

トルを測定するとき、波長 261 ～ 265 nm に吸収の極大を示す。

(2) (1) のろ液を試料溶液とする。別にビサコジル標準品 6 mg をエタノール (95) 20 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラ法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液 20 μL ずつを薄層クロマトグラ用シリカゲル（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 2-ブタノン/クロロホルム/キシレン混液 (1:1:1) 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、試料溶液及び標準溶液から得たスポットの R_f 値は等しい。

定量法 本品 20 個以上をとり、その質量を精密に量り、注意して細片とし、均一に混和する。ビサコジル ($C_{22}H_{39}NO_4$) 約 0.01 g に対応する量を精密に量り、テトラヒドロフラン 40 mL を加え、40 °C に加温し、振り混ぜて溶かし、冷後、更にテトラヒドロフランを加えて正確に 50 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、内標準溶液 5 mL を正確に加え、更に移動相を加えて 100 mL とする。この液を 30 分間氷冷した後、遠心分離し、上澄液を孔径 0.5 μm のメンブランフィルターでろ過し、初めのろ液 10 mL を除き、次のろ液を試料溶液とする。別にビサコジル標準品を 105 °C で 2 時間乾燥し、その約 0.01 g を精密に量り、テトラヒドロフランに溶かし、正確に 50 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、試料溶液と同様に操作し、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20 μL につき、次の条件で液体クロマトグラ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するビサコジルのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求める。

$$\text{ビサコジル } (C_{22}H_{39}NO_4) \text{ の量 (mg)} \\ = \text{ビサコジル標準品の量 (mg)} \times \frac{Q_T}{Q_S}$$

内標準溶液 パラオキシ安息香酸エチルのアセトニトリル溶液 (3 → 100000)

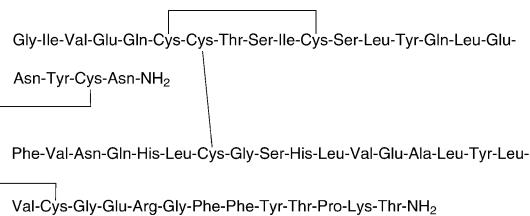
操作条件

検出器：紫外吸光度計（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
 IC 10 μm 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：0.01 mol/L クエン酸試液/アセトニトリル/メタノール混液 (2:1:1)
 流量：ビサコジルの保持時間が約 8 分になるように調整する。
 カラムの選定：標準溶液 20 μL につき、上記の条件で操作するとき、内標準物質、ビサコジルの順に溶出し、その分離度が 2 以上のものを用いる。

貯 法 容 器 気密容器。

ヒトイインスリン（遺伝子組換え）

Insulin Human (Genetical Recombination)



$C_{257}H_{383}N_{66}O_{77}S_6$: 5807.57

[II061-68-0]

本品は遺伝子組換え技術を用いて製造されたもので、血糖を降下させる作用があり、定量するとき、換算した乾燥物に対し、1 mg 当たり 27.5 インスリン単位以上を含む。

性状 本品は白色の粉末である。

本品は水又はエタノール (95) にほとんど溶けない。

本品は 0.01 mol/L 塩酸試液又は水酸化ナトリウム試液に溶ける。

本品は吸湿性である。

確認試験 本品適量を精密に量り、0.01 mol/L 塩酸試液に溶かし、1 mL 中に 2.0 mg を含むように調製する。この液 500 μL を清浄な試験管にとり、pH 7.5 のヘペス緩衝液 2.0 mL 及び V8 プロテアーゼ酵素試液 400 μL を加え、25 °C で 6 時間反応した後、硫酸アンモニウム緩衝液 2.9 mL を加えて反応を停止し、試料溶液とする。別に、ヒトイインスリン標準品を同様の方法で操作し、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 50 μL につき、次の条件で液体クロマトグラ法により試験を行う。試料溶液及び標準溶液から得られたクロマトグラムにつき、溶媒ピークの直後に溶出するピーク、及びその後に順次溶出するこれより明らかにピーク高さの大きい 3 本のピークを比較するとき、試料溶液及び標準溶液の各ピークの保持時間は同一であり、ピーク高さは同様である。

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 10 cm のステンレス管に 3 μm 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：A 液—水/硫酸アンモニウム緩衝液/アセトニトリル混液 (7:2:1)
 B 液—水/アセトニトリル/硫酸アンモニウム緩衝液混液 (2:2:1)

試料注入後 60 分間に A 液/B 液混液 (9:1) から A 液/B 液混液 (3:7) となるように直線的勾配で移動相 B 液の割合を増加させながら送液し、次の 5 分間で B 液 100 % となるように直線的勾配で B 液の割合を増加させ、更にその後 5 分間は B 液を送液する。

流量：毎分 1.0 mL.

システム適合性

システムの性能：標準溶液 50 μL につき、上記の条件で操作するとき、溶媒ピーク直後に溶出するピークの後に溶出する、これより大きな最初の二つのピークのシングメトリー係数はそれぞれ 1.5 以下であり、両者のピークの分離度は 3.4 以上である。

純度試験

(1) 類縁物質 本操作は、速やかに行う。本品 7.5 mg を 0.01 mol/L 塩酸試液 2 mL に溶かし、試料溶液とする。試料溶液 20 μL 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。別に、0.01 mol/L 塩酸試液 20 μL につき、同様に試験を行い、溶媒由来のピークを確認する。試料溶液の各々のピーク面積を測定し、ヒトイインスリンのピーク面積 A_t 、ヒトイインスリンのピークに対する相対保持時間約 1.3 のデスマミド体のピーク面積 A_d 及び溶媒由来のピーク以外のピークの合計面積 A_{r} を求めるとき、デスマミド体の量及びデスマミド体以外の類縁物質の量は、それぞれ 2.0 % 以下である。

$$\text{デスマミド体の量 (\%)} = \frac{A_d}{A_t} \times 100$$

$$\text{デスマミド体以外の類縁物質の量 (\%)} = \frac{A_{\text{r}} - (A_t + A_d)}{A_t} \times 100$$

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：214 nm）

カラム：内径 4.6 mm、長さ 25 cm のステンレス管に 5 μm の液体クロマトグラフ用オクタデシル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：A 液-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 (41 : 9)

B 液-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 (1 : 1)

試料注入前及び試料注入後 36 分間は A 液/B 液混液 (78 : 22) を送液する。次の 25 分間は A 液/B 液混液 (33 : 67) となるように B 液の割合を直線的勾配で増加しながら送液し、更に次の 6 分間は A 液/B 液混液 (33 : 67) を送液する。次の 15 分間は A 液/B 液混液 (78 : 22) を送液する。なお、ヒトイインスリンの保持時間が約 25 分になるように試料注入前の A 液/B 液混液の混合比を調整する。

流量：毎分 1.0 mL。

面積測定範囲：試料注入直後から約 75 分間の範囲

システム適合性

検出の確認：ヒトイインスリンデスマミド体含有試液 20 μL から得たデスマミド体のピーク高さがフルスケールの 30 ~ 70 % になることを確認する。

システムの性能：ヒトイインスリンデスマミド体含有試液 20 μL につき、上記の条件で操作するとき、ヒトイインスリン、ヒトイインスリンデスマミド体の順に溶出し、その分離度は 2.0 以上で、ヒトイインスリンのピークのシングメトリー係数は 1.8 以下である。

(2) 高分子たん白質 本品 4 mg を 0.01 mol/L 塩酸試

液 1 mL に溶かし、この液 100 μL 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。この液の各々のピーク面積を測定するとき、ヒトイインスリンのピークよりも保持時間の小さいピークの合計面積は、全面積の 1.0 % 以下である。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：276 nm）

カラム：内径 7.5 mm、長さ 30 cm のステンレス管に液体クロマトグラフ用親水性シリカゲルを充てんする。

カラム温度：25 °C 付近の一定温度

移動相：L-アルギニン溶液 (1 → 1000) /アセトニトリル/酢酸 (100) 混液 (13 : 4 : 3)

流量：ヒトイインスリンの保持時間が約 20 分になるよう調整する。

面積測定範囲：ヒトイインスリンの単量体のピークまでの範囲

システム適合性

検出の確認：ヒトイインスリン二量体含有試液 100 μL から得た二量体のピーク高さがフルスケールの 10 ~ 50 % になることを確認する。

システムの性能：ヒトイインスリン二量体含有試液 100 μL につき、上記の条件で操作するとき、多量体、二量体、单量体の順に溶出し、二量体のピーク高さ H_1 及び二量体と单量体のピーク間の谷の高さ H_2 を測定するとき、 H_1/H_2 が 2.0 以上である。

(3) その他の目的物質関連不純物 別に規定する。

(4) 工程由来不純物 別に規定する。

亜鉛含量 本品約 0.05 g を精密に量り、0.01 mol/L 塩酸試液に溶かし、正確に 25 mL とし、必要ならば、更に 0.01 mol/L 塩酸試液を加えて、1 mL 中に亜鉛 (Zn : 65.39) 0.4 ~ 1.6 μg を含むように薄め、試料溶液とする。別に原子吸光光度用亜鉛標準液適量を正確に量り、0.01 mol/L 塩酸試液を加えて 1 mL 中に亜鉛 (Zn : 65.39) 0.40 μg 、0.80 μg 、1.20 μg 及び 1.60 μg を含むように薄め、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、次の条件で原子吸光光度法により試験を行い、標準溶液の吸光度から得た検量線を用いて試料溶液の亜鉛 (Zn=65.39) を定量するとき、換算した乾燥物に対し 1.0 % 以下である。

使用ガス：

可燃性ガス アセチレン

支燃性ガス 空気

ランプ：亜鉛中空陰極ランプ

波長：213.9 nm

乾燥減量 10.0 % 以下 (0.2 g, 105 °C, 24 時間)。

エンドトキシン 10 EU/mg 未満。

定量法 本操作は、速やかに行う。本品約 7.5 mg を精密に量り、0.01 mol/L 塩酸試液に溶かし、正確に 5 mL とし、試料溶液とする。別に、ヒトイインスリン標準品適量を精密に量り、0.01 mol/L 塩酸試液に溶かし、表示単位に従い 1 mL 中にヒトイインスリン約 40 インスリン単位を含むように正確に薄め、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20 μL ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液のヒトイインスリンのピーク面積 A_{r} 及

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 のデスマ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} 及びデスマミド体のピーク面積 A_{SD} を測定する。

$$\begin{aligned} \text{ヒトインスリン (C}_{257}\text{H}_{383}\text{N}_{55}\text{O}_{77}\text{S}_6\text{) の量} \\ (\text{インスリン単位/mg}) \\ = \frac{W_s \times F}{D} \times \frac{A_{TI} + A_{TD}}{A_{SI} + A_{SD}} \times \frac{5}{W_T} \end{aligned}$$

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 μm 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：ヒトインスリンデスマミド体含有試液 20 μL につき、上記の条件で操作するとき、ヒトインスリン、デスマ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 μL 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。

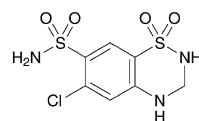
貯 法

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



$C_7H_8ClN_3O_4S_2$: 297.74

6-Chloro-3, 4-dihydro-2*H*-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 ($C_7H_8ClN_3O_4S_2$) 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 にクロモトロープ酸試液 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砕き、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