

国立医薬品食品衛生研究所酢酸ヒドロコルチゾン標準品 (Control 961)

田頭 洋子・北島 文・前川 京子・吉井 公彦
谷本 剛・岡田 敏史*

Hydrocortisone Acetate Reference Standard (Control 961) of
National Institute of Health Sciences

Yoko Tagashira, Aya Kitajima, Keiko Maekawa, Kimihiko Yoshii,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada*

The raw material of hydrocortisone acetate was tested for the preparation of the "Hydrocortisone Acetate Reference Standard (Control 961)". Analytical data obtained were as follows: IR spectrum, specific absorption wave numbers at 3428, 1748, 1723, 1631, and 1375 cm^{-1} ; specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (242 nm) = 406; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 0.05 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), 2 ~ 3 impurities were detected and the amount of the total impurities was estimated to be about 0.2%; assay by HPLC, 100.7%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 961).

Keywords : hydrocortisone acetate, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard
(Received May 30, 1997)

第十三改正日本薬局方「酢酸ヒドロコルチゾン」の確認試験及び定量試験に用いられる国立医薬品食品衛生研究所標準品 (日本薬局方標準品)「酢酸ヒドロコルチゾン標準品 (Control 961)」を製造したので報告する。

1. 原料

本標準品原料は日本シェーリング (株) より購入した。

2. 参照物質及び試薬

第十三改正日本薬局方酢酸ヒドロコルチゾン標準品 (Control 898 ; 日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒類は、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), 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には島津製作所製の LC-6 A 型ポンプ, SPD-10A 型検出器, CTO-6 A 型カラムオープン, 資生堂製の S-MC Ver. 4.1型データ処理装置を用いた。

4. 試験方法

別に記すもののほかは、日局一般試験法及び「酢酸ヒド

ロコルチゾン」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テッド薄層板シリカゲル60 F254 (厚さ, 0.25 mm)。展開溶媒：クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1)。試料溶液及び標準溶液の調製：本候補品及び日局標準品 0.040 g をとり、クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 25 ml に溶かし、試料溶液とする。この液 2 ml を正確に量り、クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) を加えて正確に 100 ml とし、標準溶液とする。操作法及び検出法：本候補品及び日局標準品の試料溶液、標準溶液を各 5 μl 及び 1 ml 中に本候補品 5 μg ~ 40 mg を含む液 5 μl ずつを薄層板にスポットし、約 12 cm 展開する。風乾後、紫外線照射法 (主波長 254 nm) 及びアルカリ性ブルーテトラゾリウム (BT) 試液を均等に噴霧してスポットを観察する。

4.2 液体クロマトグラフ法による純度試験

本候補品及び日局標準品約 0.010 g ずつを量り、それぞれをメタノール 50 ml に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液 20 μl 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：254 nm)

カラム：Inertsil ODS (4.6 mm ϕ × 250 mm)

移動相：アセトニトリル/水混液 (1 : 1)

* To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

流量：0.8 ml/min

カラム温度：35℃

検出感度：試料注入量 (μg) 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。²⁾

5. 試験結果

1) 性状

白色の結晶または結晶性の粉末で、においはない。

融点：221.0° (分解)

2) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

波長 242 nm 付近に吸収の極大が観察され、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (242 nm) は 406 (0.1 g, メタノール, 10000 ml) であった。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

本品及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た結果、波数 3428, 1748, 1723, 1631,

