МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Эноксапарин натрия** |  | **ФС** |
| **Эноксапарин натрия** |  |  |
| **Enoxaparinum natricum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Эноксапарин натрия представляет собой натриевую соль деполимеризованного гепарина, полученную путём щелочного гидролиза бензилового эфира гепарина. Исходный материал, гепарин, получают исключительно из мукозы кишечника свиней. Сырьё для производства поступает из хозяйств от животных, у которых отсутствуют заболевания вирусной, бактериальной, микоплазменной, прионной этиологии, патогенных для человека.

Большинство компонентов имеют остаток 2-*O*-сульфопираноз-4-енуроновой кислоты на невосстанавливающем конце и 2-*N*-сульфо-D-глюкозамина на восстанавливающем конце гликозидной цепи, от 15 до 25 % звеньев на восстанавливающем конце – 1,6-ангидро-2-*N*-сульфо-D-глюкозамин; среднемассовая молекулярная масса – около 4500 (в диапазоне от 3800 до 5000); степень сульфатирования составляет около 2 на дисахаридную единицу.



|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| R | n | содержание, % |
|  | 0–20 | 15–25 |
|  | 1–21 | 75–85 |

Анти-Ха активность должна быть не менее 90 МЕ/мг и не более 125 МЕ/мг в пересчёте на сухое вещество. Анти-IIa активность должна быть не менее 20,0 МЕ/мг и не более 35,0 МЕ/мг в пересчёте на сухое вещество. Отношение анти-Ха активности к анти-IIa активности должно быть не менее 3,3 и не более 5,3.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или почти белый порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Очень легко или легко растворим в воде, практически нерастворим в этаноле.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. Активность.* Должна соответствовать требованиям раздела «Количественное определение».

*2. Активность.* Отношение анти-Ха активности к анти-IIa активности должно быть не менее 3,3 и не более 5,3 (раздел «Количественное определение»).

*3. 1,6-Ангидропроизводное.* Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза А (ПФА)*. Растворяют 0,28 г натрия дигидрофосфата в 950 мл воды и доводят значение рН фосфорной кислотой концентрированной раствором до 3,0, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ)*. Растворяют 140 г натрия хлората в 950 мл ПФА и доводят значение pH фосфорной кислотой концентрированной раствором до 3,0, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора ПФА до метки.

*Раствор натрия тетрагидробората.* Растворяют 12 мг натрия тетрагидробората в 0,4 мл воды с помощью встряхивателя.

*Раствор гепариназы (А)*. Готовят раствор гепариназы I в фосфатном буферном растворе pH 7,0 с концентрацией 0,4 МЕ/мл. Раствор хранят до использования при −20 °С.

*Раствор гепариназы (Б)*. Готовят раствор гепариназы II в фосфатно-альбуминовом буферном растворе pH 7,0 с концентрацией 0,4 МЕ/мл. Раствор хранят до использования при −20 °С.

*Раствор гепариназы (В)*. Готовят раствор гепариназы III в фосфатно-альбуминовом буферном растворе pH 7,0 с концентрацией 0,4 МЕ/мл. Раствор хранят до использования при −20 °С.

*Раствор гепариназы (Г).* Смешивают равные объёмы растворов гепариназы А, Б и В.

*Контрольный раствор.* Помещают в пробирку 20 мкл воды, 70 мкл ацетатно-альбуминового буферного раствора рН 7,0, 100 мкл раствора гепариназы (Г) и осторожно перемешивают полученную смесь посредством многократного переворачивания пробирки. Выдерживают на водяной бане при 25 °С в течение 48 ч. Смешивают 60 мкл полученного раствора и 10 мкл свежеприготовленного раствора натрия тетрагидробората. Полученный раствор выдерживают при комнатной температуре в течение 4 ч.

*Испытуемый раствор А.* Растворяют 20 мг субстанции в 1,0 мл воды.

*Испытуемый раствор Б.* К 20 мкл испытуемого раствора А прибавляют 70 мкл ацетатно-альбуминового буферного раствора рН 7,0 и 100 мкл раствора гепариназы (Г). Осторожно перемешивают переворачиванием и выдерживают в водяной бане при 25 °С в течение 48 ч.

