

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Коптелов Андрій Сергійович**

УДК: 615.07:543.544.5:543.42:543.24:615.453

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**Аналітичний супровід фармацевтичної розробки твердих лікарських форм з  
глюкозаміном і хондроїтином**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ А.С. Коптелов

Науковий керівник Бевз Наталія Юріївна, кандидат фармацевтичних наук, доцент

Харків – 2026

## АНОТАЦІЯ

*Коптелов А. С.* Аналітичний супровід фармацевтичної розробки твердих лікарських форм з глюкозаміном і хондроїтином. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2026.

Дисертаційна робота присвячена науковому обґрунтуванню складу, технології виробництва та аналітичному супроводу фармацевтичної розробки комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії з глюкозаміном і хондроїтином у формі порошку для приготування орального розчину та капсул.

У *вступі* обґрунтовано актуальність теми дослідження, визначено мету та завдання роботи, наведено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів. Представлено характеристику об'єктів дослідження та наведено короткий опис використаних фізико-хімічних та фармако-технологічних методів аналізу.

У *першому* розділі наведено огляд наукових літературних джерел щодо сучасних підходів до фармакотерапії дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів, зокрема остеоартрозу, та ролі хондропротекторних лікарських засобів у їх терапії. Проаналізовано сучасний фармацевтичний ринок хондропротекторних препаратів, особливості їх складу та лікарських форм. Узагальнено дані щодо фізико-хімічних, фармакологічних і біофармацевтичних властивостей основних активних фармацевтичних інгредієнтів хондропротекторної дії, зокрема глюкозаміну натрію сульфату, хондроїтину натрію сульфату, метилсульфонілметану, натрію гіалуронату та аскорбінової кислоти. Розглянуто сучасні підходи до створення комбінованих лікарських засобів хондропротекторної дії та методи їх стандартизації. Окрему увагу приділено методам фармацевтичного аналізу, що застосовуються для ідентифікації та кількісного визначення зазначених активних фармацевтичних інгредієнтів.

У *другому* розділі наведено загальну характеристику об'єктів дослідження, використаних реактивів, допоміжних речовин та лабораторного обладнання. Обґрунтовано загальну методологію дослідження, що ґрунтується на проведенні фізико-хімічних та фармако-технологічних випробувань. Описано методи пробопідготовки, а також аналітичні методики, використані для ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів. Для досліджень застосовано титриметричні, спектрофотометричні та хроматографічні методи аналізу, зокрема потенціометричне титрування, йодометричне титрування, абсорбційну спектрофотометрію в ультрафіолетовому та видимому діапазоні, газову хроматографію та рідинну хроматографію. Наведено підходи до статистичного аналізу результатів хімічного експерименту та валідації аналітичних методик відповідно до сучасних фармакопейних вимог.

У *третьому* розділі з урахуванням сучасного ринку та фармакологічних властивостей речовин здійснено вибір АФІ для створення комбінованого засобу хондропротекторної дії, а саме глюкозаміну натрію сульфат, хондроїтину сульфат натрію, метилсульфонілметану, натрію гіалуронату та аскорбінової кислоти. Поєднання зазначених компонентів у складі однієї лікарської форми є перспективним з огляду на їх комплексний вплив на метаболічні процеси у хрящовій тканині, регуляцію складу синовіальної рідини та протизапальні властивості.

Для аналізу фізико-хімічних характеристик та фармакологічних властивостей досліджуваних речовин використано інформаційні ресурси бази даних DrugBank. Оцінку безпеки комбінації компонентів, рівня доказовості можливих лікарських взаємодій та рекомендації щодо мінімізації потенційних ризиків здійснено за допомогою програмного забезпечення Drug Interaction Checker.

У процесі фармацевтичної розробки комбінованого лікарського засобу одним із ключових етапів є дослідження властивостей активних фармацевтичних інгредієнтів та їх сумісності у складі лікарської форми. Для оцінювання сумісності компонентів суміші проведено експериментальні дослідження гігроскопічності, хімічної взаємодії та хімічної стабільності речовин. Експериментальні дослідження гігроскопічності свідчать, що глюкозаміну сульфат, метилсульфонілметан і

аскорбінову кислоту можна віднести до негігроскопічних речовин (середнє значення збільшення маси становить менше 0,1 %); тоді як хондроїтину натрію сульфат, натрію гіалуронат, сорбітол та лимонна кислота характеризуються помірною гігроскопічністю (збільшення маси від 2 % до 15 %).

На підставі отриманих результатів обґрунтовано доцільність використання лимонної кислоти як регулятора кислотності та сорбіту як допоміжної речовини для коригування органолептичних властивостей лікарського засобу.

Методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні (ДФУ, 2.2.25) підтверджено хімічну стабільність аскорбінової кислоти у присутності інших компонентів рецептури. Збереження характерних максимумів поглинання та відсутність батохромних зсувів у спектрах свідчать про відсутність процесів деградації та небажаних хімічних взаємодій між компонентами суміші. Отримані результати підтверджують сумісність інгредієнтів та можливість їх поєднання у складі стабільної багатокомпонентної лікарської форми.

З огляду на підвищену гігроскопічність окремих компонентів порошкової суміші (хондроїтину натрію сульфату, натрію гіалуронату, сорбіту та лимонної кислоти) для первинного пакування порошку для приготування орального розчину обрано багат шаровий ламінований пакувальний матеріал типу буфлен (пакет/саше), що забезпечує належний рівень захисту від впливу вологи.

На підставі проведених досліджень обґрунтовано раціональний склад комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку для приготування орального розчину у пакетах-саше та у формі капсул.

Результати дослідження технологічних властивостей порошкових сумішей, що містять активні фармацевтичні інгредієнти та допоміжні речовини, свідчать про можливість отримання лікарської форми із заданими показниками якості, що забезпечують рівномірність дозування та стабільність складу препарату. Оптимальним методом отримання порошкової суміші визначено метод безпосереднього змішування компонентів, що дозволяє мінімізувати ризик неоднорідного розподілу активних речовин, спростити технологічний процес та зменшити виробничі витрати.

За результатами проведених досліджень визначено основні стадії технологічного процесу виробництва лікарського засобу та встановлено критичні параметри його проведення. Розроблено ресурсозберігальну технологію отримання комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії.

У *четвертому* розділі наведено результати стандартизації розробленого лікарського засобу у формі порошку в саше та капсул і розробки комплексу аналітичних методик для ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів різної хімічної природи.

Для кількісного визначення хондроїтину натрію сульфату розроблено потенціометричну титриметричну методику із застосуванням цетилпіридинію хлориду та цетилпіридиній-селективного електрода. Встановлено, що методика є лінійною в діапазоні 80–120 %, характеризується коефіцієнтом кореляції  $r^2 = 0,9916$ , а також статистично і практично незначущою систематичною похибкою. Показано, що у діапазоні рН 4–8 відгук електрода та форма кривих титрування залишаються стабільними, що підтверджує робастність методики. Фактичний вміст хондроїтину натрію сульфату становив 500,36 мг (100,07 %) у порошку в саше та 250,42 мг (100,17 %) у капсулах, що підтверджує придатність методики для контролю якості лікарського засобу.

