

## レバミゾール試験法

### 1. 分析対象化合物

レバミゾール

### 2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

### 3. 試薬・試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ジエチルアミン ジエチルアミン（特級）

リン酸一カリウム・ジエチルアミン緩衝液（pH 7.5） リン酸一カリウム2.72 gを水に溶かして800 mLとする。これにジエチルアミン3.33 mLを加え、リン酸を加えてpH 7.5に調整し、水を加えて1,000 mLとする。

強酸性陽イオン交換体ミニカラム（500 mg） 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管にプロピルベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル500 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

### 4. 標準品

塩酸レバミゾール 本品は塩酸レバミゾール99%以上を含む。

融点 本品の融点は226～231℃である。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

脂肪の場合は、可能な限り筋肉層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

肝臓及び腎臓の場合は、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液及び飽和炭酸ナトリウム溶液の混液（9：1）1 mL，酢酸エチル20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い、酢酸エチル層を100 mLの分液漏斗中に移す。遠心分離管の残留物に酢酸エチル15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、酢酸エチル層をその分液漏斗中に合わせる。これに0.1 mol/L塩酸15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、0.1 mol/L塩酸層を100 mLの三角フラスコ中に移す。酢酸エチル層に0.1 mol/L塩酸10 mLを加え、上記と同様に操作して、0.1 mol/L塩酸層をその三角フラスコ中に合わせる。

## b 精製法

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (500 mg) に、メタノール10 mL及び0.1 mol/L塩酸10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、水10 mL及びメタノール10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにアンモニア水及びメタノールの混液 (1 : 6) 5 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、50℃以下でアンモニア水及びメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及びリン酸一カリウム・ジエチルアミン緩衝液 (pH 7.5) の混液 (3 : 7) 1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

## 6. 操作法

### a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径5 µm) を用いる。

カラム管 内径4.0~6.0 mm, 長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

検出器 吸光波長220 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及びリン酸一カリウム・ジエチルアミン緩衝液 (pH 7.5) の混液 (3 : 7) を用いる。レバミゾールが約8分で流出する流速に調整する。

### b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

## 7. 定量限界

0.005 mg/kg

## 8. 留意事項

### (1) 試験溶液の調製

(1) 精製法において用いる強酸性陽イオン交換体ミニカラムは、予め標準品を用いて、その保持及び溶出性能を確認すること。

また、標準品を用いて添加・回収試験を行い、強酸性陽イオン交換体ミニカラムの精製効果、回収率 (70~110%) を確認すること。

(2) (1)の性能を有するミニカラムが入手困難な場合は、「○レバミゾール試験法の別法 (424ページ参照)」を用いること。

### (2) 標準溶液の調製

(1) レバミゾール10.0 mgに相当する標準品をメタノールに溶解してレバミゾール標準原液とすること（レバミゾール100 mg/L）。本標準原液は、0～4℃保存で6か月間安定であること。

(2) レバミゾール標準原液をアセトニトリル及び水の混液（3：7）で逡減希釈し、検量線作成用標準溶液とすること。

(3) その他

本試験法によりレバミゾールが検出された場合には、紫外可視多波長検出器及び質量検出器付き高速液体クロマトグラフを用いて確認することが望ましいこと。

## 9. 参考文献

なし

## 10. 類型

A

### ○レバミゾール試験法の別法

1. ～4. （レバミゾール試験法の1. ～4. を参照）

## 5. 試験溶液の調製

### a 抽出法

筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

脂肪の場合は、可能な限り筋肉層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

肝臓及び腎臓の場合は、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに無水硫酸ナトリウム10 gを加えて均一化する。これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液及び飽和炭酸ナトリウム溶液の混液（9：1）1 mL，酢酸エチル20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い、酢酸エチル層を綿栓ろ過して100 mLの分液漏斗中に移す。遠心分離管の残留物に酢酸エチル15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、酢酸エチル層をその分液漏斗中に合わせる。これに0.1 mol/L塩酸15 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、0.1 mol/L塩酸層を100 mLの三角フラスコ中に移す。酢酸エチル層に0.1 mol/L塩酸10 mLを加え、上記と同様に操作して、0.1 mol/L塩酸層をその三角フラスコ中に合わせる。

### b 精製法

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム（500 mg）に、メタノール10 mL及び0.1 mol/L塩酸10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入し

た後、水10 mL及びメタノール10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにアンモニア水及びメタノールの混液（1：24）5 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、50℃以下でアンモニア水及びメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及びリン酸一カリウム・ジエチルアミン緩衝液（pH 7.5）の混液（3：7）1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

6. （レバミゾール試験法の6. を参照）