

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Хондроитина сульфат натрия

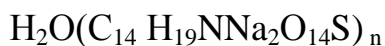
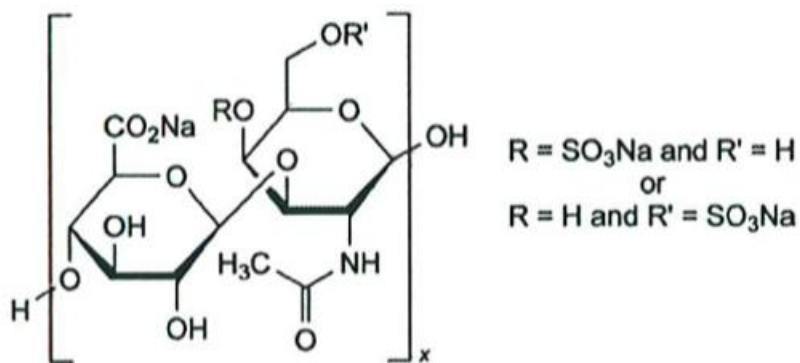
ФС.2.3.0001.22

Хондроитина сульфат

*Chondroitini sulfate sodium*

Взамен ФС 42-3741-99

Настоящая фармакопейная статья распространяется на хондроитина сульфат натрия [4)-(β-D-глюкопиранозилуруновая кислота)-(1→3)- [2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил 4-сульфат]-(1→) и [4)-(β-D-глюкопиранозилуруновая кислота)-(1→3)- [2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил 6-сульфата]-(1→3), натриевая соль, получаемый из сырья животного происхождения и соответствующий требованиям ОФС «Фармацевтические субстанции животного происхождения», и применяемый для производства лекарственных препаратов.



Содержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % хондроитина сульфата натрия в пересчете на сухое вещество.

**Описание.** Белый или белый с желтоватым оттенком порошок.

\*Гигроскопичен.

**Растворимость.** Легко растворим в воде, практически нерастворим в

ацетоне и этаноле 96 %.

### **Подлинность**

**ИК-спектрометрия.** Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см<sup>-1</sup> по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца хондроитина сульфата натрия. В соответствии с требованиями ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области».

**Электрофорез.** На электрофореграмме испытуемого раствора, полученной для определения родственных примесей, положение основной зоны должно совпадать с положением основной зоны на электрофореграмме раствора стандартного образца хондроитина сульфата натрия.

### **Качественная реакция.**

Субстанция должна давать реакцию А на натрий. В соответствии с требованиями ОФС «Общие реакции на подлинность».

**Удельное вращение.** От -20 до -30 в пересчете на сухое вещество (5 % раствор). В соответствии с требованиями ОФС «Поляриметрия».

**Характеристическая вязкость.** От 0,01 м<sup>3</sup>/кг до 0,15 м<sup>3</sup>/кг в пересчете на сухое вещество. В соответствии с требованиями ОФС «Вязкость».

### **Приготовление растворов**

**Натрия хлорида раствора 1,17 %.** 11,7 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 950 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

**Испытуемый раствор А.** Около 5 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл натрия хлорида раствора 1,17 % в течение 30 мин, интенсивно перемешивая, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 10 мл.

Испытуемые растворы Б, В и Г готовят после проверки времени истечения испытуемого раствора А.

*Испытуемый раствор Б.* К 15,0 мл испытуемого раствора А прибавляют 5,0 мл натрия хлорида раствора 1,17 %.

*Испытуемый раствор В.* К 10,0 мл испытуемого раствора А прибавляют 10,0 мл натрия хлорида раствора 1,17 %.

*Испытуемый раствор Г.* К 5,0 мл испытуемого раствора А прибавляют 15,0 мл натрия хлорида раствора 1,17 %.

Время истечения натрия хлорида раствора 1,17 % ( $t_0$ ) и время истечения испытуемых растворов ( $t_A, t_B, t_V, t_T$ ) определяют при температуре  $(25 \pm 0,1)$  °С. Измерение проводят на капиллярном вискозиметре Уббелоде с висячим уровнем, номинальным значением К около  $0,005 \text{ мм}^2/\text{с}^2$ , диапазон измерения вязкости от 1 до  $5 \text{ мм}^2/\text{с}$ . Один и тот же вискозиметр используют для всех испытаний, проводя измерения времени истечения не менее трех раз для каждого испытуемого раствора. Испытание считается достоверным, если отношение времени истечения испытуемого раствора А к времени истечения натрия хлорида раствора 1,17 % составляет 1,6-1,8. В случае невыполнения данного требования, измеряют концентрацию испытуемого раствора А и повторяют испытание.

