**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

|  |  |
| --- | --- |
| Глюкозамина гидрохлорид+Хондроитина сульфат натрия,  капсулы  Глюкозамин+Хондроитина сульфат  капсулы  *Glucosamini hydrochloridum+Chondroitini sulfate sodium,*  *capsulae* | ФС  Вводится впервые |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Глюкозамина гидрохлорид+Хондроитина сульфат натрия, капсулы. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Капсулы» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 90 % и не более 120 % глюкозамина гидрохлорида С6Н13NО5 · НCI, не менее 90 % и не более 120 % хондроитина сульфата натрия Н2О(C14Н19NNa2О14S)n от заявленного количества.

**Описание**. Содержание раздела приводится в соответствии с требованиями ОФС «Капсулы».

**Подлинность**

***Глюкозамина гидрохлорид***

Определение проводят методом высокоэффективная жидкостная хроматография.

Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора, полученной для количественного определения глюкозамина гидрохлорида, должны соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО глюкозамина гидрохлорида.

***Хондроитина сульфат натрия***

Определение проводят методом электрофорез.

На электрофореграмме испытуемого раствора положение основной зоны должно совпадать с положением основной зоны на электрофореграмме раствора СО хондроитина сульфата натрия.

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Навеску порошка растертого содержимого капсул, эквивалентную 100 мг хондроитина сульфата натрия, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 75 мл воды на ультразвуковой бане в течение 15 мин, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца (СО) хондроитина сульфат натрия.* Около 0,02 г (точная навеска) СО хондроитина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 10 мл воды на ультразвуковой бане в течение 15 мин, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Окрашивающий раствор.* 1,0 г толуидинового синего помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в уксусной кислоты растворе 0,1 М, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Срок годности раствора не более 1 мес при хранении в холодном месте.

*Подготовка ацетатно-целлюлозной пластины.* Ацетатно-целлюлозную пластину размером не менее 5 см × 14 см замачивают в 0,1 М бария ацетата буферном растворе рН 5,0 в течение 10 мин, затем удаляют лишний раствор между 2 слоями беззольного фильтра.

*Проверка пригодности электрофоретической системы.*

- на электрофореграмме испытуемого раствора положение основной зоны должно совпадать с положением основной зоны на электрофореграмме раствора СО хондроитина сульфата натрия;

- на электрофореграмме раствора СО хондроитина сульфата натрия должна отчетливо проявляется основная зона.

На линию старта ацетатно-целлюлознойпластинки на расстоянии не менее 1 см от края пластинки и расстояние между зонами не менее 1,5 см наносят по 0,5 мкл испытуемого раствора и раствора СО хондроитина сульфата натрия. Пластинку помещают в камеру с 1,0 М бария ацетата буферного раствора рН 5,0. Разделение проводят при напряжении 120 В в течение 2 ч. Пластинку вынимают из камеры, помещают в поднос для окрашивания с окрашивающим раствором на 5 мин, затем осторожно покачивают поднос с раствором в течение 1 мин. Пластинку вынимают и отмывают в уксусной кислоты растворе 5 % до обесцвечивания фона пластинки. Результаты оценивают в течение 15 мин.

# Распадаемость. Не более 30 мин (с дисками). В соответствии с требованиями ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

**Растворение.** Через 60 мин в раствор должно перейти 75 % (Q) от заявленного количества глюкозамина гидрохлорида С6Н13NО5 · НCI и не менее 75 % (Q) от заявленного количества хондроитина натрия сульфата Н2О(C14Н19NNa2О14S)n в соответствии с требованиями ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм».

*Условия испытания*

|  |  |
| --- | --- |
| Аппарат: | «Лопастная мешалка» |
| Среда растворения: | вода |
| Объём среды растворения: | 900 мл |
| Температура: | (37,0 ± 0,5) °С |
| Скорость вращения мешалки: | 100 об/мин |
| Время растворения: | 60 мин |

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* По 1 капсуле помещают непосредственно в каждый из 6 сосудов со средой растворения до начала вращения мешалки. Пробы по 10 мл из каждого из 6 сосудов отбирают через 60 мин, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая 2 мл фильтрата.

