

医薬品中の微量不純物の有機構造解析

ICH Q3A, B では医薬品（原薬及び製剤）に含まれる一定量以上の有機不純物について構造決定が求められています。不純物の構造決定には、対象成分の単離精製や MS 及び NMR のスペクトル解析が必要となります。ここでは、市販製剤に有効成分の 0.1% に相当する不純物を添加した模擬試料を用いて、微量不純物の単離、構造解析を行った事例を紹介します。

【分析試料】

市販製剤：ロキソプロフェンを有効成分とする製剤

不純物：ロキソプロフェンのメチルエステル化物

【分析条件】

市販製剤に有効成分の 0.1% に相当するロキソプロフェンのメチルエステル化物（不純物）を添加し、模擬試料を作成しました。

模擬試料を粉碎後、溶剤抽出、分取 LC により、不純物を単離しました。これを LC-TOF MS 及び NMR 分析に供し、構造解析を行いました。

【分析結果】

（1）分取物の純度分析（LC 測定）

模擬試料の分取 LC 前後の LC 測定結果を図 1(a)、(b) に示します。分取後の不純物は 75 μ g (HPLC 純度は、97area%) でした。これを LC-TOF MS 測定及び NMR 測定に供しました。

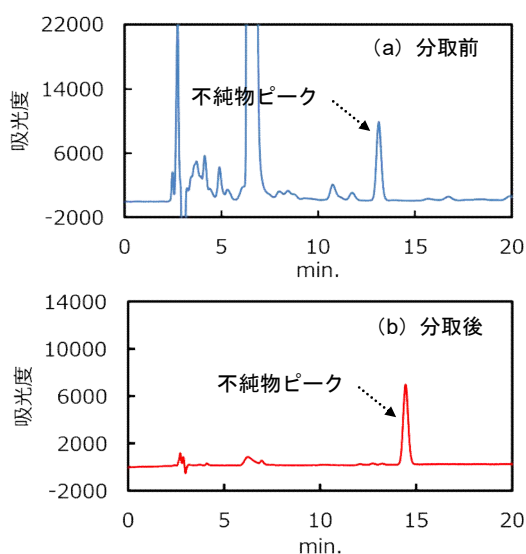


図 1 分取前後の LC クロマトグラム

（2）不純物の質量分析（LC-TOF MS 測定）

分取した不純物を LC-TOF MS 法—正イオンモードで測定しました（図 2）。主たる LC ピークのプリカーサーイオンは、不純物のアンモニウム付加体 ($[M+NH_4]^+$, m/z 278.177 (化学式 $C_{16}H_{24}N_1O_3$)) と一致しました。プロダクトイオンとして m/z 117.070, 177.092, 201.128 のイオンが検出されました。

図 3 にロキソプロフェンのメチルエステル化物のプロダクトイオンの帰属を示します。

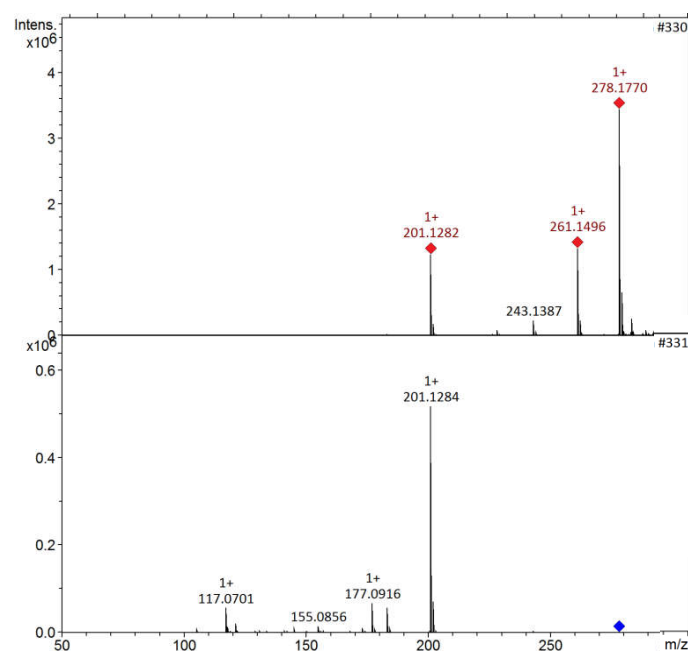


図 2 分取した不純物の MS スペクトル（上段）
および m/z 278.177 のイオンの MS/MS
スペクトル（下段）

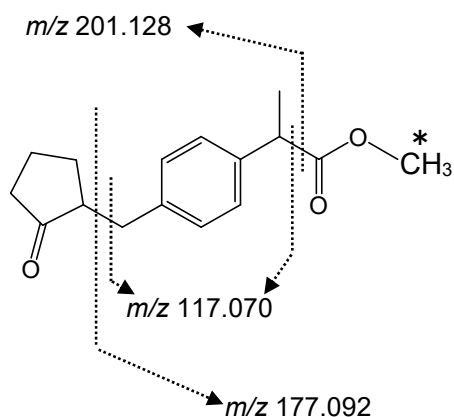


図3 ロキソプロフェンのメチルエステル化物
プロダクトイオン帰属

(3) 不純物の NMR による構造解析

分取によって得られた不純物(全量 75 μ g)をクロロホルム- d に溶解させ、700MHz クライオプローブ付 NMR 測定に供しました。 ^1H NMR 及び ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを図4,5に示します。図4より、わずか 0.1mg にも満たない分取された不純物であっても、S/N の高いスペクトルが得られることが示されました。さらに図5より、このわずかな分取物でも十分に構造解析を行える二次元 NMR スペクトルを取得可能であることが示されました。図5の帰属の一例を挙げると、ロキソプロフェンには存在しないメチルエステル(図3の*印参照)の相関ピークが ^1H NMR の 3.7 ppm と ^{13}C NMR の 52 ppm に検出されています。

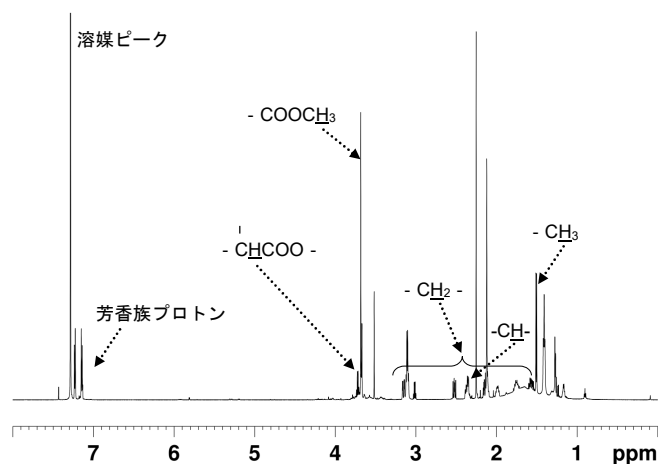


図4 分取した不純物の ^1H NMR スペクトル

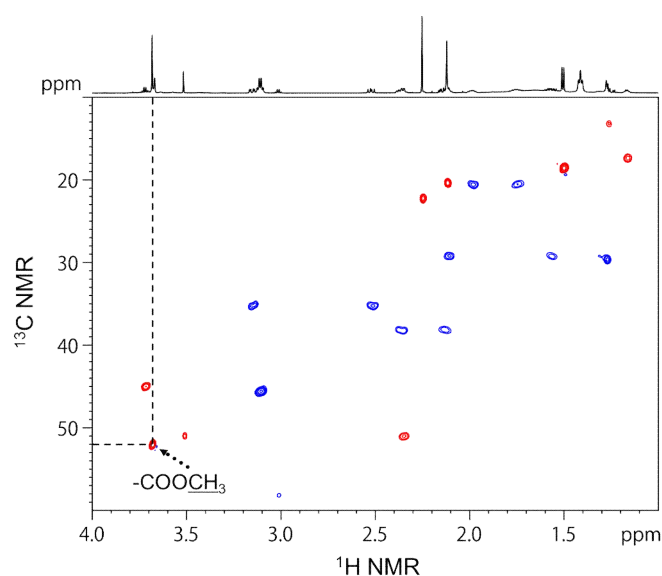


図5 分取した不純物の ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル
(CH₃、CH : 赤、CH₂ : 青)

(4) まとめ

市販製剤は原薬に様々な賦形剤が加えられた混合物となっています。製剤中に含まれる 0.1%程度の不純物であれば、分取 LC 装置により単離し、LC-TOF MS 測定および 700MHz クライオプローブ付 NMR 測定を行い、それらのスペクトルを解析することで構造決定が可能です。