

## 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 デヒドロコリダリン硝化物，定量用  $C_{22}H_{24}N_2O_7$  デヒドロ  
4 コリダリン硝化物，薄層クロマトグラフィー用。ただし，以  
5 下の定量用1又は定量用2 (qNMR純度規定)の試験に適合す  
6 るもの。なお，定量用1はデシケーター(シリカゲル)で1時間  
7 以上乾燥して用いる。定量用2は定量法で求めた含量で補正  
8 して用いる。

#### 9 1) 定量用1

10 吸光度 (2.24)  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (333 nm) : 577 ~ 642 (3 mg, 水,  
11 500 mL)。ただし，デシケーター(シリカゲル)で1時間以上  
12 乾燥したもの。

13 純度試験 類縁物質 本品5.0 mgを移動相10 mLに溶かし，  
14 試料溶液とする。この液1 mLを正確に量り，移動相を加  
15 えて正確に100 mLとし，標準溶液とする。試料溶液及び  
16 標準溶液5  $\mu\text{L}$ ずつを正確にとり，次の条件で液体クロマ  
17 トグラフィー (2.01) により試験を行う。それぞれの液の  
18 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  
19 溶液のデヒドロコリダリン以外のピークの合計面積は，標  
20 準溶液のデヒドロコリダリンのピーク面積より大きくない。

#### 21 試験条件

22 カラム，カラム温度，移動相及び流量は「エンゴサク」  
23 の定量法の試験条件を準用する。

24 検出器：紫外吸光度計(測定波長：230 nm)

25 面積測定範囲：硝酸のピークの後からデヒドロコリダ  
26 リンの保持時間の約3倍の範囲

#### 27 システム適合性

28 検出の確認：標準溶液1 mLを正確に量り，移動相を  
29 加えて正確に20 mLとする。この液5  $\mu\text{L}$ から得た  
30 デヒドロコリダリンのピーク面積が，標準溶液のデ  
31 ヒドロコリダリンのピーク面積の3.5 ~ 6.5%にな  
32 ることを確認する。

33 システムの性能：本品1 mg及びベルベリン塩化物水  
34 和物1 mgを水/アセトニトリル混液(20 : 9) 20 mL  
35 に溶かす。この液5  $\mu\text{L}$ につき，上記の条件で操作  
36 するとき，ベルベリン，デヒドロコリダリンの順に  
37 溶出し，その分離度は1.5以上である。

38 システムの再現性：標準溶液5  $\mu\text{L}$ につき，上記の条  
39 件で試験を6回繰り返すとき，デヒドロコリダリン  
40 のピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

#### 41 2) 定量用2 (qNMR純度規定)

42 ピークの単一性 本品1 mgをメタノール/希塩酸混液(3 :  
43 1) 2 mLに溶かし，試料溶液とする。試料溶液5  $\mu\text{L}$ につき，  
44 次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行  
45 い，デヒドロコリダリンのピークの頂点及び頂点の前後でピ  
46 ーク高さの中間付近の2時点を含む少なくとも3時点以上で  
47 のピークの吸収スペクトルを比較するとき，スペクトルの形  
48 状に差がない。

#### 49 試験条件

50 カラム，カラム温度，移動相及び流量は「エンゴサク」  
51 の定量法の試験条件を準用する。

52 検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：  
53 230 nm，スペクトル測定範囲：220 ~ 400 nm)  
54 システム適合性

55 システムの性能：本品1 mg及びベルベリン塩化物水  
56 和物1 mgを水/アセトニトリル混液(20 : 9) 20 mLに溶  
57 かす。この液5  $\mu\text{L}$ につき，上記の条件で操作すると  
58 き，ベルベリン，デヒドロコリダリンの順に溶出し，  
59 その分離度は1.5以上である。

