

国立衛生試験所ジギトキシシン標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史

Digitoxin Reference Standard (Control 951) of the National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii,
Hiroaki Komatsu, Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material of digitoxin was tested for preparation of the "Digitoxin Reference Standard (Control 951)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.0%; infrared spectrum, the same as that of the JP Digitoxin Reference Standard (Control 845); thin-layer chromatography, no impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), two kinds of impurities were detected and the total amount was estimated to be $0.16 \pm 0.01\%$ ($n=3$); assay, 99.0% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the JP Digitoxin Reference Standard (Control 951).

Keywords : digitoxin, quality evaluation, authorization, JP reference standard

(Received May 31, 1996)

第十二および第十三改正日本薬局方「ジギトキシシン」の確認試験および定量法、「ジギトキシシン錠」の溶出試験、含量均一性試験および定量法、ならびに「ジギトキシシン注射液」の定量法に用いられる国立衛生試験所ジギトキシシン標準品 (Control 951) を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は、塩野義製薬(株)において精製されたものである。同社による日局「ジギトキシシン」の規格および試験法に基づく試験成績の主なものは、以下のとおりである：乾燥減量, 1.4%；定量 (HPLC法), 99.4%。

2. 参照物質および試薬

第十三改正日本薬局方ジギトキシシン標準品 (Control 836；以後、日局標準品と略称) を対照に試験を行った。試薬は JIS 試薬特級品または特級相当品を用いた。

3. 装置

本標準品原料の品質試験に当たり、以下の測定装置を用いた：赤外分光光度計 (日本分光, FT-IR VALOR-III), 融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型), 旋光計 (日本分光, DIP-370 型)。また、液体クロマトグラフ装置は、島津製作所製の LC-9A 型送液ポンプ, SPD-6A 型検出器, CTO-6A 型カラムオープンおよび C-R6A 型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法、日局「ジギトキシシン」の規格および試験法を準用する。

4.1 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：ジクロロメタン/メタノール/水混液 (84 : 15 : 1), 試料溶液および標準溶液の調製：本品および日局標準品約 1 mg ずつを量り、それぞれをクロロホルム/メタノール混液 (1 : 1) 50 ml に正確に溶かし、試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法：試料溶液および標準溶液の 20 μ l (ジギトキシシン 20 μ g 相当量) をシリカゲル薄層板に線状にスポットし、約 10 cm 展開したのち、風乾する。これに希硫酸を均等に噴霧した後、110°C で 10 分間加熱し、スポットを観察する。

4.2 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

本品および日局標準品を乾燥し、その 5.0 mg ずつを精密に量り、それぞれをメタノールに溶かして正確に 10 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10 μ l につき、次の条件で液体クロマトグラフ法による試験を行う。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：220 nm)

カラム：Inertsil ODS (4.6 mm ϕ × 150 mm)

カラム温度：25°C

移動相：メタノール/水混液 (7 : 3)

流量：1.2 ml/min

検出感度：試料注入量 (μ g) の 1/100 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフ

ルスケールの約10%になるように、検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、主ピークが必ず検出されるように分析パラメーターを設定する¹⁾。

4.3 HPLC法による定量

日局「ジギトキシン」の定量法を準用する。

5. 試験結果

(1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

(2) 赤外吸収スペクトル

本品および日局標準品の赤外吸収スペクトルを臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた (Fig. 1)。

(3) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +17.0^\circ$ (乾燥後, 0.5 g, クロロホルム, 20 ml, 200 mm) であり、日局規格に適合する (日局: $[\alpha]_D^{20} = +16^\circ \sim +18^\circ$)。

(4) 純度試験

(a) TLC法 本品および日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 2 に示した。本品および日局標準品とも不純物スポットは検出されなかった。本法によるジギトキシンの検出限界は、 $0.5 \mu\text{g}$ であった。

(b) HPLC法 本品および日局標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig. 3 に示した。本品 (A) および日局標準品 (B) とともに、ジギトキシンのピークのほかに不純物ピークが、それぞれ1~2個および2~4個認められた。なお、クロマトグラム上、最初に現れる鋭く大きなピークと直ぐその後に現れるピークは溶媒 (メタノール) 由来の不純物ピークであり、これらのピークは不純物量の計算から除外している。また、本クロマトグラムの記録は15分で打ち切っているが、15分以降30分まで不純物ピークの現れないことを確認してい

