

自動再結晶法によるプレドニゾロンの高純度高収率精製と薄層クロマトグラフィー及び示差走査熱量測定によるその純度推定

奈 良 修*

(1985 年 5 月 10 日受理)

先に確立した自動再結晶法により、日本薬局方プレドニゾロン 5.0 g をアセトン-ヘキサン (1:1) 混合溶媒 (常温溶解度 3.0 g/l) から 6 回反復再結晶を行った。再結晶 1 回当たりの自動運転時間は平均 9 時間であった。収率は各回の平均 96%, 6 回後で 78% であった。4 回の再結晶で精製は限度に達した。得た結晶はいずれも一辺が 0.6~1.8 mm 程度の大きなものであった。融点は 234.3~240.4 °C であり、日本薬局方標準品のそれより 4°C 高かった。吸収スペクトルと吸光係数にもこの両品の間に有意差が認められた。薄層クロマトグラフィー (TLC) では本品に不純物スポットは検出されず、TLC の検出最小限度量から、純度が 99.98% 以上と推定された。更に、示差走査熱量測定により本品の純度が $98.7 \pm 0.6 \text{ mol\%}$ と算出されたが、融解時に伴う分解の影響 1.2% を補正すると 99.9% となり、TLC による推定値にもよく一致した。

1 緒 言

化合物の自動再結晶を一般化するため、先に、自動再結晶装置の試作研究を重ねたが、同装置の実用性が顕著に認められ、特に、高純度精製かつ高収率調製ができる点で、極めて有用な自動再結晶法が確立されたことを既に報告した¹⁾²⁾。すなわち、本法により確実容易に実現される、外部からの汚染がない密閉系での再結晶、低溶解能溶媒の使用、小さな晶出速度及び熟成の過程は、すべて結晶の純化にとって好適条件であることが、結晶化の原理から明らかであり、種々の化合物について実証したとおり、いずれも、高純度精製品が、極めて高収率 (1 回の再結晶当たり平均 93~98%) に調製された。

近年、測定技術や測定機器の進歩に伴い、信頼すべき物性データの測定や、測定機器校正のために、各種の高純度試薬や標準品の必要性が増大してきているが、このような要求に答えるため、本報では、この自動再結晶法の分析化学的応用の一つとして、市販の医薬品を精製したときに、どの程度の純度のものが得られるか検討を試みた。

市販の日本薬局方プレドニゾロンを、本法により繰り返し自動再結晶を行い、得られた結晶の外観、融点、吸収スペクトル及び吸光係数を、他の高純度品と比較して精製度を定性的に検討した後、薄層クロマトグラフィー

及び示差走査熱量測定により純度を算出し推定した。その結果、本精製品は、日本薬局方標準品及びアメリカ薬局方標準品の純度を越す、高純度 (>99.98%) のものであった。しかも、高収率 (各回の平均 96%, 6 回後で 78%) に得られた。

2 実 験

2.1 試 薬

再結晶の原料に日本薬局方プレドニゾロン (日本メルク 萬有製) を使用した。純度の比較には、日本薬局方標準品 プレドニゾロン (国立衛生試験所, control 721 及び 725), アメリカ薬局方標準品 プレドニゾロン, Merck 社製試薬プレドニゾロン (Lot No. 2478551, 96% purity by HPLC) を使用した。溶媒は、Widmar 分留管を用いて蒸留精製したクロロホルム, メタノール, ベンゼン, 及び脱水して同じように蒸留したエタノール, アセトン, ヘキサンを使用した。臭化カリウム (KBr) は Merck 社製 (IR 用, Vrasol 77555, Art. 4907) を使用した。

2.2 自動再結晶

既報¹⁾の Fig. 1 に示した自動再結晶装置 (抽出槽容積 57 ml), 磁気かき混ぜ機 (東洋科学 MS-16B 型), 結晶だめ付き再結晶フラスコ (内容積 100 ml) を使用した。環状電熱器 (150 W) はスライダックにより 55 V で使用し、穏やかに沸き立つように加熱した。蒸気導管部はタオルを巻き保温した。溶媒循環速度は、還流冷却

