

国立医薬品食品衛生研究所
リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (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

Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard
(Control 001) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Tatsuo Koide, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto[#], and Satoshi Okada

The raw material for prednisolone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were: pH, 7.9; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +98.0^\circ$; UV spectrum, λ max of 248 nm and specific absorbance in ethanol at 248 nm = 306.7; IR spectrum, same as that of the Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892); thin-layer chromatography, five impurities were detected at 200 μ g; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 3.7%; residual solvent, 0.0% (ethanol) and 0.0% (hexane); loss on drying, 2.7%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: prednisolone sodium phosphate, quality evaluation, authorization, reference standard

「リン酸プレドニゾロンナトリウム」とその製剤の定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所標準品「リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 001)」を製造したので報告する。

1. 標準品原料

標準品原料は萬有製薬株式会社より購入した。同社による試験成績は次のとおりである。旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +99^\circ$ ，pH：8.2，遊離リン酸：0.2%，乾燥減量：1.7%，液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：97.1%。

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品 (Control 892; PrSNaP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試験にあたり、下記の測定装置を用いた。

pHメーター：メトローム, 713 pH Meter

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

ガスクロマトグラフ装置：島津製作所製のGC-8A型及びCR-4A型データ処理装置

4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局一般試験法及び局外規(1997)「リン酸プレドニゾロンナトリウム」の規格及び試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約 0.010 gを精密に量り、水を加えて正確に 10 ml とする。この液 1 ml を正確に量り、水を加えて 50 ml とし、試料溶液とする。

2) 薄層クロマトグラフ法 (TLC法) による純度試験

[#] 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

薄層板：メルク社製プレコート薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm),

展開溶媒：*n*-ブタノール/水/氷酢酸混液 (10:2:1)

試料溶液及び標準溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品 0.010 g を量り, メタノール 1.0 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の 5~20 μ l 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。これを紫外線 (主波長 254 nm) 照射下で観察する。

3) 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PrSNaP標準品約 0.015 g ずつを量り, それぞれを移動相 10 ml に溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 5 μ l につき, 次の条件で分析を行った。

操作条件

検出法：紫外吸光光度計 (波長：254 nm)

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 ϕ x250 mm)

移動相：0.05 mol/l リン酸緩衝液 (pH 2.6) ・メタノール混液 (1 : 1)

流量：1.2 ml/min

カラム温度：35 $^{\circ}$ 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。

面積測定範囲：溶媒ピークの後, リン酸プレドニゾロンナトリウムの保持時間の2倍の範囲

4) 遊離プレドニゾロン

標準品原料 0.025 g を量り, 移動相に溶かして正確に 20 ml とし, 試料溶液とする。別にプレドニゾロン標準品 0.025 g を量り, 移動相に溶かし, 正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量り, 移動相を加えて正確に 200 ml とし, 標準溶液とする。これらの液 20 μ l につき, 次の条件で分析を行い, それぞれの液のプレドニゾロンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定するとき, A_T は A_S より大きくない。

操作条件

検出感度：標準溶液 20 μ l から得たプレドニゾロンのピークの高さがフルスケールの約 10 % になるように調整する。

その他の条件は, 純度試験の操作条件を準用する。

5) ガスクロマトグラフ法 (GC法) による残留溶媒試験

i) エタノール

試料溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品約 0.075 g ずつを量り, それぞれ内部標準液 0.25 ml を正確に加えて溶か

し, 更に水を加えて 5 ml とする。

内部標準溶液：メチルエチルケトン 0.5 ml を取り, 水を加えて 100 ml とする。

エタノール標準原液：エタノール (99.5 %, 比重=0.790) 0.5 ml を量り取り, 水を加えて正確に 20 ml とする。

操作条件

検出法：水素炎イオン化検出器

カラム：内径 3.2 mm, 長さ 2 m のガラス管にPORA-PAK TypeQ (mesh 80-100) (Waters社製) を充填したカラム

キャリアーガス：窒素

流量：内部標準物質の保持時間が約 8 分になるような一定流量

カラム温度：180 $^{\circ}$ C

ii) ヘキサン

試料溶液：標準品原料及びPrSNaP標準品約 0.1 g ずつを量り, それぞれ内部標準液 0.15 ml を正確に加えて溶かし, 更に水を加えて 5 ml とする。

