

УДК: 615.074а

Подходы к оценке количественного состава лекарственных средств на основе пептидов природного происхождения, содержащих гликозаминогликан-пептидный комплекс

©2020. Н.Г. Венгерович^{1,2*}, Н.В. Ефимов³, Н.И. Рогожина⁴, В.И. Степченков⁴

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Дорожная клиническая больница открытого акционерного общества «Российские железные дороги», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

* e-mail: nickolai.vengerovich@pharminnotech.com

Поступила в редакцию 01.12.2019 г.

После доработки 05.01.2020 г.

Принята к публикации 10.02.2020 г.

Исследованы препараты, выделенные из биоматериала сельскохозяйственных животных и рыб. Эти препараты (румалон, алфлутоп) при производстве не могут быть получены в равных соотношениях и концентрациях. Разработан алгоритм количественного определения компонентов пептидов природного происхождения на основе изучения модельных лекарственных препаратов, содержащих гликозаминогликан-пептидный комплекс. Методами инфракрасной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии установлены концентрации хондроитина сульфата натрия, гиалуроновой кислоты, глюкозамина, белка, свободных аминокислот и аминокислот, входящих в состав пептидов (алфлутопа и румалона). При сравнении с большинством зарегистрированных на территории Российской Федерации монокомпонентных лекарственных средств, содержащих хондроитина сульфата натрия в концентрации 100 мг/мл, лекарственных препаратов глюкозамина (200 мг/мл), лекарственных препаратов гиалуроновой кислоты (10 мг/мл) было установлено, что основные активные компоненты исследованных препаратов оказались более чем в 50, 100 и 7 раз меньше соответствующих значений для монопрепаратов. При этом процентное содержание свободных аминокислот или короткоцепочечных пептидов в исследованных препаратах велико (37–62%). Это позволяет предположить, что они оказывают влияние на клиническую эффективность лекарственных средств на основе природных пептидов.

Разработанный алгоритм количественного определения компонентов пептидных препаратов природного происхождения, включающий в себя последовательность распространенных и общедоступных методик (идентификация образцов методом инфракрасной спектроскопии в сравнении со стандартными образцами, количественное определение хондроитина сульфата натрия, гиалуроновой кислоты, глюкозамина, белка и аминокислот методами инфракрасной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии), целесообразно использовать при определении минимальных значений концентрации активных компонентов и адъювантов пептидного происхождения при исследованиях и регистрации лекарственных препаратов на их основе, а также для обоснования путей поиска и объяснения механизмов действия подобных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пептиды; гликозаминогликан; хондроитина сульфат; гиалуроновая кислота; румалон; алфлутоп; инфракрасная спектроскопия; высокоэффективная жидкостная хроматография; аминокислоты; короткоцепочечные пептиды

DOI: 10.17816/phf20390/2713-153X-2020-1-2-08-15

СОКРАЩЕНИЯ:

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства на основе пептидов известны в фармакологии достаточно давно, а пептиды природного происхождения использовали еще в период до становления фармакологии как науки [1]. Несмотря на то, что пептидные препараты составляют сравнительно небольшую часть рынка лекарственных средств (в Соединенных Штатах Америки зарегистрировано более 60 пептидов, утвержденных управлением по контролю за продуктами и лекарствами), в настоящее время около 140 пептидных препаратов проходят клинические испытания, а доклинические – более 500 [2].

На сегодняшний день одну из групп подобных лекарственных средств составляют соединения на основе гликозаминогликан-пептидных комплексов. Некоторые из подобных препаратов предназначены для регенерации хрящевой и костной ткани. При этом механизмы их действия до конца не исследованы. Существует предположение, что, поступая в клетки, низкомолекулярные пептиды животного происхождения выступают в качестве структурных элементов матрикса, участвуют в образовании фибрилл коллагена и протеогликанов, восполняют недостающие компоненты, влияют на формирование тканей [3].

