

国立医薬品食品衛生研究所アルプロスタジル標準品 (Control 001)

前川京子・岩田美保・小出達夫・斎藤博幸
谷本 剛[#]・岡田敏史

Alprostadil Reference Standard (Control 001) of National
Institute of Health Sciences

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

The raw material of Alprostadil was examined for the preparation of "Alprostadil Reference Standard (Control 001)". Analytical data obtained were: IR spectrum, same as that of the Alprostadil Reference Standard (Control 923); thin-layer chromatography, no impurities were detected until 20 µg; high-performance liquid chromatography (HPLC), total amount of impurities estimated to be less than 0.2%. Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Alprostadil Reference Standard (Control 001).

Key words: Alprostadil, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

第十三改正日本薬局方「アルプロスタジル アルファデクス」の液体クロマトグラフ (HPLC) 法による定量法に用いられる国立医薬品食品衛生研究所「アルプロスタジル標準品 (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

本標準品原料は、小野薬品工業株式会社より供給された。本品の保存は、遮光気密容器中、冷所 (5°C以下) 保存とした。同社による主な試験成績は以下のとおりである: 純度試験 (TLC), 主スポット以外のスポットは認めない; 純度試験 (HPLC), 不純物ピークを認めない; 定量 (滴定法) 100.1%。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方アルプロスタジル標準品 (Control 923; 日局標準品と略称) ¹⁾ を対照に試験を行った。試薬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。

セミマイクロ上皿電子天秤: メトラー, AE-240 型。

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-10A 型検出器, CTO-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, 資生堂製データ処理装置 S-MC。

4. 試験方法

1) 赤外吸収スペクトル測定

標準品原料又は日局標準品の 2mg と赤外吸収スペクトル測定用臭化カリウム 120mg をめのう乳鉢中で混合磨砕した後、マイクロ錠剤成形器により試料及び日局標準品を含有する臭化カリウム錠剤を調製する。これらの試料及び対照標準品につき、日局一般試験法「赤外吸収スペクトル測定法」により、吸収スペクトルを測定する。

2) TLC 法による純度試験

薄層板: プレコーテッド薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25mm; メルク社製)

展開溶媒: 酢酸エチル・ヘキサン・氷酢酸混液 (10:2:1)

試料溶液及び標準溶液: 標準品原料及び日局標準品 2.0mg を正確に量り、酢酸エチル 1.0ml に正確に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。さらにこれらの液 0.1ml を正確に量り、酢酸エチルを加えて 10ml する。

操作法及び検出法: 試料溶液及び標準溶液の 10 µl (アルプロスタジル 20 µg 相当量) 及びその希釈液 1~10 µl (0.02~0.2 µg 相当量) をシリカゲル薄層板にスポットし、約 10cm 展開した後、風乾する。薄層板にリンモリブデン酸のエタノ

[#] To whom correspondence should be addressed:
Tsuyoshi Tanimoto; 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540-0006,
Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716;
E-mail: tanimoto@nihs.go.jp

ール溶液 (1→4) を噴霧し, 100°C, 5 分間加熱し, 直ちに肉眼で観察する。

3) HPLC 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品 4.0mg を正確に量り, エタノール 4ml 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: 205nm)

カラム: TSK-GEL ODS-80Ts (4.6mm φ x 150mm)

カラム温度: 25°C

移動相: 0.02mol/l リン酸二水素カリウム試液・アセトリル混液 (3:2)

流量: 1.0ml/min

カラムの選定: 日局標準品 3.0mg を正確に量り, エタノール 5ml に溶かし, 内標準溶液 5ml を正確に加え, 水を加えて 15ml とする。この液 10 μl につき, 上記の条件で操作するとき, アルプロスタジル, 内標準物質の順に溶出し, その分離度が 5 以上であることを確認する。

内標準溶液: パラオキシ安息香酸プロピルの希エタノール溶液 (1→15000)

検出感度: 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの高さがフルスケールの約 10% 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, この条件で試料注入量の 1/2000 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必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。²⁾

