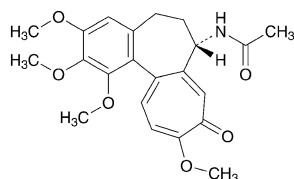


- (1) 試験菌 *Escherichia coli* NIHJ を用いる。
- (2) 培地 ペプトン 10.0 g, 塩化ナトリウム 30.0 g, 肉エキス 3.0 g 及びカンテン 20.0 g をとり, 水 1000 mL を加え, 水酸化ナトリウム試液を用いて滅菌後の pH が 6.5 ~ 6.6 となるように調整した後, 滅菌し, 種層用カンテン培地及び基層用カンテン培地とする。
- (3) 標準溶液 コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム標準品を乾燥し, その適量を精密に量り, pH 6.0 のリン酸塩緩衝液に溶かし, 1 mL 中に 100000 単位を含む液を調製し, 標準原液とする。標準原液は, 10 °C 以下に保存し, 7 日以内に使用する。用時, 標準原液適量を正確に量り, pH 6.0 のリン酸塩緩衝液を加えて 1 mL 中に 10000 単位及び 2500 単位を含むように薄め, 高濃度標準溶液及び低濃度標準溶液とする。
- (4) 試料溶液 本品を乾燥し, その適量を精密に量り, pH 6.0 のリン酸塩緩衝液に溶かし, 1 mL 中に約 100000 単位を含む液を調製し, 試料原液とする。試料原液適量を正確に量り, pH 6.0 のリン酸塩緩衝液を加えて 1 mL 中に 10000 単位及び 2500 単位を含むように薄め, 高濃度試料溶液及び低濃度試料溶液とする。

貯法 容器 気密容器。

コルヒチン

Colchicine



$C_{22}H_{25}NO_6$: 399.44

N-[(7*S*)-(5, 6, 7, 9-Tetrahydro-1, 2, 3, 10-tetramethoxy-9-oxobenzo[*a*]heptalen-7-yl)]acetamide [64-86-8]

本品を乾燥したものは定量するとき, コルヒチン ($C_{22}H_{25}NO_6$) 96.0 % 以上を含む。

性状 本品は帯黄類白色の粉末で, においはない。

本品は無水酢酸又はエタノール (95) に溶けやすく, 水にやや溶けにくく, ジエチルエーテルに極めて溶けにくい。

本品は光によって着色する。

確認試験

- (1) 本品のエタノール (95) 溶液 (1 → 20) 1 mL に塩化鉄 (III) 試液 1 滴を加えるとき, 液は暗い赤みのだいたい色を呈する。
- (2) 本品 1 mg を磁製皿にとり, 硫酸 2 滴を加えて溶かすとき, 液は黄色を呈する。この液に硝酸 1 滴を加えるとき, 青緑色を経て, 紫色に変わり, 次に黄色になる。更に水酸化ナトリウム試液 5 mL を加えるとき, 液は赤みを帯びる。
- (3) 本品 0.01 g に希塩酸 0.5 mL 及び水 10 mL を加えて溶かし, 還流冷却器を付け, 1 時間煮沸する。これに温湯 40 mL を加えて振り混ぜた後, 温時ろ過する。冷後, ろ

液をクロロホルム 20 mL で抽出する。クロロホルム抽出液をろ過し, ろ液を水浴上で蒸発乾固する。残留物を 1,4-ジオキサン 0.5 mL に溶かし, ジエチルエーテル 10 mL を加え, 析出した結晶をろ取し, 少量のジエチルエーテルで洗った後, 105 °C で 1 時間乾燥するとき, その融点は 176 ~ 179 °C である。

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: -230 ~ -245° (乾燥後, 0.1 g, エタノール (95), 10 mL, 100 mm)。

純度試験

- (1) クロロホルム 本品 0.010 g に水酸化ナトリウム試液 2 mL 及びアニリン 1 滴を加え, 振り混ぜながら加熱するとき, フェニルイソシアニド (有毒) のにおいを発生しない。
- (2) コルヒセイン 本品 0.10 g を水 10 mL に溶かし, その 5 mL に塩化鉄 (III) 試液 2 滴を加えるとき, 液は明らかに認められる緑色を帯びない。
- (3) 他のアルカロイド 本品 0.10 g を水 20 mL に溶かし, その 2.0 mL に 2,4,6-トリニトロフェノール試液 0.5 mL を加えるとき, 液は澄明である。

乾燥減量 5.0 % 以下 (1 g, 105 °C, 3 時間)。

強熱残分 0.10 % 以下 (1 g)。

定量法 本品を乾燥し, その約 0.4 g を精密に量り, 無水酢酸 25 mL に溶かし, 0.05 mol/L 過塩素酸で滴定する (電位差滴定法)。同様の方法で空試験を行い, 補正する。

