



Разработка и аттестация стандартного образца надропарина кальция

А. В. Зыкова✉, С. В. Кривошеков, Д. А. Исаков, А. М. Гурьев, М. В. Белоусов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

✉ Контактное лицо: Зыкова Анастасия Васильевна. E-mail: anastasya.zykova@mail.ru

ORCID: А. В. Зыкова – <https://orcid.org/0009-0008-9365-800X>; С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;

Д. А. Исаков – <https://orcid.org/0009-0005-9919-7353>; А. М. Гурьев – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>;

М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 21.01.2024

Статья принята в печать: 22.05.2024

Статья опубликована: 24.05.2024

Резюме

Введение. Известно широкое применение препаратов гепарина для лечения и профилактики венозных тромбоэмболических осложнений. Одним из препаратов низкомолекулярного гепарина, успешно применяемых в клинической практике, является надропарин кальция. Современный подход к оценке качества лекарственных препаратов предполагает использование эталонов, в сравнении с которыми осуществляется контроль качества лекарственного средства – стандартных образцов (СО). Важнейшим специфическим параметром при оценке подлинности низкомолекулярных гепаринов является характеристика фракционного состава.

Цель. Целью работы являлась разработка, аттестация и определение стабильности в течение срока годности вторичного стандартного образца для определения подлинности надропарина кальция в рамках совершенствования системы контроля качества предприятия с перспективой создания отечественного фармакопейного стандартного образца.

Материалы и методы. Объектом разработки и аттестации являлся стандартный образец предприятия – низкомолекулярный гепарин, полученный на базе ОПУ ЦВТ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Аттестуемый стандартный образец получали очисткой надропарина кальция методом твердофазной экстракции. Полноту очистки подтверждали сравнением хроматограмм очищенных образцов с хроматограммами международного стандартного образца. Характеристики молекулярно-массового распределения определяли хроматографически. Стабильность аттестуемого СОП (стандартный образец предприятия) изучали при двух условиях хранения – при температуре ниже 8 °С в сухом состоянии в течение 16 месяцев и в растворе при температуре –40 °С в течение 6 месяцев – путем оценки трендов молекулярно-массового распределения.

Результаты и обсуждение. Для каждой серии аттестуемого стандартного образца в двух параллельных определениях рассчитаны молекулярная масса и молекулярно-массовые характеристики, представлена репрезентативная хроматограмма. Значения относительного стандартного отклонения молекулярной массы образцов и содержания контролируемых фракций не превышало 2,5 %. Детальный анализ молекулярно-массового распределения показал «классическую» зависимость RSD (относительное стандартное отклонение) от величины среднего со значительным увеличением до 30 % при малых значениях доли фракции (менее 0,5 %). Установлено, что в течение 16 месяцев при температуре хранения ниже 8 °С молекулярная масса и молекулярно-массовые характеристики стандартных образцов низкомолекулярного гепарина значимо не изменяются. Однако в растворе СОП при температуре хранения –40 °С в течение 6 месяцев деградировали более чем на 10 %.

Заключение. По результатам исследования разработан протокол получения стандартного образца предприятия низкомолекулярного гепарина для стандартизации субстанции надропарина кальция по показателю «молекулярно-массовое распределение». Установленный срок хранения образца – не менее 16 месяцев при температуре ниже 8 °С. Показана стабильность растворов стандартного образца при температуре хранения –40 °С в течение 3 месяцев.

Ключевые слова: стандартный образец, молекулярно-массовое распределение, надропарин кальция, хроматография, подлинность

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. С. В. Кривошеков, А. М. Гурьев, М. В. Белоусов подготовили базу и материал для разработки и исследований, а также разработали план проведения исследования. Д. А. Исаков, С. В. Кривошеков, А. В. Зыкова провели эксперименты, статистическую обработку и оценку молекулярно-массовых характеристик. А. В. Зыкова, С. В. Кривошеков участвовали в написании и корректировке статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках соглашения с Минобрнауки России от 7 апреля 2022 г. № 075-11-2022-032.

