平成20年7月1日
航空会館「201会議室」
午後2時から

薬事・食品衛生審議会
日本薬局方部会
議事次第

1. 開会

2. 審議事項

議題1　日本薬局方の一部改正について
（資料No.1－1～1－2）
（参考資料No.1－1～1－2, No.2）

議題2　日本薬局方新規収載候補品目（案）について
（資料No.2）

3. 報告事項

4. その他

5　閉会

資料No.　１－１

日本薬局方の一部改正
（ヘパリンナトリウム）について

平成２０年７月１日
医薬食品局審査管理課

厚生労働省発薬食第0630061号
平成　20　年　6　月　30　日

薬事・食品衛生審議会会長
望月　　正隆　　殿

厚生労働大臣　　舛添　要一

諮　問　書

日本薬局方（平成18年厚生労働省告示第285号）の一部を別紙のとおり改正することについて、薬事法（昭和35年法律第145号）第41条第2項の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

別紙

日本薬局方ヘパリンナトリウム純度試験改正案

純度試験

過硫酸化コンドロイチン硫酸　本品 20 mg を核磁気共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リウム-d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液（1→10000）0.60 mL に溶かし，試料溶液とする．この液につき核磁気共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リウム-d_4 を内部基準物質として核磁気共鳴スペクトル測定法 *〈2.21〉* プロトン共鳴周波数 400MHz 以上の装置(1)を用いる方法により ^1H を測定するとき，δ 2.13-2.17 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認めない．

試験条件

温度：25℃

スピニング：オフ

データポイント数：32,768

スペクトル範囲：水のシグナルを中心に ±6.0 ppm

パルス角：90°

繰り返しパルス待ち時間：20 秒

ダミースキャン：4 回

積算回数：ヘパリンの N-アセチル基のプロトンのシグナルの S/N 比が 200 以上得られる回数

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

システム適合性

本品 20 mg を核磁気共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リウム-d_4 の核磁気共鳴スペクトル測定用重水溶液（1→10000）0.60 mL に溶かし，システム適合性試験用溶液とする．システム適合性試験用溶液に過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg を加えて溶かした液につき，上記の条件で操作するとき，δ 2.02-2.06 ppm にヘパリンの N-アセチル基に由来するシグナル，及びδ 2.13-2.17 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認める．

標準品

過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品

資料No. １－２

分析方法の検討及びその結果

平 成 ２ ０ 年 ７ 月 １ 日

国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部
山口照英，川崎ナナ，橋井則貴

NMR 協力研究者： 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 川原信夫，合田幸広
療品部 葩島由二
食品添加物部 杉本直樹，棚元憲一
名古屋市立大学大学院薬学研究科 加藤晃一
NMR 共同検定： 国立医薬品食品衛生研究所
生物薬品部 橋井則貴，川崎ナナ，山口照英
有機化学部 正田卓司，奥田晴宏
味の素株式会社 榛葉 久信
株式会社大塚製薬工場 宮田 一義
テルモ株式会社 千秋 和久
日本臓器製薬株式会社 長谷川泰介
扶桑薬品工業株式会社 余田 光

キャピラリー電気泳動協力研究者： 近畿大学薬学部 木下充弘，掛樋一晃
キャピラリー電気泳動共同検定： 近畿大学薬学部 木下充弘，掛樋一晃
株式会社大塚製薬工場 寺尾 敏光
扶桑薬品工業株式会社 余田 光

資料

1．純度試験(1)過硫酸化コンドロイチン硫酸

(1) ^{1}H-NMRによる過硫酸化コンドロイチン硫酸限度試験の実行可能性評価

1) 特異性

プロトン共鳴周波数 500MHz の核磁気共鳴スペクトル装置を用いて ^{1}H-NMR を測定したとき，ヘパリンナトリウム及び過硫酸化コンドロイチン硫酸に由来する N-アセチル基のシグナルは，それぞれ δ 2.05 及び δ 2.15 ppm 付近に観測された(図 1)．本分析法は過硫酸化コンドロイチン硫酸に対する特異性が高いことが確認された．また，過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基のシグナルを測定シグナルとして採用することが適当であると判断された．

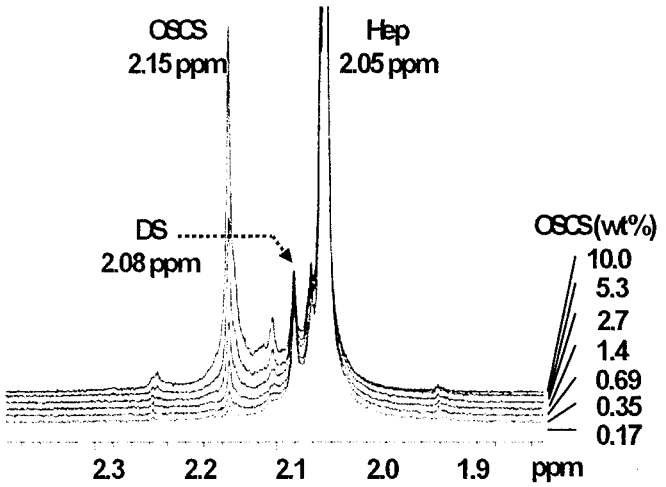

図１　ヘパリンナトリウム(Hep)及び過硫酸化コンドロイチン硫酸(OSCS)のN-アセチル基の化学シフト
DS: デルマタン硫酸

2) 検出限界

プロトン共鳴周波数 500MHz の核磁気共鳴スペクトル装置を用いて検出限界を確認したところ，0.35 wt%であった(図 1)．その他の分析能パラメータは表 1 の通りであった．

表 1 ^{1}H-NMR による過硫酸化コンドロイチン硫酸分析の分析能パラメータ

分析能パラメータ	結果
真度 (添加回収試験, 1 点×3)	0.4 wt%, 回収率=98.3%, SD=4.63%
精度	
併行精度	0.4 wt%, SD=1.6%
室内再現精度	
特異性	図 1 参照
検出限界	0.35 wt%
定量限界	0.4 wt%
直線性	Y=0.0909X-0.064 (R^2=0.9991) 図 2 参照
範囲	0.4-10.0 wt%

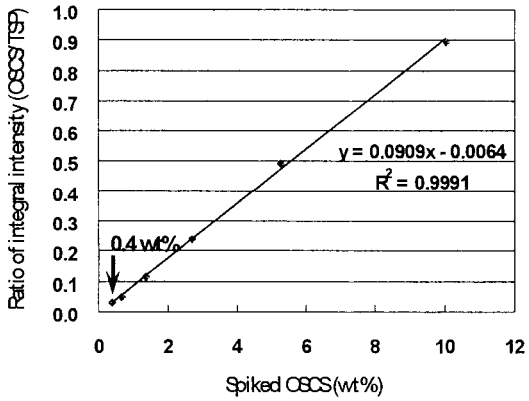

図２　^{1}H-NMRによる過硫酸化コンドロイチン硫酸（OSCS）の直線性

3) 共同検定結果

6機関7試験室(プロトン共鳴周波数 400MHz 以上の装置を使用)による多機関共同検定により，本分析法の実行可能性を評価した．全機関で特異性を確認することができた．また，0.5 wt% 以上の過硫酸化コンドロイチン硫酸のシグナルを確認することができた(図3).

