

びヒトインスリンのピークに対する相対保持時間約 1.3 のデアミド体のピーク面積  $A_{TD}$ 、並びに標準溶液のヒトインスリンのピーク面積  $A_{SI}$  及びデアミド体のピーク面積  $A_{SD}$  を測定する。

ヒトインスリン ( $C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$ ) の量  
(インスリン単位/mg)

$$= \frac{W_s \times F}{D} \times \frac{A_{TI} + A_{TD}}{A_{SI} + A_{SD}} \times \frac{5}{W_T}$$

$F$ : ヒトインスリン標準品の表示単位 (インスリン単位/mg)

$D$ : ヒトインスリン標準品の溶解に用いた 0.01 mol/L 塩酸試液の量 (mL)

$W_T$ : 乾燥物に換算した本品の量 (mg)

$W_s$ : ヒトインスリン標準品の量 (mg)

#### 試験条件

検出器: 紫外吸光度計 (測定波長: 214 nm)

カラム: 内径 4.6 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に 5  $\mu$ 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: 40 °C 付近の一定温度

移動相: pH 2.3 のリン酸・硫酸ナトリウム緩衝液/液体クロマトグラフ用アセトニトリル混液 (3:1)。なお、ヒトインスリンの保持時間が 10 ~ 17 分になるように移動相組成の混合比を調整する。

流量: 毎分 1.0 mL。

#### システム適合性

システムの性能: ヒトインスリンデアミド体含有試液 20  $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、ヒトインスリン、デアミド体の順に溶出し、その分離度が 2.0 以上で、ヒトインスリンのピークのシンメトリー係数が 1.8 以下である。

システムの再現性: 標準溶液 20  $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、ヒトインスリンのピーク面積の相対標準偏差は 1.6 % 以下である。

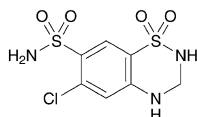
#### 貯法

保存条件 遮光して、-20 °C 以下で保存する。

容器 気密容器。

## ヒドロクロロチアジド

Hydrochlorothiazide



$C_7H_5ClN_3O_4S_2$ : 297.74

6-Chloro-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide 1,1-dioxide [58-93-5]

本品を乾燥したものは定量するとき、ヒドロクロロチアジド ( $C_7H_5ClN_3O_4S_2$ ) 99.0 % 以上を含む。

性状 本品は白色の結晶又は結晶性の粉末で、においはなく、味はわずかに苦い。

本品はアセトンに溶けやすく、アセトニトリルにやや溶けにくく、水又はエタノール (95) に極めて溶けにくく、ジエチルエーテルにほとんど溶けない。

本品は水酸化ナトリウム試液に溶ける。

融点: 約 267 °C (分解)。

#### 確認試験

(1) 本品 5 mg にクロモトローブ酸試液 5 mL を加えて 5 分間放置するとき、液は紫色を呈する。

(2) 本品 0.1 g に炭酸ナトリウム十水和物 0.5 g を混和し、注意して融解するとき、発生するガスは潤した赤色リトマス紙を青変する。冷後、融解物をガラス棒で碎き、水 10 mL を加えてかき混ぜ、ろ過する。ろ液 4 mL に過酸化水素 (30) 2 滴、薄めた塩酸 (1 → 5) 5 mL 及び塩化バリウム試液 2 ~ 3 滴を加えるとき、白色の沈殿を生じる。

(3) (2) のろ液 4 mL に希硝酸 5 mL 及び硝酸銀試液 3 滴を加えるとき、白色の沈殿を生じる。

(4) 本品 0.012 g を水酸化ナトリウム試液 100 mL に溶かす。この液 10 mL に水を加えて 100 mL とした液につき、紫外可視吸光度測定法により吸収スペクトルを測定し、本品のスペクトルと本品の参照スペクトル又はヒドロクロロチアジド標準品について同様に操作して得られたスペクトルを比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収を認める。

#### 純度試験

(1) 塩化物 本品 1.0 g をアセトン 30 mL に溶かし、希硝酸 6 mL 及び水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は 0.01 mol/L 塩酸 1.0 mL にアセトン 30 mL, 希硝酸 6 mL 及び水を加えて 50 mL とする (0.036 % 以下)。

(2) 硫酸塩 本品 1.0 g をアセトン 30 mL に溶かし、希塩酸 1 mL 及び水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は 0.005 mol/L 硫酸 1.0 mL にアセトン 30 mL, 希塩酸 1 mL 及び水を加えて 50 mL とする (0.048 % 以下)。