Для цитирования: Зыкова А. В., Кривошеков С. В., Исаков Д. А., Гурьев А. М., Белоусов М. В. Разработка и аттестация стандартного образца надропарина кальция. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):164–170. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1724>

Development and attestation of a standard sample of calcium nadroparin

Anastasia V. Zyкова✉, Sergei V. Krivoshchekov, Denis A. Isakov, Artem M. Guryev, Mikhail V. Belousov

Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moscow tract, Tomsk, 634050, Russia

✉ Corresponding author: Anastasia V. Zyкова. E-mail: anastasya.zykova@mail.ru

© Зыкова А. В., Кривошеков С. В., Исаков Д. А., Гурьев А. М., Белоусов М. В., 2024

© Zyкова A. V., Krivoshchekov S. V., Isakov D. A., Guryev A. M., Belousov M. V., 2024

ORCID: Anastasia V. Zykova – <https://orcid.org/0009-0008-9365-800X>; Sergei V. Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Denis A. Isakov – <https://orcid.org/0009-0005-9919-7353>; Artem M. Guryev – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>;
Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 21.01.2024 Accepted: 22.05.2024 Published: 24.05.2024

Abstract

Introduction. The widespread use of heparin preparations for the treatment and prevention of venous thromboembolic complications is known. One of the low molecular weight heparin drugs successfully used in clinical practice is calcium nadroparin. The modern approach to assessing the quality of medicines involves the use of standards, in comparison with which the quality control of the drug is carried out – standard samples (SS). The most important specific parameter in assessing the authenticity of low molecular weight heparins is the characteristic of the fractional composition.

Aim. The aim of the work was to develop, attestation and determine the stability during the shelf life of a secondary standard sample to determine the authenticity of calcium nadroparin as part of improving the quality control system of the enterprise with the prospect of creating a domestic pharmacopoeia standard sample.

Materials and methods. The object of development and attestation was the standard sample of the enterprise – low molecular weight heparin, obtained on the basis of the Technology implementation center of Siberian state medical university. The certified standard sample was obtained by purification of calcium nadroparin by solid-phase extraction. The completeness of the purification was confirmed by comparing the chromatograms of the purified samples with the chromatograms of the international standard sample. The characteristics of the molecular weight distribution were determined chromatographically. The stability of the certified SSE (the standard sample of the enterprise) was studied under two storage conditions – at a temperature below 8 °C in a dry state for 16 months and in solution at –40 °C for 6 months by evaluating trends in molecular weight distribution.

Results and discussion. For each batch of the certified standard sample, the molecular weight and molecular weight characteristics are calculated in 2 parallel definitions, and a representative chromatogram is presented. The values of the relative standard deviation of the molecular weight of the samples and the content of the controlled fractions did not exceed 2.5 %. A detailed analysis of the molecular weight distribution showed the "classical" dependence of RSD (relative standard deviation) from the average value with a significant increase up to 30 % for small fraction values (less than 0.5 %). It was found that during 16 months at a storage temperature below 8 °C, the molecular weight and molecular weight characteristics of standard samples of low molecular weight heparin did not significantly change. However, in the SSE solution at a storage temperature of minus 40 °C for 6 months, they degraded by more than 10 %.

Conclusion. According to the results of the study, a protocol has been developed for obtaining a standard sample of low-molecular-weight heparin for the standardization of the calcium nadroparin substance according to the indicator "molecular weight distribution". The established shelf life of the sample is at least 16 months at temperatures below 8 °C. The stability of solutions of the standard sample at a storage temperature of –40 °C for 3 months is shown.

Keywords: standard sample, molecular weight distribution, calcium nadroparin, chromatography, identification

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Sergei V. Krivoshchekov, Artem M. Guryev, Mikhail V. Belousov prepared the base and material for development and research, and also developed a research plan. Denis A. Isakov, Sergei V. Krivoshchekov, Anastasia V. Zykova conducted experiments, statistical processing and evaluation of molecular weight characteristics. Anastasia V. Zykova, Sergei V. Krivoshchekov participated in the writing and correction of the article.

Funding. The work was carried out within the framework of an agreement with the Ministry of Education and Science of Russia dated April 7, 2022 No. 075-11-2022-032.

For citation: Zykova A. V., Krivoshchekov S. V., Isakov D. A., Guryev A. M., Belousov M. V. Development and attestation of a standard sample of calcium nadroparin. *Drug development & registration*. 2024;13(2):164–170. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1724>

ВВЕДЕНИЕ

Известно широкое применение препаратов гепарина для лечения и профилактики венозных тромбозомболических осложнений. Так, при изучении течения COVID-19 выявлена коагулопатия, являющаяся одним из ключевых механизмов, ведущих к полиорганной недостаточности у пациентов с тяжелой формой заболевания [1–3]. Гепарин связывается с анти-тромбином и неселективно ингибирует II, IX, X, XI, XII факторы свертываемости крови, обладает непродолжительным действием и низкой биодоступностью в малых дозах, а также высокой вероятностью возникновения гепарининдуцированной тромбоци-

топии [4–5]. Уменьшение молекулярной массы гепарина вследствие сокращения длины полисахаридных цепей повышает селективное ингибирование фактора Ха свертывающей системы крови, снижая вероятность геморрагических осложнений терапии [6]. Низкомолекулярные гепарины удобны для применения в терапии, так как не требуют постоянного контроля коагулограммы [7]. Еще одним преимуществом низкомолекулярных гепаринов является возможность их применения при планировании и вынашивании беременности [8–10]. Одним из препаратов низкомолекулярного гепарина, успешно применяемых в клинической практике, является надропарин кальция [11–12].

