

純度試験

(1) 溶状 本品 0.20 g を水 20 mL に溶かすとき、液は無色澄明である。

(2) 塩化物 本品 0.5 g を硝酸カリウム 0.7 g 及び無水炭酸ナトリウム 1.2 g をすり混ぜた混合物に加えてよくかき混ぜ、これを少量ずつ赤熱した白金のつばに加え、反応が終わるまで赤熱する。冷後、残留物に希硫酸 15 mL 及び水 5 mL を加え、5 分間煮沸してろ過し、不溶物を水 10 mL で洗い、ろ液及び洗液を合わせ、これに希硝酸 6 mL 及び水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は検液の調製と同量の試薬を用いて同様に操作し、0.01 mol/L 塩酸 0.25 mL 及び水を加えて 50 mL とする (0.018 % 以下)。

(3) 重金属 本品 2.0 g をとり、第 2 法により操作し、試験を行う。比較液には鉛標準液 2.0 mL を加える (10 ppm 以下)。

(4) ヒ素 本品 1.0 g をとり、第 3 法により検液を調製し、装置 B を用いる方法により試験を行う (2 ppm 以下)。

(5) 類縁物質 本品 1.0 g をメタノール 10 mL に溶かし、試料溶液とする。この液 1 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 50 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 10 mL とし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 2 μ L ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次にイソプロピルエーテル/エタノール (95) /水混液 (23 : 10 : 2) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 254 nm) を照射するとき、試料溶液から得た主スポット以外のスポットは、標準溶液から得たスポットより濃くない。また、この薄層板をヨウ素蒸気中に放置するとき、試料溶液から得た主スポット以外のスポットは、標準溶液から得たスポットより濃くない。

(6) 硫酸呈色物 本品 0.10 g をとり、試験を行う。液の色は色の比較液 A より濃くない。

乾燥減量 0.5 % 以下 (1 g, シリカゲル, 4 時間)。

強熱残分 0.10 % 以下 (1 g)。

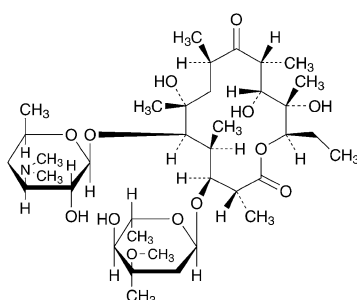
定量法 本品を乾燥し、その約 0.5 g を精密に量り、酢酸 (100) 40 mL に溶かし、0.1 mol/L 過塩素酸で滴定する (指示薬: クリスタルバイオレット試液 2 滴)。ただし、滴定の終点は液の紫色が青緑色を経て緑色に変わるときとする。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.1 mol/L 過塩素酸 1 mL = 23.426 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$

貯法 容器 密閉容器。

エリスロマイシン

Erythromycin



$C_{37}H_{67}NO_{13}$: 733.93

(2R, 3S, 4S, 5R, 6R, 8R, 10R, 11R, 12S, 13R)-5-(3, 4, 6-Trimethoxy-3-dimethylamino- β -D-xylo-hexopyranosyloxy)-3-(2, 6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyloxy)-6, 11, 12-trihydroxy-2, 4, 6, 8, 10, 12-hexamethyl-9-oxopentadecan-13-olide [I14-07-8]

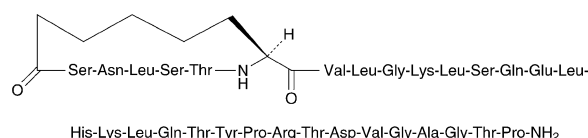
本品は日本抗生物質医薬品基準のエリスロマイシンの条に適合する。

性状 本品は白色～淡黄白色の粉末で、味は苦い。

本品はメタノール、エタノール (95) 又はアセトンに溶けやすく、ジエチルエーテルにやや溶けやすく、水に極めて溶けにくい。

エルカトニン

Elcatonin



His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asp-Val-Gly-Ala-Gly-Thr-Pro-NH₂

$C_{148}H_{244}N_{42}O_{47}$: 3363.77

[60731-46-6]

本品は定量するとき、水分、酢酸を除いたペプチド 1 mg 当たり 5000 ~ 7000 エルカトニン単位を含む。

性状 本品は白色の粉末である。

本品は水に極めて溶けやすく、エタノール (95) に溶けやすく、アセトニトリルにほとんど溶けない。

本品は吸湿性である。

本品の水溶液 (1 → 500) の pH は 4.5 ~ 7.0 である。

確認試験 本品 5 mg に水 5 mL を加えて溶かした液につき、紫外可視吸光度測定法により吸収スペクトルを測定し、本品のスペクトルと本品の参照スペクトルを比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収を認める。

構成アミノ酸 本品約 1 mg を加水分解用試験管にとり、フェノール塩酸試液を加えて溶かし、窒素置換後、減圧下密封し、110 ± 2 °C で 24 時間加熱する。冷後、開封し、加水分解液

を減圧で蒸発乾固し、残留物に 0.02 mol/L 塩酸試液約 1 mL を加えて溶かし、試料溶液とする。別に L-アスパラギン酸 1.33 mg, L-トレオニン 1.19 mg, L-セリン 1.05 mg, L-グルタミン酸 1.47 mg, L-プロリン 1.15 mg, グリシン 0.75 mg, L-アラニン 0.89 mg, L-バリン 1.17 mg, L-2-アミノスベリン酸 1.89 mg, L-ロイシン 1.31 mg, L-チロジン 1.81 mg, 塩酸 L-リジン 1.83 mg, L-ヒスチジン塩酸塩一水和物 2.10 mg 及び塩酸 L-アルギニン 2.11 mg を正確に量り、0.02 mol/L 塩酸試液に溶かし、正確に 50 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 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とき、試料溶液から得たクロマトグラムには構成する 14 種のアミノ酸のピークを認める。また、それぞれの構成するアミノ酸のアラニンに対するモル比を求めるとき、アスパラギン酸は 1.7 ~ 2.2, トレオニンは 3.5 ~ 4.2, セリンは 2.4 ~ 3.0, グルタミン酸は 2.7 ~ 3.2, プロリンは 1.7 ~ 2.2, グリシンは 2.7 ~ 3.2, バリンは 1.6 ~ 2.2, 2-アミノスベリン酸は 0.8 ~ 1.2, ロイシンは 4.5 ~ 5.2, チロジンは 0.7 ~ 1.2, リジンは 1.7 ~ 2.2, ヒスチジンは 0.8 ~ 1.2 及びアルギニンは 0.7 ~ 1.2 である。

操作条件

検出器：可視吸光光度計（測定波長：440 nm 及び 570 nm）

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 8 cm のステンレス管に 3 μ m のスチレンジビニルベンゼン共重合体にスルホン酸基を結合した液体クロマトグラフ用強酸性イオン交換樹脂を充てんする。

カラム温度：50~65 °C の範囲で変化させる。

化学反応槽温度：130 °C 付近の一定温度

発色時間：約 1 分

移動相：それぞれのナトリウムイオン濃度が 0.10 mol/L, 0.135 mol/L, 1.26 mol/L 及び 0.20 mol/L の緩衝液 A, 緩衝液 B, 緩衝液 C 及び緩衝液 D。ただし、緩衝液 A, 緩衝液 B, 緩衝液 C 及び緩衝液 D を用いてナトリウムイオン濃度として 0.10 mol/L から 1.26 mol/L まで段階的に変化させる。

	緩衝液の組成			
	A	B	C	D
クエン酸一水和物	8.85 g	7.72 g	6.10 g	—
クエン酸三ナトリウム 二水和物	3.87 g	10.05 g	26.67 g	—
水酸化ナトリウム	—	—	2.50 g	8.00 g
塩化ナトリウム	3.54 g	1.87 g	54.35 g	—
エタノール (95)	60.0 mL	—	—	60.0 mL
チオジグリコール	5.0 mL	5.0 mL	—	—
精製水	適量	適量	適量	適量
全量	1000 mL	1000 mL	1000 mL	1000 mL

反応試薬：酢酸リチウム二水和物 407 g, 酢酸 (100) 245 mL 及び 1-メトキシ-2-プロパノール 801 mL を混和した後、水を加えて 2000 mL とし約 20 分間窒素を通じながらかき混ぜ、A 液とする。別に、1-メトキシ-2-プロパノール 1957 mL に、ニンヒドリン 77 g 及び水素化ホウ素ナトリウム 0.134 g を加

え、約 20 分間窒素を通じながらかき混ぜ、B 液とする。A 液及び B 液を使用前混和する。

移動相流量：アルギニンの保持時間が約 75 分になるように調整する。

反応試薬流量：毎分約 0.2 mL

カラムの選定：標準溶液 10 μ L につき、上記の条件で操作するとき、アスパラギン酸、トレオニン、セリン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、バリン、2-アミノスベリン酸、ロイシン、チロジン、リジン、ヒスチジン、アルギニンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

純度試験

(1) 酢酸 本品 3 ~ 6 mg を 25 ± 2 °C, 相対湿度 50 ± 5 % の条件下で速やかに精密に量り、内標準溶液 1 mL を正確に加えて混和し、試料溶液とする。別に酢酸 (100) 約 0.5 g を精密に量り、内標準溶液を加えて溶かし正確に 100 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、内標準溶液を加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20 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い、内標準物質のピーク面積に対する酢酸のピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求めるとき、酢酸の量は 7.0 % 以下である。

$$\text{酢酸 (CH}_3\text{COOH) の量 (\%)} = \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{W_{ST}}{W_{SA}} \times 50$$

W_{ST} : 酢酸 (100) の採取量 (g)

W_{SA} : 試料の採取量 (mg)

内標準溶液：クエン酸一水和物の水溶液 (1 → 4000)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210 nm）

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度：25 °C 付近の一定温度

移動相：リン酸水素二アンモニウム 13.2 g を水 900 mL に溶かし、リン酸を加えて pH を 2.5 に調整した後、水を加えて 1000 mL とする。

流量：酢酸の保持時間が約 4 分になるように調整する。

カラムの選定：標準溶液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、酢酸、クエン酸の順に溶出し、その分離度が 2.0 以上のものを用いる。

(2) 類縁物質 本品 1.0 mg をトリフルオロ酢酸試液/アセトニトリル混液 (2 : 1) 1 mL に溶かし、試料溶液とする。この液 0.3 mL を正確に量り、トリフルオロ酢酸試液/アセトニトリル混液 (2 : 1) を加えて正確に 10 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 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するとき、試料溶液のエルカトニン以外のピークの合計面積は、標準溶液のエルカトニンのピーク面積より大きくなく、かつ、試料溶液のエルカトニン以外の個々のピーク面積は、標準溶液のエルカトニンのピーク面積の $\frac{1}{3}$ より大きくない。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：225 nm）

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 15 cm のステンレス管

に 5 μ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度：40 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相：トリフルオロ酢酸試液/アセトニトリル混液（混合比を 85：15 から 30 分後に 55：45 になるようにする）

流量：エルカトニンの保持時間が約 25 分になるように調整する。

カラムの選定：本品 2 mg をエルカトニン試験用トリプシン試液 200 μ L に溶かす。この液を 37 $^{\circ}$ C で 1 時間加温し、その後、酢酸 (100) 1 滴を加え、95 $^{\circ}$ C で 1 分間加熱する。この液 10 μ L に試料溶液 50 μ L を加え、混ぜ合わせる。この液 10 μ L につき、上記の条件で操作するとき、エルカトニンのピークの直前に溶出するピークとエルカトニンのピークの分離度が 2.0 以上であり、かつ、エルカトニンの保持時間が約 25 分のものを用いる。

検出感度：標準溶液 10 μ L から得られたエルカトニンのピーク高さが 50 ~ 200 mm になるように調整する。

面積測定範囲：溶媒のピークの後からクロマトグラム上に現れる濃度勾配が規則的に変化し続ける範囲

水分 本品 1 ~ 3 mg を速やかに精密に量り、水分測定法 2. 電量滴定法により試験を行うとき、水分は 8.0 % 以下である。ただし、秤量は 25 \pm 2 $^{\circ}$ C、相対湿度 50 \pm 5 % の条件下で行う。

窒素含量 本品の 0.015 ~ 0.02 g を 25 \pm 2 $^{\circ}$ C、相対湿度 50 \pm 5 % の条件下で速やかに量り、窒素定量法により試験を行うとき、窒素 (N：14.01) の量は、水分及び酢酸を除いたペプチドに対し、16.1 ~ 18.7 % である。

定量法

(i) 試験動物 体重 90 ~ 110 g の健康なスプラグ・ドゥリー系雄ラットを用い、試験前 3 日間以上飼育室で一定の飼料及び水を与えて飼育する。

(ii) エルカトニン用溶解液 酢酸ナトリウム三水和物 2.72 g に水を加えて溶かし 200 mL とし、ウシ血清アルブミン 0.2 g を加え酢酸 (100) で pH が 6.0 になるように調整する。用時製する。

(iii) 標準溶液 エルカトニン標準品にエルカトニン用溶解液を加えて溶かし、その 1 mL 中に正確に 0.075 単位及び 0.0375 単位を含む溶液とし、それぞれ高用量標準溶液 S_H 及び低用量標準溶液 S_L とする。

(iv) 試料溶液 本品の 0.5 ~ 2.0 mg を 25 \pm 2 $^{\circ}$ C、相対湿度 50 \pm 5 % の条件下で速やかに精密に量り、エルカトニン用溶解液を加えて溶かし、その 1 mL 中に高用量標準溶液 S_H 及び低用量標準溶液 S_L に相当する単位を含む溶液を調製し、それぞれ高用量試料溶液 T_H 及び低用量試料溶液 T_L とする。

(v) エルカトニン用除たん白液 トリクロロ酢酸 160 g 及び塩化ストロンチウム 30.6 g に水を加えて 3600 mL とする。

(vi) 操作法 試験動物を 4 群に分け、各群は 10 匹以上で同数とする。各試験動物は注射前 18 ~ 24 時間飼料を与えないで、試験中は最後の採血が終わるまで水をも与えない。

い。また、試験中は試験動物に強い刺激を与えないように注意して取り扱う。

投与は次に示すように標準溶液及び試料溶液を各試験動物の尾静脈に 1 匹当たり正確に 0.2 mL ずつ注射する。

第 1 群 S_H 第 3 群 T_H
第 2 群 S_L 第 4 群 T_L

注射 1 時間後、エーテル麻醉下で各試験動物の頸動脈及び頸静脈から試験を行うのにじゅうぶん量の血液をとり、この血液を遠心分離して血清を分取し、(vii) によってその血清カルシウムを定量する。

(vii) 血清カルシウム定量法 血清 0.3 mL を正確にとり、エルカトニン用除たん白液を加えて正確に 3 mL とし、よく振り混ぜた後遠心分離し、その上澄液をカルシウム定量用試料溶液とする。別に原子吸光度用カルシウム標準液 1 mL を正確にとり、塩化ナトリウム溶液 (17 \rightarrow 2000) を加えて正確に 10 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、エルカトニン用除たん白液を加えて正確に 50 mL とし、カルシウム定量用標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、次の条件で原子吸光度法により吸光度 A_T 及び A_S を測定する。また、水 1 mL をとり、以下標準溶液と同様に操作して得た液につき吸光度 A_0 を測定する。

$$\begin{aligned} & \text{血清 100 mL 中のカルシウム (Ca) の量 (mg)} \\ & = 0.01 \times \frac{A_T - A_0}{A_S - A_0} \times 10 \times 100 \end{aligned}$$

使用ガス：

可燃性ガス アセチレン

支燃性ガス 空気

ランプ：カルシウム中空陰極ランプ

波長：422.7 nm

(viii) 計算法 (vii) 血清カルシウム定量法において、 S_H 、 S_L 、 T_H 及び T_L によって得た血清 100 mL 中のカルシウムの量をそれぞれ y_1 、 y_2 、 y_3 及び y_4 とする。更に各群の y_1 、 y_2 、 y_3 及び y_4 を合計してそれぞれ Y_1 、 Y_2 、 Y_3 及び Y_4 とする。

水分、酢酸を除いたペプチド 1 mg 当たりの単位数

$$= \text{antilog } M \times (\text{高用量標準溶液 1 mL 中の単位数}) \times \frac{b}{a}$$

$$M = 0.3010 \times \frac{Y_a}{Y_b}$$

$$Y_a = -Y_1 - Y_2 + Y_3 + Y_4$$

$$Y_b = Y_1 - Y_2 + Y_3 - Y_4$$

a ：試料採取量 (mg)

$$\times \frac{100 - [\text{水分含量} (\%) + \text{酢酸含量} (\%)]}{100}$$

b ：試料にエルカトニン用溶解液を加えて溶かし、高用量試料溶液を製した時の全容量 (mL)

ただし、次の式によって計算される F' は s^2 を計算したときの n に対する表中の F より小さい。また、次の式によって L ($P=0.95$) を計算するとき、 L は 0.20 以下である。もし、 F' が F を、また L が 0.20 を越えるときは、この値以下になるまで試験動物の数を増加し、あるいは実験条件を整備して試験を繰り返す。

$$F' = \frac{(-Y_1 + Y_2 + Y_3 - Y_4)^2}{4fs^2}$$

f : 各群の試験動物の数

$$s^2 = \frac{\sum y^2 - \frac{Y^2}{f}}{n}$$

$\sum y^2$: 各群の y_1, y_2, y_3 及び y_4 をそれぞれ 2 乗し合計した値

$$Y = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + Y_4^2$$

$$n = 4(f-1)$$

$$L = 2\sqrt{(C-1)(CM^2 + 0.09062)}$$

$$C = \frac{Y_b^2}{Y_b^2 - 4fs^2t^2}$$

$t^2: s^2$ を計算したときの n に対する次の表の値

n	$t^2=F$	n	$t^2=F$	n	$t^2=F$
1	161.45	13	4.667	25	4.242
2	18.51	14	4.600	26	4.225
3	10.129	15	4.543	27	4.210
4	7.709	16	4.494	28	4.196
5	6.608	17	4.451	29	4.183
6	5.987	18	4.414	30	4.171
7	5.591	19	4.381	40	4.085
8	5.318	20	4.351	60	4.001
9	5.117	21	4.325	120	3.920
10	4.965	22	4.301	∞	3.841
11	4.844	23	4.279		
12	4.747	24	4.260		

貯法

保存条件 8°C 以下で保存する。

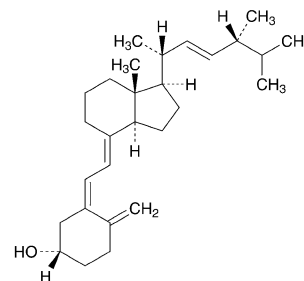
容器 気密容器。

エルゴカルシフェロール

Ergocalciferol

ビタミン D₂

カルシフェロール



C₂₈H₄₄O : 396.65

(3S, 5Z, 7E, 22E)-9, 10-Secoergosta-5, 7, 10(19), 22-tetraen-3-ol [50-14-6]

本品は定量するとき、エルゴカルシフェロール (C₂₈H₄₄O) 97.0 ~ 103.0 % を含む。

性状 本品は白色の結晶で、においはないか、又はわずかに特異なにおいがある。

本品はエタノール (95)、ジエチルエーテル又はクロロホルムに溶けやすく、イソオクタンにやや溶けにくく、水にほとんど溶けない。

本品は空気又は光によって変化する。

融点: 115 ~ 118°C 本品を毛細管に入れ、デシケター (減圧・2.67 kPa 以下) で 3 時間乾燥した後、毛細管を直ちに融封し、予想した融点の約 10°C 下の温度に加熱した浴中に入れ、1 分間に 3°C 上昇するように加熱し、測定する。

確認試験

(1) 本品 0.5 mg をクロロホルム 5 mL に溶かし、無水酢酸 0.3 mL 及び硫酸 0.1 mL を加えて振り混ぜるとき、液は赤色を呈し、直ちに紫色及び青色を経て緑色に変わる。

(2) 本品につき、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により試験を行い、本品のスペクトルと本品の参照スペクトル又はエルゴカルシフェロール標準品のスペクトルを比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (265 nm) : 455 ~ 485 (0.01 g, エタノール (95), 1000 mL).

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +102 ~ +107° (0.3 g, エタノール (95), 20 mL, 100 mm). この試験は開封後 30 分以内に溶かし、溶液調製後 30 分以内に測定する。

純度試験 エルゴステロール 本品 0.010 g をとり、薄めたエタノール (9 → 10) 2.0 mL に溶かし、ジギトニン 0.020 g を薄めたエタノール (9 → 10) 2.0 mL に溶かした液を加え、18 時間放置するとき、沈殿を生じない。

定量法 本品及びエルゴカルシフェロール標準品約 0.03 g ずつを精密に量り、それぞれをイソオクタンに溶かし、正確に 50 mL とする。この液 10 mL ずつを正確に量り、それぞれに内標準溶液 3 mL ずつを正確に加えた後、移動相を