

液の一方にチオシアン酸カリウム試液 0.15 mL を加え、30 分間放置し、試料溶液 (1) とする。他方にシアン化カリウム試液 0.10 mL を加え、30 分間放置し、試料溶液 (2) とする。別にシアノコバラミン標準品 3.0 mg をとり、pH 5.0 の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 10 mL を正確に加えて溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液 (1)、試料溶液 (2) 及び標準溶液 20 μ L ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板に、原線に沿って約 10 mm の間隔で、それぞれ長さ 25 mm にスポットする。次に水飽和 2-ブタノールを展開溶媒として、薄層板を水平面から約 15° の角度に傾斜させて 18 時間展開した後、風乾する。標準溶液から得たスポットに対応する位置の試料溶液 (1) から得たスポットは、標準溶液のスポットより濃くない。また、試料溶液 (2) から得た主スポット以外のスポットは、標準溶液のスポットより濃くない。

乾燥減量 12 % 以下 (0.05 g, 減圧・0.67 kPa 以下, 酸化リン (V), 100 °C, 6 時間)。

定量法 本品約 0.02 g を精密に量り、pH 5.0 の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液に溶かし、正確に 50 mL とする。この液 2 mL を正確に量り、50 mL のメスフラスコに入れ、シアン化カリウム溶液 (1 → 1000) 1 mL を加え、常温で 30 分間放置した後、pH 5.0 の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて 50 mL とし、試料溶液とする。別にシアノコバラミン標準品 (別途「シアノコバラミン」と同様の方法で乾燥減量を測定しておく) 約 0.02 g を精密に量り、水に溶かし、正確に 50 mL とする。この液 2 mL を正確に量り、pH 5.0 の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて正確に 50 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 361 nm における紫外可視吸光度 A_T 及び A_S を測定する。

酢酸ヒドロキシコバラミン ($C_{22}H_{30}CoN_{15}O_{15}P \cdot C_2H_4O_2$) の量 (mg)
= 乾燥物に換算したシアノコバラミン標準品の量 (mg)
 $\times \frac{A_T}{A_S} \times 1.0377$

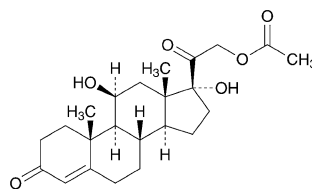
貯法

保存条件 遮光して、冷所に保存する。
容器 気密容器。

酢酸ヒドロコルチゾン

Hydrocortisone Acetate

ヒドロコルチゾン酢酸エステル



$C_{23}H_{32}O_6$: 404.50

11 β , 17, 21-Trihydroxypregn-4-ene-3, 20-dione 21-acetate
[50-03-3]

本品を乾燥したものは定量するとき、酢酸ヒドロコルチゾン ($C_{23}H_{32}O_6$) 97.0 ~ 102.0 % を含む。

性状 本品は白色の結晶又は結晶性の粉末で、においはない。

本品は 1,4-ジオキサソにやや溶けにくく、メタノール、エタノール (95) 又はクロロホルムに溶けにくく、ジエチルエーテルに極めて溶けにくく、水にほとんど溶けない。

融点: 約 220 °C (分解)。

確認試験

(1) 本品 2 mg に硫酸 2 mL を加えるとき、液は初め帯黄緑色の蛍光を発生し、徐々にだいたい黄色を経て暗赤色に変わる。この液は紫外線を照射するとき、強い淡緑色の蛍光を発生する。この液に注意して水 10 mL を加えるとき、液は黄色からだいたい黄色に変わり、淡緑色の蛍光を発生し、黄褐色綿状の浮遊物を生じる。

(2) 本品 0.01 g にメタノール 1 mL を加え、加温して溶かし、フェーリング試液 1 mL を加えて加熱するとき、だいたい色~赤色の沈殿を生じる。

(3) 本品 0.05 g に水酸化カリウム・エタノール試液 2 mL を加え、水浴上で 5 分間加熱する。冷後、薄めた硫酸 (2 → 7) 2 mL を加え、1 分間穏やかに煮沸するとき、酢酸エチルのにおいを発生する。

(4) 本品及び酢酸ヒドロコルチゾン標準品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。もし、これらのスペクトルに差を認めるときは、それぞれをエタノール (95) に溶かした後、エタノールを蒸発し、残留物につき、同様の試験を行う。

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +158 ~ +165° (乾燥後, 0.05 g, 1,4-ジオキサソ, 10 mL, 100 mm)。

純度試験 他のステロイド 本品 0.040 g をクロロホルム/メタノール混液 (9:1) 25 mL に溶かし、試料溶液とする。この液 2 mL を正確に量り、クロロホルム/メタノール混液 (9:1) 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法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 μ L ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次にジクロロメタン/ジエチルエーテル/メタノール/水混液 (160:30:8:1) を展開溶媒として約 12 cm 展開した後、薄層板

