

# 拡散反射アタッチメントを備えた Cary 630 FTIR での医薬品有効成分の 定量分析

## アプリケーションノート

製薬

### 著者

Frank Higgins、John Seelenbinder

Agilent Technologies  
Danbury, CT, USA



### はじめに

フーリエ変換赤外分光光度法は、製薬業界で広く利用されている分析法で、米国、欧州、日本、中国、インド、および国際的な薬局方で規定された医薬品の同定などに用いられています。他の分光光度法と同じく、定量分析を行うことが可能で、固体および液体状態での医薬品成分の濃度を分析することができます。赤外吸収スペクトルはランベルト・ベールの法則に従っているため、サンプルの吸光度は、濃度、光路長、モル吸光係数に比例します。モル吸光係数は分子固有の値であり、目的に応じた一定の光路長で測定を行えば、サンプルの吸光度は濃度に比例します。

赤外分光光度法では、多くの場合、サンプル前処理および最適な測定手法の選択が測定の成否を左右します。固体サンプルの場合、一般的にはサンプルを混合した臭化カリウム (KBr) 粉末を加圧して錠剤を作成し、これを透過法にて測定する方法が用いられます。この測定手法は、化合物の同定には有効ですが、混合状態や厚みを一定にした錠剤の作成が困難であるため、定量分析には適していません。簡便性や分析精度、測定スピードを高めるために、固体



Agilent Technologies

の医薬品化合物の分析では、別の測定手法が用いられるようになってきました。なかでも広く用いられているのが、全反射吸収法 (ATR) と拡散反射法 (DRIFT) です。

このアプリケーションノートでは、Agilent Cary 630 FTIR を用いた拡散反射法における粉末サンプルの定量分析についての有効性を検証します。測定は、賦形剤の存在下でコーンスターチ中のアセトアミノフェンを測定し、医薬品有効成分 (API) を分析しています。

## Cary 630 FTIR を用いた医薬品化合物の分析

Cary 630 FTIR は、コンパクトで使いやすい堅牢なシステムで、クラス最高の性能を備えています。サンプリング技術が最適化されているため、製薬業界の QA/QC、分析サービス、メソッド開発に特に適しています。Cary 630 は、アタッチメントを簡単に交換することができ、交換後のアライメントも不要です。これにより、様々な測定手法を簡単に切り替えて測定を行うことができます。また、アジレント独自の DialPath 技術も利用できます。この技術により、液体サンプルの定量および定性分析も、固体サンプルと同様に簡単かつスピーディになります。CFR 21 part 11 対応ソフトウェアと自動 IQ/OQ 機能も備えた Cary 630 は、医薬品分析に最適なシステムです。

定性分析では、KBr 錠剤法の代わりに、Cary 630 ATR アタッチメントを用いると効果的です。この測定手法を用いれば、サンプルによっては前処理を一切行わずに、固体サンプルを迅速に測定することができます。このシステムで採用されているダイヤモンド ATR 結晶は、傷に強く、耐薬品性にも優れています。革新的なサンプルプレスにより、サンプルとダイヤモンド ATR を適切に接触させ、最高の測定結果を実現すると同時に、ATR クリスタルに過剰な圧力がかかるのを防ぎます。ATR では、わずか数ミクロンの深さで侵入するエバネッセント波をもとに赤外スペクトルを測定するため、サンプル光路長はきわめて短くなります。そのため、ATR は固体の定性分析には有効ですが、微量成分の定量分析にはあまり適していません。

粉末固体や粗粒固体の定量分析には、サンプル前処理が簡単で、定量の精度も高い拡散反射法が最適です。拡散反射法では、拡散反射光が数度にわたってサンプル粒子と相互作用したのちに、集光鏡にて集光されます。拡散反射法でのサンプリングボリュームは、この複数回の相互作用により大きくなるため、不均質な混合物に伴う問題を軽減することができます。一部のケースでは、吸光度の高いサンプルを KBr で希釈してから分析しますが、粉末混合物の場合は、サンプル容器に入れるだけで済むので、錠剤を作成する従来の透過法のような前処理の手間を省くことができます。

## 実験条件

コーンスターチ中のアセトアミノフェン濃度が 0~10 % の 5 種類の標準サンプルを作成しました。これらのサンプルを 2 つのロットに分けました。1 つ目のロットは、KBr 粉末を用いて 1:10 (サンプル : KBr) の比率で希釈してから分析し、2 つ目のロットは、サンプル前処理を一切行わずに、そのまま分析しました。すべての測定は、拡散反射アタッチメントを備えた Agilent Cary 630 FTIR を用いて行いました。データは波数分解能  $4\text{ cm}^{-1}$ 、30 秒の積算時間 (74 回積算) で測定しました。システムの制御には Cary 630 MicroLab PC ソフトウェアを使用し、Agilent Resolutions Pro ソフトウェアを用いて検量線ファイルを作成しました。