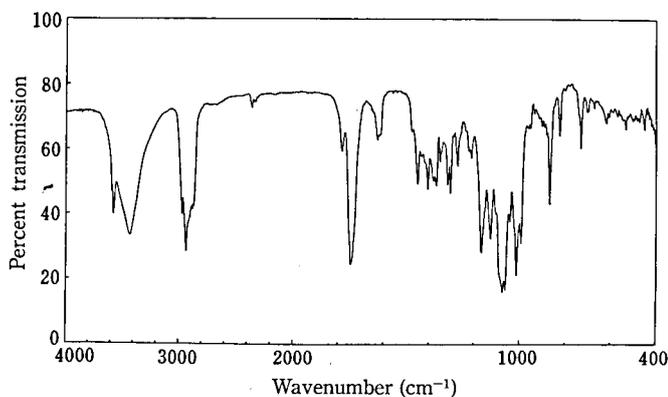


Fig. 1. Infrared absorption spectrum for the candidate Digitoxin Reference Standard

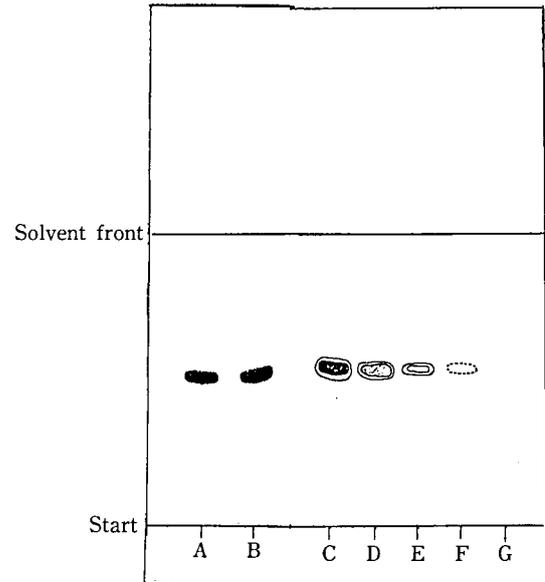


Fig. 2. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Digitoxin Reference Standard

Solvent system: dichloromethane/methanol/water (84 : 15 : 1)

Spot: A is the JP Digitoxin Reference Standard, $20 \mu\text{g}$.

B, C, E, F and G are the candidate material 20, 5, 2.5, 1, 0.5 and $0.1 \mu\text{g}$, respectively.

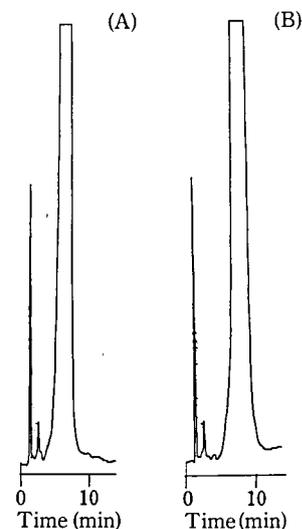


Fig. 3. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Digitoxin Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Digitoxin Reference Standard

Conditions: column, Inertsil ODS ($4.6 \text{ mm} \phi \times 150 \text{ mm}$); column temp., 25°C ; flow rate, 1.2 ml/min ; detection wavelength, 220 nm ; mobile phase, methanol/water (7 : 3).

る。この結果、面積百分率法による不純物総量は、本品で $0.1 \pm 0.08\%$ ($n=3$)、日局標準品で $0.5 \pm 0.60\%$ ($n=3$) であった。

TLC 法および HPLC 法による純度試験の結果、本品は HPLC 法による定量分析用標準品として十分な純度を有することが明らかとなった。

(5) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、0.6% (0.5 g, 減圧, 100°C, 2 時間) であり、日局規格に適合する (日局: 1.5% 以下)。

(6) 定 量

日局「ジギトキシシン」の定量法を準用し、日局標準品を対照として HPLC 法による定量を行った結果、 $99.0 \pm 1.2\%$ (n=3) の値が得られた。

結 論

ジギトキシシン標準品原料につき、日局標準品を対照に比

較検討した結果、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) として十分な品質を有することが認められたので、平成 7 年 11 月より頒布を開始した。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ジギトキシシン原薬の精製につき、多大な労をとっていただきました塩野義製薬㈱に深謝いたします。

文 献

- 1) 木村俊夫, 綱川延孝, 中守律夫: 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, **17**, 143~173 (1986)