

## 1 精製ヒアルロン酸ナトリウム注射液

2 Purified Sodium Hyaluronate Injection

## 3 次のように改める。なお、本各条は眼粘弾剤には適用されない。

4 本品は水性の注射剤である。

5 本品は定量するとき、表示量の90.0～110.0 %に対応する  
6 ヒアルロン酸ナトリウム $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ を含む。7 製法 本品は「精製ヒアルロン酸ナトリウム」をとり、注射  
8 剤の製法により製する。

9 性状 本品は無色澄明な粘稠性のある液である。

## 10 確認試験

11 (1) 本品の水溶液(1→10) 1 mLに硫酸6 mLを加え、水浴  
12 中で10分間加熱し、冷後、カルバゾール試液0.2 mLを加え  
13 て室温に放置するとき、液は赤色～赤紫色を呈する。14 (2) 本品の水溶液(1→10) 1 mLにpH 6.0の1 mol/L酢酸・  
15 酢酸ナトリウム緩衝液0.2 mL及びヒアルロニダーゼ5単位を  
16 加え、50 °Cで1時間放置する。この液に四ホウ酸二カリウム  
17 四水和物溶液(1→20) 1 mLを加え、水浴中で7分間加熱する。  
18 冷後、酢酸(100) 6 mL及び4-ジメチルアミノベンズアルデ  
19 ヒド・塩酸・酢酸試液2.4 mLを加えて室温に放置するとき、  
20 液は帯黄赤色～赤色を呈する。21 (3) 本品の水溶液(1→10) 1 mLにセチルピリジニウム塩  
22 化物一水和物溶液(1→20) 2～3滴を加えるとき、白色沈殿を  
23 生じる。

## 24 粘度 (2.53)

25 (i) 表示平均分子量60万～120万のものに適用する。本品  
26 の「精製ヒアルロン酸ナトリウム」約10 mgに対応する量を  
27 精密に量り、0.2 mol/L塩化ナトリウム試液を加えて正確に  
28 20 mLとし、試料溶液とする。試料溶液につき、0.2 mol/L  
29 塩化ナトリウム試液の流下時間が200～230秒のウペローデ  
30 型粘度計を用いて30±0.1 °Cで第1法により試験を行う。次  
31 式により極限粘度 $[\eta]$ を求めるとき、11.8～19.5 dL/gである。  
32 ただし、 $c$ は定量法で得た含量を濃度(g/dL)に換算して用い  
33 る。

34 
$$[\eta] = \sqrt{2(\eta_{sp} - \ln \eta_{rel})} / c \times 0.87 + 1.33$$

35 
$$\eta_{sp}(\text{比粘度}) = \eta_{rel} - 1$$

36 
$$\eta_{rel}(\text{相対粘度}) = t / t_0$$

37 (ii) 表示平均分子量150万～200万のものに適用する。本  
38 品の「精製ヒアルロン酸ナトリウム」約4 mgに対応する量  
39 を精密に量り、0.2 mol/L塩化ナトリウム試液を加えて正確  
40 に20 mLとし、試料溶液とする。試料溶液につき、0.2  
41 mol/L塩化ナトリウム試液の流下時間が200～300秒のウペロ  
42 ーデ型粘度計を用いて30±0.1 °Cで第1法により試験を行う。  
43 次式により極限粘度 $[\eta]$ を求めるとき、24.5～31.5 dL/gであ  
44 る。

45 
$$[\eta] = \{1 - \sqrt{1 - 0.432 \cdot \ln \eta_{rel}}\} / (0.0108 \times M)$$

46 
$$\eta_{rel}(\text{相対粘度}) = t / t_0$$

47  $M$  : 本品の秤取量(g)

48 浸透圧比 別に規定する。

49 pH 別に規定する。

50 エンドトキシン (4.01) 0.003 EU/mg未満。

51 採取容量 (6.05) 試験を行うとき、適合する。

52 不溶性異物 (6.06) 第1法により試験を行うとき、適合する。

53 不溶性微粒子 (6.07) 試験を行うとき、適合する。

54 無菌 (4.06) 直接法により試験を行うとき、適合する。

## 55 平均分子量

56 (i) 表示平均分子量60万～120万のものに適用する。本品  
57 の平均分子量を次式により求めるとき、60万～120万である。  
58 ただし、 $[\eta]$ は、粘度の項で得た極限粘度を用いる。

59 
$$\text{平均分子量} = \left( \frac{[\eta] \times 10^5}{36} \right)^{\frac{1}{0.78}}$$

60 (ii) 表示平均分子量150万～200万のものに適用する。本  
61 品の平均分子量を次式により求めるとき、150万～200万で  
62 ある。ただし、 $[\eta]$ は、粘度の項で得た極限粘度を用いる。

63 
$$\text{平均分子量} = \left( \frac{[\eta] \times 10^5}{22.8} \right)^{\frac{1}{0.816}}$$

64 定量法 本品の「精製ヒアルロン酸ナトリウム」約10 mgに対  
65 応する量を精密に量り、0.2 mol/L塩化ナトリウム試液を加  
66 えて正確に20 mLとする。この液1 mLを正確に量り、水を加  
67 えて正確に10 mLとし、試料溶液とする。以下「精製ヒア  
68 ルロン酸ナトリウム」の定量法を準用する。

69 本品1 mL中の精製ヒアルロン酸ナトリウム

70  $[(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n]$ の量(mg)