Относительная вязкость  $\eta_{ri}$  ( $\eta_{rA}, \eta_{rB}, \eta_{rV}, \eta_{rT}$ ) вычисляют по формуле:

$$\eta_{ri} = \frac{t_i - \frac{B}{t_i^2}}{t_0 - \frac{B}{t_0^2}} = \frac{(t_i^3 - B) \cdot t_0^2}{(t_0^3 - B) \cdot t_i^2}$$

где:  $t_i$  – время истечения соответствующего раствора ( $t_A, t_B, t_V, t_T$ ), с;  
 $t_0$  – время истечения натрия хлорида раствора 1,17 %, с;  
 $B$  – коррекционный фактор кинетической энергии для капилляра ( $30800 \text{ с}^3$ ).

Концентрацию хондроитина сульфата натрия в испытуемом растворе А в  $\text{кг}/\text{м}^3$  ( $C_A$ ) вычисляют по формуле:

$$C_A = \frac{a_A \cdot X \cdot (100 - W) \cdot 1000000}{100 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 1000} = \frac{a_A \cdot X \cdot (100 - W)}{1000},$$

где:  $a_A$  – навеска субстанции в испытуемом растворе А, г;  
 $X$  – содержание хондроитина сульфата натрия в субстанции, полученное при количественном определении, %;  
 $W$  – потеря в массе при высушивании, %.

Концентрацию хондроитина сульфата натрия в испытуемом растворе Б в кг/м<sup>3</sup> ( $C_B$ ) вычисляют по формуле:

$$C_B = C_A \cdot 0,75$$

Концентрацию хондроитина сульфата натрия в испытуемом растворе В в кг/м<sup>3</sup> ( $C_B$ ) вычисляют по формуле:

$$C_B = C_A \cdot 0,50$$

Концентрацию хондроитина сульфата натрия в испытуемом растворе Г в кг/м<sup>3</sup> ( $C_G$ ) вычисляют по формуле:

$$C_G = C_A \cdot 0,25$$

Относительная вязкость  $\eta_{si}$  для каждого испытуемого раствора ( $\eta_{sA}$ ,  $\eta_{sB}$ ,  $\eta_{sB}$ ,  $\eta_{sГ}$ ) вычисляют по формуле:

$$\eta_{si} = \eta_{ri} - 1$$

где  $\eta_{ri}$  – относительная вязкость  $\eta_{ri}$  ( $\eta_{rA}$ ,  $\eta_{rB}$ ,  $\eta_{rB}$ ,  $\eta_{rГ}$ ).

Для расчета характеристической вязкости строят зависимость приведенной вязкости ( $\eta_{si}/C_i$ ) от концентрации ( $C_i$ ) и экстраполируют приведенную вязкость к нулевой концентрации.

**\*\*Прозрачность раствора.** 10 % раствор субстанции должен быть прозрачным или выдерживать сравнение с эталоном I. В соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**\*\*Цветность раствора.** 10 % раствора субстанции должен выдерживать сравнение с эталоном Y<sub>6</sub>. В соответствии с требованиями ОФС «Степень окраски жидкостей».

**pH.** От 5,5 до 7,5 (5 % раствор). В соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия», метод 3.

**Родственные примеси.** Определение проводят методом электрофореза в соответствии с требованиями ОФС «Электрофорез».

### *Приготовление растворов*

*Испытуемый раствор.* Около 0,75 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца (СО) хондроитина сульфата натрия.* Около 0,06 г (точная навеска) СО хондроитина сульфата растворяют в 2,0 мл воды и перемешивают.

*Раствор сравнения А.* 1,0 мл раствора СО хондроитина сульфата натрия помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор сравнения Б.* 5,0 мл раствора СО хондроитина сульфата натрия помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленными.

*Раствор А.* 225 мл 0,1 М бария ацетата буферного раствора рН 5,0 помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

*Раствор Б.* 175 мл 0,1 М бария ацетата буферного раствора рН 5,0 помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают.

*Окрашивающий раствор.* 0,2 г толуидинового синего и 0,4 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора 0,01 М раствором хлористоводородной кислоты до метки, перемешивают и фильтруют.

Срок годности раствора не более 30 сут при хранении в холодном месте.

*Агарозный гель.* 0,5 г агарозы для электрофореза помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды и перемешивают. Колбу нагревают на водяной бане, периодически взбалтывая, до получения прозрачного раствора. Полученный раствор охлаждают до температуре 60 °С, заливают в гелевую рамку размером 125×75 мм и высотой 4-5 см, с одной стороны геля сразу помещают гребенку из оргстекла на 10 зубцов. Через 10 мин после начала полимеризации выдерживают гель, не вынимая гребенку, при температуре 4 °С в течение 10 мин, после чего вынимают гребенку из геля.

*Проверка пригодности электрофоретической системы.* Система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- на электрофореграмме раствора сравнения Б должна отчетливо проявляться основная зона;

- на электрофореграмме раствора сравнения А должна отчетливо проявляться основная зона по положению, совпадающая с зоной на электрофореграмме СО хондроитина сульфата натрия.

### *Электрофоретические условия*

Температура растворов

4 °С

Сила тока мА/гель	75
Напряжение, В	100-150
Объём пробы, мкл	1
Время анализа, мин	12

Агарозный гель выдерживают в течение 1 мин в 0,1 М бария ацетата буферного раствора рН 5,0, осторожно удаляют избыток жидкости с геля фильтровальной бумагой и сушат на воздухе в течение 5 мин. В лунки геля вносят по 1 мкл испытуемого раствора, стандартного раствора СО хондроитина сульфата натрия, раствора сравнения А и раствора сравнения Б. Гель помещают в камеру с 1,0 М бария ацетата буферного раствора рН 5,0 и проводят электрофорез. Гель вынимают, осторожно сливают с него жидкости, сушат на воздухе в течение 5 мин, затем помещают гель на 2 мин в раствор А и проводят электрофорез в течение 20 мин. Гель снова вынимают, осторожно сливают с него жидкости, сушат на воздухе в течение 5 мин, затем помещают гель на 2 мин в раствор Б и проводят электрофорез в течение 20 мин.

Гель проявляют в окрашивающем растворе в течение 10 мин, после чего отмывают проточной водой в течение 15 мин до проявления зоны раствора сравнения Б, затем подсушивают на воздухе.

На электрофореграмме испытуемого раствора основная зона по положению должна совпадать с положением зоны хондроитина сульфата натрия на электрофореграмме стандартного раствора СО хондроитина сульфата натрия; любая другая зона должна быть не интенсивнее зоны, соответствующей раствору сравнения А (не более 2,0 %).

Результаты считаются достоверными, если выполняются требования проверки пригодности электрофоретической системы.

*Допустимое содержание примесей:*

- любой единичной примеси должно быть не более 2 %.

**Белок.** Не более 3,0 % в пересчете на сухое вещество. В соответствии с требованиями ОФС «Определение белка», метод 2А.

*Приготовление растворов*

*Раствор стандартного образца (СО) бычьего сывороточного альбумина.* Около 50 мг (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 0,01 М растворе натрия гидроксида, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (около 1 мг/мл).

*Раствор СО бычьего сывороточного альбумина А.* 5,0 мл раствора (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01 М растворе натрия гидроксида до метки и перемешивают (около 0,1 мг/мл).

*Раствор СО бычьего сывороточного альбумина Б.* 4,0 мл раствора (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01 М растворе натрия гидроксида до метки и перемешивают (около 0,08 мг/мл).

*Раствор СО бычьего сывороточного альбумина В.* 3,0 мл раствора (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01 М растворе натрия гидроксида до метки и перемешивают (около 0,06 мг/мл).

*Раствор СО бычьего сывороточного альбумина Г.* 2,0 мл раствора (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01 М растворе натрия гидроксида до метки и перемешивают (около 0,04 мг/мл).

*Раствор СО бычьего сывороточного альбумина Д.* 1,0 мл раствора (точная навеска) СО бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01 М растворе натрия гидроксида до метки и перемешивают (около 0,02 мг/мл).

