

利用高效液相層析法 測定 Metoclopramide 及其類似物 Bromopride

蔡芳英 石賢政 謝彭生

摘 要

Metoclopramide 及 Bromopride 之化學結構差異僅在於前者含氯原子，後者含溴原子；其紫外光吸收圖譜甚為相似；而薄層分析亦欠理想，至今二者間尚無可靠之鑑別法可循。今利用逆相高效液相層析法，以 Caffeine 為內標準品， μ -Bondapak Phenyl 層析管為固定相，乙腈—0.025M 磷酸鹽緩衝液（20:80）為移動相，分離並鑑別、定量此二成分。本法之回收率 Metoclopramide 及 Bromopride 分別可達 98.5% 及 99.7%。為一簡便可靠之測定法。

鍵語：Metoclopramide, Bromopride 鑑定，含量測定，高效液相層析法。

前 言

Metoclopramide 或 Bromopride 常出現於鎮吐劑、胃、十二指腸潰瘍治療劑、X-光造影等單一有效成分口服製劑及注射劑。Metoclopramide 業經英國藥典及日本藥局方外醫藥品成分規格予以收載^{1,2,3,4}，而 Bromopride 則僅散見於部分文獻中^{5,6}。公定書收載 Metoclopramide 之原藥或單一有效成分製劑利用紫外光吸光度法及呈色法作鑑別試驗，並採用非水滴定法¹或分光光度法⁷定量。但由於兩者之紫外光吸收圖譜及呈色反應均相同，故自 Bromopride 問世以來，除英國藥典規定原藥可用紅外光吸收光譜法予以鑑別外，其製劑中有有效成分之鑑別法已不能區別此二成分。本實驗係利用液相層析法，研討該二成分間之分離、鑑別及其含量測定，期能獲得簡便、實用之法。

材料與方法

一、高效液相層析儀

溶媒輸送系統：Waters, Model 6000A 二部。

溶媒程式設定器：Waters, 6600。

逆相層析管：Waters, 3.9mm I.D.×30 cm

- Phenyl。

UV 偵知器：Waters, Model 450。

記錄器：Omniscribe Recorder。

二、試藥及對照標準品

(一) Metoclopramide：藥典級。

(二) Bromopride：藥典級。

(三) Caffeine：藥典級。

(四) Acetaminophen：藥典級。

(五) 澱粉、乳糖、滑石粉：藥典級。

三、實驗步驟

(一) 對照標準溶液之配製：

1. 取 Metoclopramide 及 Bromopride 對照標準品各適當量，分別溶於甲醇，各稀釋成含 Metoclopramide 或 Bromopride 0.4 mg/ml 之對照標準溶液。

2. 取 Caffeine 及 Acetaminophen 各適當量，分別以甲醇溶解，稀釋為含 Caffeine 0.05mg/ml 或 Acetaminophen 0.15mg/ml 之內部對照

標準溶液。

3. 精確稱取 Metoclopramide 及 Bromopride 之對照標準品各適當量，以甲醇溶解，並於稀釋過程中加入內部標準品 Caffeine 使其各含 Caffeine 0.05 mg/ml 而對照標準品分別為 0.2、0.4、0.6、0.8 及 1.0 mg/ml 等五種濃度之混合對照標準液。

(一) 模擬檢體溶液之配製

模擬檢體 I

Metoclopramide 10mg

乳 糖 65mg

澱 粉 35mg

滑石粉 10mg

模擬檢體 II

Bromopride 10mg

乳 糖 65mg

澱 粉 35mg

滑石粉 10mg

精確稱取兩種模擬檢體各適當量，加適量之甲醇，於超音波浴內振盪十分鐘後，離心分離，取上澄液過濾。殘留物重複操作二次，合併濾液以甲醇稀釋，並於稀釋過程中加入內部標準品 Caffeine 使成一組含 Caffeine 0.05 mg/ml 並含 Metoclopramide 及 Bromopride 二成分各 0.2、0.4、0.6、0.8 及 1.0 mg/ml 等五種濃度之模擬檢體溶液。另配製一組約含 Caffeine 0.05 mg/ml, Acetaminophen 0.15 mg/ml，而所含對照標準品之濃度與上組同。

