

# 混合製劑의 分析에 關한 研究 (Chromotropic acid에 依한 Vitamin B<sub>6</sub>의 比色定量)

藥品 化学科

朴聖培 閔炳贊 李峰子

Studies of mixed pharmaceutical preparation analysis  
(Spectrophotometric determination of Vitamin B<sub>6</sub> by chromotropic acid)

Sung Bae Park, Byung Chan Min, Bong Ja Lee

## ABSTRACT

In order to determination Vitamin B<sub>6</sub> in mixed pharmaceutical preparation, a spectrophotometric method was investigated.

The results were summarized as follow.

- 1) The wavelength of maximum absorption of Vitamin B<sub>6</sub> was 570 m $\mu$ .
- 2) Limits of measurement of Vitamin B<sub>6</sub> was 5r to 67r.
- 3) The colored solution was stable without any influence during 24 hours.
- 4) Interference ingredients was Methionine, chlorpheniramine maleate, Ascorbic acid, Thioctamide.

## I. 緒 論 I.

現在 市販 混合製劑중에 널리 混用되고 있는 Vitamin B<sub>6</sub>의 定量法으로는 適定法<sup>①</sup>, 紫外部吸收 Spectrum法<sup>②</sup>, Diazo 化한 Sulfanyl acid<sup>③④</sup>이나 Diazo 化한 P-aminoacetophenol<sup>⑤⑥</sup>을 作用시키는 coupling 反應에 依한 方法, 킬달法<sup>⑦</sup>, 微生物學的 定量法<sup>⑧</sup>등 많이 報告되어 있으나 이들 方法은 操作이 複雜하고 發色 液의 安定性이 없으며, 溶媒 및 pH에 따라 呈色 時間에 甚한 차이가 있는점등 많은 애로가 있다.

그리하여 著者等은 Vitamin B<sub>6</sub>을 KMnO<sub>4</sub>로 室溫에서 酸化시켜 Formaldehyde를 生成시키고 과잉의 KMnO<sub>4</sub>는 NaHSO<sub>3</sub>로 還元 脫色, 이때 生成된 Formaldehyde가 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>酸性에서 chromotropic acid<sup>⑨~⑪</sup>와 赤紫色의 複合體가 만들어져 Vitamin B<sub>6</sub>의 定量이 可能할 것이라는 點에 着眼하여 Vitamin B<sub>6</sub>의 定

量 可能 與否 및 定量時에 있어서 各 試藥의 濃度 및 發色시킨후 呈色液의 安定性, 波長選定등에 對하여 實驗하는 한편 定量의 精密度를 檢討한 結果 比較的 좋은 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

## II. 實驗 之 部

### 1) 裝置 및 試藥

A. 裝置; Beckmann D. U. type spectrophotometer

B. 試藥; ㄱ. 1% KMnO<sub>4</sub>

ㄴ. 5% NaHSO<sub>3</sub>

ㄷ. 2% chromotropic acid (用時調製)

ㄹ. 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

### 2) 定 量 法

Vitamin B<sub>6</sub>로서 100mg에 該當하는 量을 正確히 取하여 물을 加해 100ml로 한다음 이 液 10ml를 取해 희석하여 100ml로 하고 檢液으로 使用한다.

따로 Vitamin B<sub>6</sub>의 標準品 100mg을 正確히 取하여 檢液의 調製와 同一하게 만들어 標準液으로 使用한다.

물, 標準液, 檢液 各 5ml을 正確히 取하고 여기에 1% KMnO<sub>4</sub> 0.5ml을 加하여 室溫에서 10分 放置한 후 5% NaHSO<sub>3</sub> 0.5ml를 加하여 脫色시키고 2% chromotropic acid 1ml, 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8ml를 순서대로 加하여 水浴上에서 25分 加溫한후 空試驗液을 對照液으로 하여 570mμ에서 吸光度를 測定한다.

### III. 結果 및 考察

本 定量法은 呈色反應을 利用한 分析法으로 Vitamin B<sub>6</sub>의 標準液을 加치고 다음과 같은 條件을 570mμ에서 檢討하였다.

#### 1) KMnO<sub>4</sub>의 濃度 檢討

本 定量法에서 KMnO<sub>4</sub> 0.5~2.0% 까지 濃度를 變化시켜 가면서 吸光度를 測定한 結果 Fig. 1과 같이 1% KMnO<sub>4</sub>에서 最高 吸光度를 나타냈으며 1.5% KMnO<sub>4</sub>以上에서는 沈殿이 生成하므로 本 定量法에서는 1% KMnO<sub>4</sub>를 使用하였다.

