

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ヒドロコルチゾ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

Hydrocortisone 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 of hydrocortisone sodium phosphate was examined for the preparation of the "Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 001)". The analytical data obtained were: pH, 8.3; optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +126.2^\circ$; UV spectrum, λ max of 248 nm and specific absorbance in water at 248 nm = 338.6; IR spectrum, same as that of the Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 891); free phosphoric acid, 0.2%; free hydrocortisone, 0.01%; thin-layer chromatography, no impurity was detected until 200 μ g; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.2%; residual solvent, 0.0% (acetone) and 0.02% (ethanol); loss on drying, 1.5%.

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

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

「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」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「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品(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

標準品原料は萬有製薬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。旋光度: $[\alpha]_D^{20} = +128^\circ$, pH: 8.7, 遊離リン酸: 0.1%, 乾燥減量: 2.9%, 定量: 99.4%

2. 参照物質及び試薬

国立医薬品食品衛生研究所リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品(Control 891; 日局標準品)¹⁾及びヒドロコルチゾン標準品(Control 904)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、下記の装置を用いた。

pHメーター: メトローム, 713pH 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-317型

液体クロマトグラフ装置: 島津製作所のLC-6A型ポンプ, SPD-10A型検出器, CT0-6A型カラムオープン, 東ソー製のAS-8010型オートサンプラー及び資生堂製S-mc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C-R6A型データ処理装置

4. 試験方法

特に記するもののほかは、第十三改正日本薬局方の一般試験法及び医薬品各条「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」の試験法を準用した。

1) 紫外吸収スペクトル

標準品原料約0.01gを精密に量り、水を加えて正確に10mlとする。この液1mlを正確に量り、水を加えて50ml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

標準品原料及びヒドロコルチゾン標準品約0.01gをメタノール2mlに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。次の条件でTLC法により試験を行う。

薄層板: 蛍光剤入りプレコート薄層板シリカゲル60F₂₅₄(20×20cm, 層厚0.25mm, メルク社)

展開溶媒: n-ブタノール/水/氷酢酸混液(10:2:1)

操作法及び検出法: 試料溶液及びその希釈液1~40 μ l(リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム0.04~200 μ g相当量),

[#] 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 1 μl(ヒドロコルチゾン 5μg相当量)を薄層板にスポットし、約15cm展開した後、薄層板を取り出し風乾する。これを紫外線(主波長 254nm)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

標準品原料及び日局標準品約0.015gずつを量り、それぞれを移動相 10ml 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う。

操作条件

検出法: 紫外吸光度計(波長: 254nm)

カラム: Lichrosorb Rp-18-5 (4.0mm φ × 250mm)

移動相: 0.05mol/l リン酸二水素ナトリウム試液(pH2.6) / メタノール混液(1:1)

流量: 0.7ml / min

カラム温度: 35°C

カラムの選定: 日局 13「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」の定量法におけるカラムの選定を準用する。

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紙の感度を調整する。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、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの保持時間の2倍の範囲

4) ガスクロマトグラフ法(GC法)による残留溶媒試験

標準品原料約0.1gを精密に量り、内標準液0.125mlを正確に加えて溶かし、更に水を加えて正確に5mlとする。この液 5 μl につき、下記の操作条件で分析を行う。

内標準液: メチルエチルケトン0.1mlを量り取り、水を加えて100mlとする。

i) アセトン

アセトン標準原液: アセトン(99.7%, 比重=0.7905)0.2mlを量り取り、水を加えて正確に50mlとする。

操作条件

検出器: 水素炎イオン化検出器

カラム: 内径3.2mm, 長さ2mのガラス管にPORAPAK TypeQ(mesh80-100, Waters社製)を充填する。

キャリアーガス: 窒素

カラム温度: 180°C

流量: 内標準物質の保持時間が約13分となるように調整する。

ii) エタノール

エタノール標準原液: エタノール(99.5%, 比重=0.790)0.1mlを量り取り、水を加えて正確に50mlとする。

操作条件

アセトンの操作条件を準用する。

5. 試験結果

1) 性状: 白色～淡黄色の粉末でにおいはない。

2) pH: 8.3 (0.05g, 水, 5ml)

3) 旋光度

標準品原料の比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は $+126.2 \pm 0.02^\circ$ (n=3) (乾燥物換算 0.2g, pH7.0のリン酸緩衝液, 20ml, 100mm)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248nm付近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 $E_{1\%}^{1cm}$ (248nm)は338.6であった。標準品原料の紫外吸収スペクトルをFig.1に示す。

