

USPおよびEP医薬品各条に基づく イブプロフェンの分光分析

Evolution紫外可視分光光度計を用いた 医薬品同定試験の実施

序文

米国薬局方 (USP) および欧州薬局方 (EP) が概説する医薬品各条 (モノグラフ) には、原薬および製剤の特徴、品質、純度などの要件が公開されており、これら要件に適合することを確認するための試験、手順、および判定基準が記載されています。医薬品各条にはさらに、確認試験、純度試験、望ましくない不純物の量を制限する試験を実施するための、さまざまな分析機器を用いた詳細な手順が含まれています。

各条で用いられる分析機器の性能を管理する一般的な要件は、機器の章で概説されていますが、試験を実施するために必要な追加の機器の要件は各条に示されていることがあります。

本アプリケーションノートは、紫外可視分光光度計を使用して、医薬品各条記載の重要な試験を実施する方法について説明します。分光光度計を用いた試験法は何百もの医薬品各条に取り上げられており、紫外可視分光光度計は、あらゆる製薬品質管理部門にとって不可欠な分析機器です。本研究では、Thermo Scientific™ Evolution™ 260 Bio紫外可視分光光度計を使用します。

Thermo Scientific™ INSIGHT™ ソフトウェアを使用して、イブプロフェンを例に取り、USPおよびEPに記載の分光光度を用いた確認試験を実施します。

イブプロフェンは、疼痛、発熱、および炎症の治療薬として使用される医薬品有効成分です。USPおよびEPに記載されているイブプロフェンの項目には、赤外吸収分光法、紫外可視分光法、融点測定、およびクロマトグラフィーを利用したさまざまな同定試験が記載されており、イブプロフェンサンプルの品質を確認するのに役立ちます。

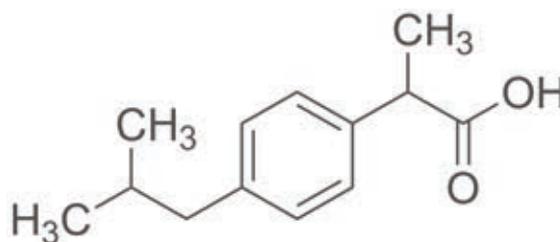


図1. イブプロフェン、 $C_{13}H_{18}O_2$ の化学構造



実験

EP確認試験

EPのイブプロフェン各条に記載されている分光光度法による確認試験では、試験試料を測定し、その吸光度値の比率を比較して、許容範囲内であることを確認します。

まず、500 µg/mLのイブプロフェン溶液を調製します。100 mLのメスフラスコに、イブプロフェン50 mgを取り、0.1 M水酸化ナトリウム水溶液を少量加え、振り混ぜます。さらに0.1 M水酸化ナトリウム水溶液を標線まで満し、攪拌して均一にします。測定のブランクとして水酸化ナトリウム水溶液を使用しました。

Measurement	Instrument	Accessories	Samples	Peak Pick
Data mode:	Absorbance			
Factor:	1.00			
Smooth:	None			
Derivative:	None			
Start wavelength:	300.00		nm	
End wavelength:	240.00		nm	
Bandwidth:	1 nm			
Integration time:	1.00 sec			
Data interval:	0.50 nm			
Scan speed:	30.00 nm/min			
Estimated time:	120.5 sec			

図2. EPイブプロフェン試験の測定パラメーター

各条には、240 nm~300 nmの波長範囲、1 nmのバンド幅、および50 nm/分以下のスキャン速度でイブプロフェン溶液のスペクトルを取得することが記載されています。スペクトルを求めるために用いたINSIGHTソフトウェアの測定パラメーターを図2に、その結果を評価するためのEPイブプロフェン試験の比率計算を図3に示します。

イブプロフェン試験試料のスペクトルを図4に示します。スペクトルの目視検査では、264 nmおよび272 nmに吸収極大、258 nmにショルダーが確認され、イブプロフェンの同定のための要件と一致していることが示されました。

Measurement	Instrument	Accessories	Samples	Peak Pick						
Description (optional):										
Baseline Correction										
Type: 100%T baseline										
Integrating sphere reflection spectra correction:										
<input type="checkbox"/> Correct single beam substitution error										
<input checked="" type="checkbox"/> Calculate additional results										
<table border="1"><thead><tr><th>Variable Name</th><th>Equation</th></tr></thead><tbody><tr><td>264/258</td><td>$Y(264) / Y(258)$</td></tr><tr><td>272/258</td><td>$Y(272) / Y(258)$</td></tr></tbody></table>					Variable Name	Equation	264/258	$Y(264) / Y(258)$	272/258	$Y(272) / Y(258)$
Variable Name	Equation									
264/258	$Y(264) / Y(258)$									
272/258	$Y(272) / Y(258)$									

