

国立医薬品食品衛生研究所フルオシノロンアセトニド標準品 (Control 981)

岩田美保・前川京子・斎藤博幸・谷本 剛*・岡田敏史

Fluocinolone Acetonide Reference Standard (Control 981) of National Institute of Health Sciences

Miho Iwata, Keiko Maekawa, Hiroyuki Saito, Tsuyoshi Tanimoto* and Satoshi Okada

The raw material of fluocinolone acetonide was examined for preparation of the "Fluocinolone Acetonide Reference Standard (Control 981)". The analytical data obtained were: melting point, 271.5°C; UV spectrum, λ max of 237.0 nm and specific absorbance in ethanol at 237 nm of 359.3; IR spectrum, same as that of the Fluocinolone Acetonide Reference Standard (Control 904); optical rotation, $[\alpha]_D^{20} = +102.8$; thin-layer chromatography, no impurities detected; high-performance liquid chromatography, one impurity detected and total amount estimated to be about 0.17%; loss on drying, 0.29%; assay by HPLC, 100.9%.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Fluocinolone Acetonide Reference Standard (Control 981) of the National Institute of Health Sciences.

Keywords: fluocinolone acetonide, quality evaluation, authorization, JP reference standard

第十三改正日本薬局方「フルオシノロンアセトニド」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「フルオシノロンアセトニド標準品 (Control 981)」(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

標準品原料は田辺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。赤外吸収スペクトル：日
局標準品と一致，旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ ：+105°，液体クロマトグラ
フ (HPLC) 法による純度試験：他のステロイド 0.17 %，
乾燥減量：0.15 %，定量 (HPLC 法)：99.7 %。

2. 参照物質及び試薬

日本薬局方フルオシノロンアセトニド標準品 (Control
904；以下，日局標準品と略称)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評価試験にあたり，下記の測定装置
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。

融点測定器：宮本理研，PA-20S 型。

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 型カラムオープン及び資生
堂製データ処理装置 S-mc。

4. 試験方法

特に記すもののほかは，第十三改正日本薬局方の一般試
験法及び「フルオシノロンアセトニド」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 10 mg を精密に量り，無水エタノールに
溶かし，正確に 100 ml とする。この液 10 ml を正確に量
り，無水エタノールを加えて正確に 100 ml とする。この
液につき吸光度測定法により測定する。

2) 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験

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 0.02 g をとり，アセトン 2 ml を加えて溶かし，試料原
液及び標準原液とする。アセトンを加えて試料原液を希釈
し，数種の濃度 (0.01~10 mg/ml) 試料溶液を調製する。

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

展開溶媒：クロロホルム/酢酸ブチル/アセトン混液 (2：
2：1)。

* 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

操作法及び検出法：試料溶液 5.0~20 μ l (フルオシノロンアセトニド 0.05~200 μ g 相当量) 及び標準原液 10, 20 μ l (フルオシノロンアセトニド 100, 200 μ g 相当量) を薄層板にスポットし、約 15 cm 展開した後、風乾する。これに紫外線 (254 nm) を照射し、不純物スポットの有無及び検出限界を確認する。

3) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

標準品原料及び日局標準品 0.0100 g ずつを正確に量り、メタノール 5 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。

操作条件

検出器：紫外吸光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：Inertsil ODS (4.6 mm ϕ x 250 mmL)

カラム温度：40°C

移動相：水/アセトニトリル混液 (13 : 7)

流量：1.5 ml/min

カラムの選定：パラオキシ安息香酸イソプロピル及びパラオキシ安息香酸プロピル 5 mg ずつをアセトニトリル 50 ml に溶かし、更に水を加えて 100 ml とする。この液 20 μ l につき、上記の条件で操作するとき、パラオキシ安息香酸イソプロピル、パラオキシ安息香酸プロピルの順に溶出し、その分離度が 1.9 のものを用いる。

検出感度：試料注入液の 1 % に相当する量を注入し、得られた主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：溶媒ピーク後、フルオシノロンアセトニドの保持時間の 2 倍の範囲

5. 試験結果

1) 性状

白色の結晶性粉末で、においはない。

融点：271.5°C (分解)。

2) 紫外吸収スペクトル及び比吸光度

標準品原料のメ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 237 nm 付近に吸収の極大が観察され、極大吸収波長における比吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (237 nm) は 359.3 ± 2.45 (n=3) 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日局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。

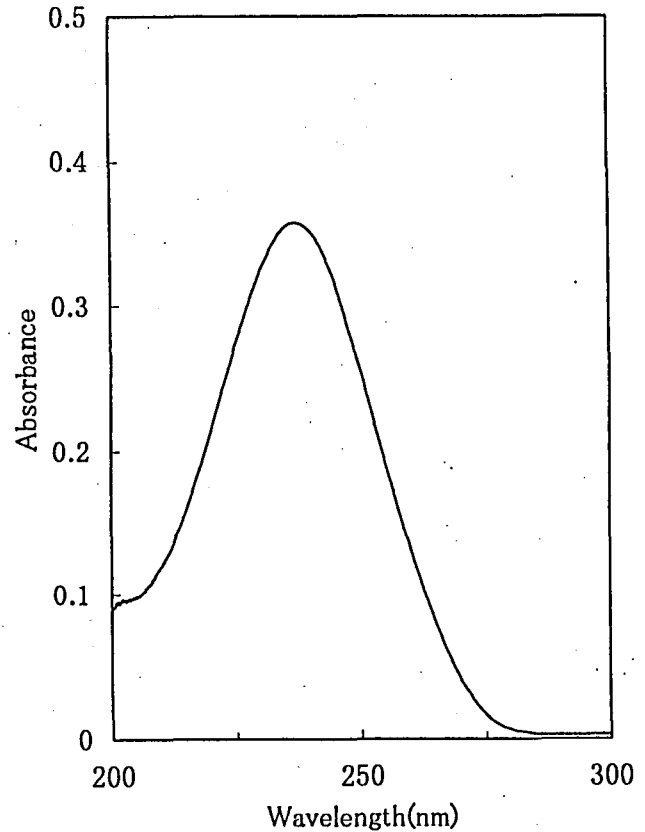


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum of the raw material for Fluocinolone Acetonide Reference Standard

4) 旋光度

日局「フルオシノロンアセトニド」の旋光度の項の測定条件を準用して試験したとき、その比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ は $+102.8 \pm 1.07^\circ$ (n=3) であった。

5) 純度試験

(a) TLC 法：標準品原料及び日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。試料溶液及び標準溶液とも、スポット量 200 μ g まで異種スポットは認められなかった。また、検出限界は 0.1 μ g であった。

(b) HPLC 法：標準品原料及び日局標準品の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、微量の不純物ピークが観察された。面積百分率 0.05 % 以上の不純物ピークの総和は、標準品原料で 0.17 ± 0.01 % (n=3)、日局標準品で 0.27 ± 0.00 % (n=3) と推定された。

6) 乾燥減量： 0.29 ± 0.11 % (n=3, 0.2g, 減圧, 105°C, 3時間)

7) 定量

標準品原料の液体クロマトグラフ法による定量試験を日局標準品を対照にして行った結果、 100.9 ± 0.25 % (n=3) の値が得られた。なお、定量試験における液体クロマトグラフ法の操作条件は、日局「フルオシノロンアセトニド」の定量法を準用した。

