

無炎 原子吸光度法과 吸光光度法에 의한 製劑中の Metoclopramide의 定量

朴萬基 · 林炳連 · 柳京秀

龍 群 鎬

서울대학교 藥學大學

國立保健研究院

(Received November 25, 1977)

Man Ki Park, Byung Ryun Lim and Kyung Soo Yu
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151

Kun Ho Yong

National Institute of Health, Seoul 120

Determination of Metoclopramide by Flameless Atomic Absorption, and
Spectrophotometry

Abstract—Metoclopramide reacts with ammonium cobalthiocyanate to form a stable ion pair which has an absorption maximum of 625nm. The reaction product was insoluble in water but soluble in most organic solvents. 1,2-Dichloroethane was the best extracting solvent among the several organic solvents tested. Metoclopramide can be determined not only by visible light spectrophotometry but also indirectly by estimation of cobalt in the organic phase by flameless atomic absorption spectrophotometry. Linear relationship was found between absorbance and concentration in the range of 10^{-4} ~ 10^{-3} M by spectrophotometry and 10^{-5} ~ 10^{-4} M by flameless atomic absorption spectrophotometry. The coefficient of variation by spectrophotometry was 0.9% and that of flameless atomic absorption was 1.8%. There was no interference with excipients, pH, temperature and reaction time. With this method, it is possible to determine accurately metoclopramide and tertiary amines in pharmaceutical preparations.

製劑의 安定性 및 原子吸光度法에 의한 醫藥品의 微量定量法에 관한 研究의 一環으로서, 錯體生成 및 溶媒抽出을 利用한 metoclopramide의 定量法에 대하여 檢討하였다. 3級 아민 化合物인 metoclopramide는 抗嘔吐劑로 널리 服用되는 醫藥品으로 이 藥의 定量法으로는 非水溶媒滴定法¹⁾, UV法,^{1,2)} diazo反應을 利用한 比色法³⁾ 및 3級 아민의 鹽基性을 利用한 酸性 sulfophthalein系 色素를 使用한 比色法^{4,5)} 등이 있으나 pH 및 反應時間, 溫度에 대한 影響이 크며 製劑인 경우 賦形劑의 影響이 있다.

metoclopramide가 ammonium cobalthiocyanate와 ion pair를 形成하여 有機溶媒로 抽出可能하므로 選擇의인 比色分析이 가능하며 또한 有機相의 cobalt를 定量하므로써 metoclopramide를 間接定量할 수 있다. 그리고 加熱 graphite管을 使用하는 無炎 原子吸光度法은 高感度이

며 극히 少量의 試料로서도 測定이 可能하다는 利點을 가지고 있다.

이러한 點을 감안하여 著者등은 賦形劑 및 pH의 影響이 적고 安定하며 分解產物과 反應치 않는 再現性이 良好한 定量法을 研究해 본 結果 좋은 成果를 얻었기에 이에 報告하고자 한다.

實 驗

試藥— metoclopramide 溶液은 metoclopramide 를 0.1 N-HCl에 녹여 $1 \times 10^{-3} M$ 溶液을 調製한 후 必要에 따라 이를 稀釋하여 使用하였고, ammonium cobalthiocyanate (AC) 溶液은 cobaltous nitrate(Merck 製 試藥) 3.5 g 과, ammonium thiocyanate(Merck 製 試藥) 15 g 을 脫 ion 水에 녹여 100 ml로 만들었다. 1, 2-Dichloroethane(1, 2-DCE)은 片山化學工業製 特級品을 使用하였으며, 기타 溶媒 및 試藥은 市販되는 特級 또는 一級 試藥을 使用하였다.

裝置— Rank Hilger H 1550型 原子吸光光度計를 使用하였고, 光源은 Hilger and Watts 製 Fe·Cu·Mn·Ni·Cr·Co 複合 中空 陰極 lamp 를, carrier gas 로는 argon gas 를 使用하였다. 分光光度計는 Hitachi EPS-3 T 型으로 光路가 10 mm 인 石英 cell을 使用하였다. pH meter 는 Horbia 製 glass 電極 pH 計 M-7型을 썼으며, 遠心分離器는 Beckmann 製 model J-21을 使用하였다.