Современный подход к оценке качества лекарственных препаратов предполагает использование эталонов, в сравнении с которыми осуществляется контроль качества лекарственного средства – стандартных образцов (СО)¹ [13]. Основной сложностью является отсутствие отечественных стандартных образцов для многих лекарственных средств биологического происхождения, в том числе и низкомолекулярных гепаринов, что затрудняет логистические процессы и значительно увеличивает стоимость контроля качества препаратов на локальных предприятиях.

Процессы разработки и аттестации стандартных образцов являются комплексной задачей и зависят от назначения СО – определение подлинности, чистоты, количественного содержания. Важнейшим параметром при оценке подлинности низкомолекулярных гепаринов является характеристика фракционного состава, так как распределение по молекулярной массе является специфичным для каждого препарата. Фармакопея США рекомендует определение характерного молекулярно-массового распределения низкомолекулярных гепаринов методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)².

Целью работы являлась разработка, аттестация и определение стабильности в течение срока годности вторичного стандартного образца для определения подлинности надрупина кальция в рамках совершенствования системы контроля качества предприятия с перспективой создания отечественного фармакопейного стандартного образца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом разработки и аттестации являлся стандартный образец предприятия – низкомолекулярный гепарин, полученный на базе ОПУ ЦВТ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. В качестве первичного стандарта использовали эталонный стандарт Фармакопеи США «Калибрانت молекулярной массы низкомолекулярного гепарина 10,6 мг» (USP, Low Molecular Weight Heparin Molecular Weight Calibrant RS), кат. № 1448854, партия № F0M224.

Аттестуемый стандартный образец получали очисткой надрупина кальция методом твердофазной экстракции с использованием картриджей, заполненных полимерным сорбентом поли(дивинилбензол-винилпирролидоном) (DVB-N-винилпирролидоном) (Sep-Pak® Vac 6 cc (500 mg) Porapak® RDX Cart-

ridges, Waters Chromatography Ireland Ltd., Ирландия), размер частиц – 125–150 мкм, размер пор – 200 Å. Полноту очистки подтверждали экспериментально. Картриджи, заполненные сорбентом, последовательно промывали 5 мл ацетонитрила и 5 мл воды очищенной, затем пропускали через сорбент водные растворы надрупина кальция с концентрацией 0,1 и 0,05 г/мл. Собранный элюат лиофильно высушивали (лиофильная сушка Ilshin, MCFD 8508, Корея) и хроматографировали. Сравнивали хроматограммы очищенных образцов с хроматограммами международного стандартного образца.

Характеристики молекулярно-массового распределения определяли при помощи жидкостного хроматографа Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Германия) с рефрактометрическим детектором RI-101. Хроматографировали в изократическом режиме, скорость потока – 0,5 мл/мин, температура колонки – +30 °С, объем вводимой пробы – 10 мкл, время хроматографирования – 30 мин. В качестве подвижной фазы использовали 2,84%-й раствор натрия сульфата с pH = 5,0.

Приготовление подвижной фазы. 28,4 г сульфата натрия помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяли в 600 мл воды и доводили объем до метки тем же растворителем. Доводили значение pH до $5,0 \pm 0,02$ с помощью разведенной (0,98 %) серной кислоты. Фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (восстановленная целлюлоза).

Раствор аттестуемого стандартного образца предприятия. Навеску 20 мг стандарта растворяли в 2 мл подвижной фазы, перемешивали и фильтровали через шприцевой фильтр (восстановленная целлюлоза).

Раствор стандартного образца низкомолекулярного гепарина (USP). Навеску 20 мг стандарта низкомолекулярного гепарина для калибровки растворяли в 2 мл подвижной фазы.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. Навеску 100 мг глицина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в подвижной фазе, доводили объем колбы растворителем до метки и перемешивали.

Хроматографическую систему считали пригодной при выполнении следующих условий: на хроматограмме раствора стандартного образца низкомолекулярного гепарина наблюдалась кривая пика низкомолекулярного гепарина, зарегистрированная в интервале от 12 до 23 минут; для основного пика на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы эффективность колонки составляла не менее 6000 теоретических тарелок; для основного пика на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы фактор асимметрии составлял не менее 0,8 и не более 1,5.

