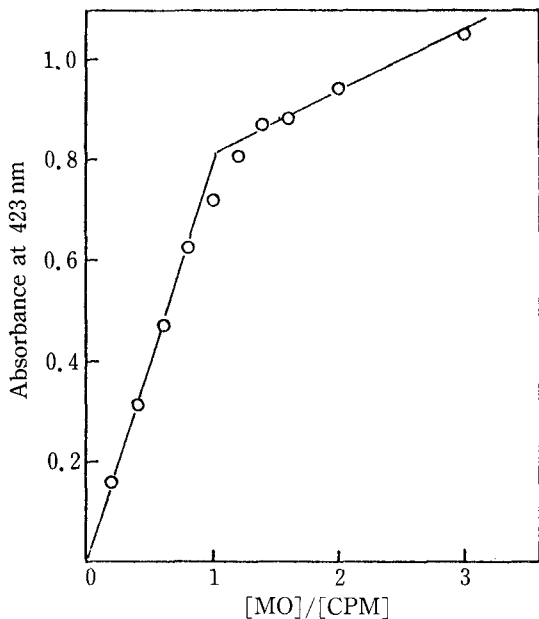


Figure 9—Molar ratio plots of methyl orange to chlorpheniramine maleate. The concentration of chlorpheniramine maleate solution was constant at 5×10^{-4} M.

(Table III). 반복 추출에 관하여는 추출율을 추정하면 1 회의 추출로도 99% 이상 추출되기 때문에 본 실험은 1 회의 추출로 행하였다.

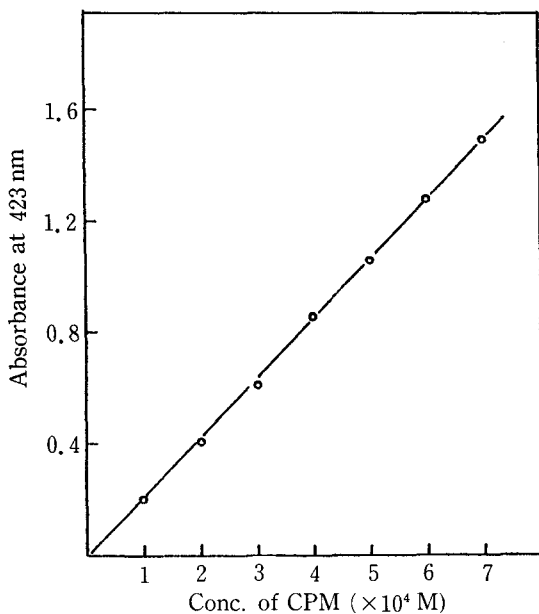


Figure 10—Calibration curve for chlorpheniramine maleate.

Table III—Repeatability of Absorbance of Colored Solution Obtained from Chlorpheniramine Maleate Standard Solution.

Sample	Absorbance at 423 nm
1	0.697
2	0.694
3	0.690
4	0.690
5	0.679
6	0.697
7	0.702
Average	0.693
S. D.	0.0088
C. V. (%)	0.99

3.0 ml of CPM standard solution (3.07×10^{-4} M), 3.0 ml of 0.2% MO solution and 10.0 ml of McIlVaine buffer (pH 4.0) were used in the aqueous solution.

공존 물질의 영향

CPM의 단일 제제에 널리 첨가될 수 있는 lactose, corn starch, magnesium stearate 등의 첨가 성분을 택하여 Table IV의 A 및 B와 같이

Table IV—Analytical Results of Chlorpheniramine Maleate in Artificial Preparations.

Component	Declared, mg	
	A	B
Chlorpheniramine maleate	2	4
Lactose	112	130
Corn starch	25	25
Magnesium stearate	1	1
By proposed dye method		
Found, mg	1.98	3.95
Recovery, %*	99.02	98.75
By K. P. IV method**		
Found, mg	1.94	3.90
Recovery, %*	97.0	97.5

* Each value is the average of three determinations.

** Assay procedure of chlorpheniramine maleate tablets in K.P. IV was applied.

Table V—Analytical Results of Chlorpheniramine Maleate in Commercial Preparations by Proposed Dye Method and K.P. Method*.

Sample	Declared, mg	Found, mg		Recovery, %	
		K.P. IV	Dye	K.P. IV	Dye
Tablets A	2	1.91	2.05	95.5	102.5
Tablets B	4	3.94	3.97	98.5	99.3

* Assay procedure of chlorpheniramine maleate tablets in K.P. IV was applied.

