

УДК: 615.324; 532.132

Значение оригинальных признаков действующих веществ инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата для внутримышечных инъекций с позиций доказательной медицины

©2021. С.М. Напалкова¹, С.В. Оковитый¹, Д.Ю. Ивкин¹, А.О. Пятибрат²

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

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: svetlana.napalkova@pharminnotech.com

Поступила в редакцию 08.02.2021 г.

После доработки 25.03.2021 г.

Принята к публикации 30.03.2021 г.

В доступных нам информационных ресурсах нормоконтроля и информационной системе управления НИР Минобрнауки России нам не удалось посмотреть результаты и качество публикаций, отображающих разработку методик и их валидацию по количественному и качественному определению значений признаков инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения.

В связи с этим в настоящее время остаются актуальными результаты, полученные в ходе научно-исследовательской работы на тему: «Разработка методики определения характеристической вязкости инъекционного препарата на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл», а сама методика характеризуется как рабочая и достоверная.

Материалы и методы, которые применялись в ходе исследования по разработке «Методики определения характеристической вязкости инъекционного лекарственного препарата на основе хондроитина сульфата натрия», позволили доказать возможность определения характеристической вязкости для инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата натрия для внутримышечного введения и применения 0,2 М раствора натрия хлорида в качестве растворителя. Также был произведен корректный и достоверный расчет вязкости испытуемых растворов в концентрационном диапазоне хондроитина сульфата 4,5–20 мг/мл, при этом значение характеристической вязкости, определенной для каждого из испытуемых препаратов, находилось в интервале 0,03–0,042 м²/кг.

В статье мы приводим результаты обзора опубликованных в ряде научных изданий актуальных сведений о современных подходах к лечению и об основных проблемах клинического течения при применении хондропротекторов для лечения артрологических заболеваний.

Учитывая продолжающийся интерес к хондропротекторам, сложности в обеспечении стабильности рецептур на их основе и современные возможности применения машинного обучения в разработке лекарственных средств, мы планируем провести дополнительные исследования в сфере фармацевтического дизайна – Drugdesign от уровня докинга до уровня расчетов на квантовом уровне.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хондропротекторы; хондроитина сульфат натрия; характеристическая вязкость; лекарственный препарат; парентеральное введение; артрологические и ревматические заболевания; клинические исследования; фармацевтический дизайн

DOI: 10.17816/phf64375/2713-153X-2021-1-3-32-45

СОКРАЩЕНИЯ:

ХС – хондроитина сульфат натрия;
 НИР – научно-исследовательская работа;
 ОА – остеоартроз;
 ИЛ – интерлейкин;
 ММП – матриксные металлопротеиназы;
 НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты;
 SYSADOA – Symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis;
 NO – оксид азота;
 ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2;
 NF-kB – фактор ядерной транслокации;
 СРБ – С-реактивный белок;
 РКИ – рандомизированные контролируемые исследования.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для лечения артрологических заболеваний выпускаются две группы лекарственных препаратов – хондропротекторов по своему происхождению.

Первая группа (мукополисахариды) создана на основе биоактивных концентратов животных тканей. Лекарственные препараты из них обладают довольно высокой терапевтической активностью, однако обладают рядом побочных реакций и противопоказаний.

Вторая группа лекарственных препаратов содержит в виде фармацевтической субстанции хондроитина сульфат натрия.

Из второй группы широко известен инъекционный препарат «Мукосат». В ходе проведения серии экспериментов по изучению его качественных и количественных действующих веществ в соответствии с требованиями Европейской и Британской фармакопей было показано, что субстанции, имеющие характеристическую вязкость от 0,01 до 0,15 м³/кг, позволяют получать лекарственную форму препарата на основе Na-соли хондроитина сульфата соответствующего качества.

Также известно изобретение, относящееся к области медицины, а именно – к составу инъекционной формы лекарственного препарата хондроитина сульфата натрия (ХС) для лечения артрологических и ревматических заболеваний. Это лекарственное средство включает Na-соль хондроитина сульфата с характеристической вязкостью (η), равной 0,01-0,05 м³/кг, в количестве 4–12 мас.%, бензиловый спирт в качестве консерванта в количестве 0,8–1,2 мас.% и воду. Средство может дополнительно включать стабилизатор – натрия бисульфит в количестве 0,09–0,11 мас.%. Инъекционная лекарственная форма ХС обеспечивает необходимый

терапевтический эффект при отсутствии таких побочных явлений, как болевой синдром в момент введения и появление уплотнений в местах инъекций (Патент РФ №2612014 от 19.10.2015 г.).

Изучение специфического действия лекарственного препарата на некоторых экспериментальных моделях патологических процессов хрящевой ткани показало, что препарат обладает свойствами, аналогичными характерным для лекарственных препаратов на основе мукополисахаридов при тех же терапевтических дозах (табл. 1, 2) (Патент РФ №2612014 от 19.10.2015 г.)

В настоящее время инъекционные лекарственные препараты на основе ХС продолжают распространяться на отечественном фармацевтическом рынке. Экспериментально и клинически подтверждено, что их качество напрямую зависит от качества субстанции.

В ходе проведенной НИР на тему «Разработка методики определения характеристической вязкости инъекционного препарата на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл» получены количественные и качественные данные, которые позволяют сделать заключение об эффективности и безопасности лекарственных препаратов на основе хондроитина сульфата (Отчет о научно-исследовательской работе 18-12-ОТ-210817/02).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы и методы, которые применялись в ходе исследования по разработке «Методики определения характеристической вязкости инъекционного лекарственного препарата на основе хондроитина сульфата натрия», позволили доказать возможность определения характеристической вязкости для инъекционных препаратов на основе ХС

Распределение по группам

Табл. 1.

Distribution by group

Table 1.

Группа 1 30 животных	Группа 2 30 животных	Группа 3 30 животных	Группа 4 30 животных	Группа 5 30 животных
Хондроитин сульфат, произведенный из субстанции с вязкостью 0,01 м ³ /кг	Хондроитин сульфат, произведенный из субстанции с вязкостью 0,029 м ³ /кг	Хондроитин сульфат, произведенный из субстанции с вязкостью 0,04 м ³ /кг	Хондроитин сульфат, произведенный из субстанции с вязкостью 0,05 м ³ /кг	Хондроитин сульфат, произведенный из субстанции с вязкостью 0,15 м ³ /кг

Возникновение побочных эффектов

Табл. 2.

Occurrence of side effects

Table 2.

	Группа 1 30 животных	Группа 2 30 животных	Группа 3 30 животных	Группа 4 30 животных	Группа 5 30 животных
Выраженный болевой синдром при инъекционном введении препарата	0 крыс	1 крыса	7 крыс	8 крыс	У всех крыс данной группы
Наличие уплотнений	0 крыс	0 крыс	1 крыса	1 крыса	20 крыс
Наличие геморрагий	0 крыс	0 крыс	0 крыс	1 крыса	7 крыс
Наличие инфильтратов	0 крыс	0 крыс	0 крыс	0 крыс	1 крыса



для внутримышечного введения и применения 0,2 М раствора натрия хлорида в качестве растворителя. Также был произведен корректный и достоверный расчет вязкости испытуемых растворов в концентрационном диапазоне хондроитина сульфата 4,5–20 мг/мл, при этом значение характеристической вязкости, определенной для каждого из испытуемых препаратов, находилось в интервале 0,03–0,042 м³/кг.

