

定量 分析用 標準液의 安定性에 對한 調査研究

藥品 分析科

李弘洙 · 姜正美 · 黃玉順 · 權赫東 · 嚴柱吾

Survey on the Stability of Standard Solutions For Quantitative Analysis

Drug Analysis division

Lee, H. S., J. M. Kang, O. S. Hwang, H. D. Kwon, J. O. Um

Abstract

The stability of standard solutions for quantitative analysis was investigated.

The results obtained were as follows :

1. Pyridoxine hydrochloride, thiamine hydrochloride, and ascorbic acid preparations were markedly degraded during time course.
2. In particular, ascorbic acid preparation was degraded rapidly within 2 to 3 hr.
3. The rest of preparations were nearly stable of potency for 90 days.
4. There was no remarkable difference between depository.(refrigeration/room temperature)

I. 緒 論

市販 醫藥品의 敎去 檢定時 活用되는 醫藥品의 有效成分 分離 定量法은 公認試驗方法 이 외에 많은 論文과 製造業所의 自家 品質基準 및 試驗方法 등 多樣하다. 一般적으로 檢定時 利用되는 分離定量法은 前處理 操作이 單純하고 定量操作이 簡單하며 所要時間이 짧은 方法으로 行하는 傾向이 있다.

最近 機器分析의 發達로 定量分析時 公認 試驗方法書(K.P, U.S.P, B.P, J.P, 등)에서도 適正法, TLC를 利用한 方法, UV spectrophotometer를 利用한 方法 등에서 HPLC, GC, AA 등 尖端 機器分析의 方法을 採擇하고 있다. 醫藥品 定量分析時 이와 같은 機器分析用으로 調製한 標準液을 實驗後에도 一定期間 保管 使用하는 境遇가 많으며 이 때 標準液의 種類에 따라 長期間 保管 使用하여도 力價의 變化가 없어서 定量分析 操作時間을 短縮시켜 分析業務의 迅速을 기하고 經濟的 節減效果도 있었으나 標準液의 力價가 顯著히 減少되어 再活用이 不可한 境遇도 있었다.

따라서 標準液의 保管能力에 따른 力價의 保存 可能 興否를 經時의 變化에 따라 試驗 調査하여 이를 報告하고자 한다.

II. 實 驗

1. 試料 및 機器

가. 試 料

- Cyanocobalamin 標準液 : 標準品 約 5mg을 精密하게 달아 20ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣어 녹인 다음 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Nicotinamide 標準液 : 標準品 約 20mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣어 녹인 다음 물로 表線까지 채워 섞는다. 이 液 5.0ml을 取하여 25ml 메스플라스크에 넣고 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Riboflavin 標準液 : 標準品 約 10mg을 精密하게 달아 100ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣은 다음 超音波 진탕기를 써서 約 60分間 진탕하여 녹이고 물로 表線까지 채워 섞는다. 이 液 10.0ml을 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Ascorbic acid 標準液 : 標準品 約 25mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣어 녹인 다음 물로 表線까지 채운다. 이 液 15.0ml을 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.

- Pyridoxine hydrochloride 標準液 : 標準品 約 20mg을 精密하게 달아 250ml 메스플라스크에 넣고 물 150ml를 넣는다. 超音波 진탕기를 써서 約 10分間 진탕하여 녹이고 물로 表線까지 채워 섞는다. 이 液 5.0ml를 取하여 25ml 메스플라스크에 넣고 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Thiamine hydrochloride 標準液 : 標準品 約 20mg을 精密하게 달아 25ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣어 녹인 다음 물로 表線까지 채운다. 이 液 5.0ml를 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 물로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Atropine sulfate 標準液 : 標準品 約 80mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 물을 넣어 녹인 다음 물을 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Dexamethasone 標準液 : 標準品 約 20mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 70% 메탄올 溶液을 넣어 녹인 다음 表線까지 채워 섞는다. 이 液 5.0ml를 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 70% 메탄올 溶液으로 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.
- Caffeine 標準液 : 標準品 約 60mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 녹인 다음 表線까지 채워 섞는다. 이 液 5.0ml를 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 메탄올로 表線까지 채워 섞는다.
- Prednisolone 標準液 : 標準品 約 20mg을 精密하게 달아 50ml 메스플라스크에 넣고 70% 메탄올 溶液을 넣어 녹인 다음 表線까지 채운다. 이 液 5.0ml를 取하여 50ml 메스플라스크에 넣고 70% 메탄올 溶液을 表線까지 채워 섞어 標準液으로 한다.