*Испытуемый раствор В.* К 60 мкл испытуемого раствора Б прибавляют 10 мкл свежеприготовленного раствора натрия тетрагидробората. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 4 ч.

*Раствор стандартного образца эноксапарина натрия.* Растворяют 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эноксапарина натрия в 1,0 мл воды.

*Стандартный раствор А.* К 20 мкл раствора стандартного образца эноксапарина натрия прибавляют 70 мкл ацетатно-альбуминового буферного раствора рН 7,0 и 100 мкл раствора гепариназы (Г). Осторожно перемешивают переворачиванием и выдерживают в водяной бане при 25 °С в течение 48 ч.

*Стандартный раствор Б.* К 60 мкл стандартного раствора А прибавляют 10 мкл раствора натрия тетрагидробората. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 4 ч.

Примечание

Срок годности растворов гепариназы А, Б и В – 3 месяца при −20 °С. Испытуемые растворы А и Б, раствор стандартного образца эноксапарина натрия и стандартный раствор А должны готовиться одновременно. Деполимеризованные испытуемые растворы стабильны 1 месяц при −20 °С. Испытуемый раствор В и стандартный раствор Б должны готовиться одновременно.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 10 × 4,6 мм, анионообменная смола сильноосновная для хроматографии (1), 5 мкм;  |
| Температура колонки | 50 °С; |
| Скорость потока | 0,8 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 234 нм; |
| Объём пробы | 18 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–20 | 97 → 65 | 3 → 35 |
| 20–50 | 65 → 0 | 35 → 100 |
| 50–60 | 0 | 100 |

Хроматографируют контрольный раствор, испытуемый раствор В и стандартные растворы А и Б.

*Относительное время удерживания соединений и молекулярная масса*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Соединение** | **Относительное время удерживания** | **Молекулярная масса** |
| Неидентифицированное | <0,20 | 741 |
| Восстановленное △IVA | 0,20 | 401 |
| Неидентифицированное | 0,20–0,46 | 741 |
| Восстановленное △IVA | 0,46 | 461 |
| Неидентифицированное | 0,46–0,48 | 483 |
| Восстановленное △IVA | 0,48 | 503 |
| Неидентифицированное | 0,48–0,52 | 503 |
| 1,6-ангидро △IIS | 0,52 | 443 |
| Неидентифицированное | 0,52–0,57 | 503 |
| Восстановленное △IIIA | 0,57 | 503 |
| Неидентифицированное | 0,57–0,66 | 533 |
| Восстановленное △IIS | 0,66 | 563 |
| Неидентифицированное | 0,66–0,76 | 563 |
| Восстановленное △IIIS | 0,76 | 563 |
| Неидентифицированное | 0,76–0,85 | 583 |
| Восстановленное △IA | 0,85 | 605 |
| 1,6-ангидро △IS | 0,88 | 545 |
| Неидентифицированное | 0,88–0,97 | 635 |
| Восстановленное △IIA-IVSglu | 0,97 | 1066 |
| Восстановленное △IS | 1 (около 30 мин) | 665 |
| △IS | 1,04 | 665 |
| Неидентифицированное | 1,04–1,10 | 1228 |
| Восстановленное △IIA-IISglu | 1,10 | 1168 |
| Неидентифицированное | 1,10–1,28 | 1228 |
| 1,6-ангидро △IS-IS | 1,28 | 1210 |
| Неидентифицированное | >1,28 | 1228 |

Примечание

В зависимости от разрешения колонки, 1,6-ангидро △IIS может элюироваться в виде 2 пиков (формы манозамина и глюкозамина), которые учитываются вместе как 1,6-ангидро △IIS.

*Идентификация дисахаридов*. Для идентификации пиков дисахаридов используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму стандартного раствора Б и хроматограмму, прилагаемую к стандартному образцу эноксапарина натрия. Для идентификации пиков 1,6-ангидро-производных используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму стандартного раствора А.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме стандартного раствора А отношение площадей пиков 1,6-ангидро △IS-IS и 1,6-ангидро △IS должно быть не более 1,15.

На хроматограмме стандартного раствора Б:

- *отношение площадей пиков* △IS и восстановленного △IS должно быть не более 0,02;

- *разрешение (RS)* между пиками восстановленного △IA и 1,6-ангидро △IS должно быть не менее 1,5.

