

国立医薬品食品衛生研究所酢酸トコフェロール標準品 (Control 021)

村上美保・森田有紀子・小出達夫・斎藤博幸・谷本 剛[#]

Tocopherol Acetate 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 tocopherol acetate was examined for the preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 021)". The analytical data obtained were: UV spectrum, $\lambda_{\max}$ of 278.5 and 284.8 nm and specific absorbance in ethanol at 284nm = 42.9; IR spectrum, same as that of the Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001); thin-layer chromatography, no impurities were detected until 50 μ g; high-performance liquid chromatography, total amount of impurities estimated to be less than 0.6 %.

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

Key Words: tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, JP reference standard

第十四改正日本薬局方「酢酸トコフェロール」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「酢酸トコフェロール標準品 (Control 021) (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入手した。同社において、分子蒸留法により精製され、褐色アンブル中に約0.15 gずつ小分け充填し、窒素置換した後、溶封されたものである。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 μ g まで他のスポットを認めない、液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 0.71 %, 比吸光度: $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) = 42.6, 定量 (HPLC): 99.78 %

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 001; 日局標準品)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

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

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及び医薬品各条「酢酸トコフェロール」の試験法を準用した。

1) 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の調製: 標準品原料及び日局標準品約0.01 mgを取り、それぞれにヘキサン2.0 mlを正確に加えて溶かし、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2 ~ 10 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。濃硫酸を均等に噴霧した後、110 °Cで15分間加熱し、直ちに白色光下で観察する。

2) HPLC法による純度試験

標準品原料及び日局標準品約0.040 gずつを正確に量り、それぞれを無水エタノール5.0 mlに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。これらの液10 μ l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。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し、

[#]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

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：紫外吸光度計（波長：284 nm）

カラム：ULTRON N・C18L（4.6 mmφ × 150 mm）

移動相：メタノール／水混液（98：2）

流量：酢酸トコフェロールの保持時間が約10分になるように調整する。

カラム温度：35 付近の一定温度

カラムの選定：日局「酢酸トコフェロール」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，酢酸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：無色透明の粘性の液ではない。

2) 紫外吸収スペクトル

日局の方法で調整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278.5及び284.8 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 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm) は42.9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。

