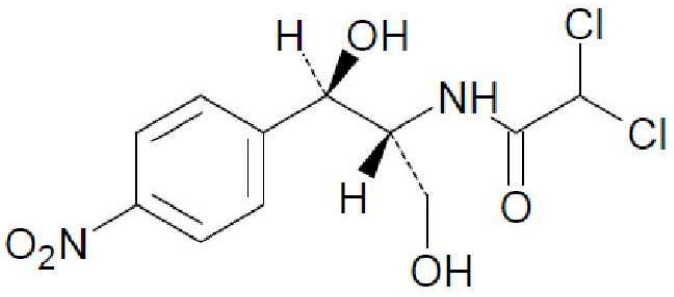
クロラムフェニコール類
Chloramphenicol Antibiotic Drugs



クロラムフェニコール

1　クロラムフェニコールは、*Streptomyces venezuelae* 若しくは *Streptomyces omiyaensis* の培養によって得られるもの又はその他の方法で得られる2,2－ジクロロ－*N*－[(1*R*,2*R*)－1,3－ジヒドロキシ－1－(4－ニトロフェニル)プロパン－2－イル]アセタミドである。
2　この類の医薬品は、クロラムフェニコール、クロラムフェニコールの誘導体及びこれらを含有する製剤とする。
3　この類の医薬品の力価は、クロラムフェニコール($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$)としての量を「質量(力価)」で示す。

クロラムフェニコール水性懸濁注射液
Chloramphenicol Injection in Aqueous Suspension

本品は、クロラムフェニコールの水性の懸濁性注射剤である。

確認試験

1　本品の表示力価に従い、約2.5mg(力価)に対応する量をとり、水を加えて溶かし、10mLとする。この液1mLをとり、ハイドロサルファイトナトリウム溶液(1→50)2mLを加え、5分間放置した後、亜硝酸ナトリウム溶液(1→100)1mLを加えて振り混ぜた後、2分間放置し、希塩酸0.5mL及びアミド硫酸アンモニウム溶液(1→200)1mLを加えてよく振り混ぜ、更に*N*,*N*－ジエチル－*N*′－1－ナフチルエチレンジアミンシュウ酸塩溶液(1→1,000)1mLを加えるとき、液は赤紫色を呈する。

2　本品につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行い、確認する。

(1) 展開溶媒　［アセトン／シクロヘキサン混液(1：1)］を用いる。

(2) 常用標準希釈液　常用標準クロラムフェニコール適当量をとり、エタノール(95)を加えて溶かし、約2mg(力価)/mLの希釈液を作る。

(3) 試料溶液　本品の表示力価に従い、適当量をとり、メタノールを加えて溶かし、約2mg(力価)/mLの試料溶液を作る。

(4) 薄層板　薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)を用いる。

(5) 判定　展開した薄層板に紫外線(主波長254nm)を照射するとき、試料溶液の示すスポットのR_f値は、常用標準希釈液のそれと等しい。

規格　(1) 本品は、表示された力価の90～120%を含む。

(2) pH；4.0～8.0

(3) 無菌試験；適合

———試験法———

力価試験

(1) 円筒平板法

①　培地　種層用寒天培地及び基層用寒天培地

ペプトン	10.0g	塩化ナトリウム	2.5g
肉エキス	5.0g	カンテン	13.0～20.0g

以上をとり、水を加えて溶かし、1,000mLとし、滅菌する。pHは、6.4～6.6とする。

②　試験菌　*Escherichia coli* NIHJ を用いる。

③　常用標準希釈液　常用標準クロラムフェニコール約20mg(力価)に対応する量を精密に量り、エタノール(95)2.0mLを加えて溶かした後、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)を加えて、約1mg(力価)/mLの濃度の明らかな原液を作る。原液は15℃以下に保存し、30日以内に使用する。用時、原液の適量を正確に量り、同緩衝液で正確に希釈して100μg(力価)/mL及び25μg(力価)/mLの希釈液を作る。

④　試料溶液　本品の表示力価に従い、適当量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)を加えて、約1mg(力価)/mLの濃度の明らかな試料原液を作る。必要ならば、ろ過又は遠心分離する。この液の適量を正確に量り、同緩衝液で正確に希釈して100μg(力価)/mL及び25μg(力価)/mLの試料溶液を作る。

