

1 ヘパリンカルシウム

2 純度試験の(7)の項以降を次のように改める。

3 純度試験

4 (7) タンパク質

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

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

11 (iii) ヘパリン用アルカリ性銅溶液 炭酸ナトリウム溶液の
12 50容量と硫酸銅溶液の1容量を混和する。用時調製し、1日
13 経過したら捨てる。

14 (iv) 操作法 本品の水溶液(1→200)を試料溶液とする。別
15 にウシ血清アルブミン溶液(1→40000)を調製し、標準溶液
16 とする。試料溶液及び標準溶液1 mLずつを正確にとり、そ
17 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
18 振り混ぜ、室温で10分間放置する。薄めたフォリン試液(1
19 →2)0.5 mLずつを正確に加えて振り混ぜ、室温で30分間放
20 置する。これらの液を、室温で遠心分離した後、上澄液につ
21 き、水を対照とし、紫外可視吸光度測定法 (2.24) により試
22 験を行い、波長750 nmにおける吸光度を測定するとき、試
23 料溶液から得た吸光度は標準溶液から得た吸光度より大き
24 くない。

25 (8) 核酸 本品40 mgをエチレンジアミン四酢酸二水素ナ
26 トリウム二水和物溶液(93→50000)10 mLに溶かした液につ
27 き、紫外可視吸光度測定法 (2.24) により試験を行うとき、
28 波長260 nmにおける吸光度は0.15以下である。

29 (9) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品20 mgを核磁気共
30 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
31 リウム-d₄の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→
32 10000)0.60 mLに溶かす。この液につき、3-トリメチルシ
33 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
34 気共鳴スペクトル測定法 (2.21) により、プロトン共鳴周波
35 数400 MHz以上の装置1.1を用いて¹Hを測定するとき、 δ
36 2.18 ± 0.05 ppmに過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセ
37 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
38 あっても、¹³Cをデカップリングして測定するとき、そのシ
39 グナルは消失する。

40 試験条件

41 温度: 25°C

42 スピニング: オフ

43 データポイント数: 32768

44 スペクトル範囲: DHOのシグナルを中心に ± 6.0 ppm

45 パルス角: 90°

46 繰返しパルス待ち時間: 20秒

47 ダミースキャン: 4回

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

50 ウィンドウ関数: 指数関数(Line broadening factor =
51 0.2 Hz)

52 システム適合性

53 システムの性能: 本品20 mgを核磁気共鳴スペクトル測
54 定用3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-
55 d₄の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→
56 10000)0.40 mLに溶かした液に、過硫酸化コンドロイ
57 チン硫酸標準品0.10 mgを核磁気共鳴スペクトル測定
58 用3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d₄
59 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→
60 10000)1.0 mLに溶かした液0.20 mLを加える。この
61 液につき、上記の条件で操作するとき、 δ 2.04 ± 0.02
62 ppmにヘパリンのN-アセチル基に由来するシグナル
63 を、及び δ 2.18 ± 0.05 ppmに過硫酸化コンドロイチ
64 ン硫酸のN-アセチル基に由来するシグナルを、それ
65 ぞれ認める。

66 (10) 類縁物質 本品2.0 mgを水0.1 mLに溶かした液20
67 μ Lを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー
68 (2.01) により試験を行うとき、ヘパリンのピーク以降にピ
69 ークを認めない。

70 試験条件

71 検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 202 nm)

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

75 カラム温度: 35°C付近の一定温度

76 移動相A: リン酸二水素ナトリウム二水和物0.4 gを水
77 1000 mLに溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えて
78 pH3.0に調整する。

79 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
80 塩素酸リチウム106.4 gを水1000 mLに溶かし、薄め
81 たリン酸(1→10)を加えてpH3.0に調整する。

82 移動相の送液: 移動相A及び移動相Bの混合比を次のよ
83 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

84 流量: 毎分0.2 mL

85 測定範囲: 溶媒のピークの後からヘパリンの保持時間の
86 2倍の範囲

87 システム適合性

88 検出の確認: 理化学試験用ヘパリンナトリウム標準品
89 10 mgを水0.40 mLに溶かし、ヘパリンナトリウム標
90 準原液とする。別に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準
91 品0.10 mgを水0.20 mLに溶かし、過硫酸化コンドロ
92 イチン硫酸標準溶液とする。ヘパリンナトリウム標準
93 原液60 μ L、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液3
94 μ L及び水12 μ Lを混和した液20 μ Lにつき、上記の条
95 件で操作するとき、過硫酸化コンドロイチン硫酸のピ
96 ークを認める。

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

2 ヘパリンカルシウム (067-1112.pdf)

102 1.5以上である。
103 システムの再現性：システム適合性試験用溶液20 μL に
104 つき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、過硫酸
105 化コンドロイチン硫酸のピーク面積の相対標準偏差は
106 2.0%以下である。