처방을 작성하고 이로부터 CPM의 회수율을 본법과 K.P.IV의 말레인산클로르페니라민정의 정량법을 적용하여 비교·검토하였다. 그 결과 본 법으로는 약 99% 정도 CPM이 회수 되었으나 K.P. 방법으로는 약 97%의 회수율을 보였다. 이러한 결과는 본 법의 적용시 앞의 첨가성분이 추출에 별다른 영향을 미치지 않으며 CPM을 신속하고 정확하게 정량할 수 있음을 의미한다. 반면에 K.P. 방법은 추출 조각이 매우 복잡하며 특히 265 nm에서의 자외부흡광도 측정법이므로 첨가 성분과 미량 혼재하는 불순물 등의 영향이 측정치에 반영될 수 있는 단점을 지니고 있다.

시판 제제에의 응용

실제의 시료로서 시판 말레인산클로르페니라민 정을 2mg/T 및 4mg/T의 함량에 따라 각각 1종씩 택하고 본 법 및 K.P. 방법을 적용하여 정량하였다. Table V에서와 같이 거의 거의 거의 값에 가까운 값을 얻었으며 K.P. 방법보다 우수한 결과를 보여 주었다. 이로 보아 본 법은 CPM의 단일 제제의 정량법으로 활용될 수 있다고 생각된다.

본 법을 복합제제 중 CPM의 정량법으로 활용하기 위해서는 시료의 추출등 전 처리가 요구되며 공존 성분에 관한 연구 검토가 더욱 수행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

methyl orange (MO)와 chlorpheniramine maleate (CPM)간의 complex 형성을 이용한 용매 추출법을 검토하여 신속하고 정확한 CPM의 분석법을 확립하였다. pH 4.0 완충액 중에서 추출

하여 얻은 chloroform 상은 MO에 의한 황색을 나타냈으며 423 nm에서 흡수극대를 보여 주었다. pH 3.7~4.6의 범위에서 흡광도가 가장 높고 일정하였다. 추출중은 MO와 CPM이 1:1의 조성비를 가졌으며 $1\sim 7\times 10^{-4}$ M (39~273 $\mu\text{g/ml}$)의 범위에서 직선관계가 얻어졌다. 본 법을 시판 CPM 정의 정량에 응용하여 양호한 결과를 얻었다.

문 헌

- 1) 板井孝信, 神谷庄造, 藥劑學, **17**, 180 (1957)
- 2) E. Selles, *Galenica Acta*, **9**, 33 (1956)
- 3) M.J. Hurd and B.S. Edward, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **38**, 579 (1949)
- 4) 佐藤, 高田, 藥劑學, **22**, 57 (1961)
- 5) 辻章夫, 月刊藥事, **5**, 21 (1960)
- 6) 佐藤和男, 外岡弘道, 藥學雜誌, **87**(3), 231 (1966)
- 7) 尾西良一, 森田泰輔, 川村邦夫, 藥學雜誌, **90**(1), 46 (1970)
- 8) L.A.A. Rojas, *Anales Fac. Quim. Farm., Univ. Chile*, **15**, 101 (1963) [C.A., **62**, 12976C (1965)]
- 9) D. Banes, *J. of Offic. Agr. Chem.*, **34**, 703 (1951)
- 10) R. Ceglarski and J. Roman, *Pharm. Polska*, **18**, 327 (1962) [C.A., **58**, 10501h (1963)]
- 11) A.C. Celeste and M.V. Polito, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, **49**, 541 (1966)
- 12) A. Menyharth, F.P. Mahn and J.E. Heveran, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 430 (1974)
- 13) 堀岡正義, 藥學雜誌, **77**(2), 200 (1957)
- 14) V.D. Gupta and D.E. Cadwallader, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 112 (1968)
- 15) G. Schill, *Acta Pharm. Suecia*, **1**, 101 (1964)
- 16) *Idem, Ibid.*, **2**, 13 (1965)
- 17) M. Tatsuzawa, S. Nakayama and A. Okawara, *Japan Analyst*, **19**, 761 (1970)
- 18) H.M.N.H. Irving and J.J. Markham, *Anal. Chim. Acta*, **39**, 7 (1962)
- 19) K. Ogata, T. Sakaguchi, Y. Ichikawa, F.

- Deguchi, N. Funaoka and C. Kiyota, *Bunseki Kagaku*, **24**, 279 (1975)
- 20) T. Sakai, I. Hara and M. Tsubouchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1254 (1976)
- 21) M. Tsubouchi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **44**, 1560 (1971)
- 22) M. Tsubouchi, T. Sakai, T. Watake, K. Kanazawa and M. Tanaka, *Talanta*, **20**, 222 (1973)
- 23) T. Sakai, M. Tsubouchi and Y. Azechi, *Bunseki Kagaku*, **25**, 675 (1976)
- 24) T. Sakai, I. Hara and M. Tsubouchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2451 (1977)
- 25) I. K. Chun, H.S. Chung, M.H. Lee and B. K. Chun, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **11** (3), 1 (1981)