В качестве объектов исследования при разработке методики были использованы инъекционные препараты на основе ХС:

– «Мукосат» для внутримышечного введения, 100 мг/мл, 2 мл (ООО «Диамед-Фарма»);

– «Драстоп» раствор для внутримышечного введения, 100 мг/мл, 2 мл («Уорлд Медичин Лимитед», Великобритания, производитель К.О. «Ромфарм Компани С.Р.Л.», Румыния);

– «Хондрогард», раствор для внутримышечного введения, 100 мг/мл, 2 мл (ЗАО «ФармФирма «Сотекс»).

Как следует из отчета о научно-исследовательской работы на тему «Разработка методики определения характеристической вязкости инъекционного препарата на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл», он отображает разработку заявленной методики, а его разделы 3. Материалы и методы; 4. Приготовление растворов; 5. Порядок проведения испытаний; 6. Результаты; Приложение А Методика (Вариант 1) и Методика (Вариант 2) выполнены на основании ОФС.1.2.1.0015.15. (Отчет о научно-исследовательской работе 18-12-ОТ-210817/02).

В Приложении 1 «Извлечение из отчета о Научно-исследовательской работе 18-12-ОТ-210817/02 мы представляем основные разделы из отчета о научно-исследовательской работе на тему: «Разработка методики определения характеристической вязкости инъекционного препарата на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В доступных нам информационных ресурсах нормоконтроля и информационной системе управления НИР Минобрнауки России в разделах «Сведения о публикациях» и «Публикации научных организаций» нам не удалось посмотреть результаты и качество публикаций, отображающих разработку методик и их валидации по количественному и качественному определению значений признаков инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения.

В связи с этим в настоящее время остаются актуальными результаты, полученные в ходе разработки методики по определению характеристической вязкости, а сама методика характеризуется как рабочая и достоверная.

Далее мы приводим результаты обзора научных изданий о современных подходах к лечению и об основных проблемах клинического течения при применении хондропротекторов для лечения артрологических заболеваний.

Наиболее распространенным заболеванием опорно-двигательного аппарата является остеоартроз – заболевание суставов, возникающее под воздействием различных эндогенных и экзогенных причин, приводящих к поражению всех компонентов сустава. Ожидается, что в ближайшее время, по мере увеличения продолжительности жизни, ОА станет четвертой ведущей причиной инвалидности [1–3].

Ключевую роль в развитии ОА играют интерлейкин 1β и оксид азота. ИЛ-1β вызывает индукцию катаболических процессов, включая гиперэкспрессию таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли α, ИЛ-6, матриксные металлопротеиназы, синтаза азота, циклооксигеназа-2. Оксид

азота способен ингибировать синтез макромолекул хряща, повышать активность ММП, увеличивать количество простагландинов и лейкотриенов, уменьшать выработку противовоспалительных цитокинов, способствовать апоптозу хондроцитов.

Лечение ОА является достаточно сложной задачей и определяется целым рядом факторов, таких как многообразие патогенетических механизмов развития заболевания; наличие хронической боли; прогрессирующий характер повреждения хряща и субхондральной кости; преимущественное развитие ОА у пациентов пожилого возраста; наличие коморбидных состояний, требующих использования лекарств для их лечения; необходимость длительного многолетнего лечения, что заставляет применять препараты с хорошим профилем безопасности и отсутствием значимого взаимодействия с другими лекарственными средствами.

Основной целью фармакотерапии ОА является минимизация основных клинических проявлений, т.е. улучшение качества жизни пациента. В соответствии с данными доказательной медицины и рекомендациями международных экспертов в качестве первого шага в фармакологическом лечении выделяют два направления:

1) быстрое снижение болевого синдрома и воспалительных изменений в суставах с использованием анальгетиков, нестероидных противовоспалительных препаратов и глюкокортикоидов;

2) замедление дегградации компонентов хряща и прогрессирования болезни с помощью симптоматических препаратов замедленного действия (Symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis – SYSADOA) [4–6].

Неселективные НПВП, обеспечивающие эффективное купирование симптомов остеоартроза, часто вызывают побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы и способны усугублять тяжесть ОА, неблагоприятно влияя на состояние хряща путем снижения синтеза гликозаминогликанов, необходимых для его регенерации.

Фармакологическое действие SYSADOA связано с подавлением активации цитокинового каскада, сопровождающего развитие хронического воспаления и деструкцию хрящевой ткани, что подчеркивает их патогенетически обусловленное действие при ОА.

Поэтому наиболее перспективной группой являются SYSADOA, которая в РФ получила название хондропротекторов [4].

Согласно рекомендациям Европейской антиревматической лиги (2003) и Европейского общества по клиническим и экономическим аспектам остеопороза, остеоартрита и заболеваний опорно-двигательного аппарата (2016), для ОА коленных суставов доказанным является симптоматический эффект глюкозамина сульфата и хондроитина сульфата [7]. Они являются базисными препаратами, обеспечивающими компенсацию дефицита гликозаминогликанов, защиту хряща от дегенерации, и оказывают противовоспалительное и вторичное обезболивающее действие.

К настоящему времени среди SYSADOA в лечении ОА наибольшая доказательная база имеется для ХС, который является естественным компонентом элементов хряща и играет биологически активную роль во многих процессах метаболизма различных структур сустава.

Хондроитин сульфат натрия представляет собой сульфатированный гликозаминогликан, состоящий из длинных неразветвленных полисахаридных цепей с повторяющимися остатками N-ацетилгалактозамина и глюкуроновой кислоты. Полисахаридные цепи, создавая ковалентные связи с белками,

образуют протеогликаны, которые, совместно с макромолекулами коллагена, обеспечивают растяжимость ткани экстрацеллюлярного матрикса и ее устойчивость к компрессии. Молекула ХС принимает участие в транспорте воды, аминокислот и липидов в васкулярных участках хряща, что обеспечивает вязкоэластичные и механические свойства ткани, способствует нормальному функционированию хряща.