***Глюкозамина гидрохлорид***

Количество глюкозамина гидрохлорида, перешедшего в среду растворения, определяют методом высокоэффективная жидкостная хроматография в условиях, описанных для количественного определения глюкозамина гидрохлорида.

Количествоглюкозамина гидрохлорида, перешедшее в раствор, в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sо* | – | площадь пика СО глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме раствора СО глюкозамина гидрохлорида; |
|  | *aо* | – | навеска СО глюкозамина гидрохлорида, мг; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в CO глюкозамина гидрохлорида, %; |
|  | *L* | – | заявленное содержание глюкозамина гидрохлорида в одной капсуле, мг. |

***Хондроитина сульфат натрия***

Количество хондроитина сульфата натрия, перешедшего в среду растворения, определяют методом титрования в условиях, описанных для количественного определения хондроитина сульфата натрия.

20,0 мл испытуемого раствора и 2,0 мл раствора СО хондроитина сульфата натрия помещают в колбы для титрования, добавляют 40,0 мл и 58,0 мл, соответственно буферного раствора рН 7,0, и титруют 1 % раствором цетилпиридиния хлорида.

Количествохондроитина сульфата натрия, перешедшее в раствор, в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *Vₒ* | − | объем раствора титранта, пошедшего на титрование раствора СО хондроитина сульфата натрия, мл; |
|  | *V* | − | объем раствора титранта, пошедшего на титрование испытуемого раствора, мл; |
|  | *аₒ* | − | навеска СО хондроитина сульфата натрия, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в СО хондроитина сульфата натрия, %; |
|  | *L* | − | заявленное содержание хондроитина сульфата натрия в одной капсуле, г. |

**Родственные примеси.** Определение проводят методом высокоэффективная жидкостная хроматография.

*Приготовление растворов*

*Подвижная фаза (ПФ).* 0,50 г натрия гептансульфоната переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды для хроматографии, прибавляют 0,5 мл фосфорной кислоты концентрированной и 4,0 мл калия гидроксида раствор 1 М, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. К полученному раствору прибавляют 50,0 мл ацетонитрила и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертого содержимого капсул, эквивалентную 300 мг глюкозамина гидрохлорида, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл подвижной фазы, растворяют на ультразвуковой бане в течение 10 мин, охлаждают, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и центрифугируют при скорости 5000 об/мин в течение 5 мин. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Срок годности раствора не более 1 сут при хранении в прохладном месте.

*Раствор сравнения А.* Около 25 мг (точная навеска) стандартного образца (СО) 2-метилпиразина переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 5 мл ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (0,025 мг/мл).

Срок годности раствора не более 1 сут при хранении в прохладном месте.

*Раствор сравнения Б.* Около 25 мг (точная навеска) СО примеси Е переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 5 мл ПФ, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (2,5 мг/мл). 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (0,005 мг/мл)

Срок годности раствора не более 1 сут при хранении в прохладном месте.

*Раствор СО глюкозамина гидрохлорида.* Около 3 мг (точная навеска) стандартного образца глюкозамина гидрохлорида растворяют в 1,0 мл ПФ (3 мг/мл).

*Раствор СО хондроитина сульфата натрия.* Около 3 мг (точная навеска) СО хондроитина сульфата натрия растворяют в 1,0 мл подвижной фазы (3 мг/мл).

*Раствор натрия хлорида.* Около 8 мг (точная навеска) натрия хлорида растворяют в 10,0 мл ПФ.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* 5,0 мл раствора сравнения А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора ПФ до метки и перемешивают (0,00125 мг/мл).

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Содержимое флакона, содержащего СО глюкозамина для проверки пригодности хроматографической системы (содержащего примеси В и С) (3 мг) растворяют в 1,0 мл ПФ.

*Примечание:*

Примесь В – (1*R*, 1*'R*, 2*S*, 2*'S*, 3*R*, 3*'R*)-пиразин-2,5-диилбис(бутан-1,2,3,4-тетрол) (фруктозазин).

Примесь С – (1*R*, 2*S*, 3*R*)-1-[5-[(2*S*, 3*R*)]-2,3,4-тригидроскибутил] пиразин-2-ил]бутан-1,2,3,4-тетрол (дезоксифруктозазин).

