

資料No. 1 (改)

日本薬局方の一部改正（案）について

平成21年8月25日
医薬食品局審査管理課

第十五改正日本薬局方の一部改正案の概要

1. 一般試験法の改正

三薬局方で調和合意された内容を反映するもの。

(1) 6.10 溶出試験法

フロースルーセル法による溶出試験操作を、脈流のある送液用ポンプの使用及び送液速度と脈流の有無で規定することについて、改正を行う。

2. 医薬品各条の改正

ヘパリンナトリウム及びヘパリンカルシウムは、「日本薬局方の一部を改正する件(平成 20 年厚生労働省告示第 417 号)」及び「日本薬局方外医薬品規格 2002 の一部改正について(平成 20 年 7 月 31 日付け薬食発第 0731015 号厚生労働省医薬食品局長通知)」により、品質に係る規定を改めたところであるが、今般、より適切な確認試験及び純度試験を設定するため、改正を行う。

(1) ヘパリンナトリウム

確認試験の項、純度試験の項類縁物質の目及びガラクトサミンの目を追加し、純度試験の項過硫酸化コンドロイチン硫酸の目について、改正を行う。

(2) ヘパリンカルシウム

純度試験の項類縁物質の目を追加し、確認試験の項過硫酸化コンドロイチン硫酸の目について、改正を行う。

(3) 上記(1)及び(2)に伴い、一般試験法の部 9.01 標準品の条にアミノ安息香酸誘導体化試液、過塩素酸リチウム、D-ガラクトサミン塩酸塩、D-グルコサミン塩酸塩、デルマタン硫酸エステル、ボラン-ピリジン錯体及び D-マンノサミン塩酸塩を追加する。

一般試験法

一般試験法の部 6.10 溶出試験法の条装置の項フロースルーセル法の装置（装置3）の目を次のように改める。

新	旧	備 考
<p>6.10 溶出試験法</p> <p>装 置</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>フロースルーセル法の装置（装置3）：装置は、試験液の貯槽と送液用ポンプ、フロースルーセル、試験液を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つための恒温水槽からなる。フロースルーセルは医薬品各条で規定された大きさのものを使用する。</p> <p>送液用ポンプは、フロースルーセルの中を上向きに試験液を送液する。送液用ポンプは、毎分 4 ～ 16 mL の送液が可能で標準的な毎分 4, 8, 16 mL の送液ができるものを使用する。送液用ポンプは定流量（表示流量の $\pm 5\%$）で送液でき、脈流の波形は毎分 120 ± 10 パルスの正弦型でなければならない。◆ただし、脈流が生じない送液用ポンプを用いてもよい。◆<u>フロースルーセル法による溶出試験操作は、送液速度と、脈流の有無で規定されなければならない。</u></p> <p>透明で化学的に不活性な材質でできたフロースルーセル（図 6.10 - 3 及び 6.10 - 4 参照）を垂直に設置し、セルの上部には、未溶解の粒子が流失するのを防ぐため、（医薬品各条で規定された）フィルターシステムを装着する。標準的なセルの直径は 12 及び 22.6 mm で、セルの下部にある円錐の先端に試験液導入チューブを保護するために直</p>	<p>6.10 溶出試験法</p> <p>装 置</p> <p style="text-align: center;"> 略 </p> <p>フロースルーセル法の装置（装置3）：装置は、試験液の貯槽と送液用ポンプ、フロースルーセル、試験液を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つための恒温水槽からなる。フロースルーセルは医薬品各条で規定された大きさのものを使用する。</p> <p>送液用ポンプは、フロースルーセルの中を上向きに試験液を送液する。送液用ポンプは、毎分 4 ～ 16 mL の送液が可能で標準的な毎分 4, 8, 16 mL の送液ができるものを使用する。送液用ポンプは定流量（表示流量の $\pm 5\%$）で送液でき、脈流の波形は 120 ± 10 パルスの正弦型でなければならない。◆ただし、脈流が生じない送液用ポンプを用いてもよい。◆</p> <p>透明で化学的に不活性な材質でできたフロースルーセル（図 6.10 - 3 及び 6.10 - 4 参照）を垂直に設置し、セルの上部には、未溶解の粒子が流失するのを防ぐため、（医薬品各条で規定された）フィルターシステムを装着する。標準的なセルの直径は 12 及び 22.6 mm で、セルの下部にある円錐の先端に試験液導入チューブを保護するために直</p>	

径約 5 mm のビーズを置き、その上に直径約 1 mm のガラスビーズを入れ円錐内を満たす。特殊な剤形では、ホルダー（図 6.10-3 及び 6.10-4 参照）を使用して試料を保持することができる。フロースルーセルは恒温水槽に沈め、温度を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つ。

