

1 9.41 試薬・試液

2 以下の試薬・試液を次のように改める。

3 (E)-アサロン $C_{12}H_{16}O_3$ 白色の粉末である。メタノール又
4 はエタノール(99.5)に溶けやすく、水にほとんど溶けない。
5 融点：約60℃。

6 確認試験 本品につき、赤外吸収スペクトル測定法(2.25)
7 の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、波数2990 cm^{-1} 、
8 2940 cm^{-1} 、2830 cm^{-1} 、1609 cm^{-1} 、1519 cm^{-1} 、1469 cm^{-1} 、
9 1203 cm^{-1} 、1030 cm^{-1} 、970 cm^{-1} 及び860 cm^{-1} 付近に吸収を
10 認める。

11 純度試験 類縁物質 本品2 mgをメタノール10 mLに溶か
12 し、試料溶液とする。この液10 μL につき、次の条件で液体
13 クロマトグラフィー(2.01)により試験を行う。試料溶液の
14 各々のピーク面積を自動積分法により測定し、面積百分率法
15 によりそれらの量を求めるとき、(E)-アサロン以外のピー
16 クの合計量は10%以下である。

17 試験条件

18 検出器：紫外吸光光度計(測定波長：230 nm)

19 カラム：内径4.6 mm、長さ15 cmのステンレス管に5
20 μm の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル
21 化シリカゲルを充填する。

22 カラム温度：40℃付近の一定温度

23 移動相：水/アセトニトリル混液(13：7)

24 流量：毎分1.0 mL

25 面積測定範囲：溶媒のピークの後から(E)-アサロンの
26 保持時間の約3倍の範囲

27 システム適合性

28 システムの性能：本品1 mg及び薄層クロマトグラフィー
29 用ペリルアルデヒド1 mgをメタノールに溶かして
30 50 mLとする。この液10 μL につき、上記の条件で操
31 作するとき、ペリルアルデヒド、(E)-アサロンの順
32 に溶出し、その分離度は1.5以上である。

33 抗ウリナスタチンウサギ血清 「ウリナスタチン」でウサギを免
34 疫して得た抗血清で、抗体価が16倍以上のもの。-20℃以
35 下に保存する。

36 サイコサポニンa、定量用 $C_{42}H_{68}O_{13}$ サイコサポニンa、薄
37 層クロマトグラフィー用。ただし、以下の定量用1又は定量
38 用2(qNMR純度規定)の試験に適合するもの。なお、定量用
39 1はデシケーター(シリカゲル)で24時間乾燥し用いる。定量
40 用2は定量法で求めた含量で補正して用いる。

41 1) 定量用1

42 吸光度(2.24) $E_{1cm}^{1\%}$ (206 nm)：65～73(15 mg、メタノ
43 ール、200 mL)。ただし、デシケーター(減圧、シリカゲ
44 ル)で24時間乾燥したもの。

45 純度試験 類縁物質 本品10 mgをメタノール20 mLに溶
46 かし、試料溶液とする。この液1 mLを正確に量り、メタ
47 ノールを加えて正確に100 mLとし、標準溶液とする。試
48 料溶液及び標準溶液20 μL ずつを正確にとり、次の条件で
49 液体クロマトグラフィー(2.01)により試験を行う。それ
50 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
51 とき、試料溶液のサイコサポニンa以外のピークの合計面
52 積は、標準溶液のサイコサポニンaのピーク面積より大き

53

くなく、

54

試験条件

55

56 検出器及びカラムは「サイコ」の定量法の試験条件を
57 準用する。

56

57 カラム温度：40℃付近の一定温度

57

58 移動相：水/アセトニトリル(13：7)混液

58

59 流量：サイコサポニンaの保持時間が約16分になるよ
60 うに調整する。

59

61 面積測定範囲：溶媒のピークの後からサイコサポニン
62 aの保持時間の約6倍の範囲

60

61

62

システム適合性

63

64 検出の確認：標準溶液1 mLを正確に量り、メタノ
65 ールを加えて正確に20 mLとする。この液20 μL から
66 得たサイコサポニンaのピーク面積が、標準溶液の
67 サイコサポニンaのピーク面積の3.5～6.5%になる
68 ことを確認する。