* 東北薬科大学: 983 宮城県仙台市小松島 4-4-1

器を蒸留冷却器に取り替えて適当な時間内に定常留出した溶媒量をメスシリンダーで測り求めたが、使用溶媒であるアセトン-ヘキサン (1:1, 共沸混合物) 混合溶媒で約 1.9 ml/min であった。再結晶 1 回当たりの溶媒使用量は約 140 ml であった。円筒濾紙は、初め、取り付けから使用溶媒で 1~1.5 時間空運転洗浄した後、自動再結晶を始めた。その後の繰り返し再結晶には濾紙交換の必要がなく、同濾紙を継続使用した。運転中の蒸気漏れによるアセトン-ヘキサン (1:1) の損失速度は、約 0.5 ml/h であり、同溶媒の中途補給は不要であった。運転終了後、室温まで放冷したフラスコ内容物をガラス濾過器でこし、得た結晶を使用溶媒で数回洗浄し、常温で 24 時間以上減圧乾燥 (シリカゲル) した後、ひょう量した。溶解度は、再結晶母液の一定量を蒸発乾固し、同様に減圧乾燥後ひょう量して推定した。結晶の観察と写真撮影には日本光学実体顕微鏡 SMZ-10-3 型及び写真撮影装置 UFX-II-35A 型を使用した。

2.3 毛細管融点測定 (目視法)

各種試料をそれぞれ無作為に採取し、粉碎した後、乾燥済みのパイレックスガラス毛細管に手早く充てんし、自作の Hershberg-Merriam 型融点測定器⁹⁾を用い、昇温速度 1.0°C/min で融解範囲⁴⁾を測定し、国立衛生試験所融点測定用標準品で温度補正した。

2.4 吸収スペクトル測定

紫外部では日立 139 型光電分光光度計、赤外部では島津 IR-430 型赤外分光光度計を使用し、常法に従い測定した。なお、繰り返し使用中の吸収セルの清浄取り扱いには特に注意し、既に考案した吸収セル用ピンセット⁶⁾及びガラス製洗浄瓶⁶⁾を活用した。

2.5 薄層クロマトグラフィー (TLC)

蛍光剤入りシリカゲル薄層板 (Merck 社製, HPT-LC プレート, シリカゲル 60F₂₅₄, 層厚 0.2 mm) を使用し、各種ブレドニゾロンのメタノール溶液 (30.0 mg/1.00 ml) 10 μ l をマイクロピペットでスポットし、a) クロロホルム-メタノール (9:1), b) クロロホルム-アセトン (4:1) 及び c) ベンゼン-メタノール (9:1) の 3 種類の溶媒系⁷⁾を用いて展開した。展開後 254 nm 紫外線下で観察し、更に、過塩素酸を 2% 含むメタノール溶液を噴霧加熱し、366 nm 紫外線下で観察した。又、別に濃硫酸を噴霧加熱して観察した。クロマトグラムの写真撮影には、254 nm 紫外線ランプ (Spectronics 社製, ENF-26 型) 2 個で照らし、発する蛍光を Ko-

dak high contrast copy film 5069 で接写した。

2.6 示差走査熱量測定 (DSC)

高性能示差走査熱量計 (理学電機, DSC-10A 型) を使用し、連続昇温法により各種ブレドニゾロンの DSC 曲線を測定し、同条件での高純度スズ (ICTA Certified Reference Material, GM-758, distributed by NBS. 融点 505.1 K, $\Delta H_f = 7.07$ kJ mol⁻¹)⁸⁾ の DSC 曲線から、温度及び融解熱を校正し、Fig. 1 に示す手順^{9)~12)}で不純物モル%を算出した。なお、十分注意して超音波洗浄し、乾燥済みのアルミニウムパン (5.2 mm O.D. $\times$ 2.5 mm H.) に粉碎試料を約 2 mg 量り取り、クリンパーでふたをして、昇温速度 10 K min⁻¹, 感度 2.5 mcal s⁻¹, 雰囲気は空気で測定した。