Для визначення глюкозаміну сульфату розроблено методику рідинної хроматографії з попередньою дериватизацією фенілізотіоціанатом, який у лужному середовищі реагує з аміногрупою глюкозаміну з утворенням УФ-активного похідного. Хроматографування проводили на колонці ACE C18 (150 × 4,6 мм; 5 мкм) за швидкості рухомої фази 1,0 мл/хв, температури колонки 25 °С, об'єму інжекції 20 мкл, із детектуванням при 230 нм; рухома фаза — метанол : вода (67 : 33). Встановлено, що час утримування похідного глюкозаміну становить 2,21 хв, що може бути використане як критерій для ідентифікації сполуки, на хроматограмі плацебо відсутні піки, що збігаються з його часом утримування, що підтверджує специфічність методики. За результатами валідації коефіцієнт кореляції становив  $r = 0,9991$ , систематична похибка — 0,31 %, а  $\Delta_Z$  — 0,61 %, що відповідає критеріям прийнятності. Кількісне визначення показало, що вміст глюкозаміну сульфату у саше

становить близько 1506,74 мг, а в капсулах — 751,20 мг, при відносній невизначеності середнього результату менш ніж 0,50 %.

Для визначення метилсульфонілметану запропоновано дві газохроматографічні методики — ГХ/МС та ГХ/ПД. Показано, що метод ГХ/МС доцільний для підтвердження ідентичності аналіту, тоді як ГХ/ПД є придатним для рутинного кількісного контролю. Для випробовуваного розчину відносне стандартне відхилення площ піків становило 0,40 % при ГХ/МС та 0,35 % при ГХ/ПД, для розчину порівняння — 0,42 % та 0,38 % відповідно. Методики є лінійними в діапазоні 80–120 % від номінального вмісту, а межі виявлення і кількісного визначення становили відповідно 0,013 % / 0,04 % для ГХ/МС та 0,0088 % / 0,026 % для ГХ/ПД. Фактичний вміст МСМ у лікарському засобі становив 401,934 мг (100,48 %) за методом ГХ/МС та 401,546 мг (100,39 %) за методом ГХ/ПД, що підтверджує високу точність і придатність обох методик.

Ідентифікацію аскорбінової кислоти здійснювали за реакцією з натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолом, що супроводжується миттєвим знебарвленням розчину реактиву. Для кількісного визначення застосовано метод йодометричного титрування. Встановлено лінійність методики в діапазоні 80–120 %, коефіцієнт кореляції  $r = 0,9997$ , відносне стандартне відхилення 0,19 % і систематичну похибку 0,19 %. Фактичний вміст аскорбінової кислоти становив 80,22 мг (100,28 %) у порошку та 40,56 мг (101,40 %) у капсулах від номінального вмісту. Отримані дані підтвердили селективність і високу відтворюваність методики в присутності інших компонентів комбінованого лікарського засобу.

Для ідентифікації та кількісного визначення натрію гіалуронату використано фармакопейну спектрофотометричну методику на основі карбазольної реакції з визначенням оптичної густини при довжині хвилі 530 нм. Калібрувальні розчини готували за D-глюкуроною кислотою в діапазоні 6,5–65 мкг/г, а кількісну оцінку проводили за калібрувальним графіком. Встановлено, що середній вміст натрію гіалуронату становив 29,64 мг у порошку в саше та 15,26 мг у капсулах; відносна невизначеність результатів складала 0,34 % та 0,41 % відповідно. Показано, що

методика забезпечує належну чутливість і відтворюваність та може бути використана для контролю якості лікарських форм з низьким вмістом натрію гіалуронату.

Таким чином, у розділі розроблено та валідовано аналітичні методики для стандартизації комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку в саше та капсул. Запропоновані методики забезпечують селективне, точне і відтворюване визначення активних фармацевтичних інгредієнтів та можуть бути використані при розробці нормативної документації і в системі контролю якості лікарського засобу.

У *п'ятому* розділі наведено результати стандартизації та дослідження стабільності розробленого комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. На підставі результатів фармацевтичної розробки сформовано проєкт специфікації якості лікарського засобу відповідно до вимог чинного законодавства України, зокрема ДСТУ та ДФУ.

Для лікарського засобу у формі порошку для приготування орального розчину (саше) та у формі капсул визначено основні критичні показники якості для вивчення стабільності, зокрема опис, значення рН, мікробіологічну чистоту, ідентифікацію та кількісне визначення АФІ. Дослідження стабільності проводили упродовж 24 місяців за умов довгострокового зберігання при температурі  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  та відносній вологості  $(60 \pm 5)\%$ . Встановлено, що досліджувані серії лікарського засобу зберігають стабільність фізико-хімічних та мікробіологічних показників протягом усього періоду спостереження. Вміст активних фармацевтичних інгредієнтів залишався у межах встановлених критеріїв прийнятності, а значення рН та показники мікробіологічної чистоти відповідали вимогам фармакопейних стандартів.

На підставі отриманих результатів обґрунтовано термін придатності розробленого лікарського засобу 24 місяці за умов зберігання при температурі не вище  $25^\circ\text{C}$  у первинному пакуванні виробника з подальшим контролем супровідних домішок.

Наукова новизна роботи полягає у теоретичному обґрунтуванні та експериментальному підтвердженні складу комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії на основі глюкозаміну сульфату, хондроїтину натрію

сульфату, метилсульфонілметану, натрію гіалуронату та аскорбінової кислоти, розробленні технології його отримання у формі порошку для приготування орального розчину та капсул, а також у створенні підходів до стандартизації і контролю якості розробленого лікарського засобу.

Результати дисертаційних досліджень упроваджено в роботу відділу з фармацевтичної розробки ПрАТ «Фармацевтична Фабрика «ВІОЛА» і проведення наукових досліджень та навчальний процес низки закладів вищої освіти фармацевтичного (медичного) профілю України.

*Ключові слова:* комбінований лікарський засіб, глюкозаміну сульфат, хондроїтину натрію сульфат, порошок для приготування орального розчину, капсули, стандартизація лікарських засобів, валідація, контроль якості, хроматографічні методи аналізу, абсорбційна спектрофотометрія, стабільність.

*Список публікацій здобувача*

1. Коптелов А.С., Дейнека А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Визначення фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів під час розроблення лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2024. Вип. 1. С. 99–104. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.13> (*Особистий внесок здобувача – дослідження, формальний аналіз, підготовка початкового варіанту рукопису; Дейнека А.С. - концептуалізація, візуалізація, знаходження фінансової підтримки; Бевз Н.Ю. - курація даних, адміністрування проєкту, ресурси, перевірка, написання – рецензування та редагування; Кухтенко О.С. - ведення, методологія, написання – рецензування та редагування*).

2. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13> (*Особистий внесок здобувача – методологія, дослідження, формальний аналіз, візуалізація, підготовка початкового варіанту рукопису; Бевз Н.Ю. - адміністрування проєкту, концептуалізація, перевірка, написання – рецензування та редагування; Штримайтис О.В. - курація даних, ресурси, знаходження фінансової підтримки*).

