

# 1 精製ヒアルロン酸ナトリウム点眼液

## 2 Purified Sodium Hyaluronate Ophthalmic Solution

3 本品は水性の点眼剤である。

4 本品は定量するとき、表示量の90.0～110.0 %に対応する  
5 精製ヒアルロン酸ナトリウム $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ を含む。

6 **製法** 本品は「精製ヒアルロン酸ナトリウム」をとり、点眼剤  
7 の製法により製する。

8 **性状** 本品は無色澄明の粘稠性のある液である。

### 9 確認試験

10 (1) 本品1 mLにpH 6.0の1 mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩  
11 衝液0.2 mL及びヒアルロニダーゼ5単位を加え、50 °Cで1時  
12 間放置する。この液に四ホウ酸二カリウム四水和物溶液(1→  
13 20) 1 mLを加え、水浴中で7分間加熱する。冷後、酢酸  
14 (100) 6 mL及び4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩  
15 酸・酢酸試液2.4 mLを加えて室温に放置するとき、液は帯  
16 黄赤色～赤色を呈する。

17 (2) 本品の精製ヒアルロン酸ナトリウム  
18  $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$  7.5 mgに対応する容量を量り、2倍容量  
19 のアセトンを加えてよく振り混ぜた後、毎分3000回転で10  
20 分間遠心分離する。アセトンを除去し、沈殿をアセトン/水  
21 混液(5:1)で洗浄し、酸化リン(V)を乾燥剤として60 °Cで5  
22 時間減圧(0.67 kPa以下)乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法  
23 (2.54) のATR法により測定するとき、波数1605  $cm^{-1}$ 、1404  
24  $cm^{-1}$ 、1375  $cm^{-1}$ 、1150  $cm^{-1}$ 、1025  $cm^{-1}$ 及び945  $cm^{-1}$ 付近に  
25 吸収を認める。

26 **浸透圧比** 別に規定する。

27 **pH** 別に規定する。

28 **粘度** (2.53) 本品につき、30±0.1 °Cで第1法により試験を行  
29 うとき、動粘度は3.0～4.0  $mm^2/s$ 又は17～30  $mm^2/s$ である。

30 **不溶性異物** (6.11) 試験を行うとき、適合する。

31 **不溶性微粒子** (6.08) 試験を行うとき、適合する。

32 **無菌** (4.06) メンブランフィルター法により試験を行うとき、  
33 適合する。

34 **平均分子量** 本品の平均分子量を次の方法により求めるとき、  
35 60万～120万である。

36 (i) 粘度の測定 (2.53)

37 本品の精製ヒアルロン酸ナトリウム $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ 約15  
38 mgに対応する質量を精密に量り、0.2 mol/L塩化ナトリウム  
39 試液を加えて正確に30 mLとし、試料溶液とする。試料溶液  
40 につき、0.2 mol/L塩化ナトリウム試液の流下時間が200～  
41 300秒のウペローデ型粘度計を用いて30±0.1 °Cで第1法に  
42 より試験を行う。次式によって得られる極限粘度 $[\eta]$ は、  
43 11.8～19.5 dL/gである。ただし、 $c$ は定量法で得た含量を濃  
44 度(g/dL)に換算して用いる。

$$45 \quad [\eta] = \sqrt{2(\eta_{sp} - \ln \eta_{rel})} / c \times 0.87 + 1.33$$

$$46 \quad \eta_{sp}(\text{比粘度}) = \eta_{rel} - 1$$

$$47 \quad \eta_{rel}(\text{相対粘度}) = t / t_0$$

48 (ii) 平均分子量の算出

49  $[\eta]$ は(i)で測定した極限粘度を用い、平均分子量を次式に  
50 より求める。

$$51 \quad \text{平均分子量} = \left( \frac{[\eta] \times 10^5}{36} \right)^{\frac{1}{0.78}}$$