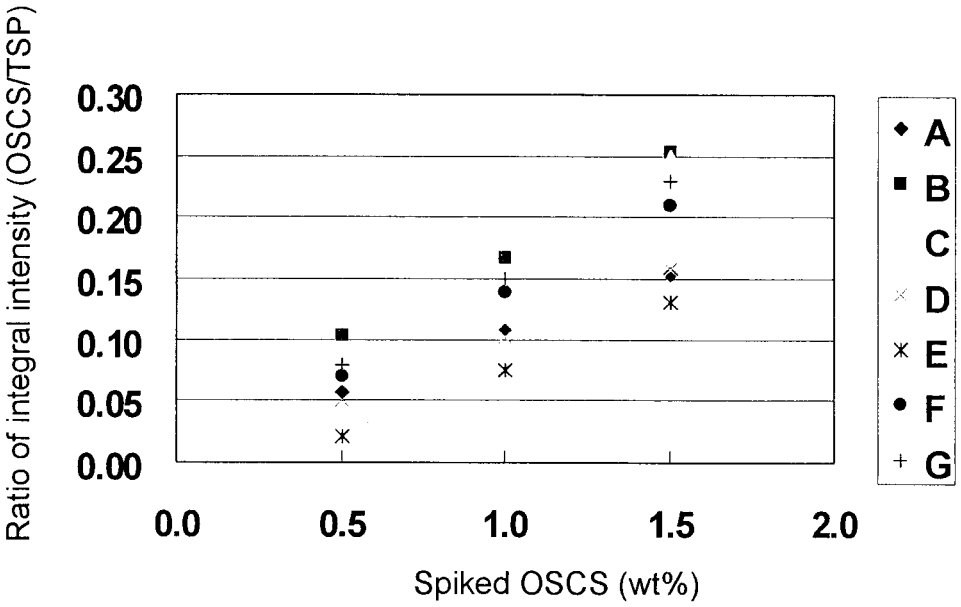

図3 ^{1}H-NMR を用いた過硫酸化コンドロイチン硫酸測定共同検定結果

TSP: 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-d_4

4) 規格値設定の根拠

過硫酸化コンドロイチン硫酸は，米国で発生したヘパリンナトリウムの有害事象の原因物質であることから（Nat. Biotechnol., New Engl. J. Med)，規格は，過硫酸化コンドロイチン硫酸に由来するシグナルを認めないこととした．これは，共同検定で得られた検出限界 0.5 wt%以下であることを意味する．分析システムが 0.5 wt%の過硫酸化コンドロイチン硫酸を検出できることを確認するため，システム適合性において,「(ヘパリン溶液に)過硫酸化コンドロイチン硫酸標準品 0.1 mg (注釈: 0.5 wt%に相当）を加えて溶かした液につき，上記の条件で操作するとき，δ2.02-2.06 ppm にヘパリンの N-アセチル基に由来するシグナル，及び δ2.13-2.17 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基に由来するシグナルを認める」を確認するものとした．

また，300MHz 以下の装置での適用については，評価できていないことにより，400MHz 以上の NMR 装置を使用することとした．

尚，ヘパリンナトリウムの N-アセチル基の ^{13}C サテライトピークが δ 2.13-2.17 ppm に観測される場合があるが，^{13}C サテライトピークは，ヘパリンナトリウムの N-アセチル基のシグナルを中心として対称に観察されること，ヘパリンナトリウムの N-アセチル基に対するシグナル面積強度の 0.55%であること，また，デカップリングによって消失することから，過硫酸化コンドロイチン硫酸由来のシグナルと識別可能であると判断された．

(2) キャピラリー電気泳動法による過硫酸化コンドロイチン硫酸限度試験の実行可能性評価

1) 特異性

キャピラリー電気泳動法では，過硫酸化コンドロイチン硫酸及びヘパリンナトリウムの良好な分離を得ることができなかった（図 4）.

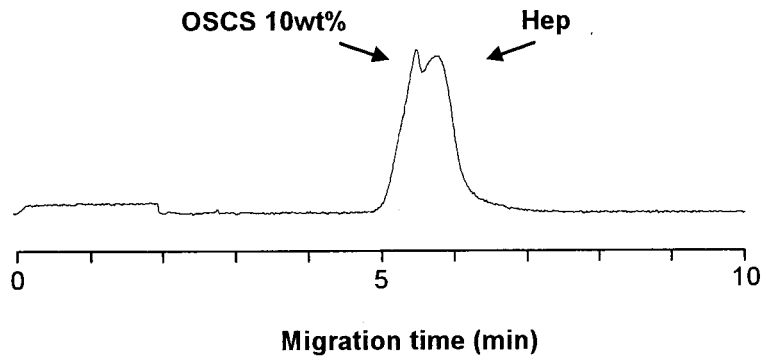

図 4　過硫酸化コンドロイチン硫酸(OSCS)及びヘパリンナトリウム(Hep)の泳動時間（分）

2) 検出限界

キャピラリー電気泳動法の検出限界は 2.0 wt%であった．また，他の分析パラメータは表 2 の通りであった.

表 2　キャピラリー電気泳動法による過硫酸化コンドロイチン硫酸分析の分析能パラメータ

分析能パラメータ	結果
真度(添加回収試験, 1 点×3)	10wt%, 回収率=41%, SD=2.18%
併行精度	5.0wt%, SD=2.18%
室内再現精度	5.0wt%, SD=3.46%
特異性	図 4 参照
検出限界	2.0 wt%

(3)　結論

^{1}H-NMR とキャピラリー電気泳動法の結果を表 3 にまとめる．^{1}H-NMR の方が特異性及び感度が優れていることから，日本薬局方純度試験として^{1}H-NMR を採用することとした.

表 3　1H-NMR とキャピラリー電気泳動法の比較

	特異性	検出限界
NMR	○	検出限界：0.35 wt%
CE	△	検出限界：2.0 wt%

(4) 米国薬局方と日本薬局方との相違について

1) 500MHz (米国薬局方)と 400MHz (日本薬局方)とについて

米国薬局方では 500MHz 以上の装置が採用されているが，国内 7 機関による共同検定の結果，400MHz の装置でも過硫酸化コンドロイチン硫酸及びヘパリンを分離できること（特異性あり），及び 0.5 wt%の過硫酸化コンドロイチン硫酸を用いてシステム適合性を確認することによって，400MHz でも 500MHz でも 0.5 wt%以上の過硫酸化コンドロイチン硫酸を検出できること(検出限界が同程度)が確認された．また，400MHz の装置を所有している国内メーカーが多いことから，日本薬局方では 400MHz 以上を使用することとした．尚，欧州薬局方も 400MHz の NMR の使用を認めている．

2) 測定シグナル範囲 2.16±0.03 (米国薬局方)と 2.13～2.17ppm (日本薬局方)とについて

米国薬局方では過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基のシグナルの化学シフトは 2.16±0.03 ppm と設定しているが，国内 7 機関による共同検定の結果，過硫酸化コンドロイチン硫酸の N-アセチル基の化学シグナルは 2.149～2.153 ppm であった．日本薬局方では国内実測値に基づき 2.15 を中心に±0.02ppm と設定した．なお、３月６日に公表された米国 FDA のヘパリンナトリウム中の不純物検出法には、2.15±0.02ppm とされている。

3) キャピラリー電気泳動法について

米国薬局方は，ブタ由来ヘパリンナトリウムについては，^{1}H-NMR に加え，キャピラリー電気泳動法による過硫酸化コンドロイチン硫酸の確認を採用している．しかしながら、日本薬局方では，キャピラリー電気泳動法は ^{1}H-NMR に比べて特異性が低いこと（図 4 参照），及び検出感度が劣ること（NMR の LOD：0.35 wt%（表 1）；キャピラリー電気泳動法の LOD：2.0 wt%(表 2)）から，キャピラリー電気泳動法を ^{1}H-NMR 法に付加する形で設定する必要性は現時点において考えられないことから、今回、日本薬局方では、キャピラリー電気泳動法は設定していない。尚、欧州薬局方では，^{1}H-NMR あるいはキャピラリー電気泳動のいずれかの試験を実施することとなっている．

4) 確認試験(米国薬局方)と純度試験(日本薬局方)について

米国薬局方は，ヘパリンナトリウムの確認試験として ^{1}H-NMR を採用し，2.04±0.2 ppm にアセチル基のシグナルが検出され，2.16±0.03 ppm に過硫酸化コンドロイチン硫酸のアセチル基に由来するシグナルが検出されないことを規格として設定している．日本薬局方の確認試験は，目的物質を確認するものであり，不純物の有無を確認するものではないことから，日本薬局方においては，過硫酸化コンドロイチン硫酸を純度試験として設定することとした．

2．純度試験(2) デルマタン硫酸

(1) キャピラリー電気泳動法を用いたデルマタン硫酸限度試験の実行可能性評価

キャピラリー電気泳動法により，ヘパリンナトリウム及びデルマタン硫酸はそれぞれ 5.8 及び 6.5 分付近に泳動され，本分析法の特異性が高いことが確認された(図 5)．バリデーションスタディの結果，検出限界は 1.0 wt%であり，2.0-10 wt%の範囲で直線性が確認された（図 6)．他の分析能パラメータは表 4 の通りであった．３機関による多機関共同検定を実施したところ，全機関で 1.0 wt% 以上のデルマタン硫酸を検出できたことから(図 7)，本分析法はデルマタン硫酸の定量試験として実行可能と判断された．しかし，ヘパリンナトリウムに混入しているデルマタン硫酸含量に関する国内データが少ないこと、それ自体が米国におけるヘパリンの有害事象と直接関連するものではないことなどから，今後，米国薬局方、欧州薬局方とも連携をとりつつ検討することが適当と考える。

