

貯法 容器 気密容器。

過マンガン酸カリウム

Potassium Permanganate

KMnO₄ : 158.03

本品を乾燥したものは定量するとき、過マンガン酸カリウム (KMnO₄) 99.0 % 以上を含む。

性状 本品は暗紫色の結晶で、金属性光沢がある。

本品は水にやや溶けやすい。

本品の水溶液 (1 → 1000) はやや甘味があり、取れん性である。

確認試験 本品の水溶液 (1 → 100) は過マンガン酸塩の定性反応を呈する。

純度試験

(1) 水不溶物 本品を粉末とし、その 2.0 g を水 200 mL に溶かし、質量既知のガラスろ過器 (G4) を用いてろ過し、不溶物を洗液が無色となるまで水で洗い、105 °C で 2 時間乾燥するとき、その量は 4 mg 以下である。

(2) ヒ素 本品 0.40 g を水 10 mL に溶かし、硫酸 1 mL を加え、過酸化水素 (30) を滴加して完全に脱色した後、砂浴上でほとんど蒸発し、残留物を水 5 mL に溶かす。これを検液とし、装置 B を用いる方法により試験を行うとき、次の標準色より濃くない。

標準色：水 10 mL に硫酸 1 mL 及び検液の調製と同量の過酸化水素 (30) を加え、砂浴上でほとんど蒸発し、ヒ素標準液 2.0 mL 及び水を加えて 5 mL とし、以下検液の試験と同様に操作する (5 ppm 以下)。

乾燥減量 0.5 % 以下 (1 g, シリカゲル, 18 時間)。

定量法 本品を乾燥し、その約 0.6 g を精密に量り、水に溶かし正確に 200 mL とし、試料溶液とする。0.05 mol/L シュウ酸液 25 mL を 500 mL の三角フラスコ中に正確に量り、薄めた硫酸 (1 → 20) 200 mL を加え、液温を 30 ~ 35 °C とし、試料溶液をビュレットに入れ、穏やかに振り混ぜながら、その 23 mL を速やかに加え、液の赤色が消えるまで放置する。次に 55 ~ 60 °C に加温し、30 秒間持続する赤色を呈するまで、徐々に滴定する。

0.05 mol/L シュウ酸液 1 mL = 3.1605 mg KMnO₄

貯法 容器 気密容器。

カリジノゲナーゼ

Kallidinogenase

[9001-01-8]

本品は健康なブタの膵臓から得た酵素で、キニノーゲンを分解し、キニンを遊離する作用がある。1 mg 中にカリジノゲナーゼ 25 単位以上を含む。

通例、「乳糖」等で薄めてある。

本品は定量するとき、表示単位の 90 ~ 110 % を含む。

性状 本品は白色～淡褐色の粉末で、においはないか、又はわずかに特異なにおいがある。

本品は水に溶けやすく、エタノール (95) 又はジエチルエーテルにほとんど溶けない。

本品の水溶液 (1 → 300) の pH は 5.5 ~ 7.5 である。

確認試験

(1) 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中にカリジノゲナーゼ 10 単位を含む溶液を調製する。この溶液 5 mL を正確に量り、これにトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に加え、更に pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とする。この液 4 mL ずつを正確に量り、別々の試験管に入れ、一方にはアプロチニン試液 1 mL を、他方には pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液 1 mL をそれぞれ正確に加え、室温で 20 分間放置し、それぞれ試料溶液 1 及び 2 とする。別にトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に量り、これに pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とする。この液 4 mL ずつを正確に量り、別々の試験管に入れ、一方にはアプロチニン試液 1 mL を、他方には pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液 1 mL をそれぞれ正確に加え、同様に室温で 20 分間放置し、それぞれ試料溶液 3 及び 4 とする。次にあらかじめ 30.0 ± 0.5 °C で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (1) 2.5 mL を正確に量り、層長 1 cm のセルに入れ、これに 30.0 ± 0.5 °C で 5 分間加温した試料溶液 1 を正確に 0.5 mL 加えると同時に秒時計を始動させ、30.0 ± 0.5 °C で水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、正確に 2 分及び 6 分後の波長 405 nm における吸光度 A_{1-2} 及び A_{1-6} を測定する。試料溶液 2, 3 及び 4 について同様に試験を行い、それぞれ吸光度 A_{2-2} , A_{2-6} , A_{3-2} , A_{3-6} , A_{4-2} 及び A_{4-6} を測定する。次式により I の値を求めるとき、 I の値は 0.2 より小さい。

$$I = \frac{(A_{1-6} - A_{1-2}) - (A_{3-6} - A_{3-2})}{(A_{2-6} - A_{2-2}) - (A_{4-6} - A_{4-2})}$$

