

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 001)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001)
of National Institute of Health SciencesMiho Iwata, Tatsuo Koide, 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 001)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974); specific absorbance, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284nm)=43.7; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50 μg of the loaded raw material; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.6 %; assay by HPLC, 101.7 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 001).

Keywords: tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, JP 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 001)」(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 づつ小分け充填し、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 0.6 %, 比吸光度: $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) 43.5, 定量 (HPLC 法): 100.0 %。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 974; 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 型カラムオーブン, 東ソー製の AS-8010 及び資生堂製データ処理装置。

4. 試験方法

特に記すもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び「酢酸トコフェロール」の試験法を準用した。

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 ~ 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 $^{\circ}\text{C}$ で 15 分間加熱し、直ちに白色光下で観察する。

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 0.040 g ずつを正確に量り、それぞれを無水エタノール 5.0 ml に溶かし、試料溶液及び

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-6941-1533; Fax: 06-6942-0716; E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

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。

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 mmL）

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 $^{\circ}\text{C}$

検出感度：試料注入量の 1 % に相当する量を注入し、得られたピークの高さが記録紙のフルスケールの約 1/10 の高さになるように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 0.05 % に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が検出されるように感度を調整する。

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、278.4 及び 284.6 nm 付近に吸収の極大を認めた。また、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) は 43.7 であった。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

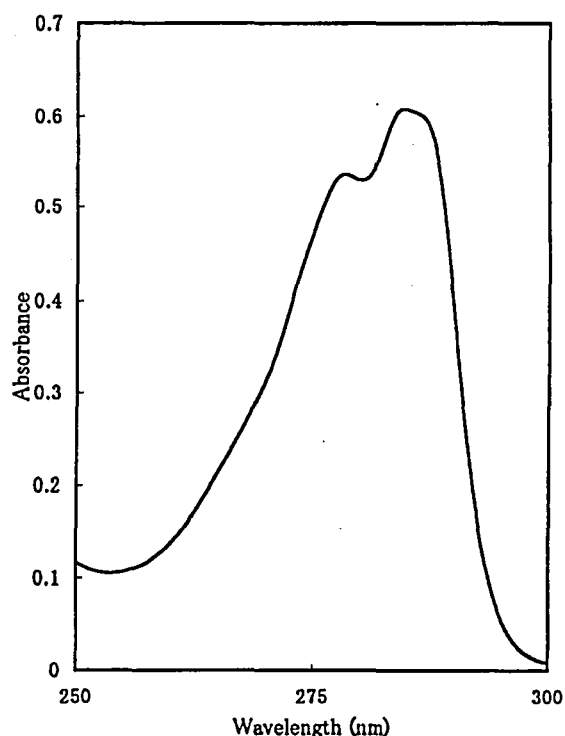


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

3) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の液膜法（NaCl 板）による赤外吸収スペクトルを Fig.2 に示す。標準品原料の赤外吸収スペクトルを日局標準品のそれと比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収が認められた。

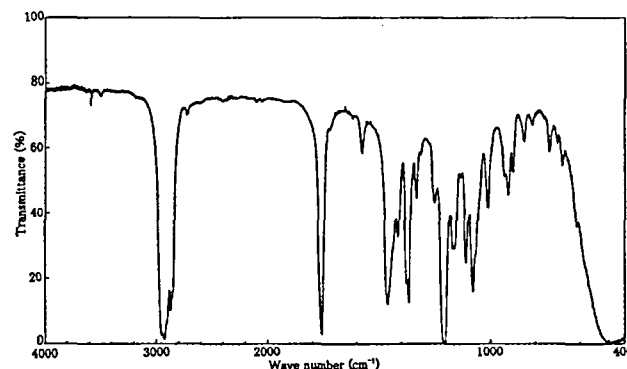


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

4) TLC法による純度試験

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 0.45 μg であった。

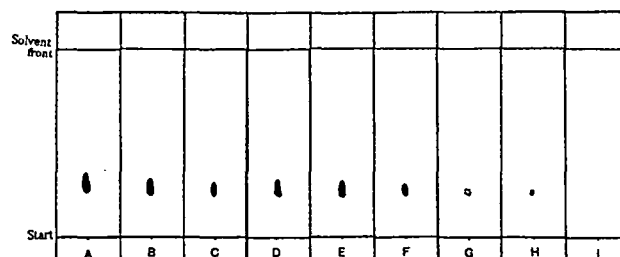


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974)

Solvent system : toluene

Spot : A to C are 50, 25 and 15 μg Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974)

D to I are 50, 25, 15, 0.60, 0.45 and 0.30 μg of the raw material, respectively

5) HPLC法による純度試験

標準品原料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 に示した。面積百分率での不純物ピークの総量は標準品原料で $0.6 \pm 0.002\%$ ($n=3$)、日局標準品で 0.8 % 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

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 法がより有効な評価手段であることが明らかとなった。

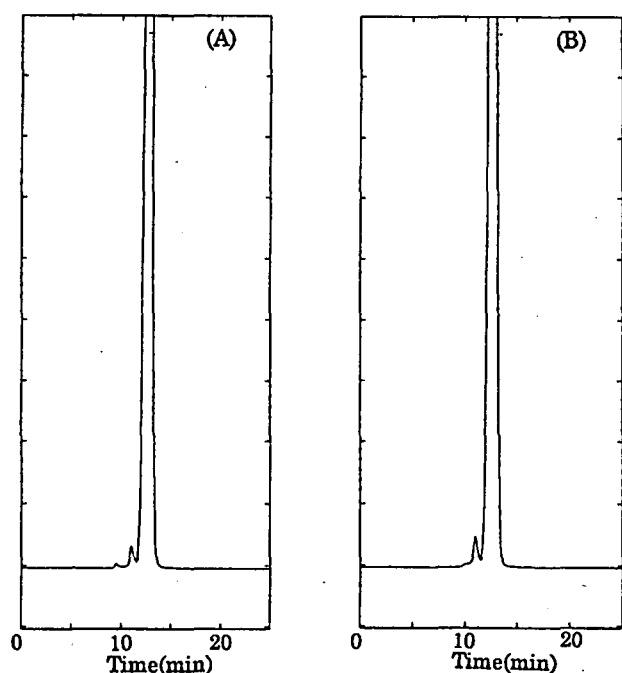


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 974) (B)

6) 定量

日局標準品を対象に液体クロマトグラフ法による定量試験を行った結果， $101.7 \pm 1.3 \%$ ($n=4$) 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，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，日局標準品を対象にその品質を検討した結果，両者の間には物質特性及び純度に差のないことを確認した。この結果から，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ものと認定し，Control 001として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Kitajima, A., Iwata, M., Maekawa, K., Saito, H., Tanimoto, T. and Okada, S.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **116**, 177 (1998)