

国立衛生試験所ベタメタゾン標準品 (Control 951)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明
谷本 剛・岡田 敏史Betamethasone Reference Standard (Control 951) of the
National Institute of Health SciencesAya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada

The raw material of betamethasone was tested for preparation of the "Betamethasone Reference Standard (Control 951)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.0%; infrared spectrum, the same as that of the JP Betamethasone 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, 100.0% by HPLC.

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

Keywords : betamethasone, 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「ベタメタゾン」の
確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所ベタメ
タゾン標準品 (Control 951) を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は、扶桑薬品㈱より供与された。同社による
日局「ベタメタゾン」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：比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$
 $= +117^\circ$ ；定量 (HPLC), 99.2%。

2. 参照物質および試薬

第十三改正日本薬局方ベタメタゾン標準品 (Control
936；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あたり、以下の測定装置を用
いた：自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型)、赤外分
光光度計 (日本分光, FT-IR VALOR-III)。また、液体
クロマトグラフ装置は、島津製作所製の LC-6A 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、日局一般試験法および日局「ベ
タメタゾン」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

60F254 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：ジクロロメタン/
エーテル/メタノール/水混液 (385 : 75 : 40 : 6), 試料溶
液および標準溶液の調製：本品および日局標準品 10.0 mg
ずつを精密に量り、それぞれをクロロホルム/メタノール
混液 (9 : 1) 5 ml を正確に加えて溶かし、試料溶液とす
る。この液 1 ml を正確に量り、クロロホルム/メタノール
混液 (9 : 1) を加えて 100 ml とし、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 5 μ l (ベ
タメタゾン 10 μ g 相当量および 0.1 μ g) をシリカゲル薄層
板にスポットし、約 12 cm 展開したのち、風乾する。こ
れに紫外線 (254 nm) を照射して観察する。

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 10.0 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：240 nm)

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ \times 150 mm)

カラム温度：35 $^\circ$ C

移動相：水/アセトニトリル混液 (3 : 2)

流量：0.6 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「ベタメタゾン」の定量法を準用し、内部標準法により定量する。

5. 試験結果

(1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

(2) 可視吸収スペクトル

日局「ベタメタゾン」の確認試験(4)を準用し、生成したフェニルヒドラゾン体の可視吸収スペクトルを測定するとき、波長442 nmの位置に吸収の極大が認められた。また、吸収極大の波長における吸光度は0.12であり、いずれも日局規格に適合する(日局：極大吸収波長440~460 nm, 吸光度0.30以下)。本品の可視吸収スペクトルをFig. 1に示した。

(3) 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. 2)。

(4) 旋光度

本品の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +116.8^\circ$ (乾燥後, 0.1 g ジオキサン, 10 ml, 100 mm) であり、日局規格に適合する(日局： $[\alpha]_D^{20} = +115^\circ \sim +121^\circ$)。

(5) 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. 3に示した。本品および日局標準品とも主スポット以外のスポットは、検出されなかった。本法によるベタメタゾンの検出限界は、0.1 μg であった。

(b) HPLC 法 本品および日局標準品につき、HPLC

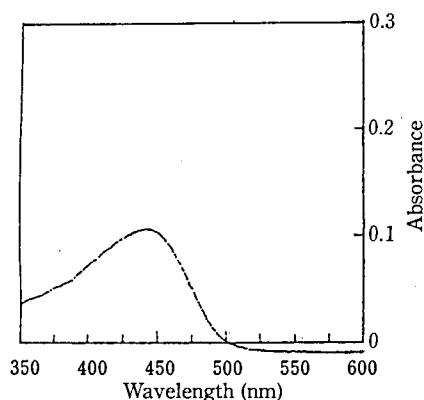


Fig. 1. Visible absorption spectrum for the candidate Betamethasone Reference Standard

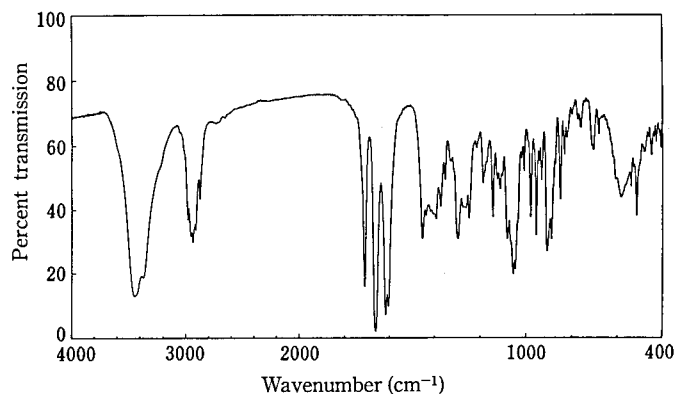


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Betamethasone Reference Standard

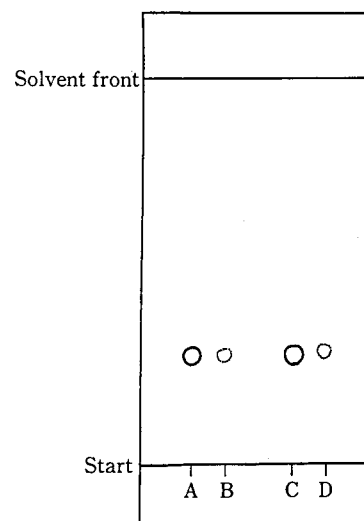


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Betamethasone Reference Standard

Solvent system: dichloromethane/ether/methanol/water (385 : 75 : 40 : 6)

Spot: A and B are the JP Reference Standard 10 μg and 0.1 μg , respectively. C and D are the candidate material 10 μg and 0.1 μg , respectively.

法による純度試験で得られた液体クロマトグラムをFig. 4に示した。本品(A)および日局標準品(B)とも、ベタメタゾンのピークのほかに微量不純物ピークが2~5個認められた。面積百分率法による不純物総量は、本品で $0.2 \pm 0.01\%$ ($n=3$)、日局標準品で $0.3 \pm 0.03\%$ ($n=3$)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法による定量用の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。

(6) 乾燥減量

本品の乾燥減量は、0.0% (0.5 g, 五酸化リン, 4時間, 減圧5 mmHg以下) であり、日局規格に適合する(日局：0.5%以下)。

(7) 定 量

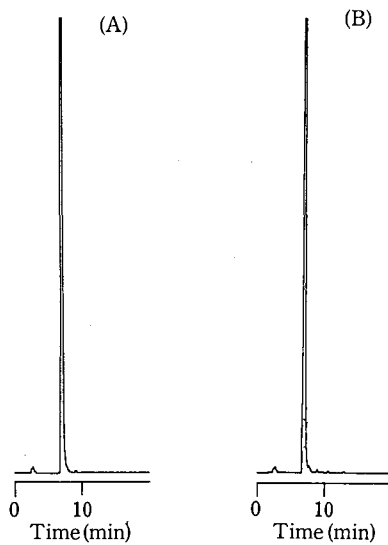


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Betamethasone Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Betamethasone Reference Standard

Conditions: column, Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ ×150 mmL); column temp., 35°C; flow rate, 0.6 ml/min; detection wavelength, 240 nm; mobile phase, water/acetonitrile (3 : 2).

日局「ベタメタゾン」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、 $100.0 \pm 0.49\%$ (n=4)の値が得られた。

結 論

ベタメタゾン標準品原料につき、日局ベタメタゾン標準品を対照に比較検討した結果、本品は、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。

終わりに、本標準品の製造にあたりご協力いただきました扶桑薬品㈱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)