나. 機 器

- HPLC : Waters
 - Detector : Model 484(Tunable Absorbance Detector)
 - Pump : Model 510
 - Injector : Model U6K

2. 實驗 方法

가. 保存 條件 및 方法

調製된 標準液을 vial에 충전하고 마개를 하여 각각 冷蔵(0~5°C), 室溫에 保管하면서 一定 期間(1, 5, 15, 30, 60, 90日)마다 꺼내어 定量法에 따라 定量하여 經時적 變化를 살펴보았다.

나. 定量法

- 1) Ascorbic acid, Pyridoxine hydrochloride, Thiamine hydrochloride, Riboflavin,

Nicotinamide, Caffeine 標準液의 定量 : Table 1과 같은 條件에서 HPLC를 實施하고 同一濃度로 調製한 標準液의 Chromatogram과 比較하여 面積法에 따라 含量을 求한다.

Table 1. Chromatographic Condition

| | |
|----------------|--|
| H P L C | Waters |
| Detector | 254 nm U.V |
| Column | u-Bondapak C ₁₈ |
| Mobile Phase | MeOH : H ₂ O(30 : 70) with PIC B ₆ |
| Flow rate | 1.0 ml/min |
| Injection vol. | 10 ul |

2) Cyanocobalamin 標準液의 定量 : Table 2와 같은 條件에서 HPLC를 實施하고 가)와 같은 方法으로 含量을 求한다.

Table 2. Chromatographic Condition

| | |
|----------------|----------------------------|
| H P L C | Waters |
| Detector | 361 nm U.V |
| Column | u-Bondapak C ₁₈ |
| Mobile Phase | 40% MeOH |
| Flow rate | 1.0ml/min |
| Injection vol. | 10 ul |

3) Atropine sulfate 標準液의 定量¹⁾ : Table 3과 같은 條件에서 HPLC를 實施하고 가)와 같은 方法으로 含量을 求한다.

Table 3. Chromatographic Condition

| | |
|----------------|--|
| H P L C | Waters |
| Detector | 254 nm U.V |
| Column | Zorbax silica(7 um) |
| Mobile Phase | Tetrabutylamonium hydrogen-sulfate 5.1g을 Acetonitrile 50 ml에 녹인 後 Acetate buffer(冰醋酸 2.9ml에 0.05M 醋酸나트륨을 加하여 1 l로 量)를 加하여 1 liter로 한다. |
| Injection vol. | 10 ul |

- 4) Dexamethasone 標準液의 定量 : Table 4와 같은 條件에서 HPLC를 實施하고 가)와 같은 方法으로 含量을 求한다.

Table 4. Chromatographic Condition

| | |
|----------------|----------------------------------|
| H P L C | Waters |
| Detector | 254 nm U.V |
| Column | u-Bondapak C ₁₈ |
| Mobile Phase | MeOH : H ₂ O(70 : 30) |
| Injection vol. | 15 ul |

- 5) Prednisolone 標準液의 定量 : Table 5와 같은 條件에서 HPLC를 實施하고 가)와 같은 方法으로 含量을 求한다.