3. Koptielov A.S., Plyska V.I., Bevz O.V., Rudakova O.V., Bevz N.Yu., Studenyak Ya.I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3–11. URL: <https://doi.org/10.24959/ophcj.25.350114> (Особистий внесок здобувача – методологія, валідація, формальний аналіз, підготовка початкового варіанту рукопису, Плиська В. І. - дослідження, ресурси; Бевз О.В. - курація даних, написання – початковий проєкт; Рудакова О.В. - концептуалізація, візуалізація, ресурси, знаходження фінансової підтримки; Бевз Н.Ю. – адміністрування проєкту, перевірка, написання – рецензування та редагування; Студеняк Я.І. - ведення, методологія, написання – рецензування та редагування).

4. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. № 1 (59). P. 91–99. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242> (Scopus Q3) (Особистий внесок здобувача – проведення дослідження, валідація, формальний аналіз, підготовка початкового варіанту рукопису).

5. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Аналіз фармакологічної активності глюкозаміну і хондроїтину з урахуванням введення додаткових діючих речовин // *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнар. Internet-конференції (18 травня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С. 176.

6. Коптелов А., Плиська В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату // *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнар. Internet-конференції (25 вересня 2024 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2024. С. 87.

7. Плиська В.І., Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Студеняк Я.І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами // *Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024*: зб. тез доп. К.: Інтерсервіс, 2024. С. 140.

8. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом

рідинної хроматографії // *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів*: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (20–21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66–67.

## ANNOTATION

*Koptielov A. S.* Analytical support for the pharmaceutical development of solid dosage forms with glucosamine and chondroitin. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree by specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy» (22 – Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2026.

The dissertation is devoted to the scientific substantiation of the composition, manufacturing technology, and analytical support for the pharmaceutical development of a combined chondroprotective medicinal product containing glucosamine and chondroitin in the form of powder for the preparation of an oral solution and capsules.

The *introduction* substantiates the relevance of the research topic, defines the aim and objectives of the study, and presents the scientific novelty and practical significance of the obtained results. It also provides the characteristics of the study objects and a brief description of the applied physicochemical and pharmacotechnological methods of analysis.

The *first* chapter presents a review of scientific literature on current approaches to the pharmacotherapy of degenerative-dystrophic joint diseases, in particular osteoarthritis, and the role of chondroprotective medicinal products in their treatment. The current pharmaceutical market of chondroprotective products, as well as the peculiarities of their composition and dosage forms, was analyzed. Data on the physicochemical, pharmacological, and biopharmaceutical properties of the main active pharmaceutical ingredients with chondroprotective activity, namely glucosamine sodium sulfate, chondroitin sodium sulfate, methylsulfonylmethane, sodium hyaluronate, and ascorbic acid, were summarized. Modern approaches to the development of combined chondroprotective medicinal products and methods for their standardization were considered. Particular

attention was paid to pharmaceutical analysis methods used for the identification and quantitative determination of the above-mentioned active pharmaceutical ingredients.

The *second* chapter presents the general characteristics of the study objects, reagents, excipients, and laboratory equipment used. The general research methodology based on physicochemical and pharmacotechnological testing is substantiated. Sample preparation methods, as well as analytical procedures used for the identification and quantitative determination of active pharmaceutical ingredients, are described. Titrimetric, spectrophotometric, and chromatographic methods of analysis were employed in the study, including potentiometric titration, iodometric titration, absorption spectrophotometry in the ultraviolet and visible ranges, gas chromatography, and liquid chromatography. Approaches to the statistical analysis of the results of the chemical experiment and validation of analytical procedures in accordance with current pharmacopoeial requirements are presented.

In the *third* chapter, taking into account the current market and the pharmacological properties of the substances, active pharmaceutical ingredients were selected for the development of a combined chondroprotective product, namely glucosamine sodium sulfate, chondroitin sodium sulfate, methylsulfonylmethane, sodium hyaluronate, and ascorbic acid. The combination of these components within a single dosage form is considered promising in view of their complex effect on metabolic processes in cartilage tissue, regulation of synovial fluid composition, and anti-inflammatory properties.

DrugBank database resources were used to analyze the physicochemical characteristics and pharmacological properties of the investigated substances. The safety assessment of the component combination, the level of evidence for possible drug interactions, and recommendations for minimizing potential risks were carried out using the Drug Interaction Checker software.

During the pharmaceutical development of the combined medicinal product, one of the key stages was the study of the properties of active pharmaceutical ingredients and their compatibility within the dosage form. Experimental studies of hygroscopicity, chemical interaction, and chemical stability of the substances were performed to assess the compatibility of the mixture components. The experimental hygroscopicity studies showed

that glucosamine sulfate, methylsulfonylmethane, and ascorbic acid can be classified as non-hygroscopic substances, since the average increase in mass was less than 0.1%, whereas chondroitin sodium sulfate, sodium hyaluronate, sorbitol, and citric acid were characterized by moderate hygroscopicity, with a mass increase ranging from 2% to 15%.

Based on the obtained results, the expediency of using citric acid as an acidity regulator and sorbitol as an excipient for improving the organoleptic properties of the medicinal product was substantiated.

Using absorption spectrophotometry in the ultraviolet and visible ranges (SPhU, 2.2.25), the chemical stability of ascorbic acid in the presence of other formulation components was confirmed. Preservation of the characteristic absorption maxima and the absence of bathochromic shifts in the spectra indicate the absence of degradation processes and undesirable chemical interactions between the mixture components. The obtained results confirm the compatibility of the ingredients and the possibility of combining them within a stable multicomponent dosage form.

Considering the increased hygroscopicity of some components of the powder mixture, namely chondroitin sodium sulfate, sodium hyaluronate, sorbitol, and citric acid, a multilayer laminated packaging material of the buflen type (sachet packet) was selected as the primary packaging for the powder for oral solution, ensuring an adequate level of protection against moisture.

Based on the conducted studies, the rational composition of the combined chondroprotective medicinal product in the form of powder for the preparation of an oral solution in sachets and in the form of capsules was substantiated.

The results of the study of the technological properties of powder mixtures containing active pharmaceutical ingredients and excipients indicate the possibility of obtaining a dosage form with specified quality parameters, ensuring dose uniformity and stability of the product composition. The direct blending method was determined to be the optimal method for obtaining the powder mixture, as it minimizes the risk of non-uniform distribution of active substances, simplifies the technological process, and reduces production costs.

According to the obtained results, the main stages of the medicinal product manufacturing process were determined and its critical process parameters were established.

A resource-saving technology for the production of the combined chondroprotective medicinal product was developed.

The *fourth* chapter presents the results of the standardization of the developed medicinal product in the form of powder in sachets and capsules, as well as the development of a set of analytical procedures for the identification and quantitative determination of active pharmaceutical ingredients of different chemical nature.

For the quantitative determination of chondroitin sodium sulfate, a potentiometric titration procedure using cetylpyridinium chloride and a cetylpyridinium-selective electrode was developed. It was established that the procedure is linear in the range of 80–120%, characterized by a correlation coefficient of  $r^2 = 0.9916$ , as well as statistically and practically insignificant systematic error. It was shown that within the pH range of 4–8, the electrode response and the shape of the titration curves remain stable, confirming the robustness of the procedure. The actual content of chondroitin sodium sulfate was 500.36 mg (100.07%) in sachet powder and 250.42 mg (100.17%) in capsules, which confirms the suitability of the procedure for medicinal product quality control.

For the determination of glucosamine sulfate, a liquid chromatography procedure with pre-column derivatization using phenyl isothiocyanate was developed; in an alkaline medium, it reacts with the amino group of glucosamine to form a UV-active derivative. Chromatography was performed on an ACE C18 column (150 × 4.6 mm, 5 μm) at a mobile phase flow rate of 1.0 mL/min, column temperature of 25 °C, injection volume of 20 μL, and detection at 230 nm; the mobile phase consisted of methanol and water (67:33). It was established that the retention time of the glucosamine derivative is 2.21 min, which can be used as a criterion for compound identification. No peaks coinciding with its retention time were observed on the placebo chromatogram, confirming the specificity of the procedure. According to the validation results, the correlation coefficient was  $r = 0.9991$ , the systematic error was 0.31%, and  $\Delta Z$  was 0.61%, which meets the acceptance criteria. Quantitative determination showed that the glucosamine sulfate content in sachets was about 1506.74 mg, and in capsules 751.20 mg, with the relative uncertainty of the mean result being less than 0.50%.

For the determination of methylsulfonylmethane, two gas chromatographic procedures were proposed: GC/MS and GC/FID. It was shown that the GC/MS method is advisable for confirming analyte identity, whereas GC/FID is suitable for routine quantitative control. For the test solution, the relative standard deviation of peak areas was 0.40% for GC/MS and 0.35% for GC/FID, while for the reference solution it was 0.42% and 0.38%, respectively. The procedures are linear in the range of 80–120% of the nominal content, and the limits of detection and quantification were 0.013% / 0.04% for GC/MS and 0.0088% / 0.026% for GC/FID, respectively. The actual MSM content in the medicinal product was 401.934 mg (100.48%) by GC/MS and 401.546 mg (100.39%) by GC/FID, confirming the high accuracy and suitability of both procedures.

Identification of ascorbic acid was performed by reaction with sodium 2,6-dichlorophenolindophenol, accompanied by immediate decolorization of the reagent solution. Iodometric titration was used for quantitative determination. The procedure was found to be linear in the range of 80–120%, with a correlation coefficient of  $r = 0.9997$ , a relative standard deviation of 0.19%, and a systematic error of 0.19%. The actual content of ascorbic acid was 80.22 mg (100.28%) in the powder and 40.56 mg (101.40%) in the capsules relative to the nominal content. The obtained data confirmed the selectivity and high reproducibility of the procedure in the presence of other components of the combined medicinal product.

For the identification and quantitative determination of sodium hyaluronate, a pharmacopoeial spectrophotometric procedure based on the carbazole reaction with optical density measurement at 530 nm was used. Calibration solutions were prepared using D-glucuronic acid in the range of 6.5–65  $\mu\text{g/g}$ , and quantitative assessment was performed using a calibration graph. It was established that the average content of sodium hyaluronate was 29.64 mg in sachet powder and 15.26 mg in capsules, while the relative uncertainty of the results was 0.34% and 0.41%, respectively. It was shown that the procedure provides adequate sensitivity and reproducibility and can be used for the quality control of dosage forms with low sodium hyaluronate content.

Thus, in this chapter, analytical procedures for the standardization of the combined chondroprotective medicinal product in the form of powder in sachets and capsules were

developed and validated. The proposed procedures ensure selective, accurate, and reproducible determination of active pharmaceutical ingredients and can be used in the development of regulatory documentation and in the medicinal product quality control system.

The *fifth* chapter presents the results of the standardization and stability study of the developed combined chondroprotective medicinal product. Based on the results of pharmaceutical development, a draft quality specification for the medicinal product was developed in accordance with the requirements of the current legislation of Ukraine, in particular State Standard of Ukraine and the State Pharmacopoeia of Ukraine.

For the medicinal product in the form of powder for the preparation of an oral solution (sachets) and in the form of capsules, the main critical quality attributes for stability studies were determined, including description, pH value, microbiological purity, identification, and quantitative determination of active pharmaceutical ingredients. Stability studies were conducted over 24 months under long-term storage conditions at a temperature of  $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$  and a relative humidity of  $(60 \pm 5)\%$ . It was established that the studied batches of the medicinal product retained the stability of physicochemical and microbiological parameters throughout the entire observation period. The content of active pharmaceutical ingredients remained within the established acceptance criteria, while pH values and microbiological purity indicators complied with pharmacopoeial standards.

Based on the obtained results, a shelf life of 24 months for the developed medicinal product was substantiated under storage conditions at a temperature not exceeding  $25 ^\circ\text{C}$  in the manufacturer's primary packaging, with further control of related impurities.

The scientific novelty of the study lies in the theoretical substantiation and experimental confirmation of the composition of a combined chondroprotective medicinal product based on glucosamine sulfate, chondroitin sodium sulfate, methylsulfonylmethane, sodium hyaluronate, and ascorbic acid, in the development of the technology for its production in the form of powder for the preparation of an oral solution and capsules, as well as in the creation of approaches to the standardization and quality control of the developed medicinal product.

The results of the dissertation research were implemented in the work of the pharmaceutical development department of VIOLA FF PJSC and in scientific research and the educational process of a number of higher education institutions of pharmaceutical and medical profile in Ukraine.

*Keywords:* combined medicinal product, glucosamine sulfate, chondroitin sodium sulfate, powder for the preparation of an oral solution, capsules, standardization of medicinal products, validation, quality control, chromatographic methods of analysis, absorption spectrophotometry, stability.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН РОЗРОБКИ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОМБІНОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ХОНДРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ (Огляд літератури).....	26
1.1 Сучасні аспекти епідеміології, патогенезу та стандарти терапії остеоартрозу .....	26
1.2 Аналіз ринку лікарських засобів хондроїтину та глюкозаміну.....	28
1.3 Обґрунтування застосування хондроїтину сульфату та глюкозаміну натрію сульфату в терапії дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів.....	31
1.3.1 Фармакологічні властивості хондроїтину сульфату.....	31
1.3.2 Фармакологічні властивості глюкозаміну натрію сульфату .....	33
1.3.3 Синергізм дії та клінічна ефективність комбінованих засобів.....	33
1.4 Фізико-хімічні властивості та сучасні методи аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів об'єкту дослідження.....	37
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	46
2.1 Методи дослідження.....	47
2.1.1 Фізичні, фізико-хімічні методи дослідження, фармакотехнологічні випробування .....	47
2.1.1.1 Визначення ступеня гігроскопічності речовин .....	47
2.1.1.2 Вивчення хімічної сумісності компонентів лікарського засобу .....	48
2.2 Методики визначення діючих речовин .....	49
2.2.1 Методика визначення хондроїтин натрію сульфату.....	51
2.2.2 Методика визначення глюкозаміну сульфату .....	53
2.2.3 Методика кількісного визначення метилсульфонілметану.....	55
2.2.4 Методики визначення аскорбінової кислоти.....	58
2.2.5 Методика визначення натрію гіалуронату.....	58
Висновки до розділу 2 .....	60