吸光光度法에 의한 定量 操作— 檢體 一定量을 精密히 稱量하여 0.1N-HCl에 溶解하여 $10^{-4} \sim 10^{-3} M$ 이 되도록 調製한 다음 濾過한다. 濾液 10 ml 을 正確히 취하여 50 ml 程度의 共栓遠心管에 넣고 AC 溶液 5 ml 을 가한 다음 3分間 振盪 混合한 후 1, 2-DCE 10 ml 을 가하고 5分間 振盪, 抽出하여 3000 rpm 에서 遠心分離하였다. 1, 2-DCE 層을 취하여 1, 2-DCE 을 對照液으로 하여 吸收極大波長인 625 nm 에서 吸光度를 測定하여 定量하였다.

無炎 原子吸光度法에 의한 定量 操作— metoclopramide 의 濃도가 $10^{-5} \sim 10^{-4} M$ 이 되도록 檢液을 調製한 다음 이 液 10 ml 을 취하여 위와 同一한 操作을 한 후 1, 2-DCE 層을 취해 10 μ l 을 graphite 에 注入하여 180°에서 35초간 乾燥하고 1400°에서 20초간 태운 다음 2700°에서 15초간 atomize 하여 吸光度를 測定하였다. 이때의 測定條件은 波長 240.7 nm, slit 폭 90 μ , Ar gas 의 流量 4 l/min 이었고 lamp current 는 14 mA 이었다.

結果 및 考察

反應生成物의 可視部 吸收 曲線— metoclopramide 와 AC 와의 反應生成物의 可視領域에서의 吸

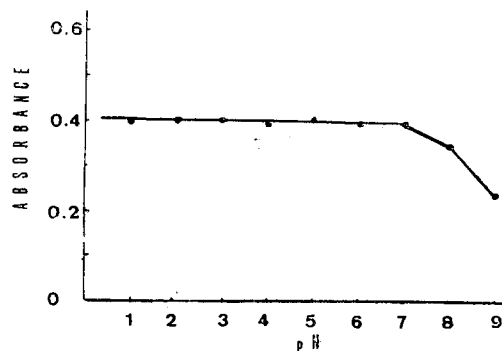
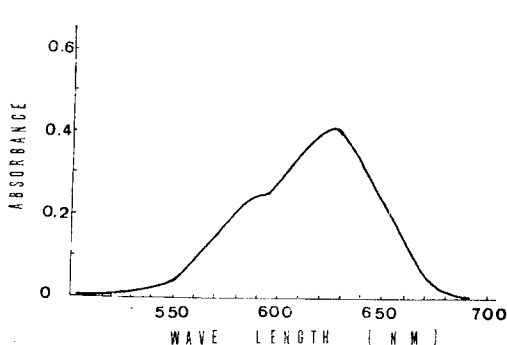


Fig. 1—Absorption spectrum of the reaction product. Fig. 2—Effect of pH(metoclopramide $5 \times 10^{-4} M$).

收曲線은 Fig. 1에 圖示한 바와 같이 625 nm에서 吸收極大를 나타내었으므로 吸光光度法의 경우 이 波長에서 吸光度를 測定하여 定量하였다.

pH의 影響—吸光光度法에 의한 定量操作에 따라 pH를 變化시켜 가며 檢討한 結果를 Fig.2에 나타내었다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 pH 1에서 7사이에서는 吸光度가 一定하였으나 pH가 8 이상에서는 減少하였다. 따라서 本 實驗에서는 metoclopramide가 물에 難溶이며 製劑인 경우 大部分이 酸中和劑와 並用되므로 0.1 N-HCl을 使用하였다.