漏れが生じないように 2 枚の O-リングを使用してフロースルーセルをしっかり締める。送液用ポンプから発生する振動を遮蔽するために、送液用ポンプは溶出ユニットから離しておく。送液用ポンプは、貯槽より高いところに置いてはならない。接続チューブはできるだけ短くする。接続チューブにはテフロンのような化学的に不活性なものを使用し、その内径は約 1.6 mm で両端には化学的に不活性な接続用の縁が付いている。

装置の適合性：溶出試験装置の適合性には、装置の寸法が上述した許容誤差に従っていることの確認が含まれる。また、使用中に定期的に監視が必要な重要な試験パラメータは、温度や試験液の容量、（回転バスケット法及びパドル法では）回転速度、（フロースルーセル法では）試験液の流量などである。

定期的に、溶出試験装置が適切な性能を有しているかどうか判定する。

径約 5 mm のビーズを置き、その上に直径約 1 mm のガラスビーズを入れ円錐内を満たす。特殊な剤形では、ホルダー（図 6.10-3 及び 6.10-4 参照）を使用して試料を保持することができる。フロースルーセルは恒温水槽に沈め、温度を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保つ。

漏れが生じないように 2 枚の O-リングを使用してフロースルーセルをしっかり締める。送液用ポンプから発生する振動を遮蔽するために、送液用ポンプは溶出ユニットから離しておく。送液用ポンプは、貯槽より高いところに置いてはならない。接続チューブはできるだけ短くする。接続チューブにはテフロンのような化学的に不活性なものを使用し、その内径は約 1.6 mm で両端には化学的に不活性な接続用の縁が付いている。

装置の適合性：溶出試験装置の適合性には、装置の寸法が上述した許容誤差に従っていることの確認が含まれる。また、使用中に定期的に監視が必要な重要な試験パラメータは、温度や試験液の容量、（回転バスケット法及びパドル法では）回転速度、（フロースルーセル法では）試験液の流量などである。

定期的に、溶出試験装置が適切な性能を有しているかどうか判定する。

医薬品各条

医薬品各条の部 ヘパリンナトリウムの条性状の項の次に次の一項を加える。

ヘパリンナトリウム

確認試験

本品及び理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 1 mg ずつを水 1 mL に溶かし、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 ずつをとり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行うとき、試料溶液及び標準溶液から得た主ピークの保持時間は等しい。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：202 nm)

カラム：内径 2.0 mm、長さ 7.5 cm のステンレス管に 10 μ m の液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル基を結合した合成高分子を充てんする。

カラム温度：35°C 付近の一定温度

移動相 A：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相 B：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g 及び過塩素酸リチウム 106.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0~3	90	10
3~15	90 → 0	10 → 100

流量：毎分 0.2 mL

システム適合性

システムの性能：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 1.0 mg を水 0.60 mL に溶かした液 90 μ L、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.10 mg を水 0.20 mL に溶かした液 30 μ L 及びデルマトン硫酸エステル 1.0 mg を水 2.0 mL に溶かした液 30 μ L を混和する。この液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、デルマトン硫酸エステル、ヘパリン、過硫酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、デルマトン硫酸エステルとヘパリンの分離度は 1.0 以上、ヘパリンと過硫酸化コンドロイチン硫酸の分離度は 1.5 以上である。

同条純度試験の項(5)の目を次のように改める。

純度試験

(5) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 0.60 mL に溶かす。この液につき 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) により、プロトン共鳴周波数 400 MHz 以上の装置(1)を用いて ^1H を測定するとき、 δ 2.15 \pm 0.02 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めないか、シグナルを認める場合には ^{13}C をデカップリングして測定するとき、そのシグナルは消失する。

試験条件

温度：25°C

スピニング：オフ

データポイント数：32,768

スペクトル範囲：DHO のシグナルを中心に \pm 6.0 ppm

パルス角：90°

繰り返しパルス待ち時間：20 秒

ダミーキャン：4 回

積算回数：ヘパリンの *N*-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 1000 以上得られる回数

ウィンドウ関数：指数関数(Line broadening factor = 0.2 Hz)

システム適合性

システムの性能：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 20 mg を 0.40 mL の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液に溶かした液に、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 1.0 mL に溶かした液 0.20 mL を加える。この液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.04±0.02 ppm にヘパリンの N-アセチル基に由来するシグナル、及び δ 2.15±0.02 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認める。

同条純度試験の項(5)の目の次に次の二目を加える。

純度試験

(6) 類縁物質 本品 2.0 mg を水 0.1 mL に溶かした液 20 μ L を正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.0) により試験を行うとき、ヘパリンのピーク以降にピークを認めない。

試験条件

検出器：紫外吸光度計 (測定波長：202 nm)

カラム：内径 2.0 mm、長さ 7.5 cm のステンレス管に 10 μ m の液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル基を結合した合成高分子を充てんする。