Многообразие механизмов действия ХС установлено результатами целого ряда экспериментальных исследований. Хондроитинсульфат подавлял NO-индуцированный апоптоз хондроцитов. Значимое уменьшение апоптозахондроцитов приводило к увеличению производства протеогликанов хондроцитами, оказывало протективное влияние на хрящ. Подавление синтеза ММП предотвращало хрящевую и костную деструкцию, индуцированную ИЛ-1 β экспрессию генов синтазы азота, ЦОГ-2 и простагландина E₂. ХС уменьшал уровень ИЛ-6 в сыворотке крови, стимулировал производство синовиоцитами высокомолекулярной гиалуроновой кислоты. Кроме того, использование ХС улучшает микроциркуляцию в субхондральной кости за счет подавления синтеза липидов, связывания E-селектина, мобилизации фибрина, липидов и холестерина в кровеносных сосудах субхондральной кости. Получены данные о возможности ХС уменьшать резорбцию субхондральной кости, ингибировать продукцию ЦОГ-2, простагландина E₂ и ММП ИЛ-1-стимулированными остеобластами в субхондральной кости. Продемонстрирована также способность ХС подавлять воспалительный процесс за счет ингибирования фактора ядерной транслокации – NF- κ B. На модели артрита у крыс ХС уменьшал выраженность артрита, подавляя продукцию провоспалительных цитокинов, C-реактивного белка и фагоцитарную активность.

ХС обладает глейотропным эффектом и может применяться и при других заболеваниях. Получены данные, в которых показана способность ХС ингибировать NF- κ B в гепатоцитах. ХС снижал маркеры системного воспаления (ИЛ-6 и СРБ), приводил к отчетливому снижению проявлений атеросклероза при рестенозе бедренной артерии и уменьшал проявления атеросклероза в аорте.

Клиническая эффективность и переносимость ХС у больных ОА изучены в достаточно большом количестве рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях. Предвзятость, применение различных торговых наименований, неоднородность экспертных комиссий, географические различия, доступность фармакотерапии и неоднородность исследований были факторами, объясняющими противоречивость клинических результатов испытаний [3]. Обобщенные данные анализа всех РКИ, метаанализов и систематических обзоров, посвященных исследованию эффективности ХС при ОА доказывают, что ХС обладает симптоматическим действием (снижает боль и улучшает функцию у пациентов с ОА коленного сустава), замедляет сужение суставной щели [1–3, 8]. Особенностью применения препаратов группы SYSADOA является наступление эффекта спустя 2–8 недель от начала терапии и его сохранение в течение 2–3 месяцев после окончания лечения [1–3]. Это лечение в течение года оказалось экономически эффективным у пациентов с ОА коленного сустава [2]. Особо следует отметить хорошую переносимость и высокий профиль безопасности ХС, которые были отмечены во всех известных клинических исследованиях, в т.ч. и при длительном применении [1, 2, 6].

Большинство известных к настоящему времени препаратов ХС выпускается в виде форм для перорального применения. При попадании в ЖКТ происходит разрушение большинства молекул ХС, и в системный кровоток попадают преимущественно низкомолекулярные дериваты, имеющие

низкий потенциал терапевтической активности. Доля нативных молекул в системном кровотоке при пероральном приеме составляет около 10%. Максимальная концентрация препарата в крови достигается через 3–4 ч после приема, а в синовиальной жидкости – через 4–5 часов. В среднем биодоступность ХС при пероральном приеме составляет 12–15% [1, 4].

При внутримышечном введении значительные концентрации препарата в системном кровотоке выявляются уже через 30 мин, а максимальная концентрация достигается через час. В синовиальной жидкости препарат выявляется уже через 15 мин после внутримышечной инъекции, а максимальная концентрация ХС в хрящевой ткани достигается через 48 часов. Внутримышечный способ введения ХС увеличивает биодоступность и долю нативных молекул в системном кровотоке, благодаря чему может повышаться эффективность проводимой терапии, быстрее развиваться симптоматический эффект. Преимуществами раствора ХС для внутримышечного применения также является хорошая переносимость, в т.ч. у больных с коморбидными состояниями.

Однако следует отметить и недостатки парентерального пути введения лекарственных препаратов на основе ХС: боль во время выполнения манипуляции, возникновение уплотнений, геморрагий и инфильтратов в месте инъекций. Данные нежелательные явления могут возникать из-за высокой вязкости раствора ХС [9]. В связи с чем была разработана и валидирована методика по выявлению безопасного интервала значений характеристической вязкости раствора ХС [Приложение 1], что позволяет контролировать характеристическую вязкость при производстве раствора ХС на предприятии-производителе лекарственных средств и обеспечить заявленное качество лекарственного средства, а побочные действия свести к нулю.

ВЫВОДЫ

Исходя из оценки результатов проведенных клинических исследований, можно сделать следующие выводы:

1. ХС обладает многообразными механизмами действия и может оказывать влияние на различные механизмы развития и прогрессирования ОА, уменьшает боль, скованность, улучшает функциональные показатели.
2. Противовоспалительный эффект ХС сравним с НПВП, их можно сочетать друг с другом, что позволяет снизить дозу НПВП. При этом, практически, не развиваются побочные эффекты, снижается риск деструкции хряща на фоне приема НПВП.
3. Эффект сохраняется после окончания курса лечения.
4. Результаты исследования, качественные и количественные характеристики, приведенные в методике (Приложение 1) позволяют рекомендовать ее при посерийном контроле качества при производстве лекарственных средств с ХС. Определение характеристической вязкости, по нашему мнению, возможно сделать обязательным параметром в оценке качества лекарственного средства и рекомендовать внести его в методические рекомендации Минздрава РФ.

Инъекционные формы ХС могут быть использованы как в рамках инициальной терапии ОА для индукции ремиссии, так и для систематического применения в лечении заболевания [1, 5]. Однако они нуждаются в совершенствовании.

Также, по нашему мнению, можно рассматривать хондроитина сульфат как основу для симптоматического лечения ОА коленного сустава легкой и средней степени. Но нет доказательств того, что эти результаты могут быть экстраполированы на нутрицевтические препараты ХС, дженерики или препараты, отпускаемые без рецепта.

Учитывая продолжающийся интерес к хондропротекторам, сложности в обеспечении стабильности рецептур на их

основе и современные достижения в применении машинного обучения в разработке лекарственных средств, желателен провести дополнительные исследования в сфере фармацевтического дизайна – Drugdesign (определение селективности при помощи докинга, прогнозирование клеточной проницаемости при помощи машинного обучения, проверка точности докинга) от уровня докинга до уровня расчетов на квантовом уровне.

Предполагаемый порядок наших будущих исследований предусматривает:

1. Выбор и оценку мишени.
2. Подготовку структуры мишени при помощи программы Schrodinger Maestro 12.5 (Release 2020-3).
3. Проведение докинга при помощи программы Schrodinger Glide (Release 2020-3): необходимо определить поле, подготовить лиганды, определить количество конформаций и пространство поиска, натянуть сетку.
4. Оценка молекулярной динамики при помощи программы Schrodinger Prime (Release 2020-3). Золотым стандартом и первой проверкой результатов докинга на сегодняшний день

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Имамединова, Г.Р. Хондритина сульфат при заболеваниях опорно-двигательного аппарата: эффективность и безопасность с позиций доказательной медицины / Г.Р. Имамединова, Н.В. Чичасова // РМЖ. – 2016. – № 22. – С. 1481–1488.

2. Honvo G, Bruyère O, Reginster J-Y. Update on the role of pharmaceutical-grade chondroitin sulfate in the symptomatic management of knee osteoarthritis. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2019; 31:1163–67. DOI: 10.1007/s40520-019-01253-z.