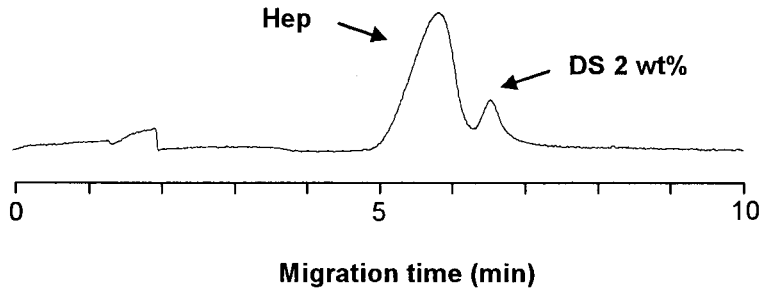

図 5　ヘパリンナトリウム(Hep)及びデルマタン硫酸(DS)の泳動時間（分）

表 4　キャピラリー電気泳動法によるデルマタン硫酸分析の分析能パラメータ

分析能パラメータ	結果
真度(添加回収試験, 1 点×3)	1.0wt%, 回収率=82%, SD=1.78%
精度	
併行精度	1.0wt%, SD=1.78 %
室内再現精度	1.0wt%, SD=3.58 %
特異性	図 5 参照
検出限界	1.0 wt%
定量限界	2.0 wt%
直線性	Y=16938X-9357.2 (R^2=0.9991) 図 6 参照
範囲	2.0-10 wt%

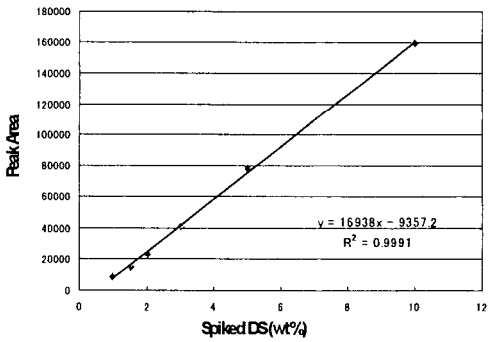

図 6 キャピラリー電気泳動法によるデルマタン硫酸(DS)の直線性

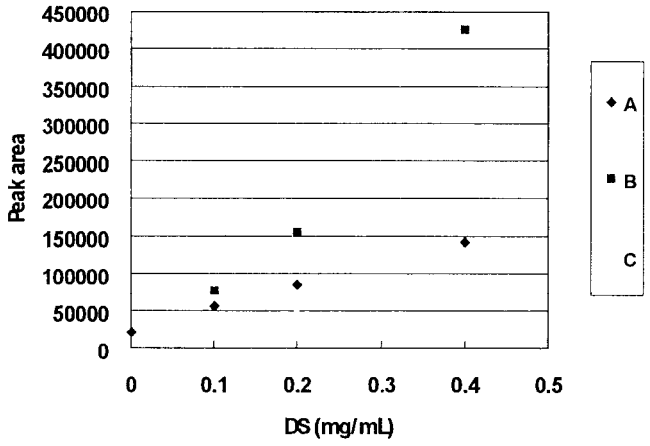

図7　キャピラリー電気泳動法を用いたデルマタン硫酸測定共同検定結果

(2) ^{1}H-NMR を用いたデルマタン硫酸限度試験の実行可能性評価

500MHz 以上の装置を用いた場合，ヘパリンナトリウムの N-アセチル基とデルマタン硫酸の N-アセチル基の分離が可能であった（図 8）．また，500MHz 以上の装置でベースライン補正が可能なソフトウエアを用いた場合，0.6～18.7 wt%の範囲で直線性が確認され，検出限界は 0.35 wt%であった．しかし，500MHz の装置を用いても，ベースライン補正可能なソフトウエアを使用しない場合，デルマタン硫酸のシグナルがヘパリンのシグナルと重なっているため，デルマタン硫酸の含量が見かけ上多く算出されることが明かとなった．また，400MHz の装置では，ヘパリンナトリウムの N-アセチル基とデルマタン硫酸の N-アセチル基を分離できなかった．以上のことから，^{1}H-NMR は日本薬局方におけるデルマタン硫酸の限度試験として適当ではないと考えた．尚，500MHz 以上の装置を用い，ベースライン補正可能なソフトウエアを使用した場合は，定量試験として用いることは可能であると考えている．

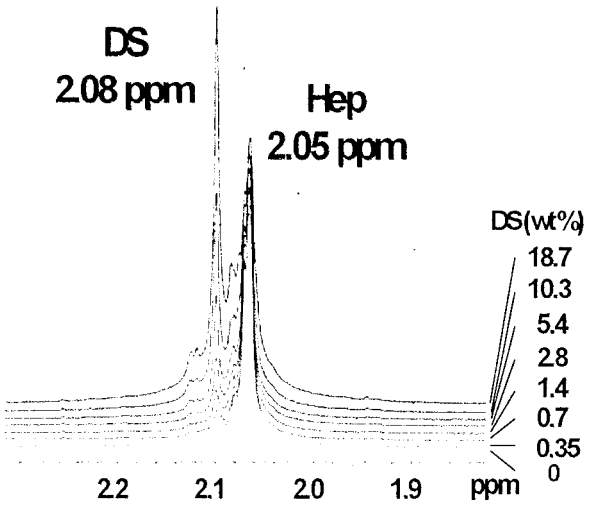

図8　ヘパリンナトリウム(Hep)及びデルマタン硫酸(DS)の N-アセチル基の化学シフト

参考資料　No.１－１

日本薬局方（ヘパリンナトリウム）

平成２０年７月１日
医薬食品局審査管理課

整する．

システム適合性

システムの性能：標準溶液 10 μL につき，上記の条件で操作するとき，内標準物質，ベニジピンの順に溶出し，その分離度は 8 以上である．

システムの再現性：標準溶液 10 μL につき，上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき，内標準物質のピーク面積に対するベニジピンのピーク面積の比の相対標準偏差は 1.0 % 以下である．

貯 法 容 器 密閉容器．

ヘパリンナトリウム
Heparin Sodium

本品は健康な食用獣の肝，肺又は腸粘膜から得たもので，血液の凝固を遅延する作用があり，肝又は肺から製したものは 1 mg 中 110 ヘパリン単位以上，腸粘膜から製したものは 1 mg 中 130 ヘパリン単位以上を含むものである．

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

本品は原料に用いた器官名を表示する．

性 状 本品は白色～帯灰褐色の粉末又は粒で，においはない．

本品は水にやや溶けやすく，エタノール (95) 又はジエチルエーテルにほとんど溶けない．

本品は吸湿性である．

pH 〈2.54〉 本品 1.0 g を水 100 mL に溶かした液の pH は 6.0 ～ 8.0 である．

純度試験

(1) 溶状 本品 0.5 g を水 20 mL に溶かすとき，液は無色～淡黄色澄明である．

(2) バリウム 本品は 0.03 g を水 3.0 mL に溶かし，試料溶液とする．試料溶液 1.0 mL に希硫酸 3 滴を加え，10 分間放置するとき，液は混濁しない．

(3) 総窒素 本品を 60 ℃ で 3 時間減圧乾燥し，その約 0.1 g を精密に量り，窒素定量法 〈1.08〉 によって試験を行うとき，窒素 (N：14.01) の量は 3.0 % 以下である．

(4) たん白質 (2) の試料溶液 1.0 mL にトリクロロ酢酸溶液 (1 → 5) 5 滴を加えるとき，液は沈殿又は混濁を生じない．

乾燥減量 〈2.41〉 10 % 以下 (20 mg，減圧，60 ℃，3 時間)．

強熱残分 〈2.44〉 40 % 以下 (乾燥後，20 mg)．

発熱性物質 〈4.04〉 ウサギの体重 1 kg につき，本品の表示単位に従い，1 mL 中 1000 単位を含むように生理食塩液を加えて調製した液 2.0 mL を注射し，試験を行うとき，適合する．

定 量 法

(i) 基質液 *N*-ベンゾイル-L-イソロイシル-L-グルタミル(γ-OR)-グリシル-L-アルギニル-*p*-ニトロアニリド塩酸塩 15 mg を水 20 mL に溶解する．

(ii) アンチトロンビンⅢ液 ヒト由来アンチトロンビンⅢを水に溶かし，1 mL 中に 1 単位を含む液を調製する．

(iii) 活性化血液凝固X因子液 ウシ由来活性化血液凝固X因子を水に溶かし，1 mL 中に 0.426 単位を含む液を調製する．

(iv) 緩衝液 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール 6.06 g を水 750 mL に溶かし，1 mol/L 塩酸試液を加えて pH を 8.4 に調整した後，水を加えて 1000 mL とする．

(v) 反応停止液 酢酸 (100) 20 mL に水を加え，40 mL とする．

(vi) ヘパリン標準液 ヘパリンナトリウム標準品を生理食塩液に溶かし，1 mL 中に 10 単位を含む液を調製し，標準原液とする．標準原液 100 μL に緩衝液を加えて正確に 5 mL とし，標準溶液とする．次の表に従い，標準溶液にアンチトロンビンⅢ液，ヒト正常血漿及び緩衝液を加え，ヘパリン標準液 (1)，ヘパリン標準液 (2)，ヘパリン標準液 (3)，ヘパリン標準液 (4) 及びヘパリン標準液 (5) を調製する．