カラム温度：35℃付近の一定温度

移動相 A：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相 B：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g 及び過塩素酸リチウム 106.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0~3	90	10
3~15	90 → 0	10 → 100

流量：毎分 0.2 mL

測定範囲：溶媒のピークの後からヘパリンの保持時間の約 2 倍の範囲

システム適合性

検出の確認：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 7.0 mg を水 280 μ L に溶かしてヘパリンナトリウム標準原液とする。別に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を水 200 μ L に溶かし、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液とする。ヘパリンナトリウム標準原液 60 μ L、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液 3 μ L 及び水 12 μ L を混和した液 20 μ L につき上記の条件で操作するとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピークを認める。

システムの性能：ヘパリンナトリウム標準原液 120 μ L に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液 30 μ L を混和し、システム適合性試験用溶液とする。この液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、ヘパリン及び過硫酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、ヘパリンと過硫酸化コンドロイチン硫酸の分離度は 1.5 以上である。

システムの再現性：システム適合性試験用溶液 20 μ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピーク面積の相対標準偏差は 2.0% 以下である。

(7) ガラクトサミン 本品 2.4 mg を水/塩酸混液 (7:5) 1.0 mL に溶かし、試料原液とする。D-グルコサミン塩酸塩 8.0 mg を水/塩酸混液 (7:5) に溶かして正確に 10 mL とした液 99 容量に、D-ガラクトサミン塩酸塩 8.0 mg を水/塩酸混液 (7:5) に溶かして正確に 10 mL とした液 1 容量を加え、標準原液とする。試料原液及び標準原液 500 μ L ずつを共栓試験管にとり、それぞれを密栓して 100℃ で 6 時間加熱する。これらの液を室温まで冷やし、100 μ L ずつをとり、減圧乾固する。それぞれの残留物にメタノール 50 μ L ずつを加え、室温で減圧乾固する。それぞれの残留物を水 10 μ L ずつに溶かし、アミノ安息香酸誘導体化試液 40 μ L ずつを加え、80℃ で 1 時間加熱する。これらの液を室温まで冷やし、減圧乾固する。それぞれの残留物に、水及び酢酸エチル 200 μ L ずつを加え、激しく振り混ぜ、遠心分離する。上層を除去し、それぞれの下層に酢酸エチル 200 μ L ずつを加え、激しく振り混ぜ、遠心分離する。下層をそれぞれ試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 5 μ L ずつにつき、次の条件で液体クロマトグラフ

イー (2.01) により試験を行うとき、試料溶液のグルコサミンのピーク面積に対するガラクトサミンのピーク面積の比は、標準溶液のグルコサミンのピーク面積に対するガラクトサミンのピーク面積の比より大きくない。

試験条件

検出器：蛍光光度計（励起波長：305 nm，蛍光波長：360 nm）

カラム：内径 4.6 mm，長さ 15 cm のステンレス管に 3 μm の液体クロマトグラフィー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：45℃付近の一定温度

移動相：水／トリフルオロ酢酸混液（1000：1）100mL にアセトニトリル 100mL を加える。この液 140mL を水／トリフルオロ酢酸混液（1000：1）860mL に加える。

流量：毎分 1.0 mL

面積測定範囲：注入後 50 分間

システム適合性

検出の確認：D-マンノサミン塩酸塩 8.0 mg を水/塩酸混液（7：5）10 mL に溶かし、マンノサミン標準溶液とする。

標準原液/マンノサミン標準溶液混液（100：1）500 μL を共栓試験管にとり、密栓して 100℃で 6 時間加熱する。

この液を室温まで冷やし、100 μL をとり、減圧乾固する。残留物にメタノール 50 μL を加え、室温で減圧乾固する。残留物を水 10 μL に溶かし、アミノ安息香酸誘導体化試液 40 μL を加え、80℃で 1 時間加熱する。この

液を室温まで冷やし、減圧乾固する。残留物に、水及び酢酸エチル 200 μL ずつを加え、激しく振り混ぜ、遠心分離する。上層を除去し、下層に酢酸エチル 200 μL を加え、激しく振り混ぜ、遠心分離し、下層をシステム

適合性試験用溶液とする。この液 5μL につき、上記の条件で試験するとき、グルコサミンのピーク面積に対

するガラクトサミンのピーク面積の比は、0.7～2.0%である。

システムの性能：システム適合性試験用溶液 5μL につき、上記の条件で試験するとき、グルコサミン、マンノサミン及びガラクトサミンの順に溶出し、グルコサミンとマンノサミン及びマンノサミンとガラクトサミンの分離度はそれぞれ 1.5 以上である。

システムの再現性：システム適合性試験用溶液 5 μL につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、グルコサミンのピーク面積に対するガラクトサミンのピーク面積の比の相対標準偏差は 4.0 % 以下である。

医薬品各条の部 ヘパリンカルシウムの条確認試験の項及び純度試験の項 (8) の目を次のように改める。

ヘパリンカルシウム

確認試験

(1) 本品 10 mg を水 5 mL に溶かした液に 1 mol/L 塩酸試液 0.1 mL 及びトルイジンブルー O 溶液 (1 → 20000) 5 mL を加えるとき、液は紫色～赤紫色を呈する。

(2) 本品及び理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 1 mg ずつを水 1 mL に溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 20 μL ずつをとり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行うとき、試料溶液及び標準溶液から得た主ピークの保持時間は等しい。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：202 nm）

カラム：内径 2.0 mm，長さ 7.5 cm のステンレス管に 10 μm の液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル基を結合した合成高分子を充てんする。

カラム温度：35℃付近の一定温度

移動相 A：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相 B：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g 及び過塩素酸リチウム 106.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0～3	90	10
3～15	90 → 0	10 → 100

流量：毎分 0.2 mL

システム適合性

システムの性能：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 1.0 mg を水 0.60 mL に溶かした液 90 μ L, 過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.10 mg を水 0.20 mL に溶かした液 30 μ L 及びデルマトン硫酸エステル 1.0 mg を水 2.0 mL に溶かした液 30 μ L を混和する。この液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、デルマトン硫酸エステル、ヘパリン、過硫酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、デルマトン硫酸エステルとヘパリンの分離度は 1.0 以上、ヘパリンと過硫酸化コンドロイチン硫酸の分離度は 1.5 以上である。

(3) 本品 50 mg を水 5 mL に溶かした液は、カルシウム塩の定性反応 (1.09) を呈する。

純度試験

(8) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1 \rightarrow 10000) 0.60 mL に溶かす。この液につき 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) により、プロトン共鳴周波数 400 MHz 以上の装置(1)を用いて ^1H を測定するとき、 δ 2.18 \pm 0.05 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めないか、シグナルを認める場合には ^{13}C をデカップリングして測定するとき、そのシグナルは消失する。

試験条件

温度：25 $^{\circ}$ C

スピニング：オフ

データポイント数：32,768

スペクトル範囲：DHO のシグナルを中心に \pm 6.0 ppm

パルス角：90 $^{\circ}$

繰り返しパルス待ち時間：20 秒

ダミーキャン：4 回

積算回数：ヘパリンの *N*-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 1000 以上得られる回数

ウィンドウ関数：指数関数(Line broadening factor = 0.2 Hz)

システム適合性

システムの性能：ヘパリンカルシウム 20 mg を 0.40 mL の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液に溶かした液に、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1 \rightarrow 10000) 1.0 mL に溶かした液 0.20 mL を加える。この液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.04 \pm 0.02 ppm にヘパリンの *N*-アセチル基に由来するシグナル、及び δ 2.18 \pm 0.05 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認める。

同条純度試験(8)の項の次に次の一項を加える。

純度試験

(9) 類縁物質 本品 2.0 mg を水 0.1 mL に溶かした液 20 μ L を正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行うとき、ヘパリンのピーク以降にピークを認めない。

試験条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：202 nm)

カラム：内径 2.0 mm, 長さ 7.5 cm のステンレス管に 10 μ m の液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル基を結合した合成高分子を充てんする。

カラム温度：35 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相 A：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1 \rightarrow 10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相 B：リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.4g 及び過塩素酸リチウム 106.4g を水 1000 mL に溶かし、薄めたリン酸(1 \rightarrow 10)を加えて pH3.0 に調整する。

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0~3	90	10
3~15	90 → 0	10 → 100

流量：毎分 0.2 mL

測定範囲：溶媒のピークの後からヘパリンの保持時間の約 2 倍の範囲

システム適合性

検出の確認：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 7.0 mg を水 280 μ L に溶かしてヘパリンナトリウム標準原液とする。別に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を水 200 μ L に溶かし、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液とする。ヘパリンナトリウム標準原液 60 μ L、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液 3 μ L 及び水 12 μ L を混和した液 20 μ L につき上記の条件で操作するとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピークを認める。

システムの性能：ヘパリンナトリウム標準原液 120 μ L に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液 30 μ L を混和し、システム適合性試験用溶液とする。この液 20 μ L につき、上記の条件で操作するとき、ヘパリン及び過硫酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、ヘパリンと過硫酸化コンドロイチン硫酸の分離度は 1.5 以上である。

システムの再現性：システム適合性試験用溶液 20 μ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピーク面積の相対標準偏差は 2.0 % 以下である。

(差し替え)

一般試験法の部 9. 0 1 標準品の条 (1) の項過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品の目を次のように改める。

9.01 標準品

過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 確認試験, 純度試験

一般試験法の部 9. 0 1 標準品の条 (1) の項に次のように加える。

9.01 標準品

理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品 確認試験, 純度試験

一般試験法の部 9. 4 1 試薬・試液の条に次のように加える。

9.41 試薬・試液

アミノ安息香酸誘導体化試液: アミノ安息香酸エチル 280 mg にメタノール 600 μ L を加え, 約 50°C に加温して溶かし, 酢酸 170 μ L, 及びボラン-ピリジン錯体 145 μ L を加える。

過塩素酸リチウム LiClO_4 含量 98%以上。

D-ガラクトサミン塩酸塩 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5 \cdot \text{HCl}$ 含量 98%以上。

D-グルコサミン塩酸塩 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5 \cdot \text{HCl}$ 含量 98%以上。

デルマトン硫酸エステル プタ皮をアルカリ抽出後, プロテアーゼ消化し, アルコール分画法により精製したムコ多糖。セルロースアセテート膜電気泳動を行うとき, 単一バンドである。

ボラン-ピリジン錯体 $\text{C}_5\text{H}_8\text{BN}$ 含量 80%以上。

D-マンノサミン塩酸塩 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5 \cdot \text{HCl}$ 含量 98%以上。

参考資料 No. 1 - 1

第十五改正日本薬局方
第十五改正日本薬局方の一部改正
第十五改正日本薬局方第二追補（案）
（ヘパリンナトリウム）

平成21年8月25日
医薬食品局審査管理課

整する。

システム適合性

システムの性能：標準溶液 10 μL につき、上記の条件で操作するとき、内標準物質、ベニジピンの順に溶出し、その分離度は 8 以上である。

システムの再現性：標準溶液 10 μL につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、内標準物質のピーク面積に対するベニジピンのピーク面積の比の相対標準偏差は 1.0 % 以下である。

貯法 容器 密閉容器。

ヘパリンナトリウム

Heparin Sodium

本品は健康な食用獣の肝、肺又は腸粘膜から得たもので、血液の凝固を遅延する作用があり、肝又は肺から製したものは 1 mg 中 110 ヘパリン単位以上、腸粘膜から製したものは 1 mg 中 130 ヘパリン単位以上を含むものである。

本品は定量するとき、換算した乾燥物に対し、表示単位の 90 ~ 110 % を含む。

本品は原料に用いた器官名を表示する。

性状 本品は白色～帯灰褐色の粉末又は粒で、においはない。本品は水にやや溶けやすく、エタノール (95) 又はジエチルエーテルにほとんど溶けない。

本品は吸湿性である。

pH (2.54) 本品 1.0 g を水 100 mL に溶かした液の pH は 6.0 ~ 8.0 である。

純度試験

(1) 溶状 本品 0.5 g を水 20 mL に溶かすとき、液は無色～淡黄色澄明である。

(2) バリウム 本品は 0.03 g を水 3.0 mL に溶かし、試料溶液とする。試料溶液 1.0 mL に希硫酸 3 滴を加え、10 分間放置するとき、液は混濁しない。

(3) 総窒素 本品を 60℃ で 3 時間減圧乾燥し、その約 0.1 g を精密に量り、窒素定量法 (1.08) によって試験を行うとき、窒素 (N: 14.01) の量は 3.0 % 以下である。

(4) たん白質 (2) の試料溶液 1.0 mL にトリクロロ酢酸溶液 (1 → 5) 5 滴を加えるとき、液は沈殿又は混濁を生じない。

乾燥減量 (2.41) 10 % 以下 (20 mg, 減圧, 60℃, 3 時間)。

強熱残分 (2.44) 40 % 以下 (乾燥後, 20 mg)。

発熱性物質 (4.04) ウサギの体重 1 kg につき、本品の表示単位の従い、1 mL 中 1000 単位を含むように生理食塩液を加えて調製した液 2.0 mL を注射し、試験を行うとき、適合する。

定量法

(i) 基質液 *N*-ベンゾイル-L-イソロイシル-L-グルタミン (γ-OR)-グリシル-L-アルギニル-L-ニトロアニリド塩酸塩 15 mg を水 20 mL に溶解する。

(ii) アンチトロンビンⅢ液 ヒト由来アンチトロンビンⅢを水に溶かし、1 mL 中に 1 単位を含む液を調製する。

(iii) 活性化血液凝固 X 因子液 ウシ由来活性化血液凝固 X 因子を水に溶かし、1 mL 中に 0.426 単位を含む液を調

製する。

(iv) 緩衝液 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール 6.06 g を水 750 mL に溶かし、1 mol/L 塩酸試液を加えて pH を 8.4 に調整した後、水を加えて 1000 mL とする。

(v) 反応停止液 酢酸 (100) 20 mL に水を加え、40 mL とする。

(vi) ヘパリン標準液 ヘパリンナトリウム標準品を生理食塩液に溶かし、1 mL 中に 10 単位を含む液を調製し、標準原液とする。標準原液 100 μL に緩衝液を加えて正確に 5 mL とし、標準溶液とする。次の表に従い、標準溶液にアンチトロンビンⅢ液、ヒト正常血漿及び緩衝液を加え、ヘパリン標準液 (1)、ヘパリン標準液 (2)、ヘパリン標準液 (3)、ヘパリン標準液 (4) 及びヘパリン標準液 (5) を調製する。

Na	ヘパリン標準液				
	ヘパリン濃度 (単位/mL)	緩衝液 (μL)	アンチトロン ビンⅢ液(μL)	ヒト正常 血漿(μL)	標準溶液 (μL)
(1)	0	800	100	100	0
(2)	0.02	700	100	100	100
(3)	0.04	600	100	100	200
(4)	0.06	500	100	100	300
(5)	0.08	400	100	100	400

(vii) 試料溶液 本品の表示単位に従い、その適量を精密に量り、生理食塩液に溶かし、1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を調製する。この液 100 μL にアンチトロンビンⅢ液 100 μL、ヒト正常血漿 100 μL 及び緩衝液 700 μL を加え、試料溶液とする。

(viii) 操作法 試験管に試料溶液 400 μL を入れ、37℃ で 4 分間加温する。これに活性化血液凝固 X 因子液 200 μL を加えてよく混和し、37℃ で正確に 30 分間加温した後、あらかじめ 37℃ に加温した基質液 400 μL を加えてよく混和する。37℃ で正確に 3 分間加温した後、反応停止液 600 μL を加え、直ちに混和する。別に、試料溶液 400 μL に反応停止液 600 μL 及び水 600 μL を加えて混和したものを対照とし、波長 405 nm における吸光度を測定する。ヘパリン標準液 (1)、ヘパリン標準液 (2)、ヘパリン標準液 (3)、ヘパリン標準液 (4) 及びヘパリン標準液 (5) につき、同様に操作して、波長 405 nm における吸光度を測定する。

(ix) 計算法 縦軸に吸光度を、横軸にヘパリン標準液のヘパリン濃度をとり、各ヘパリン標準液の濃度に対応する吸光度をグラフ用紙にプロットし、検量線を作成する。この検量線を用いて、試料溶液の吸光度からヘパリン濃度 *C* を求め、次式により本品 1 mg 中のヘパリン単位を計算する。

本品 1 mg 中のヘパリン単位 = $C \times 10 \times (b/a)$

a : 本品の秤取量 (mg)

b : 本品を生理食塩液に溶かし、1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を製したときの全容量 (mL)

貯法 容器 気密容器。

第十五改正日本薬局方の一部改正

医薬品各条の部 ヘパリンナトリウムの条純度試験の項に次の一目を加える。

ヘパリンナトリウム

純度試験

(5) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 0.60 mL に溶かし、試料溶液とする。この液につき核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) プロトン共鳴周波数 400MHz 以上の装置(1)を用いる方法により ¹H を測定するとき、 δ 2.13-2.17 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認めない。

試験条件

温度：25°C

スピニング：オフ

データポイント数：32,768

スペクトル範囲：水のシグナルを中心に ± 6.0 ppm

パルス角：90°

繰り返しパルス待ち時間：20 秒

ダミーキャン：4 回

積算回数：ヘパリンの N-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 200 以上
得られる回数

ウインドウ関数：指数関数 (Line broadening factor = 0.2 Hz)

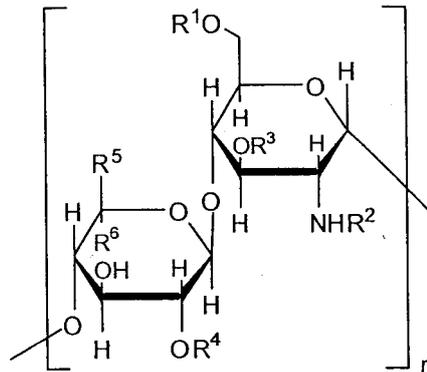
システム適合性

本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1→10000) 0.60 mL に溶かし、システム適合性試験用溶液とする。システム適合性試験用溶液に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を加えて溶かした液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.02-2.06 ppm にヘパリンの N-アセチル基に由来するシグナル、及び δ 2.13-2.17 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認める。

第十五改正日本薬局方第二追補（案）

医薬品各条の部 ヘパリンナトリウムの条に次の二項を加える。

ヘパリンナトリウム



$R^1, R^3, R^4 = \text{SO}_3\text{Na}$ 又は H

$R^2 = \text{SO}_3\text{Na}$ 又は —C(=O)CH_3

$R^5 = \text{CO}_2\text{Na}, R^6 = \text{H}$
又は
 $R^5 = \text{H}, R^6 = \text{CO}_2\text{Na}$

[9041-08-1]

