

## 国立医薬品食品衛生研究所プレドニゾロン標準品 (Control 971)

北島 文・岩田美保・前川京子・斎藤博幸

谷本 剛・岡田敏史<sup>#</sup>

## Prednisolone Reference Standard (Control 971) of National Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito,

Tsuyoshi Tanimoto and Satoshi Okada<sup>#</sup>

The raw material of prednisolone was examined for the preparation of the "Prednisolone Reference Standard (Control 971)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 238.4 °C (decomposition); infrared spectrum, the same as that of the Prednisolone Reference Standard (Control 911); UV spectrum,  $\lambda_{\max} = 243$  nm; specific absorbance,  $E_{1\text{cm}}^{1\%} (243 \text{ nm}) = 414.8$ ; loss on drying, 0.06 %; thin-layer chromatography, one impurity was detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), 4 to 5 impurities were detected and the total amount was estimated to be about 0.51 %; assay by HPLC, 100.6 %.

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

**Keywords:** prednisolone, quality evaluation, authorization, NIHS Reference Standard

第十三改正日本薬局方「プレドニゾロン」の確認試験及び定量法、「プレドニゾロン錠」の確認試験、溶出試験、含量均一性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「プレドニゾロン標準品 (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

標準品原料は三共株式会社より入手した。同社による試験成績は次のとおりである。

赤外吸収スペクトル：日局標準品と一致。

融点：236.3°C。

旋光度：+97.4°。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：日局標準品と一致。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：不純物量 0.02%。

比吸光度  $E_{1\text{cm}}^{1\%} (243 \text{ nm})$  : 415.9。

定量 (HPLC 法) : 100.3%。

## 2. 参照物質及び試薬

第十三改正日本薬局方プレドニゾロン標準品 (Control 911 ; 日局標準品と略称)<sup>1)</sup>を対照物質とした。TLC による純度試験には国立医薬品食品衛生研究所ヒドロコルチゾン

標準品及び酢酸プレドニゾロン標準品を用いた。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。

融点測定器：宮本理研，PA-20S 型。

旋光計：日本分光，DIP-370 型。

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「プレドニゾロン」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薄層板シリカゲル 60F<sub>254</sub> (厚さ，0.25 mm)。

展開溶媒：ジオキサン/シクロヘキサン混液 (4:3)。

試料溶液及び標準溶液の調製：標準品原料0.020 g をとり、メタノール/クロロホルム混液 (1:1) 2.0 ml を加えて溶かし、試料溶液とする。別にヒドロコルチゾン標準品 0.020 g 及び酢酸プレドニゾロン標準品 0.010 g をとり、それぞれをメタノール/クロロホルム混液 (1:1) に溶かし、

<sup>#</sup> 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

正確に100 ml とし、標準溶液(1)及び標準溶液(2)とする。

操作法及び検出法：試料溶液及び標準溶液(1)及び(2)のそれぞれ5  $\mu$ l を薄層板にスポットし、約15 cm 展開した後、風乾する。これに紫外線(254 nm)を照射し、不純物スポットの有無を確認する。また、アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液を噴霧し、不純物スポットの有無を確認する。

#### 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0.01 g ずつを正確に量り、それぞれをクロロホルム/メタノール混液(4:1)10 ml に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液5  $\mu$ l 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。

操作条件

検出器：紫外吸光度計(測定波長：254 nm)

カラム：NUCLEOSIL 7-OH(4.6 mm  $\phi$  × 250 mm)

移動相：クロロホルム/メタノール混液(49:1)

流量：0.9 ml/min

カラム温度：30℃

検出感度：標準溶液1 ml を正確に量り、クロロホルム/メタノール混液(4:1)を加えて正確に100 ml とした液5  $\mu$ l から得たプレドニゾロン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、クロロホルム/メタノール混液(4:1)を加えて正確に2,000 ml とした液5  $\mu$ l から得たプレドニゾロン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、プレドニゾロンの保持時間の3倍の範囲。

#### 5. 試験結果

##### 1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

##### 2) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料のメタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長243 nm 付近に吸収の極大が観察され(Fig. 1)、極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (243 nm) は414.80であった。

