

의약품 중 Udenafil 정량을 위한 이온 선택성 고체 접촉 전극

한원식 · 김장기 · 심윤성 · 박주환 · 박창규 · 홍경희* · 홍태기†

한서대학교 화학과, *삼육보건대학 피부미용학과

Ion Selective Solid Contact Electrodes for Udenafil Determination in Pharmaceutical Preparations

Won-Sik Han, Jang-Ki Kim, Yun-Sung Shim, Joo-Hwan Park, Chang-Kyu Park, Kyung-Hee Hong*, and Tae-kee Hong†

Department of Chemistry, Hanseo University, Seosan, Chung-Nam, Korea

*Department of Cosmetology & Beauty, Sahmyook Health College, Seoul, Korea

The construction and performance characteristics of ion selective solid contact membrane electrodes for Udenafil drug are described. The proposed sensors are based on the formation of the complex ion associates of Udenafil with sodium tetraphenylborate ion pair (Udenafil-TPB) and phosphomolybdic acid ion pair (Udenafil-PMA) as ionophores in poly vinyl chloride membrane (PVC). Both electrodes Udenafil-PMA and Udenafil-TPB showed a linear and stable potential response with near-Nernstian slope of 55.0 and 47.0 mV per decade over a wide range of concentration 10^{-2} to $10^{-5.73}$ and 10^{-2} to $10^{-5.04}$ M Udenafil with good reproducibility, respectively. The electrodes showed a fast response time of < 60 sec. and were used over a wide range of pH 5~8 and pH 4~6, respectively. The selectivity coefficients indicated good selectivity for Udenafil over a large number of nitrogenous compounds and some inorganic cations. The proposed sensors are tested for the analysis of Udenafil in pure form and artificial blood serum. Standard deviation of these electrodes were ± 1.2 mV ~ ± 1.8 mV and correlation to the existing methods of 0.9977 were achieved.

Key words: ISE, SCE, ION SENSOR, VIAGRA, UDENAFIL

1. 서 론

Udenafil (품명 zydena, 5-[2-propyloxy-5-(1-methyl-2-pyrrolidinylethylamidosulphonyl) phenyl]-1-methyl-3-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo(4,3)pyrimidin-7-one) 은 동아 제약에서 (Yongin, Korea) 시판되어진 새로운 phosphodiesterase V inhibitor 발기부전 치료제로 Sildenafil citrate¹⁾ (품명 Viagra, 1-4-ethoxy-3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo-[4,3-d]pyrimidin-5-ylphenyl sulphonyl)-4-methylpiperazine citrate)와 비교하여도 성능과 선택성에서 동등하거나 그 이상의 효능을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 또한 임상 실험을 통해 부작용을 최소화시킨 국내 독보적인 발

기부전 치료제이다. Sildenafil citrate와 Udenafil의 검출 방법들을 발표하였는데 Viagra의 경우 분광학적 분석법과 크로마토그래피를 이용한 분석법 그리고 전기화학적 방법에 의한 분석 방법들이 발표되었으며²⁻¹¹⁾, Udenafil 또한 크로마토그래피를 이용한 정량 방법들이 여러 연구자들에 의해서 발표되었다.¹²⁻¹⁴⁾ 크로마토그래피를 이용한 정량 방법들은 분광학적 분석 방법과 전기 화학적인 분석 방법의 정확성과 정밀성 및 재현성에 있어서 유사하나, 복잡한 전처리 과정과 측정 시간이 많이 소요되며, 실험 비용들이 많이 든다는 단점을 갖고 있다. 본 논문에서는 이러한 단점의 보완을 위하여 이온 선택 전극을 이용한 Udenafil 정량 방법을 간단하고, 빠르며, 전처리 과정이 필요 없고 정량 비용

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: wondo@unitel.co.kr

을 극소화시킨 방법을 선택하여 용액 내의 Udenafil 농도의 정량 방법을 연구하고자 하였다.¹⁵⁾ 특히 이온 선택성 전극 중에 그간의 연구들에서도 전극의 안정성과 표준 전위의 안정성, 감응도 등에서 우수한 결과 발표가 있었던 Solid Contact 형태를 (SCEs) 선택하였다.¹⁶⁻²⁰⁾ SCEs의 내부 이온-전자 전도 층은 poly(aniline) 도전성 polymer를 이용하였고 외부의 감응체로는 Sodium tetraphenyl borate (NaTPB)와 Phosphomolybdic acid (PMA)를 Udenafil과 이온 결합쌍을 이룬 ionophore를 이용하여 실험하여 용액 내에서의 Udenafil 농도에 따른 감응 기울기와 감응 최저 농도 범위, 감응 시간 및 안정화 시간, 방해 이온 효과, pH 안정성, 인공 혈청 내에서의 감응 특성들까지의 이온 감응 특성을 PVC 막 내의 다양한 Plasticizer의 변화와 조성 변화를 연구하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