ヘパリン標準液		緩衝液 (μL)	アンチトロンビンⅢ液 (μL)	ヒト正常血漿 (μL)	標準溶液 (μL)
No.	ヘパリン濃度 (単位/mL)				
(1)	0	800	100	100	0
(2)	0.02	700	100	100	100
(3)	0.04	600	100	100	200
(4)	0.06	500	100	100	300
(5)	0.08	400	100	100	400

(vii) 試料溶液 本品の表示単位に従い，その適量を精密に量り，生理食塩液に溶かし，1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を調製する．この液 100 μL にアンチトロンビンⅢ液 100 μL，ヒト正常血漿 100 μL 及び緩衝液 700 μL を加え，試料溶液とする．

(viii) 操作法 試験管に試料溶液 400 μL を入れ，37 ℃ で 4 分間加温する．これに活性化血液凝固X因子液 200 μL を加えてよく混和し，37 ℃ で正確に 30 秒間加温した後，あらかじめ 37 ℃ に加温した基質液 400 μL を加えてよく混和する．37 ℃ で正確に 3 分間加温した後，反応停止液 600 μL を加え，直ちに混和する．別に，試料溶液 400 μL に反応停止液 600 μL 及び水 600 μL を加えて混和したものを対照とし，波長 405 nm における吸光度を測定する．ヘパリン標準液 (1)，ヘパリン標準液 (2)，ヘパリン標準液 (3)，ヘパリン標準液 (4) 及びヘパリン標準液 (5) につき，同様に操作して，波長 405 nm における吸光度を測定する．

(ix) 計算法 縦軸に吸光度を，横軸にヘパリン標準液のヘパリン濃度をとり，各ヘパリン標準液の濃度に対応する吸光度をグラフ用紙にプロットし，検量線を作成する．この検量線を用いて，試料溶液の吸光度からヘパリン濃度 C を求め，次式により本品 1 mg 中のヘパリン単位を計算する．

本品 1 mg 中のヘパリン単位 $= C \times 10 \times (b / a)$

a：本品の秤取量 (mg)

b：本品を生理食塩液に溶かし，1 mL 中に約 0.5 単位を含む液を製したときの全容量 (mL)

貯 法 容 器 気密容器．

参考資料　No.１－２

日本薬局方外医薬品規格２００２

（ヘパリンカルシウム）

平成２０年７月１日
医薬食品局審査管理課

102779

ヘパリンカルシウム

Heparin Calcium

本品は健康な食用獣の肝，肺又は腸粘膜から得たもので，血液の凝固を遅延する作用があり，肝又は肺から製したものは 1 mg 中 110 ヘパリン単位以上，腸粘膜から製したものは 1 mg 中 130 ヘパリン単位以上を含むものである．

本品は定量するとき，換算した乾燥物に対し，表示単位の 90 ～ 110 % を含み，また，カルシウム (Ca：40.08) 8.0 ～ 12.0 % を含む．

本品は原料に用いた器官名を表示する．

性　状　本品は白色～帯灰褐色の粉末で，においはない．

本品は水に溶けやすい．

pH 本品 1.0 g に水 100 mL を加えて溶かした液の pH は 6.0 ～ 8.0 である．

確認試験

(1)　ヘパリン　本品 1 mg に水 50 mL を加えて溶かし，試料溶液とする．共栓試験管 2 本に，定量法の項の硫酸塩・全血液 1 mL ずつを加え，次にその 1 本に試料溶液 1 mL を，別の 1 本に水 1 mL を加える．更に定量法の項のトロンボキナーゼ抽出液 0.20 mL ずつを加え，血液の凝固時間を測定するとき，血液の凝固時間は試料溶液を加えた方が延長する．

(2)　カルシウム塩　本品 0.05 g に水 5 mL を加えて溶かした液は，カルシウム塩の定性反応を呈する．

純度試験

(1)　塩化物　本品 0.5 g をとり，試験を行う．比較液には 0.01 mol/L 塩酸 0.30 mL を加える (0.021 % 以下)．

(2)　バリウム　本品 0.030 g に水 3.0 mL を加えて溶かし，試料溶液とする．試料溶液 1.0 mL に希硫酸 3 滴を加え，10 分間放置するとき，液は混濁しない．

(3)　総窒素　本品を 60 ℃ で 3 時間乾燥し，その約 0.1 g を精密に量り，窒素定量法により試験を行うとき，窒素 (N：14.01) の量は 3.0 % 以下である．

(4)　たん白質　(2) の試料溶液 1.0 mL にトリクロル酢酸溶液 (1 → 5) 5 滴を加えるとき，液は沈殿又は混濁を生じない．

(5)　遊離カルシウム　本品 1.0 g に水 10 mL を加えて溶かし，試料溶液とする．別に炭酸カルシウム 2.497 g を正確に量り，水 10 mL 及び塩酸 10 mL を加えて溶かし，更に水を加えて正確に 1000 mL とする．この液 10 mL を正確に量り，水を加えて正確に 100 mL として，標準溶液とする．試料溶液及び標準溶液につき，ろ紙クロマトグラフ法によって試験を行う．試料溶液及び標準溶液 10 μL ずつをろ紙上にスポットする．次にアセトン/水混液 (3：2) を展開溶媒として，約 15 cm 展開した後，ろ紙を風乾する．これにアリザリン試液を均等に噴霧した後，風乾し，アンモニアガスにさらすとき，試料溶液は標準溶液と同じ位置に青色のスポットを認めない．

乾燥減量　8 % 以下 (0.05 g，減圧，60 ℃，3 時間)．

発熱性物質　ウサギの体重 1 kg につき，本品の表示単位に従い，1 mL 中 1000 単位を含むように生理食塩液を加えて調製した液 2.0 mL を注射し，試験を行うとき，これに適合する．

定量法

(1)　ヘパリンカルシウム

(i)　標準溶液　ヘパリンナトリウム標準品適量を精密に量り，水を加えて溶かし，その 1 mL 中に正確に 2.00 単位及び 1.60 単位を含むように調製し，それぞれ高用量標準溶液 S_H 及び低用量標準溶液 S_L とする．

(ii)　試料溶液　本品の表示単位に従い，その適量を精密に量り，水を加えて溶かし，その 1 mL 中に正確に 2.00 単位及び 1.60 単位を含むように調製し，それぞれ高用量試料溶液 T_H 及び低用量試料溶液 T_L とする．

(iii)　硫酸塩・全血液　新鮮なウシの血液 250 mL を硫酸ナトリウム溶液 (9 → 50) 50 mL を入れた広口の共栓ポリエチレン瓶に入れ，1 ～ 4 ℃ で保存する．用時凝固物があるときは除いて用いる．

(iv)　アセトン乾燥牛脳　新鮮な牛脳から血管及び結合組織などを除き，細切して 10 倍容量のアセトン中に入れて脱水する．次にその 30 g を乳ばちにとり，すりつぶしながらアセトン 75 mL ずつを加えて完全に脱水し，37 ℃ で 2 時間乾燥し，アセトンを除く．

(v)　トロンボキナーゼ抽出液　アセトン乾燥牛脳 1.5 g に水 60 mL を加え，50 ℃ で 10 ～ 15 分間抽出し，1500 回転で 2 分間遠心分離した後，上層液をとり，これに保存剤としてクレゾールを 0.3 % の割合に加え，1 ～ 4 ℃ で保存する．この液は数日間効力を保つ．

(vi)　操作法　内径約 13 mm，長さ約 15 cm の清浄な共栓試験管 4 本に S_H，S_L，T_H 及び T_L を別々に 1 mL ずつを入れ，それぞれにトロンボキナーゼ抽出液 0.20 mL ずつを加える．ただし，トロンボキナーゼ抽出液の容量は，凝固時間が最も長いもので 9 ～ 12 分間となるように選ぶ．次に各管に硫酸塩・全血液 1 mL ずつを加え，栓をして穏やかに転倒して混和する．各管を 15 秒間ごとに穏やかに傾斜して観察し，管を転倒しても，管底の凝固物が落下しなくなるまでの時間を凝固時間とする．ただし，完全に凝固を起こさない間に管を転倒したときは，試験をやりなおす．完全な試験を 4 回以上繰り返す．

(vii)　計算法　S_H，S_L，T_H 及び T_L によって起こった凝固時間の対数を y_1，y_2，y_3 及び y_4 とし，各回の試験における y_1，y_2，y_3 及び y_4 を合計して，それぞれ Y_1，Y_2，Y_3 及び Y_4 とする．