60 定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い，本品5 mg及び  
61 核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- $d_6$  1 mgをそれぞれ精密  
62 に量り，核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化ジメチルスル  
63 ホキシド1 mLに溶かし，試料溶液とする。この液を外径5  
64 mmのNMR試料管に入れ，核磁気共鳴スペクトル測定用  
65 DSS- $d_6$ をqNMR用基準物質として，次の試験条件で核磁気  
66 共鳴スペクトル測定法( 2.21) 及び( 5.01) )により， $^1\text{H}$   
67 NMRを測定する。qNMR用基準物質のシグナルを $\delta$  0 ppm  
68 とし， $\delta$  7.42 ppm付近のシグナルの面積強度A(水素数1に相  
69 当)を算出する。

70 デヒドロコリダリン硝化物( $C_{22}H_{24}N_2O_7$ )の量(%)

$$71 = M_s \times I \times P / (M \times N) \times 1.9096$$

72  $M$ ：本品の秤取量(mg)

73  $M_s$ ：核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- $d_6$ の秤取量(mg)

74  $I$ ：核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- $d_6$ のシグナルの面  
75 積強度を9.000としたときの面積強度A

76  $N$ ：Aに由来するシグナルの水素数

77  $P$ ：核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- $d_6$ の純度(%)

#### 78 試験条件

79 装置： $^1\text{H}$ 共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペク  
80 トル測定装置

81 測定対象とする核： $^1\text{H}$

82 デジタル分解能：0.25 Hz以下

83 観測スペクトル幅：-5 ~ 15 ppmを含む20 ppm以上

84 スピニング：オフ

85 パルス角：90°

86  $^{13}\text{C}$ 核デカップリング：あり

87 遅延時間：繰り返しパルス待ち時間60秒以上

88 積算回数：8回以上

89 ダミーキャン：2回以上

90 測定温度：20 ~ 30°Cの一定温度

#### 91 システム適合性

92 検出の確認：試料溶液につき，上記の条件で測定すると  
93 き， $\delta$  7.42 ppm付近のシグナルのSN比は100以上で  
94 ある。

95 システムの性能：試料溶液につき，上記の条件で測定す  
96 るとき， $\delta$  7.42 ppm付近のシグナルについて，明らか  
97 な混在物のシグナルが重なっていないことを確認する。

98 システムの再現性：試料溶液につき，上記の条件で測定  
99 を6回繰り返すとき，面積強度AのqNMR用基準物質  
100 の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%以下で  
101 ある。