図3. EPイブプロフェン試験の比率計算

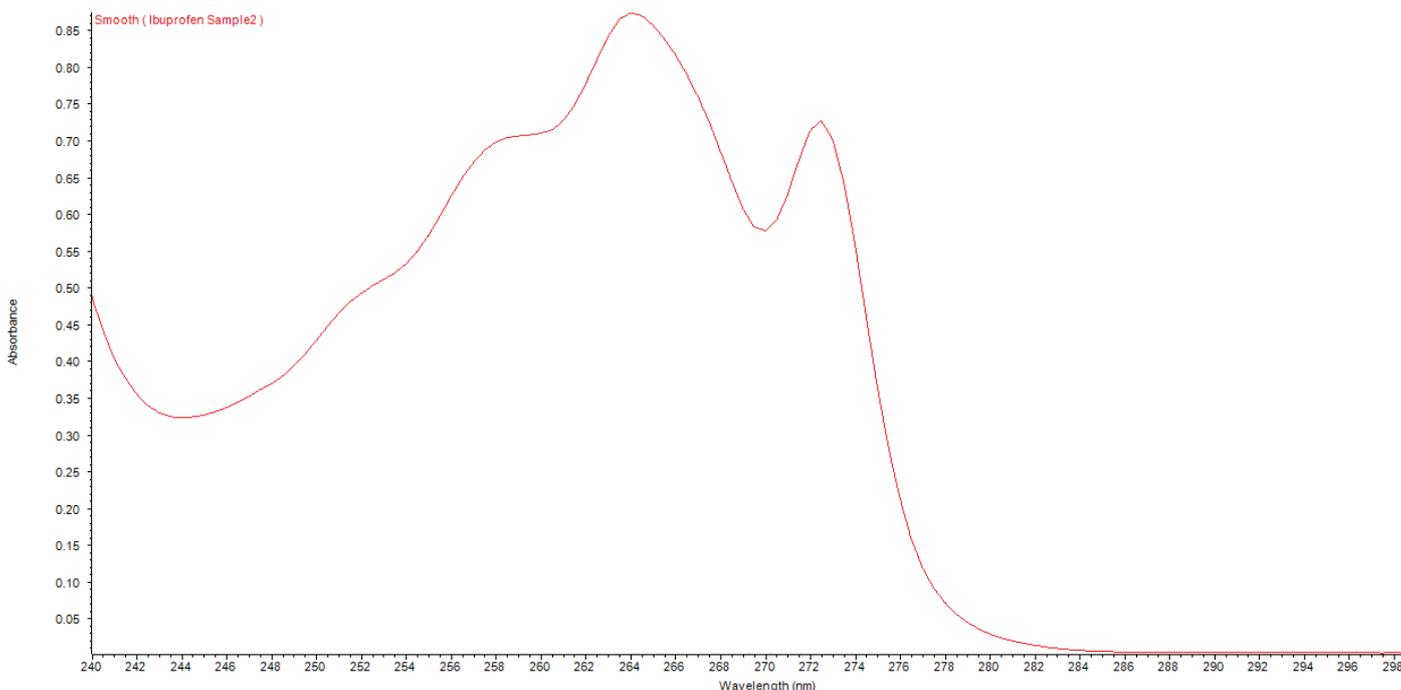


図4. EPイブプロフェン分析試料のスペクトル

このスペクトルに加えて、INSIGHTソフトウェアは、図3のプログラムされた方程式を使用してイブプロフェンの同一性を検証するために必要なピーク比を自動的に計算します。A264/A258の吸光度比は1.26であり、これはイブプロフェンの要件である1.20~1.30の範囲内でした。A272/A258の吸光度比の結果は1.03で、これも1.00~1.10の要件の範囲内でした。これらの吸光度比は、スペクトルの目視検査と共に、EPイブプロフェン各条の紫外吸光度法および目視吸光度法の試験に従って確認されました。

USP確認試験

イブプロフェンのUSP分光光度法による確認試験では、標準試料と試験試料を同一の手順で調製し、そのスペクトルを比較することにより、試験試料が標準試料と同一の波長においてのみ吸収極大および極小を示すことを確認します。さらに、二つの異なる波長におけるモル吸光率を計算し、標準試料と試験試料との間で比較して、それらが一定の範囲内で差がないことを確認します。

標準液としてイブプロフェン 250 µg/mL溶液を調製します。イブプロフェン25 mgを100 mLメスフラスコ中の0.1 M水酸化ナトリウムの溶液に加えて溶解させ、総量を100 mLとします。