РОЗДІЛ 3 ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ КОМБІНОВАНОГО ХОНДРОПРОТЕКТОРНОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ВИВЧЕННЯ СУМІСНОСТІ ТА СТАБІЛЬНОСТІ АФІ.....	63
3.1 Теоретичне обґрунтування вибору активних компонентів та допоміжних речовин .....	63
3.2 Дослідження фізико-хімічної сумісності активних фармацевтичних інгредієнтів.....	65
3.3 Розробка технологічної схеми виробництва .....	69
3.3.1 Технологічна схема виробництва капсул .....	73
3.3.2. Технологічна схема виробництва порошку для внутрішнього застосування у вигляді саше .....	77
Висновки до розділу 3.....	79
РОЗДІЛ 4 СТАНДАРТИЗАЦІЯ РОЗРОБЛЕНОГО СКЛАДУ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ У ФОРМІ ПОРОШКУ ТА КАПСУЛ.....	81
4.1 Визначення хондроїтин натрію сульфату.....	81
4.2 Визначення глюкозаміну натрію сульфату .....	90
4.3 Визначення метилсульфонілметану .....	95
4.4 Визначення аскорбінової кислоти.....	104
4.5. Визначення натрію гіалуронату.....	110
Висновки до розділу 4.....	113
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА СПЕЦИФІКАЦІЇ НА ГОТОВИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ .....	116
5.1 Показники якості та методики аналізу об'єктів дослідження .....	116
5.2 Вивчення стабільності та встановлення терміну придатності лікарського засобу.....	119
Висновки до розділу 5.....	125
ВИСНОВКИ.....	127
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	129
ДОДАТКИ.....	141

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;
- ВООЗ - Всесвітня організація охорони здоров'я;
- ГК - гіалуронова кислота;
- ГХ – газова хроматографія;
- ГХ/ПД - газова хроматографія з полум'яно-іонізаційним детектуванням;
- ДДС – додецил сульфат натрію;
- ДФУ – Державна Фармакопея України (діюче видання);
- ЄФ – Європейська фармакопея (діюче видання);
- ЛЗ – лікарський засіб;
- МС – мас-спектрометрія;
- МСМ – метилсульфонілметан;
- НПЗП - нестероїдний протизапальний препарат;
- ОА – остеоартроз;
- РХ –рідинна хроматографія;
- США – Сполучені Штати Америки;
- УФ – ультрафіолетовий;
- ХС - хондроїтину натрію сульфату;
- ЦОГ – циклооксигеназа;
- ЦПХ - цетилпіридинію хлорид;
- ШДА - швидкопрогресуючий деструктивний артроз;
- ЯМР - спектроскопія ядерного магнітного резонансу;
- ELSD - детектор випаровувального світлорозсіювання;
- ICH - International Council for Harmonisation;
- ISO - International Organization for Standardization;
- RSD - відносне стандартне відхилення;
- SYSADOA - симптоматичний препарат повільної дії;
- USP – Фармакопея США (діюче видання).

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми досліджень.** Дегенеративно-дистрофічні захворювання суглобів, зокрема остеоартроз, належать до найбільш поширених хронічних патологій опорно-рухового апарату та є однією з провідних причин тривалого больового синдрому, обмеження рухливості, зниження працездатності та якості життя пацієнтів. Сучасні підходи до фармакотерапії остеоартрозу передбачають застосування лікарських засобів, здатних впливати не лише на симптоми захворювання, а й на метаболічні процеси у хрящовій тканині та синовіальному середовищі суглоба.

Особливе місце у комплексній терапії дегенеративних уражень суглобів належить хондропротекторним засобам, до складу яких входять глюкозаміну сульфат, хондроїтину сульфат, метилсульфонілметан, натрію гіалуронат, аскорбінова кислота та інші біологічно активні компоненти. Їх застосування обґрунтовується участю у синтезі компонентів позаклітинного матриксу, підтриманні в'язкоеластичних властивостей синовіальної рідини, зменшенні інтенсивності запального процесу та оксидативного стресу.

Разом з тим аналіз сучасного фармацевтичного ринку свідчить, що більшість лікарських засобів хондропротекторної дії представлені монокомпонентними або двокомпонентними препаратами, тоді як багатоконпонентні тверді лікарські форми з поєднанням глюкозаміну, хондроїтину, метилсульфонілметану, натрію гіалуронату та аскорбінової кислоти розроблені недостатньо. Створення таких засобів є перспективним, оскільки дозволяє поєднати декілька механізмів фармакологічної дії в одній лікарській формі, підвищити комплаєнс пацієнта та оптимізувати терапію.

Водночас розробка багатоконпонентного лікарського засобу супроводжується низкою складних науково-практичних завдань, пов'язаних із вибором раціонального складу, оцінкою фізико-хімічної сумісності активних фармацевтичних інгредієнтів, вивченням їх фармакотехнологічних властивостей, підбором оптимальної лікарської форми, а також створенням комплексу валідованих методик ідентифікації та кількісного визначення речовин різної хімічної природи у складі одного препарату.

Особливу актуальність має аналітичний супровід фармацевтичної розробки, оскільки саме він забезпечує науково обґрунтований вибір методів контролю якості активних фармацевтичних інгредієнтів, дозволяє оцінити придатність лікарської форми до стандартизації, підтвердити точність, специфічність і відтворюваність аналітичних методик та сформувавши підґрунтя для подальшого розроблення нормативної документації на лікарський засіб.

Отже, наукове обґрунтування складу, технології виробництва та аналітичного супроводу фармацевтичної розробки твердих лікарських форм з глюкозаміном і хондроїтином є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки та практики.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до науково-дослідної тематики кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету в межах виконання НДР «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (номер державної реєстрації 0114U000949) та «Управління якістю у сфері розробки, виробництва та обігу лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0114U000950).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було наукове обґрунтування складу, технології виробництва та аналітичного супроводу фармацевтичної розробки комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку для приготування орального розчину та капсул, що містить глюкозаміну сульфат натрію, хондроїтину натрію сульфат, метилсульфонілметан, натрію гіалуронат та аскорбінову кислоту.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Провести аналіз наукових джерел літератури щодо сучасних підходів до фармакотерапії остеоартрозу, особливостей застосування лікарських засобів хондропротекторної дії та методів аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів, що входять до їх складу.

2. Провести аналіз сучасного фармацевтичного ринку хондропротекторних лікарських засобів та обґрунтувати вибір активних фармацевтичних інгредієнтів для створення комбінованого лікарського засобу.

3. Дослідити фізико-хімічні та фармакотехнологічні властивості активних фармацевтичних інгредієнтів і допоміжних речовин, запропонованих для введення до складу лікарського засобу.

4. Вивчити гігроскопічність, хімічну сумісність і стабільність компонентів модельної суміші та обґрунтувати раціональний склад комбінованого лікарського засобу.

5. Розробити технологію виготовлення комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку для приготування орального розчину в пакетах-саше та капсул.

6. Розробити аналітичні методики ідентифікації та кількісного визначення хондроїтину натрію сульфату, глюкозаміну сульфату, метилсульфонілметану, аскорбінової кислоти та натрію гіалуронату у складі лікарського засобу.

7. Провести валідацію розроблених аналітичних методик відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

8. Розробити специфікацію якості на лікарський засіб та вивчити його стабільність за критичними показниками якості для встановлення умов та терміну зберігання.

*Об'єкт дослідження:* розробка і валідація методик контролю якості потенційних комбінованих лікарських засобах з хондроїтином та глюкозаміном в комбінації з іншими АФІ.

*Предмет дослідження:* науково обґрунтований склад і раціональна технологія виготовлення комбінованих оригінальних твердих лікарських засобів хондропротекторної дії для профілактики і лікування остеоартрозу, специфікаційні характеристики та стандартизація об'єктів дослідження.

