

S-Carboxy methyl cysteine 製劑의 分析法에 關한 研究

毒劇物科

金 東 一

Determination of s-carboxy methyl cysteine in pharmaceutical preparations

Toxicology Division

Kim, Dong Il

Abstract

A convenient and quantitative analytical method of s-carboxymethylcysteine was examined by a TLC scanner. The chromatogram was developed on the precoated silica gel 60F₂₅₄ (E. Merck) using n-butanol: acetic acid: water = 3:1:1 as eluting solvent. After spraying with ninhydrin in alcohol followed by curing at 60°C, chromatogram was scanned at 660nm by TLC scanner (Shimadzu model 910). The proper amount of s-carboxymethylcysteine was 10ng to 40ng in this method.

緒 論

s-carboxy methyl cysteine은 1966년에 合成된 이래 粘液溶解 및 鎮咳 效果가 認定되어^{1,3)} 急性·慢性 氣管支炎에 治療藥으로 市中에 散劑과 시럽劑가 여러 製品이 流通되고 있으며 製劑中 이成分의 定量法으로는 窒素定量法³⁾, 吸光光度法⁴⁾, 高速液體크로마토그래프法等⁵⁾이 있으나 窒素定量法이나 吸光光度法은 다른 種類의 窒素化合物이나 아미노산이 含有된 境遇 分離, 定量이 不可能하고 高速液體크로마토그래프法의 境遇는 s-carboxy methyl cysteine의 溶解度를 爲하여 column의 溫度를 40°C까지 높여야 하는 特別한 實驗條件을 要하므로 本 研究에서는 보다 簡便한 方法으로 薄層크로마토그래프法으로 分離, 發色, 確認後 TLC-scanner에 依하여 定量하는 方法을 考察하였다.

材料 및 方法

1. 材 料

散劑(s-carboxymethyl cysteine, 375mg/cap)는 單一劑로 3種과 시럽제는 單一劑 1種과 混合劑 1種을 市中으로부터 購入하여 使用하였으며 標準品은 NIH

working standard (98.9%)를 使用하였다.

2. 試 藥

TLC plate(Merck, Kiesel gel 60 F₂₅₄), n-butanol (GR), acetic acid(GR), ammonia water(EP), ninhydrin(GR)

3. 器機 및 測定條件

器機는 shimadzu dual wavelength chromat scanner, Model CS-910을 利用하였으며 測定條件은 reference wavelength, 660nm; sample wavelength, 400nm; reflection mode; zig-zag 및 linear scanning; scanning speed, 10~20mm/min이었다.

4. 實驗方法

① 標準液의 調製—s-carboxy methyl cysteine標準品 500mg을 10%-ammonia water에 녹여 50ml로 하였다.

② 試料液의 調製—s-carboxy methyl cysteine 500mg에 相當하는 量을 10%-ammonia water에 녹여 50mg로 하였다.

③ 實驗方法—試驗液과 標準液을 薄層板에 下端 3cm 지점에 2cm 間隔으로 1.0μl, 2.0μl, 4.0μl씩 spot하고 常法에 따라 12cm를 展開하고 20分以上 風乾한 後 1% ninhydrin-ethanol溶液으로 spray하고 60°C의 oven에서 30分間方置시켜 發色한 後 2時間以內에 TLC scanning하였다.

展開溶媒로는 ammonia water : benzene : dioxane : acetic acid=8 : 10 : 20 : 2(溶媒 I), ethanol : H₂O=66 : 34(溶媒 II), n-butanol : acetic acid : H₂O=3 : 1 : 1(溶媒 III)을 사용하였다.

結果 및 考察

薄層크로마토그래피에서는 s-carboxy methyl cysteine의 一般의인 確認에 쓰이는 展開溶媒 I, II, III을 利用하여 展開하였으며 溶媒 I에서는 原點에 그대로 머물렀으며, 溶媒 II에서는 R_f值 0.3, 溶媒 III에서는 R_f值

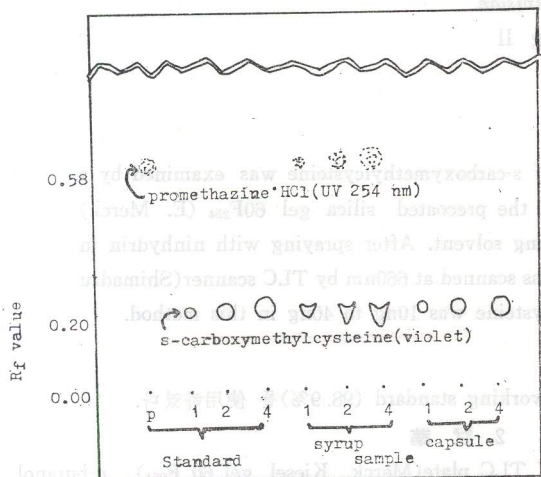


Fig. 1. TLC chromatogram of standards and samples. mobile phase; n-butanol; acetic acid; H₂O color developer; 1%-ninhydrin alcohol soln, or UV 254nm.