同条基原の項を次のように改める。

本品は、健康な食用獣の肝、肺又は腸粘膜から得た D-グルコサミン及びウロン酸（L-イズロン酸又は D-グルクロン酸）の二糖単位からなる硫酸化グリコサミノグリカンのナトリウム塩である。本品は、血液の凝固を遅延する作用がある。肝又は肺から製したものは 1 mg 中 110 ヘパリン単位以上、腸粘膜から製したものは 1 mg 中 130 ヘパリン単位以上を含む。

本品は定量するとき、換算した乾燥物に対し、表示単位の 90 ～ 110%を含む。

本品は原料に用いた器官名を表示する。

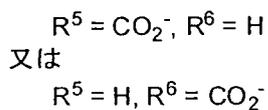
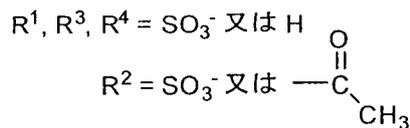
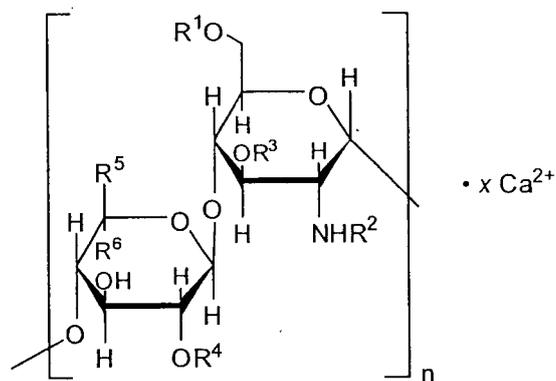
参考資料 No. 1 - 2

第十五改正日本薬局方第二追補（案）
（ヘパリンカルシウム）

平成21年8月25日
医薬食品局審査管理課

第十五改正日本薬局方第二追補（案）

ヘパリンカルシウム
Heparin Calcium



[37270-89-6]

本品は、健康な食用ブタの腸粘膜から得た D-グルコサミン及びウロン酸（L-イズロン酸又は D-グルクロン酸）の二糖単位からなる硫酸化グリコサミノグリカンのカルシウム塩である。本品は、血液の凝固を遅延する作用を有する。本品は、1 mg 中 150 ヘパリン単位以上を含む。

本品は定量するとき、換算した乾燥物に対し、表示単位の 90 ～ 110% を含み、また、カルシウム（Ca:40.08）8.0 ～ 12.0% を含む。

性状 本品は白色～帯灰褐色の粉末又は粒である。

本品は水に溶けやすく、エタノール（99.5）にほとんど溶けない。

本品は吸湿性である。

確認試験

(1) 本品 10 mg を水 5 mL に溶かした液に 1 mol/L 塩酸試液 0.1 mL 及びトリエジンプルー-O 溶液（1 → 20000）5 mL を加えるとき、液は紫色～赤紫色を呈する。

(2) 本品 50 mg を水 5 mL に溶かした液は、カルシウム塩の定性反応（1.09）を呈する。

pH (2.54) 本品 1.0 g を水 100 mL に溶かした液の pH は 6.0 ～ 8.0 である。

純度試験

(1) 溶状 本品 0.5 g を水 20 mL に溶かすとき、液は澄明である。この液につき、紫外可視吸光度測定法 (2.24) により試験を行うとき、波長 400 nm における吸光度は 0.05 以下である。

(2) 塩化物 (1.03) 本品 0.5 g をとり、試験を行う。比較液には 0.01 mol/L 塩酸 0.30 mL を加える (0.021%以下)。

(3) 重金属 (1.07) 本品 0.5 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 1.5 mL を加える (30 ppm 以下)。

(4) バリウム 本品 30 mg を水 3.0 mL に溶かし、試料溶液とする。試料溶液 1.0 mL に希硫酸 3 滴を加え、10 分間放置するとき、液は混濁しない。

(5) 残留溶媒 別に規定する。

(6) 総窒素 本品を乾燥し、その約 0.1 g を精密に量り、窒素定量法 (1.08) により試験を行うとき、窒素 (N: 14.01) の量は 3.0%以下である。

(7) たん白質 (4) の試料溶液 1.0 mL にトリクロロ酢酸溶液 (1 → 5) 5 滴を加えるとき、液は沈殿又は混濁を生じない。

(8) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品 20 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄ の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1 → 10000) 0.60 mL に溶かし、試料溶液とする。この液につき核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄ を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) プロトン共鳴周波数 400 MHz 以上の装置 (1) を用いる方法により ¹H を測定するとき、 δ 2.13 ~ 2.23 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認めない。

試験条件

温度: 25°C

スピニング: オフ

データポイント数: 32,768

スペクトル範囲: DHO のシグナルを中心に ± 6.0 ppm

パルス角: 90°

繰り返しパルス待ち時間: 20 秒

ダミーキャン: 4 回

積算回数: ヘパリンの *N*-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 200 以上得られる回数

