

国立医薬品食品衛生研究所酢酸トコフェロール標準品 (Control 971)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛・岡田敏史[#]

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,
Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada[#]

The raw material of tocopherol acetate was examined for the preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, the same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941); specific absorbance, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) = 43.0; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0 μg of the loaded raw material; high-performance liquid chromatography (HPLC), one impurity was detected and the amount was estimated to be about 0.68%; assay by HPLC, 100.2%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences.

Keywords: tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「酢酸トコフェロール」の確認試験及び定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「酢酸トコフェロール標準品 (Control 971)」(日本薬局方標準品)を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料はエーザイ株式会社より入手した。同社において、分子蒸留法により精製され、褐色アンプル中に約0.15 g ずつ小分け充填し、窒素置換した後、溶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 μg まで他のスポットを認めない。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 不純物量0.8%。

比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm): 42.7。

定量 (HPLC 法): 99.9%。

2. 参照物質及び試薬

第十三改正日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 941; 日局標準品と略称)¹⁾を対照物質とした。試薬及び溶媒は特級品又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、下記の測定装置を用いた。

自記分光光度計: 島津製作所, UV2500PC。

赤外分光光度計: 日本分光, FT-IR VALOR-III。

液体クロマトグラフ装置: 島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-6A 型検出器, CTO-6A 型カラムオープン及び資生堂製データ処理装置 S-mc。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び「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 (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。

試料溶液及び標準溶液の調製: 標準品原料及び日局標準品0.01 g をとり、ヘキサン2.0 ml を加えて溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液2.5~10 μl 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²⁾。

4. 2. 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品0.02 g ずつを正確に量り、それぞれを無水エタノール2.5 ml に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液10 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。

[#] To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：284 nm）
 カラム：ULTRON N-C18L (4.6 mm ϕ \times 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 $^{\circ}$ C

検出感度：標準溶液 1 ml を正確に量り，無水エタノールを加えて正確に 100 ml とした液 10 μ l から得た酢酸トコフェロール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，標準溶液 1 ml を正確に量り，無水エタノールを加えて正確に 2,000 ml とした液 10 μ l から得た酢酸トコフェロールのピーク面積が自動積分法で測定されるように装置の分析パラメーターを設定する。

面積測定範囲：溶媒ピークの後，酢酸トコフェロールの保持時間の 2 倍の範囲。

5. 試験結果

1) 性状

無色澄明の粘性の液で，においはない。

2) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

日局の方法で調製した標準品原料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，284.6 nm 付近に吸収の極大を認めた (Fig. 1)。極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) は 43.0 であり，日局規格に適合する。(日局： $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) = 41.0~45.0)。