(二) 市售 Metoclopramide 製劑與 Bromopride 製劑分析

1. 固體製劑

精確稱取 Metoclopramide 膠囊及 Bromo-

pride 膠囊之內容物各適當量，分別加適量之甲醇，以超音波浴振盪十分鐘後，離心分離。取上澄液過濾，殘留物重複操作二次，合併濾液。再以甲醇稀釋，並於稀釋過程中加入內部標準品 Caffeine，使成含 Caffeine 0.1 mg/ml，而分別含 Metoclopramide 0.20 mg/ml 或 Bromopride 0.40 mg/ml 之檢品溶液。

2. 注射劑

取 Metoclopramide 及 Bromopride 注射劑各適當量，於水浴上蒸乾後，殘留物各加適量甲醇溶解並過濾。濾液以甲醇稀釋，並於稀釋過程中加入內部標準品使成均含 Caffeine 0.1 mg/ml，而分別含 Metoclopramide 0.2 mg/ml 或 Bromopride 0.4 mg/ml 之檢品溶液。

(三) 磷酸鹽緩衝液之配製

稱取磷酸氫一鉍適當量，以試藥級水 (Milli-Q water) 調配為 0.025 M 之濃度，並以磷酸調節成 pH 值分別為 3.0、3.5、4.5 之三種磷酸鹽緩衝液。經 0.45 μ m 溶媒濾清器過濾後，置冰箱中備用。

(四) 移動相之配製：

臨用時，取磷酸鹽緩衝液、甲醇及乙腈依實驗所需之各項比例配合，以超音波浴振盪十五分鐘驅氣後使用。

(五) 實驗分析之條件：

1. 層析管： μ -Bondapak Phenyl, μ -Bondapak C-18 及 μ -Bondapak Amine 3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm。

2. 移動相之配製：如表一。

3. 偵知器：UV 275 nm, 0.1 AUFS。

4. 流速：2.0 ml/min。

5. 記錄紙速度：0.5 cm/min。

表一 移動相之配製

pH 值	甲醇：0.025 M 磷酸鹽緩衝液	乙腈：0.025 M 磷酸鹽緩衝液
3.0	30:70	30:70
	20:80	20:80
3.5	30:70	30:70
	20:80	20:80
4.5	30:70	30:70
	20:80	20:80

HPLC測定Metoclopramide 及 Bromopride

(b) 鑑別及含量測定法：

依內項之分析條件，分別注射三(一)模擬檢體溶液及三(一)之 1 至 3 項各對照標準液各 3ul，以所得波峯面積為縱座標，濃度為橫座標，作成回收曲線及標準曲線。由波峯之滯留時間可鑑別各成分，同時依下式計算模擬檢體中各成分之含量百分比(%)：

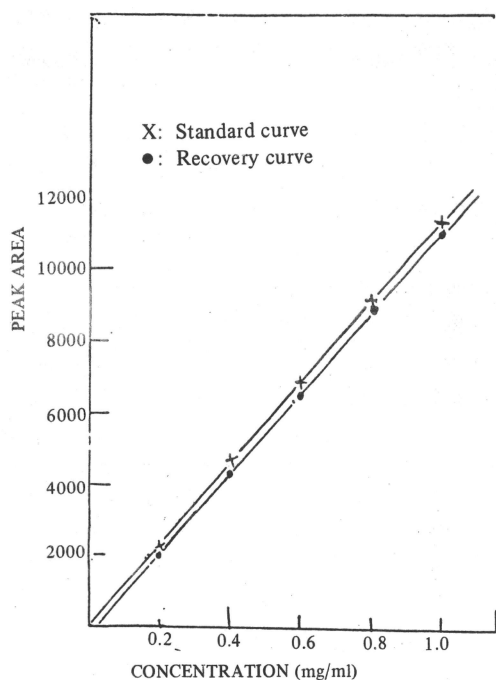
$$\frac{R_T}{R_S} \times 100 = \% \text{ 標誌量}$$