S. Camarero-Espinosa, J.J. Cooper-White [4] высказаны предположения о том, что лекарственные средства, содержащие гликозаминогликаны, служат триггером для запуска процессов направленной дифференциации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Клиническая эффективность этих препаратов доказана только на уровне неконтролируемых исследований. Единственное опубликованное рандомизированное контролируемое пятилетнее испытание румалона не выявило доказательств его влияния на прогрессирование остеоартроза тазобедренных и коленных суставов [5]. Гликозаминогликаны используют также в качестве систем доставки факторов роста в поврежденную костную ткань [6, 7] и в качестве матриц-носителей для управляемой доставки в нервную ткань [8].

В отличие от синтетических короткоцепочечных пептидов [3], препараты, выделенные из биоматериала сельскохозяйственных животных и рыб, не могут быть получены в равных соотношениях и концентрациях. Это существенным образом ограничивает исследования их эффективности, а также препятствует регистрации ввиду невозможности воспроизвести состав с достаточной точностью. У. Рап и другими [9] предприняты попытки разложить подобные смеси на составные части, что позволило установить наиболее активные компоненты. Ими являются хондроитинсульфат (18–49 кДа), гепарансульфат, а также связанный с хондроитинсульфатом фактор роста фибробластов, что, вероятно, и обуславливает восстановление тканей, регенерацию поврежденных.

На сегодняшний день исследования, посвященные разработке методик идентификации качественного состава [10] и оценки количественного состава пептидов природного происхождения [11], составляют основу для развития данного научного направления в целом.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать алгоритм количественного определения компонентов пептидов природного происхождения на основе изучения модельных лекарственных средств, содержащих гликозаминогликан-пептидный комплекс.

МАТЕРИАЛЫ

В исследовании использованы следующие лекарственные препараты:

- алфлутоп, раствор для инъекций, ампула 1 мл №10, серия 3381017, годен до 09.2022 (К.О. Биотекнос С.А., Румыния);
- алфлутоп, раствор для инъекций, ампула 2 мл №5, серия 3310418, годен до 03.2021 (К.О. Биотекнос С.А., Румыния);
- румалон, раствор для внутримышечного введения, ампула 1 мл №25, серия 1717751, годен до 11.2022 (К.О. Ромфарм Компани С.Р.Л., Румыния).

Все препараты были приобретены в аптечной сети. Они зарегистрированы на территории Российской Федерации в качестве лекарственных средств и содержат в своем составе гликозаминогликан-пептидные комплексы (из мелкой морской рыбы – алфлутоп; или хрящей и костного мозга молодых телят – румалон), что позволило выбрать их для исследования.

В качестве стандартных образцов использовали:

- хондроитина сульфат натрия (стандарт Европейской Фармакопеи, 250 мг, код Y0000280, серия 2.0, идентификационный номер 000тМ8);
- гиалуронат натрия (стандарт Американской Фармакопеи, 250 мг, серия FOM296);
- глюкозамина гидрохлорид (стандарт Американской Фармакопеи, 200 мг, серия GOM183);
- аминокислотный стандарт (NCl0180, Pierce, США).

Количественное определение состава лекарственных средств на основе пептидов природного происхождения было проведено с использованием комплекса методик инфракрасной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Идентификация компонентов лекарственных препаратов методом ИК-спектроскопии и их сравнение со стандартными образцами проводили с использованием ИК-спектрометра с преобразованием Фурье Cary 630 Agilent, снабженно-го модулем нарушенного полного внутреннего отражения в области 4000–650 см⁻¹. После регистрации ИК-спектров производили их обработку с помощью программного обеспечения MicroLabFTIR Software. По результатам наложения полученных спектров и их обработки формировали таблицы с указанием процента совпадения спектра стандартного образца со спектром испытуемого образца. Пробоподготовку проводили в соответствии с требованиями Общей фармакопейной статьи ОФС 1.2.1.1.0002.15 «Спектрометрия в инфракрасной области» [12].

