

表2-3 I A B - 1 凍結乾燥製剤の規格及び試験方法

(9) 定量

1) pDRSV-IFN  $\beta$

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液 0.5 mL を正確にとり、メタノールを加えて正確に 5 mL とし、試料溶液とする。別に pDRSV-IFN  $\beta$  標準原液 0.1 mL を正確にとり、膜成分定量用標準液原液 0.6 mL 及び 30 w/v% 白糖溶液 0.15 mL をそれぞれ正確に加え、メタノールを加えて正確に 5 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、波長 259 nm における吸光度  $A_T$  及び  $A_S$  をそれぞれ測定し、以下の式に挿入して本品 1 個に含まれる pDRSV-IFN  $\beta$  の量を求めるとき、0.10 ~ 0.17 mg の pDRSV-IFN  $\beta$  を含む。

$$p\text{DRSV-IFN } \beta \text{ の量 (mg)} = 0.02 \times A_T / A_S \times 10$$

2) リポソーム膜成分 (TMAG, DLPC, DOPE)

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液 0.5 mL を正確にとり、メタノール 4 mL を加えて溶かした後、直ちに 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.6) 0.25 mL を加え、更にメタノールを加えて正確に 5 mL とし、試料溶液とする。別に TMAG 31 mg, DLPC 62 mg 及び DOPE 74 mg を精密に量り、メタノールを加えて溶解し正確に 50 mL とする。次いで、この液 1 mL を正確に量り、メタノールをそれぞれ加え、正確に 5 mL, 10 mL, 20 mL とし、検量線用標準溶液とする。試料溶液及び検量線用標準溶液 40  $\mu$ L につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。各検量線標準溶液から得られたそれぞれの膜成分のピーク面積値より検量線を作成し、この検量線により試料溶液から得られた各膜分量を求めるとき、pDRSV-IFN  $\beta$  1 mg 当たり、TMAG, DLPC, DOPE をそれぞれ 3.6 ~ 7.2 mg, 7.8 ~ 13.8 mg, 9.0 ~ 16.8 mg を含む。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：210 nm)

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 30 cm のステンレス管に 7  $\mu$ m の液体クロマトグラフ用シリカゲルを充填する。(Wakosil-7SIL-120)

カラム温度：40  $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相：アセトニトリル / 3 mmol/L 過塩素酸ナトリウム・10 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.6) 混液 (171:29)

流量：DOPE, TMAG, DLPC の保持時間がそれぞれ約 6.5, 9, 20 分になるように調製する。