(2) あらかじめ 30 ± 0.5 °C で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (2) 2.9 mL を正確に量り、層長 1 cm のセルに入れ、これに定量法で得た試料溶液 0.1 mL を正確に加えると同時に秒時計を始動させ、30.0 ± 0.5 °C で紫外可視吸光度測定法により試験を行い、4 ~ 6 分間、波長 253 nm における吸光度の変化を測定する。ただし、別にトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に量り、これに pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とする。この液 0.1 mL を正確に量り、あらかじめ 30.0 ± 0.5 °C で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (2) 2.9 mL を正確に量ったものに加えた液を対照とする。その吸光度の変化率が一定であるとき、1 分間当りの吸光度の変化量 A を算出する。次式により R の値を求めるとき、 R の値は 0.12 ~ 0.16 である。

$$R = \frac{A}{0.0383} \times \frac{1}{a \times b}$$

a : 試料溶液 1 mL 中の本品の量 (mg)

b : 定量法で得た本品 1 mg 中のカリジノゲナーゼ単位数

比活性 本品につき、窒素定量法により窒素含量を測定し、窒素 (N : 14.007) 1 mg をたん白質 6.25 mg に換算し、定量法で得た単位数から比活性を求めるとき、たん白質 1

mg 当りカリジノゲナーゼ 100 単位以上である。

純度試験

(1) 脂肪 本品 1.0 g にジエチルエーテル 20 mL を加え、時々振り混ぜ 30 分間抽出した後、ろ過し、ジエチルエーテル 10 mL で洗い、ろ液及び洗液を合わせ、ジエチルエーテルを蒸発し、残留物を 105 °C で 2 時間乾燥するとき、その量は 1 mg 以下である。

(2) キナーゼ

(i) ブラジキニン溶液 ブラジキニンの適量を取り、pH 7.4 のゼラチン・リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中にブラジキニン 0.200 μ g を含む溶液を調製する。

(ii) カリジノゲナーゼ溶液 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、pH 7.4 のゼラチン・リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中にカリジノゲナーゼ 1 単位を含む溶液を調製する。

(iii) 試料溶液 ブラジキニン溶液 0.5 mL を正確に量り、30 \pm 0.5 °C で 5 分間加温し、あらかじめ 30 \pm 0.5 °C で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ溶液 0.5 mL を正確に加え、直ちに振り混ぜる。この液を 30.0 \pm 0.5 °C で正確に 150 秒間放置した後、トリクロロ酢酸溶液 (1 \rightarrow 5) 0.2 mL を正確に加えて振り混ぜる。3 分間煮沸し、直ちに氷冷した後、遠心分離し、室温で 15 分間放置する。上澄液 0.5 mL を正確に量り、pH 8.0 のゼラチン・トリス緩衝液 0.5 mL を正確に加えて振り混ぜる。この液 0.1 mL を正確に量り、トリクロロ酢酸・ゼラチン・トリス緩衝液 0.9 mL を正確に加えて振り混ぜ、更に 0.2 mL を正確に量り、トリクロロ酢酸・ゼラチン・トリス緩衝液 0.6 mL を正確に加えて振り混ぜ、試料溶液とする。

(iv) 対照溶液 pH 7.4 のゼラチン・リン酸塩緩衝液 0.5 mL につき (iii) と同様に操作して対照溶液とする。

(v) 操作法 96 ウェルマイクロプレートの抗ウサギ抗体結合ウェルに抗ブラジキニン抗体試液 0.1 mL を加え、振り混ぜた後、25 °C 付近の一定温度で 1 時間放置する。抗ブラジキニン抗体試液を除き、マイクロプレート洗浄用リン酸塩緩衝液 0.3 mL を加えて除く。これを 3 回繰り返す。液をよく除いた後、試料溶液及び対照溶液 100 μ L と pH 7.0 のゼラチン・リン酸塩緩衝液 50 μ L を加え、振り混ぜた後、25 °C 付近の一定温度で 1 時間放置する。次にペルオキシダーゼ標識ブラジキニン試液 50 μ L を加え、振り混ぜた後、冷所で一晩放置する。反応液を除き、マイクロプレート洗浄用リン酸塩緩衝液 0.3 mL を加えて除く。これを 4 回繰り返す。液をよく除いた後、ペルオキシダーゼ測定用基質液 100 μ L を加え、25 °C 付近の一定温度で遮光して正確に 30 分間放置した後、薄めた硫酸 (23 \rightarrow 500) 100 μ L を加え、振り混ぜた後、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 490 ~ 492 nm における吸光度を測定する。別に、ブラジキニンの適量を取り、pH 7.0 のゼラチン・リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中に正確に 100 ng, 25 ng, 6.25 ng, 1.56 ng, 0.39 ng, 0.098 ng を含むように調製し、それぞれ標準溶液 (1), 標準溶液 (2), 標準溶液 (3), 標準溶液 (4), 標準溶液 (5), 標準溶液 (6) とする。また、pH 7.0 のゼラチン・リン酸塩緩衝液 1 mL を標準溶液 (7) とする。ウェルにそれぞれの標準溶液 50 μ L とトリクロロ酢酸・ゼラチン・トリス緩衝液 100 μ L を加