を風乾する。これにアルカリ性ブルーテトラゾリウム試液を均等に噴霧するとき、試料溶液から得た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。

乾燥減量 1.0 % 以下 (0.5 g, 105 °C, 3 時間)。

強熱残分 0.1 % 以下 (0.5 g)。

定量法 本品及び酢酸ヒドロコルチゾン標準品を乾燥し、その約 0.02 g ずつを精密に量り、それぞれをメタノールに溶かし、次に内標準溶液 10 mL ずつを正確に加えた後、メタノールを加えて 100 mL とし、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20 μ 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い、内標準物質のピーク面積に対する酢酸ヒドロコルチゾンのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求める。

$$\begin{aligned} & \text{酢酸ヒドロコルチゾン (C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{) の量 (mg)} \\ & = \text{酢酸ヒドロコルチゾン標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \end{aligned}$$

内標準溶液 パラオキシ安息香酸ベンジルのメタノール溶液 (1 \rightarrow 1000)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 30 cm のステンレス管に 10 μ m の液体クロマトグラフ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：室温

移動相：水/アセトニトリル混液 (13 : 7)

流量：酢酸ヒドロコルチゾンの保持時間が約 8 分になるように調整する。

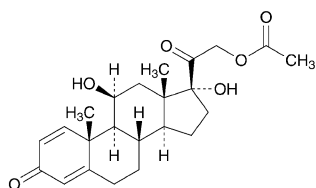
カラムの選定：標準溶液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、酢酸ヒドロコルチゾン、内標準物質の順に溶出し、その分離度が 4 以上のものを用いる。

貯法 容器 気密容器。

酢酸プレドニゾロン

Prednisolone Acetate

プレドニゾロン酢酸エステル



C₂₃H₃₀O₆ : 402.48

11 β , 17, 21-Trihydroxypregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-acetate [52-21-1]

本品を乾燥したものは定量するとき、酢酸プレドニゾロン (C₂₃H₃₀O₆) 96.0~102.0 % を含む。

性状 本品は白色の結晶性の粉末である。

本品はメタノール, エタノール (95), エタノール (99.5) 又はクロロホルムに溶けにくく, 水にほとんど溶けない。

融点：約 235 °C (分解)。

確認試験

(1) 本品 2 mg に硫酸 2 mL を加えるとき、2~3 分の後、液は濃赤色を呈し、蛍光を発しない。この液に注意して水 10 mL を加えるとき、液の濃赤色は退色し、灰色の綿状の沈殿を生じる。

(2) 本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により試験を行い、本品のスペクトルと本品の参照スペクトル又は乾燥した酢酸プレドニゾロン標準品のスペクトルを 4000 ~ 650 cm⁻¹ の範囲で比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。もし、これらのスペクトルに差を認めるときは、本品及び酢酸プレドニゾロン標準品をそれぞれエタノール (99.5) に溶かした後、エタノールを蒸発し、残留物につき、同様の試験を行う。

旋光度 $[\alpha]_D^{25}$: +128 ~ +137° (乾燥後, 0.07 g, メタノール, 20 mL, 100 mm)。

純度試験 他のステロイド 本品 0.20 g にクロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 10 mL を正確に加えて溶かし、試料溶液とする。別にプレドニゾロン, 酢酸コルチゾン及び酢酸ヒドロコルチゾン 0.020 g ずつをとり、クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 10 mL を正確に加えて溶かす。この液 1 mL を正確に量り、クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) を加えて正確に 10 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法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 μ L ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲル (蛍光剤入り) を用いて調製した薄層板にスポットする。次にジクロロメタン/ジエチルエーテル/メタノール/水混液 (385 : 75 : 40 : 6) を展開溶媒として約 15 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線 (主波長 254 nm) を照射するとき、標準溶液から得たスポットに対応する位置の試料溶液から得たスポットは、標準溶液のスポットより濃くない。また、試料溶液には、主スポット、プレドニゾロン, 酢酸コルチゾン及び酢酸ヒドロコルチゾン以外のスポットを認めない。

乾燥減量 1.0 % 以下 (0.5 g, 105 °C, 3 時間)。

強熱残分 0.1 % 以下 (0.5 g)。

定量法 本品及び酢酸プレドニゾロン標準品を乾燥し、その約 0.01 g ずつを精密に量り、それぞれをメタノール 60 mL に溶かし、次に内標準溶液 2 mL ずつを正確に加えた後、メタノールを加えて 100 mL とし、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10 μ 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い、内標準物質のピーク高さに対する酢酸プレドニゾロンのピーク高さの比 Q_T 及び Q_S を求める。

$$\begin{aligned} & \text{酢酸プレドニゾロン (C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{) の量 (mg)} \\ & = \text{酢酸プレドニゾロン標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \end{aligned}$$

内標準溶液 パラオキシ安息香酸ブチルのメタノール溶液 (3 \rightarrow 1000)

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 15 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。