Растворы используют свежеприготовленными.

Около 100 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 0,01 М растворе натрия гидроксида, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение белка», метод 2А, в качестве контрольного раствора используют 0,01 М растворе натрия гидроксида.

Расчет содержания белка проводят по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания белка в мг в 1 мл соответствующего раствора СО бычьего сывороточного альбумина. Параллельно измеряют оптическую плотность испытуемого раствора.

Содержание белка в субстанции в процентах ( $X$ ) вычисляют по

формуле:

$$X = \frac{C \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100 \cdot P}{a \cdot (100 - W) \cdot 100} = \frac{C \cdot 5000 \cdot P}{a \cdot (100 - W)}$$

где: С – содержание белка в 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику, мг;  
а – навеска субстанции, мг;  
Р – содержание основного вещества в СО бычьего сывороточного альбумина, %;  
W – потеря в массе при высушивании, %.

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 10,0 %. Около 1,0 г (точная навеска) субстанции сушат при 100-105 °С до постоянной массы. В соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании» Способ 1.

**Азот.** От 2,0 до 3,5 % в пересчете на сухое вещество. В соответствии с требованиями ОФС «Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля» (из навески 0,1 г).

**Сера.** Не более 7,5 %. В соответствии с требованиями ОФС «Метод сжигания в колбе с кислородом» (из навески 0,05 г).

**Сульфаты.** Не более 0,25 %. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25,0 мл, растворяют в 20 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора должны выдерживать испытания на сульфаты. В соответствии с требованиями ОФС «Сульфаты», метод 1.

**Хлориды.** Не более 0,5 %. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 250,0 мл, растворяют в 100 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора должны выдерживать испытания на хлориды. В соответствии с требованиями ОФС «Хлориды».

**Сульфатная зола.** Не более 30 %. В соответствии с требованиями ОФС «Сульфатная зола». Для определения используют около 0,5 г (точная



навеска) субстанция.

**Тяжелые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы» в зольном остатке, полученном после сжигания 0,5 г субстанции (ОФС «Сульфатная зола»).

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

**\*\*Бактериальные эндотоксины.** Не более 1,75 ЕЭ/мг хондроитина сульфата натрия в пересчете на сухое вещество. В соответствии с требованиями ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Аномальная токсичность.** Субстанция должна быть нетоксичной. В соответствии с требованиями ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза – 30 мг хондроитина сульфата натрия в пересчете на сухое вещество в 0,5 мл воды для инъекций на мышь, внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом титриметрии.

#### *Приготовление растворов*

*Раствор СО хондроитина сульфата натрия А.* Около 100 мг (точная навеска) СО хондроитина сульфата натрия, предварительно высушенного при 100-105 °С в течение 4 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор СО хондроитина сульфата натрия Б.* 5,0 раствора СО хондроитина сульфата натрия А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор титранта.* 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.

Растворы используют свежеприготовленными.

Около 100 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (испытуемый раствор А).

5,0 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (испытуемый раствор Б).

50,0 мл раствора СО хондроитина сульфата натрия Б и 50,0 мл испытуемого раствора Б титруют раствором титранта. Определение конечной точки титрования проводят с использованием автотитранта, снабженного фототроном, при одной из длин волн; 420 нм, 550 нм, 555 нм или 660 нм.

Содержание хондроитина сульфата натрия в пересчете на сухое вещество в процентах ( $X$ ) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot P}{V_0 \cdot a \cdot (100 - W) \cdot 100} = \frac{V \cdot a_0 \cdot 100 \cdot P}{V_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где:  $V_0$  – объем раствора титранта, пошедшего на титрование раствора СО хондроитина сульфата натрия, мл;  
 $V$  – объем раствора титранта, пошедшего на титрование испытуемого раствора Б, мл;  
 $a_0$  – навеска СО хондроитина сульфата натрия, мг;  
 $a$  – навеска субстанции, мг;  
 $P$  – содержание основного вещества в СО хондроитина сульфата натрия, %;  
 $W$  – потеря в массе при высушивании, %.

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

\*Приводится для информации.

\*\*Проводят для субстанции, предназначенной для производства лекарственных форм для парентерального применения.