

国立医薬品食品衛生研究所トコフェロール標準品 (Control 991)

岩田美保・小出達夫・前川京子・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史Tocopherol 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 was tested for the preparation of "Tocopherol Reference Standard (Control 991)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as the Tocopherol Reference Standard (Control 941); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm)=72.9; thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50.0 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), trace amounts of five impurities were detected and the total amount was estimated to be less than 1.4 %; assay by HPLC, 99.9 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 991).

Keywords: tocopherol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「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標準品「トコフェロール標準品 (Control 991)」(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購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、窒素気流下で褐色アンプル中に約0.15 g量が小分け充填されたものである。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1.4 %, 吸光度: $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm) 73.8, 定量: 100.0 %。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方トコフェロール標準品 (Control 941 ; 日局標準品と略称)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

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, 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「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法 (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60 (厚さ, 0.25 mm),

展開溶媒: トルエン

試料溶液及び標準溶液: 標準原料及び日局標準品 0.010 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。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液の 3~10 μl をシリカゲル薄層板にスポットし、約 15 cm 展開した後、風乾する。薄層板に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¹⁾。

2) 液体クロマトグラフ法 (HPLC法) による純度試験

標準品原料及び日局標準品約 0.02 g ずつを量り、それぞれを無水エタノール 3.5 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、次の条件で分析を行

[#] 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

った。

操作条件

検出法：紫外吸光度計 (波長：292 nm)
 カラム：ULTRON N-C18L (4.6 φ × 150 mm)
 移動相：メタノール/水混液 (9:1)
 流量：0.8 ml/min
 カラム温度：40 °C
 検出感度：試料注入液の 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²⁾。
 面積測定範囲：溶媒ピークの後、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

黄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、波長 292 nm に吸収の極大が認められた。また、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (292 nm) は 72.9 (0.01 g, 無水エタノール, 200 ml)。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

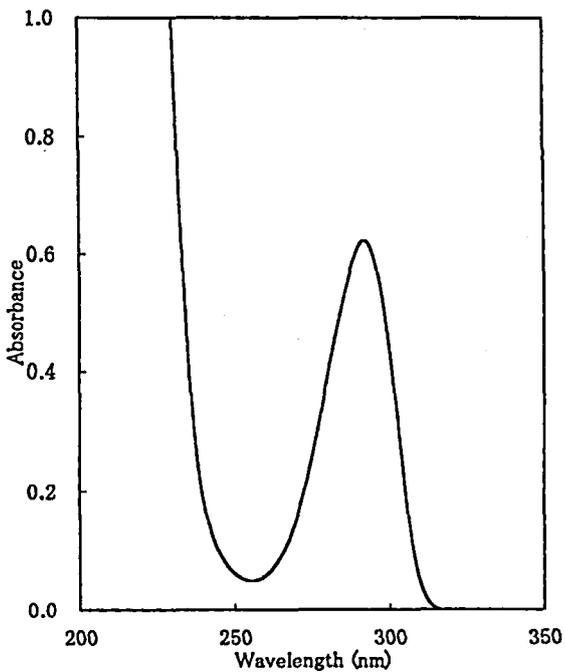


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Reference Standard

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。

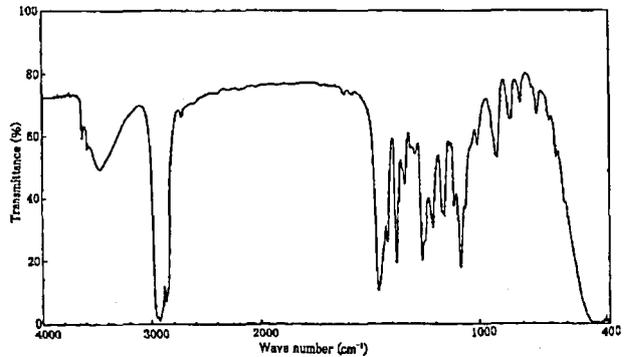


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Reference Standard

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、本法によるトコフェロールの検出限界は 0.2 µg であった。

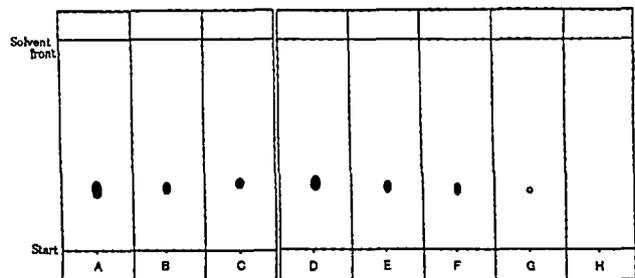


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material and Tocopherol Reference Standard (Control 941)

Solvent system : toluene

Spot : A to C are 50, 25 and 15 µg Tocopherol Reference Standard (Control 941)

D to H are 50, 25, 15, 0.20 and 0.15 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。標準品原料及び日局標準品とも、主ピークの前後に 3~5 個の不純物ピークが検出された。面積百分率での不純物ピークの総量は標準品原料で 1.3 ± 0.02 % (n=5)、日局標準品で

1.9 ± 0.04 % (n=3) と推定された。

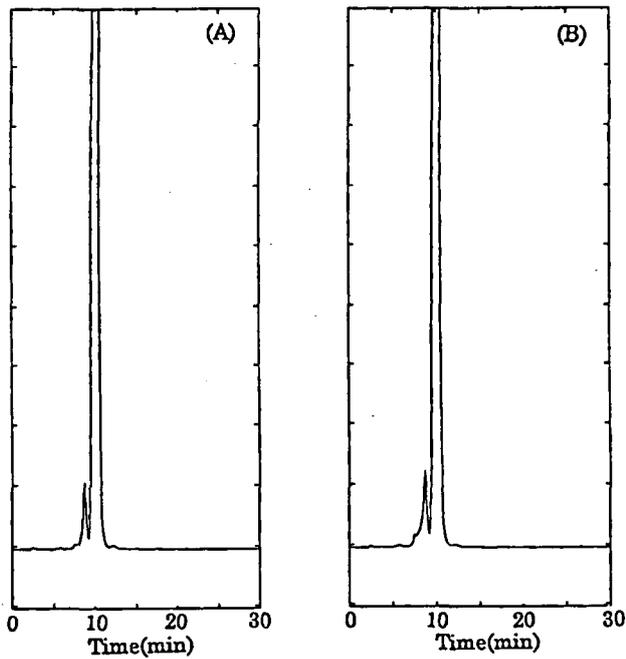


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 941) (B)

6) 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、99.9 ± 0.9 % (n=4) の値が得られた。

結 論

トコフェロール標準品原料につき、日局標準品 (Control 941) を対照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 991として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Katsui, G., Ohmae, M., Ezawa, T. and Ezawa, H.: *IYAKUHIN KENKYU*, **17**, 506-514 (1985)
- 2) Kimura, T., Tsunakawa, N. and Nakamori, R.: *IYAKUHIN KENKYU*, **17**, 143-173 (1986)