## 結果と考察

### 希釈サンプルと未希釈サンプルにおける拡散反射測定の比較

通常、粉末サンプルの拡散反射測定では、光路長は比較的長くなります。図 1 に、サンプルカップ内部における赤外光の挙動概略図を示します。この図を見ると、複数の光路が存在するため、赤外光とサンプルの相互作用が増強されることがわかります。この複数の相互作用から生じる長い光路長により、高濃度サンプルは、しばしばシステムのダイナミックレンジを超える吸光度になることがあります。また、強い吸収により、検出器に到達する光量が減少し、ノイズが大きくなる場合があります。

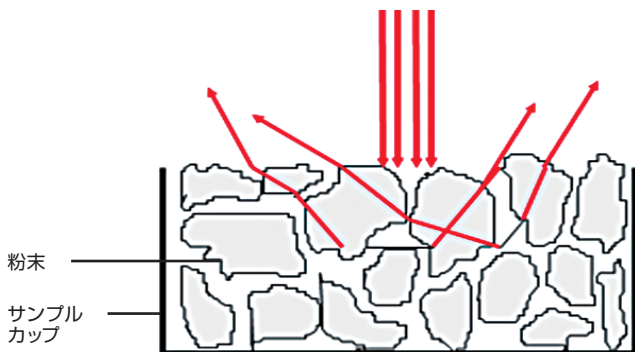


図 1. サンプルカップ内部における赤外光の挙動概略図

全体的な吸光度を下げるために、多くの場合、KBr などの光を吸収しない粉末をサンプルと混合します。この粉末により、サンプルの濃度が低下し、吸光度の値が直線性のある範囲に収まるようになります。この効果を実証するために、KBr 粉末で希釈した場合としなかった場合について、コーンスターチ中アセトアミノフェンを測定しました。図 2 は、希釈サンプル (赤) および未希釈サンプル (青) のスペクトルを示します。未希釈サンプルでは、 $3400\text{ cm}^{-1}$  付近の OH 由来の吸収と  $1100\text{ cm}^{-1}$  付近の CO 由来の吸収が、いずれも吸光度 2.0 を上回り、吸収の飽和が見られます。

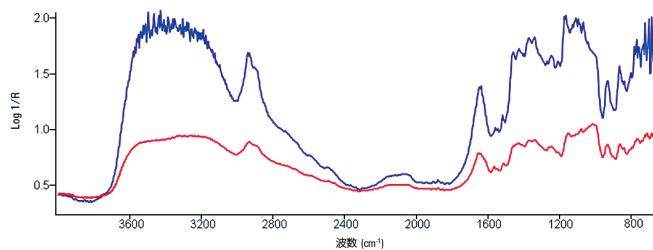


図 2. 未希釈 (青) および希釈 (赤) したコーンスターチ中アセトアミノフェンの拡散反射スペクトル

上の例で注意すべき点は、飽和した吸収が、コーンスターチ賦形剤に由来する吸収であることです。アセトアミノフェン由来の強度の低い吸収は、影響を受けていません。 $1559\text{ cm}^{-1}$  および  $1513\text{ cm}^{-1}$  にあるアセトアミノフェンに特徴的な吸収は、直線性のある範囲内に収まっています。

### 拡散反射を用いた定量測定 – 希釈サンプル

図 3 に示すように、5 つの希釈した標準サンプルの測定結果では、もっとも強い吸収において、吸光度 0.6~0.8 という最適な値が得られました。検量線を図 4 に示します。この検量線はコーンスターチ由来の  $1379\text{ cm}^{-1}$  の吸収強度を基準に、アセトアミノフェン由来の  $1559\text{ cm}^{-1}$  の吸収強度比を用いて作成しています。アセトアミノフェンは  $1379\text{ cm}^{-1}$  で最小の吸光度になります。したがって、この吸収を内部標準として用いて、粒径の違いにより生じる光路の差を補正することができます。検量線は、優れた直線性を示しています。相関係数は 0.999 でした。

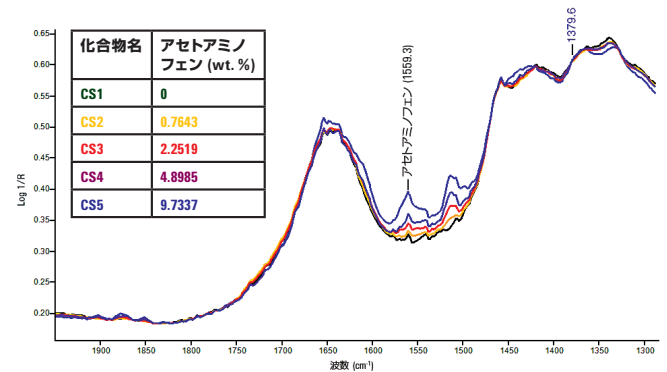


図 3. KBr 粉末で希釈後に拡散反射法にて測定した、コーンスターチ中アセトアミノフェンの標準サンプルスペクトル (カルボニル領域の拡大表示)