(3) 重金属 本品 1.0 g をとり、第 2 法により操作し、試験を行う。比較液には鉛標準液 2.0 mL を加える (20 ppm 以下)。

(4) 芳香族第一アミン 本品 0.080 g をとり、アセトンに溶かし、正確に 100 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、希塩酸 3.0 mL, 水 3.0 mL 及び亜硝酸ナトリウム試液 0.15 mL を加えて振り混ぜた後、1 分間放置する。この液にアミド硫酸アンモニウム試液 1.0 mL を加えて振り混ぜ、3 分間放置した後、*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試液 1.0 mL を加えて振り混ぜ、5 分間放置する。この液につき、アセトン 1.0 mL を用いて同様に操作して得た液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行うとき、波長 525 nm における吸光度は 0.10 以下である。

乾燥減量 1.0 % 以下 (1 g, 105 °C, 2 時間)。

強熱残分 0.10 % 以下 (1 g)。

定量法 本品及びヒドロクロロチアジド標準品を乾燥し、その約 0.03 g ずつを精密に量り、それぞれを移動相 150 mL

に溶かし、次に内標準溶液 10 mL ずつを正確に加えた後、移動相を加えて 200 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  $\mu$ 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い、内標準物質のピーク面積に対するヒドロクロロチアジドのピーク面積の比  $Q_T$  及び  $Q_S$  を求める。

$$\begin{aligned} & \text{ヒドロクロロチアジド (C}_7\text{H}_9\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2) \text{ の量 (mg)} \\ & = \text{ヒドロクロロチアジド標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \end{aligned}$$

内標準溶液 4-アミノアセトフェノンのアセトニトリル溶液 (9  $\rightarrow$  2000)

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 25 cm のステンレス管に 5  $\mu$ 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：25  $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相：pH 3.0 の 0.1 mol/L リン酸二水素ナトリウム試液/アセトニトリル混液 (9 : 1)

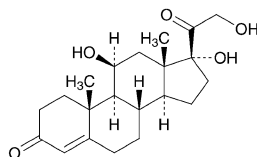
流量：ヒドロクロロチアジドの保持時間が約 10 分になるように調整する。

カラムの選定：標準溶液 20  $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、ヒドロクロロチアジド、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 密閉容器。

## ヒドロコルチゾン

Hydrocortisone



$C_{21}H_{30}O_6$  : 362.46

11 $\beta$ , 17, 21-Trihydroxypregn-4-ene-3, 20-dione [50-23-7]

本品を乾燥したものは定量するとき、ヒドロコルチゾン ( $C_{21}H_{30}O_6$ ) 97.0 ~ 102.0 % を含む。

性状 本品は白色の結晶性の粉末で、においはない。

本品はメタノール、エタノール (95) 又は 1,4-ジオキサソランにやや溶けにくく、クロロホルムに溶けにくく、水又はジエチルエーテルに極めて溶けにくい。

融点：212 ~ 220  $^{\circ}$ C (分解)。

確認試験

(1) 本品 2 mg に硫酸 2 mL を加えるとき、直ちに黄緑色の蛍光を発生し、液の色はだいたい色を経て徐々に暗赤色に変わる。この液に注意して水 10 mL を加えるとき、液は黄色を経てだいたい黄色に変わり、緑色の蛍光を発生し、少量の綿状の浮遊物を生じる。

(2) 本品 0.01 g をメタノール 1 mL に溶かし、フェーリング試液 1 mL を加えて加熱するとき、赤色の沈殿を生

じる。

(3) 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ヒドロコルチゾン標準品のスペクトルを比較するとき、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、本品及びヒドロコルチゾン標準品の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  $[\alpha]_D^{25}$  : +150 ~ +156  $^{\circ}$  (乾燥後, 0.1 g, 1,4-ジオキサン, 10 mL, 100 mm)。

純度試験 他のステロイド 本品 0.020 g をクロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 10 mL に溶かし、試料溶液とする。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 50 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 10  $\mu$ 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。次にクロロホルム/エタノール (95) 混液 (17 : 3) を展開溶媒として約 10 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、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  $^{\circ}$ C, 3 時間)。

強熱残分 0.1 % 以下 (0.5 g)。

定量法 本品及び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、それぞれをクロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 20 mL に溶かし、次に内標準溶液 10 mL ずつを正確に加えた後、クロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) を加えて 50 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 5  $\mu$ 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い、内標準物質のピーク面積に対する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。

$$\begin{aligned} & \text{ヒドロコルチゾン (C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_6) \text{ の量 (mg)} \\ & = \text{ヒドロコルチゾン標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S} \end{aligned}$$

内標準溶液 プレドニゾンのクロロホルム/メタノール混液 (9 : 1) 溶液 (9  $\rightarrow$  10000)

試験条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：内径 4.6 mm、長さ 25 cm のステンレス管に 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフ用シリカゲルを充てんする。

カラム温度：20  $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相：クロロホルム/メタノール/酢酸 (100) 混液 (1000 : 20 : 1)

流量：ヒドロコルチゾンの保持時間が約 15 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 5  $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、内標準物質、ヒドロコルチゾンの順に溶出し、その分離度は 7 以上である。

システムの再現性：標準溶液 5  $\mu$ L につき、上記の条