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. ОФС.1.1.0007 «Стандартные образцы». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-standartnye-obraztsy/> Ссылка активна на 21.01.2024.

² The United States pharmacopoeia: USP 46. The national formulary: NF 41. 2023. Available at: <https://www.uspnf.com/purchase-usp-nf>. Available at: 21.01.2024.

Для построения калибровочного графика использовали времена удерживания пиков на хроматограмме, зарегистрированные с помощью рефрактометрического детектора, интегрируя сигнал низкомолекулярного гепарина, принимая его за смесь узких стандартов, молекулярные массы и содержание которых приведены в сертификате стандарта. При интегрировании пиков сигналы растворителя и солей не учитывали.

Далее строили калибровочную зависимость в координатах $\log M_i = f(t_R)$ с регрессионной зависимостью третьего порядка.

На хроматограмме растворов аттестуемого образца интегрировали сигнал, разбивая его не менее чем на 20 элементарных участков, после чего вычисляли среднемассовую молекулярную мас-су (M_w):

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^n (S_{Ri,i} \cdot M_i)}{\sum_{i=1}^n S_{Ri,i}},$$

где $S_{Ri,i}$ – площадь i -го пика на хроматограмме испытуемого раствора; M_i – молекулярная масса i -го пика, найденная из калибровочного графика.

Далее рассчитывали содержание (X_i , %) фракции с заданной молекулярной массой для составления спецификации молекулярно-массового распределения стандартного образца.

Стабильность аттестуемого СОП (стандартный образец предприятия) изучали при двух условиях хранения – при температуре ниже 8 °С в сухом состоянии в течение 16 месяцев и при температуре –40 °С в течение 6 месяцев путем оценки трендов молекулярно-массового распределения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Путем твердофазной очистки получено 6 серий стандартного образца предприятия (S.1 – S.7), которые проанализированы для оценки молекулярно-массовых характеристик по калибровочной зависимости, построенной по международному стандартному образцу USP кат. № 1448854 (рисунок 1).

Для каждой серии аттестуемого стандартного образца в двух параллельных определениях рассчитаны молекулярная масса (таблица 1) и молекулярно-массовые характеристики (таблица 2), репрезентативная хроматограмма приведена на рисунке 2.

Значения относительного стандартного отклонения молекулярной массы образцов и содержания

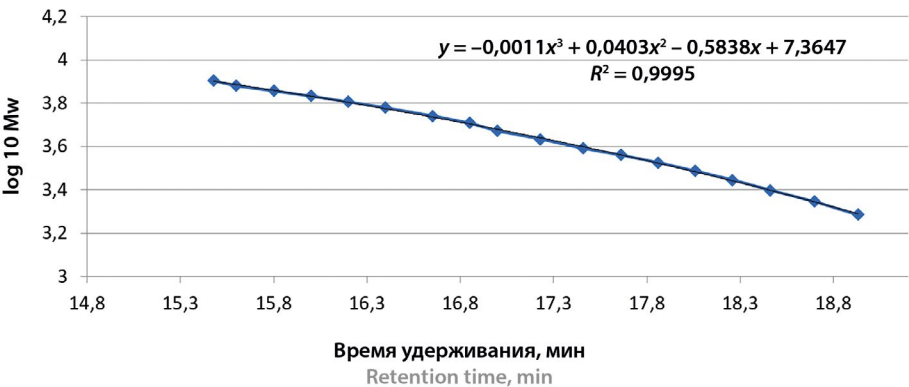


Рисунок 1. Калибровочная зависимость стандартного образца низкомолекулярного гепарина USP RS

Figure 1. Calibration dependence of the standard sample of low molecular weight heparin USP RS

Таблица 1. Молекулярная масса и содержание контролируемых фракций аттестуемого СОП

Table 1. Molecular weight and content of controlled fractions of certified standard sample

M_w , Да M_w , Yes	S.1.1	S.1.2	S.2.1	S.2.2	S.3.1	S.3.2	S.4.1	S.4.2	S.5.1	S.5.2	S.6.1	S.6.2	Среднее Average	RSD, %
	4145	4152	4146	4146	4122	4137	4141	4137	4143	4111	4153	4105	4136	0,38
Фракция менее 2 кДа Fraction less than 2 kDa	11,4	11,5	12,1	11,5	11,8	11,8	11,8	11,7	11,5	12,2	11,8	12,1	11,77	2,24
Фракция 2–4 кДа Fraction 2–4 kDa	41,9	42,0	40,8	41,1	41,2	40,4	41,4	41,0	41,2	41,2	41,3	41,3	41,23	1,04
Фракция 2–8 кДа Fraction 2–8 kDa	81,9	81,4	80,8	81,5	81,6	81,5	81,4	81,4	81,7	80,9	81,0	84,8	81,66	1,28