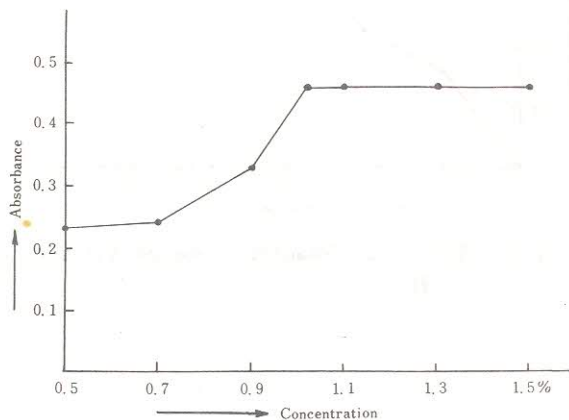


Fig I Effect of KMnO<sub>4</sub> concentration

#### 2) KMnO<sub>4</sub>와 NaHSO<sub>3</sub>의 添加 間隔의 檢討

本 定量法에서 KMnO<sub>4</sub>를 加한後 NaHSO<sub>3</sub>을 加하기 까지의 時間이 吸光度에 變動을 가져오므로 이것을 檢

討한 結果 Fig II와 같이 나타나므로 本 定量法에서는 KMnO<sub>4</sub>를 加하여 10分間 室溫에서 酸化시킨후 NaHSO<sub>3</sub>를 加하기로 하였다.

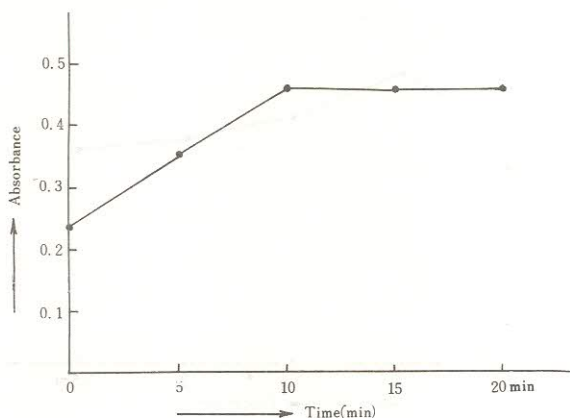


Fig II Effect of addition interval between KMnO<sub>4</sub> and NaHSO<sub>3</sub>

#### 3) NaHSO<sub>3</sub>의 濃度 檢討

本 定量法에서 NaHSO<sub>3</sub>의 濃度를 1%~7%까지 變化시켜가면서 吸光度를 測定한 結果 Fig III과 같이 5% NaHSO<sub>3</sub>에서 最高 吸光度를 나타냈으며 1%~2% NaHSO<sub>3</sub>에서는 과잉의 KMnO<sub>4</sub>를 完全 脫色 시키지 못하고 沈殿이 生成하였다.

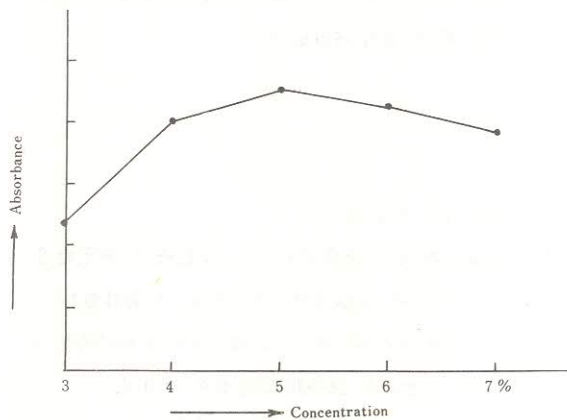


Fig III Effect of NaHSO<sub>3</sub> concentration

#### 4) 2% chromotropic acid 添加量 檢討

本 定量法에서 2% chromotropic acid의 量을 0.5~2.5ml까지 變化시켜가면서 吸光度를 測定한 結果 Fig

IV와 같이 2% chromotropic acid 1 ml에서 最高 吸光度를 나타냈으므로 本 定量法에서는 2% chromotropic acid 1 ml를 加하였다.

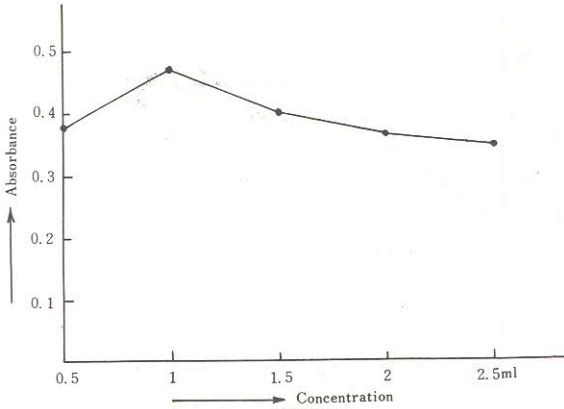


Fig IV Effect of addition ml of 2% chromotropic acid

5) 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 添加量 檢討

本 定量에서 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 添加量을 1~10ml까지 变化시켜가면서 吸光度를 測定한 結果 Fig V와 같이 나타나므로 本 定量法에서는 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 ml를 加하였다.