5. 試験結果

1) 赤外吸収スペクトル測定法による確認

Fig. 1 に標準品原料の赤外吸収スペクトルを示す。標準品原料および日局標準品の赤外吸収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。

2) 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. 2 に示す。標準品原料及び日局標準品とも 20 μg のスポット量まで不純物スポットは認められなかった。なお, 本法によるアルプロスタジルの検出限界は 0.04 μg であった。

3) HPLC 法による純度試験

標準品原料およ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の一例を Fig. 3 に示した。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検出された。面積百分率で求めた不純物ピークの総量は標準品原料で 0.124 ± 0.008% (n=3), 日局標準品で 0.167 ± 0.002% (n=2) と推定された。なお, 液体クロマトグラム上の 5.0 分付近のピークは移動相由来のゴーストピークであることを確認している。

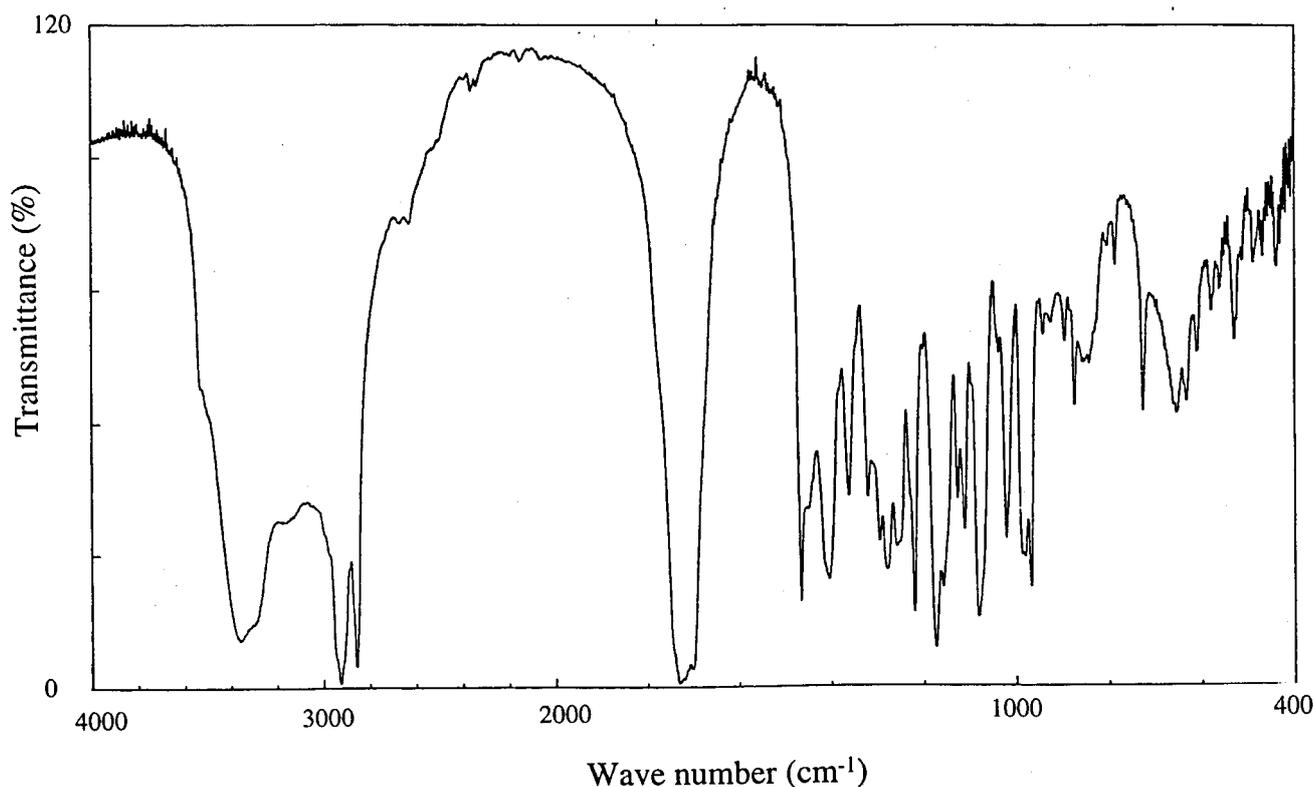


Fig.1 Infrared absorption spectrum of the raw material for Alprostadil Reference Standard