内部標準溶液：メチルエチルケトン 0.2 ml を取り, 水を加えて 100 ml とする。

ヘキサン標準原液：ヘキサン (99.5 %, 比重=0.790) 0.1 ml を量り取り, メタノールを加えて正確に 20 ml とする。

5. 試験結果

1) 性状

白色の粉末で, においはない。

2) pH : 7.9

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ は $+98.0 \pm 0.5^{\circ}$ ($n=3$) (乾燥後, 0.1 g, pH7.0 のリン酸緩衝液, 20 ml, 100 mm) であった。

4) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき, 波長 248 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 $E_{1\%}^{1cm}$ (248 nm) は 306.7 であった。紫外吸収スペクトルを Fig.1 に示す。

5) 赤外吸収スペクトル

標準品原料の臭化カリウム錠剤法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PrSNaP標準品のそれと比較するとき, 同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた。

6) 遊離リン酸 : 0.3 \pm 0.002 % ($n=3$)

7) 遊離プレドニゾロン

HPLC法による測定を行った結果, プレドニゾロン標準溶液より試料溶液のピーク面積は大きくなかった。

8) TLC法による純度試験

標準品原料及びPrSNaP標準品の薄層クロマトグラムを Fig.3 に示した。スポット量 200 μ g で標準品原料及び

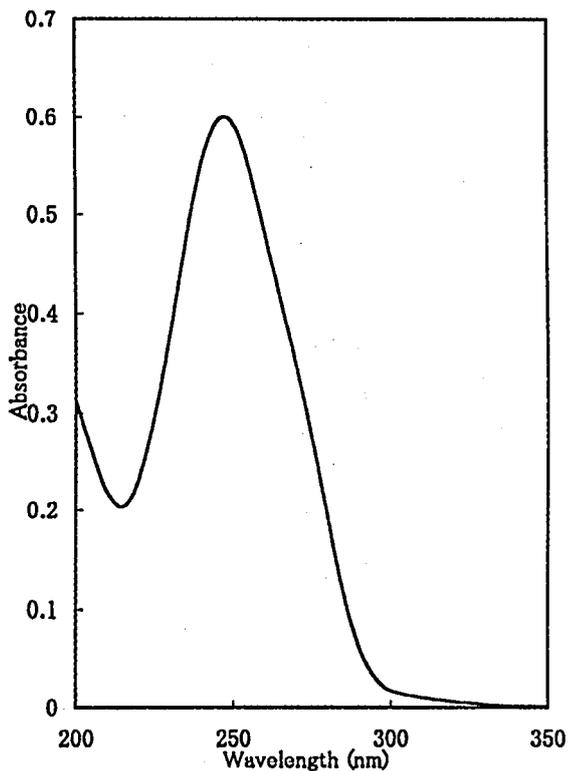


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard

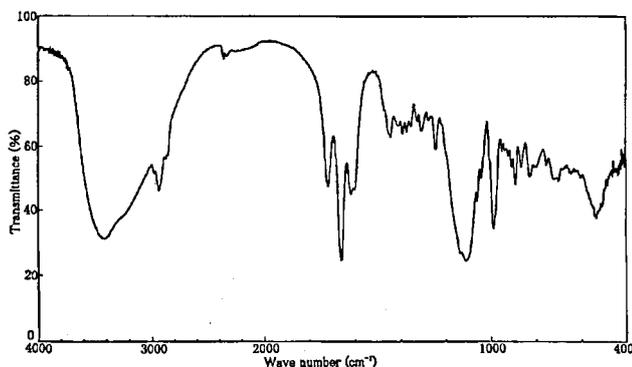


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard

PrSNaP 標準品中に微量不純物 5 個を検出した。また、本法によるリン酸プレドニゾンナトリウムの検出限界は 0.1 μg であった。

9) HPLC 法による純度試験

標準品原料及び PrSNaP 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、数種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 3.7 ± 0.02 % (n=3), PrSNaP 標準品で 5.0 % (n=2) と推定された。