64

65

66

67

68

69

70 システムの性能：本品及び定量用サイコサポニンb₂ 6
71 mgずつをメタノールに溶かして100 mLとする。こ
72 の液20 μL につき、上記の条件で操作するとき、サ
73 イコサポニンa、サイコサポニンb₂の順に溶出し、
74 その分離度は1.5以上である。

69

70

71

72

73

74

75

76

77

75 システムの再現性：標準溶液20 μL につき、上記の条
76 件で試験を6回繰り返すとき、サイコサポニンaの
77 ピーク面積の相対標準偏差は1.0%以下である。

77

2) 定量用2(qNMR純度規定)

78

78 ピークの単一性 本品1 mgをメタノール2 mLに溶かし、

79

79 試料溶液とする。試料溶液20 μL につき、次の条件で液体
80 クロマトグラフィー(2.01)により試験を行い、サイコサ
81 ポニンaのピークの頂点及び頂点の前後でピーク高さの中
82 点付近の2時点を含む少なくとも3時点以上でのピークの
83 吸収スペクトルを比較するとき、スペクトルの形状に差が
84 ない。

80

81

82

83

84

85

試験条件

85

86 カラム、カラム温度、移動相及び流量は「サイコ」の
87 定量法の条件を準用する。

86

87

88

88 検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：
89 206 nm、スペクトル測定範囲：200～400 nm)

89

90

システム適合性

90

91 システムの性能：試料溶液1 mL及び定量用サイコサ
92 ポニンd 1 mgをメタノール2 mLに溶かした液1 mL
93 をとり、メタノールを加えて10 mLとする。この液
94 20 μL につき、上記の条件で操作するとき、サイコ
95 サポニンa、サイコサポニンdの順に溶出し、それ
96 らのピークの理論段数及びシンメトリー係数は、そ
97 れぞれ4000段以上、1.4以下である。

91

92

93

94

95

96

97

98

98 定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い、本品5 mg及
99 び核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d₄ 1 mgを
100 それぞれ精密に量り、核磁気共鳴スペクトル測定用重水素
101 化メタノール1 mLに溶かし、試料溶液とする。この液を
102 外径5 mmのNMR試料管に入れ、核磁気共鳴スペクトル
103 測定用1,4-BTMSB-d₄をqNMR用基準物質として、次
104 の試験条件で核磁気共鳴スペクトル測定法(2.21)及び
105 (5.01)により、¹H NMRを測定する。qNMR用基準物質
106 のシグナルを δ 0 ppmとし、 δ 5.70 ppm付近のシグナルの

99

100

101

102

103

104

105

106

107 面積強度 A (水素数1に相当)を算出する。
 108 サイコサポニンa($C_{42}H_{68}O_{13}$)の量(%)
 109 $= M_S \times I \times P / (M \times N) \times 3.4480$
 110 M : 本品の秤取量(mg)
 111 M_S : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の
 112 秤取量(mg)
 113 I : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 のシ
 114 グナルの面積強度を18.000としたときの面積強度 A
 115 N : A に由来するシグナルの水素数
 116 P : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の純
 117 度(%)

118 試験条件

119 装置: 1H 共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペ
 120 クトル測定装置
 121 測定対象とする核: 1H
 122 デジタル分解能: 0.25Hz以下
 123 観測スペクトル幅: $-5 \sim 15$ ppmを含む20 ppm以上
 124 スピニング: オフ
 125 パルス角: 90°
 126 ^{13}C 核デカップリング: あり
 127 遅延時間: 繰り返しパルス待ち時間60秒以上
 128 積算回数: 8回以上
 129 ダミースキャン: 2回以上
 130 測定温度: $20 \sim 30^\circ C$ の一定温度

131 システム適合性

132 検出の確認: 試料溶液につき, 上記の条件で測定する
 133 とき, δ 5.70 ppm付近のシグナルのSN比は100以
 134 上である。
 135 システムの性能: 試料溶液につき, 上記の条件で測定
 136 するとき, δ 5.70 ppm付近のシグナルについて,
 137 明らかな混在物のシグナルが重なっていないことを
 138 確認する。
 139 システムの再現性: 試料溶液につき, 上記の条件で測
 140 定を6回繰り返し返すとき, 面積強度 A のqNMR用基準
 141 物質の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%
 142 以下である。