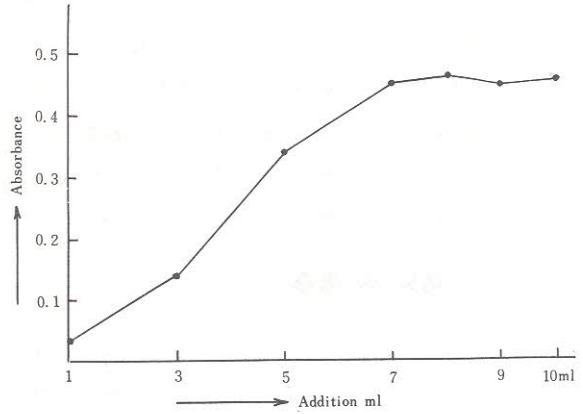


Fig V Effect of addition ml of 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

6) 反應時間의 檢討

本 定量에서 檢液에 1% KMnO<sub>4</sub> 0.5ml, 5% NaHSO<sub>3</sub> 1.5ml, 2% chromotropic acid 1 ml, 86% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8 ml를 加하고 水浴상에서의 反應時間을 檢討한 結果 Fig VI과 같이 나타났다.

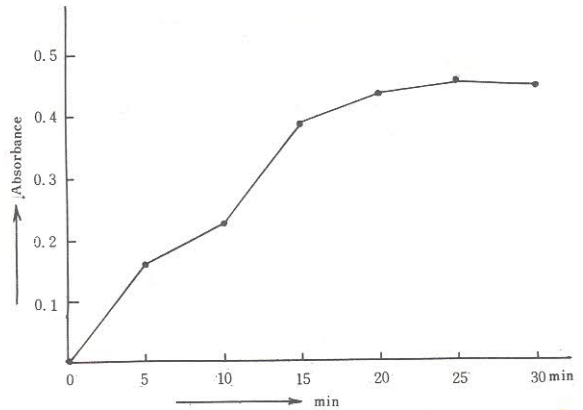


Fig VI Effect of Reaction time of Vitamin B<sub>6</sub>

7) 発色液의 安定性

本 定量法에 따라 発色시킨후 그 呈色液의 安定性을 檢討하기 위하여 室温에서 하루이상 放置하였든바 Table I에서 보는바와같이 그 吸光度에서 經時变化가 없었으므로 呈色液은 24時間 安定함을 알았다.

Table I Stability of colors solution

Hour	0	1/2	1	3	8	12	24
Absorbance	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460	0.460

8) 吸取曲線

本 定量法에서 使用한 標準液에 對하여 400~750 m $\mu$  까지 吸光度를 測定한 結果 Fig VII의 吸取曲線에서 보 는바와같이  $\lambda_{max}$  570 m $\mu$ 임을 알았다.

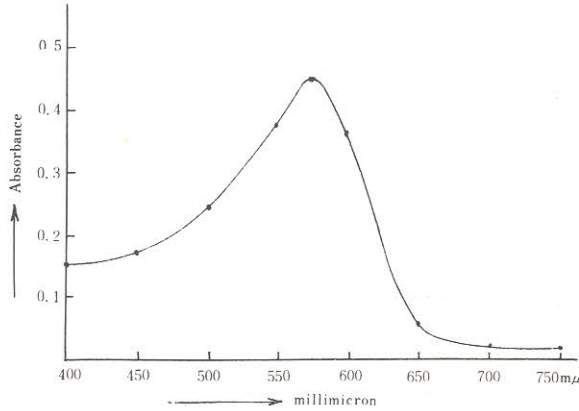


Fig VII Absorption Spectra of Vitamin B<sub>6</sub>

9) 檢量線 作成

$\lambda_{max}$  570 m $\mu$ 에서 吸光度를 空試驗液을 對照로 하 여 測定, 檢量線을 作成한 結果 Fig VIII에서와 같이 5 -67r 사이에 Beers law가 成立함을 알았다.

