

附件：达肝素钠注射液公示稿

达肝素钠注射液

Dagansuna Zhusheye

Dalteparin Sodium Injection

本品为达肝素钠的无菌水溶液。其抗 Xa 因子效价应为标示量的 90%~110%。

【性状】 本品为无色至微黄色的澄明液体。

【鉴别】 (1) 取本品，照效价测定项下方法试验，抗 Xa 因子效价与抗 IIa 因子效价之比应为 1.9~3.2。

(2) 本品显钠盐鉴别 (1) 的反应 (中国药典 2020 年版四部通则 0301)。

【检查】 pH 值 应为 5.0~7.5 (中国药典 2020 年版四部通则 0631)。

溶液的澄清度与颜色 取本品适量，用水稀释并制成每 1ml 中约含 5000IU 的溶液，依法检查，溶液应澄清无色；如显色，与黄色 2 号标准比色液 (中国药典 2020 年版四部通则 0901 第一法) 比较，不得更深。

分子量与分子量分布 照分子排阻色谱法 (中国药典 2020 年版四部通则 0514) 测定。

供试品溶液 取本品适量，加流动相稀释制成每 1ml 中约含 1500IU 的溶液。

对照品溶液 取低分子肝素分子量对照品适量，加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 10mg 的溶液。

系统适用性溶液 取达肝素钠对照品适量，加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 10mg 的溶液。

色谱条件 以适合分离分子量为 15000~100000 蛋白的亲水性键合硅胶为填充剂；以 0.1mol/L 醋酸铵溶液为流动相；流速为每分钟 0.5ml；柱温 30℃；示差折光检测器。进样体积 25μl。

系统适用性要求 系统适用性溶液色谱图中，主峰与溶剂峰能够完全洗脱，重均分子量应在标示值的±200 范围内；对照品溶液色谱图中，准确计算低分子肝素峰的总面积 (不包括盐峰) 及每个点的累积峰面积百分比，确定与低分子肝素分子量对照品附带的宽分布标样表中累积峰面积百分比最接近点的保留时间及对应的分子量，以保留时间为横坐标，分子量的对数值为纵坐标，使用 GPC 软件，拟合三次方程，建立校正曲线，相关系数应不小于 0.990。

测定法 取供试品溶液与对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。按下式计算本品的重均分子量：

$$M_w = \frac{\sum(RI_i M_i)}{\sum RI_i}$$

式中 RI_i 为洗脱的 i 级分的物质质量，即示差色谱图的峰高；

M_i 由校正曲线计算得出的 i 级分的分子量。

限度 重均分子量应为 5600~6400，分子量小于 3000 的级分不得过总量的 13.0%，分

子量大于 8000 的级分应为总量的 15.0%~25.0%。

游离硫酸盐 照离子色谱法（中国药典 2020 年版四部通则 0513）测定。

供试品溶液 精密量取本品适量，用流动相定量稀释制成每 1ml 中约含 100 IU 的溶液。

对照品溶液 精密量取硫酸根标准液（100 μ g/ml）适量，用流动相定量稀释制成每 1ml 中分别约含硫酸根 0.1 μ g、0.5 μ g、1 μ g、2 μ g、5 μ g、10 μ g 和 20 μ g 的系列浓度溶液。

系统适用性溶液 取草酸钠适量，加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 50 μ g 的溶液，取 1ml 与每 1ml 中含硫酸根 10 μ g 的对照品溶液 3ml，置同一 10ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

色谱条件 以烷醇季铵的乙基乙烯基苯—二乙烯基苯树脂为填充剂（如 AS11 阴离子交换柱，4mm \times 250mm，或效能相当的色谱柱），连接与分析柱填料相同的保护柱（4mm \times 50mm）；以 3.0mmol/L 碳酸钠溶液为流动相；流速为每分钟 2.0ml；采用配备有阴离子自动再生抑制器或适宜的化学抑制器的电导检测器；进样体积 25 μ l。

系统适用性要求 系统适用性溶液色谱图中，硫酸根峰与草酸根峰的分离度应不小于 1.0；以对照品溶液的浓度与相应对照品溶液色谱图中的峰面积计算线性回归方程，相关系数（ r ）应不小于 0.995。

测定法 精密量取供试品溶液与系列对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，用线性回归方程计算供试品中含硫酸根离子（ SO_4^{2-} ）的量。

限度 本品每 1ml 中含硫酸根离子（ SO_4^{2-} ）的量，不得过 1.2mg。

装量 取供试品 1 支，用于清洗注射器及针头（选用的注射器体积应不大于供试品标示装量 2 倍）；另取供试品 5 支，分别用注射器将内容物尽量抽尽，再缓慢注入干燥的已称重的适宜容器中（若为预灌装注射器，取 5 支，将内容物分别注入干燥的已称重的适宜容器中），精密称定内容物重量。在相同温度下测定内容物的相对密度，计算本品每支的装量，均不得少于标示装量。