##### 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

日局「プレドニゾロン」の旋光度の項の測定条件を準用して試験したとき、その比旋光度  $[\alpha]_D^{20}$  は+98.4°であった。

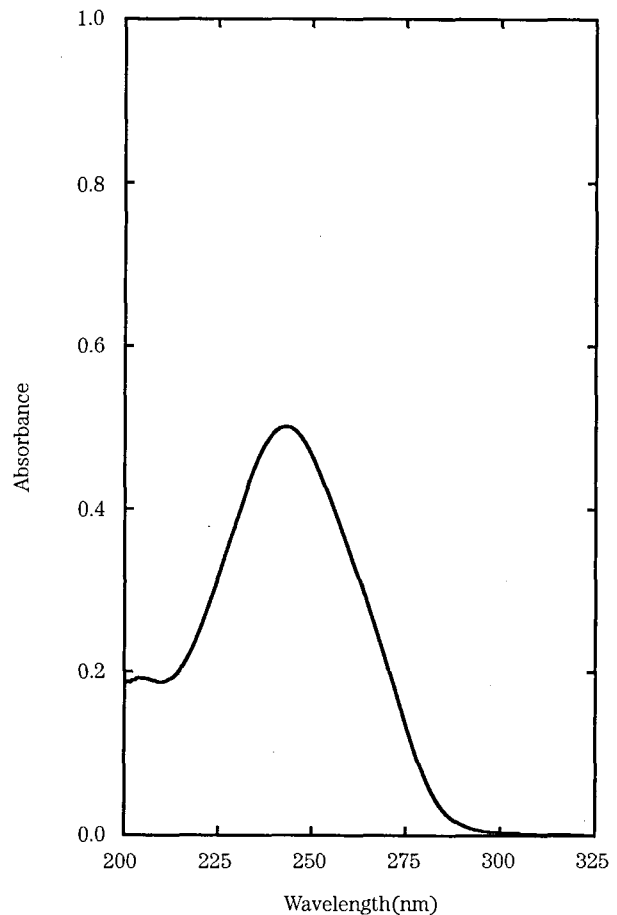


Fig. 1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Reference Standard

##### 5) 融点

標準品原料の融点は238.4℃(分解)であった。

##### 6) 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、UV 照射で1個の不純物スポットが検出されたが、このスポットはRf 値より、ヒドロコルチゾンと推定された。しかし、その量は標準溶液(1)のスポットより濃くなかった。

(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。標準品原料及び日局標準品とも、微量の不純物ピークが観察された。面積百分率で0.05%以上の不純物ピークの総量は、標準品原料で0.51 ± 0.38% (n = 4)、日局標準品で0.34 ± 0.13% (n = 4) と推定された。また、その不純物中のヒドロコルチゾン量は、標準品原料で0.03%、日局標準品で0.05%であった。

##### 7) 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、100.6 ± 1.12% (n = 9) 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「プレドニゾロン」の定量法を準用した。