Количественное определение хондроитина сульфата натрия проводили методом турбидиметрического титрования с цетилпиридиния хлоридом согласно требованиям методики количественного определения хондроитина сульфата натрия [13] с использованием титратора автоматического «Т50» в комплекте с фототродом «DP5» фирмы Mettler Toledo (Швейцария).

Содержание хондроитина сульфата натрия (мг/мл) в испытуемых препаратах рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{C \times 50}{V \times 1000} = \frac{C}{V \times 20}$$

где V – объем испытуемого препарата, мл; C – концентрация хондроитина сульфата натрия, определенная по калибровочному графику, мкг/мл.

Количественное определение содержания гиалуроновой кислоты осуществлялось в соответствии с требованиями методики количественного определения гиалуроната натрия [13] спектрофотометрически по реакции с карбазолом.

По калибровочной кривой, построенной по оптическим плотностям каждого из стандартных растворов, определяли средние концентрации D-глюкуроновой кислоты в испытуемых растворах:

$$\frac{c_g}{c_s} \times Z \times \frac{100}{100 - h} \times \frac{401,3}{194,1},$$

где c_g – средняя концентрация D-глюкуроновой кислоты в испытуемых растворах, мг/мл; c_s – средняя концентрация испытуемого вещества в испытуемых растворах, мг/мл; Z – определенное процентное содержание $C_6H_{10}O_7$ в D-глюкуроновой кислоте; h – потеря в массе при высушивании, %; 401,3 – относительная молекулярная масса дисахаридного фрагмента; 194,1 – относительная молекулярная масса глюкоуроновой кислоты.

Количественное определение содержания глюкозамина осуществлялось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) согласно методикам, представленным в литературе [14, 15].

Хроматографические условия: колонка Waters μ Bondapak NH₂ 30 см, температура колонки – 26 ± 1 °C; детектор – ультрафиолетовый спектрофотометрический, длина волны 195 нм, скорость потока – 1,3 мл/мин. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,026 М фосфатного буфера KH_2PO_4 с добавлением 0,25 мл NH_4OH pH=7,5 (75:25).

Определение общего белка проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи или Европейской Фармакопеи 8.0 [12, 13]. Использовался колориметрический метод Лоури, основанный на реакции белков с солями меди (II) в щелочном растворе и восстановлении фосфорномолибдено-вольфрамового реактива (реактив Фолина). Интенсивность окраски образовавшихся при этом продуктов определяли по оптической плотности при длине волны 750 нм.

Для расчета содержания белка (X , мг) в 1 мл препарата с учетом его разведения применяли следующую формулу:

$$X = \frac{C \times 25 \times 6,5}{V \times 1},$$

где C – концентрация белка, найденная по калибровочной кривой, мг/мл; V – объем препарата, взятого на анализ, мл.

Определение суммарного содержания аминокислот проводили согласно требованиям Европейской Фармакопеи 8.0 [13].

Содержание аминокислот в 1 мл препарата в мкмоль (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{1,67 \times \sum S_{ак.пр}}{2 \times 0,67 \times \sum S_{ак.ст}},$$

где $\sum S_{ак.пр}$ – сумма аминокислот в пробе образца, мкмоль/мл; $\sum S_{ак.ст}$ – сумма аминокислот в стандарте аминокислот, мкмоль/мл.

Дескриптивные статистические показатели представлены как M – среднее арифметическое и SD – стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что спектры препарата алфлутоп совпадают со стандартными образцами хондроитина сульфата натрия и гиалуроната натрия на $73,8 \pm 3,4\%$ и $77,5 \pm 4,1\%$ соответственно (рис. 1 и 2). При этом совпадение спектров препарата румалон составило $92,2 \pm 3,7\%$ и $88,3 \pm 2,9\%$ соответственно (рис. 3 и 4). Из-за низкой концентрации хондроитина сульфата натрия в препарате алфлутоп выделение активного вещества из данной лекарственной формы стандартными способами оказалось затруднено.

