

## 国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 941)

北島 文・前川 京子・吉井 公彦・小松 裕明  
谷本 剛・岡田 敏史

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941) of the  
National Institute of Health Sciences

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

The raw material of tocopherol acetate was tested for the preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, the same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 919); specific absorbance,  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (284nm) = 44.5; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0  $\mu\text{g}$ ; high-performance liquid chromatography (HPLC), 2~3 impurities were detected and the amount was estimated to be about 1%; assay by HPLC, 100.8%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 941).

**Keywords** : tocopherol acetate, 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「酢酸トコフェロール」の確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品)「酢酸トコフェロール標準品 (Control 941)」を製造したので報告する。

### 1. 原料

本標準品原料はエーザイ(株)より購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、褐色アンブル中に約0.15 g量ずつ小分け充填し、窒素置換した後、密封されたものである。同社による試験成績は次のとおりである。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 37.5  $\mu\text{g}$  まで異種スポットなし。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 不純物量 1.0%, 比吸光度:  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (284 nm) 43.3, 定量 (HPLC 法): 100.2%。

### 2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 919; 日局標準品と略称)<sup>1)</sup>を対照物質とした。試薬および溶媒類は、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評価試験にあたり、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「酢酸トコフェロール」の試験法を準用した。

4.1 薄層クロマトグラフ法 (TLC 法) による純度試験  
薄層板: メルク社製プレコートッド薄層板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: トルエン, 試料溶液および標準溶液の調製: 本候補品および日局標準品 0.01 g をとり、ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし、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 2.5~10  $\mu\text{l}$  を薄層板にスポットし、約 15 cm 展開した後、風乾する。濃硫酸を均等に噴霧した後、110°C で 15 分間加熱し、直ちに白色光下で観察する<sup>2)</sup>。

#### 4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験

本候補品および日局標準品約 0.02 g ずつを量り、それぞれを無水エタノール 2.5 ml に溶かし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10  $\mu\text{l}$  につき、次の条件で液体クロマトグラフ法 (HPLC) 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: 284 nm)

カラム: ULTRON N-C18L (4:6 mm $\phi$ ×150 mm)

移動相: メタノール/水混液 (98:2)

流量: 1.1 ml/min

カラム温度: 35°C

検出感度: 試料注入量 ( $\mu\text{g}$ ) の 1/100 に相当する量を

注入し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さ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<sup>3)</sup>。

## 5. 試験結果

### 1) 性状

無色透明の粘性の液で、においはない。

### 2) 紫外吸収スペクトルおよび比吸光度

日局の方法で調製した本品のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、284 nm 付近に吸収の極大を認めた。極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (284 nm) = 44.5 (0.01 g, 無水エタノール, 100 ml) であり、日局規格に適合する (日局:  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (284 nm) 41.0~45.0)。本品の紫外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

### 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液膜法

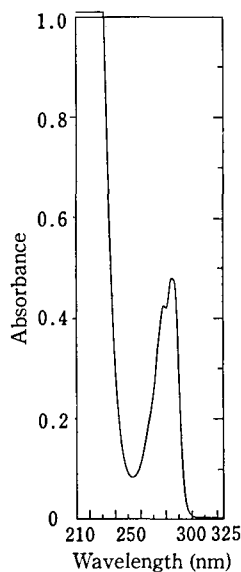


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Tocopherol Acetate Reference Standard

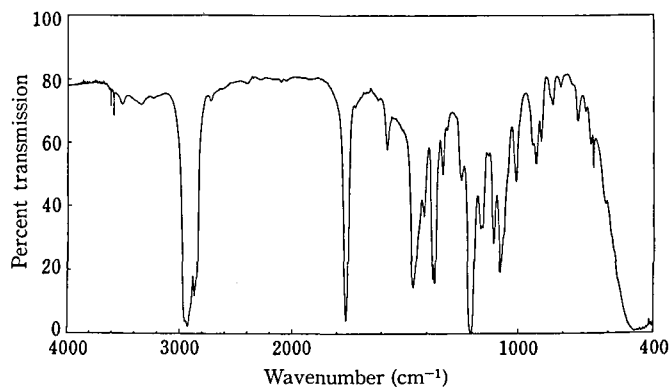


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Tocopherol Acetate Reference Standard

