技術論文*

近赤外分光法による錠剤中主薬効成分の定性・定量

石原 章光**, 中村 洋®**

Qualitative and quantitative analysis of principal ingredient in tablets
by near infrared spectroscopy

Akimitsu ISHIIHARA and Hiroshi NAKAMURA**

** Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo,
Ichigaya-funagawara-machi, Shinjuku, Tokyo 162-0826

(Received 7 May 2002, Accepted 8 August 2002)

The purpose of this study is to apply near infrared spectroscopy (NIRS) to the field of forensic science. In the present paper, the non-destructive method was applied to the qualitative and quantitative analyses of the principal ingredient in tablets. By analyzing the second derivative spectra of powdered tablets, characteristic absorption bands relevant to functional groups were found, which being successfully utilized for the determination of the principal ingredients.

Keywords : near infrared spectroscopy; second derivative spectra; acetaminophen; phenacetin; phenol; acetanilide; qualitative analysis; quantitative analysis.

1 緒 言

現在、近赤外分光法 (NIRS) は化学、生物学等の分野から農業・食品分野、医学・薬学分野、化学工業等の広い範囲に及んで利用されている^{1)~3)}。特に、農業、食品及び医療等の分野や石油化学分野では比較的新しい品質評価法としての期待が大きい^{4)~6)}。一方、大家ら⁷⁾は、NIRSを応用した医薬品の定量として、混合末中のセファクロルの迅速定量を行った。本研究は、このように広い範囲で利用されているNIRSを鑑識科学分野へ応用することを目的とする。今回は、医薬品分析へのNIRSの展開を図る目的で、アセトアミノフェン、フェナセチン、フェノール、アセトアニリドを用いた基礎的な検討結果について報告する。

2 実 験

2.1 試薬類・装置

試薬：日本薬局方アセトアミノフェン (丸石製薬)，日本薬局方フェナセチン (岩城製薬)，試薬特級フェノール

(和光純薬)，元素分析用アセトアニリド (Merck) を購入し、精製することなくそのまま使用した。それらの構造式を Fig. 1 に示す。各試薬のメタノール溶液を Table 1 に従って調製した。汙紙 (No.2, ADVANTEC) を使用した。

NIRS 装置: InfraAlyzer500 (BRAN + LUEBBE)

ソフトウェア: SESAME (BRAN + LUEBBE)

2.2 サンプル調製

Table 1 に従って調製した試料溶液 0.3 ml を、サンプル

Fig. 1 Structures of acetaminophen, phenacetin, phenol and acetanilide

* 若手研究者の初論文特集

** 東京理科大学薬学部薬品分析化学研究室: 162-0826 東京都新宿区市谷船河原町 12

Table 1 Preparation of Samples for NIRS

Compound	Concentration	Applied vol./ ml	Applied amount/ mg
Acetaminophen	10.3 mg/3 ml	0.3	1.03
	50.2 mg/3 ml	0.3	5.02
	98.9 mg/3 ml	0.3	9.89
	207.5 mg/4 ml	0.4	20.75
	301.0 mg/4 ml	0.4	30.10
Phenacetin	9.7 mg/3 ml	0.3	0.97
	50.7 mg/3 ml	0.3	5.07
	103.6 mg/3 ml	0.3	10.36
	202.1 mg/4 ml	0.4	20.21
	304.1 mg/4 ml	0.4	30.41
Phenol	9.3 mg/3 ml	0.3	0.93
	49.1 mg/3 ml	0.3	4.91
	103.2 mg/3 ml	0.3	10.32
	215.8 mg/4 ml	0.4	21.58
	294.0 mg/4 ml	0.4	29.40
Acetanilide	9.9 mg/3 ml	0.3	0.99
	51.7 mg/3 ml	0.3	5.17
	105.2 mg/3 ml	0.3	10.52
	196.1 mg/4 ml	0.4	19.61
	309.2 mg/4 ml	0.4	30.92

Fig. 2 Sample preparation for NIRS

セルの測定部（直径 1.9 cm）に合わせて切りぬいた沓紙上に滴下し、自然乾燥させた（Fig. 2）。乾燥確認後、測定を行った。なお、空試験には同様の沓紙にメタノールを滴下し、自然乾燥したサンプルを用い、各濃度では 5 サンプルずつ作製した。

