

分光光度計UV-2200による医薬品分析 日本薬局方に基づく純度試験および確認試験

Drug, Analysis by UV-2200 Spectrophotometer

Confirmatory and Purity Testing according to the Japan Pharmacopoeia

物質を光に照射すると、その物質の分子構造に基づいて、特定の波長の光だけを吸収します。また、ランバート・ベールの法則によれば、溶液中の成分が、光を吸収する強さは、その成分の濃度に比例します。したがって、測定試料による光吸収の度合を、波長の関数として測定した吸収スペクトルより、物質の構造を知ることができ、特定波長における吸収の強度より定量が可能になります。

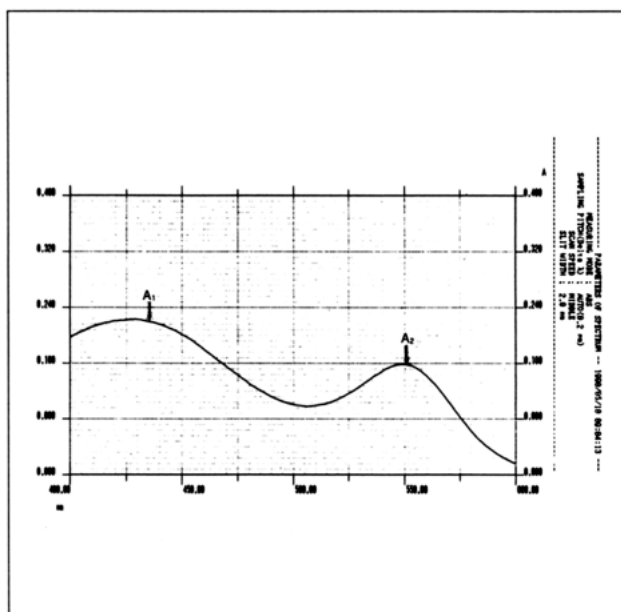
この分析に用いる装置が、分光光度計であり、構造も比較的簡単で、測定も容易なため、環境分析、食品分析、工業分析など広範囲な分野の実用分析に利用されています。医薬品についても同様で、ここでは、日本薬局方にとりあげられている方法の中から、確認試験と吸光度比法による純度試験について、幾つかの分析例を紹介します。

吸光度比法によるサリチル酸 ナトリウムの測定

Measurement of Sodium Salicylate by
Extinction Quantitation Ratio

試料を乾燥し、その $3.159\text{g} \times f \sim 3.227\text{g} \times f$ を精密に量り、1N塩酸20mLを正確に加え、つぎにジオキサン25mLを正確に加えて溶かしたのち、チモールブルー・ジオキサン試薬1mLを加え、水を加えて正確に50mLとします。この液につき、吸光度比法により試験を行います。水を対象とし、波長435nmおよび551nmにおける A_1 および A_2 を測定します。 $r = A_2 / (A_1 + A_2)$ により吸光度比 r の値を求めます。ここで得た r の値と、 x - r の関係表に基づいて作成した x - r 曲線より x の値を求めます。

サリチル酸ナトリウム量 $g = 3.2022 \times f \times x$



サリチル酸ナトリウムの吸収スペクトル
Fig.1 Absorption Spectrum of Sodium Salicylate

吸光度比法とは

Extinction Quotient Ratio

日本薬局方によれば、吸光度比法は、吸光度測定法を利用して酸塩基反応の当量点を求める定量法で、含量がある範囲内にあることがあらかじめ推定されている物質に適用されます。

本法は、試料溶液に一度に規定液の一定量を加えて終点付近の液を調整し、加えた指示薬の呈する酸性側とアルカリ性側での吸収極大の波長でこの液の吸光度を測定し、両者の吸光度の比と当量度の逆数との関係から、試料の滴定終点までに要する真の規定液の量を知る方法です。

酸塩基反応に対する指示数として、当量点のpH付近に pK_a を持ち、かつ酸性色とアルカリ性色の吸収スペクトルが著しく異なるものを選び、その両スペクトルの吸収極大の波長を 1 および 2 (短波長側を 1) とします。この指示薬を含む反応液の 1 および 2 における吸光度をそれぞれ A_1 および A_2 とすると、吸光度比 r をつぎの式のように定義します。

$$r = \frac{A_2}{A_1 + A_2}$$

また、真の当量点に対応する容量分析用標準液の量を V' mLとし、実際に加えた容量分析用標準液の量を V mLとし、その比を x とします。

$$x = \frac{V}{V'}$$

あらかじめ一定の条件において、標準の物質および規定されたpH指示薬を用いて、種々の x の値を持つ標準液の系列を調整し、 A_1 および A_2 測定して x - r の関係を作成し、 x - r 曲線を作成します。医薬品各条には、この x - r の関係表が記載されています。つぎに同一条件で、試料について A_1 および A_2 を測定して得られる r の値から x - r 曲線を用いて x の値を求め、つぎの式によって採取した試料中の化学的純物質の量 S (g)を算出します。

$$S(g) = v' \times f \times x \times M$$

f : 容量分析用標準液の規定度係数

M : $f = 1$ の容量分析用標準液1mLに対応する化学的純物質の量(g)

確認試験の測定例

Measurements for Confirmatory Testing

1. ニコチン酸アミド(Nicotinamide)