Содержание 1,6-ангидро-производных в фармакопейном стандартном образце эноксапарина натрия не должно отклоняться от заявленного более чем на 1,5 %.

Содержание каждого из 3 основных 1,6-ангидро-производных в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{M\_{W}∙(A\_{1}+A\_{2}+A\_{3})∙100}{\sum\_{}^{}(M\_{W}\_{X}∙A\_{X})} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$M\_{W}$$ | – | среднемассовая молекулярная масса эноксапарина (по результатам подраздела 4 раздела «Идентификация»); |
|  | $$M\_{W}\_{X}$$ | – | относительная молекулярная масса производного *x*;  |
|  | $$A\_{X}$$ | – | площадь пика производного *x*; |
|  | $$A\_{1}$$ | – | площадь пика 1,6-ангидро △IS; |
|  | $$A\_{2}$$ | – | площадь пика 1,6-ангидро △IIS; |
|  | $$A\_{3}$$ | – | площадь пика 1,6-ангидро △IS-IS. |

Не учитывают пики, присутствующие на хроматограмме контрольного раствора.

Округляют значение до ближайшей целой единицы.

*Допустимое содержание*: От 15 % до 25 % для компонентов, обладающих 1,6-ангидро-структурой на восстанавливающем конце цепи.

*4. Среднемассовая* *молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение.* Значение должно быть в диапазоне от 3800 до 5000. Содержание фракции со среднемассовой молекулярной массой менее 2000 должно быть в диапазоне от 12,0 % до 20,0 %. Содержание фракции со среднемассовой молекулярной массой от 2000 до 8000 должно быть от 68,0 % до 82,0 %. Содержание фракции со среднемассовой молекулярной массой более 8000 должно быть не более 18,0 %. Определение проводят одним из следующих методов.

***Метод 1.*** Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии (ОФС «Эксклюзионная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза  (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 2000 мл помещают 68,9 г лития нитрата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца эноксапарина натрия.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,1 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эноксапарина натрия, растворяют в ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Калибровочный раствор А.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца эноксапарина натрия для калибровки молекулярных масс (содержит компоненты с молекулярной массой в пике 1400, 2250, 5200 и 11 000) растворяют в 1,0 мл ПФ.

*Калибровочный раствор Б.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца эноксапарина натрия для калибровки молекулярных масс (содержит компоненты с молекулярной массой в пике 1800, 3350 и 7750) растворяют в 1,0 мл ПФ.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 40 × 6 мм, силикагель для эксклюзионной хроматографии (1), 5 мкм, пригодный для разделения белков с молекулярной массой от 15 000 до 100 000; |
| Колонка | две последовательно соединённые колонки 300 × 7,8 мм, силикагель для эксклюзионной хроматографии (1), 5 мкм, пригодный для разделения белков с молекулярной массой от 15 000 до 100 000; |
| Температура колонки | 20 °С; |
| Скорость потока | 0,6 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 45 мин. |

Хроматографируют калибровочный раствор А, калибровочный раствор Б, раствор стандартного образца эноксапарина натрия и испытуемый раствор.

Строят калибровочный график зависимости времени удерживания от молекулярных масс калибровочного раствора А и калибровочного раствора Б. Для построения калибровочного графика используют полиномиальную зависимость третьего порядка.

На хроматограммах раствора стандартного образца эноксапарина натрия и испытуемого раствора рассчитывают общую площадь всех пиков, не учитывая пики солей и растворителя. Определяют значение средней молекулярной массы с точностью до 50.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца эноксапарина натрия значение средней молекулярной массы не должно отличаться от заявленного значения более чем на 150.

По хроматограмме испытуемого раствора определяют содержание фракции с молекулярной массой менее 2000, процентное содержание эноксапарина натрия с молекулярной массой от 2000 до 8000 и свыше 8000.

***Метод 2.*** Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии (ОФС «Эксклюзионная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Аммония ацетата раствор 0,1 М.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 20 мг субстанции в 2 мл ПФ.

*Калибровочный раствор.* Растворяют 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца для калибровки молекулярных масс низкомолекулярного гепарина (600–18 000) в 2 мл ПФ.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 × 7,8 мм, силикагель для эксклюзионной хроматографии (1), 5 мкм, пригодный для разделения белков с молекулярной массой от 15 000 до 100 000; |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 0,5 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический; |
| Объём пробы | 25 мкл. |

Хроматографируют калибровочный раствор.