无菌 取本品，依法检查（中国药典 2020 年版四部通则 1101 薄膜过滤法），以金黄色葡萄球菌为阳性对照菌，应符合规定。

细菌内毒素 取本品，依法检查（中国药典 2020 年版四部通则 1143），以抗 Xa 因子效价计算，每 1 IU 中含内毒素的量应小于 0.010EU。

其他 应符合注射剂项下有关的各项规定（中国药典 2020 年版四部通则 0102）

【效价测定】 照生物检定统计法（中国药典 2020 年版四部通则 1431）中的量反应平行线测定法，采用 4 \times 4 法进行实验设计与统计计算。

抗 Xa 因子效价 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，摇匀。

标准品溶液（S） 取低分子肝素标准品，复溶后，再用上述缓冲液（pH8.4）分别定量稀释制成 4 种浓度的溶液。溶液的浓度应在 log 剂量-反应的线性范围内，一般为每 1 ml 中约含 0.01~0.1 IU。

供试品溶液（T） 取本品 5 支，混匀，用上述缓冲液（pH8.4）分别稀释制成与 4 种标准品溶液浓度相当的溶液。

抗凝血酶溶液 取抗凝血酶适量，加上上述缓冲液（pH8.4）制成每 1ml 中约含抗凝血酶

1 IU 的溶液。

Xa 因子溶液 取 Xa 因子适量，加上上述缓冲液（pH8.4）溶解并稀释制成每 1ml 中约含 0.4IU（7.1 μ kat）的溶液，必要时可调整其浓度，使按下述测定法测定时，空白管（B₁、B₂）在 405nm 波长处的吸光度值在 0.6~1.0 范围内。

发色底物溶液 取发色底物 S-2765，加水溶解并稀释制成浓度为 3mmol/L 的溶液，临用前用水稀释至 1mmol/L。

测定法 取不同浓度的标准品溶液（S）或供试品溶液（T）及上述缓冲液（B），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精密加入 20~50 μ l 相同体积（V）的上述溶液，再向每管精密加入相同体积的抗凝血酶溶液，混匀，37℃平衡 2 分钟，然后再精密加入 Xa 因子溶液 40~100 μ l（2V），混匀，37℃平衡 2 分钟，再精密加入发色底物溶液适量（2V），混匀，37℃准确保温 2 分钟后，各精密加入 50%醋酸溶液适量（2V）终止反应。用适宜设备在 405nm 的波长处测定各管的吸光度。空白缓冲液 B₁、B₂ 两管的吸光度相差不超过 0.05。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，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 三羟甲基氨基甲烷-聚乙二醇 6000 缓冲液（pH8.4）照抗 Xa 因子效价项下的方法制备。

标准品溶液（S） 取低分子肝素标准品，复溶后，再用上述缓冲液（pH8.4）分别定量稀释制成 4 种浓度的溶液。溶液的浓度应在 log 剂量-反应的线性范围内，溶液的浓度一般为每 1ml 中约含 0.005~0.05 IU。

供试品溶液（T） 取本品 5 支，混匀，用上述缓冲液（pH8.4）分别稀释制成与 4 种标准品溶液浓度相当的溶液。

抗凝血酶溶液 照抗 Xa 因子效价项下的方法制备，溶液的浓度为每 1ml 中约含抗凝血酶 0.25IU。

凝血酶溶液 取凝血酶适量，加上上述缓冲液（pH8.4）溶解并稀释成每 1ml 中约含 5 IU 的溶液，必要时可调整其浓度，使按下述测定法测定时，空白（B₁、B₂）在 405nm 波长处的吸光度值在 0.6~1.0 范围内。

发色底物溶液 取发色底物 S-2238，加水溶解并稀释制成浓度为 3mmol/L 的溶液，临用前用水稀释至 0.625mmol/L。

测定法 取不同浓度的标准品溶液（S）或供试品溶液（T）及上述缓冲液（B），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精密加入 20~50 μ l 相同体积（V）的上述溶液，再向每管中精密加入相同体积的抗凝血酶溶液，混匀，37℃平衡 2 分钟，然后再精密加入凝血酶溶液 40~100 μ l（2V），混匀，37℃平衡 2 分钟，再精密加入发色底物溶液（2V），混匀，37℃准确保温 2 分钟后，各精密加入的 50%醋酸溶液（2V）终止反应。用适宜设备在 405nm 的波长处测定各管吸光度。空白缓冲液 B₁、B₂ 两管的吸光度相差不超过 0.05。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，计算效价及实验误差。平均可信限率（FL%）不得大于 10%。

【类别】 同达肝素钠。

【规格】 (1)0.2ml: 2500 AXaIU (2)0.2ml:5000 AXaIU (3)0.3ml:7500 AXaIU

【贮藏】 密闭保存。

起草单位：中国食品药品检定研究院

复核单位：广东省药品检验所

浙江省食品药品检验研究院

江苏省食品药品监督检验研究院

北京市药品检验研究院

中国医学科学院药物研究所

武汉工程大学