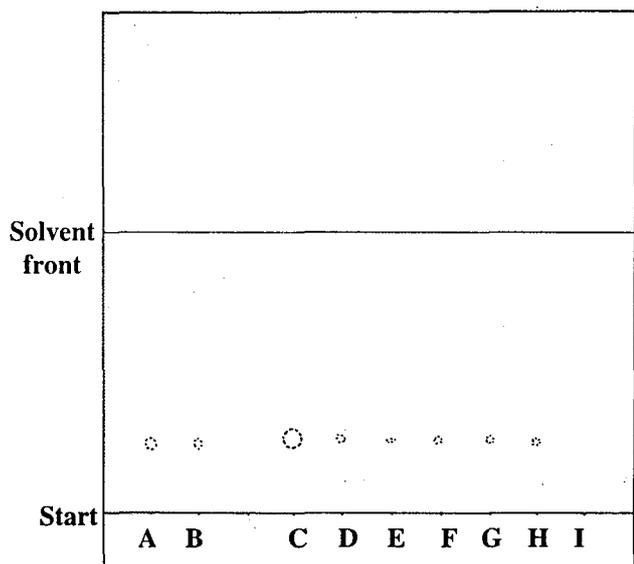


Fig.2 Thin-layer chromatogram of the raw material and Alprostadil Reference Standard (control 923)

Solvent system : ethyl acetate/hexane/acetic acid (10:2:1)

Spot: A and B are 20 μg , 0.2 μg Alprostadil Reference Standard (control 923)

C to I are 20 μg , 0.2 μg , 0.1 μg , 0.08 μg , 0.06 μg , 0.04 μg , 0.02 μg of the raw material, respectively.

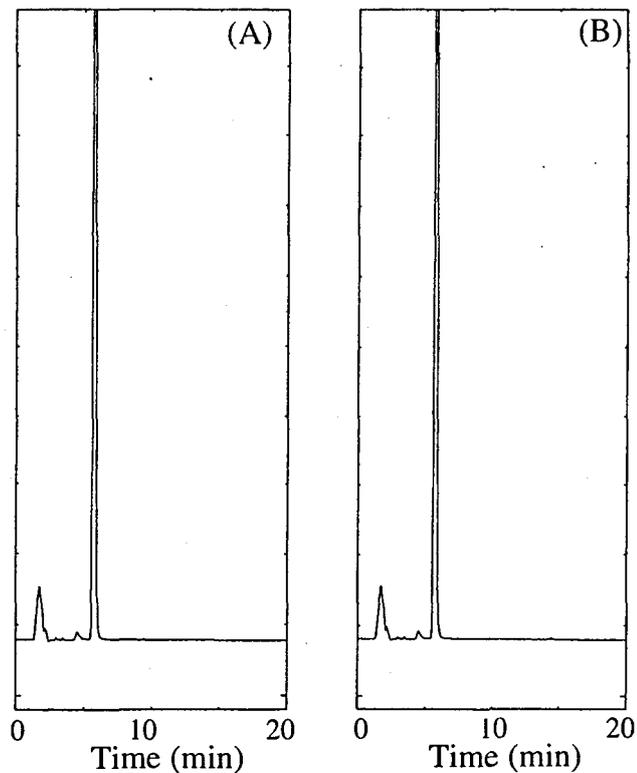


Fig. 3 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Alprostadil Reference Standard (control 923) (B)

結 論

標準品原料として入手したアルプロスタジルを日局標準品を対照に比較検討した結果、本標準品原料は、HPLC法による定量用標準物質として十分な品質を有することが明らかとなったので、国立医薬品食品衛生研究所アルプロスタジル標準品(Control 001)(日本薬局方標準品)として製造・配布することとした。

文 献

- 1) 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 衛生試報, **112**, 188 (1994)
- 2) 木村俊夫, 綱川延孝, 中川律夫: 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, **17**, 143 ~ 173 (1986)