(2) 標準曲線法

①　試験菌　*Micrococcus luteus* ATCC 9341 を用いる。

②　常用標準希釈液　(1)の③の原液の適量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)で正確に希釈してそれぞれ1mL中70、60、50、40及び30各μg(力価)の希釈液を作る。中心常用標準希釈液は、50μg(力価)/mLとする。

③　試料溶液　(1)の④の試料原液の適量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液

(pH6.0)で正確に希釈して50μg(力価)/mLの試料溶液を作る。

(3) 光学的方法

本品の表示力価に従い、250mg(力価)に対応する容量を正確に量り、水を加えて正確に1,000mLとし、必要ならば、ろ過又は遠心分離する。この液につき、約20mg(力価)に対応する容量を正確に量り、試料とし、次の第1法又は第2法により試料溶液を作る。

第1法　試料に水100mLを加え、加温しながら振り混ぜ、冷後、水を加えて正確に1,000mLとし、必要ならば、ろ過し、試料溶液とする。

第2法　試料にエタノール(95)を加えて1分以上振り混ぜた後、水を加えて正確に1,000mLとし、必要ならば、ろ過し、試料溶液とする。

別に常用標準クロラムフェニコール約20mg(力価)に対応する量を精密に量り、試料溶液と同様に操作し、標準溶液を作る。試料溶液及び標準溶液につき、波長278nmにおける吸光度を測定し、A_T及びA_Sとする。

本品1mL中のmg(力価)

$$= \frac{A_T}{A_S} \times \frac{\text{常用標準クロラムフェニコール採取量中のmg(力価)}}{\text{本品の採取量(mL)}} \times 12.5$$

クロラムフェニコール眼軟膏
Chloramphenicol Eye Ointment

本品は、クロラムフェニコールの眼軟膏剤である。

確認試験

1　本品の表示力価に従い、約20mg(力価)に対応する量をとり、希エタノール10mLを加え、加温して溶かす。冷後、遠心分離し、上澄液をとり、希塩酸0.5mL及び亜ジチオン酸ナトリウム溶液(1→50)2mLを加え、氷冷しながら5分間放置する。これに亜硝酸ナトリウム溶液(1→100)1mLを加え、氷冷しながら2分間放置した後、アミド硫酸アンモニウム溶液(1→200)1mL及び*N,N*－ジエチル－*N'*－1－ナフチルエチレンジアミンシュウ酸塩溶液(1→1,000)1mLを加えるとき、液は赤紫色を呈する。

2　本品につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行い、確認する。

(1) 展開溶媒　［アセトン／シクロヘキサン混液(1：1)］を用いる。

(2) 常用標準希釈液　常用標準クロラムフェニコール適当量をとり、エタノール(95)を加えて溶かし、約2mg(力価)/mLの希釈液を作る。

(3) 試料溶液　本品の表示力価に従い、約40mg(力価)に対応する量をとり、ヘキサン20mLを加えて溶かし、更にエタノール(95)20mLを加えてよく混和した後、エタノール層を分取し、試料溶液とする。

(4) 薄層板　薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)を用いる。

(5) 判定　展開した薄層板に紫外線(主波長254nm)を照射するとき、試料溶液の示すスポットのR_f値は、常用標準希釈液のそれと等しい。

規格　(1) 本品は、表示された力価の90～120%を含む。

(2) 無菌試験；適合

(3) 水分；1.0%以下

———試験法———

力価試験

(1) 円筒平板法

①　培地　種層用寒天培地及び基層用寒天培地

ペプトン	10.0g	塩化ナトリウム	2.5g
肉エキス	5.0g	カンテン	13.0～20.0g

以上をとり、水を加えて溶かし、1,000mLとし、滅菌する。pHは、6.4～6.6とする。

②　試験菌　*Escherichia coli* NIHJ を用いる。

③　常用標準希釈液　常用標準クロラムフェニコール約20mg(力価)に対応する量を精密に量り、エタノール(95)2.0mLを加えて溶かした後、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)を加えて、約1mg(力価)/mLの濃度の明らかな原液を作る。原液は15℃以下に保存し、30日以内に使用する。用時、原液の適量を正確に量り、同緩衝液で正確に希釈して100μg(力価)/mL及び25μg(力価)/mLの希釈液を作る。

