

利用 HPLC 作 Benzodiazepine 類鎮定劑之鑑別及含量測定

陳佩華 黃明權 邵清益

摘 要

利用高效液相層析法建立 Lormetazepam, Lorazepam, Nimetazepam, Nitrazepam, Oxazepam, Diazepam, Chlordiazepoxide 等 Benzodiazepine 類鎮定劑之分離鑑別法，並利用其中任一種作另一種目的成分之內部標準品，作含量測定。

前 言

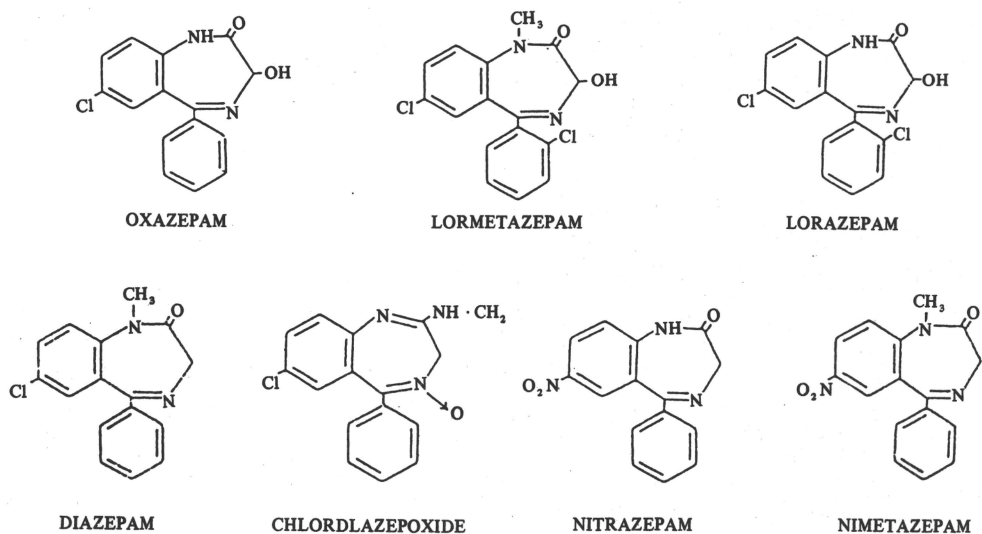
以往屬於 Benzodiazepine 類之鎮定劑比較少，所以用紫外光吸光度測定法及薄層層析分析法就可以將它們鑑別區分。近年來，此類藥品發展頗為迅速，有許多新藥上市，由於其互相間在構造上極為類似（圖一），目前只採用紫外光吸光度測定法或薄層層析分析法已難以將其確切的鑑別區分。目前已發表之利用 HPLC 對 Benzodiazepine 類鎮

定劑作鑑別、定量之報告不少^{1,2,3,4,5}，但其目的，用途多屬臨床治療方面，鮮有完全針對此類藥品其構造上之類似而作其各別之區分者。本實驗係利用高效液相層析法探研此等 Benzodiazepine 類鎮定劑之分離鑑別，並期獲得迅捷可靠之含量測定法。

材料與方法

一、儀器

(一) HPLC 系統：包括溶媒輸送系統 (Waters,



圖一 Oxazepam 等七種 Benzodiazepine 類鎮定劑之構造式

Model 6000 A), 逆相層析管 (Waters, 3.9mm ID × 30 cm μ Bondapak C₁₈), UV 偵知器 (Waters, Model 440) 及 Omniscribe 記錄器。

- (二) Milli-Q 水淨化裝置 (Millipore Corp.)
- (三) 溶媒淨化裝置。
- (四) 超音波浴。
- (五) 分析天平。
- (六) 微量注射器 (25 μ l)。

二、藥品及試藥

(一) Lormetazepam, Lorazepam: 標準品由 Wyeth-pharma GmbH 提供。

(二) Nimetazepam: secondary standard。

(三) Nitrazepam, chlordiazepoxide: 標準品由 Industria Chimica Profarmaco S.P.A. 提供。

(四) Oxazepam, Diazepam: 藥典級 (USP)。

(五) Lormetazepam 製劑 (錠劑): Wyeth-Pharma GmbH 產品。

(六) Phosphoric Acid, Methanol: 試藥級 E. Merck。

(七) 試藥級水 (Milli Q)。

三、實驗方法

(一) 檢體溶液之配製:

1. Lormetazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 90r/ml 之濃度。

2. Lorazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 100r/ml 之濃度。

3. Nimetazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 25r/ml 之濃度。

4. Nitrazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 50r/ml 之濃度。

5. Oxazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至

50r/ml 之濃度。

6. Diazepam 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 70r/ml 之濃度。

7. Chlordiazeponide 溶液: 標準品以甲醇溶解稀釋至 15r/ml 之濃度。

8. Lormetazepam, Lorazepam, Nimetazepam, Nitrazepam, Oxazepam, Diazepam, Chlordiazeponide 混合檢液: 稱取上述七成分之標準品各適量, 以甲醇溶解稀釋至含 Lormetazepam 90r/ml, Lorazepam 100r/ml, Nimetazepam 25r/ml, Nitrazepam 50r/ml, Oxazepam 50r/ml, Diazepam 70r/ml 及 chlordiazeponide 15r/ml 之濃度。

9. Lormetazepam 製劑溶液: 稱取檢體 (Wyeth-Pharma GmbH 產品二、(五)) 適量以甲醇溶解稀釋至含 Lormetazepam 50r/ml 之濃度, 過濾, 取濾液為檢液。定量用。

(二) 移動相之配製:

取甲醇及 1% 磷酸溶液以 45:55 之比例混合, 在超音波浴中振盪 6 分鐘驅除氣體後使用。

(三) 實驗分析之條件:

1. 分離管: μ -Bondapak C₁₈。

2. 流速: 1.5 ml/min。

3. 偵知器: UV 254 nm · 0.1 AUFS。

4. 移動相: 甲醇: 1% 磷酸溶液 (45:55 v/v)。

5. 記錄紙速度: 0.25 cm/min。

6. 注射量: 12 μ l。

結果與討論

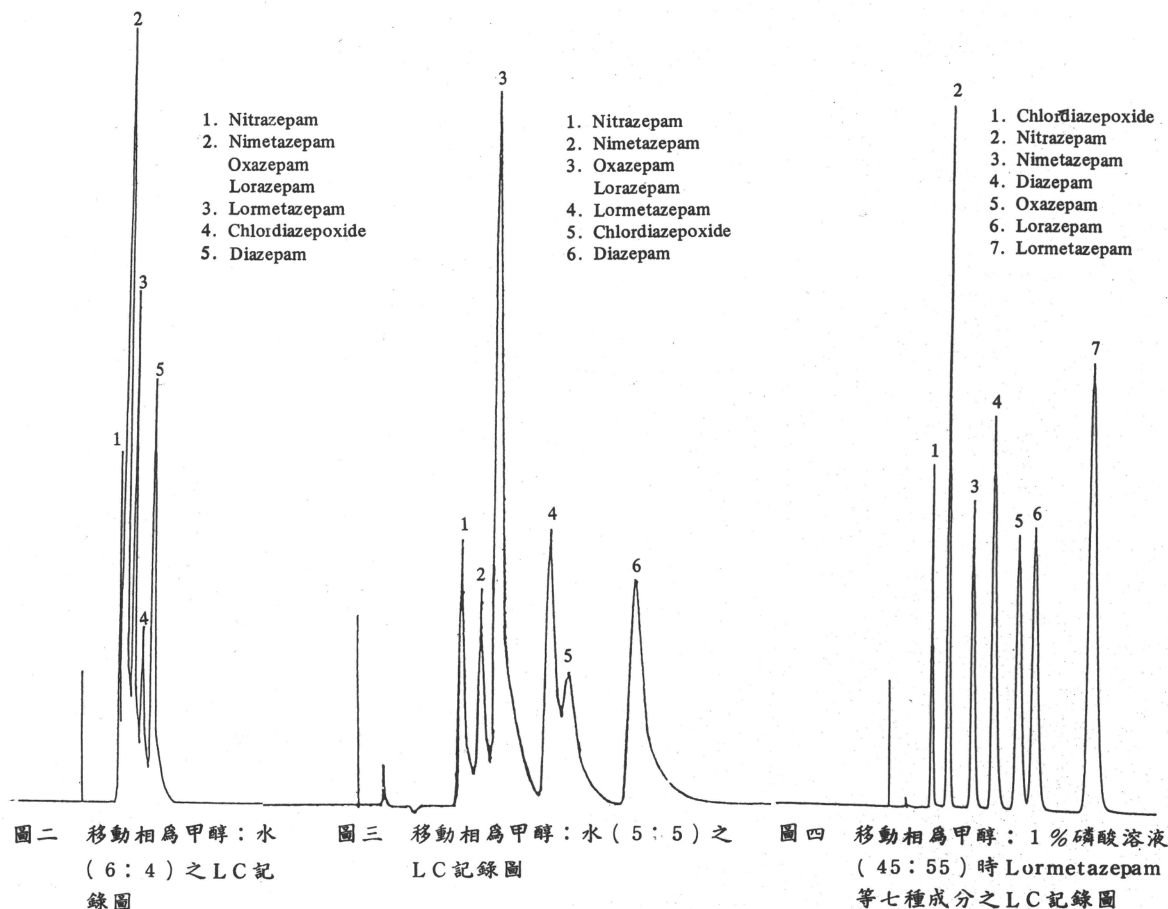
一、上述七種待測定成分在水及甲醇中之溶解度如表一^{6,7}。

關於 Lorazepam 等成分之各別分析, 有以甲

表一 Lormetazepam 等七種 Benzodiazepine 類鎮定劑在水及甲醇中溶解度一覽表

溶劑名	Lormetazepam	Lorazepam	Nimetazepam	Nimetrazepam	Oxazepam	Diazepam	Chlordiazeponide
水	幾不溶	幾不溶	幾不溶	幾不溶	幾不溶	不溶	易溶
甲醇	略溶	可溶	可溶	可溶	可溶	可溶	可溶

HPLC作Benzodiazepine類鎮定劑之鑑別測定



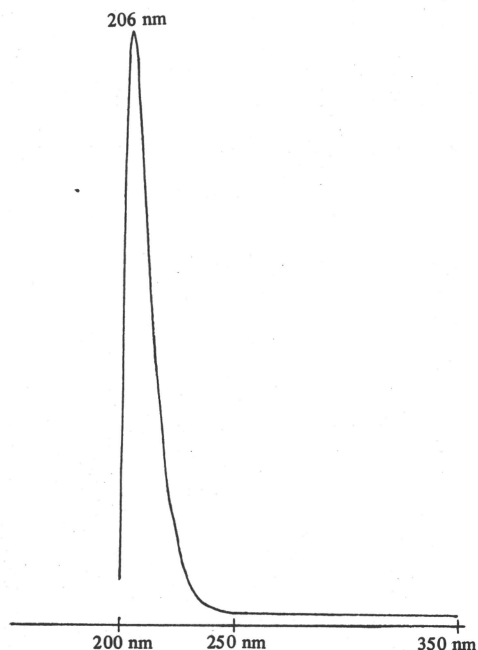
醇：水（6：4）為移動相者，故本實驗最初即採用
 甲醇：水（6：4）作移動相，所得之結果（圖二）。
 若移動相改為甲醇：水（5：5），極性提高則可改
 善其分離之效果（圖三）。

由表一可知前六種成分均幾不溶於水，圖二、
 圖三中復呈現 peak tailing 現象，而本實驗待分
 析之成分均係鹼性化合物，於酸性溶媒中當可提高
 其溶解度，因此乃嘗試降低 pH 值，於酸性 pH 值
 條件下，以增加 Lormetazepam 等成分對移動相
 之親和力，改善其 peak tailing 之現象。經將移
 動相之 pH 值及極性作一系列之調整後，終於得到
 圖三之 3 所記之最佳條件。chlordiazepoxide 等
 七種待測定成分之分離情形極為良好（圖四）。