Aniline, potassiumtetrakis(4-chlorophenyl)borate (KTPCIPB), sodiumpolyphenylborate (NaTPB), Phosphomolybdic acid (PMA)는 Aldrich의 시약을 사용하였고 polyvinylchloride (PVC, n=1100)는 junsei사의 시약을 사용하였다. 이외에 실험에 사용된 시약들은 모두 분석급의 시약을 사용하였고 전 실험을 통하여 탈이온수를 사용하여 실험하였다. 순환 전압 전류법에 의한 polymerization은 potentiostat (EG & G model No. 273A)를 이용하였으며 전극 전위의 측정은 Ion analyzer (model 355, Mettler-Toledo Ltd. England)로 측정하였다.

2.2. Ionophore 합성¹⁵⁾

Udenafil 0.12 g과 PMA 0.912 g (NaTPB 0.17 g)을 각각 25 mL pH 4.5 Acetate buffer 용해시킨 두 용액을 혼합하여 침전되는 생성물을 filtering한 후 증류수로 Washing하고 anhydrous sodium sulfate로 수분을 제거하여 건조한 후 ionophore로 사용하였다.

2.3. 전도성 poly(aniline)층의 제조

지름 1 mm, 길이 50 mm의 Pt 금속선을 작업 전극으로 사용하였으며 합성에 사용한 용액은 aniline 0.03 M과 0.06 M HCl을 이용하였다. 사용한 전위는 기준 전극에 대하여 0.0 V에서 1.0 V까지 범위를 100

mV/s의 주사 속도로 30회 순환 전류전압법으로 polymerization 시킨 후 60°C 오븐에서 5시간 동안 건조하여 제조하였다.

2.4. PVC 혼합 용액의 제조

PVC 혼합 용액은 지지체, 친지방성 첨가제, 가소제와 제조된 PMA와 NaTPB ion pair 중성운반체를 THF 용액에 녹여 제조하였다. 지지체는 PVC를 사용하였으며 친지방성 첨가제는 KTPCIPB를 사용하였다. 가소제는 bis-(2-ethylhexyl adipate) (DOA), dioctyl phthalate (DOP), dibutyl phthalate (DBP), bis-(2-ethylhexyl) sebacate (DOS), tris-(ethylhexyl) phosphate (TEHP), 2-nitrophenyloctylether (NPOE) 등을 사용하여 조성별로 제조하였다.

2.5. 표준 용액 및 인공 혈청의 제조

0.1 M Acetate buffer pH 4.5 용액을 모 용액으로 Udenafil의 농도가 10^{-2} M에서 10^{-6} M까지 standard 용액을 제조하였으며 방해 이온들은 10^{-3} M Udenafil 용액을 0.1 M Acetate buffer를 이용하여 제조한 후 변형 Nicolsky 방정식을 이용하여 계산하였다. 인공 혈청은 8 mM NaH_2PO_4 , 1.5 mM Na_2HPO_4 , 2.0 mM CaCl_2 , 0.8 mM MgCl_2 , 4.5 mM KCl, 0.05 mM NH_4Cl , 4.7 mM glucose, 2.5 mM Urea의 혼합 용액을 이용하였다.

2.6. 고체 접촉 전극의 제조 및 전위 측정

전도성 poly(aniline)이 흡착된 Pt/poly(aniline)전극을 PVC 혼합 용액 속에 담구어 Pt-Poyaniline-PVC의 세 층을 형성하도록 제조하였으며, 전극 전체의 두께를 2.5 ± 0.1 mm 되도록 조절하였다. THF를 완전 휘발시킨 후, pH 4.5인 Udenafil 0.01 M 용액에서 안정화시킨 후 전극으로 사용하였다. 제조된 고체 접촉 전극을 작업 전극으로, double-junction 칼로멜 전극 Orion 90-20-00 (Orion Research. U.S.A.)을 전위 측정용 지지 전극으로 사용하여 제조된 표준 시료 용액으로 전극의 감응 전위를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

PMA-Udenafil 및 NaTPB-Udenafil ionophore를 이용한 poly(aniline) solid contact 전극이 나타내는 Udenafil 용액에서의 감응 특성을 Fig. 1에 나타내었다.

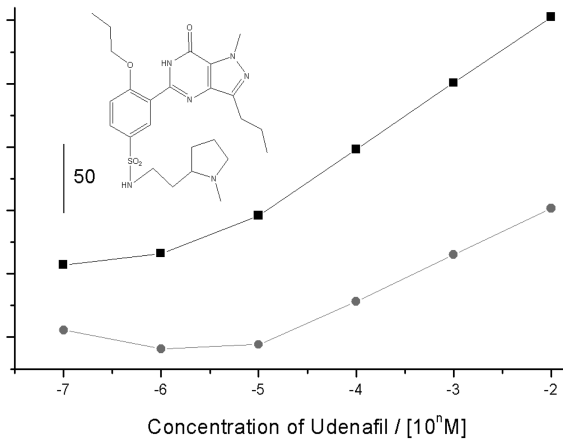


Fig. 1. Response Characteristics of PMA-Udenafil SCEs -■-, NaTPB-Udenafil SCEs -●- for Udenafil at pH 4.5 Acetate buffer solution (Structural formula is Udenafil).

NaTPB를 이용한 전극들은 $\sim 10^{-5.04}$ M의 최고 Dynamic range와 47 mV/decade의 감응기울기를 나타내고 있다. 여러 가지의 가소제 중에서 NPOE 가소제를 사용하였을 때 가장 넓은 감응 범위와 감응기울기를 나타내고 있었으며 이 전극의 조성은 Ionophore : NPOE : PVC : KTpCIPB = 0.010 : 0.35 : 0.19 : 0.001이었다. PMA를 이용한 전극들은 $\sim 10^{-5.73}$ M의 최고 Dynamic range와 55.0 mV/decade의 감응기울기를 나타내고 있다. 여러 가지 가소제 중에서 DOP 가소제를 사용하였을 때 가장 넓은 감응 범위와 감응기울기를 나타내고 있었으며 이 전극의 조성은 Ionophore : DOP : PVC : KTpCIPB = 0.010 : 0.45 : 0.19 : 0.001이었다.

PMA 전극과 NaTPB 전극의 경우 10^{-3} M 용액에 처음 침적되어 안정화되는데 걸리는 시간은 45분이었으며 이 용액에 10^{-2} M 5 mL가 첨가된 후 다시 감응 전위가 안정화되는 감응 시간은 두 전극 모두 1분 이내였다. 이 전극들의 재현성은 각각 10^{-2} M에서 ± 1.2 mV와 ± 1.3 mV였으며 10^{-3} M에서 ± 1.5 mV와 ± 1.8 mV였다. Fig. 2에 두 전극이 나타내는 pH 변화에 따른 안정성에 대하여 나타내었다. 이 전극들은 PMA 전극의 경우 pH 5~8, NaTPB 전극의 경우 pH 4~6의 범위에서 pH의 영향과 무관하게 일정한 전위값을 나타내고 있어서 이 범위 내에서의 측정이 가능할 것으로 보이며 전극의 전위값 변화 범위를 보더라도 PMA 전극의 경우에 5 이하와 8 이상의 범위에서 많은 차이를 보이고 있지 않아 이 범위의 초과 범

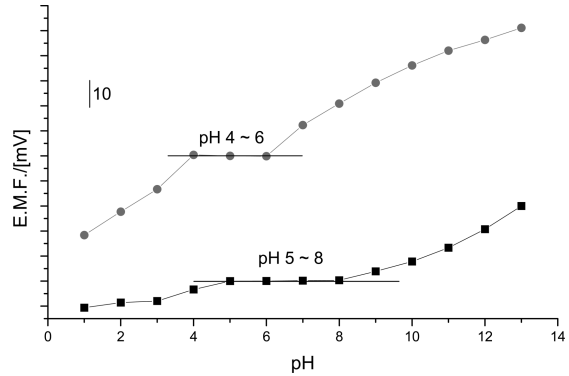


Fig. 2. The pH range for signal stabilization of PMA-SCEs -■-, and NaTPB-SCE -●- at pH buffered sample solution.