143 **サイコサポニンa, 薄層クロマトグラフィー用** $C_{42}H_{68}O_{13}$ 白
 144 色の結晶性の粉末又は粉末である。メタノール又はエタノール
 145 (99.5)に溶けやすく, 水にほとんど溶けない。融点: 225
 146 $\sim 232^\circ C$ (分解)。

147 **純度試験** 類縁物質 本品1.0 mgをとり, メタノール1 mL
 148 を正確に加えて溶かした液10 μL につき, 「サイコ」の確認
 149 試験(2)を準用し, 試験を行うとき, R_f 値約0.4の主スポット
 150 以外のスポットを認めない。

151 **サイコサポニンd, 定量用** $C_{42}H_{68}O_{13}$ 白色の結晶性の粉末又
 152 は粉末である。メタノール又はエタノール(99.5)に溶けやす
 153 く, 水にほとんど溶けない。融点: 約 $240^\circ C$ 。ただし, 以下
 154 の定量用1又は定量用2 (qNMR純度規定)の試験に適合する
 155 もの。なお, 定量用1はデシケーター(シリカゲル)で24時間
 156 乾燥し用いる。定量用2は定量法で求めた含量で補正して用
 157 いる。

158 1) 定量用1

159 **吸光度** (2.24) $E_{1cm}^{1\%}(206\text{ nm})$: $66 \sim 74$ (15 mg, メタノ
 160 ール, 200 mL)。ただし, デシケーター(減圧, シリカゲ
 161 ル)で24時間乾燥したもの。

162 純度試験 類縁物質

163 (1) 本品2.0 mgをメタノール2 mLに溶かし, 試料溶液
 164 とする。この液1 mLを正確に量り, メタノールを加えて
 165 正確に100 mLとし, 標準溶液とする。試料溶液及び標準
 166 溶液10 μL ずつにつき, 「サイコ」の確認試験(2)を準用し,
 167 試験を行うとき, 試料溶液から得た R_f 値約0.4の主スポッ
 168 ト以外のスポットは, 標準溶液から得たスポットより大き
 169 くなく, かつ濃くない。

170 (2) 本品10 mgをメタノール20 mLに溶かし, 試料溶液
 171 とする。この液1 mLを正確に量り, メタノールを加えて
 172 正確に100 mLとし, 標準溶液とする。試料溶液及び標準
 173 溶液20 μL ずつを正確にとり, 次の条件で液体クロマトグ
 174 ラフィー (2.01) により試験を行う。それぞれの液の各々
 175 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
 176 のサイコサポニンd以外のピークの合計面積は, 標準溶液
 177 のサイコサポニンdのピーク面積より大きくない。

178 試験条件

179 検出器及びカラムは「サイコ」の定量法の試験条件を
 180 準用する。
 181 カラム温度: $40^\circ C$ 付近の一定温度
 182 移動相: 水/アセトニトリル混液(11 : 9)
 183 流量: サイコサポニンdの保持時間が約13分になるよ
 184 うに調整する。
 185 面積測定範囲: 溶媒のピークの後からサイコサポニン
 186 dの保持時間の約4倍の範囲

187 システム適合性

188 検出の確認: 標準溶液1 mLを正確に量り, メタノール
 189 を加えて正確に20 mLとする。この液20 μL から
 190 得たサイコサポニンdのピーク面積が, 標準溶液の
 191 サイコサポニンdのピーク面積の3.5 \sim 6.5%になる
 192 ことを確認する。

193 システムの性能: 本品及び定量用サイコサポニンa 6
 194 mgずつをメタノールに溶かして100 mLとする。こ
 195 の液20 μL につき, 上記の条件で操作するとき, サ
 196 イコサポニンa, サイコサポニンdの順に溶出し,
 197 その分離度は1.5以上である。

198 システムの再現性: 標準溶液20 μL につき, 上記の条
 199 件で試験を6回繰り返し返すとき, サイコサポニンdの
 200 ピーク面積の相対標準偏差は1.0%以下である。

201 2) 定量用2 (qNMR純度規定)