2.3 評価用サンプル（未知サンプル）中のアセトアミノフェンの定量

評価用サンプル（ここでは未知サンプル，Sample X と表示する）として、武田薬品工業のタイレノール錠を用いた。タイレノール 1 錠はアセトアミノフェン 300 mg を含有するが、これを乳鉢・乳棒で粉末化し、そこにメタノール 6 ml を加えて 1 時間静置し評価用の試料溶液とした。測定時には、その上澄み 0.3 ml を滴下量とし、他の操作は 2.2 と同様としたが、サンプル数は 3 とした。

3 結果及び考察

3.1 NIRS スペクトルの測定結果

構造の似ている化合物について、共通する吸収バンド及び固有の吸収バンドを確認する意味で、上記 4 種の芳香族化合物を選択した。

3.1.1 各試薬の一次微分スペクトル 得られた各試薬のスペクトルを比較したが明確な差が認められなかった。そこで、一次微分を施したスペクトルでの検討を試みた（Fig. 3, 4）。いずれについても、空試験，1，5，10，20，30 mg の計 6 種類のスペクトルを同時に示してあり、各濃度とも 5 サンプルを平均したスペクトルである。なお、Fig. 3 上段はアセトアミノフェン、下段がフェナセチン、Fig. 4 では順にフェノール、アセトアニリドのスペクトルである。

3.1.2 吸収バンドの確認及び比較 文献⁴⁾をもとに各吸収バンドの帰属を考察した。

① 吸収バンド（1112～1160 nm） 水酸基によると考えていたが、-OH を有しないアセトアニリドにも見られた。フェノールにも見られたことから、フェニル基に起因すると考えられる。実際、フェニル基は 1130～1140 nm に吸収を持つが、この吸収バンドがフェナセチンに見られない理由は不明である。

② 吸収バンド（1400～1430，1630～1710 nm） 四つすべての化合物で見られたので、フェニル基に起因すると考えられる。

③ 吸収バンド（1620～1630，2000～2020，2130～2160

Fig. 3 First derivative NIR spectra of acetaminophen and phenacetin on filter paper at various concentrations (0~30 mg/0.3 ml)

nm) フェノールのみで見られないので, 第2級アミドによると考えられる。

④ 吸収バンド (1710~1800 nm) フェノールのみで見られないので, メチル基によると考えられる。

⑤ 吸収バンド (2160~2170 nm) すべての化合物で見られるので, フェニル基によると考えられるが, 同時にアミドによる吸収バンドも現れる⁴⁾⁵⁾ので, 容易に帰属を行うことはできないと考えられる。

⑥ 吸収バンド (2310~2330, 2420~2460 nm) ピークの形から, アセトアミノフェンとフェノール, フェナセチンとアセトアニリドの二つに分けられる。この二つのグループの違いは水酸基の有無であることから, -OHによる吸収バンドと考えられる。また, この波長域にCHの吸収バンドも現れる⁴⁾⁵⁾ので, 帰属は困難である。

3.2 錠剤中アセトアミノフェンの定量

3.2.1 データ処理及び検量線作成 2.3で得られたスペクトルに対し二次微分を施したスペクトルをFig. 5と6に示す。このうちアセトアミノフェン (Fig. 5の上段) において, 1136, 1568, 1640, 2152 nmの四つの波長に

おける二次微分値をもとに, 検量線を作成した。それらをFig. 7に示す。この結果, 1136 nmにおける値を用いた場合に検量線の相関係数が1に最も近くなり, 精度良く定量できることが分かった。

3.2.3 評価用サンプルのスペクトル測定 Fig. 8にサンプルXの二次微分スペクトルを示す。上段はサンプルXのスペクトルと空試験, 下段は更にアセトアミノフェン 10, 20, 30 mgのスペクトルを付け加えたものである。ピークの位置を見ても, アセトアミノフェン単独のときと非常に似ていることが分かる。

3.2.4 定量結果 濾紙上のSample Xに含まれるアセトアミノフェンの定量結果をTable 2に示す。四つの測定波長のうち, 1136 nmが正確な結果を与えた。

4 結 言

2.3より共通の構造に起因する吸収バンドでも, 化合物ごとに差があることが分かった。

文献⁴⁾⁵⁾に記載されていない波長域での吸収バンドは, 濾紙を構成する成分であるセルロースとの水素結合が考えられる。差スペクトルをとることが最善の策であると

Fig. 4 First derivative NIR spectra of phenol and acetanilide on filter paper at various concentrations (0~30 mg/0.3 ml)

Fig. 5 Second derivative NIR spectra of acetaminophen and phenacetin on filter paper at various concentrations (0~30 mg/0.3 ml)

