

9.41 試薬・試液

次の試薬・試液を次のように改める。

アトラクチロジン，定量用 $C_{13}H_{10}O$ 白色～微黄色の結晶である。メタノール又はエタノール(99.5)に溶けやすく，水にほとんど溶けない。融点：約54℃。ただし，以下の定量用1又は定量用2 (qNMR純度規定)の試験に適合するもの。なお，定量用2は定量法で求めた含量で補正して用いる。

1) 定量用1

確認試験 本操作は光を避け，遮光した容器を用いて行う。本品のメタノール溶液(1→250000)につき，紫外可視吸光度測定法(2.24)により吸収スペクトルを測定するとき，波長256～260 nm，270～274 nm，332～336 nm及び352～356 nmに吸収の極大を示す。

吸光度 (2.24) $E_{1cm}^{1\%}$ (272 nm) : 763～819 (2 mg，メタノール，250 mL)。ただし，本操作は光を避け，遮光した容器を用いて行う。

純度試験 類縁物質

(i)本操作は光を避け，遮光した容器を用いて行う。本品2 mgをメタノール2 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100 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ィー(2.03)により試験を行う。試料溶液及び標準溶液10 μ 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製した薄層板にスポットし，速やかにヘキサン/アセトン混液(7：1)を展開溶媒として約10 cm展開した後，薄層板を風乾する。これに噴霧用バニリン・硫酸・エタノール試液を均等に噴霧し，105℃で5分間加熱するとき，試料溶液から得たR_f値0.4付近の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。

(ii)本操作は光を避け，遮光した容器を用いて行う。本品5 mgをメタノール250 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100 mLとし，標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液20 μ Lずつを正確にとり，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，試料溶液のアトラクチロジン以外のピークの合計面積は，標準溶液のアトラクチロジンのピーク面積より大きくない。

試験条件

検出器，カラム，カラム温度及び移動相は「当帰芍薬散エキス」の定量法(4)の試験条件を準用する。

流量：アトラクチロジンの保持時間が約13分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アトラクチロジンの保持時間の約5倍の範囲

システム適合性

検出の確認：標準溶液1 mLを正確に量り，メタノールを加えて正確に20 mLとする。この液20 μ Lから得たアトラクチロジンのピーク面積が，標準溶液20 μ Lから得たアトラクチロジンのピーク面積の3.5～6.5%になることを確認する。

システムの性能：標準溶液を無色の容器に入れ，紫外線(主波長365 nm)を約1分間照射する。この液20 μ Lにつき，上記の条件で操作するとき，アトラクチロジン以外に1本の異性体のピークを認め，異性体，アトラクチロジンの順に溶出し，その分離度は1.5以上である。

システムの再現性：標準溶液20 μ Lにつき，上記の条件で試験を6回繰り返すとき，アトラクチロジンのピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

2) 定量用2 (qNMR純度規定)

確認試験 本品につき，定量法を準用するとき， δ 1.58 ppm付近に二重の二重線の3水素分のシグナル， δ 5.40 ppm付近に二重の四重線の1水素分のシグナル， δ 5.86 ppm付近に二重線の1水素分のシグナル， δ 6.08 ppm付近に二重の四重線の1水素分のシグナル， δ 6.22 ppm付近から δ 6.25 ppm付近の多重線シグナルを含む2水素分のシグナル， δ 6.60 ppm付近に二重線の1水素分のシグナル， δ 7.25 ppm付近に二重線の1水素分のシグナルを示す。

ピークの単一性 本操作は光を避け，遮光した容器を用いて行う。本品1 mgをメタノール50 mLに溶かし，試料溶液とする。試料溶液20 μ Lにつき，次の条件で液体クロマトグラフィー(2.01)により試験を行い，アトラクチロジンのピークの頂点及び頂点の前後でピーク高さの 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，スペクトルの形状に差がない。

試験条件

カラム，カラム温度及び移動相は「当帰芍薬散エキス」の定量法(4)の条件を準用する。

検出器：フォトダイオードアレイ検出器(測定波長：340 nm，スペクトル測定範囲：220～400nm)

流量：アトラクチロジンの保持時間が約13分になるように調整する。

システム適合性

システムの性能：試料溶液1 mLにメタノールを加えて100 mLとする。この液を無色の容器に入れ，紫外線(主波長365 nm)を約1分間照射する。この液20 μ Lにつき，上記の条件で操作するとき，アトラクチロジン以外に1本の異性体のピークを認め，異性体，アトラクチロジンの順に溶出し，その分離度は1.5以上である。

定量法 本操作は光を避けて行う。ウルトラマイクロ化学はかりを用い，本品5 mg及び核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-*d*₄ 1 mgを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化メタノール1 mLに溶かし，試料溶液とする。この液を外径5 mmのNMR試料管に入れ，核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB-*d*₄をqNMR用基準物質として，次の試験条件で核磁気共鳴スペクトル測定法(2.21)及び(5.01)により，¹H NMRを測定する。qNMR用基準物質のシグナルを δ 0 ppmとし， δ 6.60 ppm付近のシグナルの面積強度A(水素数1に相当)を算出する。

アトラクチロジン($C_{13}H_{10}O$)の量(%)

$$= M_S \times I \times P / (M \times N) \times 0.8045$$

105 M : 本品の秤取量(mg)
106 M_s : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の
107 秤取量(mg)
108 I : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 のシ
109 グナルの面積強度を18.000としたときの面積強度 A
110 N : A に由来するシグナルの水素数
111 P : 核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4 の純
112 度(%)

113 試験条件

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

126 システム適合性

127 検出の確認: 試料溶液につき、上記の条件で測定する
128 とき、 δ 6.60 ppm付近のシグナルのSN比は100以
129 上である。
130 システムの性能: 試料溶液につき、上記の条件で測定
131 するとき、 δ 6.60 ppm付近のシグナルについて、
132 明らかな混在物のシグナルが重なっていないことを
133 確認する。また、試料溶液につき、上記の条件で δ
134 6.60 ppm及び δ 7.25 ppm付近のそれぞれのシグナ
135 ルの面積強度 A (水素数1に相当)及び面積強度 A_1 (水
136 素数1に相当)を測定するとき、各シグナル間の面積
137 強度比 A/A_1 は、0.99 ~ 1.01である。
138 システムの再現性: 試料溶液につき、上記の条件で測
139 定を6回繰り返すとき、面積強度 A のqNMR用基準
140 物質の面積強度に対する比の相対標準偏差は1.0%
141 以下である。

142 **アトラクチロジン試液, 定量用** 以下の1), 又は2)により調製
143 する。

- 144 1) 本操作は光を避け、遮光した容器を用いて行う。定量用
145 アトラクチロジン(定量用1)約5 mgを精密に量り、メタノー
146 ルに溶かし、正確に1000 mLとする。
- 147 2) 本操作は光を避け、遮光した容器を用いて行う。定量用
148 アトラクチロジン(定量用2)約5 mgを精密に量り、メタノー
149 ルに溶かし、正確に1000 mLとする。なお、本品は定量用ア
150 トラクチロジンの定量法(定量用2)で求めた含量で補正する。

151
152
153