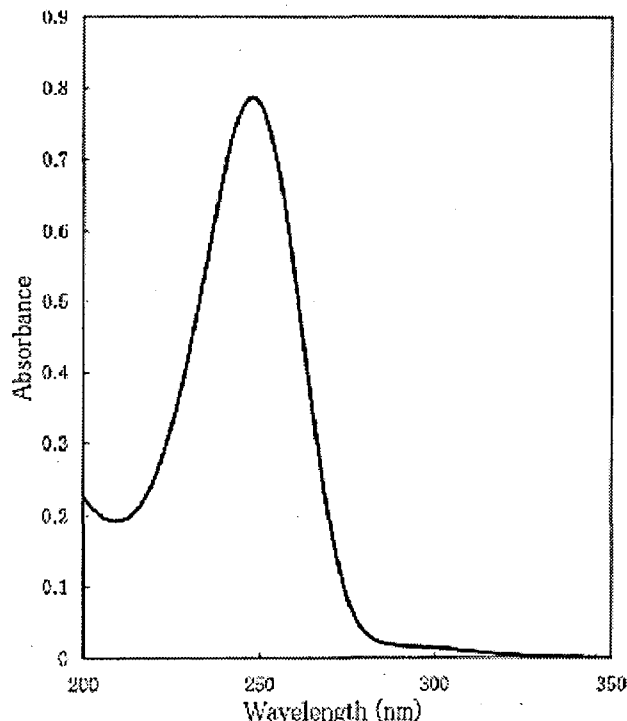


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard

5) 赤外吸収スペクトル

標準品原料及び日局標準品につき、赤外吸収スペクトル法のペースト法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、これらのスペクトルに差が認められた。

そこで、それぞれをメタノールに溶かした後、メタノールを蒸発し、残留物につき同様の試験を行った結果、同一波長のところに同様の強度の吸収を認めた。メタノール処理後の標準品原料のペースト法による赤外吸収スペクトルをFig.2に示す。

6) 遊離リン酸: $0.2 \pm 0.004\%$ (n=3)

