

1 ヘパリンナトリウム

2 基原の項を次のように改める.

3 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  
4 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  
5 ある。  
6

7 本品は、血液の凝固を遅延する作用を有する。本品は、  
8 1mg中130ヘパリン単位以上を含む。

9 本品は定量するとき、換算した乾燥物に対し、表示単位の  
10 90～110%を含む。

11 純度試験の(4)の項以降を次のように改める.

12 純度試験

13 (4) タンパク質

14 (i) 炭酸ナトリウム溶液 水酸化ナトリウム溶液(1→100)  
15 /無水炭酸ナトリウム溶液(1→20)混液(1:1)4容量を水で希  
16 釈して5容量とする。

17 (ii) 硫酸銅溶液 硫酸銅(II)五水和物溶液(1→80)/酒石酸  
18 ナトリウム二水和物溶液(149→5000)混液(1:1)4容量を水で  
19 希釈して5容量とする。

20 (iii) ヘパリン用アルカリ性銅溶液 炭酸ナトリウム溶液50  
21 容量と硫酸銅溶液1容量を混和する。用時調製し、1日経過  
22 したら捨てる。

23 (iv) 操作法 本品の水溶液(1→200)を試料溶液とする。別  
24 にウシ血清アルブミン溶液(1→40000)を調製し、標準溶液  
25 とする。試料溶液及び標準溶液1 mLずつを正確にとり、そ  
26 れぞれにヘパリン用アルカリ性銅溶液5 mLを正確に加えて  
27 振り混ぜ、室温で10分間放置する。薄めたフォリン試液(1  
28 →2) 0.5 mLずつを正確に加えて振り混ぜ、室温で30分間放  
29 置する。これらの液につき、水を対照とし、紫外可視吸光度  
30 測定法 (2.24) により試験を行い、波長750 nmにおける吸光  
31 度を測定するとき、試料溶液から得た吸光度は標準溶液から  
32 得た吸光度より大きくない。

33 (5) 核酸 本品40 mgを水10 mLに溶かした液につき、紫  
34 外可視吸光度測定法 (2.24) により試験を行うとき、波長260  
35 nmにおける吸光度は0.15以下である。

36 (6) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品20 mgを核磁気共  
37 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  
38 リウム-d<sub>4</sub>の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→  
39 10000)0.60 mLに溶かす。この液につき、3-トリメチルシ  
40 リルプロピオン酸ナトリウム-d<sub>4</sub>を内部基準物質として核磁  
41 気共鳴スペクトル測定法 (2.21) により、プロトン共鳴周波  
42 数400 MHz以上の装置1.1を用いて<sup>1</sup>Hを測定するとき、 $\delta$   
43  $2.15 \pm 0.02$  ppmに過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセ  
44 チル基に由来するシグナルを認めないか、又は認めることが  
45 あっても、<sup>13</sup>Cをデカップリングして測定するとき、そのシ  
46 グナルは消失する。

47 試験条件

48 温度：25℃

49 スピニング：オフ

50 データポイント数：32768

51 スペクトル範囲：DHOのシグナルを中心に±6.0 ppm

52 パルス角：90°

53 繰返しパルス待ち時間：20秒

54 ダミースキャン：4回

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

57 ウインドウ関数：指数関数(Line broadening factor=  
58 0.2 Hz)

59 システム適合性

60 システムの性能：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準  
61 品20 mgを核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチ  
62 ルシリルプロピオン酸ナトリウム-d<sub>4</sub>の核磁気共鳴ス  
63 ペクトル測定用重水溶液(1→10000)0.40 mLに溶かし  
64 た液に、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品0.10 mg  
65 を核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチルシリル  
66 プロピオン酸ナトリウム-d<sub>4</sub>の核磁気共鳴スペクトル  
67 測定用重水溶液(1→10000)1.0 mLに溶かした液0.20  
68 mLを加える。この液につき、上記の条件で操作する  
69 とき、 $\delta$  2.04±0.02 ppmにヘパリンのN-アセチル  
70 基に由来するシグナルを、及び $\delta$  2.15±0.02 ppmに  
71 過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基に由来  
72 するシグナルを、それぞれ認める。

73 (7) 類縁物質 本品2.0 mgを水0.1 mLに溶かした液20  $\mu$ L  
74 を正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01)  
75 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  
76 めない。

77 試験条件

78 検出器：紫外吸光度計(測定波長：202 nm)

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

82 カラム温度：35℃付近の一定温度

83 移動相A：リン酸二水素ナトリウム二水和物0.4 gを水  
84 1000 mLに溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて  
85 pH3.0に調整する。

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

89 移動相の送液：移動相A及び移動相Bの混合比を次のよ  
90 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

91 流量：毎分0.2 mL

92 測定範囲：溶媒のピークの後からヘパリンの保持時間の  
93 2倍の範囲

94 システム適合性

95 検出の確認：理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品  
96 10 mgを水0.40 mLに溶かし、ヘパリンナトリウム標  
97 準原液とする。別に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準  
98 品0.10 mgを水0.20 mLに溶かし、過硫酸化コンドロ  
99 イチン硫酸標準溶液とする。ヘパリンナトリウム標準