抽出 溶媒의 選擇—反應生成物의 有機溶媒에 대한 抽出程度를 比較해 본 결과 Table I에서와 같이 methyl isobutyl ketone, ether, nitrobenzene, ethyl acetate는 反應生成物뿐 아니라 試藥도 有機溶媒層으로 넘어오므로 使用할 수 없으며, 抽出程度가 良好한 CHCl₃, 1,2-DCE, CH₂Cl₂, 1,1-DCE에 대해 吸光度를 測定하여 比較해 본 결과 1,2-DCE을 使用했을 때 가장 吸光度가 컸으므로 本 實驗에서는 1,2-DCE을 抽出溶媒로 選擇하였다.

Table I—Extracting effect of organic solvents

Solvent	Extractability	Blank	Absorbance
CHCl ₃	卅	X	0.316
MIBK	卅	O	
CCl ₄	X	X	
1,2-Dichloroethane	卅	X	0.406
Ether	卅	O	
Dichloromethane	卅	X	0.394
o-Xylene	+	X	
Nitrobenzene	卅	O	
1,1-Dichloroethane	卅	X	0.385
Ethyl acetate	卅	O	
Benzene	卅	X	

AC 濃度の 影響—吸光光度法의 實驗方法에 따라 metoclopramide의 濃度를 一定하게 하고 AC 試液(0.12M)의 添加量을 1 ml로부터 15 ml까지 變化시켜 가며 檢討한 結果 Fig. 3에 나타난 바와 같이 3 ml 이상에서는 一定한 吸光度를 나타내었으므로 本 實驗에서는 充分한 量인

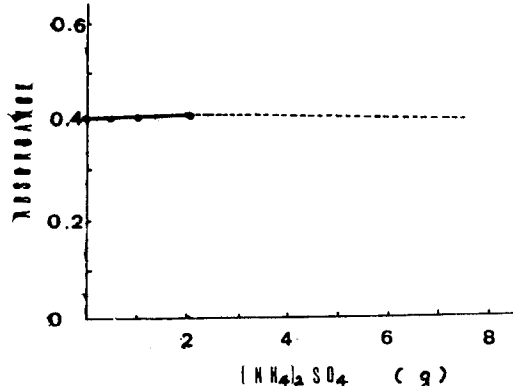
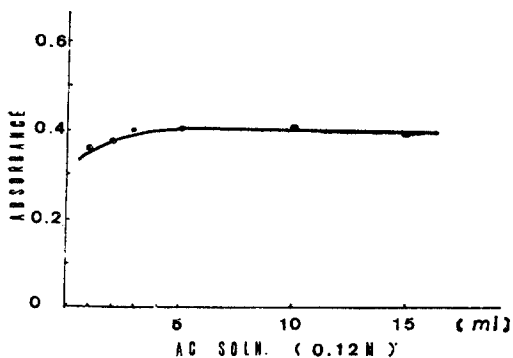


Fig. 3—Concentration effect of ammonium cobalthiocyanate solution (metoclopramide $5 \times 10^{-4}M$) Fig. 4—Salting out effect (metoclopramide $5 \times 10^{-4}M$)

5 ml 을 가하였다.

鹽析效果 및 振盪時間과 抽出時間의 影響—吸光光度法의 實驗方法에 따라 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 添加量을 0.5 g 부터 5 g 까지 檢討한 결과 Fig. 4에 圖示한 바와 같이 吸光度는 다소 增加해 가나 2 g 以上에서는 水溶液層의 比重이 1,2-DCE 과 비슷해져 境界面에서의 分離가 어려웠다. 따라서 本 實驗에서는 두 층의 分離를 良好하게 하기 위하여 鹽을 使用하지 않았다.

振盪時間 및 抽出時間에 대하여 檢討해 본 결과 별 影響이 없었으므로 本 實驗에서는 metoclopramide 檢液에 AC 試液을 가하고 3분 정도 振盪하여 1,2-DCE 을 넣고 5분정도 抽出하였다.