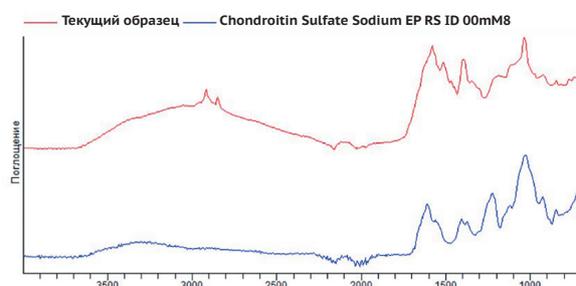


Рис. 1. ИК-спектр препарата алфлутоп с. 3381017 в сравнении со стандартным спектром хондроитина сульфата натрия
Fig. 1. IR spectrum of the drug alflutop s. 3381017 in comparison with the standard spectrum of chondroitin sodium sulfate

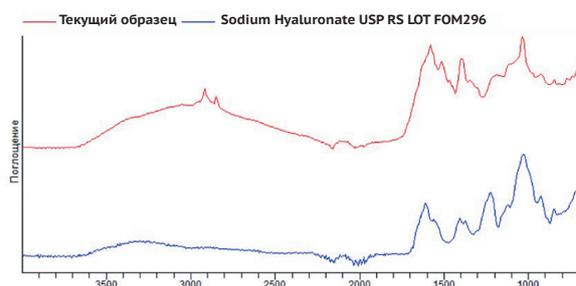


Рис. 2. ИК-спектр препарата алфлутоп с. 3381017 в сравнении со стандартным спектром гиалуроната натрия
Fig. 2. IR spectrum of the drug alflutop s. 3381017 compared to the standard spectrum of sodium hyaluronate

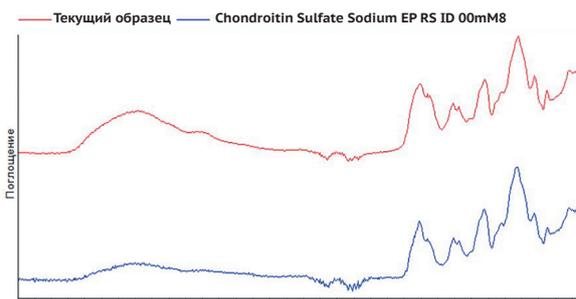


Рис. 3. ИК-спектр румалона с. 1717761 в сравнении со стандартным спектром хондроитина сульфата натрия
Fig. 3. IR spectrum of the drug rumalon s. 1717761 in comparison with the standard spectrum of chondroitin sodium sulfate

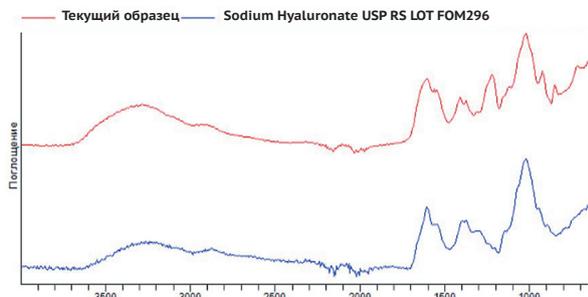


Рис. 4. ИК-спектр румалона с. 1717761 в сравнении со стандартным спектром гиалуроната натрия
 Fig. 4. IR spectrum of the drug rumalon s. 1717761 in comparison with the standard spectrum of sodium hyaluronate

Содержание хондроитина сульфата натрия в препарате алфлутоп почти в 5 раз ниже в сравнении с препаратом румалон (табл. 1).

Содержание гиалуроновой кислоты в препарате румалон с.1717751 составило 1,42±0,08 мг/мл, в препарате алфлутоп с.3381017 – 0,27±0,08 мг/мл. Заметим, что концентрация гиалуроновой кислоты в препарате румалон была достаточно низкой; при этом значение оптической плотности испытуемых растворов не превышало 0,05.