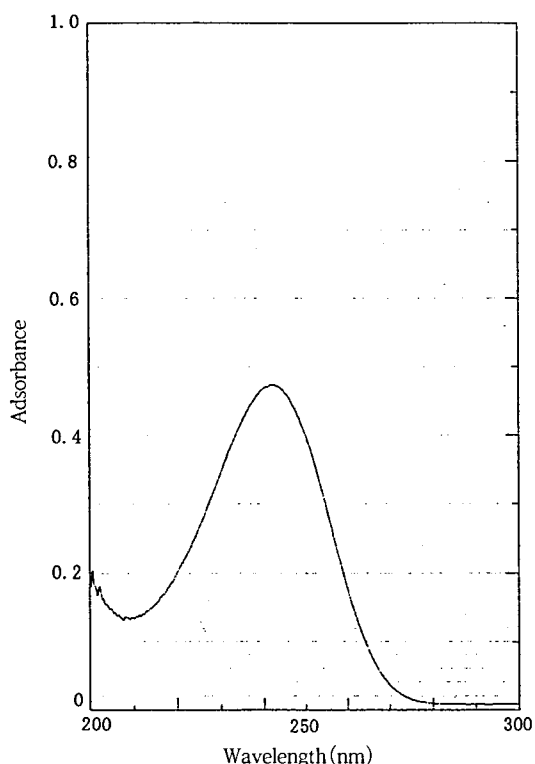


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate Hydrocortisone Acetate Reference Standard

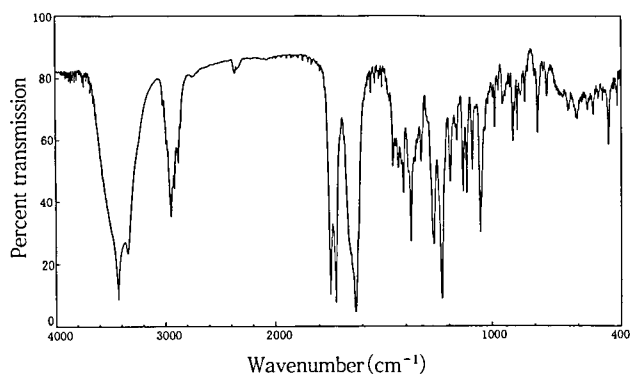


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate Hydrocortisone Acetate Reference Standard

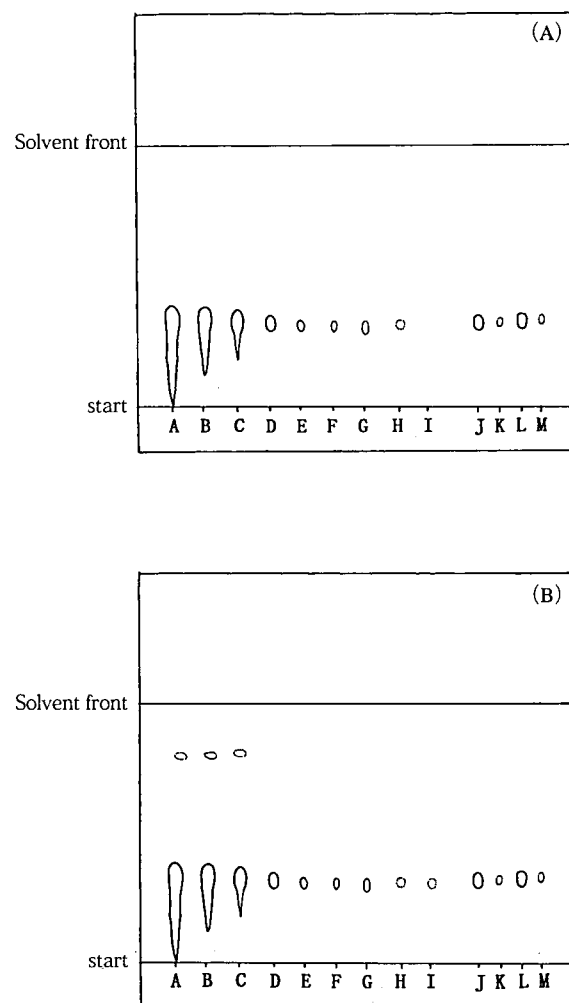


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP Hydrocortisone Acetate Reference Standard

Solvent system: chloroform/methanol (9 : 1)

Spot: A, B, C, D, E, F, G, H and I are the candidate material 200, 100, 50, 10, 1, 0.5, 0.1, 0.05 and 0.025 μg, respectively.

J and K are the candidate material 8 μg and 0.16 μg, respectively. L and M are the JP Reference Standard 8 μg and 0.16 μg, respectively.