102 デヒドロコリダリン硝化物，薄層クロマトグラフィー用  
103  $C_{22}H_{24}N_2O_7$  黄色の結晶又は結晶性の粉末である。メタノ

104	ールにやや溶けにくく、水又はエタノール(99.5)に溶けにく	156	システムの再現性：標準溶液20 $\mu$ Lにつき、上記の条
105	い。融点：約240°C(分解)。	157	件で試験を6回繰り返すとき、ヒルスチンのピーク
106	<b>純度試験</b> 類縁物質 本品5.0 mgを水/メタノール混液(1:	158	面積の相対標準偏差は1.5%以下である。
107	1) 1 mLに溶かし、試料溶液とする。この液0.5 mLを正確に	159	<b>2) 定量用2 (qNMR純度規定)</b>
108	量り、水/メタノール混液(1: 1)を加えて正確に50 mLと	160	<b>ピークの単一性</b> 本品1 mgをメタノール/希酢酸混液(7:
109	し、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラ	161	3) 20 mLに溶かし、試料溶液とする。試料溶液20 $\mu$ Lにつ
110	フィー (2.03) により試験を行う。試料溶液及び標準溶液5	162	き、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験
111	$\mu$ Lずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調	163	を行い、ヒルスチンのピークの頂点及び頂点の前後でピーク
112	製した薄層板にスポットし、速やかにメタノール/酢酸アン	164	高さの中間付近の2時点を含む少なくとも3時点以上でのピ
113	モニウム溶液(3→10)/酢酸(100)混液(20: 1: 1)を展開溶媒	165	ークの吸収スペクトルを比較するとき、スペクトルの形状に
114	として約10 cm展開した後、薄層板を風乾する。これに噴霧	166	差がない。
115	用ドラーゲンドルフ試液を均等に噴霧し、風乾後、亜硝酸ナ	167	試験条件
116	トリウム試液を均等に噴霧するとき、試料溶液から得た主ス	168	カラム、カラム温度、移動相及び流量は「チョウトウコ
117	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	169	ウ」の定量法の試験条件を準用する。
118	くない。	170	検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：
119	<b>ヒルスチン、定量用</b> C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ヒルスチン、薄層クロマ	171	245 nm, スペクトル測定範囲：220 ~ 400 nm)
120	トグラフィー用。ただし、以下の定量用1又は定量用2	172	システム適合性
121	(qNMR純度規定)の試験に適合するもの。なお、定量用2は	173	システムの性能：定量用リンコフィリン1 mgをメタノ
122	定量法で求めた含量で補正して用いる。	174	ール/希酢酸混液(7: 3) 20 mLに溶かす。この液5
123	1) <b>定量用1</b>	175	mLにアンモニア水(28) 1 mLを加え、還流冷却器を付
124	<b>吸光度</b> (2.24) $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (245 nm) : 354 ~ 389 [脱水物に換	176	けて10分間又は50°Cで2時間加熱する。冷後、反応液
125	算したもの5 mg, メタノール/希酢酸混液(7: 3), 500	177	1 mLを量り、メタノール/希酢酸混液(7: 3)を加え
126	mL]。	178	て5 mLとする。この液20 $\mu$ Lにつき、上記の条件で操
127	<b>純度試験</b> 類縁物質 本品5 mgをメタノール/希酢酸混	179	作するとき、リンコフィリン以外にイソリンコフィリ
128	液(7: 3) 100 mLに溶かし、試料溶液とする。この液1 mL	180	ンのピークを認め、リンコフィリンとイソリンコフィ
129	を正確に量り、メタノール/希酢酸混液(7: 3)を加えて正	181	リンの分離度は1.5以上である。
130	確に50 mLとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液	182	<b>定量法</b> ウルトラマイクロ化学はかりを用い、本品5 mg及び
131	20 $\mu$ Lずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフ	183	核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> 1 mgをそれ
132	フィー (2.01) により試験を行う。それぞれの液の各々のピ	184	ぞれ精密に量り、核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化アセ
133	ーク面積を自動積分法により測定するとき、試料溶液のヒ	185	トン1 mLに溶かし、試料溶液とする。この液を外径5 mm
134	ルスチン以外のピークの合計面積は、標準溶液のヒルスチ	186	のNMR試料管に入れ、核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-
135	ンのピーク面積より大きくない。	187	BTMSB-d <sub>4</sub> をqNMR用基準物質として、次の試験条件で核
136	試験条件	188	磁気共鳴スペクトル測定法( (2.21) 及び (5.01) )により、 <sup>1</sup> H
137	検出器、カラム、カラム温度、移動相及び流量は「チ	189	NMRを測定する。qNMR用基準物質のシグナルを $\delta$ 0 ppm
138	ョウトウコウ」の定量法の試験条件を準用する。	190	とし、 $\delta$ 6.70 ~ 6.79 ppm付近のシグナルの面積強度A(水素
139	面積測定範囲：溶媒のピークの後からヒルスチンの保	191	数2に相当)を算出する。
140	持時間の約1.5倍の範囲	192	ヒルスチン(C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )の量(%)
141	システム適合性	193	$= Ms \times I \times P / (M \times N) \times 1.6268$
142	検出の確認：標準溶液1 mLを正確に量り、メタノ	194	<b>M</b> : 本品の秤取量(mg)
143	ール/希酢酸混液(7: 3)を加えて正確に20 mLとする。	195	<b>Ms</b> : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> の秤
144	この液20 $\mu$ Lから得たヒルスチンのピーク面積が、	196	取量(mg)
145	標準溶液のヒルスチンのピーク面積の3.5 ~ 6.5%	197	<b>I</b> : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> のシグ
146	になることを確認する。	198	ナルの面積強度を18.000としたときのシグナルの面積
147	システムの性能：定量用リンコフィリン1 mgをメタ	199	強度A
148	ノール/希酢酸混液(7: 3) 20 mLに溶かす。この液	200	<b>N</b> : Aに由来するシグナルの水素数
149	5 mLにアンモニア水(28) 1 mLを加え、還流冷却器	201	<b>P</b> : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> の純度
150	を付けて10分間又は50°Cで2時間加熱する。冷後、	202	(%)
151	反応液1 mLを量り、メタノール/希酢酸混液(7:	203	試験条件
152	3)を加えて5 mLとする。この液20 $\mu$ Lにつき、上記	204	装置： <sup>1</sup> H共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペク
153	の条件で操作するとき、リンコフィリン以外にイソ	205	トル測定装置
154	リンコフィリンのピークを認め、リンコフィリンと	206	測定対象とする核： <sup>1</sup> H
155	イソリンコフィリンの分離度は1.5以上である。	207	デジタル分解能：0.25 Hz以下