В серии предварительных исследований было установлено, что присутствующие в модельных препаратах аминокислоты затрудняют определение глюкозамина в исследуемых препаратах спектрофотометрическим методом. В связи с этим для определения истинного содержания глюкозамина использовали метод ВЭЖХ. На рис. 5 показана хроматограмма исходного стандартного раствора глюкозамина гидрохлорида.

Анализ хроматограмм исследуемых препаратов румалон и алфлутоп (рис. 6 и 7) позволил установить содержание в них глюкозамина – 3,6±0,05 и 1,51±0,04 мг/мл соответственно.

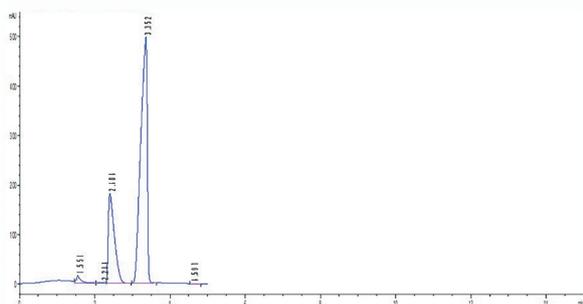
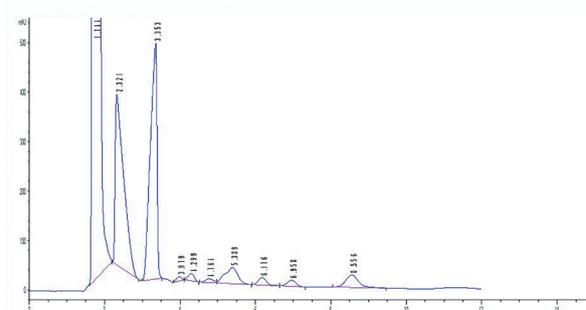


Рис. 5. Хроматограмма исходного стандартного раствора глюкозамина гидрохлорида с временем удерживания 3,352 мин
 Fig. 5. Chromatogram of the initial standard glucosamine hydrochloride standard solution with a retention time of 3.352 min



Предложенный алгоритм количественного определения компонентов пептидов природного происхождения, включающего в себя последовательность распространенных и общедоступных методик (идентификация образцов методом ИК-спектроскопии в сравнении со стандартными образцами; количественное определение хондроитина суль-

фата натрия, гиалуроновой кислоты, глюкозамина, белка и аминокислот методами ИК-спектроскопии и ВЭЖХ), может быть использован для определения минимальных значений активных компонентов и адъювантов пептидов природного происхождения при их исследованиях и регистрации в качестве лекарственных препаратов.

Результаты определения суммы аминокислот в испытуемых лекарственных препаратах, М±SD
The results of determining the amount of amino acids in the tested drugs, M±SD

Табл. 2.
Tabl. 2.

Препарат	Содержание аминокислот, мкмоль/мл		
	Свободные аминокислоты	После гидролиза	Количество, приходящееся на пептиды
Румалон с. 1717761	1,22±0,11	3,3±0,24	2,08±0,16
Алфлутоп с.3310418	10,98±0,47	17,6±0,72	6,62±0,31

Результаты исследований лекарственных препаратов, М±SD
The results of drug studies, M±SD

Табл. 3.
Tabl. 3.