3. Honvo G, Bruyère O, Geerinck A, et al. Efficacy of Chondroitin Sulfate in Patients with Knee Osteoarthritis: A Comprehensive Meta-Analysis Exploring Inconsistencies in Randomized, Placebo-Controlled Trials. *Adv. Ther.* 2019; 36:1085–99. DOI: 10.1007/s12325-019-00921-w.

4. Клиническая фармакология: национальное руководство / под редакцией Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепихина [и др.] – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 976 с.

5. Насонов, Е.Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита с позиций доказательной медицины: новые рекомендации / Е.Л. Насонов // *Consilium medicum*. – 2001. – Т. 3. – № 9. – С. 408–415.

6. Honvo G, Reginster J-Y, Rabenda V, et al. Safety of Symptomatic Slow-Acting Drugs for Osteoarthritis: Outcomes of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Drugs & Aging*. 2019; 6 (Suppl. 1): S65–S99. DOI: 10.1007/s40266-019-00662-z.

7. Pendleton A, Arden N, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of knee osteoarthritis:

является проверка при помощи молекулярно-динамического подхода MMGBSA или MMPBSA.

5. Квантово-механическая оценка энергии встраивания лиганда ORCA 4.2.1 (разработка Max Planck Institute). Данный этап заключается в применении гораздо более тонких и точных методов оценки связывания перспективных комплексов, полученных при помощи докинга.

Методами квантовой химии проводится дооптимизация геометрии лиганда. Далее, выполняется квантово-механический расчет энергии комплекса из первых принципов и дополнительные расчеты при помощи методов повышенной точности с учетом обменно-корреляционного взаимодействия.

По нашему мнению, такой подход позволит разработать более качественный лекарственный препарат на основе хондритина сульфата натрия. Все этапы предполагается сопровождать экспериментами на животных.

Результаты этих исследований мы планируем опубликовать в будущих наших статьях.

report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann. Reum. Dis.* 2000; 59: 936–44.

8. Beaudart C, Lengel L, Leclercq V, et al. Symptomatic Efficacy of Pharmacological Treatments for Knee Osteoarthritis: A Systematic Review and a Network Meta-Analysis with a 6-Month Time Horizon. *Drugs*. 2020; 80:1947–59. DOI: 10.1007/s40265-020-01423-8.

9. Патент № 2612014 Российская Федерация, МПК А61К 35/32 (2015.01) А61К 35/12 (2015.01) А61К 31/726 (2006.01) А61К 47/10 (2006.01) А61К 9/08 (2006.01) А61Р 19/00 (2006.01). Средство для лечения артрологических заболеваний: № 2015144704: заявл. 19.10.2015; опубл. 01.03.2017 / Шестаков В.Н., Персанова Л.В., Савельева К.Р., Андреевичева Т.Ю.; патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «ДИАМЕД-фарма» (RU). – 6 с.

10. Венгерович, Н.Г. Подходы к оценке количественного состава лекарственных средств на основе пептидов природного происхождения, содержащих гликозаминогликан-пептидный комплекс / Н.Г. Венгерович, Н.В. Ефимов, Н.И. Рогожина [и др.] // *Формулы Фармации*. – 2020. – Т. 2. – № 1. – С. 8–15. DOI: 10.17816/phf20390/2713-153x-2020-1-2-08-15.

11. Самородская, И.В. Сравнение подходов к терапии хондропротекторами на основании анализа клинических рекомендаций разных стран / И.В. Самородская, В.И. Степаченков // *Медицинский совет*. – 2020 – № 4. – С. 153–161. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-4-153-161.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Светлана Михайловна Напалкова, д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: svetlana.napalkova@pharminnotech.com

Сергей Владимирович Оковитый, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

Дмитрий Юрьевич Ивкин, канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Александр Олегович Пятибрат, д-р мед. наук, профессор кафедры мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: a5brat@yandex.ru

ADDITIONAL INFORMATION ABOUT AUTHORS

Svetlana M. Napalkova, D.Sc. in Biology, Professor, Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: svetlana.napalkova@pharminnotech.com

Sergey V. Okovityi, Doctor of Medicine (MD), Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: sergey.okovityi@pharminnotech.com

Dmitriy Y. Ivkin, Ph.D. in Biological Sciences at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Alexander O. Pyatibrat, Doctor of Medicine (MD), Professor of the Department of Mobilization Training of Public Health and Disaster Medicine, Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; e-mail: a5brat@yandex.ru

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

The significance of the original characteristics of the active substance of injectable chondroitin sulfate preparations for intramuscular injections in the evidence-based medicine

©2021. S.M. Napalkova¹, S.V. Okovityi¹, D.Y. Ivkin¹, A.O. Pyatibrat²

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

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

* e-mail: svetlana.napalkova@pharminnotech.com

Received February 08, 2021;

Revised March 25, 2021;

Accepted March 30, 2021

Given the data from normative control resources and the research and development information system of the Ministry of Science and Education of the Russian Federation, we were unable to review the results and the quality of publications comprising method development and analytical validation of quantitative and qualitative values of injectable chondroitin sulfate preparations for intramuscular injections.

Therefore, the results obtained in the research "The development of a method for determining the intrinsic viscosity of an injectable chondroitin sodium sulfate preparation for intramuscular injections of 100 mg/mL, 2 mL" remain valid, the method is considered reliable and practical.

The materials and methods used in the research "The development of a method for determining the intrinsic viscosity of an injectable chondroitin sulfate preparation" have provided the possibility to determine the intrinsic viscosity for injectable chondroitin sodium sulfate preparations for intramuscular injections and the use of 0.2 M sodium chloride solution as a solvent. Also, the viscosity of the tested solutions in the concentration range of chondroitin sulfate 4.5-20 mg/ml was accurately calculated, the value of the intrinsic viscosity determined for each of the preparations under test was in the range of 0.03-0.042 m³/kg.

This study presents the results of a review of recent information, published in a number of academic journals, concerning modern approaches to the treatment and major clinical problems when applying chondroprotectors for arthrological diseases treatment.

Considering the continuing interest in chondroprotectors, stability problems with formulations and modern possibilities in the application of machine learning in drug discovery, additional pharmaceutical design research (Drug design) is expected - from the docking stage to the quantum calculations stage.

KEYWORDS: chondroprotectors; chondroitin sodium sulfate; intrinsic viscosity; drug preparation; parenteral administration; arthrological diseases; clinical research; drug design

ПРИЛОЖЕНИЕ К СТАТЬЕ

«Значение оригинальных признаков действующих веществ инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата для внутримышечных инъекций с позиций доказательной медицины», © 2021. С.М. Напалкова, С.В. Оковитый, Д.Ю. Ивкин, А.О. Пятибрат

Приложение 1

Извлечение из отчета о научно-исследовательской работе 18-12-ОТ-210817/02

ФБУ «ГИЛС и НП»	ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ		
	РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКОЙ ВЯЗКОСТИ	18-12-ОТ-210817/02	
	Дата составления 21.08.2017	Версия	1
		Лист 1	Листов 19

АВТОРЫ: Савельева К.Р., Персанова Л.В., Поляков С.В., Глембоцкий С.В., Маринченко Н.Т.