Примесь E: 5-(гидроксиметил)фуран-2-карбальдегид (5-гидроксиметилфурфурол).

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 10 × 4 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный, 3 мкм |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный эндкепированный, 3 мкм |
| Температура колонки, °С | 30 |
| Режим хроматографирования | изократический |
| Скорость подвижной фазы, мл/мин | 1,0 |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм |
| Объём пробы, мкл | 20 |
| Время хроматографирования, мин | 35 |

Относительное время удерживания: 2-метилпиразин – 1 (около 9 мин), примеси Е - около 0,8.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- *разрешение (RS)* между пиками примесей В и С на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы должно быть не менее 1,5;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пика 2-метилпиразина на хроматограмме раствора сравнения А должен быть не более 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* пика примеси Е на хроматограмме раствора сравнения Б должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площадей пиков 2-метилпиразина на хроматограмме раствора сравнения А должно быть не более 2,5 % (6 введений);

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площадей пиков примеси Е на хроматограмме раствора сравнения Б должно быть не более 2,5 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику 2-метилпиразина на хроматограмме раствора сравнения А, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок;

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику примеси Е на хроматограмме раствора сравнения Б, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок;

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика 2-метилпиразина на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы должно быть не менее 10;

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика примеси Е на хроматограмме раствора сравнения Б должно быть не менее 10.

Хроматографируют подвижную фазу, раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор СО глюкозамина гидрохлорида, раствор СО хондроитина сульфата натрия, раствор натрия хлорида, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения А, раствор сравнения Б, подвижную фазу и испытуемый раствор.

Содержание примеси Е в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика примеси Е на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sо* | – | площадь пика примеси Е на хроматограмме раствора сравнения Б; |
|  | *а* | – | навеска порошка растертого содержимого капсул, мг; |
|  | *aо* | – | навеска стандартного образца примеси Е, мг; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в СО примеси Е, %; |
|  | *G* | – | средняя масса одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное количество глюкозамина гидрохлорида в одной капсуле, мг. |

Содержание любой примеси в процентах (*Хi*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sо* | – | площадь пика СО 2-метилпиразина на хроматограмме раствора сравнения А; |
|  | *а* | – | навеска порошка растертого содержимого капсул, мг; |
|  | *aо* | – | навеска стандартного образца 2-метилпиразина, мг; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в СО 2-метилпиразина, %; |
|  | *G* | – | средняя масса одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное содержание глюкозамина гидрохлорида в одной капсуле, мг. |

Не учитывают пики подвижной фазы, пики, соответствующие пикам на хроматограмме раствора плацебо, раствор СО глюкозамина гидрохлорида, раствор СО хондроитина сульфата натрия, раствор натрия хлорида, пики примесей, площадь которых не превышает площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (0,05 %), суммарные пики с относительным временем удерживания от 0,1 до 0,2, а также пик с относительным временем удерживания от 0,50 до 0,55.

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь Е - не более 0,2 %;

- любой примеси – не более 1,0 %;

- суммы примесей – не более 2,0 %.

**Однородность дозирования.** Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность дозирования», способ 2.

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

Количественное определение. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография.

***Глюкозамина гидрохлорид***

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертого содержимого капсул, эквивалентную содержанию 50 мг глюкозамина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл воды для хроматографии, растворяют на ультразвуковой бане в течение 30 мин, охлаждают, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (около 1,0 мг/мл).

*Раствор стандартного образца (СО) глюкозамина гидрохлорида.* Около 50 мг (точная навеска) СО глюкозамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл воды для хроматографии, растворяют на ультразвуковой бане в течение 10 мин, охлаждают и доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (около 1,0 мг/мл).

Раствор используют свежеприготовленным.