3 結果及び考察

3.1 自動再結晶溶媒の選択

結晶化の原理から明らかなおとおり、溶媒に対して目的物質の親和力が小さく、不純物のそれが大きいほど精製効果が上がることから、一般に、低溶解能溶媒の使用が望ましい¹³⁾と言える。又、このことは同時に、高収率化にもつながる。しかし、従来の再結晶法ではこれの実施は著しく困難又は不可能であった。本法においては、抽出系の加熱とかき混ぜを図ったことで、同溶媒の使用が可能となり、更に、自動晶出の点からも好都合であると言える。以上の考えから、本法を用いてブレドニゾロンを精製する際に好適な溶解度を示すと思われるクロロホルム (推定常温溶解度 3.7 g/l) 及びアセトン-ヘキサン (1:1) 混合溶媒 (同 3.0 g/l) を選んで使用した。なお、ヘキサンではほとんど溶解せず、12 時間自動運転しても約 0.1 g しか得られず、実用的見地から採用しなかった。

3.2 繰り返し自動再結晶と精製効果

局方品ブレドニゾロン 1.8 g をクロロホルムから 2 回、引き続きアセトン-ヘキサン (1:1) から 4 回自動再結晶を行ったところ、各回で得られた精製品の融点が、Fig. 2 に実線でその推移を示すように、急激に上昇した。又、再結晶 4 回目以後からは、目立って結晶が大きくなり、透明度が高まるのが肉眼でも観察された。なお、1 回目及び 2 回目に得られた精製品の湿潤点が低下した理由及び融点のばらつきが大きいものが多くあった理由は、結晶内に吸蔵した溶媒の乾燥除去が、結晶が大きいため、予想以上に難しかったためであろう¹⁴⁾と考えられる。

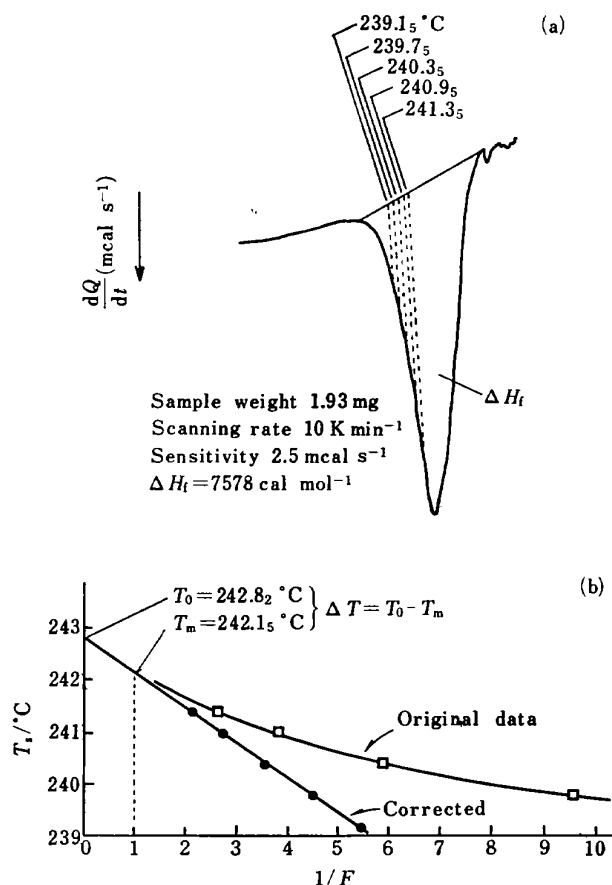


Fig. 1 Purity calculation from differential scanning calorimetry (DSC) curve; highly purified prednisolone by the automatic recrystallization technique^{1,2)}: (a) DSC melting trace, with some decomposition, (b) Curves of temperature T vs. reciprocal fraction melted $1/F$

Tin (ICTA Certified Reference Material, GM-758, distributed by NBS) was used for both temperature and heat calibration. The parallel dotted lines in curve (a) represent the superimposition of the low temperature slope of the tin peak to correct for thermal lag inherent in the system. Curves (b) were obtained by the following procedure:

Temperature/ °C	Area sum/ g	1/F	Area sum/ 15% corrected	1/F corrected
239.1 ₅	0.00455	16.66	0.01592	5.47
239.7 ₅	0.00791	9.58	0.01928	4.52
240.3 ₅	0.01286	5.89	0.02423	3.59
240.9 ₅	0.01967	3.85	0.03104	2.80
241.3 ₅	0.02847	2.66	0.03984	2.18
	0.07583		0.08720	

$$\begin{aligned}
 \text{Mole \% in impurity} &= 100 \frac{\Delta H_f}{RT_0^2} \Delta T \\
 &= 100 \times \frac{7578}{1.9865(242.8_2 + 273.150)^2} \times 0.6_7 \\
 &= 0.9_8 \text{ mol\% impurity (99.0}_4 \text{ mol\% purity)}
 \end{aligned}$$

別に又、局方品プレドニゾロン 5.0 g をアセトン-ヘキサン (1:1) から6回自動再結晶を繰り返した。このとき、再結晶1回当たりの自動運転には、第1回目に約

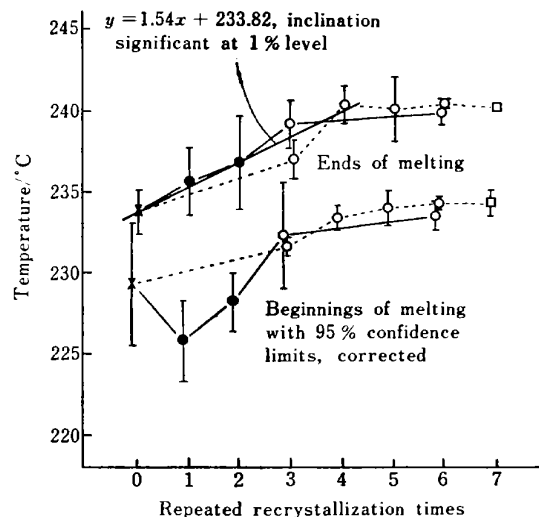


Fig. 2 Melting range transitions of prednisolone after repeated automatic recrystallizations

—: recrystallization from chloroform followed by acetone-hexane (1:1); - -: recrystallization from acetone-hexane (1:1); ×: Crude prednisolone, pharmacopeial grade (Nippon Merck-Banyu); ●: recrystallized from chloroform; ○: recrystallized from acetone-hexane (1:1, azeotropic) mixture; □: successively recrystallized from ethanol by an ordinary manual procedure

10 時間 (6回の平均約9時間) を要した。6回の再結晶後の収率は78%であり、1回当たりの収率は平均96%であった。各回で得られた精製品の融点を、Fig. 2に点線でその推移を合わせ示したが、以上の両結果から明らかとなおり、局方品から4回目の精製品までは融点の上昇が著しく (融解終点に関する回帰直線の傾斜に危険率1%で有意性あり)、精製効果が顕著に認められた。又、4~6回目に得られた精製品の各融点は同等であった。更に、引き続きエタノールから従来法で再結晶したが (収率65%)、同じ融点を示したことから、本法による精製は限度に達していたと判断した。

3.3 結晶の外観及び目視法による日本薬局方標準品との精製度の比較

限度に達した本精製品は、晶出時の観察や分離後の鏡検によれば、Fig. 3(b)に示すように、大部分が単結晶と思われるが、形が整っていて、一辺が0.6~1.8 mm程度の極めて大きなものであった。又、最後にエタノールから従来法で再結晶したものも、Fig. 3(c)のとおり、比較的大きく形の整ったものであった。これに対して、日局標準品 (control 721) では、Fig. 3(d)のとおり、結晶がそれほど小さくなく (一辺が0.18 mm程度)、又、結晶性粉末が多く混在していた。なお、再結晶原料の局方品では、Fig. 3(a)のとおり、すべて結晶性粉末であった。

Table 1 Purification of prednisolone by repeated automatic recrystallizations from acetone-hexane (1 : 1, azeotropic) mixture

Prednisolone	Recovery, %		Melting range (with some decomposition) ^{d)} / °C, corrected		Color of melt
	Single average	Overall	Beginning	End	
Crude, pharmacopeial, 5.0 g	—	—	229.3±3.8	233.8±1.4	light brown
Present one, recrystallized 6 times ^{a)}	96	78	234.3±0.4	240.4±0.3	cream
Present one ^{b)}	65	—	234.3±0.8	240.2±0.3	cream
JP Reference Standard ^{c)}	—	—	230.5±0.6	236.3±0.5	light brown

a) Ten hours taken for the first recrystallization by using 150 W-recrystallization heater at 55 volts. b) Successively recrystallized from ethanol by an ordinary manual procedure. c) Distributed by National Institute of Hygienic Sciences of Japan, control 721. d) Each value represents the mean $\pm 95\%$ confidence limits. Reported melting points of prednisolone: 240~241°C (dec.) by Herzog *et al.*¹⁵⁾; 235°C (dec.) by Kondo *et al.*¹⁶⁾; 235°C (dec.) by Kimura *et al.*⁷⁾

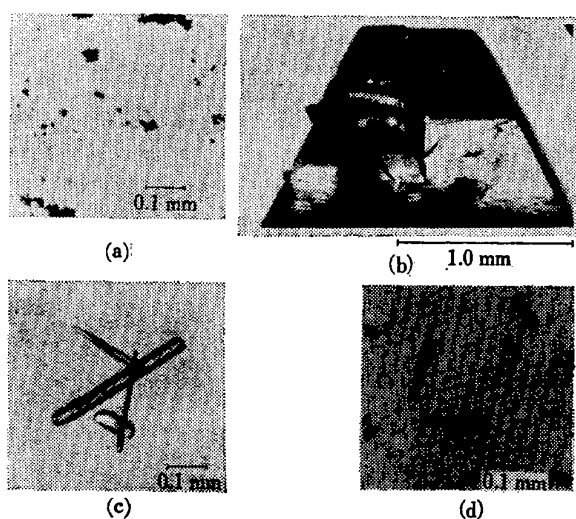


Fig. 3 Photomicrographs of prednisolones

(a) Crude, pharmacopeial grade (Nippon Merck-Banyu); (b) Prednisolone purified six times by the repeated automatic recrystallizations from acetone-hexane (1 : 1); (c) Prednisolone finally recrystallized from ethanol by an ordinary manual procedure; (d) Japanese Pharmacopeia Reference Standard by National Institute of Hygienic Sciences, control 721

局方品、本精製品及び日局標準品 (control 721) の融点を同条件下で同時比較測定した結果を、文献値と共に Table 1 に示すが、本精製品の融解範囲は 234.3~240.4°C (わずかに分解を伴い、融液がクリーム色に変色) であり、日局標準品のもの (分解を伴い、融液が茶色に変色) よりも 4.1°C 高かった。又、局方品のものより 6.6°C 高かった。

以上により、本精製品は日局標準品よりも著しく高純度であることが明らかである。

3.4 吸収スペクトル及び吸光係数による精製度の比較

本精製品と日局標準品 (control 721) について、 $1.5 \times 10^{-3}\%$ メタノール溶液を用い、紫外部における吸収

スペクトルを測定し、波長 220 nm, 243 nm ($\lambda_{\max}$), 270 nm における吸光度 (それぞれ A_1 , A_2 , A_3) を求め、両品の A_2/A_1 , A_2/A_3 の値を算出して比較した。又、243 nm における両品の吸光係数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (未補正) を算出して比較した。その結果、吸収極大位置には違いが認められなかったが、Table 2 に示すように、吸収強度に関して有意差が認められ、243 nm より短波長の領域では、本精製品の吸収曲線が標準品のそれに比べて切り立っていると言える (危険率 5%)。又、本精製品の吸光係数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ が日局標準品のものより大きい (危険率 20%) と言える。以上の結果も、本精製品が日局標準品よりも著しく高純度であることを裏付けている。

次に両品の赤外吸収スペクトルを KBr 錠剤法により測定したが、これにより純度の差を明確に見いだすことは難しかった。なお、6 回目に得られた本精製品の同スペクトルは、日局標準品のそれに一致しなかったが、7 回目にエタノールから再結晶したものはよく一致した。

Table 2 Comparisons of ultraviolet absorption spectra and absorption coefficients between present prednisolone and Japanese Pharmacopeia Prednisolone Reference Standard