Рассчитывают общую площадь под кривой хроматограммы путём численного интегрирования по интересующему диапазону, исключая пики соли и растворителя в конце хроматограммы, а также пик со временем удерживания натрия сульфата.

Рассчитывают площадь под кривой до каждой точки в процентах от общей площади.

Используя таблицу, прилагаемую к стандартному образцу для калибровки молекулярных масс низкомолекулярного гепарина, определяют те точки хроматограммы, для которых процент от общей площади под кривой наиболее близок к проценту, приведённому в таблице, и присваивают указанную в ней молекулярную массу соответствующему времени удерживания на хроматограмме. Калибровочная кривая для хроматографической системы строится путём подбора подходящей математической зависимости к набору значений времени удерживания и логарифмов молекулярных масс. Рекомендуется использовать полином 3-й степени.

Хроматографируют испытуемый раствор и интегрируют полученную хроматограмму аналогично калибровочному раствору.

Вычисляют среднюю молекулярную массу ($\overbar{M}$) по формуле:

$$\overbar{M}= \frac{\sum\_{}^{}(R\_{i}∙M\_{i})}{\sum\_{}^{}R\_{i}} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$R\_{i}$$ | – | сигнал детектора для фракции *i*; |
|  | $$M\_{i}$$ | – | относительная молекулярная масса, соответствующая фракции *i*. |

*5. 13C-ЯМР-спектроскопия* (ОФС «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»).

*Испытуемый раствор*. Растворяют 0,2 г субстанции в смеси 0,2 мл дейтерия оксида и 0,8 мл воды и прибавляют 0,05 мл дейтерированного метанола.

*Раствор стандартного образца эноксапарина натрия.* Растворяют 0,2 г (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эноксапарина натрия в смеси 0,2 мл дейтерия оксида и 0,8 мл воды и прибавляют 0,05 мл дейтерированного метанола.

*Оборудование.* Импульсный ЯМР-спектрометр с рабочей частотой не менее 75 МГц для 13C.

*Параметры регистрации 13C ЯМР спектров*

|  |  |
| --- | --- |
| Угол поворота намагниченности | не менее 30°; |
| Время выборки данных | не менее 1,3 с; |
| Число точек преобразования Фурье | 128 К; |
| Количество накоплений сигнала спада свободной индукции | не менее 5000; |
| Ширина спектра | 250 м.д.; |
| Время задержки между импульсными последовательностями | не менее 1 с; |
| Температура  | 25–40 °С; |
| Химический сдвиг сигнала дейтерированного метанола | 50 м.д. |

*Анализ 13C-ЯМР-спектров.* Спектр испытуемого раствора должен соответствовать спектру раствора стандартного образца эноксапарина натрия.

ИСПЫТАНИЯ

**Удельный показатель поглощения.** От 14,0 до 20,0 (в максимуме поглощения) при длине волны 231 нм в пересчёте на сухое вещество (0,05 % раствор субстанции в хлористоводородной кислоте 0,01 М, ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Прозрачность раствора. Раствор 1,0 г субстанции в 10 мл воды, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, приготовленный в испытании «Прозрачность раствора» должен выдерживать сравнение с эталоном 6 подходящего цвета (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**рН раствора.** От 6,2 до 7,7 (раствор, приготовленный в испытании «Прозрачность раствора», ОФС «Ионометрия», метод 3).

**Бензиловый спирт.** Не более 0,1 %. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза  (ПФ).* Метанол—ацетонитрил—вода 50:150:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,5 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 5,0 мл натрия гидроксида 1 М и выдерживают при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавляют 1,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объём раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца бензилового спирта.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образцабензилового спирта, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 25 °С; |
| Скорость потока | 1 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 256 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца бензилового спирта и испытуемый раствор.

Содержание бензилового спирта в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙10∙5∙P}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙10} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика бензилового спирта на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика бензилового спирта на хроматограмме раствора стандартного образца бензилового спирта; |
|  | $$a\_{1}$$ | – | навеска субстанции, мг; |
|  | $$a\_{0}$$ | – | навеска стандартного образца бензилового спирта, мг; |
|  | $$P$$ | – | содержание бензилового спирта в стандартном образце бензилового спирта, %. |

**Азот.** От 1,5 до 2,5 % в пересчёте на сухое вещество (ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля»). Для определения используют 0,1 г (точная навеска) субстанции.