Table 5. Chromatographic Condition

| | |
|----------------|----------------------------------|
| H P L C | Waters |
| Detector | 254 nm U.V |
| Column | u-Bondapak C ₁₈ |
| Mobile Phase | MeOH : H ₂ O(70 : 30) |
| Injection vol. | 10 ul |

III. 結果 및 考察

調製한 標準液을 冷蔵 保管時와 室溫에서 保管한 經過 時間이 經過함에 따른 標準液 濃度의 經時 變化를 調査한 結果는 다음과 같다.(Fig. 1~Fig. 10)

時間이 經過함에 따라 Pyridoxine hydrochloride, Thiamine hydrochloride 標準液 등은 濃度가 顯著히 낮아졌으며 특히 ascorbic acid 標準液은 調製後 2~3時間 後부터 거의 破壞되어 保管 使用이 不可能하며, 나머지 標準液은 調製 當時의 濃度를 거의 維持함으로써 保管使用의 可能性이 있었다.

室溫保管과 冷蔵保管時의 力價維持의 差異點은 미미했지만 冷蔵保管이 標準液의 力價維持에 도움이 됨을 알 수 있었다. 이상은 制限된 條件에서 行한 結果이므로 그 밖의 標準液을 調製하기 위해 使用된 溶媒 및 調製方法에 따라 標準液의 力價에 미칠 수 있는 다른 要因들에 對한 安定性 研究 및 調査가 있어야 할 것으로 思料된다.

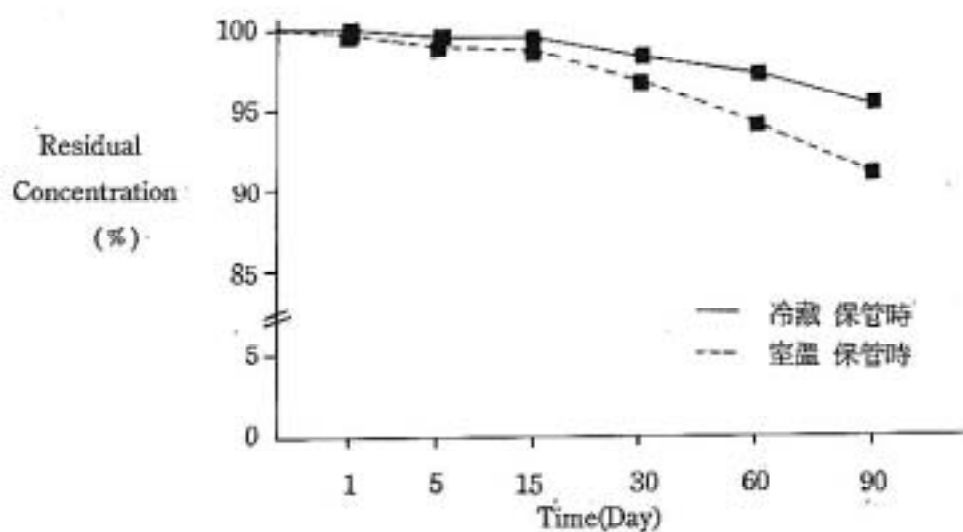


Fig. 1. Residual Concentration of Cyanocobalamin in Preparation during Time Course.

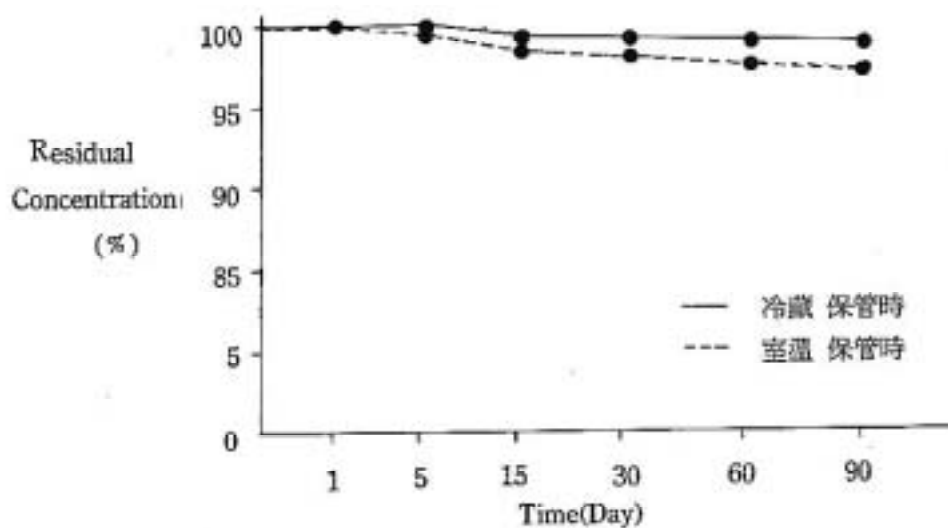


Fig. 2. Residual Concentration of Nicotinamide in Preparation during Time Course.

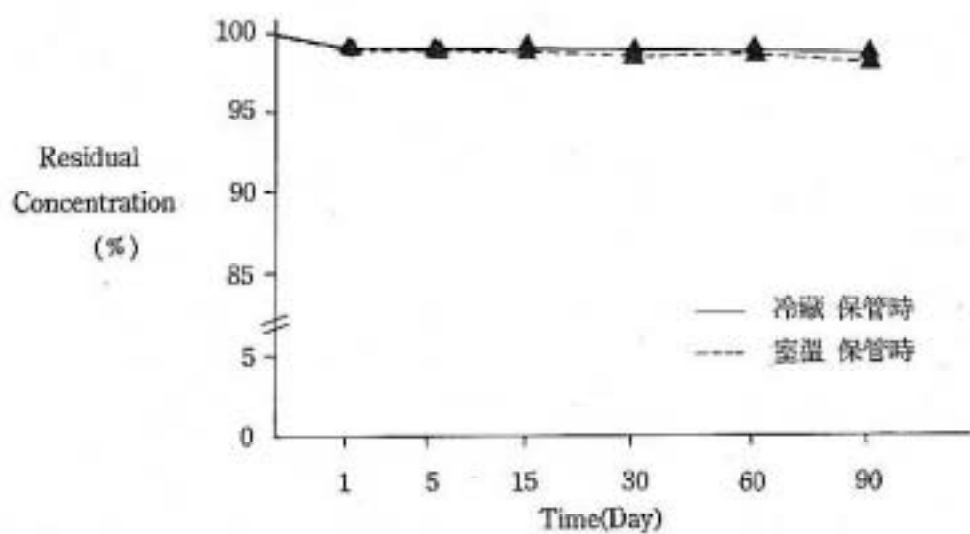


Fig. 3. Residual Concentration of Riboflavin in Preparation during Time Course.