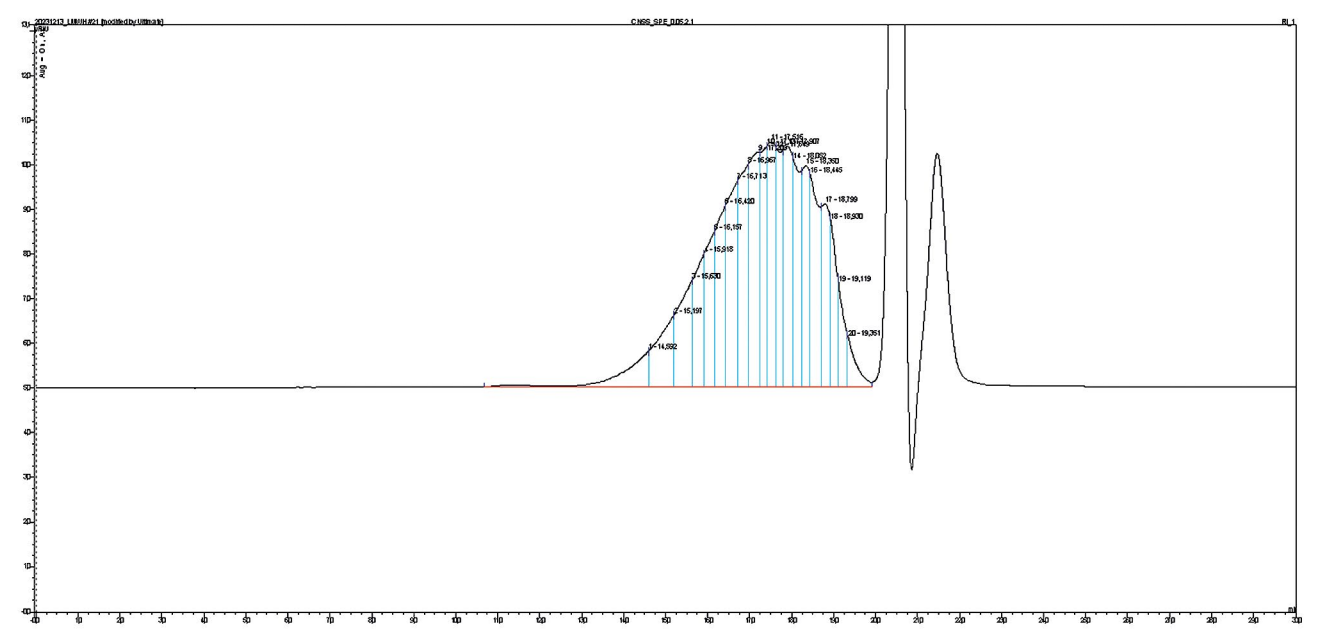


Рисунок 2. Репрезентативная хроматограмма аттестуемого стандартного образца

Figure 2. Representative chromatogram of the certified standard sample

Таблица 2. Молекулярно-массовое распределение аттестуемого стандартного образца низкомолекулярного гепарина

Table 2. Molecular weight distribution of the certified standard low-molecular-weight heparin sample