ニコチン酸アミドの確認試験は、吸収の極大波長262nmと吸収の極小波長244nmをそれぞれ、A1, A2とすると、 $A_2/A_1 = 0.63 \sim 0.67$ になることを確かめればよいのですが数式演算測定法によれば、各波長の吸光度だけでなく、設定した数式の計算結果も表示してくれるので、非常に便利です。

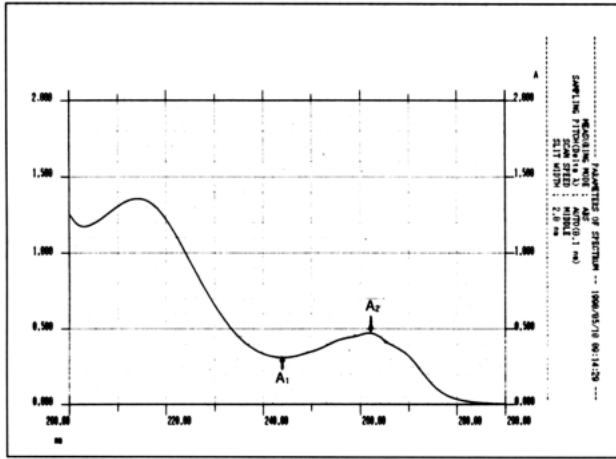


Fig.2 ニコチン酸アミドの吸収スペクトル
Absorption Spectrum of Nicotinamide

2. シアノコバラミン(Cyanocobalamin)

シアノコバラミンの確認試験は、吸収の極大が、波長277~279nm, 360~364nmおよび548~552nmに存在することを確かめればよいのですが、Fig.3より、それぞれ278.2nm, 368.8nm, 550.0nmであり条件を満たしていることがわかります。

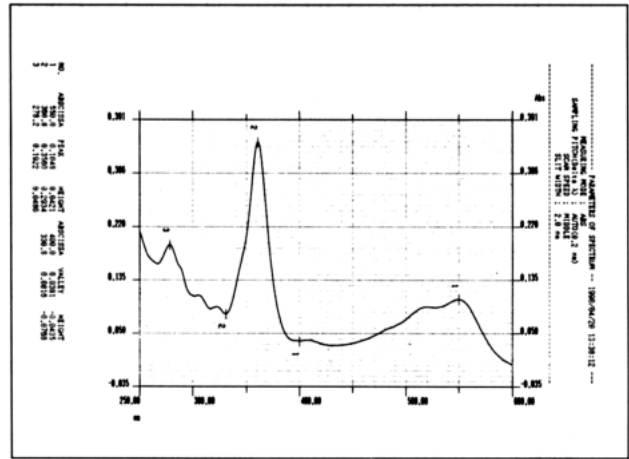


Fig.3 シアノコバラミンの吸収スペクトル
Absorption Spectrum of Cyanocobalamin

Table 1 ニコチン酸アミドの数式演算測定データ
Data for Nicotinamide

```

***** PHOTOMETRY (Calculation) ** 1990/06/14 10:40:29 **
MEASURING MODE : ABS.
SLIT WIDTH : 2.0 nm
NUMBER OF WAVELENGTH : 2
SAMPLE NAME : NICOTINAMIDE
ANALYST :
KIND OF SAMPLES
COLUMN A,λ1 : 1
COLUMN B,λ2 : 1
COLUMN C,λ3 : 1
COLUMN D,λ4 : 2
COLUMN E,λ5 : 2
COLUMN F,λ6 : 3
FORMULA :C=B/A
a=1.00000 b=1.0000 c=1.0000 d=1.0000
e=1.0000 f=1.0000 g=1.0000 h=1.0000
-----
Sample No. SAMPLE 1 SAMPLE 1 RESULT
          262.0nm 244.0nm
1         0.472 0.310 0.6568
2         0.471 0.308 0.6539
    
```

3. リボフラビン(Riboflavin)

吸収の極大が、波長265~267nm, 372~374nmおよび444~446nmに存在し、それぞれの吸収極大の波長における吸光度をA1, A2およびA3とすると、 A_2/A_1 は0.314~0.333, A_3/A_1 は0.364~0.388であることが、Fig.4および数式演算の結果よりわかります。

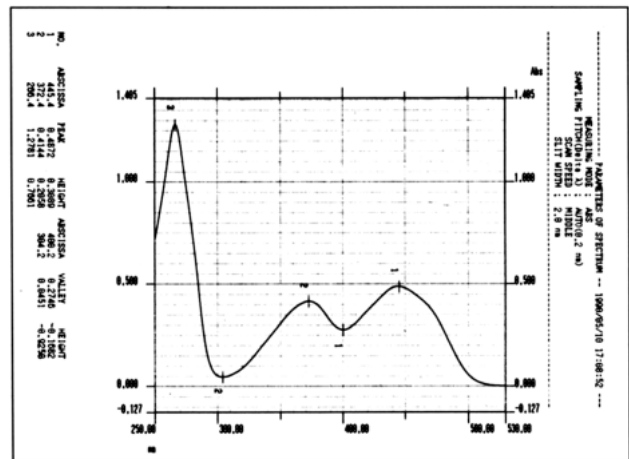


Fig.4 リボフラビンの吸収スペクトル
Absorption Spectrum of Riboflavin