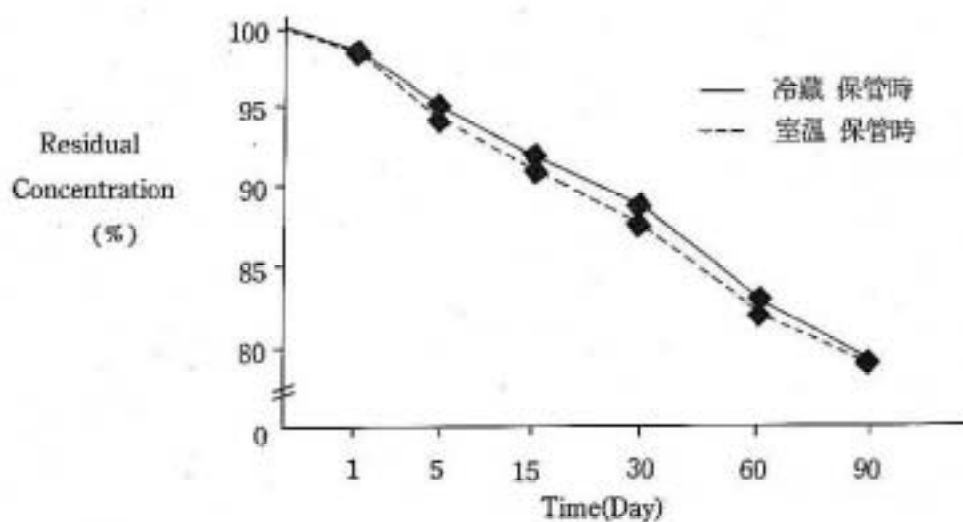


Fig. 4. Residual Concentration of Pyridoxine hydrochloride in Preparation during Time Course.

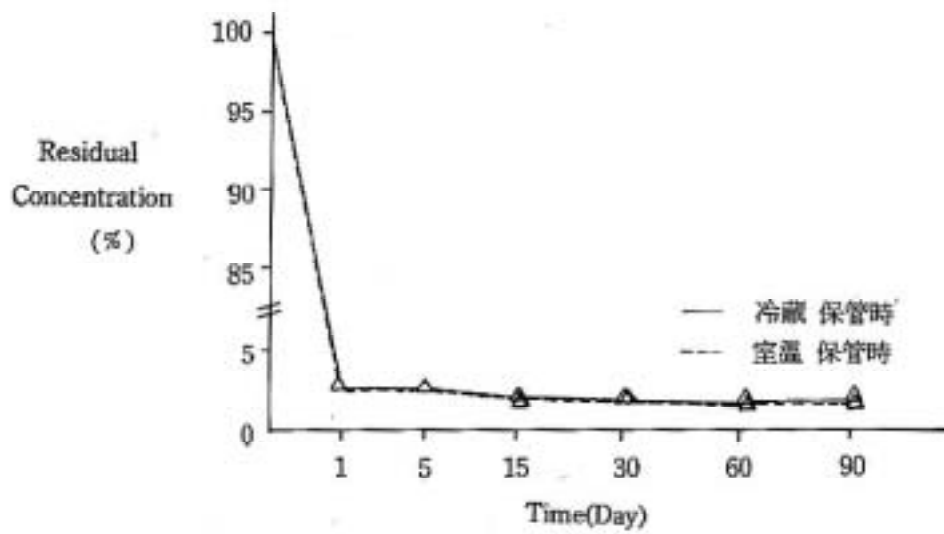


Fig. 5. Residual Concentration of Ascorbic acid in Preparation during Time Course.

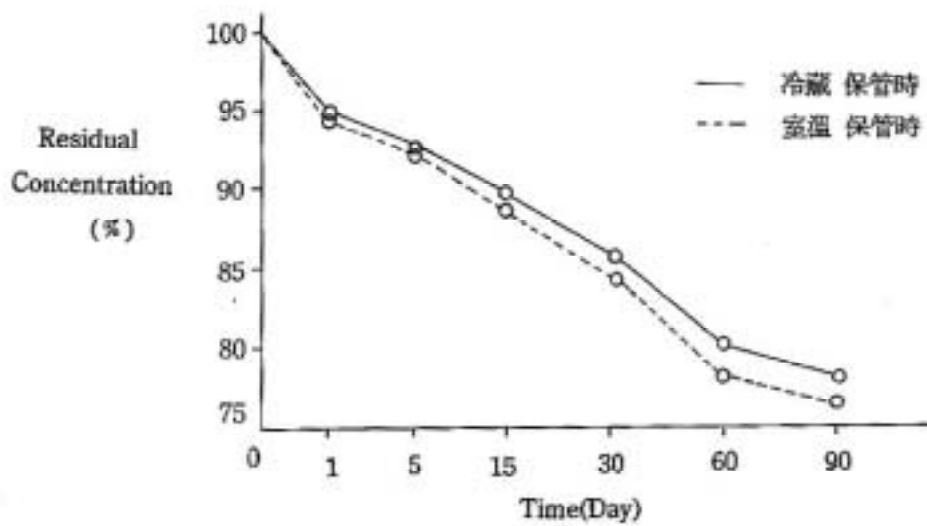


Fig. 6. Residual Concentration of Thiamine hydrochloride in Preparation during Time Course.