	Present preparation, recrystallized 6 times	JP Reference Standard, control 721
A_2 (at 243 nm)	2.07±0.04	2.03±0.01 (A)
A_1 (at 220 nm)		
A_2 (at 243 nm)	2.38±0.06	2.36±0.01 (B)
A_3 (at 270 nm)		
$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (at 243 nm)	419±6	415±2 (C)

Each value represents the mean $\pm 95\%$ confidence limits. (A) Difference between precisions: not stated at 5% significance level; difference between mean values: stated at 5% significance level. (B) Difference between precisions: stated at 5% significance level; difference between mean values: not stated at 50% significance level. (C) Difference between precisions: stated at 5% significance level; difference between mean values: stated at 20% significance level.

これは、結晶の外観 {Fig. 3(b), (c), (d)} から明らかに、多形¹⁷⁾によるものであると判断した。

3.5 TLC による純度の推定

本精製品及び日局標準品 (control 721) 300 μ g ずつを同一プレートに原線にスポットし、展開した結果、本精製品では、Fig. 4 (b), (c) のとおり、不純物スポットが全く検出されることがなかった。これに対して、日局標準品では、Fig. 4(a) のとおり、繰り返し実験のたびに、原点中心に残留するただ一つの不純物スポットが明確に検出された。ただし、両品とも、原点に展開前のスポットと同径のスポットが薄く検出されたが、これらは主成分がわずかに吸着残留したことによるものと判断した。なお、木村ら¹⁷⁾は、日局標準品について、同条件の展開クロマトグラム中に、原点と主スポットの上方に、不純物スポットを検出しているが、本実験では、両品ともに、主スポットの上下に何ら不純物スポットが検出されなかった。従って、TLC は一般に 10^{-6} ~ 10^{-9} g を検出できる¹⁸⁾ほど検出能が高いが、プレドニゾロンの検出

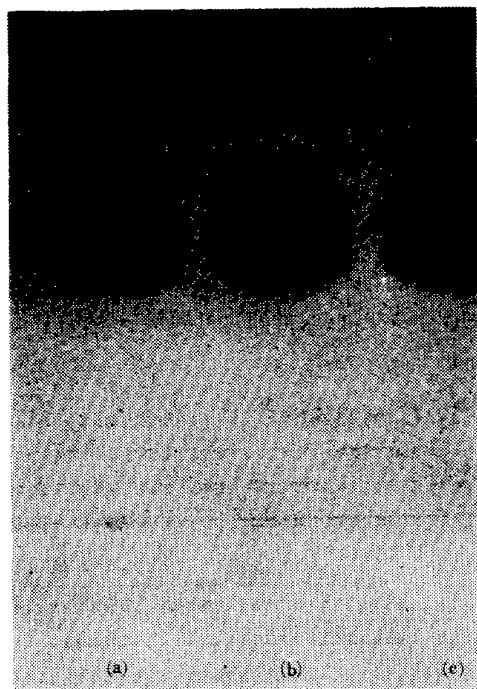


Fig. 4 Thin-layer chromatograms of prednisolones

(a) Japanese Pharmacopeia Reference Standard, control 721; (b) Prednisolone purified six times by the present automatic procedure; (c) Prednisolone finally recrystallized from ethanol by an ordinary procedure. 300 μ g of each sample (30.0 mg/1.00 ml of methanol solution) applied onto the same plate (Merck, HPTLC-plate, silica gel 60F₂₅₄, 0.2 mm of layer thickness) and developed in chloroform-methanol (9:1). Photograph taken under 254 nm ultraviolet lights.

下限を求めたところ、0.05~0.01 μ g であったことから考え、本精製品の純度は、99.98% 以上と推定された。なお、日局標準品の原点残留不純物が従来の再結晶法で分離されなかった理由は不明であるが、この不純物は、本再結晶原料である局方品の同クロマトグラム中にも検出され、本再結晶母液乾固物の同クロマトグラム中にはこれが濃縮されていたことから、本法においては、この不純物の分離は容易であったと理解される。

3.6 DSC による純度の算出

状態分析の一つである DSC を応用し、種々のプレドニゾロンについて、純度を比較検討した。まず、測定した融解 (分解を伴う) の DSC 曲線を Fig. 5 に示すが、明らかにピーク温度の違い (不純物による融点降下) が認められ、本精製品は、日局標準品 (control 721 及び 725) 及びアメリカ薬局方標準品よりも高純度であることが分かる。

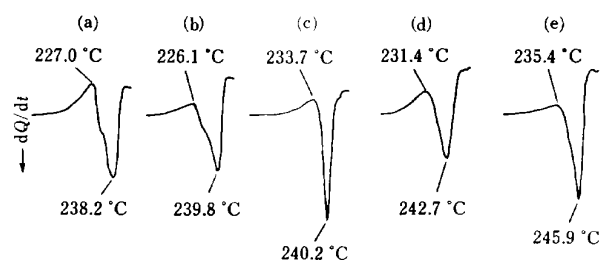


Fig. 5 Typical DSC curves of several kinds of prednisolone

(a) Merck, laboratory chemical grade, lot no. 2478551, 96% purity by HPLC; (b) Japanese pharmacopeial grade (Nippon-Merck Banyu); (c) Japanese Pharmacopeia Reference Standard, both control 721 and 725; (d) United States Pharmacopeia Reference Standard; (e) Present one, both purified six times from acetone-hexane (1:1) and finally recrystallized from ethanol

更に、融点降下に関する van't Hoff 式を適用して算出した純度及び関係データを Table 3 に示すが、本精製品の純度がやはり最も高く、 98.7 ± 0.6 mol% (95% 信頼限界) と算出された。ただし、DSC 純度決定法の原理は、溶液の固液平衡の熱力学に基づいているから、融解時に分解を伴うこの場合には、厳密な意味ではその適用限界を越えているが、純度 96% の Merck 社製試薬では、DSC により求めた純度 94.8 ± 1.5 mol% と満足に一致しており、純度の推定値として十分に評価できることが分かる。又、ここで DSC による平均値が 1.2% 低く出たのは、熱分解物との共融の影響と考えられるから、その分を補正すると、本精製品の純度は 99.9

Table 3 Data for prednisolone purity determination by DSC

Prednisolone	Purity ^{a)} , mol%	ΔH_f / cal mol ⁻¹	ΔT / °C	T_0 / °C
(a) Merck, laboratory chemical grade, 96% purity by HPLC	94.8±1.5	8815	3.2	238.6
(b) Japanese pharmacopeial grade	95.7±1.9	7935	2.8	239.1
(c) JP reference standard, control 721&725	— ^{b)}	6850	—	—
(d) USP reference standard	97.3±0.8	8608	1.6	241.4
(e) Present one	98.7±0.6	7663	0.9	243.2

a) Each value represents the mean $\pm$ 95% confidence limits.

b) Purity could not be calculated by the steep DSC peak (same slope as that of the tin) whose reason is uncertain.

% となり, TLC による推定値 (99.98% 以上) にもよく一致する。なお, 日局標準品では, control 721 及び 725 の両品とも, 融解ピークの形が他の各プレドニゾロンと異なり, 高純度スズのピーク立ち上がりと同じこう配になり, 純度算出ができなかった。この原因については明確でないが, 分解による影響と考えられる。

4 結 論

高純度精製法を目指し, 結晶化の原理を十分考慮して確立された自動再結晶法によるプレドニゾロンの精製効果は, 顕著に認められた。特に, 単結晶育成能が著しいと言えるが, 結晶の純化にとって理想的晶出条件が満たされていたことを裏付けるものである。又, 極めて高収率であることと, 1 回の自動運転が比較的短時間に終わること, 煩わしい労力を要しないことから, 繰り返し再結晶が確実容易であり, 十分に稼働効率が良く, 化合物の高純度精製の作業が著しく省力化されると判断した。

本精製プレドニゾロンの純度は, 日本薬局方標準品及びアメリカ薬局方標準品の純度を上回るものであり, ほぼ 100% と推定された。

本研究を行うに当たり, ご指導を賜った宮本正俊教授に深謝致します。又, 熱分析に関する貴重な資料をご恵与下さった, 群馬大学工学部神戸博太郎教授及び電子技術総合研究所小沢丈夫博士に深謝致します。