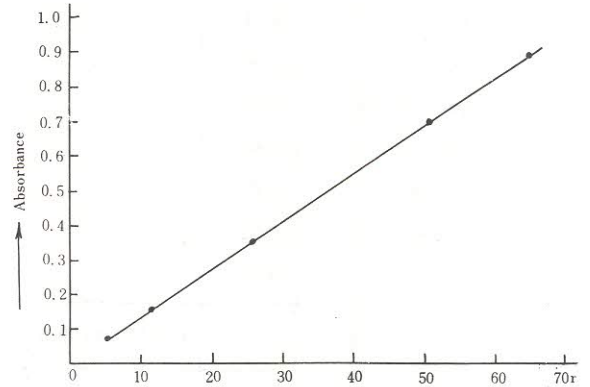


Fig VIII Calibration curve of Vitamin B<sub>6</sub>

Table II Effect of various ingredients on the determination of Vitamin B<sub>6</sub>

Compound	Coexisting Ratio	Found(%)
Thiamine · HCl	1 : 10	99.8
Riboflavine	1 : 5	99.2
Niacinamide	1 : 20	106.1
Methionine	1 : 50	75
Taurine	1 : 75	100
Chlorpheniramine maleate	1 : 2	240
Ascorbic acid	1 : 500	
Ferric ammonium citrate	1 : 50	99
Calcium panthothenate	1 : 3	102
Benzoic acid	1 : 50	100.3
Caffein	1 : 10	100
Inositol	1 : 10	100

10) 共存物質의 영향

現在 市販 混合製劑중에 Vitamin B<sub>6</sub>와 널리 混用되 고 있는 醫藥品 12種에 對하여 Table II에서와 같은 비 率로 混合, 本 定量法과 같이 操作하여 定量한 結果 Table II와 같다.

11) 製劑 分析

自家 調製한 試料에 對하여 本 定量法의 精密度를 檢討한 結果 Table III과 같이 本 定量法이 既知法보다 精密度가 높다는것을 알았다.

Table III Analysis of Vitamin B<sub>6</sub> in test preparation and precision test.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	평 균	표준편차
Ferric ammonium citrate	1.5 (g)												
Vitamin B <sub>1</sub>	0.01												
Vitamin B <sub>2</sub>	0.01												
Vitamin B <sub>6</sub>	0.003												
Calcium pantothenate	0.01												
Nicotinamide	0.05												
Mangan sulfate	0.004												
Copper chloride	0.01												
Benzoic acid	0.05												
本 方 法		97.2	98.4	99.6	98.0	98.8	97.4	98.2	99.6	98.2	98.6	98.4	±0.79
既 知 法		95.4	97.0	97.6	96.0	95.6	96.2	96.4	94.4	96.6	96.8	96.2	±0.88

#### IV. 結 論

以上の 実験 結果를 綜合하여 보면

1. Vitamin B<sub>6</sub>에 1% KMnO<sub>4</sub>를 加하고 과잉의 K MnO<sub>4</sub>를 5% NaHSO<sub>3</sub>로 還元 脱色시킨후 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>酸性에서 2% chromotropic acid를 加하여 加温하니 赤紫色의 複合體가 生成되어 Vitamin B<sub>6</sub>의 定量이 可能하였다.

2. 発色시킨후 呈色液의 測定은 570mμ에서 λ<sub>max</sub>를 나타내었고 本 定量法의 許容限度는 5~67r 로서 經時變化가 없이 24時間 安定하였다.

3. 本 定量法은 他 既知法 보다 比較的 精密度가 높았다.

4. 混合製劑中 Vitamin B<sub>6</sub>의 방해물질로 Riboflavin, methionin, chlorpheniramine maleate, Ascorbic acid, Thioctamide 등이 있으나 Riboflavin은 Alumina, 백토, Silica gel 등 吸着劑로서 吸着시킨후 本 定量法에 依해서 定量이 可能하였다.

5. 本 實驗에 있어서 廣範圍한 応用 및 방해물질에 對해서는 계속 研究코져 한다.

#### 参 考 文 献

- ① 大韓藥典 第二部
- ② Hochberg, M., D. Melnick, and B.C. Oser, J. Biol. chem., 154, 313(1944)
- ③ Kuhn, R., and I. Low, Ber., 72, 1453(1939)
- ④ Swaminathan. M., nature, 145. 780(1940)
- ⑤ Bina, A.F.J.M. Thomas, and E.B, Brown. J. Biol. chem., 148, 111 1943)
- ⑥ Brown. E. B. A. F. Bina, and J.M. Thomas, J. Biol. chem. 158, 455(1945)
- ⑦ 大韓藥典 注解
- ⑧ 大韓藥典 注解
- ⑨ 世一, 佐野: 分析化学 16. 708(1967)
- ⑩ R. N. Boos. Anal. chemi. 22. 720(1950)
- ⑪ 秋谷七郎, 笹尾広一: 藥誌. 71. 1325(1951)