СОДЕРЖАНИЕ:

1. ЦЕЛЬ	4
2. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	4
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	4
3.1. ОБОРУДОВАНИЕ	4
3.2. РЕАКТИВЫ	5
3.3. СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ	5
3.4. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	5
4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ	5
5. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ	6
6. РЕЗУЛЬТАТЫ	18
ПРИЛОЖЕНИЕ	19

1. ЦЕЛЬ

Настоящий отчет отображает разработку методики определения характеристической вязкости в инъекционном препарате на основе хондроитина сульфата раствора для внутримышечного введения. Разработка методики была проведена на основании ОФС. 1.2.1.0015.15. Определение характеристической вязкости было проведено с использованием капиллярного вискозиметра.

2. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вязкость – свойство текучих тел оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой.

Удельная вязкость – вязкость, которая показывает относительное приращение вязкости чистого растворителя при прибавлении к нему полимера.

Приведенная вязкость – удельная вязкость, отнесенная к единице концентрации раствора.

Характеристическая вязкость – величина приведенной вязкости бесконечно разбавленного раствора.

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

3.1. Оборудование

- Весы аналитические неавтоматического действия «Secura 225D-10RU» (класс точности Специальный – I по ГОСТ OIML R 76-1-2009), Sartorius Германия.

- Титратор автоматический Т 50 в комплекте с фототродом DP5 Mettler Toledo, Швейцария.

- Капиллярный вискозиметр (внутренний диаметр капилляра 0,54 мм).

- Секундомер Агат СОСпр-2б-2-000.

- Колбы мерные класса А, вместимостью 50 мл, 100 мл, 500 мл.

- Пипетки мерные класса А, вместимостью 2 мл, 5 мл, 10 мл.

3.2. Реактивы

- Натрия хлорид Рапгеас кат. № 131659.1210.

- Цетилпиридиний хлорид, с содержанием активного вещества не менее 99,0% Sigmaкат. №С9002.

3.3. Стандартные образцы

Хондроитина сульфата натрия Стандарт Европейской Фармакопеи код Y0000280, серия 2.0, идентификационный номер 003U61.

3.4. Исследуемые образцы

1. «Мукосат» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл ООО «Диамед-Фарма».

2. «Хондрогард» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл серия 170317, годен до 03.2020, ЗАО ФармФирма «Сотекс».

3. «Драстоп» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл, 2 мл серия 1701941, годен до 03.2020, «Уорлд Медицин Лимитед», Великобритания, Производитель К.О. «Ромфарм Компани С.Р.Л.», Румыния.

4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ

Растворы для количественного определения хондроитина сульфата

Стандартный раствор хондроитина сульфата натрия

0,025 г (точная навеска) стандартного образца хондроитина сульфата натрия (предварительно высушенного при температуре 105 °С в течение 4 часов) помещают в мерную колбу объемом 25 мл, растворяют в воде, раствор доводят до метки тем же растворителем, фильтруют через мембранный фильтр тира Millex-NA с размером пор 0,45 мкм или аналогичный. 2,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, раствор доводят до метки водой.

Испытуемый раствор

1 мл препарата помещают в мерную колбу объемом 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора до метки тем же растворителем. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр тира Millex-NA с размером пор 0,45 мкм или аналогичный. 2,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу объемом 50 мл и доводят объем раствора до метки водой.

Раствор титранта

0,5 г цетилпиридиния хлорида моногидрата помещают в мерную колбу объемом 500 мл, растворяют в воде, доводят до метки тем же растворителем.

Растворы для определения характеристической вязкости

0,2 М раствор натрия хлорида

11,7 г натрия хлорида помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 950 мл воды, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Перед использованием раствор фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диаметром пор не более 0,45 мкм. Срок годности – 2 недели при хранении в холодильнике.

Испытуемый раствор 1

20 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл раствора натрия хлорида, доводят объем до метки тем же растворителем. Раствор перемешивают при комнатной температуре и фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диамет-

ром пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

Испытуемый раствор 2

К 15 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 3

К 12,5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 7,5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 4

К 10 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 10 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствора 5

К 5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 15 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

5. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

Количественное определение хондроитина сульфата

Определение количественного содержания хондроитина сульфата натрия в исследуемых препаратах было проведено для точного построения графика зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата.

Определение количественного содержания хондроитина сульфата в испытуемых инъекционных препаратах было проведено методом турбидиметрического титрования раствором цетилпиридиния хлорида. Добавление цетилпиридиния хлорида к раствору хондроитина сульфата приводит к образованию нерастворимой ионной пары с сульфатной группировкой. Получившийся продукт образует преципитаты в растворе, что ведет к возрастанию мутности, которая может быть измерена с помощью фототрода, погруженного в раствор образца.

Методика испытания

По 50 мл стандартного и испытуемого растворов были оттитрованы раствором титранта цетилпиридиния хлорида. Для определения конечной точки титрования использовали автотитратор, снабженный фототродом с длиной волны в видимой области 520 нм.

Результаты турбидиметрического титрования представлены в таблице 1. Стандартные и испытуемые растворы были приготовлены в шести повторениях.

Табл. 1.

Результаты турбидиметрического титрования.

№ п/п	Объем титранта, пошедший на титрование СО, мл	Объем титранта, пошедший на титрование препарата «Мукосат», мл	Объем титранта, пошедший на титрование препарата «Хондрогард», мл	Объем титранта, пошедший на титрование препарата «Драстоп», мл
1	3,922	3,993	4,005	3,863
2	3,937	4,016	3,990	3,611
3	3,907	3,992	4,105	3,882
4	4,015	3,975	3,961	3,696
5	3,982	4,105	4,086	3,735
6	4,064	4,061	3,866	3,792
Среднее	3,971	4,024	4,002	3,763
Количественное содержание хондроитина сульфата в препарате, мг/мл		99,5	99,0	93,1

Методика определения характеристической вязкости

Водные растворы ионизированных макромолекул хондроитина сульфата имеют аномальную зависимость приведенной вязкости от концентрации раствора: их приведенная вязкость растет с уменьшением концентрации полиэлектролита, что делает невозможным определение характеристической вязкости раствора полиэлектролита. Возрастание приведенной вязкости водного раствора полиэлектролита при разбавлении вызвано так называемым полиэлектролитным набуханием, т.е. увеличением объема и линейных размеров макромолекулярных клубков из-за усиления электростатического отталкивания одновременно заряженных звеньев цепи.

Полиэлектролитное набухание устраняется либо в присутствии избытка нейтрального низкомолекулярного электролита, либо при поддержании постоянной ионной силы в растворе в ходе разбавления. Тогда концентрация компенсирующих противоионов в молекулярных клубках не изменяется при разбавлении и полиэлектролит ведет себя в растворе как незаряженный полимер.