え、以下試料溶液及び対照溶液と同様に操作する。

標準溶液のブラジキニン量と吸光度から検量線を作成し、試料溶液及び対照溶液のブラジキニン量 B_T (pg) 及び B_S (pg) を求める。

なお、この試験の吸光度測定には、通例、マイクロプレート用の分光光度計を用いる。ウェルが吸光度測定セルとなるので、汚れ、傷に注意する。また、層長はウェルの液量によって変動するため、正確な一定量の液をウェルに加える。

(vi) 判定 次式により R の値を求めるとき R の値は 0.8 以上である。

$$R = \frac{B_T}{B_S}$$

(3) トリプシン様物質 定量法で得た試料原液 4 mL を正確に量り、これにトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に加え、更に pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とし、試料溶液とする。あらかじめ 30 \pm 0.5 °C で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (1) 2.5 mL を正確に量り、層長 1 cm のセルに入れ、これに 30 \pm 0.5 °C で 5 分間加温した試料溶液 0.5 mL を正確に加えると同時に秒時計を始動させ、30 \pm 0.5 °C で水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、正確に 2 分及び 6 分後の波長 405 nm における吸光度 A_2 及び A_6 を測定する。別に試料原液 4 mL を正確に量り、これに pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とし、比較液とする。比較液につき、試料溶液と同様に試験を行い、吸光度 A'_2 及び A'_6 を測定する。次式により T の値を求めるとき、 T の値は 0.05 以下である。

$$T = \frac{(A'_6 - A'_2) - (A_6 - A_2)}{(A'_6 - A'_2)}$$

(4) プロテアーゼ 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中にカリジノゲナーゼ 1 単位を含む溶液を調製し、これを試料溶液とする。試料溶液 1 mL を正確に量り、試験管に入れ、35 \pm 0.5 °C に 5 分間保つ。次にあらかじめ 35 \pm 0.5 °C に加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (3) 5 mL を正確に量り、試験管中の試料溶液に速やかに加え、35 \pm 0.5 °C で正確に 20 分間反応させた後、トリクロロ酢酸試液 5 mL を正確に加えてよく振り混ぜ、室温で 1 時間放置し、メンブランフィルター (孔径 5 μ m) を用いてろ過する。初めのろ液 3 mL を除き、次のろ液につき、2 時間以内に水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 280 nm における吸光度 A を測定する。別に試料溶液 1 mL を正確に量り、トリクロロ酢酸試液 5 mL を正確に加えてよく振り混ぜた後、カリジノゲナーゼ測定用基質試液 (3) 5 mL を正確に加え、以下同様に操作して吸光度 A_0 を測定する。ここで得られた値から $A - A_0$ を計算するとき、その値は 0.2 以下である。

乾燥減量 2.0 % 以下 (0.5 g, 減圧, 酸化リン (V), 4 時間)。

強熱残分 3.0 % 以下 (0.5 g, 650 ~ 750 °C)。

キニン遊離活性試験

(i) カリジノゲナーゼ溶液 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、pH 8.0 の 0.02 mol/L リン酸塩緩衝

液に溶かし、その 1 mL 中にカリジノゲナーゼ 0.1 単位を含む溶液を調製する。なお、本溶液の調製はガラス製器具を用いて行う。

(ii) 試料溶液キニノーゲン試液 0.5 mL を正確に量り、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間加温し、あらかじめ $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ溶液 0.5 mL を正確に加え、直ちに振り混ぜる。この液を $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 2 分間放置した後、トリクロロ酢酸溶液 (1→5) 0.2 mL を正確に加えて振り混ぜる。3 分間煮沸し、直ちに氷冷した後、遠心分離し、室温で 15 分間放置する。上澄液 0.5 mL を正確に量り、pH 8.0 のゼラチン・トリス緩衝液 0.5 mL を正確に加えて振り混ぜる。この液 0.1 mL を正確に量り、トリクロロ酢酸・ゼラチン・トリス緩衝液 1.9 mL を正確に加えて振り混ぜ、試料溶液とする。