R_T ：檢體成分波峯面積與內部標準品波峯面積比

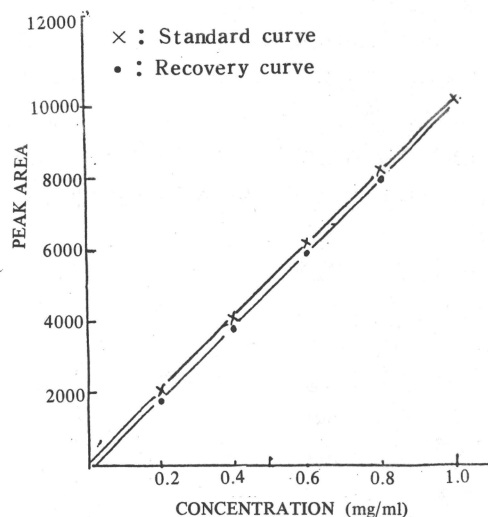
R_S ：標準品與內部標準品波峯面積比

結果與討論

一、實驗步驟(一)(二)項所調配各系列濃度溶液依內項實驗條件使用 μ -Bondapak Phenyl 層析管分析所得之標準曲線及回收曲線均成線性關係，且相當靠近，如圖一及圖二；取由市售 Metoclopramide 膠囊劑及 Bromopride 膠囊劑配裝之檢品溶液 3ul，依同樣條件注入層析儀測定之，其四次注射所得回收率，由表二可見其中 Metoclopramide 之回收



圖一 Bromopride 之標準曲線及回收曲線
Column: μ -Bondapak Phenyl 3.9mm
I.D. $\times$ 30 cm



圖二 Metoclopramide 之標準曲線及回收曲線
Column: μ -Bondapak Phenyl 3.9mm
I.D. $\times$ 30 cm

表二 Metoclopramide 及 Bromopride 製劑之回收率

Drug	Amount Added, mg/ml	Amount Found, mg/ml	Recovery %
Metoclopramide	0.20	0.2035	101.7
Bromopride	0.40	0.3949	98.7
Metoclopramide	0.20	0.1980	99.0
Bromopride	0.40	0.3909	97.7
Metoclopramide	0.20	0.1950	98.5
Bromopride	0.40	0.4032	100.8
Metoclopramide	0.20	0.2022	101.1
Bromopride	0.40	0.3980	99.5

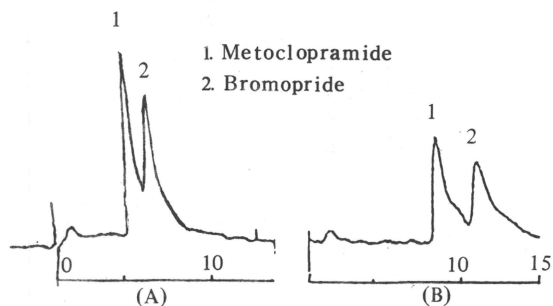
率在 98.5% 以上，而 Bromopride 則在 97.7% 以上，顯示所採實驗條件頗為可行。

二、Metoclopramide 於注射後十分鐘出現波峯，而 Bromopride 則在十二分鐘出現，故可由滯留時間不同而鑑別此二成分，並依波峯面積測定其含量。

三、所用內部標準品，經試驗結果，Acetaminophen 及 Caffeine 均能在待分析成分之前出現波峯，且分離良好，不致互相干擾，故二者均適用。本實驗適採用 Caffeine 為內部標準品。