**Методи дослідження.** Для досягнення поставленої мети використано комплекс сучасних фізико-хімічних, фармакотехнологічних та статистичних методів дослідження. Аналіз літературних джерел, фармацевтичного ринку та інформаційних баз даних застосовано для обґрунтування вибору активних фармацевтичних інгредієнтів і лікарських форм. Фармакотехнологічні властивості субстанцій і модельних сумішей вивчали з використанням методів визначення гігроскопічності,

насипної густини, густини після усадки, текучості, кута природного укосу, коефіцієнта Гауснера та оптичної мікроскопії. Хімічну сумісність і стабільність компонентів оцінювали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні. Для кількісного визначення хондроїтину натрію сульфату використовували потенціометричне титрування із застосуванням цетилпіридинію хлориду та іон-селективного електрода. Для визначення глюкозаміну сульфату використовували метод рідинної хроматографії з попередньою дериватизацією фенілізотіоціанатом. Для визначення метилсульфонілметану застосовували метод газової хроматографії з мас-селективним та полуменево-іонізаційним детектуванням. Ідентифікацію аскорбінової кислоти проводили за реакцією з натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолом, а кількісне визначення — методом йодометричного титрування. Для ідентифікації та кількісного визначення натрію гіалуронату використовували спектрофотометричний метод на основі карбазольної реакції. Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали методами варіаційної статистики відповідно до вимог Державної фармакопеї України з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel. Валідацію аналітичних методик проводили згідно загальної монографії ДФУ «5.3.N.2. Валідація аналітичних методик і випробувань».

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено склад комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії на основі глюкозаміну сульфату та хондроїтину натрію сульфату в комбінації з метилсульфонілметаном, натрію гіалуронатом та аскорбіновою кислотою у формі порошку для приготування орального розчину та капсул. На основі даних літературних джерел щодо фармакологічної дії, проведених фізико-хімічних, фармакотехнологічних і аналітичних досліджень обґрунтовано раціональний склад, вибір допоміжних речовин, тип первинного пакування та технологію виробництва комбінованого лікарського засобу.

Уперше розроблено та валідовано комплекс аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів різної хімічної природи у складі комбінованого лікарського засобу із застосуванням

потенціометричного титрування, рідинної хроматографії та газової хроматографії, абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні та йодометричного титрування. Набули подальшого розвитку підходи до стандартизації та контролю якості багатокомпонентних лікарських засобів хондропротекторної дії, а також обґрунтовано показники якості, розроблено проєкт специфікації та встановлено термін придатності лікарського засобу на підставі результатів дослідження хімічної та мікробіологічної стабільності.

**Практичне значення роботи.** Проведені дослідження стали підґрунтям для розроблення проєкту специфікації на лікарський засіб з глюкозаміном і хондроїтином в комбінації з іншими АФІ хондропротекторної дії в формі порошку для орального застосування та капсул.

Фрагменти роботи впроваджено в роботу відділу з фармацевтичної розробки ПрАТ Фармацевтична Фабрика «ВІОЛА» (акт впровадження від 29.12.2025 р.), в навчальний процес і наукову роботу кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (акт впровадження від 06.03.2026 р.); кафедри фармацевтичних дисциплін ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (акт впровадження від 03.03.2026 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо автором здійснено інформаційний пошук та узагальнено дані літературних джерел із досліджуваної тематики. На підставі теоретичних даних та експериментальних досліджень особисто автором розроблено склад, технологію та проєкти специфікації комбінованого лікарського засобу у формі порошку для приготування орального розчину (саше) та у формі капсул хондропротекторної дії. Результати експериментальних досліджень статистично оброблено, висновки систематизовано. Персональний внесок дисертанта в усіх опублікованих працях зі співавторами (О.С. Кухтенко, В. А. Георгіянци, Я. І. Студеняк, Н. Ю. Бевз, В. І. Плиска, О. В. Бевз, О. В. Криванич, А. С. Дейнека, О. В. Штримайтис, В. С. Петрук, О. В. Рудакова) зазначено у тексті дисертації.

Визначення мети, завдань, шляхів їх реалізації, обговорення результатів отриманих даних виконано разом із науковим керівником.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладено й обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: Міжнародної Internet-конференції «Modern chemistry of medicines» (Харків, 2023); Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнародної Internet-конференції (Харків, 2024); Київської конференції з аналітичної хімії: Сучасні тенденції 2024 (Київ, 2024); Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю "Запорізький фармацевтичний форум - 2025: Фармація майбутнього - від сучасного стану - до глобальних викликів" (Запоріжжя, 2025).

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 147 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 116 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 21 таблицями, 20 рисунками. Список використаних джерел містить 119 найменувань, з них 23 кирилицею та 96 латиницею.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНИЙ СТАН РОЗРОБКИ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КОМБІНОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ХОНДРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ (Огляд літератури)

### 1.1 Сучасні аспекти епідеміології, патогенезу та стандарти терапії остеоартрозу

Остеоартроз (остеоартрит, ОА) - це хронічне дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, в основі якого лежить прогресуюча деградація суглобового хряща, структурні зміни субхондральної кістки та синовіт. Хоча остеоартрит може вражати будь-який суглоб в організмі, найчастіше уражаються стегна, коліна, стопи та кисті [1-2].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), станом на 2019 рік поширеність остеоартриту у світі досягла 528 мільйонів людей, що демонструє зростання на 113% порівняно з 1990 роком. Така динаміка зумовлена глобальними демографічними процесами (старіння населення) та епідемією метаболічних порушень, зокрема ожиріння [3].

Висока кореляція поширеності патології спостерігається з віковим фактором, при цьому чітко виражений гендерний дисбаланс: жінки в постменопаузальному періоді становлять групу найвищого ризику через гормонально-асоційовані зміни метаболізму кісткової та хрящової тканин [4].

Сучасні дослідження змушують переглянути класичне уявлення про артроз як про виключно повільне, десятиліттями триваюче «зношування». Особливу увагу науковців привертає швидкопрогресуючий деструктивний артроз (ШДА). На відміну від інших форм, ШДА часто виникає раптово у пацієнтів, які раніше не мали серйозних проблем із суглобами та характеризується агресивним перебігом, здатним призвести до повної деструкції суглоба протягом 6-12 місяців [5-6].

Сучасна медицина переглядає погляди на артроз: він постає не лише як повільне зношування, а й як гостра кісткова катастрофа. Ключовим фактором ризику ШДА, особливо у жінок похилого віку, є системна крихкість кісткової тканини (остеопороз),

що спричиняє субхондральні мікропереломи, які часто залишаються невізуалізованими на ранніх етапах рентгенографії. Найвищий ризик розвитку ШДА мають пацієнти з ревматоїдним артритом, цукровим діабетом, системним червоним вовчаком та порушеннями згортання крові [7-8].

На відміну від артрозу кульшового чи колінного суглобів, які часто є «первинними» (наслідок зношування), артроз гомілкостопу в переважній більшості випадків є вторинним, тобто наслідком травми. Автори наголошують, що ця патологія вражає значно молодшу та працездатну частину населення. Близько 70-80% випадків артрозу гомілкостопу є посттравматичними. Це наслідки переломів кісточок, таранної кістки або хронічної нестабільності зв'язок після розтягнення. Це радикально відрізняє його від ШДА кульшового суглоба, де причиною є системні чи вікові зміни. Через травматичну природу цей вид артрозу зустрічається у людей у віці 40-50 років, що робить її серйозним економічним тягарем для суспільства [9].

