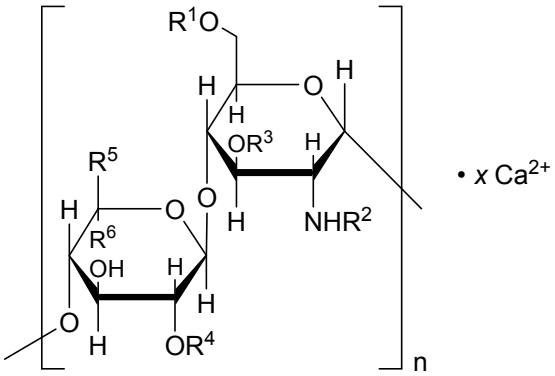
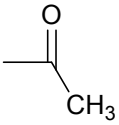
ヘパリンカルシウム

Heparin Calcium



$R^1, R^3, R^4 = SO_3^-$ or H

$R^2 = SO_3^-$ or 

$R^5 = CO_2^-$, $R^6 = H$

or

$R^5 = H$, $R^6 = CO_2^-$

［*37270-89-6*］

本品は，健康な食用ブタの腸粘膜から得たD−グルコサミン及びウロン酸（L-イズロン酸又はD−グルクロン酸）の二糖単位からなる硫酸化グリコサミノグリカンのカルシウム塩である．本品は，血液の凝固を遅延する作用を有する．本品は，1 mg 中 150 ヘパリン単位以上を含む．

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．

性 状 本品は白色～帯灰褐色の粉末又は粒である．

本品は水に溶けやすく，エタノール（99.5）にほとんど溶けない．

本品は吸湿性である．

確認試験

（**1**） 本品 10 mg を水 5 mL に溶かした液に 1 mol/L 塩酸試液 0.1 mL 及びトルイジンブルーO 溶液（1 → 20000）5 mL を加えるとき，液は紫色～赤紫色を呈する．

（**2**） 本品 50 mg を水 5 mL に溶かした液は，カルシウム塩の定性反応〈*1.09*〉を呈する．

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，液は澄明である．この液につき，紫外可視吸光度測定法〈*2.24*〉により試験を行うとき，波長 400 nm における吸光度は 0.05 以下である．

（**2**） 塩化物〈*1.03*〉 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）．

（**3**） 重金属〈*1.07*〉 本品 0.5 g をとり，第 2 法により操作し，試験を行う．比較液には鉛標準液 1.5 mL を加える（30 ppm 以下）．

（**4**）バリウム　本品 30 mg 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．

（**5**）総窒素　本品を乾燥し，その約 0.1 g を精密に量り，窒素定量法〈*1.08*〉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．

（**6**）たん白質　（**4**）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*〉 8%以下（50 mg，減圧，60℃，3 時間）．

~~**強熱残分**〈*2.44*〉 42%以下（乾燥後，50 mg）．~~

エンドトキシン〈*4.01*〉 0.0030 EU/ヘパリン単位未満~~（ゲル化法）~~．

定 量 法

（**1**） ヘパリン

（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）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．

（ⅲ） 緩衝液　2-アミノ-2-ヒドロキメチル-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 pH8.4 に調整した後，水を加えて 1000 mL とする．

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

（ｖ）ヘパリン標準溶液　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 単位を含むように調製した液 100 μL に緩衝液を加えて正確に 5 mL とし，標準原液とする．次の表に従い，標準原液にアンチトロンビンⅢ試液，ヒト正常血漿及び緩衝液を加え，ヘパリン標準溶液 (1)，ヘパリン標準溶液 (2)，ヘパリン標準溶液 (3)，ヘパリン標準溶液 (4) 及びヘパリン標準溶液 (5)を調製する．

ヘパリン標準溶液		緩衝液 (μL)	アンチトロンビンⅢ試液 (μL)	ヒト正常血漿 (μL)	標準原液 (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

（ⅵ）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試液 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．

（ⅶ）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．この液につき，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，紫外可視吸光度測定法〈*2.24*〉により波長 405 nm における吸光度を測定する．ヘパリン標準溶液 (1)，ヘパリン標準溶液 (2)，ヘパリン標準溶液 (3)，ヘパリン標準溶液 (4) 及びヘパリン標準溶液 (5)を試料溶液と同様に操作して，紫外可視吸光度測定法〈*2.24*〉により波長 405 nm における吸光度を測定する．

（ⅷ）計算法　縦軸に吸光度を，横軸にヘパリン標準溶液のヘパリン濃度をとり，各ヘパリン標準溶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）

（**2**） カルシウム　本品約 50 mg を精密に量り，水 20 mL に溶かし，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水素二ナトリウム液で滴定〈*2.50*〉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水素二ナトリウム液 1 mL ＝ 0.4008 mg Ca

貯 法 容　　器　気密容器.