溫度의 影響 및 徑時 變化—反應溫度를 10° , 15° , 20° , 25° , 30° 로 變化시켜 가며 實驗한 결과 溫度에 대한 影響은 거의 없음을 알았다.

反應生成物의 徑時變化에 대해 檢討한 결과 2日間 放置 후에도 그 吸光值가 一定하였으므로 metoclopramide 와 AC 의 反應生成物은 매우 安定한 化合物이라고 思料된다.

共存 ion 의 影響—metoclopramide $5 \times 10^{-5} \text{M}$ 의 溶液에 다른 ion 을 150 ppm 共存시켜 無炎原子吸光法에 의한 定量操作에 따라 實驗한 結果를 Table II에 表示하였다.

Table II—Effect of foreign ions in measuring cobalt ion by flameless atomic absorption

ion	added(ppm)	recovery(%)
Na^+	150	100.3
Mg^{++}	150	101.6
Al^{+++}	150	98.7
NO_3^-	150	97.8
SO_4^{--}	150	99.2
PO_4^{---}	150	102.0

Table II에 나타난 바와 같이 他 ion 이 cobalt 濃度에 약 100배 共存하였을 때도 거의 影響이 없음을 알았다.

檢量線 및 再現性—吸光光度法 및 無炎原子吸光法의 定量操作에 따라 檢量線과 再現性을 檢討해 본 結果는 Fig. 5, Fig. 6, Table III 과 같다.

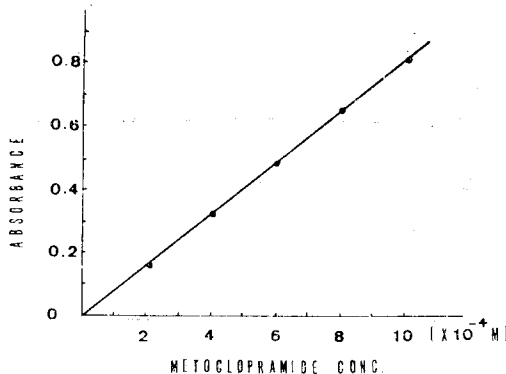


Fig. 5—Calibration curve by spectrophotometry.

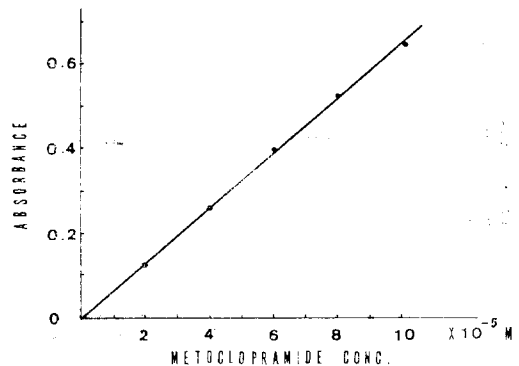


Fig. 6—Calibration curve by flameless atomic absorption.

Table III—Reproducibility

Taken(mg)	Found(mg)		Recovery(%)	
	Spec.	A.A.	Spec.	A.A.
50.02	49.6	49.0	99.2	98.0
50.00	50.4	49.6	100.8	99.2
50.07	49.3	50.4	98.5	100.7
49.93	49.9	51.1	99.9	102.3
50.04	50.3	49.1	100.5	98.1
Mean value			99.8	99.7
Coefficient of variation			0.9	1.8

吸光光度法の 경우 metoclopramide의 濃도가 $10^{-4} \sim 10^{-3}M$, 無炎 原子吸光度法の 경우 $10^{-5} \sim 10^{-4} M$ 의 濃度 範圍內에서 Beer의 法則이 成立하였으며, 그 變異係數는 각각 0.9%, 1.8%로 再現性이 모두 良好하였다.

製劑에의 應用—最近에 製造된 市販 metoclopramide 製劑 몇 가지를 sampling 하여 metoclopramide로서 약 10 mg에 해당량을 精秤하여 實驗方法에 따라 分析한 結果를 Table IV에 나타내었다.