Для получения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации водный раствор полиэлектролита разбавляли растворами соли разных концентраций. Ионная сила раствора в ходе разбавления остается постоянной, а подобранная концентрация низкомолекулярного электролита в точности равняется ионной силе исходного раствора полиэлектролита.

На основании данных определения характеристической вязкости субстанции хондроитина сульфата натрия в качестве низкомолекулярного электролита был использован 0,2 М раствор натрия хлорида.

В колено трубки вискозиметра наливали объем жидкости, равный 20 мл и вискозиметр помещали в вертикальном положении в водяной термостат с температурой 25±0,1 °С, удерживая его в этом положении не менее

30 мин для установления температурного равновесия. Производили повышение уровня жидкости в вискозиметре через отверстие до тех пор, пока жидкость не поднялась выше отметки. Время t, которое требуется, чтобы мениск прошел расстояние между верхней и нижней отметками, измеряли секундомером с точностью до 0,2 с.

Время истечения испытуемой жидкости определяли, как среднее не менее чем трех измерений.

В таблице 2 приведены значения по времени истечения раствора натрия хлорида и отклонения от среднего значения.

Полученные данные являются достоверными, поскольку результат отдельного эксперимента отличается от среднего результата не более чем на 0,35%.

Для доказательства возможности применения 0,2 М раствора натрия хлорида в качестве растворителя для устранения полиэлектролитного набухания были приготовлены серии растворов препарата «Мукосат». В таблице 3 приведены значения времени истечения растворов препарата и их концентрации

Концентрацию испытуемого раствора в мг/мл рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{V \cdot X \cdot a}{100}$$

Значение приведенной вязкости (м³/кг) рассчитывали по формуле:

$$\eta_{\text{прив}} = \frac{(\tau - \tau_0) \cdot 100}{\tau_0 \cdot V \cdot X \cdot a}$$

где

τ – время истечения испытуемого раствора, в секундах;

τ₀ – время истечения раствора натрия хлорида, в секундах;

Табл. 2. Время истечения 0,2 М раствора натрия хлорида и отклонение от среднего значения

№ п/п	Время истечения раствора натрия хлорида, с	Отклонение от среднего значения, %
1	76,6	0,349
2	76,1	0,306
3	76,3	0,044
4	76,4	0,087
5	76,4	0,087
6	76,2	0,175
Среднее	76,33	

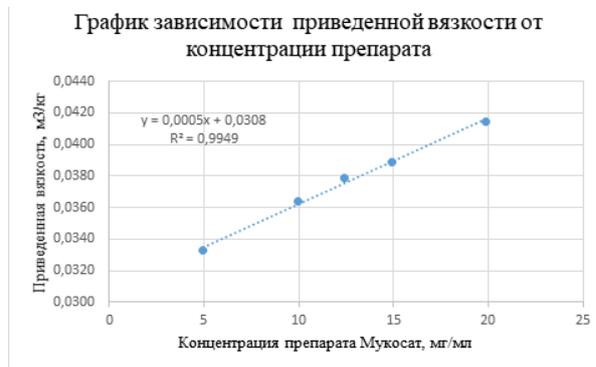


Рис. 1. График зависимости приведенной вязкости (м³/кг) от концентрации препарата «Мукосат» (мг/мл).

Табл. 3. Значения времени истечения растворов препарата «Мукосат» и отклонение результата от среднего значения.

Препарата «Мукосат» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл									
Концентрация 19,9 мг/мл		Концентрация 14,925 мг/мл		Концентрация 12,44 мг/мл		Концентрация 9,95 мг/мл		Концентрация 4,975 мг/мл	
т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%
139,3	0,024	120,7	0,028	112,2	0,059	104	0,032	88,9	0,075
139,3	0,024	120,7	0,028	112,4	0,119	103,8	0,160	89,0	0,037
139,4	0,048	120,6	0,055	112,2	0,059	104,1	0,128	89,0	0,037

V – объем препарата, в миллилитрах;
 a – коэффициент, учитывающий разведение, равный 0,75 – для испытуемого раствора 2; равный 0,625 – для испытуемого раствора 3; равный 0,5 – для испытуемого раствора 4; равный 0,25 – для испытуемого раствора 5;

X – содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате, в миллиграммах/миллилитр.

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Муколат» представлены в таблице 4.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Муколат» равна 0,0308 м³/кг.

При расчете концентрация испытуемого препарата в процентах:

$$C = \frac{V \cdot X \cdot a \cdot 100}{100 \cdot 1000} = \frac{V \cdot X \cdot a}{1000},$$

значение приведенной вязкости рассчитывали по формуле:

$$\eta_{\text{прив}} = \frac{(\tau - \tau_0) \cdot 1000}{\tau_0 \cdot V \cdot X \cdot a},$$

где

τ – время истечения испытуемого раствора, в секундах;

τ_0 – время истечения раствора натрия хлорида, в секундах;

V – объем препарата, в миллилитрах;

a – коэффициент, учитывающий разведение, равный 0,75 – для испытуемого раствора 2; равный 0,625 – для испытуемого раствора 3; равный 0,5 – для испытуемого раствора 4; равный 0,25 – для испытуемого раствора 5;

X – содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате, в миллиграммах/миллилитр.

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Муколат» представлены в таблице 5.

На основании выше приведенных результатов был получен график зависимости приведенной вяз-

кости от концентрации препарата «Муколат», который представлен на рисунке 2.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Муколат» равна 0,3079.

В результате анализа полученных графиков функции приведенной вязкости от концентрации препарата можно сделать вывод, что зависимость носит прямолинейный характер. Прямолинейная зависимость подтверждает оправданность использования

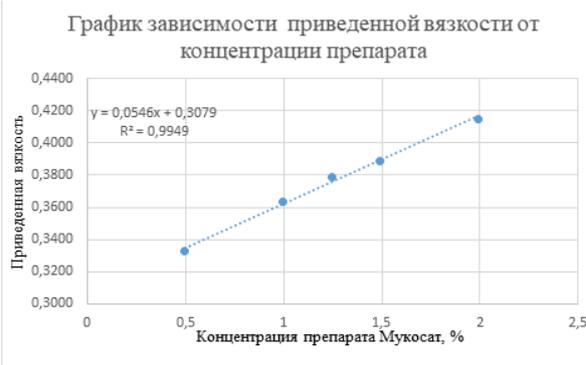


Рис. 2. График зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата «Муколат» (%).

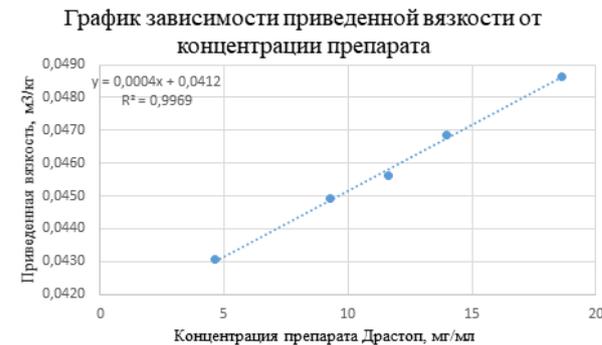


Рис. 3. График зависимости приведенной вязкости от концентрации (мг/мл) для препарата Драстоп.