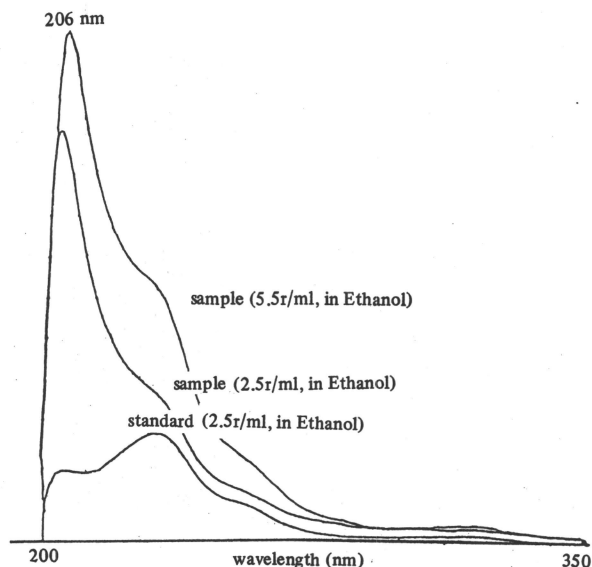
二、由於這類藥品均為單一成分有效製劑，所以於
 含量測定時，可互為內部標準品。定量時，稱取檢
 體適量以甲醇溶解稀釋至適當濃度，過濾，取濾液

加入適量之內部標準品作為檢體溶液，另取標準品
 適量配製成與檢體溶液相同濃度之標準品液，內部
 標準品之量亦同作為標準品溶液，按 HPLC 法操
 作，所得之 LC 記錄圖，利用波峯比較法可計算出
 其正確之含量。又此七種藥品對甲醇之溶解度均甚
 良好，且溶解、過濾後即可直接取濾液操作，故回
 收率甚為理想。

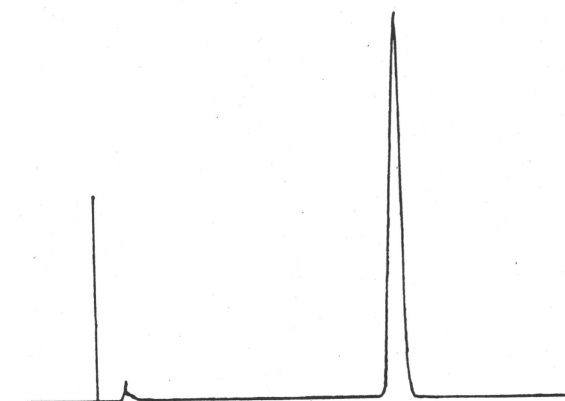
三、此類藥品之含量測定，目前多採用直接溶解稀
 釋後測定其紫外光吸光度之方法，但因此製劑之處
 方中通常多加入 polyvinylpyrrolidone (PVP)
 作黏合劑，而 PVP 吸光波段為 200 ~ 250 nm，
 在 206 nm 呈現最大吸收（圖五），所以干擾到製
 劑檢液的吸收圖譜及吸光值，致無法定量（圖六）
 。若採用 HPLC 作含量測定，則可完全不受 PVP
 之干擾，而得到正確之結果（圖七）。本實驗所獲
 得之結果，不但可將鑑別及含量測定一次完成，且



圖五 polyvinylpyrrolidone (40 r/ml, in ethanol) 之紫外光吸光圖譜



圖六 製劑及標準品之紫外光吸光圖譜



圖七 移動相為甲醇：1%磷酸溶液 (45:55) 時 Lormetazepam 製劑之 LC 記錄圖

可分離類似構造之成分，效果至為良好，在分析上甚為理想、便利。

四、利用本實驗所獲高效液相層析條件，可使 Lor-

metazepam 等七種構造極為近似之 Benzodiazepine 類鎮定劑獲致相當理想之分離鑑別，在實際應用上，並可利用其中任一種作另一種目的成分之內部標準品，測定其含量。

參考文獻

1. Journal of Chromatography., 188, 426-430 (1980).
2. Journal of Pharmaceutical Sciences., 68, (8) (1979).
3. Journal of Chromatography., 150, 355-360 (1978).
4. Journal of Chromatography., 181, 227-241 (1980).
5. Journal of Chromatography., 185, 505-513 (1971).
6. Isolation and Identification of Drugs.
7. Merck Index 9th ed.

STUDIES ON ANALYSIS OF BENZODIAZEPINE DERIVATIVES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

PAN-HAW CHEN, MING-CHUAN HUANG AND CHING-YIH SHAW

ABSTRACT

A reversed-phase, high performance liquid chromatographic method for the determination of lormetazepam, lorazepam, nimetazepam, nitrazepam, oxazepam, diazepam and chlordiazepoxide in tranquilizer preparations is described.

The identification and assay can be processed simultaneously, and each one of these benzodiazepine derivatives can be assayed by using another one as internal standard.