ウィンドウ関数: 指数関数 (Line broadening factor = 0.2 Hz)

システム適合性

過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.10 mg を核磁気共鳴スペクトル測定用 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄ の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液 (1 → 10000) 0.60 mL に溶かし標準溶液とする。標準溶液 0.60 mL にヘパリンカルシウム約 20 mg を溶かし、システム適合性試験用溶液とする。この液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.02 ~ 2.06 ppm にヘパリンの *N*-アセチル基に由来するシグナル、及び δ 2.13 ~ 2.23 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の *N*-アセチル基に由来するシグナルを認める。

乾燥減量 (2.41) 8%以下 (50 mg, 減圧, 60°C, 3 時間)。

エンドキシン (4.01) 0.0030 EU/ヘパリン単位未満.

定量法

(1) ヘパリン

(i) 基質液 *N*-ベンゾイル-L-イソロイシル-L-グルタミル(γ -OR)-グリシル-L-アルギニル-*p*-ニトロアニリド塩酸塩 15 mg を水 20 mL に溶解する.

(ii) 活性化血液凝固X因子液 ウシ由来活性化血液凝固X因子を水に溶かし, 1 mL 中に 0.426 単位を含む液を調製する.

(iii) 緩衝液 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール 6.06 g を水 750 mL に溶かし, 1 mol/L 塩酸試液を加えて pH8.4 に調整した後, 水を加えて 1000 mL とする.

(iv) 反応停止液 酢酸 (100) 20 mL に水を加え, 40 mL とする.

(v) ヘパリン標準溶液 ヘパリンナトリウム標準品を生理食塩液に溶かし, 1 mL 中に 10 単位を含むように調製した液 100 μ L に緩衝液を加えて正確に 5 mL とし, 標準原液とする. 次の表に従い, 標準原液にアンチトロンビンIII試液, ヒト正常血漿及び緩衝液を加え, ヘパリン標準溶液 (1), ヘパリン標準溶液 (2), ヘパリン標準溶液 (3), ヘパリン標準溶液 (4) 及びヘパリン標準溶液 (5)を調製する.

No.	ヘパリン標準溶液	緩衝液 (μ L)	アンチトロン ビンIII試液 (μ L)	ヒト正 常血漿 (μ L)	標準 原液 (μ L)
	ヘパリン濃度 (単位/mL)				
(1)	0	800	100	100	0
(2)	0.02	700	100	100	100
(3)	0.04	600	100	100	200
(4)	0.06	500	100	100	300
(5)	0.08	400	100	100	400

(vi) 試料溶液 本品の表示単位に従い, その適量を精密に量り, 生理食塩液に溶かし, 1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を調製する. この液 100 μ L にアンチトロンビンIII試液 100 μ L, ヒト正常血漿 100 μ L 及び緩衝液 700 μ L を加え, 試料溶液とする.

(vii) 操作法 試験管に試料溶液 400 μ L を入れ, 37°C で 4 分間加温する. これに活性化血液凝固X因子液 200 μ L を加えてよく混和し, 37°C で正確に 30 秒間加温した後, あらかじめ 37°C に加温した基質液 400 μ L を加えてよく混和する. 37°C で正確に 3 分間加温した後, 反応停止液 600 μ L を加え, 直ちに混和する. この液につき, 試料溶液 400 μ L に反応停止液 600 μ L 及び水 600 μ L を加えて混和したものを対照とし, 紫外可視吸光度測定法 (2.24) により波長 405 nm における吸光度を測定する. ヘパリン標準溶液 (1), ヘパリン標準溶液 (2), ヘパリン標準溶液 (3), ヘパリン標準溶液 (4) 及びヘパリン標準溶液 (5)を試料溶液と同様に操作して, 紫外可視吸光度測定法 (2.24) により波長 405 nm における吸光度を測定する.

(viii) 計算法 ヘパリン標準溶液のヘパリン濃度と吸光度から検量線を作成し、試料溶液のヘパリン濃度 C を求め、次式により本品 1 mg 中のヘパリン単位を計算する。

$$\text{本品 1 mg 中のヘパリン単位} = C \times 10 \times (b/a)$$

a : 本品の秤取量 (mg)

b : 本品を生理食塩液に溶かし、1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を製したときの全容量 (mL)

(2) カルシウム 本品約 50 mg を精密に量り、水 20 mL に溶かし、8 mol/L 水酸化カリウム試液 2 mL を加え、時々振り混ぜながら、3 ~ 5 分間放置した後、NN 指示薬 0.1 g を加え、直ちに 0.01 mol/L エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム液で滴定 (2.5φ) する。ただし、滴定の終点は液の赤紫色が青色に変わるときとする。

0.01 mol/L エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム液 1 mL = 0.4008 mg Ca

貯法 容器 気密容器。