Науковці довели, що спосіб життя та постава людини призводять до деформації хребта, що безпосередньо прискорює руйнування стегна, перетворюючи кульшовий суглоб із зони стабільної опори на точку критичного механічного перевантаження. Через зміну тазового кута вага тіла перестає розподілятися рівномірно, що запускає механізм швидко прогресуючої деструкції, при якій суглоб не просто зношується роками, а буквально «розчавлюється» під аномальним тиском за лічені місяці [10].

Комплексний підхід до лікування артрозу включає [11-12]:

1. Консервативну терапію: корекцію постави, кінезіотерапію, фізіотерапію та фізичні тренування для покращення м'язової сили, балансу та функції суглоба [13].
2. Медикаментозне лікування, що полягає в комбінації нестероїдних протизапальних засобів, хондропротекторів та гіалуронової кислоти [14].
3. Остеотомію: хірургічне виправлення осей для збереження власного суглоба (ефективні на середніх стадіях у пацієнтів молодого віку) [15-16].
4. Радикальне лікування: ендопротезування (пізні етапи та ШДА) [17].

В Україні нормативно-правовою базою для надання медичної допомоги пацієнтам є адаптована клінічна настанова МОЗ 00396 «Остеоартроз» [18], яка

базується на принципах доказової медицини та передбачає поетапний підхід до терапії остеоартрозу та включає наступні компоненти:

Базисна терапія: препаратами першої лінії визначено симптоматичні засоби сповільненої дії, зокрема глюкозамін сульфат та хондроїтин сульфат.

Для контролю больового синдрому та запалення використовують анальгетики та НПЗЗ (включаючи селективні інгібітори ЦОГ-2), парацетамол при слабкому болю, опіоїди у випадках резистентного вираженого больового синдрому.

Ін'єкційна інтраартикулярна терапія: препарати гіалуронової кислоти: застосовують для віскосуплементації; глюкокортикоїди тривалої дії: рекомендовані для локального введення з метою швидкого купірування гострих фаз запалення та синовіту.

Міжнародні рекомендації [19-21] дещо уточнюють сучасну стратегію ведення пацієнтів із остеоартритом. Зокрема, як базис лікування для всіх категорій пацієнтів визначено немедикаментозні заходи - освітні програми, регулярну структуровану фізичну активність та контроль маси тіла при її надлишку.

## 1.2 Аналіз ринку лікарських засобів хондроїтину та глюкозаміну

Хондроїтину сульфат схвалений у США як харчова добавка для лікування остеоартриту, тоді як у Європі та деяких інших країнах його використовують як симптоматичний препарат повільної дії (SYSADOA) [22].

Ринок представлений чотирма лікарськими формами лікарських засобів, що містять хондроїтину сульфату. Найбільшу частку займають пероральні форми (капсули та таблетки) та ін'єкційні розчини.

До сегмента лікування гострих станів належать ін'єкційні лікарські форми (Артрида, Стаурум), а також таблетки з диклофенаком (Мовекс Актив), які застосовуються для швидкого зняття больового синдрому та запалення.

Сегмент хронічного лікування представлений капсулами та таблетками, що містять глюкозамін і призначені для тривалого застосування.

Локальна терапія включає мазі та емульгелі, які використовуються як допоміжні засоби у складі комплексного лікування [23].

Сучасні дослідження підкреслюють, що клінічна ефективність та безпека хондроїтину сульфату безпосередньо залежать від ступеня його очищення та походження, що робить фармацевтичні препарати значно дієвішими за нутрацевтичні харчові добавки [24]. Доведено, що застосування високоочищеного хондроїтину сульфату фармацевтичного ступеня не лише забезпечує швидке купірування больового синдрому та відновлення функціональної рухливості суглобів при остеоартриті, а й демонструє тривалий післядіючий ефект (*carry-over effect*). Важливою перевагою такого лікування є високий профіль безпеки та краща шлунково-кишкова переносимість порівняно з традиційними нестероїдними протизапальними засобами, що дозволяє оптимізувати тривалу терапію хронічних дегенеративних захворювань.

Згідно з результатами систематичного аналізу [25], європейський ринок нутрицевтиків для терапії остеоартриту характеризується значною гетерогенністю та низьким регуляторним контролем: понад 75% досліджених дієтичних добавок хондроїтину сульфату та глюкозаміну не відповідали заявленому на етикетці вмісту (з дефіцитом до 60%), а також містили значні домішки кератансульфату (до 47,1%). Порівняльні тести *in vitro* на людських хондроцитах підтвердили, що більшість добавок, на відміну від фармацевтичних препаратів категорії SYSADOA, мають низьку біологічну активність або навіть проявляють цитотоксичність. Таким чином, через нестабільність молекулярно-масового профілю та сумнівну чистоту сировини в сегменті дієтичних добавок, автори обґрунтовують клінічну доцільність пріоритетного застосування сертифікованих лікарських засобів для забезпечення прогнозованого терапевтичного ефекту.

Таблиця 1.1

## Сегментація асортименту лікарських засобів на основі хондроїтину сульфату

Форма випуску	Тип складу	Кількість зареєстрованих ЛЗ	Назви лікарських засобів	Склад АФІ (крім хондроїтину сульфату)
Капсули	Моно	1	Структум	-
	Комбіновані	7	Хондроїтин® Комплекс, Хондра-Сила, Терафлекс, Хондро-Ріц, Артеджа Комплекс, Артифлекс Ультра, Терафлекс Адванс	глюкозаміну гідрохлориду, ібупрофен
Таблетки	Комбіновані	5	Мовекс Актив, Мовекс Комфорт, Протекон, Протекон Фаст, Артифлекс Плюс	глюкозаміну гідрохлориду, калію диклофенаку
Розчини для ін'єкцій	Моно	7	Артида, Стаурум, Артрокс, Хондросат, Артеджа Ін'єкції, Артифлекс Хондро, Хітарт	-
М'які форми (мазі/емульгелі)	Моно	5	Хондроїтин-Фітофарм, Артеджа® Емульгель, Хондра-Сила, Хондрофлекс, Хондроїтинова Мазь	-
	Комбіновані	1	Хондра-Сила зігріваюча	левоментол

Ринок глюкозаміну (таблиця) орієнтований переважно на парентеральне введення та приготування пероральних розчинів.

Таблиця 1.2

### Номенклатура лікарських засобів глюкозаміну на ринку України

Форма випуску	Кількість зареєстрованих ЛЗ	Назви лікарських засобів	Примітка
Розчин для ін'єкцій	5	Дона, Сінарта, Глюкосат, Джайв, Артіма	Комплектуються ампулою А (речовина) та В (розчинник)
Саше (порошок для орального розчину)	2	Дона, Сінарта	Високе дозування (1500 мг)
Крем	1	Артифлекс	Містить також ібупрофен та алантоїн

Хоча гіалуронова кислота широко відома в косметології та ортопедії, згідно даних Державного реєстру лікарських засобів, на ринку представлені розчин для ін'єкцій «Гіалган» та офтальмологічні форми (очні краплі «Хіло-Комод»), що містять натрію гіалуронат.