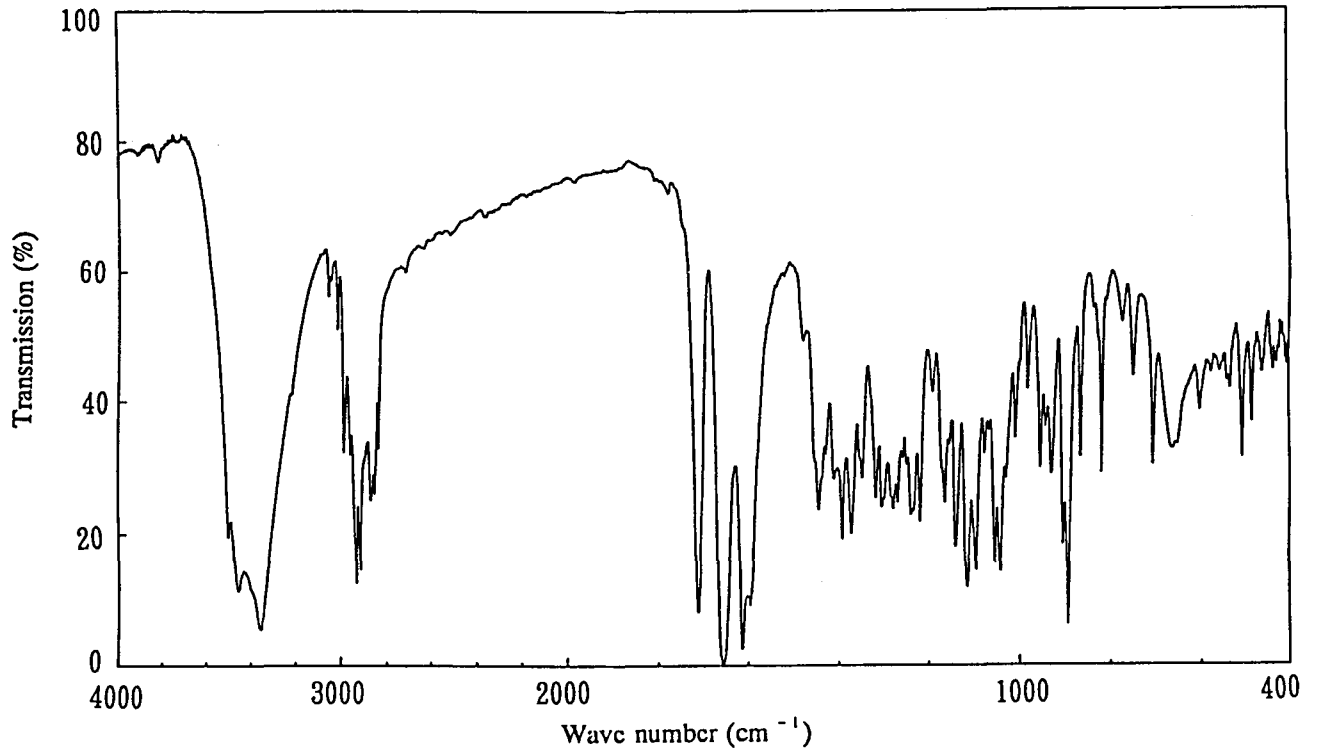


Fig. 2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Reference Standard

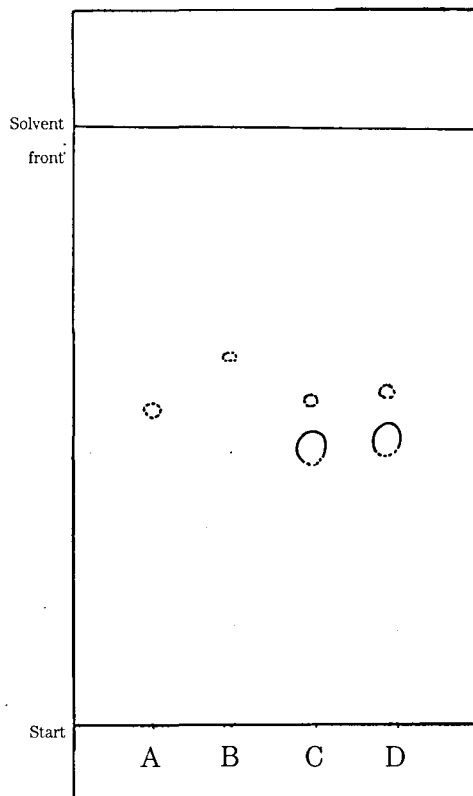


Fig. 3 Thin-layer chromatogram of the raw material for Prednisolone Reference Standard  
 Solvent:dioxane/cyclohexane(4:3)  
 Spot: A is 1  $\mu\text{g}$  of hydrocortisone  
 B is 0.5  $\mu\text{g}$  of predonizolone acetate  
 C is 50  $\mu\text{g}$  of the raw material  
 D is 50  $\mu\text{g}$  of Predonizolone Reference Standard

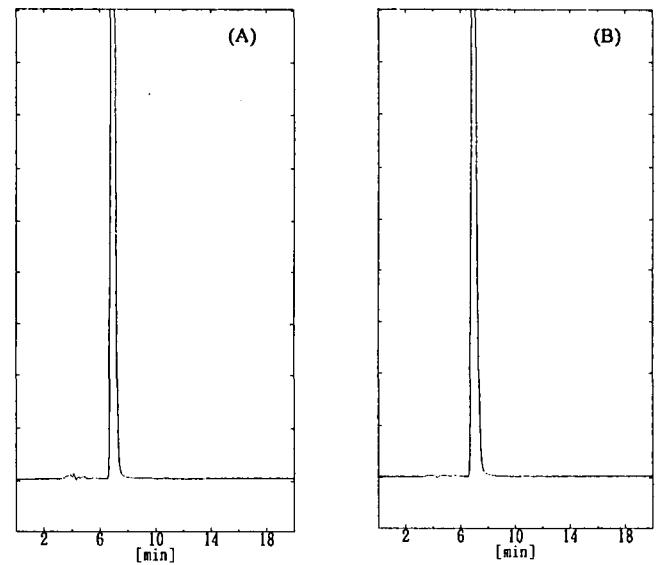


Fig. 4 High-performance liquid chromatograms of the raw material for Prednisolone Reference Standard  
 (A): Raw material  
 (B): Predonizolone Reference Standard (Control 911)

## 結 論

プレドニ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（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) 泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史  
：衛生試報，**110**，113（1992）