

NMR スペクトルからは基本的には以上の 4 つのパラメーターが得られる。すなわち、化学シフト、スピニースピン結合定数、シグナル面積強度 (^1H の数)、緩和時間である。これらを利用して物質の構造解析、確認又は定量を行うことができる。

構造解析のために、デカップリング、核オーバーハウザー効果、二次元 NMR などの種々の手法を用いることができる。

装 置

NMR スペクトルの測定は次のいずれかの装置による。

(1) 連続波 NMR スペクトル測定装置

(2) パルスフーリエ変換 NMR スペクトル測定装置

操作 法

装置の感度及び分解能をエチルベンゼン、 α -ジクロルベンゼン又はアセトアルデヒドの NMR 測定用重水素化溶媒又は四塩化炭素溶液などを用いて至適条件に調整した後、通例、次の場合でスペクトルを測定する。

(1) 試料を溶媒に溶かし、少量の基準物質を加え、その溶液を NMR 試料管に注入する内部基準法か、又は基準物質の溶液を封入した細管を試料溶液とともに NMR 試料管に入れる外部基準法かのいずれかの方法で用意した試料管を NMR プローブに設置して測定する。試料溶液は完全に均一な溶液であることが望ましい。特に、固形の異物の混入があると良いスペクトルが得られない。 ^1H の NMR スペクトルの測定用溶媒としては、各種の NMR 測定用重水素化溶媒又は四塩化炭素などを用いる。溶媒の選択に当たっては、(i) 試料のシグナルと重なるシグナルを示さないこと、(ii) 試料をよく溶かすこと、(iii) 試料と反応しないことなどを考慮する必要がある。更に、溶媒の種類、溶液の濃度、重水素イオン濃度などにより化学シフトが変化することがあり、また、試料溶液の粘度が高い場合には分解能が低下するので注意する。

(2) 基準物質としては、通例、溶媒として有機溶媒を用いた場合はテトラメチルシリランを、重水を用いた場合は 3-トリメチルシリルプロパンスルホン酸ナトリウム又は 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄ を用いる。

(3) 標準試料のスペクトルと照合して物質の確認を行う場合には、できるだけ装置の発振器の周波数、溶媒の種類、試料の濃度などを標準試料のスペクトルの測定条件に一致させる。

9. ガスクロマトグラ法

ガスクロマトグラ法は、適当な固定相を用いて作られたカラムに、試料混合物を注入し、移動相として気体（キャリヤーガス）を用い、固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、気体試料又は気化できる試料に適用でき、物質の確認、純度の試験又は定量などに用いる。

与えられたカラムに注入された混合物は各成分に固有の比率 k で、移動相と固定相に分布する。

$$k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$$

この比率 k と移動相のカラム通過時間 t_0 ($k = 0$ の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間) 及び保持時間 t_R (測定試料の注入時からピークの頂点までの時間)との間には次の関係があるので、同一条件では、保持時間は物質に固有の値となる。

$$t_R = (1 + k) t_0$$

装 置

通例、キャリヤーガス導入部及び流量制御装置、試料導入装置、カラム、カラム恒温槽、検出器及び記録装置からなり、必要ならば燃焼ガス、助燃ガス及び付加ガスなどの導入装置並びに流量制御装置、ヘッドスペース用試料導入装置などを用いる。キャリヤーガス導入部及び流量制御装置は、キャリヤーガスを一定流量でカラムに送るもので、通例、調圧弁、流量調節弁及び圧力計などで構成される。試料導入装置は、一定量の試料を正確に再現性よくキャリヤーガス流路中に導入するための装置で、充てんカラム用とキャビラリーカラム用がある。なお、キャビラリーカラム用試料導入装置には、分割導入方式と非分割導入方式の装置がある。通例、カラムは、充てんカラム及びキャビラリーカラムの二種類に分けられる。充てんカラムは、一定の大きさにそろえたガスクロマトグラフ用充てん剤を不活性な金属、ガラス又は合成樹脂などの管に均一に充てんしたものである。なお、充てんカラムのうち、内径が 1 mm 以下のものは、充てんキャビラリーカラム（マイクロパックドカラム）ともいう。キャビラリーカラムは、不活性な金属、ガラス、石英又は合成樹脂などの管の内面にガスクロマトグラフ用の固定相を保持させた中空構造のものである。カラム恒温槽は、必要な長さのカラムを収容できる容積があり、カラム温度を一定の温度に保つための温度制御機構を持つものである。検出器は、カラムで分離された成分を検出するもので、アルカリ熱イオン化検出器、炎光光度検出器、質量分析計、水素炎イオン化検出器、電子捕獲検出器、熱伝導度検出器などがある。記録装置は検出器により得られる信号の強さを記録するものである。

操作 法

別に規定するもののほか、次の方法による。装置をあらかじめ調整した後、医薬品各条に規定する操作条件の検出器、カラム及びキャリヤーガスを用い、キャリヤーガスを一定流量で流し、カラムを規定の温度で平衡にした後、医薬品各条に規定する量の試料溶液又は標準溶液を試料導入装置を用いて系内に注入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置を用いてクロマトグラムとして記録させる。