Table IV—Determination of metoclopramide in preparations

Sample	Theoretical amount in sample(mg)	Found(mg)	%
A	10.01	10.27	102.6
B	10.08	10.11	100.3
C	10.12	9.99	98.7
D	10.07	9.82	97.5
E	10.15	10.29	101.4

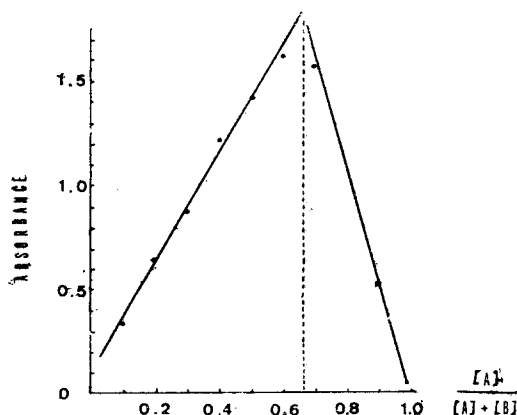


Fig. 7—Determination of the composition of the reaction product by continuous variation method
 A: Metoclopramide $2.5 \times 10^{-2}M$
 B: Ammonium cobalthiocyanate $2.5 \times 10^{-2}M$

反應生成物에 대한 檢討—連續變化法을 利用하여 metoclopramide와 cobalthiocyanate의 結合比를 檢討해 본 결과 Fig. 7에 나타난 바와 같이 metoclopramide와 $[Co(SCN)_4]^{--}$ 의 組成이 2對 1임을 알았다.

反應生成物과 metoclopramide의 IR spectra를 比較해 본 결과 反應生成物の 경우 $2,020 \text{ cm}^{-1}$ 에서 강한 吸收 peak가 나타났는데 이것은 SCN radical의 $-C \equiv N$ 3重結合에 의한 吸收라고 思料된다. 또한 UV spectra에서도 反應生成物の peak가 metoclopramide 自體의 peak보다 전반적으로 약간 長波長쪽으로 shift된 것도 SCN radical의 不飽和 때문이라고 思料된다.

따라서 물에는 거의 녹지 않으며 매우 安定

한 化合物인 反應生成物은 metoclopramide 의 3級 아민基와 $[\text{Co}(\text{SCN})_4]^{--}$ 가 ion 對를 形成한 것이라고 思料된다.

結 論

metoclopramide 와 cobalthiocyanate 와의 ion 對를 形成시켜 有機溶媒로 抽出하여 比色 또는 無炎 原子 吸光 分析을 하는 方法으로서 3級 아민의 化合物을 定量할 수 있다. 吸光光度法의 경우 $10^{-4} \sim 10^{-3}\text{M}$, 無炎 原子 吸光度法인 경우는 $10^{-5} \sim 10^{-4}\text{M}$ 에서 定量이 可能하였고 그 變異係數는 각각 0.9%, 1.8%이었다. 따라서 吸光光度法은 再現性은 良好하나 無炎 原子 吸光度法에 비하여 感도가 낮으며, 無炎 原子 吸光度法은 感도는 좋으나 再現性이 吸光光度法에 미치지 못하였다. Metoclopramide 와 AC 의 反應生成物은 매우 安定하며 그 組成比는 2對1이었다.

本 實驗方法은 賦形劑, pH, 反應時間, 溫度 等の 影響이 적어 製劑중의 metoclopramide 를 간편하게 定量할 수 있으므로 醫藥品의 品質管理에 많은 活用이 있으리라 思料된다.

文 獻

1. 新醫藥品과 試驗法, 日本公定書協會, 藥業時報社, 1973, p-381.
2. E.G.C. Clarke, *Isolation and Identification of Drugs*, the Pharmaceutical Press, 1971, p-428.
3. G. Pitel and T. Luce, *Ann. Pharm. Franc.*, 23, 673 (1965).
4. 野上 壽, 藥劑學, 19, 162 (1959).
5. 堀岡正義, 藥劑學, 34, 22 (1974).