*Буферный раствор рН 2,2.* 100,0 мл триэтиламина и 800 мл воды для хроматографии помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 80 мл фосфорной кислоты концентрированной, перемешивают и охлаждают. Доводят рН раствора потенциометрически до 2,2+0,05 с помощью триэтиламина или фосфорной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза.* 10,0 мл буферного раствора рН 2,2, 100,0 мл ацетонитрила и 1,2 г натрия октансульфоната помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Условия хроматографирования*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 мм × 3,9 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии (С18), 10 мкм |
| Температура колонки | 20 °С |
| Режим хроматографирования | изократический |
| Скорость потока | 1 мл/мин |
| Детектор | спектрофотометрический, 195 нм |
| Объём пробы | 20 мкл |
| Время хроматографирования | 10 мин |

Время удерживания глюкозамина гидрохлорид около 2,4 мин.

*Проверка пригодности хроматографической системы.* Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются для раствора СО глюкозамина гидрохлорида следующие условия:

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* глюкозамина гидрохлорида должен быть не более 3,0;

- *относительное стандартное отклонение (RSD)* площади пика глюкозамина гидрохлорида должно быть не более 3,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику глюкозамина гидрохлорида, должна быть не менее 2000 теоретических тарелок.

Хроматографируют испытуемый раствор, получая не менее 3 хроматограмм, и раствор СО глюкозамина гидрохлорида, получая не менее 6 хроматограмм для каждой повторности.

Содержание глюкозамина гидрохлорида С6Н13NО5 · НCI в одной капсуле в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *S* | – | площадь пика глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sо* | – | площадь пика глюкозамина гидрохлорида на хроматограмме раствора СО глюкозамина гидрохлорида; |
|  | *а* | – | навеска порошка растертого содержимого капсул, мг; |
|  | *aо* | – | навеска СО глюкозамина гидрохлорида, мг; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в CO глюкозамина гидрохлорида, %; |
|  | *G* | – | средняя масса одной капсулы, мг; |
|  | *L* | – | заявленное содержание глюкозамина гидрохлорида в одной капсуле, мг. |

***Хондроитина сульфата натрия.*** Определение проводят методом титрования.

*Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Точную навеску препарата, эквивалентную 500 мг хондроитина сульфат натрия, помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 300 мл воды, растворяют на ультразвуковую баню при температуре 65 оС в течение 20 мин, встряхивают в течение 5 мин. Содержимое колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят объем суспензии водой до метки и перемешивают. Полученную суспензию центрифугируют при 10000 об/мин в течение 10 мин, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (около 1,0 мг/мл). 10,0 полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (около 0,5 мг/мл).

*Раствор стандартного образца (СО) хондроитина сульфат натрия.* Около 0,125 г (точная навеска) СО хондроитина сульфата натрия помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в 8 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (около 12,5 мг/мл). 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (около 0,5 мг/мл).

*0,1 % раствор цетилпиридиния хлорида.* 1,0 г цетилпиридиния хлорида моногидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Буферный раствор рН 7,0.* 297 мг калия дигидрофосфата, 492 мг калия гидрофосфата и 250 мг полисорбата 80 помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл. Растворяют в 900 мл воды и доводят рН раствора потенциометрически до 7,0±0,3 с помощью калия гидроксида раствора 1 М или фосфорной кислоты концентрированной.

Срок годности раствора не более 2 сут при хранении в прохладном месте.

К 10,0 мл испытуемого раствора и к 10,0 мл раствора СО хондроитина сульфата натрия прибавляют по 50,0 мл буферного раствора рН 7,0 и титруют 0,1 % раствором цетилпиридиния хлорида. Определение конечной точки титрования при непрерывном перемешивании проводят с использованием автотитранта, снабженного фототроном, при длине волны 660 нм.

Содержание хондроитина сульфата натрия Н2О(C14 Н19NNa2О14S)n) в одной капсуле в процентах от заявленного количества (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где: | *Vₒ* | − | объем раствора титранта, пошедшего на титрование раствора СО хондроитина сульфата натрия, мл; |
|  | *V* | − | объем раствора титранта, пошедшего на титрование испытуемого раствора, мл; |
|  | *аₒ* | − | навеска СО хондроитина сульфата натрия, г; |
|  | *а* | − | навеска порошка растертого содержимого капсул, г; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в СО хондроитина сульфата натрия, %; |
|  | *L* | − | заявленное количество хондроитина сульфата натрия в одной капсуле, г; |
|  | *G* | − | средняя масса одной капсулы, г. |

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств».