

オクトチアミン 25mg・リボフラビン 2.5mg・ピリドキシリン塩酸塩 40mg・シアノコバラミン 0.25mg 錠

**溶出性**〈6.10〉 本品 1 個をとり、試験液に pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 900mL を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行う。オクトチアミンの場合には溶出試験開始 90 分後、リボフラビン、ピリドキシリン塩酸塩及びシアノコバラミンの場合には溶出試験開始 30 分後、溶出液 20mL 以上をとり、孔径 0.5 $\mu$ m 以下のメンブランフィルターでろ過する。初めのろ液 10mL を除き、次のろ液を試験に用いる。

オクトチアミン

ろ液を試料溶液とする。別にオクトチアミン標準品をシリカゲルを乾燥剤として 4 時間減圧乾燥し、その約 27mg を精密に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液に溶かして正確に 200mL とし、この液 10mL を正確に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて正確に 50mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10 $\mu$ 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〉により試験を行い、それぞれの液のオクトチアミンのピーク面積  $A_T$  及び  $A_S$  を測定する。

本品の 90 分間の溶出率が 70% 以上のときは適合とする。

オクトチアミン ( $C_{23}H_{36}N_4O_5S_3$ ) の表示量に対する溶出率 (%)  
=  $W_s \times (A_T / A_S) \times (1 / C) \times 90$

$W_s$ : オクトチアミン標準品の秤取量 (mg)

$C$ : 1 錠中のオクトチアミン ( $C_{23}H_{36}N_4O_5S_3$ ) の表示量 (mg)

試験条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 236nm)

カラム: 内径 4.6mm, 長さ 15cm のステンレス管に 5 $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度: 25 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相: 過塩素酸ナトリウム 7.0 g を量り、水 1000 mL を加えて溶かした後、薄めたリン酸 (1 $\rightarrow$ 10) を用いて pH を 3.0 に調整する。この液 900mL にメタノール 1100mL を加える。

流量: オクトチアミンの保持時間が約 7 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: 標準溶液 10 $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、オクトチアミンのピークの理論段数及びシンメトリー係数は、それぞれ 1000 段以上、1.5 以下である。

システムの再現性: 標準溶液 10 $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、オクトチアミンのピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

リボフラビン、ピリドキシリン塩酸塩

本操作は光を避けて行う。ろ液を試料溶液とする。別にリボフラビン標準品を 105 $^{\circ}$ C で 2 時間乾燥し、その約 14mg を精密に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液

を加えて溶かし、正確に 200mL とし、標準原液 (1) とする。別にピリドキシン塩酸塩標準品をシリカゲルを乾燥剤として 4 時間減圧乾燥し、その約 22mg を精密に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて溶かし、正確に 50mL とし、標準原液 (2) とする。標準原液 (1) 4mL 及び標準原液 (2) 10mL を正確に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて正確に 100mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10 $\mu$ 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〈2.0I〉により試験を行い、それぞれの液のリボフラビンのピーク面積  $A_{T1}$ ,  $A_{S1}$  及びピリドキシンのピーク面積  $A_{T2}$ ,  $A_{S2}$  を測定する。

本品のリボフラビン及びピリドキシン塩酸塩の 30 分間の溶出率が、それぞれ 85%以上のときは適合とする。

リボフラビン ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ) の表示量に対する溶出率 (%)

$$= W_S \times (A_{T1} / A_{S1}) \times (1 / C) \times 18$$

$W_S$  : リボフラビン標準品の秤取量 (mg)

$C$  : 1錠中のリボフラビン ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ) の表示量 (mg)

ピリドキシン塩酸塩 ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ) の表示量に対する溶出率 (%)

$$= W_S \times (A_{T2} / A_{S2}) \times (1 / C) \times 180$$

$W_S$  : ピリドキシン塩酸塩標準品の秤取量 (mg)

$C$  : 1錠中のピリドキシン塩酸塩 ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ) の表示量 (mg)

#### 試験条件

検出器 : 紫外吸光光度計 (測定波長 : 267nm)

カラム : 内径 4.6mm, 長さ 15cm のステンレス管に 5 $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度 : 25 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相 : 1-オクタンスルホン酸ナトリウム 1.5g をとり、水 825mL を加えて溶かす。この液にアセトニトリル 175mL 及びリン酸 1mL を加える。

流量 : リボフラビンの保持時間が約 5 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 : 標準溶液 10 $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、リボフラビン、ピリドキシンの順に溶出し、その分離度は 9 以上である。

システムの再現性 : 標準溶液 10 $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、リボフラビン及びピリドキシンのピーク面積の相対標準偏差はそれぞれ、1.5%以下である。

#### シアノコバラミン

本操作は光を避けて行う。ろ液を試料溶液とする。別にシアノコバラミン標準品 (別途乾燥減量〈2.4I〉を測定しておく) 約 27mg を精密に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて溶かし、正確に 100mL とする。この液 5mL を正確に量り、pH4.0 の 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて正確に 50mL とする。この液 2mL を正

確に量り、pH4.0の0.05mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて正確に200mLとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液100 $\mu$ 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〈2.0I〉により試験を行い、それぞれの液のシアノコバラミンのピーク面積 $A_T$ 及び $A_S$ を測定する。

本品の30分間の溶出率が85%以上のときは適合とする。

$$\begin{aligned} & \text{シアノコバラミン (C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P) の表示量に対する溶出率 (\%)} \\ & = W_S \times (A_T / A_S) \times (1 / C) \times (9 / 10) \end{aligned}$$

$W_S$ : 乾燥物に換算したシアノコバラミン標準品の量 (mg)

$C$ : 1錠中のシアノコバラミン (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P) の表示量 (mg)

#### 試験条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 361nm)

カラム: 内径4.6mm, 長さ15cmのステンレス管に5 $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度: 25 $^{\circ}$ C付近の一定温度

移動相: リン酸0.49g, リン酸二水素ナトリウム二水和物0.60g及び過塩素酸ナトリウム14gを水に溶かし, 1000mLとする。この液にメタノール500mLを加える。

流量: シアノコバラミンの保持時間が約5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: 標準溶液100 $\mu$ Lにつき, 上記の条件で操作するとき, シアノコバラミンのピークの理論段数及びシンメトリー係数は, それぞれ1000段以上, 1.5以下である。

システムの再現性: 標準溶液100 $\mu$ Lにつき, 上記の条件で試験を6回繰り返すとき, シアノコバラミンのピーク面積の相対標準偏差は1.5%以下である。

**オクトチアミン標準品** 「オクトチアミン」。ただし, 乾燥したものを定量するとき, オクトチアミン (C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>3</sub>) 99.0%以上を含むもの。

**リボフラビン標準品** リボフラビン標準品 (日局)。

**ピリドキシリン塩酸塩標準品** ピリドキシリン塩酸塩標準品 (日局)。

**シアノコバラミン標準品** シアノコバラミン標準品 (日局)。