Образец Sample	Содержание (X_r %) фракции низкомолекулярного гепарина с молекулярной массой (M_w , Da) Content (X_r %) of the fraction of low molecular weight heparin with molecular weight (M_w , Da)																
	M_w	18000	13600	12000	9600	8400	7200	6600	6000	5400	4800	4200	3600	3000	2400	1800	1200
S.1.1	0,19	0,17	0,27	1,94	2,82	5,08	4,25	4,71	6,66	7,40	10,58	22,78	12,76	13,23	6,78	0,39	
S.1.2	0,28	0,29	0,33	1,99	2,85	5,02	4,24	4,94	6,72	7,08	10,46	22,27	12,75	13,19	7,15	0,44	
S.2.1	0,18	0,19	0,32	2,03	2,90	5,05	4,65	4,67	6,17	7,43	10,75	22,54	12,56	12,99	7,05	0,51	
S.2.2	0,18	0,16	0,30	2,03	2,91	5,19	4,50	4,93	6,64	7,12	10,25	23,04	12,64	12,90	6,77	0,43	
S.3.1	0,21	0,14	0,29	1,82	2,82	5,07	4,13	4,95	6,76	7,12	10,68	22,67	12,91	12,87	7,06	0,51	
S.3.2	0,18	0,13	0,26	1,92	2,84	5,16	4,59	4,12	7,21	6,89	10,33	23,15	12,88	13,04	6,82	0,47	
S.4.1	0,21	0,19	0,28	2,02	2,83	5,02	4,11	5,29	6,03	7,40	10,11	22,63	12,63	13,91	6,82	0,52	
S.4.2	0,20	0,20	0,28	1,99	2,81	5,10	4,86	4,04	6,2	7,81	10,59	22,33	13,01	13,10	6,92	0,54	
S.5.1	0,17	0,19	0,29	1,99	2,79	5,01	5,03	3,87	7,00	7,20	10,60	22,54	12,90	12,90	7,08	0,43	
S.5.2	0,21	0,23	0,30	1,98	2,85	4,98	4,23	4,67	6,32	7,62	10,62	22,00	13,31	12,91	7,24	0,54	
S.6.1	0,23	0,33	0,36	2,08	2,84	5,16	4,81	4,10	6,33	7,49	10,11	22,57	13,25	13,04	6,84	0,46	
S.6.2	0,22	0,17	0,25	1,87	2,77	5,12	4,14	4,48	6,67	7,05	10,36	22,73	12,86	13,30	7,35	0,67	
$\bar{X}$	0,21	0,20	0,29	1,97	2,84	5,08	4,46	4,56	6,56	7,30	10,45	22,60	12,87	13,12	6,99	0,49	
RSD, %	14,6	29,5	10,5	3,75	1,4	1,3	7,2	9,7	5,4	3,7	2,1	1,4	1,8	2,2	2,8	15,0	

контролируемых фракций не превышает 2,5 % (таблица 1), что может свидетельствовать о пригодности СОП для контроля субстанции надропарина кальция и других низкомолекулярных гепаринов по показателю «молекулярно-массовое распределение».

Детальный анализ молекулярно-массового распределения (таблица 2) показывает «классическую» зависимость RSD от величины среднего со значительным увеличением до 30 % при малых значениях доли фракции (менее 0,5 %). Это может быть

связано, в первую очередь, с принятой моделью регрессионного анализа (полином 3 степени) для охвата всего диапазона молекулярных масс низкомолекулярных гепаринов.

Сравнение характеристик молекулярно-массового распределения аттестуемого (CO_r) при хранении в течение 16 месяцев при температуре ниже 8 °С и в течение 6 месяцев при температуре –40 °С международного стандартного образца (CO_{st}) представлено на рисунках 3 и 4.

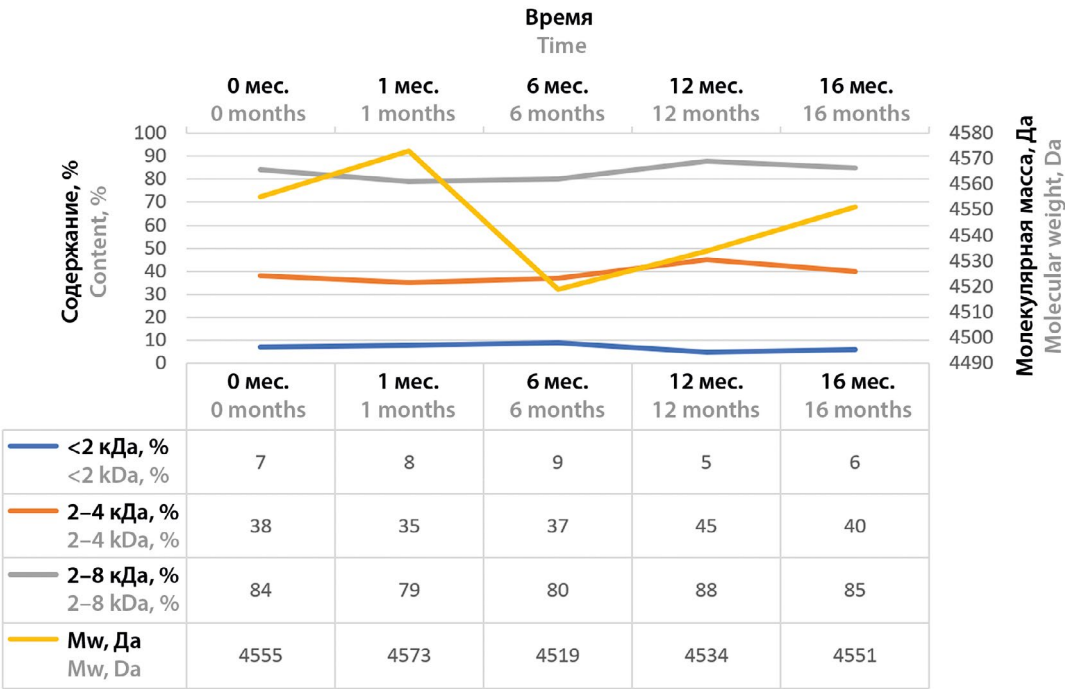


Рисунок 3. График зависимости изменений молекулярно-массовых характеристик и молекулярной массы от времени при температуре 8 °C