④　試料溶液　本品の表示力価に従い、適当量を精密に量り、試料とし、次の第1法、第2法又は第3法により、約200μg(力価)/mLの濃度の明らかな試料原液を作る。

第1法　試料をブレンダー用容器に入れ、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)80mLを加え、2分間高速度撹拌した後、同緩衝液を加えて正確に200mLとし、必要ならば、ろ過又は遠心分離し、試料原液とする。

第2法　試料を共栓遠心沈殿管に入れ、シクロヘキサン5mLを正確に加えてよく振り混ぜ、更にメタノール25mLを正確に加えてよく振り混ぜた後、遠心

分離する。上層液15mLを正確に量り、ブレンダー用容器に入れ、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)60mL及びポリソルベート80を1滴加え、2分間高速撹拌した後、同緩衝液を加えて正確に100mLとし、試料原液とする。

第3法　試料を共栓試験管に入れ、1,4－ジオキサン8mLを正確に加え、よく振り混ぜ、更に1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)32mLを正確に加え、激しく振り混ぜた後、ろ過する。この液20mLを正確に量り、同緩衝液を加えて正確に100mLとし、試料原液とする。

試料原液の適量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)で正確に希釈して、100μg(力価)/mL及び25μg(力価)/mLの試料溶液を作る。

(2) 標準曲線法

① 試験菌　*Micrococcus luteus* ATCC 9341 を用いる。

② 常用標準希釈液　(1)の③の原液の適量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)で正確に希釈してそれぞれ1mL中70、60、50、40及び30各μg(力価)/mLの希釈液を作る。中心常用標準希釈液は、50μg(力価)/mLとする。

③ 試料溶液　(1)の④の試料原液の適量を正確に量り、1g/dLリン酸塩緩衝液(pH6.0)で正確に希釈して50μg(力価)/mLの試料溶液を作る。

(3) 光学的方法

本品の表示力価に従い、約10mg(力価)に対応する量を精密に量り、シクロヘキサン20mLを加え、よく振り混ぜ、更にメタノール200mLを加えて激しく振り混ぜた後、メタノールを加えて正確に500mLとし、必要ならば、ろ過又は遠心分離し、試料溶液とする。別に、常用標準クロラムフェニコール約10mg(力価)に対応する量を精密に量り、同様に操作し、標準溶液を作る。試料溶液及び標準溶液につき、波長274nmにおける吸光度を測定し、A_T及びA_Sとする。

$$\text{本品の1mg中のμg(力価)} = \frac{A_T}{A_S} \times \frac{\text{常用標準クロラムフェニコール採取量中のmg(力価)}}{\text{本品の採取量(mg)}} \times 1{,}000$$

(4) 液体クロマトグラフィー

本品の表示力価に従い、約5mg(力価)に対応する量を精密に量り、ヘキサン30mLを加えて混和した後、薄めたメタノール(4→5)30mLずつで3回抽出する。全抽出液を合わせ、内標準溶液2mLを正確に加えた後、薄めたメタノール(4→5)を加えて100mLとし、必要に応じて孔径0.45μm以下のメンブランフィルターでろ過し、試料溶液とする。別に常用標準クロラムフェニコール約50mg(力価)に対応する量を精密に量り、薄めたメタノール(4→5)を加えて溶かし、正確に100mLとする。この液10mLを正確に量り、内標準溶液2mLを正確に加えた後、薄めたメタノール(4→5)を加えて100mLとし、必要に応じて孔径0.45μm以下のメンブランフィルターでろ過し、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液それぞれ20μLにつき、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、内標準物質のピーク高さに対する本品及び常用標準クロラムフェニコールのピーク高さの比Q_T及びQ_Sを求める。

$$\text{本品の1mg中のμg(力価)} = \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{\text{常用標準クロラムフェニコール採取量中のmg(力価)}}{\text{本品の採取量(mg)}} \times 100$$

内標準溶液　パラオキシ安息香酸エチルのメタノール溶液(1→500)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：270nm)

カラム：内径約4mm、長さ15～30cmのステンレス管に5～10μm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塡する。
カラム温度：40℃付近の一定温度
移動相：水／アセトニトリル混液(3：1)
流　量：常用標準クロラムフェニコールの保持時間が約6分になるように調整する。
カラムの選定：標準溶液20μLにつき、上記条件で操作するとき、クロラムフェニコール、内標準物質の順に溶出し、その分離度が4以上のものを用いる。