Значения времени истечения растворов препарата «Муколат» и отклонение результата от среднего значения.

Табл. 4.

Препарата «Муколат» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Испытуемый раствор	1	2	3	4	5
Концентрация мг/мл	19,9	14,925	12,44	9,95	4,975
Среднее время истечение	139,33	120,67	112,27	103,97	88,97
Вязкость приведенная, мЗ/кг	0,0415	0,0389	0,0378	0,0364	0,0333

Табл. 5.

Результаты расчета приведенной вязкости препарата «Муколат»					
Препарата «Муколат» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Концентрация, %	1,99	1,4925	1,244	0,995	0,4975
Среднее время истечение	139,33	120,67	112,27	103,97	88,97
Вязкость приведенная	0,415	0,389	0,379	0,364	0,333
Вязкость приведенная, мЗ/кг	0,0415	0,0389	0,0378	0,0364	0,0333

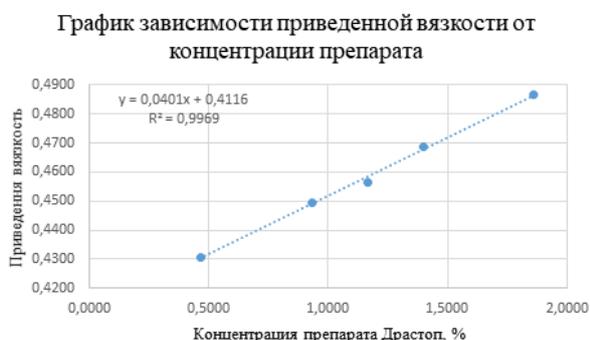


Рис. 4. График зависимости приведенной вязкости от концентрации (%) для препарата Драстоп.

0,2 М раствора натрия хлорида в качестве низкомолекулярного электролита для устранения полиэлектролитного набухания.

На основании полученных выводов были проанализированы 2 серии препарата на основе хондроитина сульфата натрия. Результаты представлены ниже.

При расчете концентрации препарата в мг/мг согласно формулам, описанным выше, были получены результаты, представленные в таблице 7.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной

зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Драстоп» равна 0,0412 м³/кг.

При расчете концентрации препарата в процентах согласно формулам, описанным выше, были получены результаты, представленные в таблице 8.

На основании выше приведенных результатов был получен график зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата «Драстоп», который представлен на рисунке 4.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Драстоп» равна 0,4116.

При расчете концентрации препарата в мг/мг согласно формулам, описанным выше, были получены результаты, представленные в таблице 10.

На основании выше приведенных результатов был получен график зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата «Хондрогард», который представлен на рисунке 5.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Хондрогард» равна 0,0331 м³/кг.

Значения времени истечения растворов препарата «Драстоп» и отклонение результата от среднего значения.

Табл. 6.

Препарата «Драстоп» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл									
Концентрация 18,62 мг/мл		Концентрация 13,965 мг/мл		Концентрация 11,638 мг/мл		Концентрация 9,310 мг/мл		Концентрация 4,655 мг/мл	
т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%
145,4	0,046	126,3	0,000	117	0,114	108,4	0,123	91,5	0,146
145,6	0,092	126,2	0,079	116,8	0,057	108,2	0,062	91,8	0,182
145,4	0,046	126,4	0,079	116,8	0,057	108,2	0,062	91,6	0,036

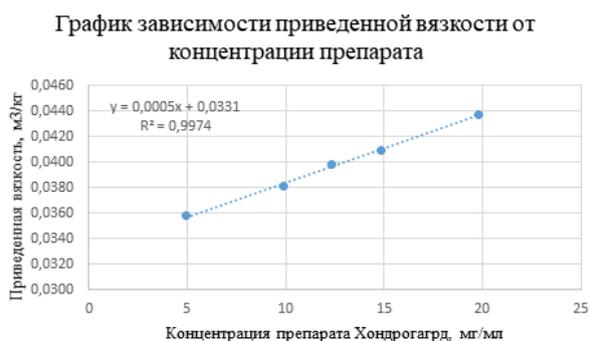


Рис. 5. График зависимости приведенной вязкости от концентрации (мг/мл) для препарата «Хондрогард».

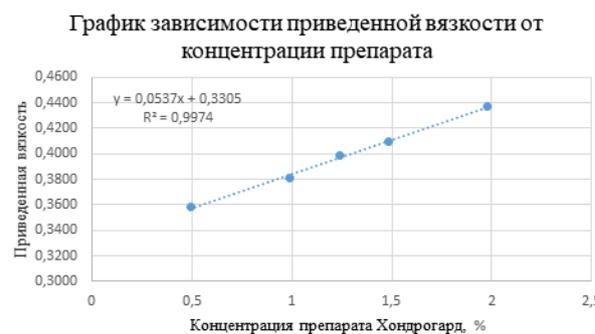


Рис. 6. График зависимости приведенной вязкости от концентрации (%) для препарата Хондрогард.

Табл. 7.

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Драстоп».

Препарата «Драстоп» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Испытуемый раствор	1	2	3	4	5
Концентрация мг/мл	18,62	13,965	11,638	9,310	4,655
Среднее время истечение	145,47	126,30	116,87	108,27	91,63
Вязкость приведенная, м3/кг	0,0486	0,0469	0,0456	0,0449	0,0431

При расчете концентрации препарата в процентах согласно формулам, описанным выше, были получены результаты, представленные в таблице 11.

Характеристической вязкостью является величина свободного коэффициента уравнения прямолинейной зависимости приведенной вязкости от концентрации препарата. Характеристическая вязкость исследуемого препарата «Хондрогард» равна 0,3305.

6. РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенного исследования была доказана возможность определения характеристической вязкости для инъекционных препаратов на основе хондроитина сульфата для внутримышечного введения.

Было доказано возможность применения 0,2 М раствора натрия хлорида в качестве растворителя для устранения полиэлектролитного набухания, которое исключает

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Драстоп».

Табл. 8.

Препарата «Драстоп» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Испытуемый раствор	1	2	3	4	5
Концентрация, %	1,862	1,3965	1,1638	0,9310	0,4655
Среднее время истечение	145,47	126,30	116,87	108,27	91,63
Вязкость приведенная, мЗ/кг	0,4864	0,4687	0,4563	0,4493	0,4306

Значения времени истечения растворов препарата «Хондрогард» и отклонение результата от среднего значения.

Препарата «Хондрогард» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл									
Концентрация 19,8 мг/мл		Концентрация 14,85 мг/мл		Концентрация 12,375 мг/мл		Концентрация 9,9 мг/мл		Концентрация 4,95 мг/мл	
т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%	т, с	откл.,%
142,60	0,094	122,8	0,054	114,0	0,029	105,3	0,127	89,9	0,037
142,40	0,047	122,7	0,027	113,8	0,146	105,2	0,032	89,9	0,037
142,40	0,047	122,7	0,027	114,1	0,117	105,0	0,158	89,8	0,074

Табл. 9.