## 2 ヘパリンナトリウム (068-1112.pdf)

100	原液60 $\mu\text{L}$ 、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液3	154	室温で減圧乾固する。残留物を水10 $\mu\text{L}$ に溶かし、ア
101	$\mu\text{L}$ 及び水12 $\mu\text{L}$ を混和した液20 $\mu\text{L}$ につき、上記の条	155	ミノ安息香酸誘導体化試液40 $\mu\text{L}$ を加え、80°Cで1時
102	件で操作するとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピー	156	間加熱する。この液を室温まで冷やし、減圧乾固する。
103	ークを認める。	157	残留物に、水及び酢酸エチル200 $\mu\text{L}$ ずつを加え、激
104	システムの性能：ヘパリンナトリウム標準原液120 $\mu\text{L}$	158	しく振り混ぜ、遠心分離する。上層を除去し、下層に
105	に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液30 $\mu\text{L}$ を混和	159	酢酸エチル200 $\mu\text{L}$ を加え、激しく振り混ぜ、遠心分
106	し、システム適合性試験用溶液とする。この液20 $\mu\text{L}$	160	離し、下層をシステム適合性試験用溶液とする。この
107	につき、上記の条件で操作するとき、ヘパリン、過硫	161	液5 $\mu\text{L}$ につき、上記の条件で試験するとき、グルコサ
108	酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、その分離度は	162	ミンのピーク面積に対するガラクトサミンのピーク面
109	1.5以上である。	163	積の比は、0.7~2.0%である。
110	システムの再現性：システム適合性試験用溶液20 $\mu\text{L}$ に	164	システムの性能：システム適合性試験用溶液5 $\mu\text{L}$ につ
111	つき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、過硫酸	165	き、上記の条件で試験するとき、グルコサミン、マン
112	化コンドロイチン硫酸のピーク面積の相対標準偏差は	166	ノサミン、ガラクトサミンの順に溶出し、グルコサミ
113	2.0%以下である。	167	ンとマンノサミンとの分離度及びマンノサミンとガラ
114	(8) ガラクトサミン 本品2.4 mgを水/塩酸混液(7 :	168	クトサミンとの分離度は、それぞれ1.5以上である。
115	5)1.0 mLに溶かし、試料原液とする。D-グルコサミン塩酸	169	システムの再現性：システム適合性試験用溶液5 $\mu\text{L}$ に
116	塩8.0 mgを水/塩酸混液(7 : 5)に溶かして正確に10 mLとし	170	つき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、グルコ
117	た液99容量に、D-ガラクトサミン塩酸塩8.0 mgを水/塩酸	171	サミンのピーク面積に対するガラクトサミンのピーク
118	混液(7 : 5)に溶かして正確に10 mLとした液1容量を加え、	172	面積の比の相対標準偏差は4.0%以下である。
119	標準原液とする。試料原液及び標準原液500 $\mu\text{L}$ ずつを共栓		
120	試験管にとり、それぞれを密栓して100°Cで6時間加熱する。		
121	これらの液を室温まで冷やし、100 $\mu\text{L}$ ずつをとり、減圧乾		
122	固する。それぞれの残留物にメタノール50 $\mu\text{L}$ ずつを加え、		
123	室温で減圧乾固する。それぞれの残留物を水10 $\mu\text{L}$ ずつに溶		
124	かし、アミノ安息香酸誘導体化試液40 $\mu\text{L}$ ずつを加え、80°C		
125	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		
126	する。それぞれの残留物に、水及び酢酸エチル200 $\mu\text{L}$ ずつ		
127	を加え、激しく振り混ぜ、遠心分離する。上層を除去し、そ		
128	れぞれの下層に酢酸エチル200 $\mu\text{L}$ ずつを加え、激しく振り		
129	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		
130	とする。試料溶液及び標準溶液5 $\mu\text{L}$ ずつにつき、次の条件		
131	で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行うとき、		
132	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		
133	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		
134	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。		
135	試験条件		
136	検出器：蛍光光度計(励起波長：305 nm, 蛍光波長：		
137	360 nm)		
138	カラム：内径4.6 mm, 長さ15 cmのステンレス管に3		
139	$\mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル		
140	化シリカゲルを充填する。		
141	カラム温度：45°C付近の一定温度		
142	移動相：水/トリフルオロ酢酸混液(1000 : 1)100 mLに		
143	アセトニトリル100 mLを加える。この液140 mLを		
144	水/トリフルオロ酢酸混液(1000 : 1)860 mLに加える。		
145	流量：毎分1.0 mL		
146	面積測定範囲：注入後50分間		
147	システム適合性		
148	検出の確認：D-マンノサミン塩酸塩8.0 mgを水/塩酸		
149	混液(7 : 5)10 mLに溶かし、マンノサミン標準溶液と		
150	する。標準原液/マンノサミン標準溶液混液(100 :		
151	1)500 $\mu\text{L}$ を共栓試験管にとり、密栓して100°Cで6時		
152	間加熱する。この液を室温まで冷やし、100 $\mu\text{L}$ をと		
153	り、減圧乾固する。残留物にメタノール50 $\mu\text{L}$ を加え、		