Figure 3. Graph of changes in molecular weight characteristics and molecular weight versus time at 8 °C

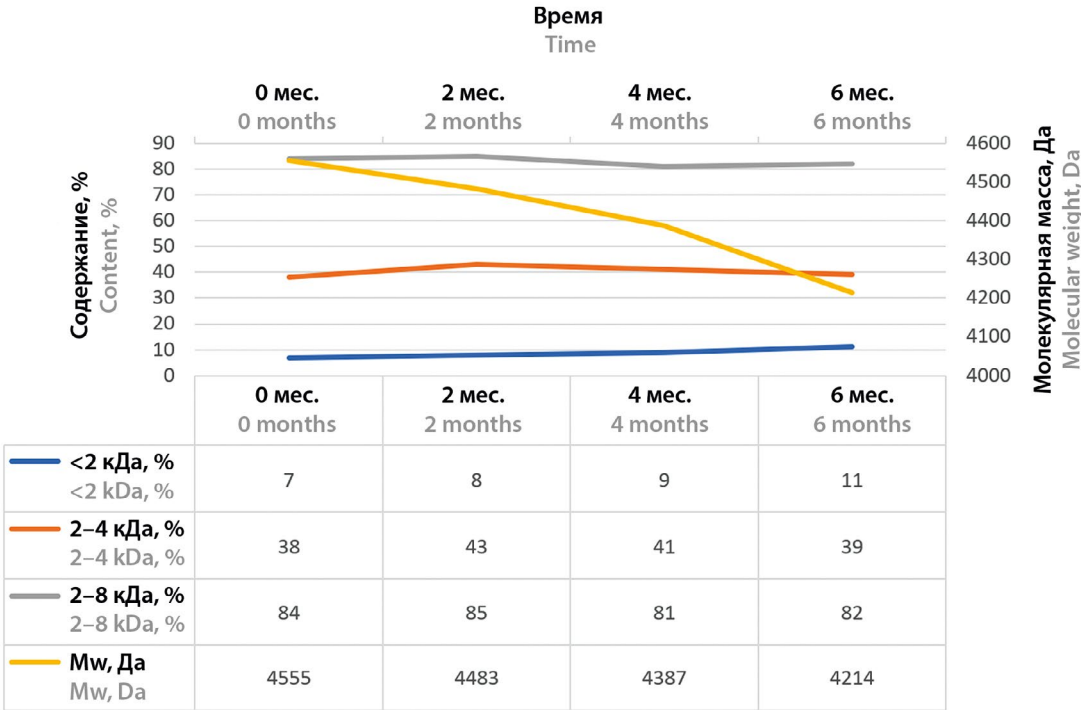


Рисунок 4. График зависимости изменений молекулярно-массовых характеристик и молекулярной массы от времени при температуре -40 °C

Figure 4. Graph of changes in molecular weight characteristics and molecular weight over time at a temperature of -40 °C