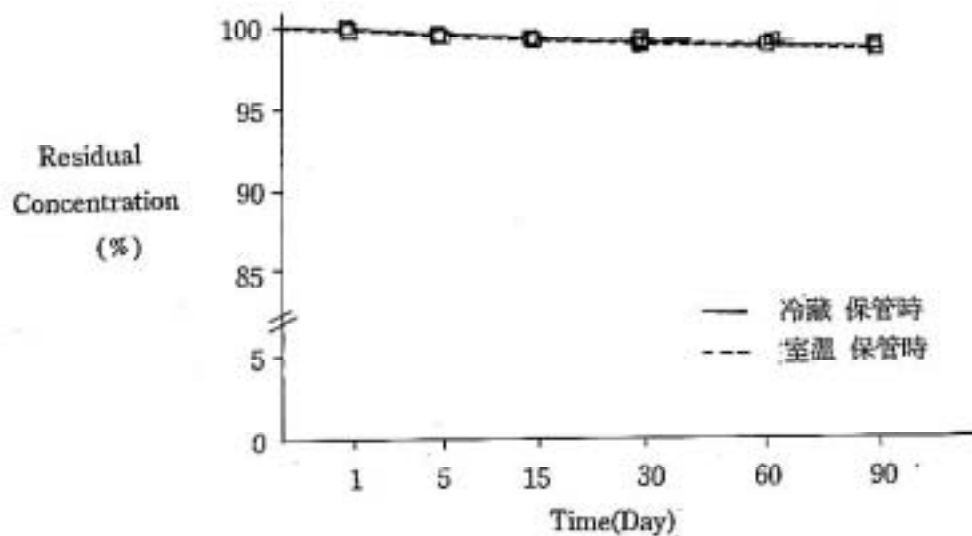


Fig. 7. Residual Concentration of Atropine sulfate in Preparation during Time Course.

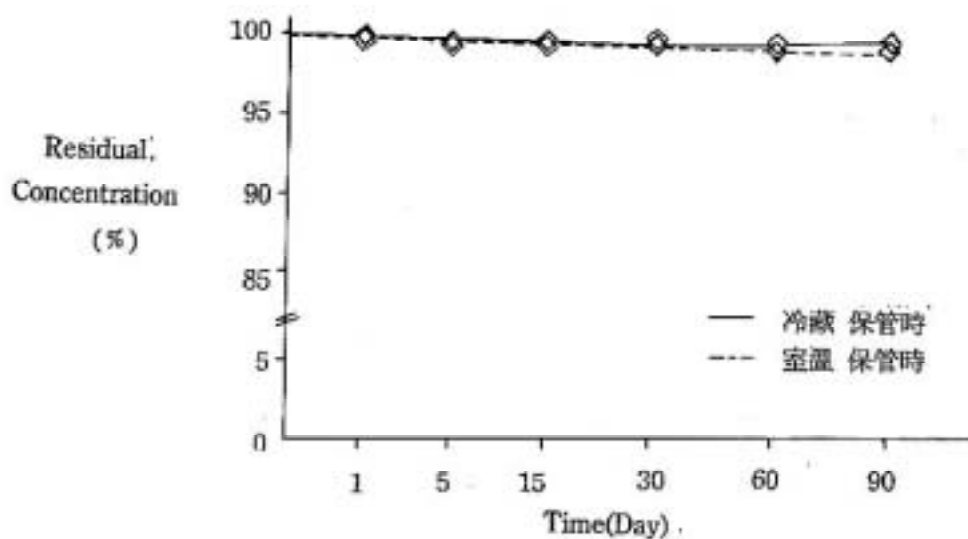


Fig. 8. Residual Concentration of Dexamethasone in Preparation during Time Course.