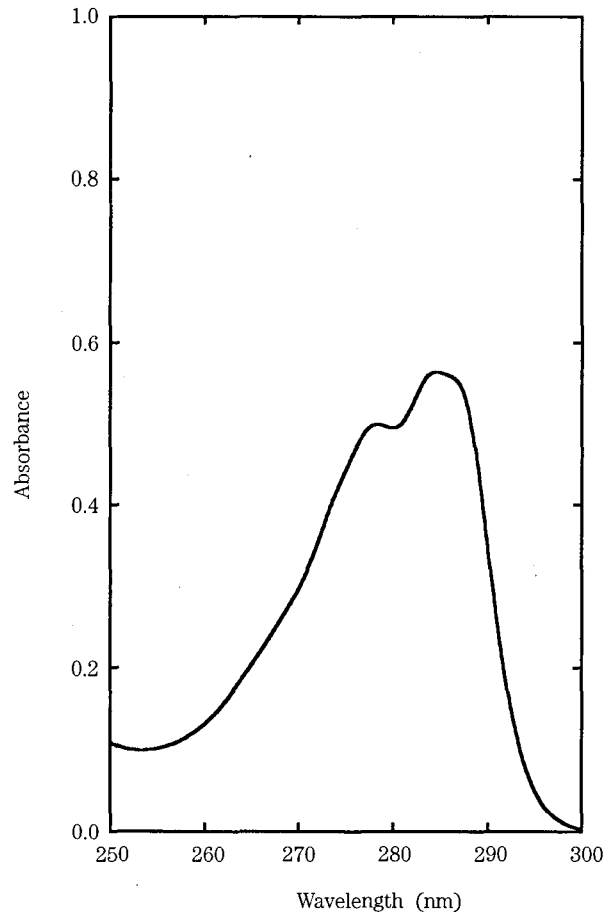


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

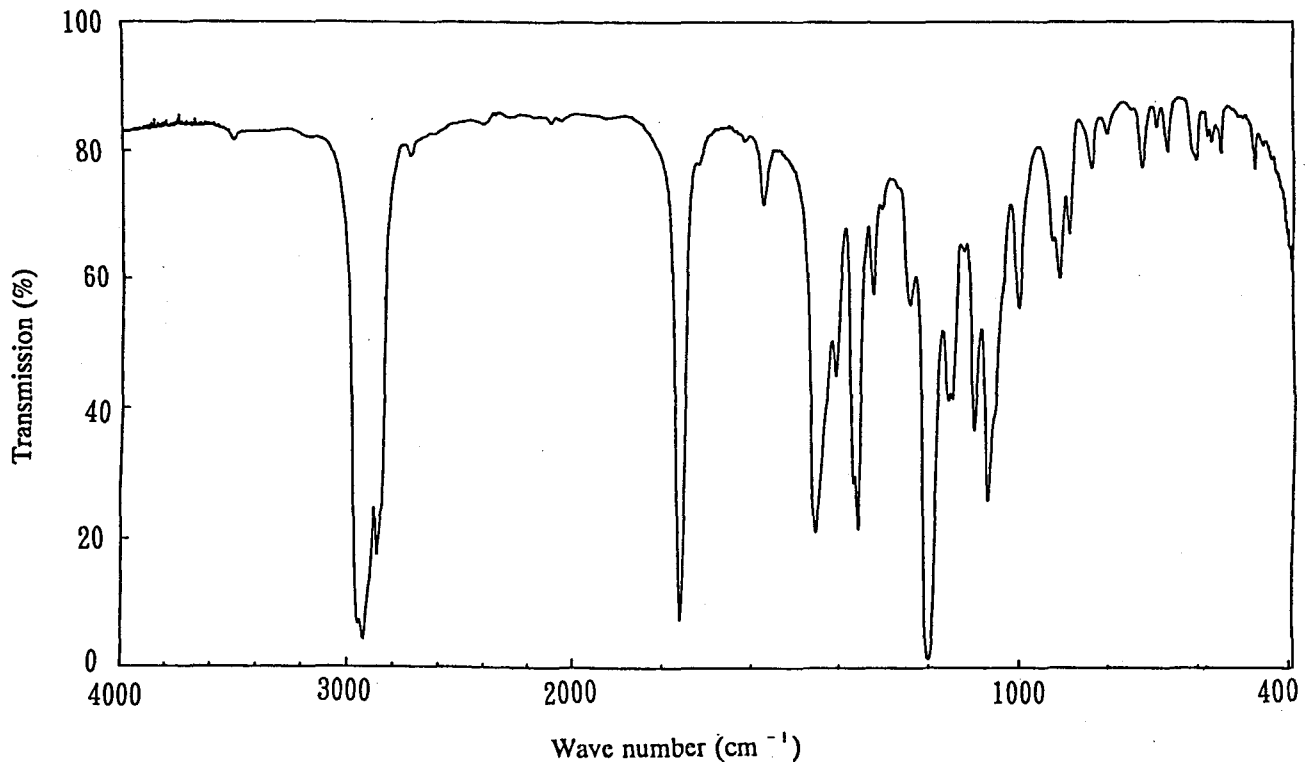


Fig. 2. Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

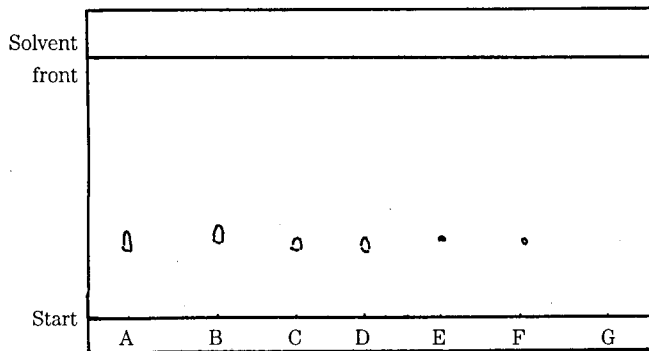


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

Solvent: toluene

Spot: A is 50 μg of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941).

B to G are 50, 25, 15, 1, 0.5 and 0.25 μg of the raw material, respectively.

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品の赤外吸収スペクトルを液膜法(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、同一波数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：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。試料溶液及び標準溶液とも、スポット量50 μg まで異種スポットは認められなかった。また、本法による酢酸トコフェロールの検出限界は0.5 μg であった。

(b) HPLC法：標準品原料及び日局標準品の液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。両者とも主ピークの溶出前に複数個の不純物ピークが検出され、それらのピークの位置と形状から、標準品原料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、標準品原料で $0.7 \pm 0.05\%$ 、日局標準品で $0.9 \pm 0.02\%$ と推定された。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

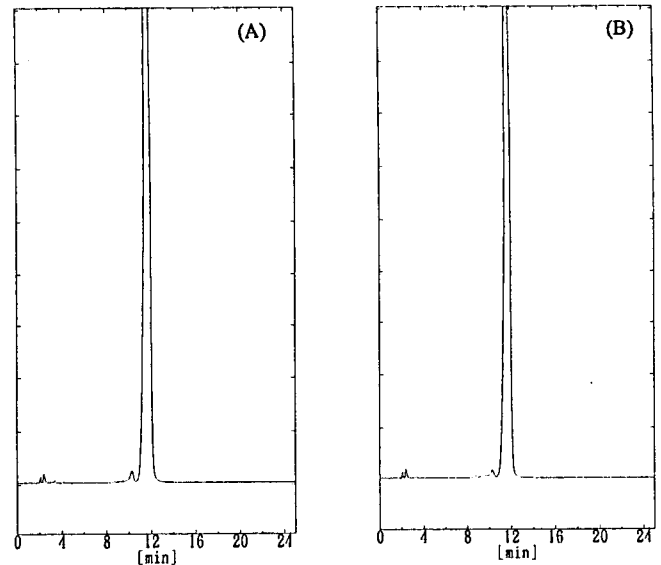


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

(A): Raw material

(B): Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941)

力な評価手段であることが明らかとなった。

5) 定量

標準品原料の液体クロマトグラフ法による定量試験を日局標準品を対照にして行った結果、 $100.2 \pm 0.86\%$ ($n=5$)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、日局「酢酸トコフェロール」の定量法を準用した。

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 971 として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) 北島 文・前川京子・吉井公彦・小松裕明・谷本 剛・岡田敏史：衛生試報，**114**，119 (1996)
- 2) 勝井五一郎，大前雅彦，江沢敏一，江沢 総：医薬品研究，**16**，506 (1985)