52 **定量法** 本品の精製ヒアルロン酸ナトリウム  
53  $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ 約1.5 mgに対応する容量 $V$  mLを正確に量  
54 り、移動相を加えて正確に30 mLとし、試料溶液とする。別  
55 に定量用ヒアルロン酸ナトリウムを酸化リン(V)を乾燥剤と  
56 して60 °Cで5時間減圧(0.67 kPa以下)乾燥し、その約50 mg  
57 を精密に量り、塩化ナトリウム溶液(9→1000)に溶かし、正  
58 確に50 mLとする。この液1 mLを正確に量り、移動相を加  
59 えて正確に20 mLとし、標準溶液とする。試料溶液及び標準  
60 溶液 20  $\mu$ Lずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラ  
61 フィー (2.01) により試験を行い、それぞれの液のヒアルロ  
62 ン酸のピーク面積 $A_T$ 及び $A_S$ を測定する。

63 本品1 mL中の精製ヒアルロン酸ナトリウム  
64  $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ の量(mg)

$$65 \quad = M_S \times A_T / A_S \times 1 / V \times 3 / 100$$

66  $M_S$ : 定量用ヒアルロン酸ナトリウムの秤取量(mg)

### 67 試験条件

68 検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 210 nm)

69 カラム: 内径7.8 mm、長さ30 cmのステンレス管に7  
70  $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用多孔性ポリメタクリ  
71 レートを充填する。

72 カラム温度: 40 °C付近の一定温度

73 移動相: 硫酸ナトリウム十水和物32.2 gを水に溶かし、  
74 1000 mLとする。

75 流量: ヒアルロン酸の保持時間が約5分になるように調  
76 整する。

### 77 システム適合性

78 システムの性能: 精製ヒアルロン酸ナトリウム50 mgを  
79 塩化ナトリウム溶液(9→1000) 50 mLに溶かす。この  
80 液1 mL及びイブシロン-アミノカブロン酸溶液(1→  
81 500) 2 mLをとり、移動相を加えて20 mLとし、シス  
82 テム適合性試験用溶液とする。システム適合性試験用  
83 溶液20  $\mu$ Lにつき、上記の条件で操作するとき、ヒア  
84 ルロン酸、イブシロン-アミノカブロン酸の順に溶出  
85 し、その分離度は5以上である。

86 システムの再現性: 標準溶液20  $\mu$ Lにつき、上記の条件  
87 で試験を6回繰り返すとき、ヒアルロン酸のピーク面  
88 積の相対標準偏差は2.0 %以下である。

89 **貯法** 容器 気密容器。

90 -----

### 91 9.41 試薬・試液の項に次を追加する。

92 **イブシロン-アミノカブロン酸**  $C_6H_{13}NO_2$  本品は白色の結晶  
93 又は結晶性の粉末で、においはないか、又はわずかに特異な  
94 においがある。本品は水又は酢酸(100)に溶けやすく、メタノ  
95 ールに溶けにくく、エタノールにほとんど溶けない。

96 **融点** (2.60) 約200 °C(分解)。

97 **確認試験** 本品につき、赤外吸収スペクトル測定法 (2.25)  
98 の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、波数1564  $cm^{-1}$ 、  
99 1541  $cm^{-1}$ 、1391  $cm^{-1}$ 及び1269  $cm^{-1}$ 付近に吸収を認める。

100 酢酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 6.0 塩化ナトリウム1.76 gを  
101 pH 6.0の1 mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液4 mL及び水に  
102 溶かし, 200 mLとする。

103 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 1 mol/L, pH 6.0 酢酸ナトリ  
104 ウム試液に希酢酸を加えてpH 6.0に調整する。

105 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩酸・酢酸試液 4-  
106 ジメチルアミノベンズアルデヒド8 gを酢酸(100)/塩酸混液  
107 (19:1) 50 mLに溶かす。用時製する。

