

肝素钙注射液

Gansugai Zhusheye

Heparin Calcium Injection

本品为肝素钙的无菌水溶液。其效价应为标示量的[■]90%~110%[■][修订]。

【性状】 本品为无色至淡黄色的澄明液体。

【鉴别】 [■](1) 取本品，照抗 Xa 因子效价测定法（附件一）及抗 IIa 因子效价测定法（附件二）测定，抗 Xa 因子效价和抗 IIa 因子效价比应为 0.9~1.1。[■][增订]

(2) [■]取本品适量，用水稀释制成每 1ml 中约含 1000 单位的溶液，照有关物质项下的方法测定，对照品溶液（3）色谱图中，硫酸皮肤素峰高与肝素和硫酸皮肤素峰之间谷高之比不得少于 1.3；供试品溶液色谱图中主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致，保留时间相对偏差不得过 5.0%。[■]

[修订]

(3) 本品显钙盐的鉴别反应（附录 III）。

【检查】 pH 值 应为[■]5.5~8.5[■][修订]（附录 VI H）。

有关物质 [■]取本品 0.5ml，加 1 mol/L 盐酸溶液 0.25ml 和 25%亚硝酸钠溶液 0.05ml，振摇混匀，反应 40 分钟，加 1mol/L 氢氧化钠溶液 0.2ml 终止反应，作为供试品溶液。照肝素钠项下的方法测定，供试品溶液色谱图中硫酸皮肤素的峰面积不得大于对照品溶液（5）中硫酸皮肤素的峰面积（0.2%,w/v）；除硫酸皮肤素峰外，不得出现其他色谱峰。[■][修订]

■分子量与分子量分布 取本品适量，用流动相稀释制成每 1ml 中含 1000IU 的溶液，作为供试品溶液，照肝素钠项下的方法测定。本品重均分子量应为 15000~19000，分子量大于 24000 的级分不得大于 20%，分子量 8000~16000 的级分与分子量 16000~24000 的级分比应不小于 1.0。[■][增订]

■细菌内毒素 照肝素钙项下的方法检查，应符合规定。[■][增订]

其他 应符合注射剂项下有关的各项规定（附录 I B）。

【效价测定】 [■]取本品，照肝素钙项下的方法测定。[■][修订]

【类别】 同肝素钙。

【规格】 (1) 1ml:5000 单位 (2) 1ml:7500 单位 (3) 1ml:10 000 单位 (4) 2ml:10 000 单位

【贮藏】 [■]密封保存。[■][修订]

附件一：

抗 X a 因子效价测定法

本法系体外通过抗凝血酶（ATIII）与肝素或低分子肝素标准品比较以测定供试品加速抑制 Xa 因子（FXa）的活性。

一、溶液配制

三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 取三羟甲基氨基甲烷 6.06 g, 氯化钠 10.23g, 乙二胺四醋酸二钠 2.8g, 聚乙二醇 6000 1.0g, 加水 800 ml 使溶解, 用盐酸调节 pH 值至 8.4, 加水稀释至 1000 ml。

标准品及供试品溶液的配制与稀释 取标准品 (S) 和供试品 (T) 各适量, 加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 分别稀释制成 4 个不同浓度的稀释液, 该浓度应在 log 剂量-反应的线性范围内, 一般为每 1 ml 中含 0.01 IU~0.1 IU。

抗凝血酶 (ATIII) 溶液 取抗凝血酶 (ATIII), 加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 制成每 1ml 中含抗凝血酶 1 IU 的溶液。

Xa 因子 (FXa) 溶液 取 Xa 因子 (?), 加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.4IU (7.1nkat) 的溶液, 调整浓度, 使其在以三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 代替肝素或低分子肝素作为空白溶液 (B₁、B₂) 的抗 Xa 因子实验中, 在 405nm 波长处的吸光度值在 0.8~1.0。