本品 1 mg 中の単位数 = antilog M × (高用量標準溶液 1 mL 中の単位数) × $\frac{b}{a}$

$$M = \frac{IY_a}{Y_b}$$

$$I = \log\frac{S_H}{S_L} = \log\frac{T_H}{T_L}$$

$$Y_a = -Y_1 - Y_2 + Y_3 + Y_4$$

$$Y_b = Y_1 - Y_2 + Y_3 - Y_4$$

a：試料の採取量 (mg)．

b：試料に水を加えて溶かし，高用量試料溶液を製したときの全容量 (mL)．

ただし，次式によって L (P = 0.95) を計算するとき，L は 0.15 以下である．もし，この値を超えるときは，この

値以下になるまで実験回数を増加して試験を繰り返す．

$$L = 2\sqrt{(C-1)(CM^2+I^2)}$$

$$C = \frac{Y_b^2}{Y_b^2 - 4fs^2t^2}$$

f：試験回数

$$s^2 = \frac{\Sigma y^2 - \frac{Y}{f} - \frac{Y'}{4} + \frac{Y''}{4f}}{n}$$

Σy^2：各回の試験の y_1，y_2，y_3 及び y_4 をそれぞれ 2 乗し，合計した値．

$Y = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + Y_4^2$

Y'：1 回の試験の y_1，y_2，y_3 及び y_4 の和を 2 乗し，各回の試験のこの数を合計した値．

$Y'' = (Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4)^2$

$n = 3(f-1)$

t^2：s^2 を計算したときの n に対する次表の値．

n	$t^2=F_1$	F_3	n	$t^2=F_1$	F_3	n	$t^2=F_1$	F_3
1	161.45	—	13	4.667	3.41	25	4.242	2.99
2	18.51	19.16	14	4.600	3.34	26	4.225	2.98
3	10.129	9.28	15	4.543	3.29	27	4.210	2.96
4	7.709	6.59	16	4.494	3.24	28	4.196	2.95
5	6.608	5.41	17	4.451	3.20	29	4.183	2.93
6	5.987	4.76	18	4.414	3.16	30	4.171	2.92
7	5.591	4.35	19	4.381	3.13	40	4.085	2.84
8	5.318	4.07	20	4.351	3.10	60	4.001	2.76
9	5.117	3.86	21	4.325	3.07	120	3.920	2.68
10	4.965	3.71	22	4.301	3.05	∞	3.841	2.60
11	4.844	3.59	23	4.279	3.03			
12	4.747	3.49	24	4.260	3.01			

（2） カルシウム　本品約 0.05 g を精密に量り，水 20 mL を加えて溶かし，8 mol/L 水酸化カリウム試液 2 mL を加え，時々振り混ぜながら，3 ～ 5 分間放置した後，NN 指示薬 0.1 g を加え，直ちに 0.01 mol/L エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液で滴定する．ただし，滴定の終点は液の赤紫色が青色に変わるときとする．

0.01 mol/L エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 1 mL = 0.4008 mg Ca

貯法 容器　気密容器．

108548

ヘパリン類似物質

Heparinoid

本品は健康な食用獣，主としてウシの気管軟骨を含む肺臓から抽出したムコ多糖の多硫酸エステルである．

本品を乾燥したものは定量するとき，D-グルクロン酸（$C_6H_{10}O_7$：194.14）19.0 ～ 24.0 %，窒素（N：14.01）1.6 ～ 2.0 % 及び有機硫酸基（$-SO_4$：96.06）25.8 ～ 37.3 % を含む．

性状　本品は帯黄白色の無晶性の粉末で，においはなく，味はわずかに苦い．

本品は水に溶けやすく，メタノール，エタノール，アセトン又は *n*-ブタノールにほとんど溶けない．

本品の水溶液（1 → 20）の pH は 5.3 ～ 7.6 である．

確認試験

（1） 本品の水溶液（1 → 20）0.1 mL を，トルイジンブルー溶液（1 → 100000）10 mL に加えて振り混ぜるとき，液の色は青色から，直ちに紫色に変わる．

（2） 本品 0.055 g に 0.5 mol/L 硫酸試液 2 mL を加えて溶かし，封管中で 100 ℃ で 16 時間加熱する．冷後，炭酸バリウム 0.5 g を加え，遠心分離した後，ろ過する．ろ液 0.5 mL 及び塩酸 D-ガラクトサミン試液（1 → 1000）0.5 mL に，それぞれヘパリン類似物質用ニンヒドリン試液 0.5 mL を加え，水浴中で 30 分間加熱する．冷後，強酸性イオン交換樹脂 0.5 g を加え，10 分間放置した後，ろ過し，試料溶液及び標準溶液とする．この液につき，薄層クロマトグラフ法により試験を行う．試料溶液及び標準溶液 10 μL ずつを薄層クロマトグラフ用セルロースを用いて調製した薄層板にスポットする．次に *n*-ブタノール/エタノール/水混液（4：1：1）を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する．これにアニリン・フタル酸試液を均等に噴霧した後，105 ℃ で 5 分間加熱するとき，試料溶液及び標準溶液から得たスポットは赤色を呈し，それらの R_f 値は等しい．

（3） 本品及びコンドロイチン硫酸 C ナトリウム 0.01 g をとり，それぞれに水を加えて溶かし，50 mL とし，試料溶液及び比較溶液とする．陰極側から約 1 cm のところに原線を引いたセルロースアセテート膜を，薄めたメタノール（3 → 10）に浸し，更にバルビタール・アンモニア試液に 30 分間以上浸し，セルロースアセテート膜電気泳動装置のバルビタール・アンモニア試液を入れた支持台の上に固定する．試料溶液及び比較溶液 1 μL ずつを原線にスポットし，1 cm 当たり 0.7 ミリアンペアで 50 分間泳動した後，セルロースアセテート膜をトルイジンブルー溶液（1 → 1000）に 1 分間浸して染色し，次に薄めた氷酢酸（1 → 100）で時々振り混ぜながら 5 分間脱色し，最後に水で洗う．試料溶液及び比較溶液から得た青色～淡紅色のバンドのそれぞれの中心部と原線からの距離を測定するとき，次の式によって計算される本品のコンドロイチン硫酸 C ナトリウムに対する相対易動度は 1.07 ～ 1.16 である．

$$\text{相対易動度} = \frac{\text{原線から試料溶液のスポットの中心部までの距離 (cm)}}{\text{原線から比較溶液のスポットの中心部までの距離 (cm)}}$$

旋光度 $[\alpha]_D^{20}$：−11.7 ～ −14.7°（乾燥後，2g，水，20mL，100 mm）．

極限粘度　本品を乾燥し，その約 0.4 g を精密に量り，0.5 mol/L 塩化ナトリウム試液を加えて溶かし，正確に 100 mL とし，試料溶液とする．試料溶液及び 0.5 mol/L 塩化ナトリウム試液につき，25±0.02 ℃ で粘度測定法により試験を行うとき，次の式によって計算される極限粘度は 0.09 ～ 0.18 である．

極限粘度

$$= \frac{\ln \frac{\text{試料溶液の流下時間 (秒)}}{\text{0.5 mol/L 塩化ナトリウム試液の流下時間 (秒)}}}{\text{試料の量 (g)}}$$

純度試験

（1） 溶状　本品 0.5 g を水 10 mL に溶かすとき，液は

参考資料　No. 2

USP

（ヘパリンナトリウム及びヘパリンカルシウム）

平成２０年７月１日
医薬食品局審査管理課

Heparin Sodium

Change to read:

» Heparin Sodium is the sodium salt of sulfated glycosaminoglycans present as a mixture of heterogeneous molecules varying in molecular weights. It is present in mammalian tissues and is usually obtained from the intestinal mucosa or other suitable tissues of domestic mammals used for food by man. •The sourcing of heparin material must be specified in compliance with applicable regulatory requirements. The manufacturing process must be validated to demonstrate clearance and inactivation of relevant infectious and adventitious agents (e.g., viruses, TSE agents). See *Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin* ⟨1050⟩ for general guidance on viral safety evaluation.• (RB 2008-06-16) It is purified to retain a combination of activities against different fractions of the blood clotting sequence. It is composed of polymers of alternating derivatives of •α-• (RB 2008-06-18) D-glucosamine (*N*-sulfated, *O*-sulfated, or *N*-acetylated) and uronic acid (•α-• (RB 2008-06-18) L-iduronic acid or •β-• (RB 2008-06-18) D-glucuronic acid) joined by glycosidic linkages. The component activities of the mixture are in ratios corresponding to those shown by the USP Heparin Sodium Reference Standard. Some of these components have the property of prolonging the clotting time of blood. This occurs mainly through the formation of a complex of each component with the plasma proteins antithrombin III and heparin cofactor II to potentiate the inactivation of thrombin. Other coagulation proteases in the clotting sequence, such as activated factor X, are also inhibited. The potency of Heparin Sodium, calculated on the dried basis, is not less than 140 USP Heparin Units in each mg, and not less than 90.0 percent and not more than 110.0 percent of the potency stated on the label.