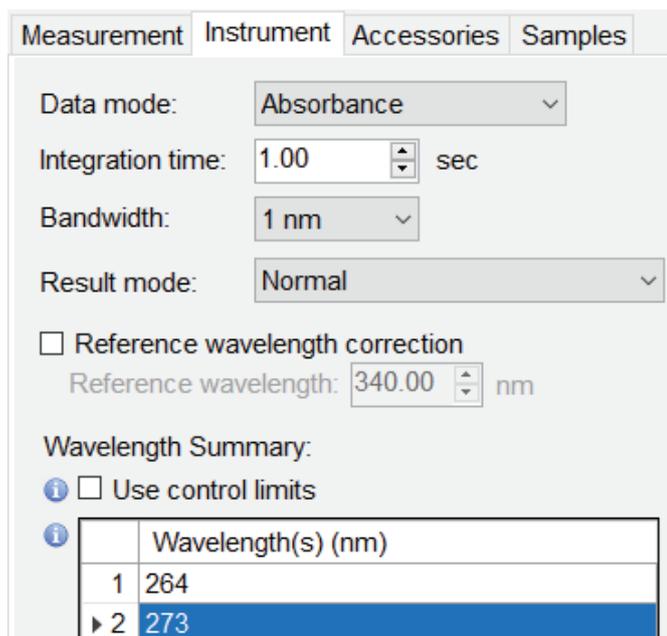


図5. USPイブプロフェン試験水酸化ナトリウム溶液の実験パラメーター

イブプロフェンの試験試料は、標準試料と同様に調製しました。測定のブランクとして、水酸化ナトリウム溶液を使用しました。標準試料および試験試料のスペクトルは、図2のEP同定試験と同様の手順を用いて得ましたが、波長領域は200 nm~400 nmをスキャンしました。スペクトルデータは、同じ波長で最大値と最小値を持ち、図4に示された結果と同様である必要があります。

標準試料および試験試料の264 nmおよび273 nmにおける吸光度値は、Evolution 260 Bio紫外可視分光光度計のFixedメソッドに、図5に示すようなパラメーターを設定し、USPガイドラインに従って測定しました。

標準試料および試験試料の両方について、それぞれの波長における吸光度値を、ランベルト-ベールの法則を用いて計算しました。ここで、 ϵ はL/mol•cm単位のモル吸光係数、Aは吸光度値、lはcm単位の光路長であり、cはmol/Lにおける濃度です：

$$\epsilon = \frac{A}{l \times c}$$

モル吸光係数は、試料の吸光度値および重量を使用して計算されます。264 nmにおける標準試料のモル吸光係数を計算した例を以下に示します：

$$\epsilon = \frac{0.4484}{1 \text{ cm} \times 0.00122649 \text{ mol/L}}$$

$$\epsilon = 365.60$$

標準試料と試験試料の測定重量、各波長における吸光度、および各波長における計算された吸光係数を表1に示します。

表1. USP測定データ

	重量 (mg)	A ₂₆₄	A ₂₇₃	ϵ_{264}	ϵ_{273}
標準試料	25.3	0.4484	0.3688	365.60	300.70
試験試料	25.1	0.4491	0.3708	369.09	304.74

264 nmおよび273 nmの両方における試験試料および標準試料の吸収率のパーセント差は、次の式を使用して計算されました。ここで平均 ϵ は、それぞれの波長における試験 ϵ および標準 ϵ の平均です：

$$\text{パーセント差} = \frac{\text{サンプル}\epsilon - \text{標準}\epsilon}{\text{平均}\epsilon} \times 100$$

この式を用いると、標準試料と試験試料の差は、264 nmでは0.9%、273 nmでは1.3%になります。

USPでは、264 nmおよび273 nmそれぞれの吸収率の差が3.0%以下であることが要件です。

試験試料は、両方の波長で3.0%未満なので、イブプロフェン USP各条における同定要件を満たします。

結論

分光光度計は、何百もの医薬品各条に記載されており、原薬や製剤の同一性を確認するために不可欠な機器となっています。Thermo Scientific Evolutionシリーズ分光光度計は、汎用性、使いやすさ、優れた性能によりこれらの試験に最適です。本アプリケーションノートでは、Evolution 260 Bio紫外可視分光光度計を用いて、USPとEP両方におけるイブプロフェンの確認試験を実施しました。USPの要件に従い、イブプロフェンの標準試料と試験試料の同一性を確認しました。また、EP要件に従い、目視検査および吸光度比の比較を行うことによって、イブプロフェン試料の同一性を確認しました。

参考文献

1. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 43-NF 38), Monographs, Ibuprofen
2. European Pharmacopeia (EP 9.6), Monographs, Ibuprofen

注文情報

製品	製品番号
Evolution 201紫外可視分光光度計	840-210800
Evolution 220紫外可視分光光度計	840-210600
Evolution 260 Bio紫外可視分光光度計	840-211000
Evolution 350紫外可視分光光度計	840-310800



詳細は、thermofisher.com/uv-vis をご覧ください。

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc **UV033-A21030B**

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC