

1 ヘパリンカルシウム

2 確認試験(2)及び純度試験(6)、(7)の項を次のように改める。

3 確認試験

4 (2) 本品及び確認試験用ヘパリンナトリウム標準品1 mg
5 ずつを水1 mLに溶かし、試料溶液及び標準溶液とする。試
6 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
7 マトグラフィー〈2.01〉により試験を行うとき、試料溶液及
8 び標準溶液から得た主ピークの保持時間は等しい。

9 試験条件

10 検出器、カラム、カラム温度、移動相A、移動相B、移
11 動相の送液及び流量は純度試験(7)の試験条件を準用
12 する。

13 システム適合性

14 システムの性能：確認試験用ヘパリンナトリウム標準品
15 1.0 mgを水0.60 mLに溶かした液90 µL、システム適
16 合性試験用過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品を1
17 mL中に0.50 mgを含むように水に溶かした液30 µL及
18 びデルマタン硫酸エステル1.0 mgを水2.0 mLに溶か
19 した液30 µLを混和する。この液20 µLにつき、上記
20 の条件で操作するとき、デルマタン硫酸エステル、ヘ
21 パリン、過硫酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、
22 デルマタン硫酸エステルとヘパリンとの分離度は1.0
23 以上、ヘパリンと過硫酸化コンドロイチン硫酸との分
24 離度は1.5以上である。

25 純度試験

26 (6) 過硫酸化コンドロイチン硫酸 本品20 mgを核磁気共
27 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
28 リウム- d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→
29 10000) 0.60 mLに溶かす。この液につき、3-トリメチルシ
30 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
31 気共鳴スペクトル測定法〈2.21〉により、プロトン共鳴周波
32 数400 MHz以上の装置1.1.を用いて ^1H を測定するとき、
33 82.18 ± 0.05 ppmに過硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセ
34 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
35 あっても、 ^{13}C をデカップリングして測定するとき、そのシ
36 グナルは消失する。

37 試験条件

38 温度：25℃

39 スピニング：オフ

40 データポイント数：32768

41 スペクトル範囲：DHOのシグナルを中心に ± 6.0 ppm

42 パルス角：90°

43 繰返しパルス待ち時間：20秒

44 ダミースキャン：4回

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

47 ウインドウ関数：指数関数(Line broadening factor =
48 0.2 Hz)

49 システム適合性

50 システムの性能：本品20 mgを核磁気共鳴スペクトル測
51 定用3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-
52 d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液(1→10000)

53 0.40 mLに溶かした液に、システム適合性試験用過硫
54 酸化コンドロイチン硫酸標準品を1 mL中に0.10 mgを
55 含むように核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチ
56 ルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 の核磁気共鳴ス
57 ペクトル測定用重水溶液(1→10000)に溶かした液0.20
58 mLを加える。この液につき、上記の条件で操作する
59 とき、 $\delta 2.04 \pm 0.02$ ppmにヘパリンのN-アセチル基
60 に由来するシグナルを、及び $\delta 2.18 \pm 0.05$ ppmに過
61 硫酸化コンドロイチン硫酸のN-アセチル基に由来す
62 るシグナルを、それぞれ認める。

63 (7) 類縁物質 本品2.0 mgを水0.1 mLに溶かした液20 µL
64 を正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー〈2.01〉
65 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
66 めない。

67 試験条件

68 検出器：紫外吸光度計(測定波長：202 nm)

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

72 カラム温度：35℃付近の一定温度

73 移動相A：リン酸二水素ナトリウム二水和物0.4 gを水
74 1000 mLに溶かし、薄めたリン酸(1→10)を加えてpH
75 3.0に調整する。

76 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
77 塩素酸リチウム106.4 gを水1000 mLに溶かし、薄め
78 たリン酸(1→10)を加えてpH 3.0に調整する。

79 移動相の送液：移動相A及び移動相Bの混合比を次のよ
80 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

81 流量：毎分0.2 mL

82 測定範囲：溶媒のピークの後からヘパリンの保持時間の
83 2倍までの範囲

84 システム適合性

85 検出の確認：確認試験用ヘパリンナトリウム標準品10
86 mgを水0.40 mLに溶かし、ヘパリンナトリウム標準
87 原液とする。別にシステム適合性試験用過硫酸化コン
88 ドロイチン硫酸標準品を1 mL中に0.50 mgを含むよう
89 に水に溶かし、過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液
90 とする。ヘパリンナトリウム標準原液60 µL、過硫酸
91 化コンドロイチン硫酸標準溶液3 µL及び水12 µLを混
92 和した液20 µLにつき、上記の条件で操作するとき、
93 過硫酸化コンドロイチン硫酸のピークを認める。

94 システムの性能：ヘパリンナトリウム標準原液120 µL
95 に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準溶液30 µLを混和
96 し、システム適合性試験用溶液とする。この液20 µL
97 につき、上記の条件で操作するとき、ヘパリン、過硫
98 酸化コンドロイチン硫酸の順に溶出し、その分離度は
99 1.5以上である。

100 システムの再現性：システム適合性試験用溶液20 µLに
101 つき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、過硫酸

102 化コンドロイチン硫酸のピーク面積の相対標準偏差は
103 2.0%以下である。
104
105