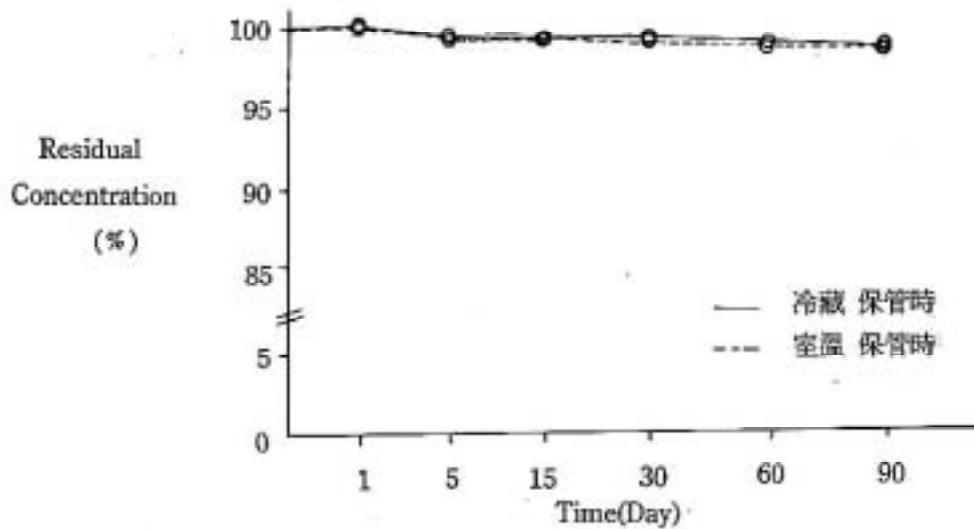


Fig. 9. Residual Concentration of Caffeine in Preparation during Time Course.

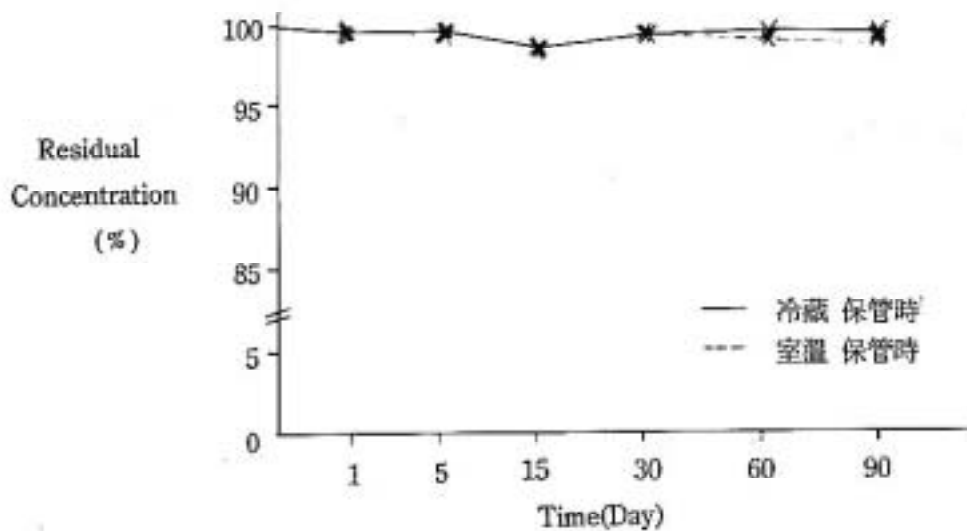


Fig. 10. Residual Concentration of Prednisolone in Preparation during Time Course.

IV. 参 考 文 献

- 1) The United States Pharmacopia XXII. p.123(1990)
- 2) 最新 高速液體クロマトグラフィノ應用編1.(昭和 58.11)
- 3) 高速液體 クロマトグラフィノデノタ集 抗生物質編 15.(昭和 61.1)