10) 水分

電量滴定法により本標準品原料の水分含量を求めた結果、3.7 ± 0.1 % (n=4) であった。

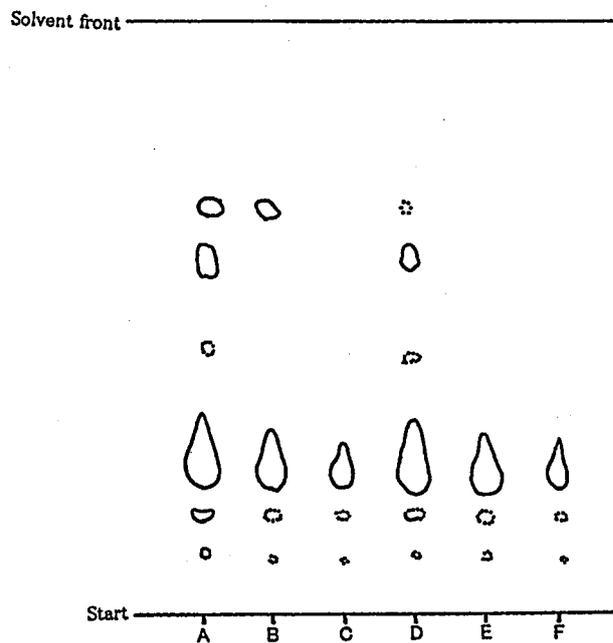


Fig.3 Thin-layer chromatogram of the raw material and Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892)
Solvent system : n-butanol/water/acetic acid (10:2:1)
Spot: A to C are 200, 100 and 50 μg Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892)
D to F are 200, 100 and 50 μg of the raw material, respectively

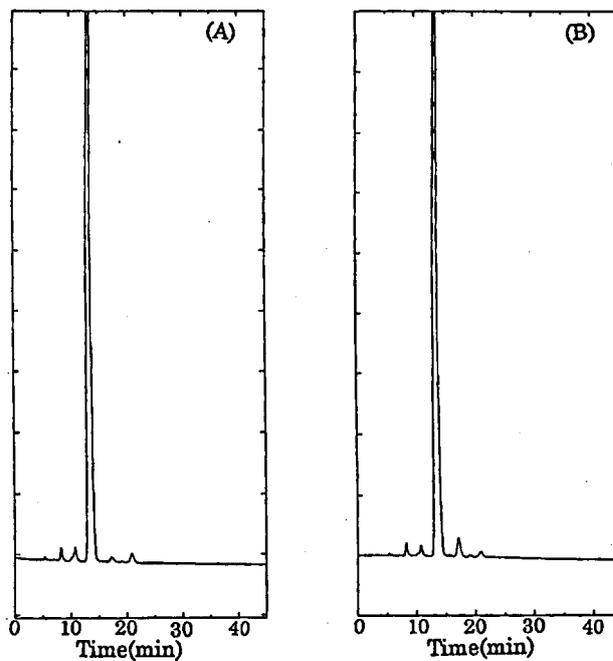


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Prednisolone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 892) (B)

11) 残留溶媒

本標準品減量中にはエタノール及びヘキサンの残留は認められなかった。

12) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は 2.7 % (n=2) (0.2 g, 105 °C, 減圧, 5 時間) であった。

結 論

リン酸プレドニゾロンナトリウム標準品原料につき、

PrSNaP 標準品 (Control 892) 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) Okada, S., Hiroshige, R., Tanaka, S., Murai, M. and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 153 (1990)