NOTE—The USP Heparin Unit is defined by the USP Heparin Sodium Reference Standard and can be independent of International Units. The respective units are not equivalent (see *General Notices*). The Unit for Anti-Factor X_a activity is defined by the USP Heparin Sodium Reference Standard and is equivalent in potency to that Standard.

Packaging and storage—Preserve in tight containers, and store below 40°, preferably at room temperature.

Labeling—Label it to indicate the tissue and the animal species from which it is derived.

Change to read:

USP Reference standards ⟨11⟩—*USP Endotoxin RS. USP Heparin Sodium RS. •USP Heparin Sodium System Suitability RS. USP Heparin Sodium Identification RS.*• (RB 2008-06-18)

Change to read:

Identification—

•A: It meets the requirements under the *Assay.*

B: *^{1}H NMR spectrum* (see *Nuclear Magnetic Resonance* ⟨761⟩)—

Standard solution—Prepare a solution of USP Heparin Sodium Identification RS at not less than 12 mg per mL in deuterium oxide.

System suitability solution—Prepare a solution of USP Heparin Sodium System Suitability RS at not less than 12 mg per mL in deuterium oxide.

Test solution—Prepare a solution containing not less than 12 mg of Heparin Sodium per mL in deuterium oxide.

Procedure—Using a pulsed (Fourier transform) NMR spectrometer operating at not less than 500 MHz for ^{1}H, acquire a free induction decay (FID). Record the ^{1}H NMR spectra of the *Standard solution* and the *System suitability solution* at 25°: the number of transients is adjusted until the signal-to-noise ratio of the *N*-acetyl heparin signal in the *Standard solution* is at least 200/1 in the region near 2 ppm. The *Standard solution* must be run at least daily when *Test solutions* are being run. For the *Standard solution,* the chemical shift corresponding to *N*-acetyl protons of heparin must be set at 2.04 ppm. The chemical shifts for heparin and over-sulfated chondroitin sulfate in the system suitability standard is observed at 2.04 ± 0.02 and

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

2.16 ± 0.03 ppm, respectively. Record the ^1H NMR spectrum of the *Test solution* at 25°. The *N*-acetyl protons of heparin must show a major signal at 2.04 ± 0.02 ppm. A signal, corresponding to *N*-acetyl protons of dermatan sulfate, may show near 2.08 ppm. Observation of a resonance at 2.16 ± 0.03 ppm would indicate the presence of over-sulfated chondroitin sulfate. Over-sulfated chondroitin sulfate has no other resonances between 2.12 and 3.00 ppm. (RB 2008-06-18)

C: For heparin sodium of porcine origin (see *Biotechnology-Derived Articles—Capillary Electrophoresis* ⟨1053⟩)—

Standard solution—Prepare a solution of USP Heparin Sodium Identification RS in water having a concentration of 2 mg per mL.

System suitability solution—Prepare a solution of USP Heparin Sodium System Suitability RS in water having a concentration of 2 mg per mL.

Test solution—Reconstitute an accurately weighed quantity of Heparin Sodium in water to obtain a solution that is 2 mg per mL. Filter the solution if necessary.

Capillary electrophoresis buffer—Transfer 1.0 g of monobasic sodium phosphate monohydrate to a beaker, and add 195 mL of water. Adjust with phosphoric acid to a pH of 3.5. Transfer the solution into a 200-mL volumetric flask, and dilute with water to volume. Filter the buffer with a 0.2-µm membrane filter. Degas the buffer before use if necessary.

Electrophoretic system—[NOTE—Based on instrument requirements, the field applied across the capillary and the conditions for the sample injection may be varied to achieve system suitability.] (RB 2008-06-18) The capillary electropherograph is equipped with a 200-nm detector and a 60- to 65-cm (50- to 56-cm effective length) uncoated fused silica capillary, with an internal diameter of 50 µm, with the temperature controlled at 25°. Apply a field strength of 465.1 V per cm for 15 minutes, using the *Capillary electrophoresis buffer* as the electrolyte in both buffer reservoirs. Electropherograph the USP Heparin Sodium System Suitability RS, using a 30-sec injection at 0.7 psi, and record the peak responses as directed for *Procedure:* the migration time for heparin sodium and over-sulfated chondroitin sulfate differs by not less than 4.0% of the heparin migration time, with over-sulfated chondroitin sulfate always migrating faster than heparin sodium. The baseline is stable. Rinse the capillary with 0.1 M phosphoric acid for at least 0.5 minutes at 40 psi, followed by water for at least 2 minutes at 40 psi, and then by the *Capillary electrophoresis buffer* for at least 2 minutes at 40 psi between injections.

Procedure—Electropherograph the *Standard solution* and the *Test solution* using a 30-sec injection at 0.7 psi into the anodic end of the capillary, and record the electropherograms. The electropherogram of the *System suitability solution* is comparable to a typical electropherogram provided with the USP Heparin Sodium System Suitability RS. The electropherogram of the *Test solution* is similar to that of the *Standard solution,* and does not exhibit a sharp distinguishable peak that is less than one minute in front of the main heparin peak.

D: (RB 2008-06-18) It meets the requirements of the flame test for *Sodium* ⟨191⟩.

Bacterial endotoxins ⟨85⟩—It contains not more than 0.03 USP Endotoxin Unit per USP Heparin Unit.

Sterility ⟨71⟩ (where it is labeled as sterile): meets the requirements.

pH ⟨791⟩: between 5.0 and 7.5, in a solution (1 in 100).

Loss on drying ⟨731⟩—Dry it in vacuum at 60° for 3 hours: it loses not more than 5.0% of its weight.

Residue on ignition ⟨281⟩: between 28.0% and 41.0%.

Protein—To 1 mL of a solution (1 in 100) add 5 drops of trichloroacetic acid solution (1 in 5): no precipitate or turbidity forms.

Heavy metals, *Method II* ⟨231⟩: 0.003%.

Anti-factor X_a activity—

pH 8.4 Buffer—Dissolve amounts of tris(hydroxymethyl)aminomethane, edetic acid, and sodium chloride in water containing 0.1% of polyethylene glycol 6000 to obtain a solution having

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

concentrations of 0.050 M, 0.0075 M, and 0.175 M, respectively. Adjust, if necessary, with hydrochloric acid or sodium hydroxide solution to a pH of 8.4.

Antithrombin III solution—Reconstitute an accurately weighed quantity of antithrombin III (see *Reagent Specifications* under *Reagents, Indicators, and Solutions*) in *pH 8.4 Buffer* to obtain a solution having a concentration of 1.0 Antithrombin III Unit per mL.

Factor X_a solution—Reconstitute an accurately weighed quantity of bovine factor X_a (see Factor X_a in *Reagent Specifications* under *Reagents, Indicators, and Solutions*) in *pH 8.4 Buffer* to obtain a solution that gives an absorbance value between 0.65 and 1.25 at 405 nm when assayed as described below but using 30 µL of *pH 8.4 Buffer* instead of 30 µL of the *Standard solutions* or the *Test solutions*.

NOTE—*Factor X_a solution* contains about 3 nanokatalytic units per mL, but can vary depending upon the manufacturer of factor X_a or the substrate used.

Chromogenic substrate solution—Prepare a solution of a suitable chromogenic substrate for amidolytic test (see *Reagent Specifications* under *Reagents, Indicators, and Solutions*) specific for factor X_a in water to obtain a concentration of about 1 mM.

Stopping solution—Prepare a 20% (v/v) solution of acetic acid in water.

Standard solutions—Dilute an accurately measured volume of USP Heparin Sodium RS with *pH 8.4 Buffer* to obtain at least 5 (out of 7 below) solutions having known activities of about 0.375, 0.3125, 0.25, 0.188, 0.125, 0.0625, and 0.0313 USP Heparin Unit per mL.

Test solutions—Dissolve or dilute an accurately measured quantity of Heparin Sodium in *pH 8.4 Buffer*, and dilute with the same buffer to obtain solutions having activities approximately equal to those of the *Standard solutions*.

Procedure—[NOTE—Perform the test with each *Standard solution* and *Test solution* in duplicate.] To each of a series of suitable plastic tubes placed in a water bath set at 37°, transfer 120 µL of *pH 8.4 Buffer*. Then separately transfer 30 µL of the different dilutions of the *Standard solutions* or the *Test solutions* to the tubes. Add 150 µL of *Antithrombin III solution*, prewarmed at 37° for 15 minutes, to each tube, mix, and incubate for 2 minutes. Add 300 µL of *Factor X_a solution*, prewarmed at 37° for 15 minutes, to each tube, mix, and incubate for 2 minutes. Add 300 µL of *Chromogenic substrate solution*, prewarmed at 37° for 15 minutes, to each tube, mix, and incubate for exactly 2 minutes. Add 150 µL of *Stopping solution* to each tube, and mix. Prepare a blank for zeroing the spectrophotometer by adding the reagents in reverse order, starting with the *Stopping solution* and ending with the addition of 150 µL of *pH 8.4 Buffer*, and excluding the *Standard solutions* or the *Test solutions*. Record the absorbance at 405 nm against the blank.