Fig. 6 Second derivative NIR spectra of phenol and acetanilide on filter paper at various concentrations (0~30 mg/0.3 ml)

考えられるが、現在用いているソフトウェアではその処理を行うことが不可能である。また、今回作製したサンプルの濾紙上の薬物量は1 mgが最小量であったが、さらなる微量分析及び高感度の分析を行うには実験方法の改善が必須であると考えられる。具体的には、サンプルセルに直接試薬溶液を滴下・自然乾燥させるという方法、試薬を粉末のまま測定する方法を検討中である。まずは、濾紙を用いた場合との吸収バンドの比較を行うべきと考えている。

一方で、NIRSの特徴である非破壊分析を考慮するならば、固体試薬を溶液にすることは適当でなく、少量のサンプルが高感度に測定を行えるように改善する必要がある。今回は、サンプルセルへの充填の不均一性を消去することを目的に濾紙を用いた方法を取り上げたが、微分処理を施すことでその影響を軽減できるという報告⁵⁾があるので、今後の検討がまたれる。

定量結果については、理論上、濾紙上には15 mgのアセトアミノフェンが存在するはずであり、1136 nmにおける検量線を用いたときに最も正確に定量することができたが、微量分析の観点において1136 nmが最も分析感度が良いかどうかは不明である。一方で、4波長について言えることであるが、メタノールに溶解する錠剤中の物質

(賦形剤など)による影響も考えられるので、今後は混合物についても検討する必要がある。

大家ら⁷⁾は、二次微分スペクトルを用いて混合末中セファクロルの定量を行ったが、著者らは4種の類似化合物のついて一次微分スペクトルにより官能基の帰属の考察を、二次微分スペクトルにより錠剤中アセトアミノフェンの定量を行った。固体試薬を溶液にし、濾紙上に滴下・乾燥させたものをサンプルとすることにより、微量の固体試薬でも測定が可能であり、サンプルセルへの充填がより均一に近いと言えることを見いだした。本研究はNIRSを鑑識科学に応用することを目的として、錠剤中に含まれる主剤の定性・定量を試み、高用量の薬物量(10~30 mg)であれば異同識別が可能であることを見いだした。しかし、「微量分析及び異同識別」の観点から考察すると、濾紙上の薬物量が1 mgでも不十分であり、現状では感度不足の感否めない。今後は、本法の一層の高感度化が課題である。

文 献

- 1) 尾崎幸洋: ぶんせき (Bunseki), 1997, 56.
- 2) 河野澄夫: ぶんせき (Bunseki), 1994, 75.

Fig. 7 Calibration curves for acetaminophen at various wavelengths

Fig. 8 Second derivative NIR spectra of sample X and acetaminophen on filter paper at various concentrations (0 ~ 30 mg/0.3 ml)

Table 2 Determination of acetaminophen in Sample X by second derivative NIRS

Wavelength/ nm	No.	Value of second derivative		Amount of acetaminophen/ mg	Mean/ mg
		Sample X	Filter paper		
1136	1	0.00002		15.36	15.36
	2	0.00002	-0.00001	15.36	
	3	0.00002		15.36	
1568	1	0.00001		13.72	13.72
	2	0.00001	-0.000004	13.72	
	3	0.00001		13.72	
1640	1	0.00009		14.05	16.69
	2	0.00011	-0.000006	16.69	
	3	0.00013		19.33	
2152	1	0.00009		16.92	18.79
	2	0.00010	0.000002	18.79	
	3	0.00011		20.65	

- 3) 田辺和俊, 上坂博亨, 南 幸男, 三井利幸, 大崎一男: 第 57 回分析化学討論会講演要旨集, p.98 (1996).
 4) 岩元睦夫, 河野澄夫, 魚住 純: “近赤外分光法入門”, (1994), (幸書房).
 5) 尾崎幸洋, 河田 聡: “近赤外分光法”, (1996), (学

会出版センター).

- 6) 相島鐵郎: “ケモメトリックス—新しい分析化学—” (1992), (丸善).
 7) 大家 洋, 永井真澄, 澤田 実, 金谷充清: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **37**, 128 (1988).

要 旨

本研究は非破壊分析法である近赤外分光法を鑑識科学に応用することを目的として, 錠剤中に含まれる主剤の定性・定量を試みた. その結果, 錠剤を粉状にして二次微分スペクトルを解析することにより, 吸収波長から官能基の特定が, また吸収強度から定量が行えることを見いだした.