202 **ピークの単一性** 本品1 mgをメタノール2 mLに溶かし,
 203 試料溶液とする。試料溶液20 μL につき, 次の条件で液体
 204 クロマトグラフィー (2.01) により試験を行い, サイコサ
 205 ポニンdのピークの頂点及び頂点の前後でピーク高さの中
 206 点付近の2時点を含む少なくとも3時点以上でのピークの
 207 吸収スペクトルを比較するとき, スペクトルの形状に差が
 208 ない。

209 試験条件

210 カラム, カラム温度, 移動相及び流量は「サイコ」の
 211 定量法の条件を準用する。

212	検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：	263	システムの再現性：試料溶液につき、上記の条件で測
213	206 nm, スペクトル測定範囲：200～400 nm)	264	定を6回繰り返すとき、面積強度 <i>A</i> のqNMR用基準
214	システム適合性	265	物質の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%
215	システムの性能：試料溶液1 mL及び定量用サイコサ	266	以下である。
216	ポニンa 1 mgをメタノール2 mLに溶かした液1 mL	267	ゼラチン [医薬品各条, 「ゼラチン」ただし, ゲル化グレー
217	をとり, メタノールを加えて10 mLとする。この液	268	ドのもの]
218	20 μLにつき, 上記の条件で操作するとき, サイコ	269	ゼラチン, 酸処理 [医薬品各条, 「ゼラチン」ただし, ゲル
219	サポニンa, サイコサポニンdの順に溶出し, それ	270	化グレードで, 等電点が7.0～9.0のもの]
220	らのピークの理論段数及びシンメトリー係数は, それ	271	メタクレゾールパープル試液 メタクレゾールパープル0.10 g
221	それぞれ4000段以上, 1.4以下である。	272	を0.01 mol/L水酸化ナトリウム試液13 mLに溶かし, 水を加
222	定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い, 本品5 mg及	273	えて100 mLとする。必要ならばろ過する。
223	び核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- <i>d</i> ₄ 1 mgを	274	
224	それぞれ精密に量り, 核磁気共鳴スペクトル測定用重水素	275	
225	化メタノール1 mLに溶かし, 試料溶液とする。この液を		
226	外径5 mmのNMR試料管に入れ, 核磁気共鳴スペクトル		
227	測定用1,4-BTMSB- <i>d</i> ₄ をqNMR用基準物質として, 次		
228	の試験条件で核磁気共鳴スペクトル測定法(〈2.21〉及び		
229	〈5.01〉)により, ¹ H NMRを測定する。qNMR用基準物質		
230	のシグナルをδ 0 ppmとし, δ 5.70 ppm付近のシグナルの		
231	面積強度 <i>A</i> (水素数1に相当)を算出する。		
232	サイコサポニンd(C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃)の量(%)		
233	$= M_S \times I \times P / (M \times N) \times 3.4480$		
234	<i>M</i> : 本品の秤取量(mg)		
235	<i>M</i> _S : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- <i>d</i> ₄ の		
236	秤取量(mg)		
237	<i>I</i> : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- <i>d</i> ₄ のシ		
238	グナルの面積強度を18.000としたときの面積強度 <i>A</i>		
239	<i>N</i> : <i>A</i> に由来するシグナルの水素数		
240	<i>P</i> : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- <i>d</i> ₄ の純		
241	度(%)		
242	試験条件		
243	装置： ¹ H共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペ		
244	クトル測定装置		
245	測定対象とする核： ¹ H		
246	デジタル分解能：0.25 Hz以下		
247	観測スペクトル幅：-5～15 ppmを含む20 ppm以上		
248	スピニング：オフ		
249	パルス角：90°		
250	¹³ C核デカップリング：あり		
251	遅延時間：繰り返しパルス待ち時間60秒以上		
252	積算回数：8回以上		
253	ダミースキャン：2回以上		
254	測定温度：20～30°Cの一定温度		
255	システム適合性		
256	検出の確認：試料溶液につき, 上記の条件で測定する		
257	とき, δ 5.70 ppm付近のシグナルのSN比は100以上		
258	である。		
259	システムの性能：試料溶液につき, 上記の条件で測定		
260	するとき, δ 5.70 ppm付近のシグナルについて,		
261	明らかな混在物のシグナルが重なっていないことを		
262	確認する。		