71 
$$= M_S / M_T \times A_T / A_S \times 1/5 \times \rho \times 2.279$$

72  $M_S$  : D-グルクロノラクトン標準品の秤取量(mg)73  $M_T$  : 本品の秤取量(g)74  $\rho$  : 比重及び密度測定法 (2.56) により測定した本品の密  
75 度(g/mL)76 貯法 容器 密封容器。本品は、プラスチック製水性注射剤  
77 容器を使用することができる。  
78 -----

## 79 9. 41 試薬・試液の項に次を追加する。

80 酢酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 6.0 塩化ナトリウム1.76 gを  
81 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  
82 溶かし、200 mLとする。83 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 1 mol/L, pH 6.0 酢酸ナトリ  
84 ウム試液に希酢酸を加えてpH 6.0に調整する。85 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩酸・酢酸試液 4-  
86 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  
87 (19 : 1) 50 mLに溶かす。用時製する。88 セチルピリジニウム塩化物一水和物  $C_{21}H_{38}ClN \cdot H_2O$  白色  
89 の粉末又は結晶で、においはないか、又はわずかに特異な  
90 おいがある。

91 融点 (2.60) 80～84 °C

92 水分 (2.48) 4.5～5.5 %

93 強熱残分 (2.44) 0.2 %以下(1 g)。

94 含量 換算した脱水物に対し、99.0～102.0 %を含む。

95 定量法 本品約0.2 gを精密に量り、水75 mLに溶かす。ク  
96 ロロホルム10 mL、プロモフェノールブルー溶液(1→2000)

97 0.4 mL及び新たに製した炭酸水素ナトリウム溶液(21→  
98 5000) 5 mLを加え、0.02 mol/Lテトラフェニルボロンナト  
99 リウム液で滴定(2.50)する。ただし、滴定の終点は、終点  
100 の近くでは1滴ごとに激しく振り混ぜ、クロロホルム層の青  
101 色が消えるときとする。

102 0.02 mol/L テトラフェニルボロンナトリウム液1 mL  
103 =6.800 mg C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN

104 **ヒアルロニダーゼ** *Streptomyces albobriseolus* から得たもの  
105 で、凍結乾燥した白色の粉末である。

106 **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  
107 む。

108 **定量法**

109 (i) 試料溶液 本品1アンプルに冷水2 mLを正確に加えて  
110 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  
111 む液となるように希釈する。用時製し、冷所に保存する。

112 (ii) 基質溶液 ヒアルロン酸50 mgを正確に量り、pH 6.0  
113 の0.02 mol/L酢酸塩緩衝液40 mLを加えて、5時間かき混ぜ  
114 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  
115 て正確に50 mLとする。

116 (iii) 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液 水0.6 mL  
117 及び塩酸11.9 mLに酢酸を加えて正確に100 mLとし、4-ジ  
118 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  
119 液1 mLを正確に量り、酢酸9 mLを正確に加える。用時製す  
120 る。

121 (iv) ホウ酸塩溶液 ホウ酸4.95 gを水40 mLに溶かし、水  
122 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  
123 mLとする。

124 (v) 操作法 基質溶液0.5 mLを正確に量り、60±0.5 °Cで  
125 10分間加温した後、試料溶液0.5 mLを正確に加え、直ちに  
126 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、  
127 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  
128 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。  
129 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  
130 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  
131 る。この液につき、水を対照とし、紫外可視吸光度測定法  
132 (2.24)により試験を行い、波長585 nmにおける吸光度A<sub>1</sub>を  
133 測定する。別に基質溶液0.5 mLを正確に量り、60±0.5 °C  
134 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  
135 振り混ぜ、試料溶液0.5 mLを正確に加え、直ちに振り混ぜ  
136 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  
137 水中で冷却する。以下同様に操作し、吸光度A<sub>0</sub>を測定する。  
138 (vi) 計算法 次式により本品の1アンプル当たりの酵素活  
139 性を求める。ただし、1単位とは、ヒアルロン酸を基質にし  
140 て、60 °C、pH 6.0において30分間に波長660 nmにおける  
141 吸光度を50%減少させる酵素量である。

142 本品1アンプル中のヒアルロニダーゼ単位  
143 = (A<sub>1</sub> - A<sub>0</sub>) × D<sub>m</sub> × 3.2 × 4

144 D<sub>m</sub>: 試料溶液の希釈倍数

145 3.2: 濁度減少単位に変換するための係数

146 **ヒアルロン酸** (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>11</sub>)<sub>n</sub> 白色の粉末である。

147 **四ホウ酸二カリウム四水和物** K<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 4H<sub>2</sub>O 本品は白色の

148 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  
149 けにくい。

#### 150 9. 41 試薬・試液の次の試薬を次のように改める。

151 **四ホウ酸ナトリウム・硫酸試液** 四ホウ酸ナトリウム十水和物  
152 9.5 gに硫酸1000 mLを加え、一晚かき混ぜて溶かす。

153 **純度試験** 水1 mLにあらかじめ氷水中で冷却した本品5 mL  
154 を静かに加え、冷却しながらかき混ぜ、水浴中で10分間加  
155 熱した後、氷水中で冷やす。それぞれにカルバズール試液  
156 0.2 mLを正確に加えてよくかき混ぜ、水浴中で15分間加熱  
157 し、氷水中で室温まで冷却するとき、液は緑色を呈さない。

158  
159  
160