Detection: (A) Spraying alkaline blue tetrazolium TS on the plate (B) UV at 254 nm

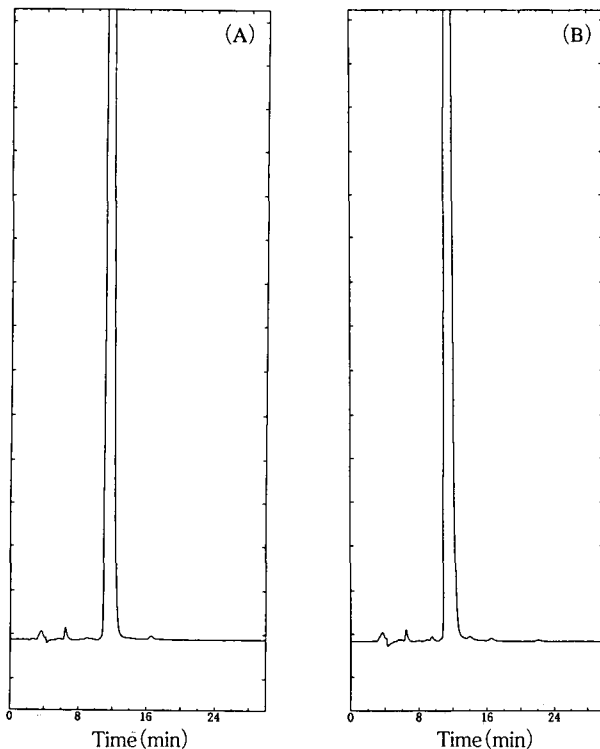


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP Hydrocortisone Acetate Reference Standard
 (A) : The candidate
 (B) : The JP Hydrocortisone Acetate Reference Standard
 Conditions: column, Inertsil ODS (4.6 mm ϕ ×250 mm); column temp, 35°C
 flow rate, 0.8 ml/min; detection wavelength, 254 nm; mobile phase, acetonitrile/water (1 : 1).

1375 cm⁻¹付近に特性吸収を認めた。また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

本品の旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = 164.3^\circ$ (乾燥後, 0.05 g, ジオキサン, 10ml, 100mm) であり, 日局規格に適合する (日局: $[\alpha]_D^{20} = +158^\circ \sim +165^\circ$)。

5) 純度試験

(a) TLC 法 本品及び日局標準品の薄層クロマトグラム

を Fig. 3 に示す。本候補品及び日局標準品で調製した試料溶液には主スポット以外のスポットは検出されなかった。本法による検出限界は紫外線照射法で 0.025 μ g 以下, BT 試液による検出法で 0.05 μ g であり, 50 μ g 以上のスポット量では紫外線照射法及び BT 試液法共に主スポットはテーリングし, 紫外線照射法で不純物 1 個が観察された。

(b) HPLC 法 本品及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 に示す。本品及び日局標準品とも主ピークの前後に 2~5 個の不純物のピークが認められた。面積百分率法により推定される不純物総量は, 本品で 0.16 \pm 0.03%, 日局標準品で 0.23 \pm 0.02% と推定された。

TLC 法及び HPLC 法による純度試験の結果, 本品は日局標準品として利用できることが明らかとなった。

6) 乾燥減量

本品の乾燥減量は, 0.10% (0.5 g, 105°C, 3時間) であり, 日局規格に適合する (日局: 1.0% 以下)。

7) 定量

日局「酢酸ヒドロコルチゾン」の定量法を準用し, 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, 100.7 \pm 0.29% (n=3) の値が得られた。別に, 前回標準品を対照に吸光度測定法 (242 nm) により試験を行った結果, 100.1 \pm 0.27% の値が得られた。

結 論

酢酸ヒドロコルチゾ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, 国立医薬品食品衛生研究所標準品 (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 961 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日本シェーリング (株) に深謝いたします。

文 献

- 1) 岡田敏史・広重律子・田中正一・村井真美・木村敏夫: 衛生試報, 108, 147~ (1990)
- 2) 木村俊夫, 網川延考, 中守律夫: 医薬品研究, 17, 143~173 (1986)