Показатель	Румалон	Алфлутоп
Количественное определение хондроитина сульфата натрия, мг/мл	1,904±0,024 (с.1717751) 1,914±0,041 (с.1717761)	0,402±0,029 (с.3381017)
Количественное определение гиалуроновой кислоты, мг/мл	1,42±0,08 (с.1717751)	0,27±0,08 (с.3310418)
Количественное определение глюкозамина методом ВЭЖХ, мг/мл	3,60±0,05 (с.1717761)	1,51±0,04 (с.3310418)
Определение белка, мг/мл	0,36±0,01 (с.1717751) 0,45±0,03 (с.1717761)	Не определяется
Определение свободных аминокислот, мкмоль/мл	1,22 (с.1717761)	10,98 (с.3310418)
Определение аминокислот, входящих в состав пептидов	2,06 (с.1717761)	6,62 (с.3310418)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шабанов, П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры / П. Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8. – Вып. 3-4. – С. 2399–2425.
2. Бабина, С. А. Лекарственные средства на основе пептидов: применение, технологии получения / С. А. Бабина, А. Ю. Желтышева, Г. О. Шуклин [и др.] // Международный студенческий научный вестник: электронный журнал. – 2019. – № 3. – С. 21–29. – URL: <http://eduherald.ru/ru/article/view?id=19681> (дата обращения: 06.02.2020). – Текст: электронный.
3. Николаева, Т. И. Разработка комплекса низкомолекулярных пептидов коллагена с гликозаминогликановыми компонентами / Т. И. Николаева, К. С. Лауринавичюс, В. В. Капцов [и др.] – DOI 10.1007/s10517-018-4229-0 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165. – № 5. – С. 571–576.
4. Camarero-Espinosa S, Cooper-White J.J. Combinatorial presentation of cartilage-inspired peptides on nanopatterned surfaces enables directed differentiation of human mesenchymal stem cells towards distinct articular chondrogenic phenotypes. *Biomaterials*. 2019; 210: 105–15. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.04.003.
5. Pavelkřa K, Gatterovřa J, Gollerova V, et al. A 5-year randomized controlled, double-blind study of glycosaminoglycan polysulphuric acid complex (Rumalon®) as a structure modifying therapy in osteoarthritis of the hip and knee. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2000; 8: 335–42. DOI:10.1053/j.joca.1999.0307.
6. Anouz R, Repanas A, Schwarz E, Groth T. Novel Surface Coatings Using Oxidized Glycosaminoglycans as Delivery Systems of Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) for Bone Regeneration. *Macromol Biosci*. 2018; 18 (11): 1-10. DOI: 10.1002/mabi.201800283.

7. Zykwinska A, Marquis M, Godin M, et al. Microcarriers Based on Glycosaminoglycan-Like Marine Exopolysaccharide for TGF- β 1 Long-Term Protection. *Marine Drugs*. 2019; 17 (1): 65. DOI: 10.3390/md17010065.
8. Jian WH, Wang HC, Kuan CH, et al. Glycosaminoglycan-based hybrid hydrogel encapsulated with polyelectrolyte complex nanoparticles for endogenous stem cell regulation in central nervous system regeneration. *Biomaterials*. 2018; 174: 17–30. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.05.009.
9. Pan Y, Wang P, Zhang F, et al. Glycosaminoglycans from fish swim bladder: isolation, structural characterization and bioactive potential. *Glycoconj J*. 2018; 35 (1): 87–94. DOI: 10.1007/s10719-017-9804-5.
10. Yamada H, Nakamura U, Nakamura T. Study of the cartilage matrix production-promoting effect of chicken leg extract and identification of the active ingredient. *Nutrition Research and Practice*. 2019; 13 (6): 480–7. DOI: 10.4162/nrp.2019.13.6.480.
11. Prasanna P, Dutta D, Ganguly S, et al. Isolation and mass spectrometry based hydroxyproline mapping of type II collagen derived from *Capra hircus* ear cartilage. *Communications Biology*. 2019; 2: 11–21.
12. Государственная фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 14-е изд. – Т. 1. – Москва, 2018. URL: http://resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html (дата обращения: 06.02.2020). – Текст: электронный.
13. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). 2020. 10th edition. Available from: https://www.edqm.eu/en/european_pharmacopoeia_10th_edition.
14. Wu Y, Hussain M, Fassih R. Development of a simple analytical methodology for determination of glucosamine release from modified release matrix tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2005; 38 (2): 263–9. DOI: 10.1016/j.jpba.2005.01.001.
15. Shao Y, Alluri R, Mummert M, Koetter U. A stability-indicating HPLC method for the determination of glucosamine in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004; 35: 625–31. DOI: 10.1038/s42003-019-0394-6.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Венгерович Николай Григорьевич, д-р мед. наук, профессор кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; заместитель начальника научно-исследовательского отдела Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: nickolai.vengerovich@pharminnotech.com