(iii) 操作法 試料溶液につき、純度試験 (2) を準用して、1 ウェル当たりのキニン量 B (pg) を測定する。次式により本品 1 単位のキニン遊離活性を求めるとき、500 ng ブラジキニン等量/分/単位以上である。

$$\begin{aligned} & \text{本品 1 単位のキニン遊離活性} \\ & (\text{ng ブラジキニン等量/分/単位}) = B \times 4.8 \end{aligned}$$

定量法 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液に溶かし、その 1 mL 中にカリジノゲナーゼ約 10 単位を含む溶液を調製し、これを試料原液とする。試料原液 4 mL を正確に量り、これにトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に加え、更に pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とし、試料溶液とする。あらかじめ $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間加温したカリジノゲナーゼ測定用基質試液 (1) 2.5 mL を正確に量り、層長 1 cm のセルに入れ、これに $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間加温した試料溶液 0.5 mL を正確に加えると同時に秒時計を始動させ、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、正確に 2 分及び 6 分後の波長 405 nm における吸光度 A_{T2} 及び A_{T6} を測定する。別にカリジノゲナーゼ標準品 1 アンプルをとり、pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 4 mL を正確に量り、これにトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に加え、更に pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とし、標準溶液とする。標準溶液 0.5 mL を正確に量り、試料溶液と同様に試験を行い、正確に 2 分及び 6 分後の吸光度 A_{S2} 及び A_{S6} を測定する。別にトリプシンインヒビター試液 1 mL を正確に量り、これに pH 7.0 の 0.05 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて正確に 10 mL とする。この液 0.5 mL を正確に量り、試料溶液と同様に試験を行い、正確に 2 分及び 6 分後の吸光度 A_{O2} 及び A_{O6} を測定する。

本品 1 mg 中のカリジノゲナーゼ単位数

$$= \frac{(A_{T6} - A_{T2}) - (A_{O6} - A_{O2})}{(A_{S6} - A_{S2}) - (A_{O6} - A_{O2})} \times \frac{a}{10} \times \frac{1}{b}$$

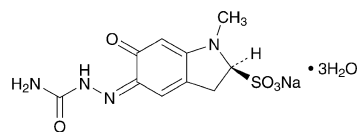
a : カリジノゲナーゼ標準品の採取量 (単位)

b : 試料原液 1 mL 中の本品の量 (mg)

貯法 容器 気密容器。

カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム

Carbazochrome Sodium Sulfonate



及び鏡像異性体

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{NaO}_5\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: 376.32

Monosodium (RS)-2, 3, 5, 6-tetrahydro-1-methyl-6-oxo-5-semicarbazonoindole-2-sulfonate trihydrate
[51460-26-5, 無水物]

本品は定量するとき、換算した脱水物に対し、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム ($\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{NaO}_5\text{S}$: 322.27) 98.0 ~ 102.0 % を含む。

性状 本品はだいたい黄色の結晶又は結晶性の粉末である。

本品は水にやや溶けにくく、メタノール又はエタノール (95) に極めて溶けにくく、ジエチルエーテルにほとんど溶けない。

本品の水溶液 (1 → 100) は旋光性を示さない。

融点: 約 210°C (分解)。

確認試験

(1) 本品の水溶液 (1 → 100000) 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。

(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。

(3) 本品の水溶液 (1 → 100) はナトリウム塩の定性反応 (1) を呈する。

pH 本品 0.8 g を水 50 mL に加温して溶かし、冷却した液の pH は 5.0 ~ 6.0 である。

純度試験

(1) 溶状 本品 1.0 g を水 50 mL に加温して溶かし、放冷するとき、液は澄明である。また、この液につき、紫外可視吸光度測定法により試験を行うとき、波長 590 nm における吸光度は 0.070 以下である。

(2) 重金属 本品 1.0 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 (20 ppm 以下)。

(3) 類縁物質 本品 0.050 g を水 100 mL に溶かし、試料溶液とする。この液 2 mL を正確に量り、水を加えて正確に 200 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 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。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、試料溶液のカルバゾクロムスルホン酸以外のピークの合計面積は標準溶液のカルバゾクロムスルホン酸のピーク面積より大きくない。

操作条件

検出器: 紫外吸光度計 (測定波長: 360 nm)