208	観測スペクトル幅：-5～15 ppmを含む20 ppm以上	261	認め、リンコフィリンとイソリンコフィリンの分離
209	スピニング：オフ	262	度は1.5以上である。
210	パルス角：90°	263	システムの再現性：標準溶液20 μLにつき、上記の条
211	<sup>13</sup> C核デカップリング：あり	264	件で試験を6回繰り返すとき、リンコフィリンのピ
212	遅延時間：繰り返しパルス待ち時間60秒以上	265	ーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。
213	積算回数：8回以上	266	2) 定量用2 (qNMR純度規定)
214	ダミースキャン：2回以上	267	ピークの単一性 本品1 mgをメタノール/希酢酸混液(7：
215	測定温度：20～30℃の一定温度	268	3) 100 mLに溶かし、試料溶液とする。試料溶液20 μLにつ
216	システム適合性	269	き、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験
217	検出の確認：試料溶液につき、上記の条件で測定すると	270	を行い、リンコフィリンのピークの頂点及び頂点の前後で
218	き、δ 6.70～6.79 ppm付近のシグナルのSN比は100	271	ピーク高さの midpoint 付近の2時点を含む少なくとも3時点以上で
219	以上である。	272	のピークの吸収スペクトルを比較するとき、スペクトルの形
220	システムの性能：試料溶液につき、上記の条件で測定す	273	状に差がない。
221	るとき、δ 6.70～6.79 ppm付近のシグナルについて、	274	試験条件
222	明らかな混在物のシグナルが重なっていないことを確	275	カラム、カラム温度、移動相及び流量は「チョウトウコ
223	認する。	276	ウ」の定量法の試験条件を準用する。
224	システムの再現性：試料溶液につき、上記の条件で測定	277	検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：
225	を6回繰り返すとき、面積強度AのqNMR用基準物質	278	245 nm, スペクトル測定範囲：220～400 nm)
226	の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%以下で	279	システム適合性
227	ある。	280	システムの性能：本品1 mgをメタノール/希酢酸混液
228	リンコフィリン、定量用 C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> リンコフィリン、薄	281	(7：3) 20 mLに溶かす。この液5 mLにアンモニア水
229	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	282	(28) 1 mLを加え、還流冷却器を付けて10分間又は
230	用2 (qNMR純度規定)の試験に適合するもの。なお、定量用	283	50℃で2時間加熱する。冷後、反応液1 mLを量り、メ
231	2は定量法で求めた含量で補正して用いる。	284	タノール/希酢酸混液(7：3)を加えて5 mLとする。
232	1) 定量用1	285	この液20 μLにつき、上記の条件で操作するとき、リ
233	吸光度 (2.24) $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (245 nm)：473～502 [5 mg, メタ	286	ンコフィリン以外にイソリンコフィリンのピークを認
234	ノール/希酢酸混液(7：3), 500 mL]。	287	め、リンコフィリンとイソリンコフィリンの分離度は
235	純度試験 類縁物質 本品5 mgをメタノール/希酢酸混	288	1.5以上である。
236	液(7：3) 100 mLに溶かし、試料溶液とする。この液1 mL	289	定量法 ウルトラマイクロ化学はかりを用い、本品5 mg及び
237	を正確に量り、メタノール/希酢酸混液(7：3)を加えて正	290	核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> 1 mgをそれ
238	確に100 mLとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶	291	ぞれ精密に量り、核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化アセ
239	液20 μLずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラ	292	トン1 mLに溶かし、試料溶液とする。この液を外径5 mm
240	フィー (2.01) により試験を行う。それぞれの液の各々の	293	のNMR試料管に入れ、核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-
241	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	294	BTMSB-d <sub>4</sub> をqNMR用基準物質として、次の試験条件で核
242	リンコフィリン以外のピークの合計面積は、標準溶液のリ	295	磁気共鳴スペクトル測定法 (〈2.21〉及び〈5.01〉)により、 <sup>1</sup> H
243	ンコフィリンのピーク面積より大きくない。	296	NMRを測定する。qNMR用基準物質のシグナルをδ 0 ppm
244	試験条件	297	とし、δ 6.60 ppm及びδ 6.73 ppm付近のそれぞれのシグナ
245	検出器、カラム、カラム温度、移動相及び流量は「チ	298	ルの面積強度A <sub>1</sub> (水素数1に相当)及びA <sub>2</sub> (水素数1に相当)を算
246	ョウトウコウ」の定量法の試験条件を準用する。	299	出する。
247	面積測定範囲：溶媒のピークの後からリンコフィリン	300	リンコフィリン(C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )の量(%)
248	の保持時間の約4倍の範囲	301	$= Ms \times I \times P / (M \times N) \times 1.6974$
249	システム適合性		
250	検出の確認：標準溶液1 mLを正確に量り、メタノール	302	M：本品の秤取量(mg)
251	／希酢酸混液(7：3)を加えて正確に20 mLとする。	303	Ms：核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> の秤
252	この液20 μLから得たリンコフィリンのピーク面積	304	取量(mg)
253	が、標準溶液のリンコフィリンのピーク面積の3.5	305	I：核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> のシグ
254	～6.5%になることを確認する。	306	ナルの面積強度を18.000としたときの各シグナルの面
255	システムの性能：試料溶液5 mLにアンモニア水(28) 1	307	積強度A <sub>1</sub> 及びA <sub>2</sub> の和
256	mLを加え、還流冷却器を付けて10分間又は50℃で	308	N：A <sub>1</sub> 及びA <sub>2</sub> に由来する各シグナルの水素数の和
257	2時間加熱する。冷後、反応液1 mLを量り、メタノ	309	P：核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-d <sub>4</sub> の純度
258	ール/希酢酸混液(7：3)を加えて5 mLとする。こ	310	(%)
259	の液20 μLにつき、上記の条件で操作するとき、リ	311	試験条件
260	ンコフィリン以外にイソリンコフィリンのピークを		