Ефимов Николай Владимирович, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделением клинических исследований Дорожной клинической больницы открытого акционерного общества «Российские железные дороги», Санкт-Петербург, Россия; e-mail: nvef@rambler.ru

Рогожина Наталья Ивановна, магистрант Российского университета дружбы народов, Москва, Россия; e-mail: rogozhina26@gmail.com

Степченков Владимир Иванович, магистрант Российского университета дружбы народов, Москва, Россия; e-mail: vstepchenkov@icloud.com

ADDITIONAL INFORMATION ABOUT AUTHORS

Nikolai G. Vengerovich, Doctor of Medicine (MD), Professor of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; Deputy Head of Department State Research Institute of Military Medicine, Russian Federation of Ministry of Defense, Saint Petersburg, Russia; e-mail: nickolai.vengerovich@pharminnotech.com

Nikolai V. Efimov, Doctor of Medicine (MD), Professor, Head of Clinical Research Department, Railway Clinical Hospital JSCo “RZD”, Saint Petersburg, Russia; e-mail: nvef@rambler.ru

Natalia I. Rogozhina, master student, Peoples’ Friendship University of Russia, Moscow, Russia; e-mail: rogozhina26@gmail.com

Vladimir I. Stepchenkov, master student, Peoples’ Friendship University of Russia, Moscow, Russia; e-mail: vstepchenkov@icloud.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Approaches to the assessment of quantitative composition of drugs based on natural peptides containing glycosaminoglycan-peptide complex

©2020. N.G. Vengerovich^{1,2*}, N.V. Efimov³, N.I. Rogozhina⁴, V.I. Stepchenkov⁴

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

² Institute of Military Medicine, Russian Federation of Ministry of Defense, Saint Petersburg, Russia

³ NGHCI Railway Clinical Hospital JSCo "RZD", Saint Petersburg, Russia

⁴ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

* e-mail: nickolai.vengerovich@pharminnotech.com

Received December 01, 2019;

Revised January 05, 2020;

Accepted February 10, 2020

The preparations isolated from the biomaterial of farm animals and fish were studied. These preparations (rumalon, alflutop) cannot be obtained in equal proportions and concentrations during their production. An algorithm for quantitative determination of components of peptides of natural origin based on the study of model drugs containing a glycosaminoglycan-peptide complex has been developed. Using infrared spectroscopy and high performance liquid chromatography, the concentrations of chondroitin sodium sulfate, hyaluronic acid, glucosamine, protein, free amino acids and amino acids that make up the peptides (alflutop and rumalon) were established. In comparison with the majority of monocomponent drugs registered in the territory of the Russian Federation and containing chondroitin sodium sulfate at a concentration of 100 mg/ml, glucosamine drugs (200 mg/ml), hyaluronic acid drugs (10 mg/ml) it was found that the main active components of the studied drugs were more than 50, 100 and 7 times smaller. At the same time, the preparations under study contained a large percentage of free amino acids or short-chain peptides. It indirectly suggests their participation in the clinical efficacy of drugs based on natural peptides.

The developed algorithm for quantitative determination of components of peptide preparations of natural origin, including common and generally available methods sequence (identification of samples by infrared spectroscopy in comparison with standard samples, quantitative determination of chondroitin sodium sulfate, hyaluronic acid, glucosamine, protein and amino acids by infrared spectroscopy and highly efficient liquid chromatography) is advisable to use when determining minimum specific values of contents (concentrations) of active components and adjuvants of peptide origin in studies and registration of drugs based on them, as well as to justify ways in order to search and explain the mechanisms of action of such compounds.

KEYWORDS: peptides; glycosaminoglycan; chondroitin sulfate; hyaluronic acid; rumalon; alflutop; infrared spectroscopy; high performance liquid chromatography; amino acids; short-chain peptides