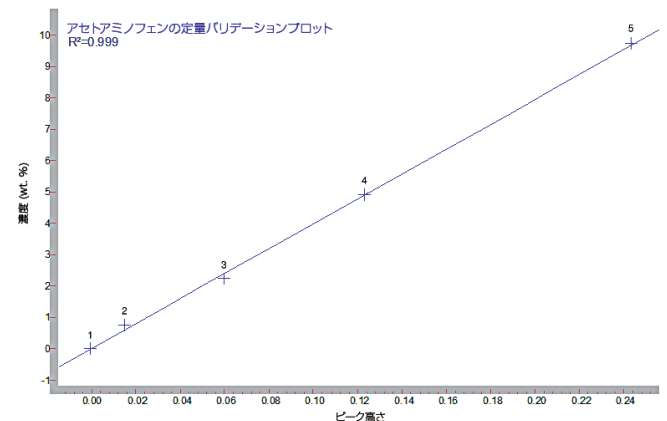


図 4.  $1379\text{ cm}^{-1}$  ピーク高さを基準に  $1559\text{ cm}^{-1}$  のアセトアミノフェンのピーク高さの比を用いて作成した検量線。サンプルは 1:10 で KBr に希釈

## 拡散反射を用いた定量測定 – 未希釈サンプル

同じ5つの標準サンプルを、KBr粉末で希釈せずに測定しました。各標準サンプルのスペクトルを図5に示します。コーンスターチのCO由来の吸収の倍音にあたる $2100\text{ cm}^{-1}$ の吸収強度を基準に、アセトアミノフェン由来の $1559\text{ cm}^{-1}$ の吸収強度比を用いて作成した検量線を図6に示します。この倍音の吸収を選択したのは、希釈サンプルで用いた $1379\text{ cm}^{-1}$ のバンドでは吸光度が明らかに高すぎるためです。この検量線では、1.000という完璧な相関係数が得られています。

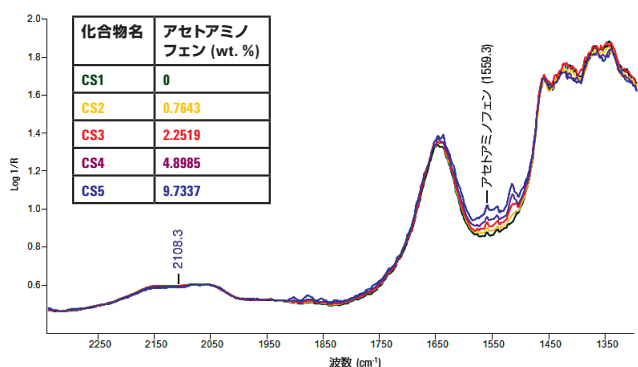


図5. 希釈なしで拡散反射法にて測定した、コーンスターチ中アセトアミノフェンの標準サンプルスペクトル (カルボニル領域の拡大表示)

## 結論

拡散反射法は、固体および粉末の医薬品サンプルの定量分析に適した測定手法であることが証明されました。この測定手法を用いることで、従来のKBr錠剤法による透過測定のように、KBr錠剤を作成する必要がなくなります。この測定例では、未希釈サンプルにおいても、希釈サンプルと同じ

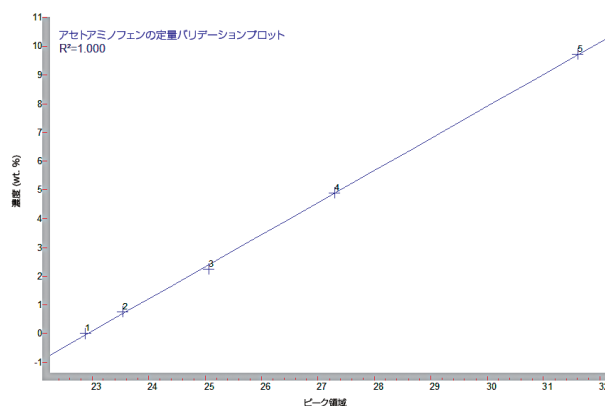


図6.  $2100\text{ cm}^{-1}$ の吸収を基準に $1600\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ におけるアセトアミノフェン由来の吸収強度比を用いて作成した検量線。拡散反射法により未希釈サンプルを分析

精度の検量線が得られました。これは、希釈を行わなくても有効成分の吸収が直線性のある範囲内に収まっているためです。それに対して、賦形剤のバンドは、吸光度が強すぎて、正確な分析はできませんでした。一部のケースでは、有効成分と賦形剤のいずれのバンドも吸光度が強すぎ、直線性のある範囲から外れてしまうことがあります。こうしたケースでは、粉末KBrを用いた簡単な希釈だけで、正確な定量測定を行うことが可能です。

交換可能で使いやすいアタッチメントを備えた Agilent Cary 630 FTIR は、製薬業界の定性および定量分析に最適です。拡散反射法は固体の定量分析に、ATR は固体の定性分析に、DialPath は液体サンプルの定性および定量分析に適しています。

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2011

Published November 29, 2011

Publication number: 5990-9414JAJP



Agilent Technologies