(赤外吸収スペクトル測定用塩化ナトリウム板) により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収が認められた (Fig. 2)。

### 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. 3 に示した。試料溶液および標準溶液とも、スポット量 50  $\mu\text{g}$  まで異種スポットは認められなかった。

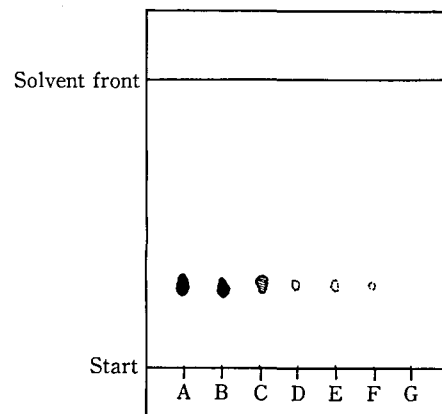


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Tocopherol Acetate Reference Standard

Solvent system: toluene

Spot: A is the JP Tocopherol Acetate Reference Standard, 50  $\mu\text{g}$ .

B, C, D, E, F and G are the candidate material 50, 25, 0.1, 0.08, 0.05 and 0.03  $\mu\text{g}$ , respectively.

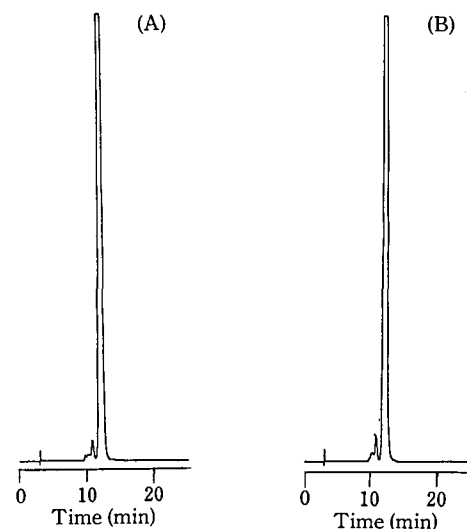


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Tocopherol Acetate Reference Standard

(A): The candidate

(B): The JP Tocopherol Acetate Reference Standard

Conditions: column, ULTRON N-C18L (4.6 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); column temp., 35 $^{\circ}\text{C}$ ; flow rate, 1.1 ml/min; detection wavelength, 284 nm; mobile phase, methanol/water (98 : 2).

また、本法による酢酸トコフェロールの検出限界は 0.05  $\mu\text{g}$  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. 4 に示した。主ピークの直前に複数個から成る不純物ピークが検出され、それらのピーク位置と形状から、本品と日局標準品の不純物は同一種類のものと推定された。面積百分率法により推定される不純物総量は、面積百分率 0.05% 以上の不純物ピークにつき、本品で  $0.3 \pm 0.004\%$ 、日局標準品で  $1.1 \pm 0.03\%$  と推定された。しかし、0.01% 以上の不純物量でみると、本品で  $0.5 \pm 0.02\%$ 、日局標準品で  $1.2 \pm 0.04\%$  となり、両者の間で大きな差異は認められず、本品を日局標準品として利用できることが明らかとなった。

なお、HPLC 法により明確に捉えられた不純物は、TLC 法によっては検出されず、酢酸トコフェロールの類縁物質評価にあたり HPLC 法がより有力な分析手段であることが明らかとなった。

#### 5) 定 量

日局標準品を対照に液体クロマトグラフ法による定量試験を行った結果、 $100.8 \pm 0.53\%$  ( $n=4$ ) の値が得られた。

なお、定量試験における液体クロマトグラフ法の操作条件は、純度試験の方法を準用した。

#### 結 論

酢酸トコフェロール標準品原料につき、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を認め、Control 941 として製造・配布を開始した。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきましたエーザイ(株)に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史：国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 911), 衛生試験報, **110**, 119 (1992)
- 2) 勝井五一郎, 大前雅彦, 江沢敏一, 江沢 総：トコフェロール, 酢酸トコフェロール およびコハク酸トコフェロール標準品に関する研究. 医薬品研究, **16**, 506~514 (1985)
- 3) 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)