Calculations—Plot the log of the absorbance values of the *Standard solutions* and the *Test solutions* versus heparin concentrations in USP Units. Construct separate straight lines of best fit using least-squares linear regression analyses for the *Standard solutions* and the *Test solutions*, and determine the slope for each regression line. Calculate the potency of Heparin Sodium by the formula:

$$P(S_T / S_S)$$

in which P is the potency of USP Heparin Sodium RS; and S_T and S_S are the slopes of the lines from the *Test solutions* and the *Standard solutions*, respectively. Express the Anti-factor X_a potency of the *Test solution* as a percentage of the heparin concentration determined in the *Assay*. Calculate the percentage of anti-factor X_a activity against anticoagulant activity by the formula:

$$100(\text{anti-factor } X_a \text{ potency} / \text{anticoagulant potency})$$

Not less than 80% and not more than 120% is found.

Nitrogen content, *Method I* ⟨461⟩: between 1.3% and 2.5%, calculated on the dried basis, the

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

procedure for *Nitrates and Nitrates Absent* being used.

Assay—

Standard preparation—Determine by preliminary trial, if necessary, approximately the minimum quantity of USP Heparin Sodium RS which, when added in 0.8 mL of saline TS, maintains fluidity in 1 mL of prepared plasma for 1 hour after the addition of 0.2 mL of calcium chloride solution (1 in 100). This quantity is usually between 1 and 3 USP Heparin Units. On the day of the assay prepare a *Standard preparation* such that it contains, in each 0.8 mL of saline TS, the above-determined quantity of the Reference Standard.

Assay preparation—Dissolve about 25 mg of Heparin Sodium, accurately weighed, in sufficient saline TS to give a concentration of 1 mg per mL, and dilute quantitatively to a concentration estimated to correspond to that of the *Standard preparation.*

Preparation of plasma—Collect blood from sheep directly into a vessel containing 8% sodium citrate solution in the proportion of one volume to each 19 volumes of blood to be collected. Mix immediately by gentle agitation and inversion of the vessel. Promptly centrifuge the blood, and pool the separated plasma. To a 1-mL portion of the pooled plasma in a clean test tube add 0.2 mL of calcium chloride solution (1 in 100), and mix. Consider the plasma suitable for use if a solid clot forms within 5 minutes. To store plasma for future use, subdivide the pooled lot into portions not exceeding 100 mL in volume, and store in the frozen state, preventing even partial thawing prior to use. For use in the assay, thaw the frozen plasma in a water bath at a temperature not exceeding 37°. Remove particulate matter by straining the thawed plasma through a coarse filter.

Procedure—To meticulously clean 13-mm × 100-mm test tubes add graded amounts of the *Standard preparation,* selecting the amounts so that the largest does not exceed 0.8 mL and so that they correspond roughly to a geometric series in which each step is approximately 5% greater than the next lower. To each tube so prepared add sufficient saline TS to make the total volume 0.8 mL. Add 1.0 mL of prepared plasma to each tube. Then add 0.2 mL of calcium chloride solution (1 in 100), note the time, immediately insert a suitable stopper in each tube, and mix the contents by inverting three times in such a way that the entire inner surface of the tube is wet.

In the same manner set up a series using the *Assay preparation,* completing the entire process of preparing and mixing the tubes of both the *Standard preparation* and the *Assay preparation* within 20 minutes after the addition of the prepared plasma. One hour, accurately timed, after the addition of the calcium chloride, determine the extent of clotting in each tube, recognizing three grades (0.25, 0.50, and 0.75) between zero and full clotting (1.0). If the series does not contain 2 tubes graded more than 0.5 and 2 tubes graded less than 0.5, repeat the assay, using appropriately modified *Standard preparation* and *Assay preparation.*

Calculation—Convert to logarithms the volumes of *Standard preparation* used in the successive 5 or 6 tubes that bracket a grade of clotting of 0.5, including at least 2 tubes with a larger and 2 tubes with a smaller grade than 0.5. Number and list the tubes serially, and tabulate for each the grade of clotting observed in each tube. From the log-volumes, x, and separately from their corresponding grades of clotting, y, compute the paired averages x_i and y_i of Tubes 1, 2, and 3, of Tubes 2, 3, and 4, of Tubes 3, 4, and 5, and, where the series consists of 6 tubes, of Tubes 4, 5, and 6, respectively. If for one of these paired averages the average grade, y_i, is exactly 0.50, the corresponding x_i is the median log-volume of the *Standard preparation,* x_S. Otherwise, interpolate x_S from the paired values of y_i, x_i and y_{i+1}, x_{i+1} that fall immediately below and above grade 0.5 as

$$x_S = x_i + (y_i - 0.5)(x_{i+1} - x_i) / (y_i - y_{i+1})$$

From the paired data on the tubes of the *Assay preparation,* compute similarly its median log-volume x_U.

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

The log potency of the *Assay preparation* is

$$M = x_S - x_U + \log R$$

where $R = v_S / v_U$ is the ratio of the USP Heparin Units (v_S) per mL of the *Standard preparation* to the mg (v_U) of Heparin Sodium per mL of the *Assay preparation.*

Repeat the assay independently, and average the two or more values of M to obtain $\overline{M}$. If the second determination of M differs by more than 0.05 from the first determination, continue the assay until the log confidence interval computed as directed under *Confidence Intervals for Individual Assays* in *Design and Analysis of Biological Assays* ⟨111⟩ does not exceed 0.20. The potency of Heparin Sodium in USP Heparin Units per mg is $P^* = \text{antilog } \overline{M}$.

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

Heparin Calcium

Change to read:

» Heparin Calcium is the calcium salt of sulfated glycosaminoglycans present as a mixture of heterogeneous molecules of mixed mucopolysaccharide nature varying in molecular weights. It is present in mammalian tissues and is usually obtained from the intestinal mucosa or other suitable tissues of domestic mammals used for food by humans. •The sourcing of heparin material must be specified in compliance with applicable regulatory requirements. The manufacturing process must be validated to demonstrate clearance and inactivation of relevant infectious and adventitious agents (e.g., viruses, TSE agents). See *Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin* ⟨1050⟩ for general guidance on viral safety evaluation.• (RB 2008-06-18) It is purified to retain a combination of activities against different fractions of the blood clotting sequence. It is composed of polymers of alternating derivatives of •α-• (RB 2008-06-18) D-glucosamine (*N*-sulfated, *O*-sulfated, or *N*-acetylated) and uronic acid (•α-• (RB 2008-06-18) L-iduronic acid or •β-• (RB 2008-06-18) D-glucuronic acid) joined by glycosidic linkages. The component activities of the mixture are in ratios corresponding to those shown by the USP Heparin Sodium Reference Standard. Some of these components have the property of prolonging the clotting time of blood. This occurs through the formation of a complex of each component with the plasma proteins antithrombin III and heparin cofactor II to potentiate the inactivation of thrombin. Other coagulation proteases in the clotting sequence, such as activated factor X (factor X_a), are also inhibited. The potency of Heparin Calcium, calculated on the dried basis, is not less than 140 USP Heparin Units in each mg, and not less than 90.0 percent and not more than 110.0 percent of the potency stated on the label. Heparin Calcium is essentially free from sodium.

NOTE—The USP Heparin Unit is defined by the USP Heparin Sodium Reference Standard, independent of International Units. The respective units are not equivalent (see *General Notices*). Unit for Anti-factor X_a activity is defined by the USP Heparin Sodium Reference Standard.

Packaging and storage—Preserve in tight containers, and store at a temperature below 40°, preferably at room temperature.

Labeling—Label it to indicate the tissue and the animal species from which it is derived.

Change to read:

USP Reference standards ⟨11⟩—*USP Endotoxin RS. USP Heparin Sodium RS. •USP Heparin Sodium System Suitability RS. USP Heparin Sodium Identification RS.*• (RB 2008-06-18)

Change to read:

Identification—

•A: It meets the requirements under the *Assay.*

B: *^{1}H NMR spectrum* (see *Nuclear Magnetic Resonance* ⟨761⟩)—Proceed as directed in *Identification* test *B* under Heparin Sodium, substituting Heparin Calcium for Heparin Sodium.

C: It responds to the flame test for *Calcium* ⟨191⟩.• (RB 2008-06-18)

Bacterial endotoxins ⟨85⟩—It contains not more than 0.03 Endotoxin Unit per USP Heparin Unit.

Sterility ⟨71⟩ (where it is labeled as sterile)—It meets the requirements.

pH ⟨791⟩: between 5.0 and 7.5, in a solution (1 in 100).