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を認めた。

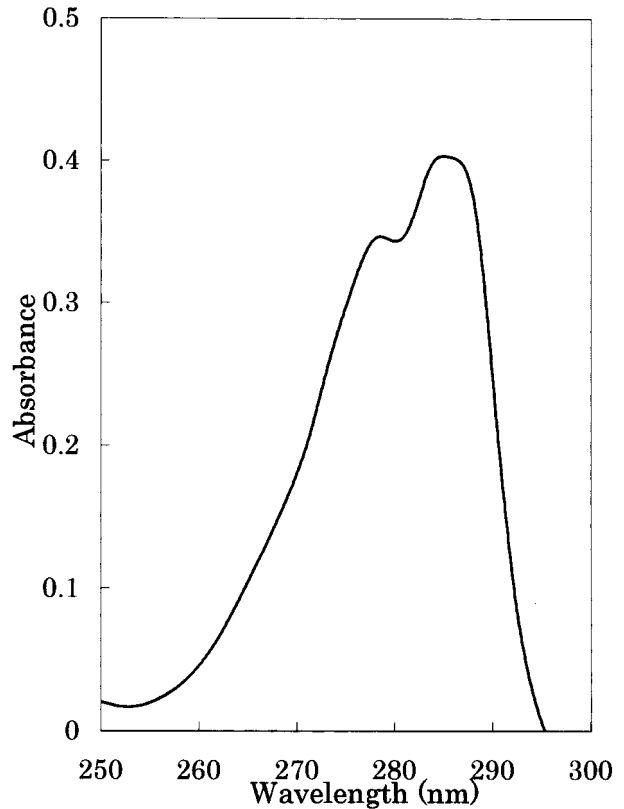


Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

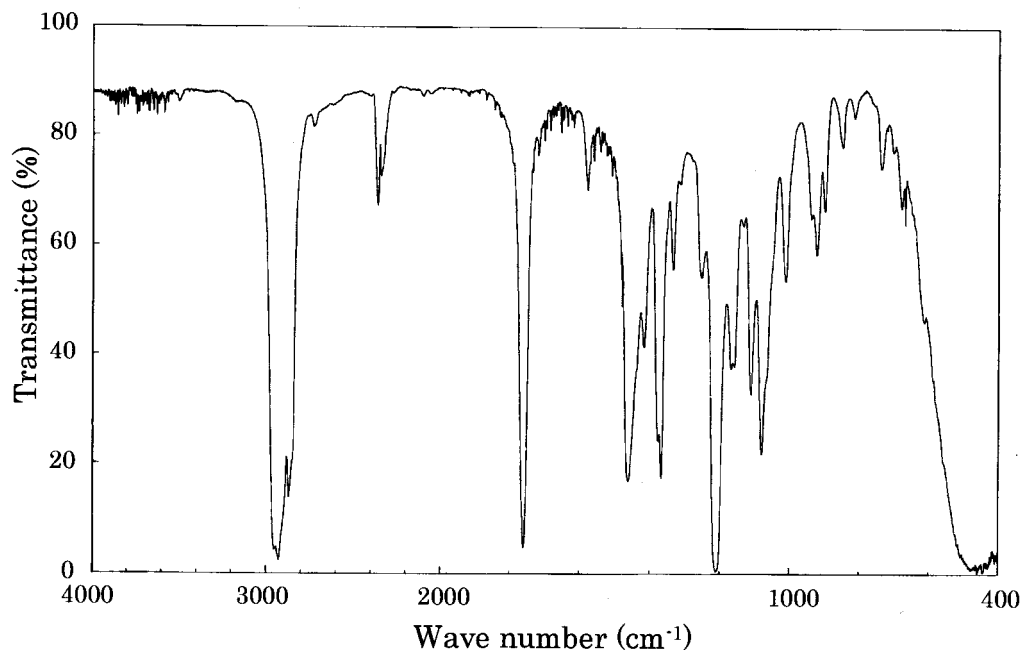


Fig.2 Infrared absorption spectrum of the raw material for Tocopherol Acetate Reference Standard

4) TLC法による純度試験

標準品原料及び日局標準品について得られた薄層クロマトムをFig.3に示す。標準品原料及び日局標準品ともスポット量50 μg まで異種スポットは認められなかった。また、本品による酢酸トコフェロールの検出限界は0.15 μg 以下であった。

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クロマトグラムをFig.4に示す。標準品原料で2~3個、日局標準品で3個の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ピークの総和は、標準品原料で $0.55 \pm 0.01\%$ ($n=3$)、日局標準品で0.48%と推定された。

結 論

酢酸トコフェロール標準品原料につき、日局標準品(Control 001)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 021として製造・配布を開始した。

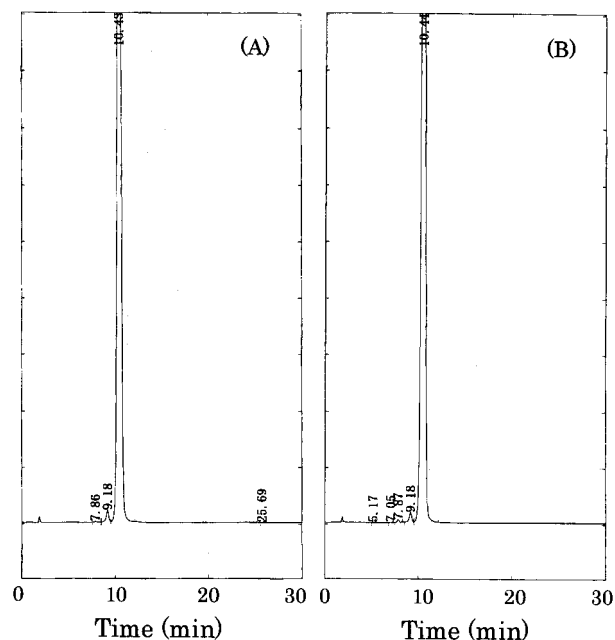


Fig.4 High-performance liquid chromatograms of the raw material (A) and Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001) (B)

文 献

- 1) Iwata, M., Koide, T., Maekawa, K., Saito, H. and Tanimoto, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **118**, 141-143 (2000)

Solvent Front												
Start	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	B	C	D	E	F	H	I	J	K	L	M

Fig.3 Thin-layer chromatograms of tocopherol acetate

Spot : A to C are 50, 25 and 15 μg of Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 001)

D to I are 50, 25, 15, 1.0, 0.5, 0.4, 0.25, 0.2 and 0.15 μg of the raw material