312 装置：<sup>1</sup>H共鳴周波数400 MHz以上の核磁気共鳴スペク  
313 トル測定装置  
314 測定対象とする核：<sup>1</sup>H  
315 デジタル分解能：0.25 Hz以下  
316 観測スペクトル幅：-5 ~ 15 ppmを含む20 ppm以上  
317 スピニング：オフ  
318 パルス角：90°  
319 <sup>13</sup>C核デカップリング：あり  
320 遅延時間：繰り返しパルス待ち時間60秒以上  
321 積算回数：8回以上  
322 ダミースキャン：2回以上  
323 測定温度：20 ~ 30°Cの一定温度  
324 システム適合性  
325 検出の確認：試料溶液につき、上記の条件で測定すると  
326 き、 $\delta$  6.60 ppm及び $\delta$  6.73 ppm付近の各シグナルの  
327 SN比は100以上である。  
328 システムの性能：試料溶液につき、上記の条件で測定す  
329 るとき、 $\delta$  6.60 ppm及び $\delta$  6.73 ppm付近のシグナルに  
330 ついて、明らかな混在物のシグナルが重なっていない  
331 ことを確認する。また、試料溶液につき、上記の条件  
332 で測定するとき、各シグナル間の面積強度比 $A_1/A_2$   
333 は0.99 ~ 1.01である。  
334 システムの再現性：試料溶液につき、上記の条件で測定  
335 を6回繰り返すとき、面積強度 $A_1$ 又は $A_2$ のqNMR用基  
336 準物質の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%  
337 以下である。  
338  
339