0.05 mol/L 過塩素酸 1 mL = 19.972 mg $C_{22}H_{25}NO_6$

貯法

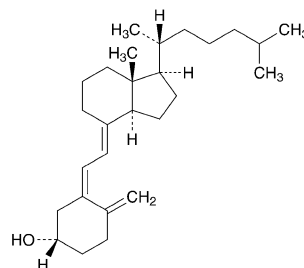
保存条件 遮光して保存する。

容器 気密容器。

コレカルシフェロール

Cholecalciferol

ビタミン D₃



$C_{27}H_{44}O$: 384.64

(3*S*, 5*Z*, 7*E*)-9, 10-Secocholesta-5, 7, 10(19)-trien-3-ol [67-97-0]

本品は定量するとき, コレカルシフェロール ($C_{27}H_{44}O$) 97.0 ~ 103.0 % を含む。

性状 本品は白色の結晶で, においはない。

本品はエタノール (95), クロロホルム, ジエチルエーテル又はイソオクタンに溶けやすく, 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：84～88℃ 本品を毛細管に入れ、デシケーター（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℃下の温度に加熱した浴中に入れ、1分間に3℃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コレ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) : 450～490 (0.01 g, エタノール(95), 1000 mL).

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +103～+112° (0.05 g, エタノール(95), 10 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 7-デヒドロコレステロール 本品0.010 g を薄めたエタノール(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 本品及びコレ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 を正確に加えた後、移動相を加えて50 mL とし、試料溶液及び標準溶液とする。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い、内標準物質のピーク面積に対するコレカルシフェロールのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求める。ただし、操作はできるだけ空気又は酸化剤との接触を避け、遮光容器を用いて行う。

$$\text{コレカルシフェロール (C}_{27}\text{H}_{44}\text{O) の量 (mg)} \\ = \text{コレカルシフェロール標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S}$$

内標準溶液 フタル酸ジメチルのイソオクタン溶液(1→100)

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）

カラム：内径約4 mm、長さ10～30 cm のステンレス管に5～10 μm の液体クロマトグラフ用シリカゲルを充てんする。

カラム温度：常温

移動相：ヘキサン/*n*-アミルアルコール混液(997:3)

流量：コレカルシフェロールの保持時間が約25分になるように調整する。

カラムの選定：コレカルシフェロール標準品0.015 g をイソオクタン25 mL に溶かす。この液をフラスコに移し、還流冷却器を付け、油浴中で2時間加熱し、速やかに室温まで冷却する。この液を石英試験管に移し、短波長ランプ（主波長254 nm）及び長波長ランプ（主波長365 nm）を用いて3時間照射する。この液10 mL に移動相を加えて50 mL とする。この

液10 μL につき、上記の条件で操作するとき、コレカルシフェロールの保持時間に対するプレビタミンD₃、トランス-ビタミンD₃及びタチステロール₃の保持時間の比は、約0.5、約0.6及び約1.1であり、またプレビタミンD₃とトランス-ビタミンD₃及びコレカルシフェロールとタチステロール₃の分離度がそれぞれ1.0以上のものを用いる。

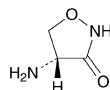
貯法

保存条件 遮光して、空気を「窒素」で置換し、冷所に保存する。

容器 密封容器。

サイクロセリン

Cycloserine



C₅H₈N₂O₂ : 102.09

(4R)-4-Aminoisoxazolidin-3-one [68-41-7]

本品は定量するとき、換算した乾燥物1 mg 当たり900 μg（力価）以上を含む。ただし、本品の力価はサイクロセリン(C₅H₈N₂O₂)としての量を質量（力価）で示す。

性状 本品は白色～淡黄白色の結晶又は結晶性の粉末である。

本品は水にやや溶けやすく、エタノール(95)にやや溶けにくい。

確認試験 本品を乾燥し、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乾燥したサイクロセリン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。

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +108～+114°（乾燥物に換算したもの2.5 g, 2 mol/L 水酸化ナトリウム試液, 50 mL, 100 mm）。

pH 本品1.0 g を水20 mL に溶かした液のpHは5.0～7.4である。

純度試験

(1) 重金属 本品1.0 g をとり、第4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)。

(2) 縮合生成物 本品0.02 g をとり、水酸化ナトリウム試液に溶かし、正確に50 mL とする。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285 nm における吸光度は、0.8 以下である。

乾燥減量 1.5 % 以下(0.5 g, 減圧, 60℃, 3時間)。

強熱残分 0.5 % 以下(1 g)。

定量法 次の条件に従い、抗生物質の微生物学的力価試験法 I. 円筒平板法により試験を行う。

(1) 試験菌 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を用いる。

(2) 培地 培地(1)の1)のiを用いる。ただし、減