7) 遊離ヒドロコルチゾン

HPLC法による測定を行った結果、標準品原料溶液はヒドロコルチゾン標準溶液よりヒドロコルチゾンのピーク面積は大きくなかった。なお、標準品原料のヒドロコルチゾン量

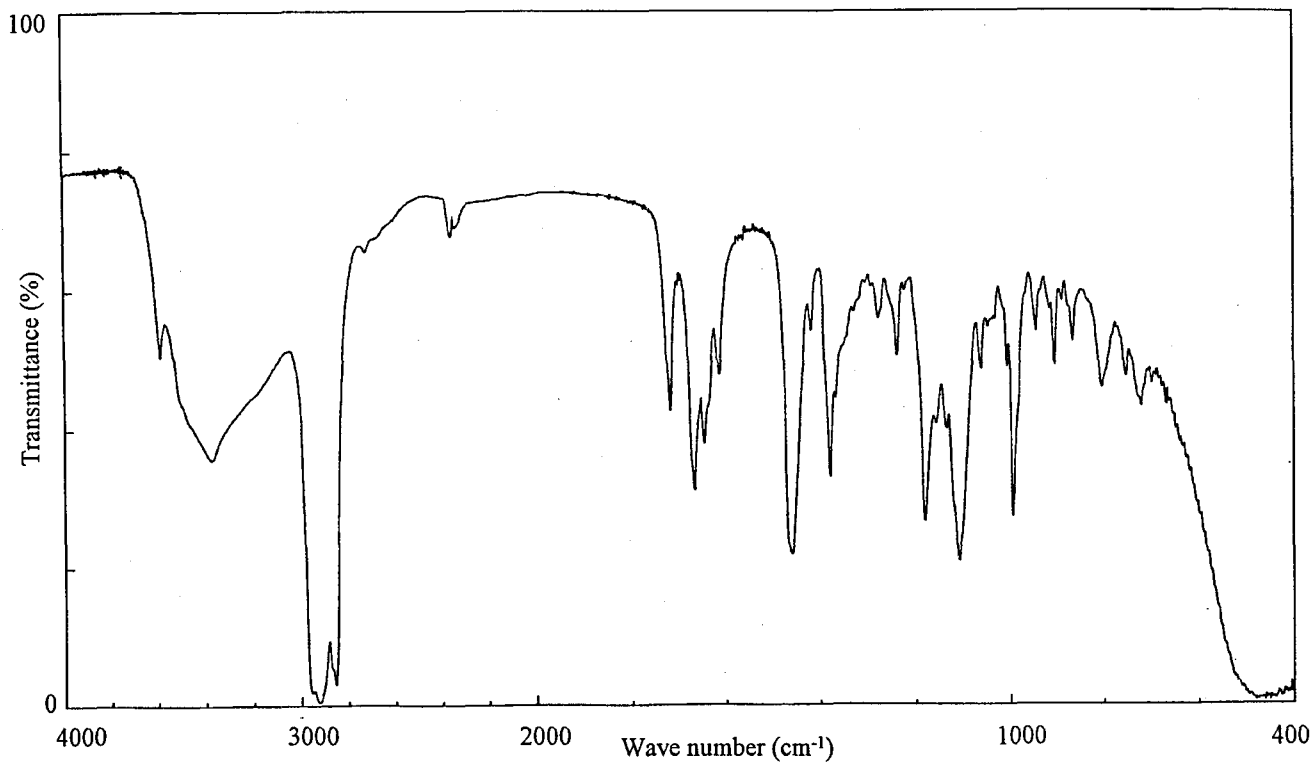


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard

は $0.01 \pm 0.002\%$ ($n=3$) であった。

8) TLC 法による純度試験

標準品原料の薄層クロマトグラフを Fig. 3 に示す。スポット量 $200 \mu\text{g}$ まで異種スポットは認められなかった。また、本法によるリン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの検出限界は $0.07 \mu\text{g}$ であった。

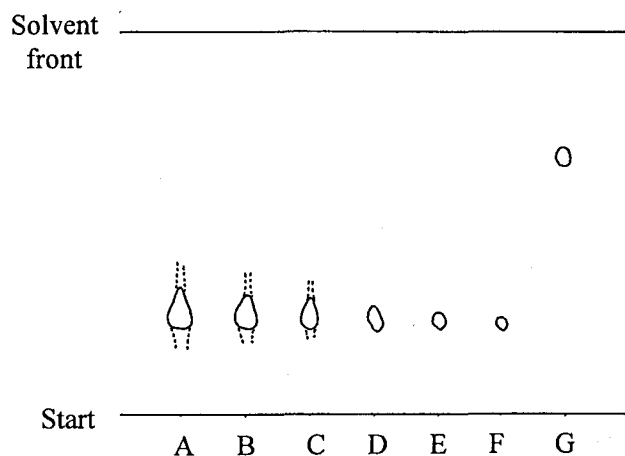


Fig.3 Thin-layer chromatograms of the raw material for Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard and Hydrocortisone Reference Standard (Control 904)

Solvent system: n-butanol/water/acetic acid (10 : 2 : 1)

Spot : A to F are 200, 100, 50, 20, 10 and $5 \mu\text{g}$ of the raw material, respectively.

G is $5 \mu\text{g}$ Hydrocortisone Reference Standard (Control 904).

9) 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クロマトグラムを Fig. 4 に示す。標準品原料及び日局標準品ともに微量の不純物ピークが確認された。面積百分率法での不純物の総和は標準品原料で $0.20 \pm 0.003\%$ ($n=3$)、日局標準品で 0.30% と推定された。

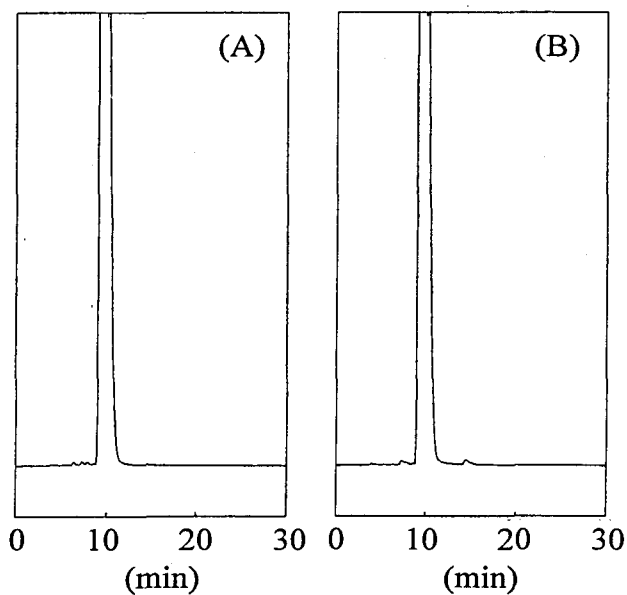


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Hydrocortisone Sodium Phosphate Reference Standard (Control 891) (B)

10) 残留溶媒

本標準品原料中に $0.02 \pm 0.0004\%$ ($n=3$) の残留エタノールを認めたと、アセトンの残留は認められなかった。

11) 乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は $1.5 \pm 0.06\%$ ($n=3$) (0.2g, 減圧, 80°C , 5時間) であった。

結 論

リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム標準品原料につき、日

局標準品 (Control 891) 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 001 として製造・配布を開始した。

文 献

- 1) Okada, S., Hiroshige, T., Murai, M., and Kimura, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **108**, 150 (1990)