Loss on drying ⟨731⟩—Dry it in vacuum at 60° for 3 hours: it loses not more than 5.0% of its weight.

Residue on ignition ⟨281⟩: between 28.0% and 41.0%.

Protein—To 1 mL of a solution (1 in 100) add 5 drops of trichloroacetic acid solution (1 in 5): no precipitate or turbidity forms.

Heavy metals, *Method II* ⟨231⟩: 0.003%.

Anti-factor X_a activity—Proceed as directed in the test for *Anti-factor X_a activity* under *Heparin Sodium*, except to use Heparin Calcium instead of Heparin Sodium to prepare the *Test solutions.* The specified results are obtained.

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

Nitrogen content, *Method I* ⟨461⟩: between 1.3% and 2.5%, calculated on the dried basis, the procedure for *Nitrates and Nitrites Absent* being used.

Assay—Proceed as directed in the *Assay* under *Heparin Sodium,* except to use Heparin Calcium solution to prepare the *Assay preparation.* In the equation for R in the *Calculation* section, v_U is the amount in mg of Heparin Calcium per mL of the *Assay preparation.* The potency of Heparin Calcium in USP Heparin Units per mg is $P^* = \text{antilog } \overline{M}$.

Copyright 2008 The United States Pharmacopeial Convention *All Rights Reserved.*

資料No. 2

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）等について

平成２０年７月１日
医薬食品局審査管理課

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）等について

１．日本薬局方新規収載候補品目（案）について

平成１９年５月から平成２０年５月までに製造販売企業から独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「機構」という。）に対して、新規収載の要望があった２２品目について、機構の日本薬局方原案審議委員会の総合委員会において、第十六改正日本薬局方作成基本方針（平成１８年７月薬事・食品衛生審議会答申）に基づき審議されたところ。その結果、すべての品目ついて収載することが適当とされた。

日本薬局方新規収載候補品目（案）

（平成２０年２月１８日付け報告分）

No.	品　　目	No.	品　　目
1	トレハロース水和物	2	モサプリドクエン酸塩散
3	ナテグリニド	4	ナテグリニド錠
5	アトルバスタチンカルシウム錠		

（平成２０年６月２３日付け報告分）

No.	品　　目	No.	品　　目
1	ピオグリタゾン塩酸塩錠	2	カンデサルタン　シレキセチル錠
3	ゾルピデム酒石酸塩錠	4	L-乳酸
5	L-乳酸ナトリウム液	6	コバマミド錠
7	コバマミドカプセル	8	コバマミド注射液
9	フェキソフェナジン塩酸塩	１０	フェキソフェナジン塩酸塩錠
１１	グリメピリド	１２	グリメピリド錠
１３	リセドロン酸ナトリウム水和物	１４	リセドロン酸ナトリウム水和物錠
１５	ドネペジル塩酸塩錠	１６	ドネペジル塩酸塩細粒
１７	リュウコツ末		

なお、本収載候補品目の名称は別途日本薬局方医薬品名称委員会にて審議するもの。

２．日本薬局方新規収載候補からの削除品目（案）について

日本薬局方新規収載候補品目とされたものの、その後承認整理等により市場に流通されていないため、新規収載候補品目から削除する。

日本薬局方新規収載候補からの削除品目（案）

No.	品　　目
1	注射用セフチゾキシムナトリウム

３．その他

第十六改正日本薬局方作成基本方針には、保健医療上重要な医薬品の全面的収載を掲げているところであり、医療上汎用性があると考えられる医薬品（特に後発医薬品が承認されている医薬品等）については、優先的に新規収載すべきものとして基本方針の中で明示されている。

これを踏まえ、できるだけ多くの医薬品について第二追補に収載すべく、当初の平成２１年３月告示予定を９月告示予定として、新規収載品目の充実を図ることとした。

（参考）

○保健医療上重要な医薬品の全面的収載

（第十六改正日本薬局方作成基本方針より）

収載方針：新規収載について（優先的に新規収載をすべき品目）

・優先審査がなされた画期的な医薬品
・代替薬が無い医薬品（希少疾病用医薬品等）
・米国薬局方（USP）や欧州薬局方（EP）に収載され、諸外国でも広く使用されている医薬品
・医療上汎用性があると考えられる医薬品（後発医薬品が承認されている医薬品等）
・再評価により有効性、安全性及び品質が確認された医薬品

薬機発第0218013号
平成２０年 ２月１８日

厚生労働省医薬食品局審査管理課長　殿

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構理事長代行

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）及び日本薬局方新規優先収載候補品目リストからの削除品目（案）の報告について

独立行政法人医薬品医療機器総合機構法第１５条第１項第５号ハの規定により、厚生労働省が制定する日本薬局方のための調査及び情報の整理等を行い、第十五改正日本薬局方第二追補以降の収載候補品目（案）及び日本薬局方収載候補品目リストからの削除品目（案）を作成したので別添のとおり報告します。

別添

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）及び日本薬局方新規優先収載候補品目リストからの削除品目（案）の作成に関する報告

第十五改正日本薬局方については平成１８年３月に告示され、第十五改正日本薬局方第一追補については平成１９年９月に告示されたところである。現在、第十五改正日本薬局方第二追補（平成２１年３月に告示予定）に向けた改正作業が進められているところである。

日本薬局方は５年ごとの大改正及び２回の追補改正を行うことにより、医学薬学の進歩に応じて速やかに内容を改定するべく対応している。すなわち、平成１８年８月に示された「第十六改正日本薬局方作成基本方針」には、日本薬局方の５本の柱の一つとして、「保健医療上重要な医薬品の全面的収載」が定められており、優先的に新規収載をすべき品目として、医療上汎用性があると考えられる医薬品等が掲げられている。

このような中、医薬品医療機器総合機構では、日本薬局方への収載要望に基づき、新規優先収載候補品目として選定されている原薬の製剤及び日本薬局方の優先収載品目のうち現状では上述の日本薬局方の方針によらない品目について、日本薬局方原案審議委員会の総合委員会において各委員の意見を聴したところである。今般、本審議結果に基づき、第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目及び日本薬局方新規優先収載候補品目リストからの削除品目として別紙のとおりのリスト案をとりまとめたので報告する。

（別紙）

第十五改正日本薬局方第二追補以降の収載候補品目(案)

No.	品　目
1	トレハロース水和物
2	モサプリドクエン酸塩散
3	ナテグリニド
4	ナテグリニド錠
5	アトルバスタチンカルシウム錠

日本薬局方収載候補品目リストからの削除品目(案)

No.	品目
1	注射用セフチゾキシムナトリウム

薬機発第0623011号
平成２０年 ６月２３日

厚生労働省医薬食品局審査管理課長　殿

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構理事長

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）の報告について

独立行政法人医薬品医療機器総合機構法第１５条第１項第５号ハの規定により、厚生労働省が制定する日本薬局方のための調査及び情報の整理等を行い、第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）を作成したので別添のとおり報告致します。

別添

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）の作成に関する報告

第十五改正日本薬局方については平成１８年３月に告示され、第十五改正日本薬局方第一追補については平成１９年９月に告示されたところである。現在、第十五改正日本薬局方第二追補（平成２１年９月に告示予定）に向けた改正作業が進められているところである。

日本薬局方は５年ごとの大改正及び２回の追補改正を行うことにより、医学薬学の進歩に応じて速やかに内容を改定するべく対応している。すなわち、平成１８年８月に示された「第十六改正日本薬局方作成基本方針」には、日本薬局方の５本の柱の一つとして、「保健医療上重要な医薬品の全面的収載」が定められており、優先的に新規収載をすべき品目として、医療上汎用性があると考えられる医薬品等が掲げられている。

このような中、医薬品医療機器総合機構では、日本薬局方への収載要望に基づき、日本薬局方原案審議委員会の総合委員会の各委員の意見を聴したところである。今般、本審議結果に基づき、第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目として別紙のとおりのリスト案をとりまとめたので報告する。

（別紙）

第十五改正日本薬局方第二追補以降の新規収載候補品目（案）

No.	候補品目
1	ピオグリタゾン塩酸塩錠
2	カンデサルタン　シレキセチル錠
3	ゾルピデム酒石酸塩錠
4	L-乳酸
5	L-乳酸ナトリウム液
6	コバマミド錠
7	コバマミドカプセル
8	コバマミド注射液
9	フェキソフェナジン塩酸塩
10	フェキソフェナジン塩酸塩錠
11	グリメピリド
12	グリメピリド錠
13	リセドロン酸ナトリウム水和物
14	リセドロン酸ナトリウム水和物錠
15	ドネペジル塩酸塩錠
16	ドネペジル塩酸塩細粒
（生薬等）	
17	リュウコツ末

なお、本収載候補品目の名称は別途日本薬局方医薬品名称委員会にて審議するものとする。