四、本實驗曾試以 μ -Bondapak C-18 層析管，經

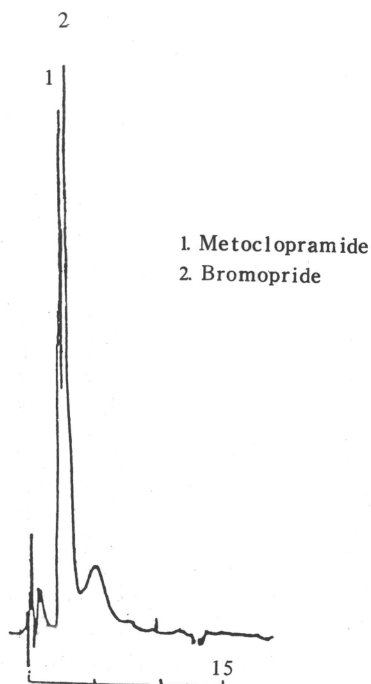
多次變換甲醇比例與 pH 值，均未能將兩者完全分離（如圖三）。若改用極性較甲醇微低之乙腈並配製成比例 30:70 (pH=3.5) 及 20:80 (pH=3.5) 之乙腈：磷酸緩衝液，雖可使二者分離，但波峯變寬，且有嚴重彗尾（Tailing），如圖四及圖五。



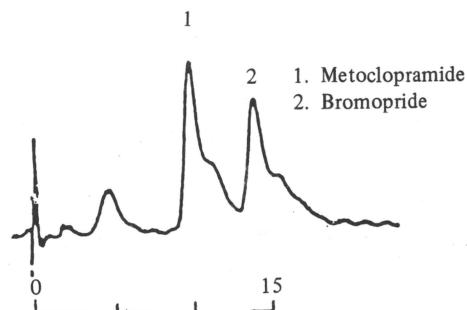
圖三 模擬試驗使用 μ -Bondapak C-18 層析管 (3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm) 之層析圖

(A) 移動相為 Methanol:Amm. phosphate buffer (pH=3.5) = 30:70

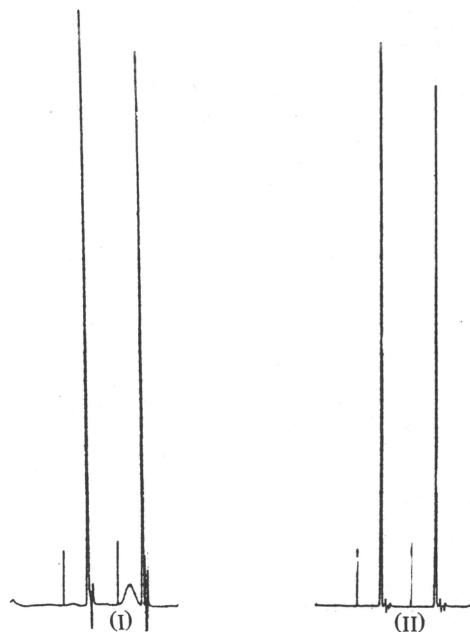
(B) 移動相為 Methanol:Amm. phosphate (pH=3.5) = 20:80



圖四 模擬試驗使用 μ -Bondapak C-18 層析管 (3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm) 之層析圖
移動相為 Acetonitrile:Amm. phosphate buffer (pH=3.5) = 30:70



圖五 使用 μ -BONDAPAK C-18 層析管 (3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm) 經改變移動相中有機溶媒比例所得之層析圖。
移動相為：Acetonitrile:Amm. phosphate buffer (pH=3.5) = 20:80

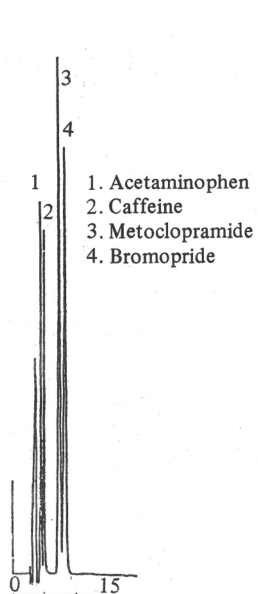


圖五-1 模擬試驗使用 μ -Bondapak Amine 層析管 (3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm) 及改變移動相中有機溶媒比例及種類所得層析圖譜

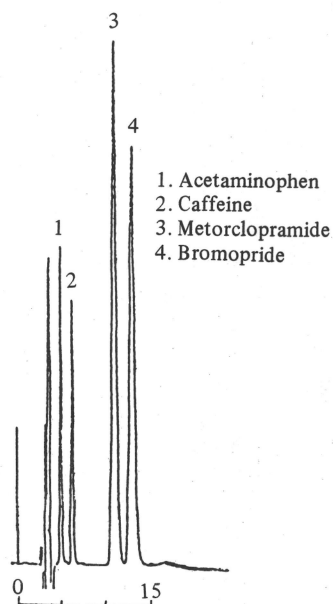
(I) 移動相為 Methanol:Amm. phosphate buffer (pH=3.5) = 30:70
Methanol:Amm. phosphate buffer (pH=3.5) = 20:80

(II) 移動相為 Acetonitrile:Amm. phosphate buffer (pH=4.5) = 30:70
Acetonitrile:Amm. phosphate buffer (pH=4.5) = 20:80

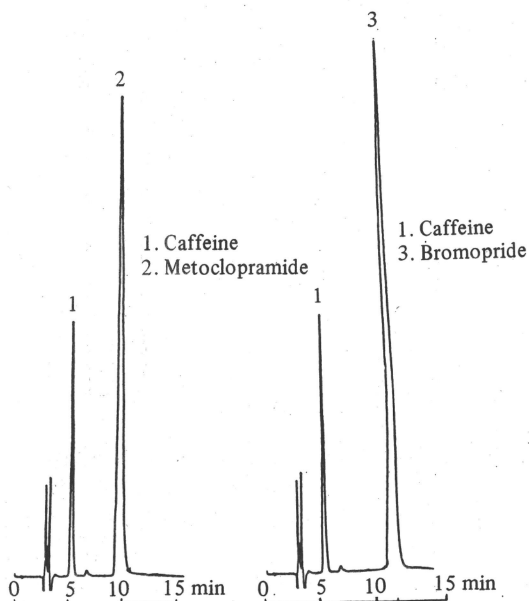
HPLC測定Metoclopramide 及 Bromopride



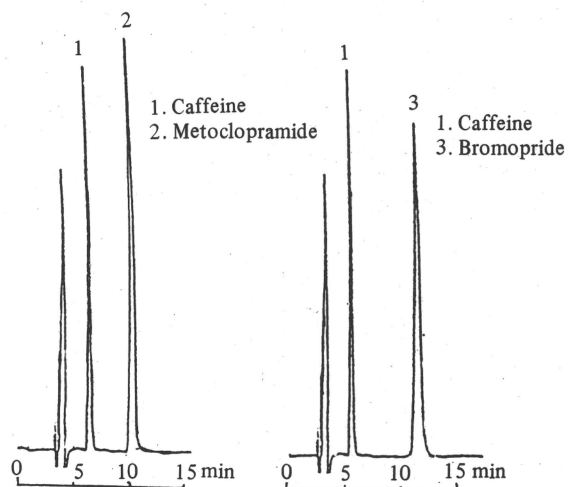
圖六 模擬試驗使用 μ -Bondapak Phenyl層析管
(3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm)之層析圖
移動相為Acetonitrile: Amm. phosphate
buffer (pH=3.5)=30:70



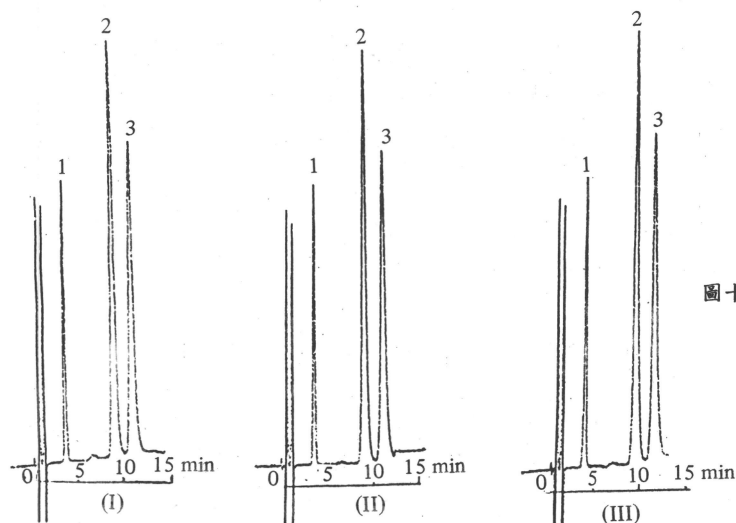
圖七 模擬試驗使用 μ -Bondapak Phenyl
層析管 (3.9 mm I.D. $\times$ 30 cm)經改變
移動相中有機溶媒比例所得之層析圖
移動相為Acetonitrile: Amm. phosphate
buffer (pH=3.5)=20:80