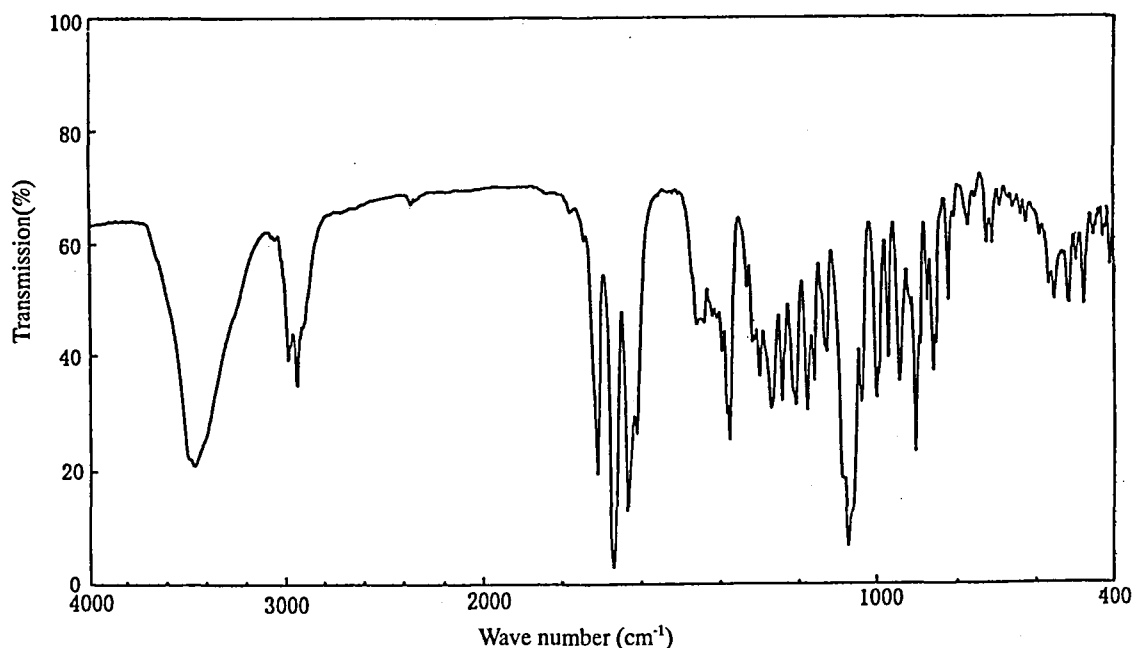


Fig.2. Infrared absorption spectrum of the raw material for Fluocinolone Acetonide Reference Standard

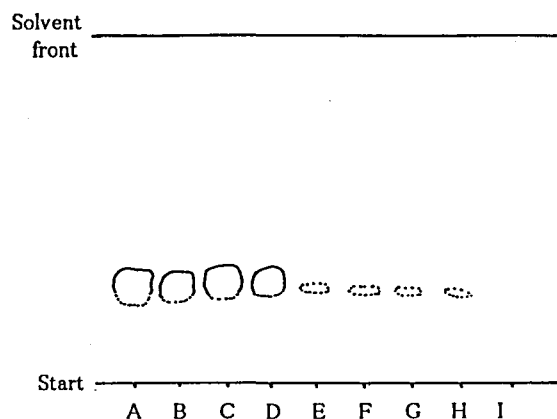


Fig.3. Thin-layer chromatogram of the raw material and the JP Fluocinolone Acetonide Reference Standard
 Solvent system : chloroform/butyl acetate/acetone (2:2:1)
 Spot : A and B are 200 μ g and 100 μ g of the JP Reference Standard, respectively
 C to I are 200, 100, 1.0, 0.5, 0.3, 0.1 and 0.05 μ g of the raw material, respectively

結 論

フルオシノロンアセトニド標準品原料につき、日局標準品 (Control 904) を対照に比較検討した結果、両者の間には物質特性に差はなく、標準品原料の純度は 99.5 % 以上であることを確認した。この結果から、本標準品原料は国立医薬品食品衛生研究所フルオシノロンアセトニド標準品 (日本薬局方標準品) として十分な品質を有することを認定し、Control 981 として製造・配布することとした。

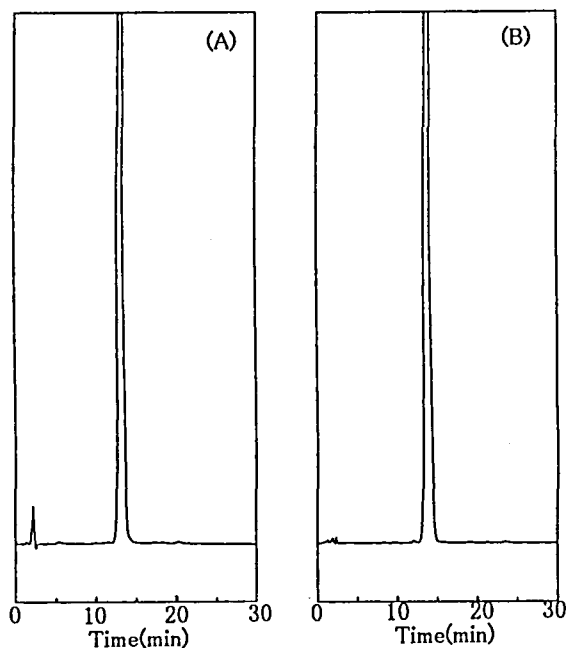


Fig.4. High-performance liquid chromatograms of the raw material and the JP Fluocinolone Acetonide Reference Standard
 (A): The raw material
 (B): The JP Fluocinolone Acetonide Reference Standard

文 献

- 1) 笥 華子・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史：衛生試報，109，145 (1991)