

● 定量 NMR 法による有機化合物の絶対量測定

TN468

Measurement of Absolute Quantity of Organic Compounds by quantitative NMR

[概要]

定量 NMR 法 (quantitative NMR、qNMR) は、国際単位系 (SI) へのトレーサビリティが確保された基準物質を用いて、信頼性の高い純度値や濃度値を測定できる定量法として近年急速に普及しています。

^1H NMR で得られるシグナルの面積比は対応する水素原子数の比を示し、感度は化合物の構造に依存しません。このため、測定対象とまったく別の物質を基準とすることが可能で、同一成分の標準品を用意する必要がありません。そのため、2014 年には第十六改正日本薬局方第二追補に「ゲニポシド」「ペオノール」「マグノロール」「マグノフロリンヨウ化物」の 4 化合物の定量法として採用されました。また、第十七改正日本薬局方や食品添加物公定書においても、定量 NMR 法は公定法として採用されています。

以下、当社で実施している定量 NMR 法による絶対量の測定例を紹介します。当社では、NMR 測定感度を飛躍的に向上させるクライオプローブ付き 500 MHz NMR (BRUKER 製 AV500) を所有しており、微量構造解析に加え、定量 NMR 分析サービスを実施しております。

[事例]

試料：マグノロール (図 1)

検討項目：特異性、定量限界、直線性、真度、精度

測定条件：表 1 のとおり

表 1. 測定条件

基準物質	1,4-BTMSB- d_4 (図 2)
重溶媒	重クロロホルム
装置	BRUKER 製 500 MHz クライオプローブ NMR
測定対象核	^1H
デジタル分解能	0.15
観測スペクトル幅	20 ppm (-5~15 ppm)
スピニング	オフ
パルス角	90°
^{13}C 核デカップリング	あり
遅延時間	60 秒
積算回数	8 回
ダミースキャン	2 回
測定温度	25°C

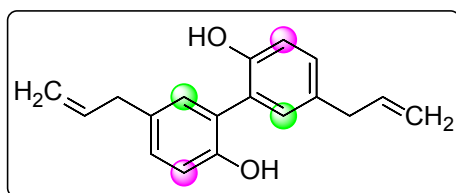


図 1. マグノロールの構造式

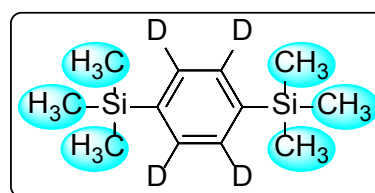


図 2. 1,4-BTMSB- d_4 (1,4-Bis(trimethylsilyl)benzene- d_4) の構造式

[結果]

得られたスペクトルを図3に、直線性の回帰直線グラフは図4に示します。マグノロール（試料）のスペクトルのうち、溶媒や水と重ならない6.7~6.8 ppm付近のシグナルを計算に用いました。異なる試料濃度と基準物質の濃度比とピーク面積比の相関は良好な直線性（相関係数 0.994）を示しました。

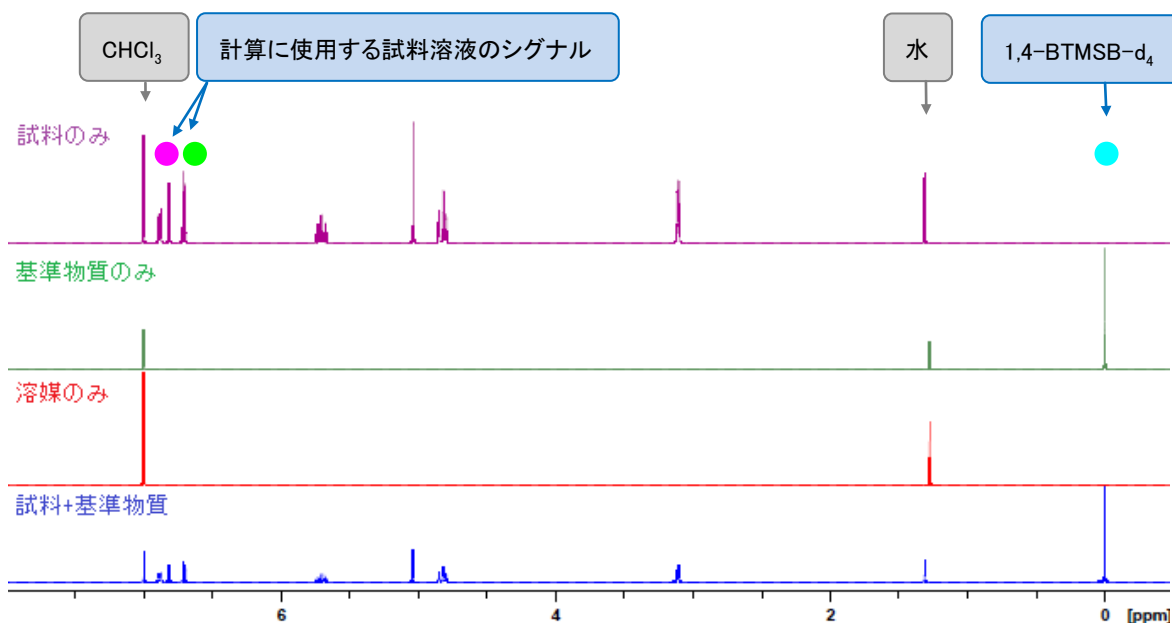


図3. 特異性（図中の○印は図1及び図2で印した箇所のシグナルを表示）

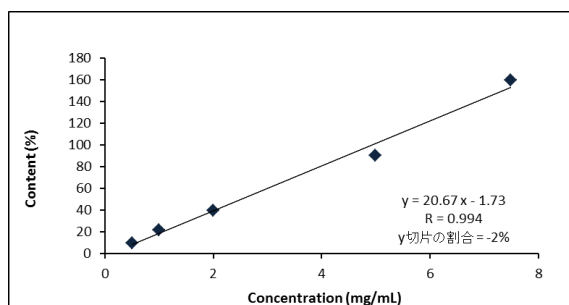


図4. 直線性
（回帰直線と相関係数及びy切片の割合）

表2. バリデーシンの検討結果

項目	結果
特異性(図1)	妨害ピークは認められなかった シグナル分離に問題はなかった
定量限界	δ 6.70 ppm 付近のシグナルの S/N 比 : 819
	δ 6.81 ppm 付近のシグナルの S/N 比 : 656
直線性(図2)	相関係数 : 0.994
	y-切片の割合 : -2%
真度	検査成績書の記載値との差 : 0.4%
併行精度(n=3)	相対標準偏差 : 0.4%

[まとめ]

当社では、お客様の開発品目に合わせた定量 NMR 法の設計を含めたバリデーション試験を実施しております。

[キーワード]

医薬品分析、純度試験