圖八 市售膠囊中之液相層析實測圖譜
層析管: μ Bondapak Phenyl (3.9 mm
I.D. $\times$ 30 cm)
移動相為Acetonitrile: Amm. phosphate
buffer (pH=3.5)=20:80



圖九 市售注射劑之液相層析實測圖譜
層析管: μ Bondapak Phenyl (3.9 mm
I.D. $\times$ 30 cm)
移動相為Acetonitrile: Amm. phosphate
buffer (pH=3.5)=20:80



圖十 模擬檢體改變 pH 值所得之層析圖譜 (I) :
pH=3.0, (II) : pH=3.5, (III) : pH=4.5
層析管 : μ -Bondapak Phenyl (3.9 mm
I.D. $\times$ 30 cm)
移動相為 Acetonitrile : Amm. phosphate
buffer = 20 : 80

改變有機溶媒與緩衝液之比例，該二成分仍重疊，無法分開。(如圖五之一)

六、改用 μ -Bondapak Phenyl 層析管，當以乙腈：磷酸鹽緩衝液 (30:70, pH=3.5) 為移動相時，Metoclopramide 與 Bromopride, Acetaminphen 與 Caffeine (內部標準品) 之波峯仍稍有重疊現象 (如圖六)；但以乙腈：磷酸鹽緩衝液 (20:80, pH=3.5) 為移動相時，則能完全分離，如圖七。而市售該二成分之製劑以此移動相予以層析，可由二者之滯留時間不同予以鑑別，亦可測定各成分之含量。如圖八及圖九。緩衝液之 pH 值在 3.0 至 4.5 範圍內，經選用內部標準品 Caffeine 與該二成分測定之。由圖十之結果可知對上述諸成分之分離影響甚小。

七、待測定成分對極性較低之 C-18 層析管親和力較高，致產生波峯彗尾現象；而對極性較高之 Amine 層析管，則因親和力過低，以致全無滯留。若改以極性適中之 Phenyl 層析管，可獲致尖銳之波型，提高層析敏感度。

由上述實驗結果可知，所採用三種層析管中以 μ -Bondapak Phenyl，於乙腈：緩衝液 (20:80) 為移動相之分析效果最佳。此法既實用，且可信賴。

參考文獻

1. MHSO. 1980. The British Pharmacopeia.
2. 日本藥局方外醫藥品成分規格. 1982. 厚生省藥物局審查課監修.
3. Martindale. The Extra Pharmacopeia. 28th ed.
4. Clarke, E. G. 1969. Isolation and Identification of Drug.
5. Benakis, V. S. et al. 1978. Pharmatherapeutics. 2, 530.
6. Chemical Abstract Service. CAS-4093-35-0.
7. Kamalapurkar, O. S. and J. J. Chudasama. 1983. Spectrophotometric estimation of Metoclopramide Hydrochloride and its dosage form. Indian Drugs. 20(7), 298-299.

DETERMINATION OF METOCLOPRAMIDE AND ITS ANALOGUE, BROMOPRIDE BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

FANG-YING TSAI, SHIEN-CHENG SHIH AND
PENG-SHENG HSIEH

ABSTRACT

Metoclopramide is a chlorinated analogue of bromopride, which is a bromo compound. The UV absorption spectrums of both compounds show great resemblance. Separation of them by thin layer chromatography is not yet worked out. Identification and determination of these two analogues in pharmaceutical preparations

can be carried out satisfactorily by high performance liquid chromatography on a μ -Bondapak Phenyl column with UV detector. A mixture of acetonitrile and 0.025M ammonium phosphate buffer was employed as the mobile phase. Caffeine was used as the internal standard. The method is rapid and reliable.