위에서도 많은 문제를 발생하지 않을 것으로 보인다. Fig. 3에 두 전극이 나타내는 방해 이온 효과에 대하여 나타내었다. 이 두 전극은 비교적 무기 양이온들에는 매우 적은 방해를 보이고 있고 유기 양이온들에는 일 반적인 방해를 나타내고 있다. 이는 이온 pair를 형성

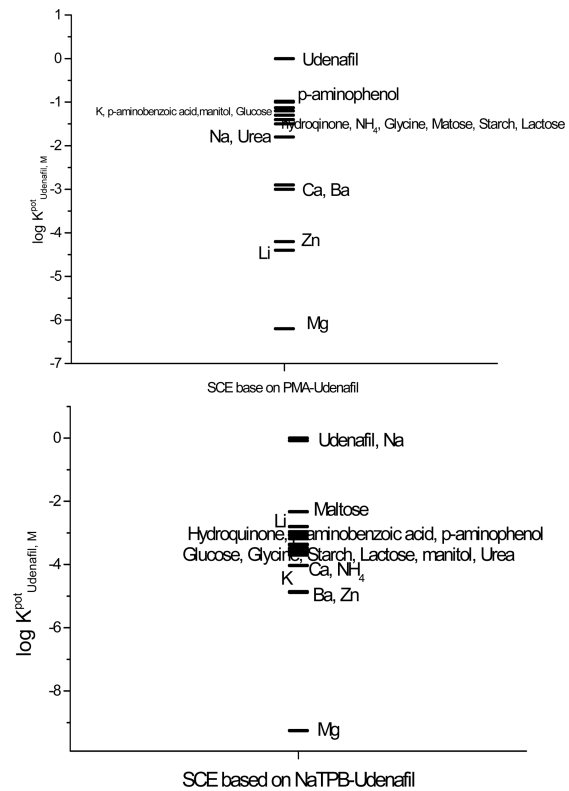


Fig. 3. Interference ion effect of PMA-SCE and NaTPB-SCE at acetate buffer solution.

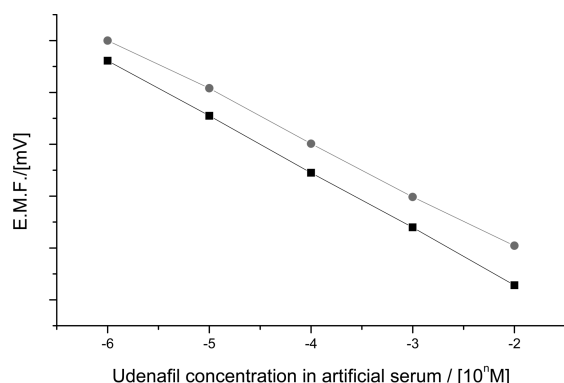


Fig. 4. Response characteristics of ■- PMA-SCE, ●- NaTPB-SCE for udenafil at artificial serum.

하는 전극들에서 나타나는 일반적인 현상들로 무기 이온들이 유기 이온들에 비하여 덜 방해받을 수 있는 결과를 알 수 있었다. 특히 Mg과 같은 알칼리 토금속에서는 방해를 받지 않는 결과들을 보이고 있으며, Urea와 같은 유기물에도 중간 정도의 약한 방해만을 보이고 있다. 이를 토대로 하여 인공적으로 제작한 serum에서의 감응 특성을 Fig. 4에 나타내었다. 특이한 것은 두 전극 모두에서 Acetate buffer나 Tris buffer를 이용하여 제작한 표준 용액에서보다 더 상승된 감응 기울기와 감응 범위를 보이고 있다. 이는 방해 이온 효과에서 나타난 것과 같은 결과로 표준 용액 상의 유기 이온들에 대한 결과들로 보이며 방해 이온 결과와도 잘 상치되는 결과로 볼 수 있었다. 이들은 PMA 전극의 경우 53.0 mV/decade의 감응 기울기로 기존의 표준 용액에서 보다 다소 작은 값을 나타내지만 NaTPB보다 적은 유기이온들에 대한 감응도의 결과로 보이며 감응 범위가 10^{-6} M 이하로 나타나고 NaTPB 전극의 경우 60.7 mV/decade로 더 높은 감응기울기와 10^{-6} M 이하의 감응 범위를 나타내고 있어 이 전극을 이용한 혈청 실험에 있어 방해 이온 없이 직접적인 실험이 가능할 것으로 보인다.