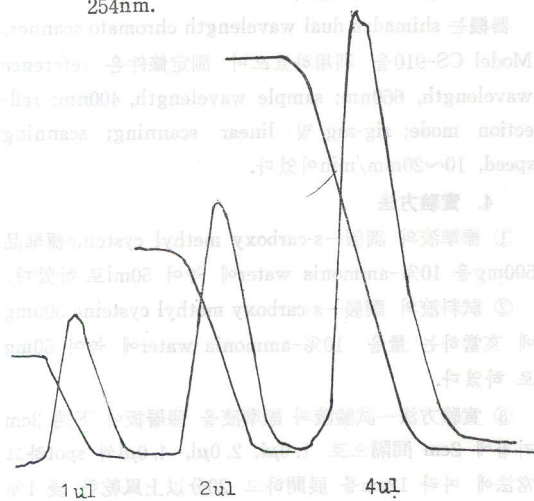


Fig. 2. Scanning profile of standard. wavelength; reference 660nm, sample 400nm reflection mode, linear scanning.

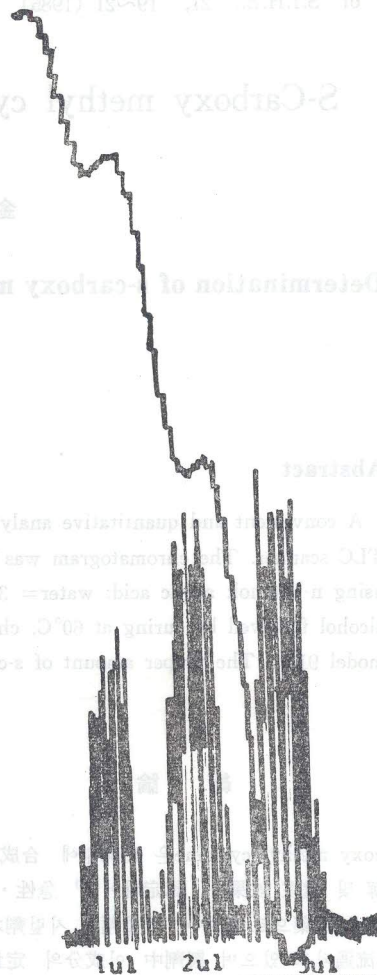


Fig. 3. Scanning profile of standard. wavelength; reference 660nm, sample 400nm, reflection mode, zig-zag scanning.

Table I. Reproducibilities of analytical data in preparations by TLC scanning method (zig-zag and linear method).

Sample No.	Capsule(%)		Syrup (%)	
	Zig-zag M.	Linear M.	Zig-zag M.	Linear M.
1	98.2	98.3	102.3	102.8
2	98.8	99.1	103.2	103.8
3	97.9	98.0	104.8	104.9
4	98.7	98.4	104.1	104.3
5	98.4	99.3	103.7	103.4
mean ± SD	98.40 ± 0.37	98.62 ± 0.55	103.60 ± 0.94	103.84 ± 0.81

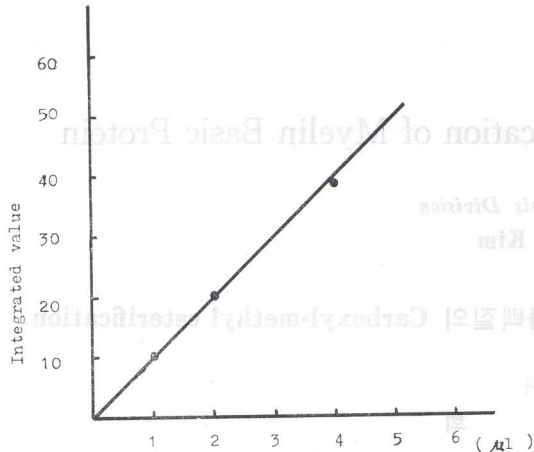


Fig. 4. Calibration curve of s-carboxy methyl(linear scanning mode).

0.2이었다. capsule劑는 溶媒 II 와 III에서 良好한 spot를 얻었으나 syrup劑에서는 溶媒 II에서는 tailing이 매우 甚하였고 溶媒 III에서 比較의 良好하였다(Fig. 1).

이 thin layer chromatogram으로부터 linear와 zig-zag scanning을 하여(Fig. 2, Fig. 3), 標準檢量을 作成한 結果 1.0~4.0 μ g의 範圍에서 直線性을 나타내었다(Fig. 4).

再顯性 實驗에서는 sampling size는 3 μ l이었으며 capsule劑는 zig-zag와 linear scanning 모두가 偏差範圍 $\pm 0.37\% \cdot \pm 0.55$ 程度이었으며, syrup劑의 境遇는 zig-zag는 ± 0.94 linear는 ± 0.81 로 capsule劑보다 比較的

넓은 值이었으나 良好한 再顯性을 보였으며 展開 溶媒 등의 改善으로 감색劑와 類似한 程度의 精密한 分析이 可能하리라고 思料된다.

結 論

s-carboxy methyl cysteine 製劑의 分析法으로 TLC scanning法을 檢討한 結果 再顯性은 標準偏差 1.0%以下로 매우 優秀하며 確認 定量을 同時에 할 수 있어 檢定業務의 迅速한 處理에 寄與할 것으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. Huyen-Vu-Ngoc et al.: Hypersécrétion expérimentale du mucus bronchique chez le rat, C.R. Soc. Biol., 160:1849 (1966).
2. Quevauviller, par André et al.: Activité des mucolytiques sur la rétention expérimentale du mucus intra-bronchique chez le rat, Therapie, 22: 485, (1967).
3. 國立保健院: 基準 및 試驗方法 p.1035 (1983).
4. 國立保健院: 基準 및 試驗方法 p.1037 (1983).
5. 國立保健院: 基準 및 試驗方法 p.950 (1985).
6. Egon Stahl: Thin layer chromatography 2nd ed., New York, p.430 (1969)
7. 韓治善: 有器器機分析 p.135, (1979).