Таким образом, установлено, что в течение 16 месяцев при температуре хранения ниже 8 °С молекулярная масса и молекулярно-массовые характеристики стандартных образцов низкомолекулярного гепарина значимо не изменяются. Однако в растворе СОП при температуре хранения –40 °С в течение 6 месяцев деградировали более чем на 10 %. Поэтому рекомендованный срок хранения растворов СОП при температуре –40 °С – 3 месяца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования разработан протокол получения стандартного образца предприятия низкомолекулярного гепарина для стандартизации субстанции надропарина кальция по показателю «молекулярно-массовое распределение». Установленный срок хранения образца – не менее 16 месяцев при температуре ниже 8 °С. Показана стабильность растворов стандартного образца при температуре хранения –40 °С в течение 3 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
2. Нарделли П., Ландони Д. COVID-19-ассоциированный тромбовоспалительный статус: гипотеза MicroCLOTS и ее перспективы. *Общая реаниматология*. 2020;16(3):14–15. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-2.
3. Fox S. E., Akmatbekov A., Harbert J. L., Li G., Brown J. Q., Vander Heide R. S. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(7):681–686. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30243-5.
4. Lazrak H. H., René É., Elftouh N., Leblanc M., Lafrance J.-P. Safety of low-molecular-weight heparin compared to unfractionated heparin in hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrology*. 2017;18:187. DOI: 10.1186/s12882-017-0596-4.
5. Браилова Н. В., Дудинская Е. Н., Кузнецова В. А., Ткачева О. Н. Остеопороз и анти тромботическая терапия. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(5):176–182. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4173.
6. Богачев В. Ю., Болдин Б. В., Родионов С. В. Низкомолекулярные гепарины во флебологической практике: в фокусе парнапарин. *Лечебное дело*. 2019;2:80–89. DOI: 10.24411/2071-5315-2019-12116.
7. Чупрова А. В., Лоскутова С. А., Шмаков А. Н. Контролируемая антикоагулянтная терапия в педиатрии. *Педиатрия*. 2004;2:52–57.
8. Huhle G., Geberth M., Hoffmann U., Heene D. L., Harenberg J. Management of heparin-associated thrombocytopenia in pregnancy with subcutaneous r-hirudin. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2000;49(1):67–69. DOI: 10.1159/000010216.
9. Кумыкова З. Х. Применение Фраксипарина во время планирования и ведения беременности при привычном невынашивании. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения*. 2015;4(10):77–80.
10. Cosmi B. Management of idiopathic venous thromboembolism. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2016;14(12):1371–1384. DOI: 10.1080/14779072.2016.1248406.
11. Грачева И. Л., Казакова И. А. Клинические аспекты применения надропарина кальция в терапии хронического пиелонефрита. *Вестник современной клинической медицины*. 2010;3(1):48–49.
12. Шмаков А. Н., Бударова К. В., Елизарьева Н. Л., Кохно В. Н. Место низкомолекулярных гепаринов в интенсивной терапии печеночной недостаточности. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020;40(1):110–114.
13. Щепочкина О. Ю., Гегечкори В. И., Прокофьева В. И., Чепило Д. А., Левко А. А., Чадова Н. Н., Шестаков В. Н. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(7):49–54. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-49-54.

REFERENCES

1. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
2. Nardelli P., Landoni G. COVID-19-Related Thromboinflammatory Status: MicroCLOTS and Beyond (Editorial). *General Reanimatology*. 2020;16(3):14–15. (In Russ.) DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-2.
3. Fox S. E., Akmatbekov A., Harbert J. L., Li G., Brown J. Q., Vander Heide R. S. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(7):681–686. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30243-5.
4. Lazrak H. H., René É., Elftouh N., Leblanc M., Lafrance J.-P. Safety of low-molecular-weight heparin compared to unfractionated heparin in hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrology*. 2017;18:187. DOI: 10.1186/s12882-017-0596-4.
5. Brailova N. V., Dudinskaya E. N., Kuznesova V. A., Tkacheva O. N. Osteoporosis and antithrombotic therapy. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(5):176–182. (In Russ.) DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4173.
6. Bogachev V. Yu., Boldin B. V., Rodionov S. V. Low Molecular Weight Heparins in Phlebological Practice: Focus on Parnaparin. *Lechebnoe delo*. 2019;2:80–89. (In Russ.) DOI: 10.24411/2071-5315-2019-12116.
7. Chuprova A. V., Loskutova S. A., Shmakov A. N. Controlled anticoagulant therapy in pediatrics. *Pediatrics*. 2004;2:52–57. (In Russ.)
8. Huhle G., Geberth M., Hoffmann U., Heene D. L., Harenberg J. Management of heparin-associated thrombocytopenia in pregnancy with subcutaneous r-hirudin. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2000;49(1):67–69. DOI: 10.1159/000010216.
9. Kumykova Z. Kh. Fraxiparine prescription during planning and management of pregnancy in case of habitual miscarriage. *Obstetrics and gynecology. News, Opinions, Training*. 2015;4(10):77–80. (In Russ.)
10. Cosmi B. Management of idiopathic venous thromboembolism. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2016;14(12):1371–1384. DOI: 10.1080/14779072.2016.1248406.
11. Gracheva I. L., Kazakova I. A. Clinical aspects of the use of nadroparin calcium in the treatment of chronic pyelonephritis. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2010;3(1):48–49. (In Russ.)
12. Shmakov A. N., Budarova K. V., Elizareva N. L., Kokhno V. N. Place of low molecular weight heparins in intensive therapy of heratic insufficiency. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020;40(1):110–114. (In Russ.)
13. Shchepochkina O. Yu., Gegchorki V. I., Prokof'eva V. I., Chepilo D. A., Levko A. A., Chadova N. N., Shestakov V. N. Modern approaches to the development of drug standards. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2020;54(7):49–54. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-49-54.