Bull. Natl. Inst. Health Sci., **121**, 062-064 (2003) **Reference Standard Data**

国立医薬品食品衛生研究所エストロン標準品（Control 021）

村上美保・森田有紀子・小出達夫・斎藤博幸・谷本　剛#

Estrone Reference Standard (Control 021) of National Institute of Health Sciences

Miho Murakami, Yukiko Morita, Tatsuo Koide, Hiroyuki Saito and Tsuyoshi Tanimoto#

The raw material of estrone acetate was examined for the preparation of the “Estrone Reference Standard (Control 021)”, The analytical data obtained were: UV spectrum, λmax of 281 nm and specific absorbance in ethanol at 281nm = 76.1; Melting point, 261.6 ℃; IR spectrum, exhibited the specific absorptions at 3345, 2867, 1720, 1499 and 1055 cm-1; thin-layer chromatography, 2 impurities were detected at 100 and 200 μg; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.3 %.

Based on the above results, the raw material was authorized as Estrone Reference Standard (Control 021) of the National Institute of Health Sciences.

Key Words: estrone, quality evaluation, authorization, NIHS reference standard

エストロン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“エストロン標準品（Control 021）を製造したので報告する．

1．標準品原料

標準品原料は三菱東京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：$[\alpha]_D^{20}$ ＝＋164 °，融点：263 ℃，含量：99.5 %

2．試薬

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．

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

旋光度計：日本分光，

融点測定器：宮本理研，PA-30S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-10AV型検出器，CTO-6A型カラムオーブン，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

#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

4．試験方法

特に記すもののほかは，第十四改正日本薬局方の一般試験法を準用した．

1）紫外吸収スペクトル

標準品原料5.0 mgを正確に秤取り,無水エタノールを加えて正確に100 mlとする．

2）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テッド薄層板シリカゲル$60F_{254}$（厚さ，0.25mm）

展開溶媒：ベンゼン／酢酸エチル／アセトン混液（16：3：1）

試料溶液の調製：標準品原料約5 mgを取り，アセトン1.0 mlを正確に加えて溶かし，試料原液とする．試料原液0.1 mlを取りアセトンを加えて正確に10 mlとし，試料溶液とする．

操作法及び検出法：試料原液20～40 μl（エストロン100～200 μg相当量）及び試料溶液2～5 μl（エストロン0.1～0.25 μg相当量）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．希硫酸を均等に噴霧し，110℃で15分間加熱した後，紫外線（254 nm）下で観察する．

3）HPLC法による純度試験

標準品原料約0.010 gを正確に量り，メタノール20 mlに溶かし，試料原液とする．この液1 mlを取り，メタノールを加えて10 mlとし試料溶液とする．この液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．試料溶液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し，全ピークの面積に対する相対面積百分率を求め

る

操作条件

検出法：紫外吸光光度計（波長：284 nm）

カラム：TSK-gel ODS-80Ts（4.6 mmϕ×150 mm）

移動相：0.05 mol/l リン酸二水素カリウム溶液／アセトニトリル混液（1：1）

流　量：エストロンの保持時間が約10分となるように調整する．

カラム温度：30 ℃付近の一定温度

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装置の分析パラメーターを設定する．

面積測定範囲：溶媒ピークの後，エストロンの保持時間の2倍の範囲

5．試験結果

1）性状：白色の粉末で，においはない．

2）融点：261.6 ℃

3）旋光度

標準品原料の比旋光度$[\alpha]_D^{20}$は＋164.9±0.8 °(n＝3)（乾燥後，0.15 g，ジオキサン，15 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281 nm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$E_{1cm}^{1\%}$(281 nm）は76.1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．

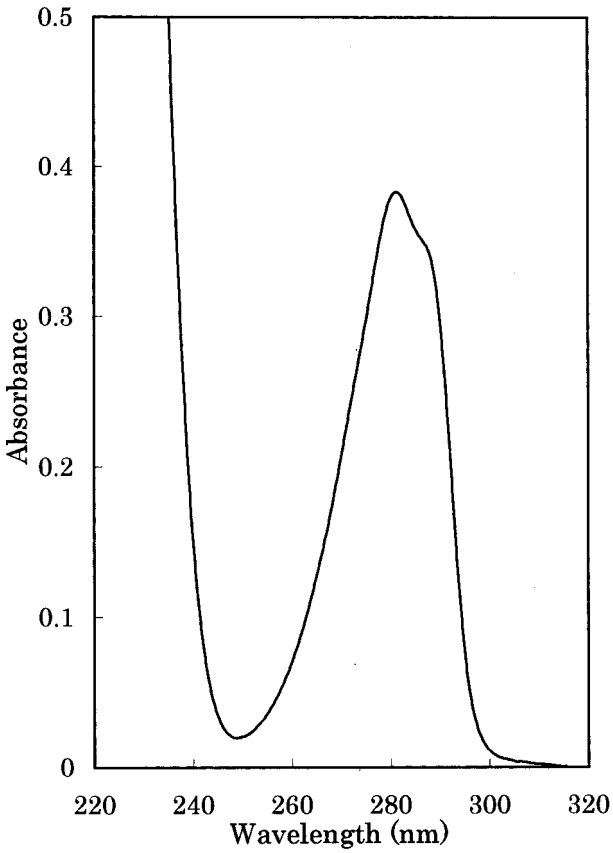

Fig.1　Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Estrone Reference Standard