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Хондрогард».

Препарата «Хондрогард» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Испытуемый раствор	1	2	3	4	5
Концентрация мг/мл	19,8	14,85	12,375	9,9	4,95
Среднее время истечение	142,47	122,73	113,97	105,17	89,87
Вязкость приведенная, мЗ/кг	0,0438	0,0409	0,0398	0,0382	0,0357

Табл. 10.

Результаты расчета приведенной вязкости для препарата «Хондрогард».

Препарата «Хондрогард» раствор для внутримышечного введения 100 мг/мл					
Испытуемый раствор	1	2	3	4	5
Концентрация, %	1,98	1,485	1,238	0,99	0,495
Среднее время истечение	142,47	122,73	113,97	105,17	89,87
Вязкость приведенная, мЗ/кг	0,438	0,409	0,398	0,382	0,358

Табл. 11.

Характеристическая вязкость исследуемых препаратов.

Характеристическая вязкость	Исследуемые препараты		
	«Мукосат»	«Драстоп»	«Хондрогард»
	0,0308 мЗ/кг	0,0412 мЗ/кг	0,0331 мЗ/кг
	0,3079	0,4116	0,3305

возможность определения характеристической вязкости водных растворов препарата.

Была получена прямолинейная зависимость приведенной вязкости от концентрации препарата в концентрационных диапазонах от 0,5 до 2% с использованием в качестве растворителя раствор натрия хлорида.

Значения характеристической вязкости для исследуемых препаратов приведены в таблице 12.

Согласно данным исследований, описанных в Заявке № 2015144704/15(068849) (22), дата подачи заявки 19.10.2015, Средство для лечения артрологических заболеваний, оптимальный по количеству побочных эффектов диапазон вязкости субстанции инъекционной формы составляет 0,02–0,04 м³/кг. Данный интервал по вязкости включен в методику определения характеристической вязкости препарата.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МЕТОДИКА (Вариант 1)

Характеристическая вязкость

Норма: от 0,02 м³/кг до 0,04 м³/кг.

Определение проводят согласно ОФС 1.2.1.0015.15 Вязкость, ГФ XIII.

Реактивы

Натрия хлорид Рапгеас 131659.1210

Вода очищенная ФС.2.2.0020.15

Приготовление растворов

0,2 М раствор натрия хлорида

11,7 г натрия хлорида помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 950 мл воды, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Перед использованием раствор фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диаметром пор не более 0,45 мкм. Срок годности – w2 недели при хранении в холодильнике.

Испытуемый раствор 1

20 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл раствора натрия хлорида, доводят объем до метки тем же растворителем. Раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 30 минут и фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диаметром пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

Испытуемый раствор 2

К 15 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 3

К 12,5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 7,5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 4

К 10 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 10 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствора 5

К 5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 15 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Все испытуемые растворы должны быть свежеприготовленными.

Методика измерения

Измеряют время истечения 0,2 М раствора натрия хлорида и испытуемых растворов при 25±0,1 °С в капиллярном вискозиметре ВПЖ-1 (вну-

тренний диаметр капилляра 0,54 мм). Рассчитывают значение приведенной вязкости по формуле

$$\eta_{\text{прив}} = \frac{(\tau - \tau_0) \cdot 100}{\tau_0 \cdot V \cdot X \cdot a}$$

τ – время истечения испытуемого раствора, в секундах;

τ_0 – время истечения раствора натрия хлорида, в секундах;

V – объем препарата, в миллилитрах;

a – коэффициент, учитывающий разведение, равный 0,75 – для испытуемого раствора 2; равный 0,625 – для испытуемого раствора 3; равный 0,5 – для испытуемого раствора 4; равный 0,25 – для испытуемого раствора 5;

X – содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате, в миллиграммах/миллилитр.

(Содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате определяется в рамках количественного определения активного вещества в лекарственном препарате согласно фармакопейной статье).

Строят график зависимости приведенной вязкости от концентрации в единицах мг/мл. Точка пересечения полученной прямой с осью ординат (при нулевой концентрации) дает величину характеристической вязкости.

Проверка пригодности аналитической системы

Результаты теста считают достоверными, а аналитическая система пригодной, если выполняются следующие условия:

- результат отдельного эксперимента отличается от среднего результата не более чем на 0,35%.

МЕТОДИКА (Вариант 2)

Характеристическая вязкость

Норма: от 0,2 до 0,4.

Определение проводят согласно ОФС 1.2.1.0015.15 Вязкость, ГФ XIII.

Реактивы

Натрия хлорид Рапгеас 131659.1210

Вода очищенная ФС.2.2.0020.15

Приготовление растворов

0,2 М раствор натрия хлорида

11,7 г натрия хлорида помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 950 мл воды, доводят объем раство-

ра водой до метки, перемешивают. Перед использованием раствор фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диаметром пор не более 0,45 мкм. Срок годности – 2 недели при хранении в холодильнике.

Испытуемый раствор 1

20 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл раствора натрия хлорида, доводят объем до метки тем же растворителем. Раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 30 минут и фильтруют через мембранный фильтр на основе смешанных эфиров целлюлозы типа Millex-NA или аналогичного качества с диаметром пор не более 0,45 мкм, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

Испытуемый раствор 2

К 15 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 3

К 12,5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 7,5 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор 4

К 10 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 10 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Испытуемый раствора 5

К 5 мл испытуемого раствора 1 прибавляют 15 мл раствора натрия хлорида, тщательно перемешивают.

Все испытуемые растворы должны быть свежеприготовленными.

Методика измерения

Измеряют время истечения 0,2 М раствора натрия хлорида и испытуемых растворов при $25 \pm 0,1$ °С в капиллярном вискозиметре ВПЖ-1 (внутренний диаметр ка-

пилляра 0,54 мм). Рассчитывают значение приведенной вязкости по формуле:

$$\eta_{\text{прив}} = \frac{(\tau - \tau_0) \cdot 1000}{\tau_0 \cdot V \cdot X \cdot a},$$

где

τ – время истечения испытуемого раствора, в секундах;
 τ_0 – время истечения раствора натрия хлорида, в секундах;

V – объем препарата, в миллилитрах;

a – коэффициент, учитывающий разведение, равный 0,75 – для испытуемого раствора 2; равный 0,625 – для испытуемого раствора 3; равный 0,5 – для испытуемого раствора 4; равный 0,25 – для испытуемого раствора 5;

X – содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате, в миллиграммах/миллилитр.

(Содержание хондроитина сульфата в лекарственном препарате определяется в рамках количественного определения активного вещества в лекарственном препарате согласно фармакопейной статье).

Строят график зависимости приведенной вязкости от концентрации в процентах. Точка пересечения полученной прямой с осью ординат (при нулевой концентрации) дает величину характеристической вязкости.

Проверка пригодности аналитической системы

Результаты теста считают достоверными, а аналитическая система пригодной, если выполняются следующие условия:

- результат отдельного эксперимента отличается от среднего результата не более чем на 0,35%.