文 献

- 1) 宮本正俊, 奈良 修: 分化, **31**, 109 (1982).
- 2) 奈良 修: 分化, **34**, T117 (1985).
- 3) F. C. Merriam: *Anal. Chem.*, **20**, 1246 (1948).
- 4) JIS K0064, 化学製品の融点測定方法 (1966).
- 5) 奈良 修: 化学と工業, **30**, 47 (1977).
- 6) 奈良 修: 化学と工業, **30**, 123 (1977).
- 7) 木村俊夫, 川村次良: 衛生試験所報告, 91 号, 59 (1973).

- 8) 日本化学会編: “化学便覧”, 基礎編 II, 改訂 2 版, p. 915 (1979), (丸善).
- 9) C. Plato, A. R. Glasgow, Jr.: *Anal. Chem.*, **41**, 330 (1969).
- 10) E. M. Barrall, II, J. F. Johnson: “*Thermal Characterization Techniques*,” Edited by P. E. Slade, Jr., L. T. Jenkins, p. 28 (1970), (Marcel Dekker, New York).
- 11) 神戸博太郎編: “熱分析”, (1982), (講談社).
- 12) 高木定夫: 熱測定, **9**, 124 (1982).
- 13) 山田修三: “新実験化学講座 1”, 基本操作 [I], 日本化学会編, p. 319 (1975), (丸善).
- 14) 吉森孝良, 田中龍彦: 分化, **22**, 1251 (1973).
- 15) H. L. Herzog, C. C. Payne, M. A. Jevnik, D. Gould, E. L. Shapiro, E. P. Oliveto, E. B. Hershberg: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4781 (1955).
- 16) E. Kondo, E. Masuo: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **7**, 113 (1961).
- 17) 大場琢磨, 小山良子: 衛生試験所報告, 84 号, 1 (1966).
- 18) 露木孝彦, 青柳玲子: “新実験化学講座 1”, 基本操作 [I], 日本化学会編, p. 356 (1975), (丸善).

☆

High-purity, high-recovery purification of prednisolone by the automatic recrystallization method and its purity evaluation by thin-layer chromatography and by differential scanning calorimetry. Osamu NARA (Tohoku College of pharmacy, 4-4-1, Komatsushima, Sendai-shi, Miyagi 983)

Prednisolone (Japanese pharmacopeial grade, 5.0 g) was purified six times from acetone-hexane (1:1) mixture (solubility at an ordinary temperature, 3.0 g/l) by the automatic recrystallization method, which had been previously established for the high-purity, high-recovery purification of compounds. It took approximately nine hours on an average to perform each automatic recrystallization by using a 150 W-recrystallization heater at 55 volts. Recoveries were an average of 96% per each recrystallization and 78% after six recrystallizations. The purification of prednisolone was made up to a maximum by four times of the present repeated recrystallizations. The obtained crystals were full of extremely large single crystals, most of which were 0.6 mm to 1.8 mm in length of a longer side. The melting range of this highly purified prednisolone was 234.3~240.4°C, which was 4.1°C higher than that of the Japanese Pharmacopeia Prednisolone Reference Standard and 6.6°C higher than that of Japanese pharmacopeial grade one. Significant differences were found in the ultraviolet absorption spectra and the absorption coefficients between the present prednisolone and the Japanese Pharmacopeia Reference Standard. The present prednisolone did not contain any impurity spot in thin-layer chromatograms. The purity of the present prednisolone was evaluated to be above 99.98% by examining the least amount of prednisolone to be practically detectable by thin-layer chromatography. The purity was, furthermore, calculated to be 98.7±

0.6 mol% by differential scanning calorimetry and was evaluated accurately to be 99.9% by correcting 1.2% for the decomposition accompanied by melting.

(Received May 10, 1985)

Keyword phrases

automatic recrystallization method; high-purity, high-recovery purification of prednisolone; purity evaluation by thin-layer chromatography and differential scanning calorimetry.