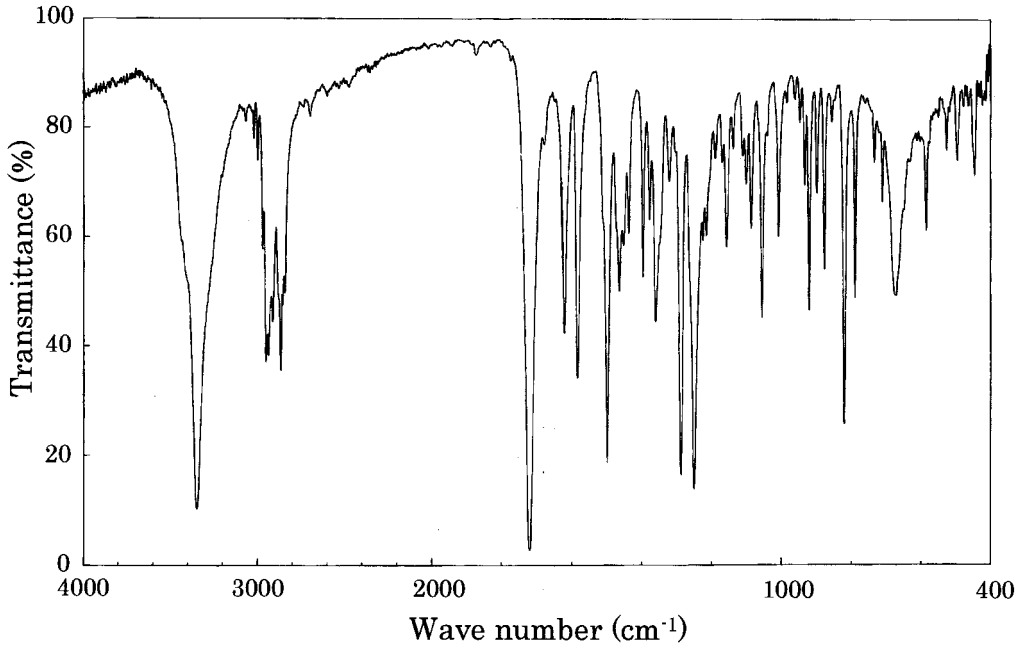

Fig.2　Infrared absorption spectrum of the raw material for Estrone Reference Standard

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．3345，2867，1720，1499及び1055 cm^{-1}に特異吸収を認めた．

6）TLC法による純度試験

標準品原料ついて得られた薄層クロマトムを**Fig.3**に示す．スポット量100 μg以上で2個の異種スポットを認めた．また，本品によるエストロンの検出限界は0.1 μg以下であった．

7）HPLC法による純度試験

標準品原料につき，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．2個の微量の不純物ピークが確認され，面積百分率法での不純物ピークの総

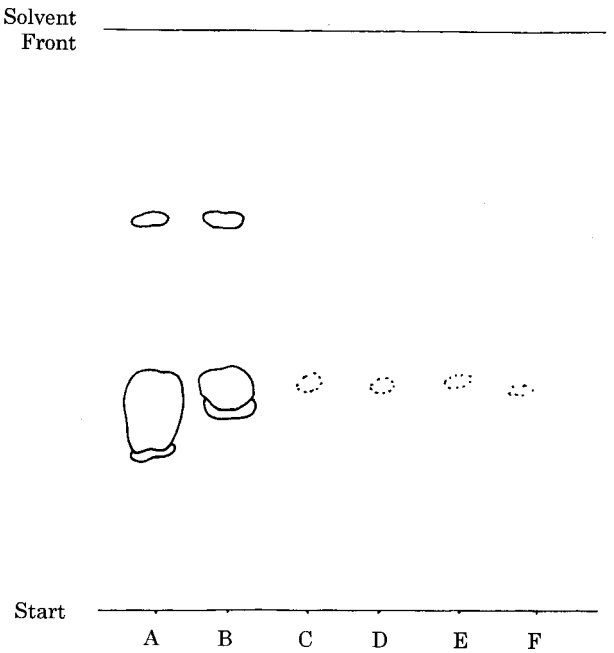

Fig.3　Thin-layer chromatogram of the raw material for Estrone Reference Standard
Spot A to F are 200, 100, 0.25, 0.20, 0.15 and 0.10 μg of the raw material

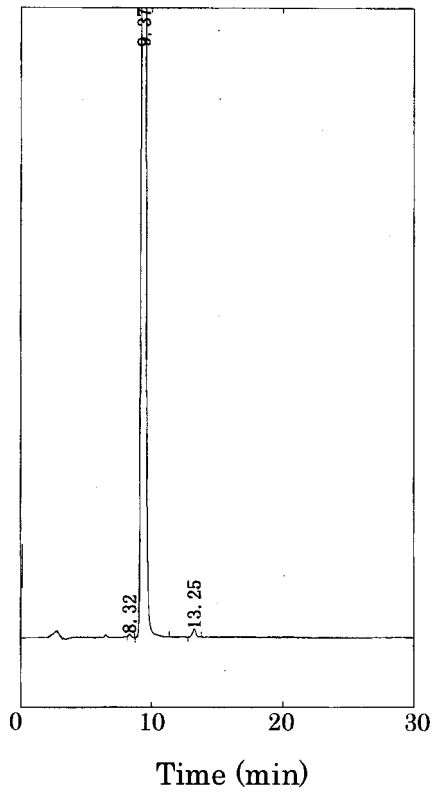

Fig.4　High-performance liquid chromatogram of the raw material for Estrone Reference Standard

和は，0.24±0.01％（n＝3）と推定された．

8）乾燥減量

本標準品原料の乾燥減量は0.02 ± 0.02 ％（n＝3）であった．

結　論

エストロン標準品原料につき，その品質を検討した結果，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 021として製造・配布を開始した．