確認及び純度の試験

確認は、試料の被検成分と標準被検成分の保持時間が一致すること又は試料に標準被検成分を添加しても、試料の被検成分のピークの形状が崩れないことにより試験を行う。

純度は、通例、試料中の混在物の限度に対応する濃度の標準溶液を用いる方法又は面積百分率法により試験を行う。別に規定するもののほか、試料の異性体比は面積百分率法により求める。

面積百分率法は、クロマトグラム上に得られた各成分のピーク面積の総和を 100 とし、それに対するそれぞれの成分のピーク面積の比から組成比を求める。ただし、正確な組成比を得るために、混在物の主成分に対する感度比に基づくピーク面積の補正を行う。

定 量

通例、内標準法によるが、適当な内標準物質が得られない場

合は絶対検量線法による。定量結果に対して被検成分以外の成分の影響が無視できない場合は標準添加法による。

(1) 内標準法 内標準法においては、一般に、被検成分になるべく近い保持時間を持ち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質を内標準物質として選ぶ。医薬品各条に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検試料を段階的に加えて数種の標準溶液を調製する。この一定量ずつを注入して得られたクロマトグラムから、内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又は内標準物質に対する標準被検成分量の比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で同量の内標準物質を加えた試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さの比を求め、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフ法を行い被検成分量を求める。通例、標準溶液などの規定量を繰り返し注入し、得られたそれぞれのクロマトグラムから内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求め、その相対標準偏差(変動係数)を求めて再現性を確かめる。

(2) 絶対検量線法 標準被検試料を段階的により、標準溶液を調製し、この一定量ずつを正確に再現性よく注入する。得られたクロマトグラムから縦軸に標準被検成分のピーク面積又はピーク高さ、横軸に標準被検成分量をとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で試料溶液を調製する。次に検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積又はピーク高さを測定し、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフ法を行い被検成分量を求める。この方法は全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。通例、標準溶液などの規定量を繰り返し注入し、得られたそれぞれのクロマトグラムから標準被検成分のピーク面積又はピーク高さを求める、その相対標準偏差(変動係数)を求めて再現性を確かめる。

(3) 標準添加法 試料の溶液から4個以上の一定量の液を正確にとる。このうちの1個を除き、採取した液に被検成分の標準溶液を被検成分の濃度が段階的に異なるように正確に加える。これらの液及び先に除いた1個の液をそれぞれ正確に一定量に希釈し、それぞれ試料溶液とする。この液の一定量ずつを正確に再現性よく注入して得られたクロマトグラムから、それぞれのピーク面積を求める。それぞれの試料溶液に加えられた被検成分の濃度を算出し、横軸に標準溶液の添加による被検成分の増加量、縦軸にピーク面積をとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、関係線を作成する。関

係線の横軸との交点と原点との距離から被検成分量を求める。通例、標準溶液などの規定量を繰り返し注入し、得られたそれぞれのクロマトグラムから標準被検成分のピーク面積を求める、その相対標準偏差(変動係数)を求めて再現性を確かめる。なお、本法は、絶対検量線法で被検成分の検量線を作成するとき、検量線が、原点を通る直線であるときに適用できる。また、全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。

ピーク測定法

通例、次の方法を用いる。

(1) ピーク高さ測定法

(i) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両そそくを結ぶ接線(基線)との交点から頂点までの長さを測定する。

(ii) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(2) ピーク面積測定法

(i) 半值幅法 ピーク高さの中点におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。

(ii) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク面積として測定する。

用語

液体クロマトグラフ法の用語の定義を準用する。

注意：標準被検試料、内標準物質、試験に用いる試薬及び試液は測定の妨げとなる物質を含まないものを用いる。

医薬品各条の操作条件のうち、カラムの内径及び長さ、充てん剤の粒径、固定相の濃度、カラム温度、キャリヤーガスの流量は、規定された流出順序、分離度、シンメトリー係数及び相対標準偏差が得られる範囲内で一部変更することができる。また、ヘッドスペース用試料導入装置及びその操作条件は、規定の方法以上の真度及び精度が得られる範囲内で変更することができる。

10. 乾燥減量試験法

乾燥減量試験法は、試料を医薬品各条に規定する条件で乾燥し、その減量を測定する方法である。この方法は乾燥することによって失われる試料中の水分、結晶水の全部又は一部及び揮発性物質などの量を測定するために用いる。

医薬品各条に、例えば1.0%以下(1 g, 105°C, 4時間)と規定するものは、本品約1 gを精密に量り、105°Cで4時間乾燥するとき、その減量が本品1 gにつき10 mg以下であることを示し、また、0.5%以下(1 g, 減圧、酸化リン(V), 4時間)と規定するものは、本品約1 gを精密に量り、酸化リン(V)を乾燥剤としたデシケーターに入れ、4時間減圧乾燥するとき、その減量が本品1 gにつき5 mg以下であることを示す。

操作法

はかり瓶をあらかじめ、医薬品各条に規定する方法に準じて30分間乾燥し、その質量を精密に量る。試料は医薬品各条に規定する量の±10%の範囲内で採取し、はかり瓶に入れ、別に規定するもののほか、その層が5 mm以下になるように広げた後、その質量を精密に量り、これを乾燥器に入れ、医薬