4. 결 론

NaTPB - Udenafil 및 PMA - Udenafil ionophore를 이용한 poly(aniline) solid contact 전극은 각각 $\sim 10^{-5.04}$ M의 Dynamic range, 47 mV/decade의 감응 기울기와 $\sim 10^{-5.73}$ M의 Dynamic range, 55.0 mV/decade의 감응기울기를 나타내고 있었다. 이 전극들의 조성은 Ionophore : NPOE : PVC : KTpCIPB =

0.010 : 0.35 : 0.19 : 0.001와 0.010 : 0.45 : 0.19 : 0.001이었으며 PMA 전극의 경우 pH 5~8, NaTPB 전극의 경우 pH 4~6의 범위에서 pH의 영향과 무관하게 일정한 전위값을 나타내고 있었다. 방해이온 효과는 비교적 무기 양이온들에는 매우 적은 방해를 보이고 있고 특히 Mg과 같은 알칼리 토금속에서는 방해를 받지 않는 결과들을 보이고 있다. 인공적으로 제작한 serum에서의 감응 특성은 PMA 전극의 경우 53.0 mV/decade의 감응 기울기로 기존의 표준용액에서 보다 다소 작은 값을 나타내지만 감응 범위가 10^{-6} M 이하로 나타나고 있으며 NaTPB 전극의 경우 60.7 mV/decade로 더 높은 감응기울기와 10^{-6} M 이하의 감응 범위를 나타내고 있어 이 전극을 이용한 혈청 실험에 있어 방해 이온 없이 직접적인 실험이 가능할 것으로 보인다.

참고문헌

1. T. Y. Oh, K. K. Kang, B. O. Ahn, M. Yoo, W. B. Kim, *Arch. Pharm. Res.* **2000**, 23, 471
2. J. D. H. Cooper, D. C. Muirhead, J. E. Taylor, P. R. Baker, *J. Chromatogr. B* **1997**, 701, 87.
3. Y. M. Liu, H. C. Yang, J. R. Miao, *Yaowu-Fenxi-Zazhi* **2000**, 20, 161.
4. M. E. S. Metwally, *Mansoura J. Pharm. Sci.* **2000**, 16, 1.
5. J. J. Berzas, J. Rodriguez, G. Castaneda, M. J. Villasenor, *Anal. Chim. Acta* **2000**, 417, 143.
6. R. J. Lewis, R. D. Johanson, C. L. Blank, Final Report No.: Dot / Faa / AM-00120, US Department of Transportation, Federal Aviation Administration, 2000, p. 1.
7. N. D. Dinesh, P. Nagaraja, N. M. Made Gowda, K. S. Ranappa, *Talanta* **2002**, 57, 757.
8. A. S. Amin, A. El-Beshbeshy, *Mikrochim. Acta* **2001**, 137, 63.
9. F. T. Dong, J. Liaa, Z. Yuan, Y. Liang, X. Zhang, *Fenxi-Ceshi Xuebaq* **2000**, 19, 353.
10. A. I. Segall, M. T. Vitzle, V. L. Perez, M. L. Palacios, M. T. Pizzorno, *J. Liq. Chromatogr.* **2000**, A23, 1377.
11. T. S. Ma, S. S. M. Hassan, *Organic Analysis Using Ion Selective Electrodes*, Academic Press, London, 1982.
12. H. J. Shim, E. J. Lee, Y. H. Jung, S. H. Kim, S. H. Kim, M. Yoo, J. W. Kwon, W. B. Kim, M. G. Lee, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2002**, 30, 527
13. J. Kim, H. Y. Ji, S. J. Kim, H. W. Lee, S. S. Lee, D. S. Kim, M. Yoo, W. B. Kim, H. S. Lee, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2003**, 32, 317

14. J. Y. Cho, H. S. Lim, K. S. Yu, H. J. Shim, I. J. Jang, S. G. Shin, *J. Chroma. B*, **2003**, 795, 179
15. A. M. Othman, N. M. H. Rizk, M.S. El-Shahawi, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 515, 303
16. R. B. Fisher, *J. Chem. Edu.* 1974, 51, 347.
17. W. Simon, "Ion-Selective Sensor", *Pure Appl. Chem.*, **1971**, 28, 811.
18. A. K. Covington, "Ion-Selective Electrode Methodology", 1-2, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1980.
19. E. Bakker, P. Buhlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 3083.
20. P. Buhlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1593.