

● 定量 NMR(qNMR)法による純度/含量評価

TN543

Purity/Content Analyses by Quantitative NMR (qNMR)

[概要]

当社は、定量 NMR(qNMR)を用いて信頼性基準^{*1}、3 極(日米欧)GMP に準拠した形でデータ取得を行うことに加え、分析法バリデーションを実施しております。また、データインテグリティおよびトレーサビリティの確保により、PMDA などの規制当局に対して信頼性の高いデータを提供いたします。標準物質の純度やトレーサビリティが十分でない場合や、天然物・代謝物など入手に制約がある場合でも、承認申請を見据えたデータを提供いたします。

^{*1}：医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則第 43 条

[qNMR 法の特長]

qNMR は、分析試料のシグナルの積分比がその原子核の数の比と対応するという NMR 特有の原理を利用して分析試料の純度や含量を評価する方法で、日本薬局方、食品添加物公定書や試薬メーカーにおける試薬の純度に採用されるなど幅広く活用されています。

本法はクロマトグラフィーによる定量分析とは異なり、分析対象と同一成分の標準物質は不要であることが最大の特徴です(Table 1)。qNMR では国際単位系(SI)でのトレーサビリティが確保された標準物質を内標準物質として同時に測定することで、信頼性の高い純度もしくは含量が得られます。このように定量的試験に用いる標準品の品質評価項目として純度を規定する場合には絶対定量法が必要であり、qNMR の活用が有効です。

Table 1 qNMR と HPLC および GC 特徴比較

	メリット	デメリット
qNMR	・標準物質は不要 ・UV 吸収のない化合物にも適用可能	・シグナルが重なる化合物には適用不可 ・感度が悪い
HPLC および GC	・混合物を分離して定量可能	・同一の標準物質(濃度既知)が必要

[事例]

ゲニポシドを用いて検査成績書の qNMR による純度と、本測定結果が一致することを検証した事例を紹介します。ゲニポシドは生薬の 1 種であるサンシシに含まれる成分であり、日本薬局方の一般試験法に記載されています。qNMR の標準物質には DSS- d_6 や 1,4-BTMSB- d_4 、マレイン酸などが用いられますが、本検討ではゲニポシドのシグナルと重ならないことおよび溶解溶媒である $CDCl_3$ への溶解性を考慮して 1,4-BTMSB- d_4 を標準物質として選択しました。ゲニポシド(検査成績書：96.4%(qNMR 法))を用い、内標準法による qNMR の検討を行いました(Fig.1)。ゲニポシド 5 mg および 1,4-BTMSB- d_4 1 mg を精密に量り、重水素化メタノール 1.0 mL を加えて完全に溶解させたものを分析試料溶液としました($n=3$)。測定には Bruker 社製クライオ 500 MHz NMR AV500 を用いて ^{13}C デカップリング法によりスペクトルを取得しました(Fig.2, 3)。シグナル 1~4 を用いて純度を算出した結果、平均純度は 96.4%($n=3$)および精度(RSD)は 1%以下であり、検査成績書の純度値と一致しました。

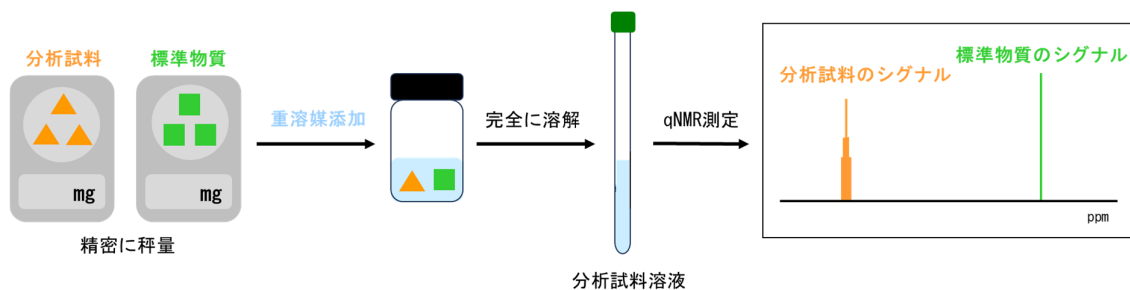


Fig.1 内標準法による qNMR 測定のプロチャート

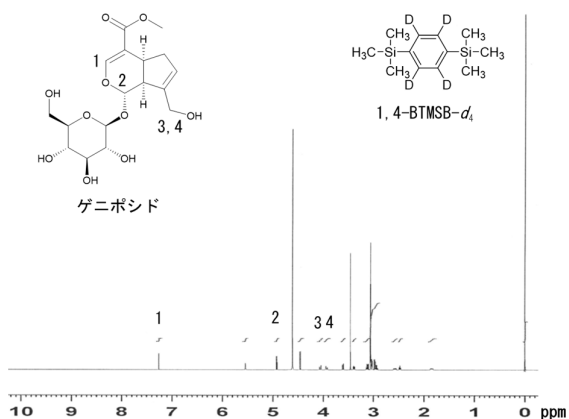


Fig.2 ゲニポシドの ¹H NMR スペクトル



Fig.3 Bruker 社製クライオ 500 MHz NMR