**Натрий.** От 11,3 до 13,5 % в пересчёте на сухое вещество (ОФС «Атомно-абсорбционная спектроскопия»).

*Раствор цезия хлорида.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,27 г цезия хлорида, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Испытуемый раствор.* Помещают 50 мг (точная навеска) субстанции в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворе цезия хлорида и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Стандартные растворы натрия 25 мкг/мл, 50 мкг/мл и 75 мкг/мл.* В три мерные колбы вместимостью 100 мл помещают 1,25 мл, 2,5 мл и 3,75 мл раствора натрия 2000 мкг/мл (ОФС «Атомно-абсорбционная спектроскопия») и доводят объём раствора раствором цезия хлорида до метки.

Измеряют поглощение испытуемого и стандартных растворов при длине волны 330,3 нм с использованием натриевой лампы с полымкатодом. Для пламенного метода атомизации рекомендуются следующие условия: расход воздуха – 10 л/мин, расход ацетилена – 2,5 л/мин.

**Молярное отношение сульфатных и карбоксилатных групп.** Не менее 1,8. Определение проводят методом ионообменной хроматографии (ОФС «Ионообменная хроматография»).

*Подвижная фаза.* Вода, свободная от углерода диоксида.

*Испытуемый раствор.* Помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в ПФ и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 100 × 10 мм, катионообменная смола. |

Испытуемый раствор охлаждают до 4 °С и переносят 2,0 мл в предварительно охлаждённую колонку. Промывают колонку ПФ, собирая около 10–15 мл элюата в колбу для титрования, и перемешивают на магнитной мешалке. После достижения постоянного значения электропроводности записывают его и титруют 0,05 М раствором натрия гидроксида, добавляя его порциями по 50 мкл. Через несколько секунд после каждого добавления титранта записывают значение электропроводности и прибавляемого объёма титранта.

*Расчёты.* По полученным результатам (метод 1 или метод 2) строят кривую зависимости значений электропроводности (ось ординат) от объёма титранта (ось абсцисс). Кривая имеет три линейных участка – начальный наклон, средний небольшой подъём и окончательный подъём. Для каждого из этих участков строят прямые линейной зависимости, используя линейный регрессионный анализ. В точках, где пересекаются первый и второй линейные участки и где пересекаются второй и третий линейные участки проводят перпендикуляры к оси абсцисс. Точка пересечения первого и второго участка соответствует объёму титранта, израсходованного на титрование сульфатных групп (*VС*), точка пересечения второго и третьего участка соответствует объёму титранта, израсходованного на суммарное титрование сульфатных и карбоксилатных групп (*VО*).

Молярное отношение (*X*) сульфатных групп к карбоксилатным группам вычисляют по формуле:

$$X=\frac{V\_{С}}{V\_{О}-V\_{С}},$$

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 10,0 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 3). Сушат 1 г (точная навеска) субстанции при температуре 70 °С и остаточном давлении не более 5 мм рт. ст. в течение 6 ч.

Тяжёлые металлы. Не более 0,003 % (ОФС «Тяжёлые металлы», метод 6). В 20 мл воды растворяют 1,0 г субстанции. Для приготовления эталонного раствора к 3 мл стандартного раствора свинец-иона 5 мкг/мл прибавляют 7 мл воды.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 0,01 ЕЭ/МЕ анти-Ха активности (ОФС «Бактериальные эндотоксины»).

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной (ОФС «Аномальная токсичность»). Тест-доза – 200 ME анти-Ха активности эноксапарина натрия в 0,5 мл воды на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Испытание на депрессорные вещества.** Субстанция не должна обладать депрессорным действием (ОФС «Испытание на депрессорные вещества»). Тест-доза – 5000 МЕ анти-Ха активности в 1 мл натрия хлорида раствора 0,9 % для инъекций на 1 кг массы животного.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*Активность.* Проводят определение анти-Xа активности и анти-IIа активности в соответствии с ОФС «Методы количественного определения гепарина».

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.