108 ヒアルロニダーゼ *Streptomyces albobriscus* から得たもの  
109 で, 凍結乾燥した白色の粉末である。

110 含量 本品1アンプルはヒアルロニダーゼ100単位以上を含  
111 む。

#### 112 定量法

113 (i) 試料溶液 本品1アンプルに冷水2 mLを正確に加えて  
114 溶かし, その1 mL中にヒアルロニダーゼ1.3~3.8単位を含  
115 む液となるように希釈する。用時製し, 冷所に保存する。

116 (ii) 基質溶液 ヒアルロン酸50 mgを正確に量り, pH 6.0  
117 の0.02 mol/L酢酸塩緩衝液40 mLを加えて, 5時間かき混ぜ  
118 て溶かす。この液にpH 6.0の0.02 mol/L酢酸塩緩衝液を加え  
119 て正確に50 mLとする。

120 (iii) 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液 水0.6 mL  
121 及び塩酸11.9 mLに酢酸を加えて正確に100 mLとし, 4-ジ  
122 メチルアミノベンズアルデヒド10.0 gを加えて溶かす。この  
123 液1 mLを正確に量り, 酢酸9 mLを正確に加える。用時製す  
124 る。

125 (iv) ホウ酸塩溶液 ホウ酸4.95 gを水40 mLに溶かし, 水  
126 酸化カリウム試液を加えてpH 9.1に調整し, 水を加えて100  
127 mLとする。

128 (v) 操作法 基質溶液0.5 mLを正確に量り, 60±0.5 °Cで  
129 10分間加温した後, 試料溶液0.5 mLを正確に加え, 直ちに  
130 振り混ぜる。この液を60±0.5 °Cで正確に30分間放置した後,  
131 ホウ酸塩溶液0.2 mLを正確に加えて振り混ぜ, ビー玉で蓋  
132 をして水浴中で正確に3分間加熱した後, 流水中で冷却する。  
133 この液に4-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液3 mLを正  
134 確に加えて振り混ぜた後, 37±0.5 °Cで正確に20分間放置す  
135 る。この液につき, 水を対照とし, 紫外可視吸光度測定法  
136 (2.24) により試験を行い, 波長585 nmにおける吸光度 $A_1$ を  
137 測定する。別に基質溶液0.5 mLを正確に量り, 60±0.5 °C  
138 で40分間放置した後, ホウ酸塩溶液0.2 mLを正確に加えて  
139 振り混ぜ, 試料溶液0.5 mLを正確に加え, 直ちに振り混ぜ  
140 る。ビー玉で蓋をして水浴中で正確に3分間加熱した後, 流  
141 水中で冷却する。以下同様に操作し, 吸光度 $A_0$ を測定する。

142 (vi) 計算法 次式により本品の1アンプル当たりの酵素活  
143 性を求める。ただし, 1単位とは, ヒアルロン酸を基質にし  
144 て, 60 °C, pH 6.0において30分間に波長660 nmにおける  
145 吸光度を50%減少させる酵素量である。

146 本品1アンプル中のヒアルロニダーゼ単位  
147 
$$= (A_1 - A_0) \times D_m \times 3.2 \times 4$$

148  $D_m$ : 試料溶液の希釈倍数

149 3.2: 濁度減少単位に変換するための係数

150 ヒアルロン酸  $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$  白色の粉末である。

151 精製ヒアルロン酸ナトリウム  $(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n$  [医薬品各条]

152 ヒアルロン酸ナトリウム, 定量用  $(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n$  [医薬品

153 各条, 「精製ヒアルロン酸ナトリウム」ただし, 定量すると  
154 き, 換算した乾燥物に対し, ヒアルロン酸ナトリウム  
155  $(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n$  99.0%以上を含むもの]

156 四ホウ酸二カリウム四水和物  $K_2B_4O_7 \cdot 4H_2O$  本品は白色の  
157 結晶性の粉末又は粉末である。本品はエタノール(99.5)に溶  
158 けにくい。

#### 159 9.42 クロマトグラフィー用担体/充填剤の項に次を追加する。

160 多孔性ポリメタクリレート, 液体クロマトグラフィー用 液体  
161 クロマトグラフィー用に製造されたもの。  
162