发色底物溶液 取发色底物 S-2765 (或其他 FXa 特异性发色底物), 加水制成 0.003 mol/L 的溶液, 临用前用水稀释至 1mmol/L。

二、测定法

取标准品溶液及供试品溶液, 按 B₁、S₁、S₂、S₃、S₄、T₁、T₂、T₃、T₄、T₁、T₂、T₃、T₄、S₁、S₂、S₃、S₄、B₂ 的顺序依次向小管中分别加入相同体积 V (20μl-50μl) 的空白 (B) 溶液、供试品 (T) 稀释液或标准品 (S) 稀释液, 再加入相同体积 V (20μl-50μl) 的抗凝血酶溶液, 混匀, 37℃平衡 2 分钟, 每管加 Xa 因子溶液 2V (40μl-100μl), 混匀, 37℃平衡 2 分钟, 加发色底物溶液 2V (40μl-100μl), 混匀, 37℃准确保温 2 分钟后, 各加 50%醋酸溶液 2V (40μl-100μl) 终止反应。用适宜设备在 405nm 的波长处测定各孔吸光度。B₁、B₂ 两孔的吸光度不得有显著性差异。以吸光度为纵坐标, 标准品溶液 (或供试品溶液) 浓度的对数值为横坐标分别作线性回归, 按生物检定统计法 (附录 XIV) 中的量反应平行线原理 4×4 法实验设计, 计算效价及实验误差。平均可信限率 (FL%) 不得大于 10%, 抗 Xa 因子效价应符合规定。

附件二：

抗 IIa 因子效价测定法

本法系体外通过抗凝血酶（ATIII）与肝素或低分子肝素标准品比较以测定供试品加速抑制 IIa 因子（FIIa）的活性。

一、溶液配制

三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液 (pH8.4) 取三羟甲基氨基甲烷 6.06 g，氯化钠 10.23 g，乙二胺四醋酸二钠 2.8g，聚乙二醇 6000 1.0g，加水 800 ml 使溶解，用盐酸调节 pH 值至 8.4，加水稀释至 1000 ml。

标准品及供试品溶液的配制与稀释 取标准品（S）和供试品（T）各适量，加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液（pH8.4）分别稀释制成 4 个不同浓度的稀释液，该浓度应在 log 剂量-反应的线性范围内，一般为每 1ml 中含 0.005IU~0.05IU。

抗凝血酶（ATIII）溶液 取抗凝血酶（ATIII），加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液（pH8.4）制成每 1ml 中含抗凝血酶 0.25IU 的溶液。

凝血酶（FIIa）溶液 取凝血酶（FIIa），加三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液（pH8.4）溶解并稀释成每 1ml 中约含 5 IU 的溶液，调整浓度，使其在以三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液（pH8.4）溶液代替肝素或低分子肝素作为空白溶液（B₁、B₂）的抗 IIa 因子实验中，在 405nm 波长处的吸光度值在 0.8~1.0。

发色底物溶液 取发色底物 S-2238（或其他 FIIa 特异性发色底物），加水制成 0.003mol/L 的溶液，临用前用水稀释至 0.625mmol/L。

二、测定法

取标准品溶液及供试品溶液，按 B₁、S₁、S₂、S₃、S₄、T₁、T₂、T₃、T₄、T₁、T₂、T₃、T₄、S₁、S₂、S₃、S₄、B₂ 的顺序依次向小管中分别加入相同体积 V（20μl-50μl）的空白（B）溶液、供试品（T）稀释液或标准品（S）稀释液，再加入相同体积的抗凝血酶溶液 V（20μl-50μl），混匀，37℃平衡 2 分钟。每管加凝血酶（FIIa）溶液 2V（40μl-100μl），混匀，37℃平衡 2 分钟，加发色底物溶液 2V（40μl-100μl），混匀，37℃准确保温 2 分钟后，各加 50%醋酸溶液 2V（40μl-100μl）终止反应。用适宜设备在 405 nm 的波长处测定各孔吸光度。B₁、B₂ 两孔的吸光度不得有显著性差异。以吸光度为纵坐标，标准品溶液（或供试品溶液）浓度的对数值为横坐标分别作线性回归，按生物检定统计法（附录 XIV）中的量反应平行线原理 4×4 法实验设计，计算效价及实验误差。平均可信限率（FL%）不得大于 10%，抗 IIa 因子效价应符合规定。