### 1.3 Обґрунтування застосування хондроїтину сульфату та глюкозаміну натрію сульфату в терапії дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів

#### 1.3.1 Фармакологічні властивості хондроїтину сульфату

Хондроїтину сульфат - високомолекулярний природний сульфатований глікозаміноглікан, який є одним із базових структурних елементів позаклітинного матриксу та забезпечує стабільність, механічну підтримку й функціональну цілісність клітинного мікрооточення [26].

Хондроїтину сульфат проявляє не лише структурну функцію, а й виступає як активний регулятор сигнальних шляхів, впливаючи на перебіг внутрішньоклітинних процесів і беручи участь у широкому спектрі фізіологічних реакцій [27].

Біологічна активність хондроїтинсульфату безпосередньо залежить від його структурних модифікацій, зокрема джерела походження та ступеня сульфатування. Автори підтверджують, що підвищення рівня сульфатування або наявність фукозильованих відгалужень (як у морських організмів) значно посилює антикоагулянтні та антипроліферативні властивості сполуки. В свою чергу це закладає основу для створення нових терапевтичних агентів на основі модифікованих глікозаміногліканів з прогнозованою біологічною дією [28-30].

Сучасні дослідження фізико-хімічних та структурних характеристик хондроїтину сульфату морського та прісноводного походження підкреслюють його значну антиоксидантну здатність, яка безпосередньо залежить від методу очищення та параметрів молекулярної структури [31-32].

Дослідження імуномодуючих властивостей хондроїтину сульфату, отриманого з акулячого хряща, зорової системи акули та морського огірка (*Stichopus chloronotus*), демонструють його здатність як стимулювати активність макрофагів RAW 264.7, так і проявляти виражений протизапальний ефект [33]. Це свідчить про подвійну роль сполуки в регуляції імунної системи, що робить її перспективною для терапії станів, що потребують селективної імунокорекції [34-35].

Хондроїтину сульфат пташиного походження виявляє виражені антиоксидантні, протизапальні та знеболювальні властивості, що дозволяють йому ефективно нейтралізувати вільні радикали та зменшувати набряки. Завдяки високому рівню сульфатування він значно підвищує поріг больової чутливості, що робить його перспективним для розробки нових терапевтичних засобів [36].

Механізм дії хондроїтину сульфату полягає в його здатності проникати всередину мастоцитів шляхом ендцитозу та вибірково пригнічувати секрецію прозапальних медіаторів, зокрема TNF та CXCL8, при стимуляції аларміном IL-33. Оскільки він блокує саме процес вивільнення цитокінів, а не їхній синтез, це дозволяє ефективно купірувати гостру фазу запалення. На основі цих властивостей автори

припускають можливість використання хондроїтину сульфату як топічного або системного засобу для лікування алергічних та хронічних запальних захворювань, таких як атопічний дерматит, псоріаз та інтерстиціальний цистит [37].

Особлива увага приділяється терапевтичному потенціалу хондроїтину сульфату в лікуванні остеоартриту на тлі цукрового діабету, де він виявляє не лише структурно-модифікуючу дію, а й специфічні молекулярні механізми корекції метаболічних порушень. Завдяки здатності впливати на прозапальні каскади, він є перспективним засобом для ведення пацієнтів із супутніми ендокринними патологіями [38].

### 1.3.2 Фармакологічні властивості глюкозаміну натрію сульфату

Згідно з результатами [39], глюкозамін, отриманий шляхом біоферментації, має ідентичну фармакокінетику та біодоступність, як і традиційний глюкозамін із хітозану (панцирів ракоподібних). Обидві форми однаково ефективно засвоюються організмом і досягають однакової концентрації в крові. Це робить ферментований глюкозамін повноцінною та безпечною альтернативою для вегетаріанців і людей з алергією на морепродукти без жодних втрат у терапевтичній якості.

Метаогляд [40] підтверджує, що щоденний прийом 1500 мг глюкозаміну сульфату ефективно зменшує біль та покращує функцію суглобів при остеоартриті. Доведено, що він позитивно впливає на структуру хрящової тканини, сприяє зменшенню больового синдрому та покращенню функціонального стану суглобів, демонструючи високу достовірність доказів щодо сповільнення прогресування хвороби.

### 1.3.3 Синергізм дії та клінічна ефективність комбінованих засобів

Глюкозамін та хондроїтин є структурними компонентами суглобового хряща, які забезпечують його синтез, еластичність та амортизацію, а також пригнічують запальні цитокіни при остеоартриті. Сучасний систематичний огляд [41] підтвердив

клінічну ефективність цих сполук у 90% випадків, зокрема при дозуванні 1500 мг на добу.

Доведено, що додавання даної комбінації до програми силових вправ і мануальної терапії значно посилює терапевтичний ефект у пацієнтів із остеоартритом колінного суглоба. Зокрема, у групі комбінованого лікування спостерігалось статистично значуще зменшення інтенсивності болю та покращення функціональних можливостей порівняно з групою, яка отримувала лише фізичну терапію. Результати підтверджують синергічну дію хондропротекторів та фізичних навантажень, що дозволяє досягти кращої амплітуди рухів та підвищити якість життя пацієнтів у короткостроковій перспективі [42].

Доведено, що тривале застосування глюкозаміну та хондроїтину сульфату забезпечує клінічно значуще полегшення болю та покращення рухливості суглобів, демонструючи ефективність, порівнянну з НПЗЗ, але з істотно вищим профілем безпеки. Автори зазначають, що ці препарати мають кумулятивний ефект і сприяють уповільненню структурної дегенерації хряща, що робить їх пріоритетним вибором для довгострокової базисної терапії. Отримані дані підкреслюють доцільність призначення хондропротекторів як безпечної альтернативи традиційним анальгетикам для пацієнтів із ризиком шлунково-кишкових та кардіоваскулярних ускладнень [43].

Вивчена ефективність хондроїтину сульфату та глюкозаміну в лікуванні дисфункції скронево-нижньощелепного суглоба та з'ясовано, що їх застосування сприяє значному зменшенню болю та покращенню рухливості суглоба, особливо при тривалому лікуванні [44].

Згідно з останніми метааналізами, питання клінічної переваги комбінації глюкозаміну та хондроїтину залишається дискусійним. Зокрема, встановлено, що спільне застосування цих речовин не має статистично значущої переваги над монотерапією у зниженні інтенсивності болю. Водночас спостерігається функціональна спеціалізація: хондроїтину сульфат демонструє кращі результати в симптоматичному лікуванні (зменшення болю), тоді як глюкозаміну сульфат виявляє виражений структурно-модифікуючий вплив на хрящову тканину [45].

Водночас автори наголошують на важливості стандартизації вихідних сполук, оскільки низька біодоступність та нестабільна якість добавок глюкозаміну та хондроїтину сульфату залишаються головними викликами для досягнення стабільного клінічного ефекту [46].

Метилсульфонілметан (МСМ) - це джерело органічної сірки, яка має виражений протизапальний, знеболювальний та антиоксидантний ефекти. Завдяки малій молекулярній масі та унікальним фізико-хімічним властивостям, МСМ характеризується високою біодоступністю та плеiotропною дією на організм. Результати токсикологічних досліджень на тваринних моделях підтверджують безпечність та відсутність токсичного впливу сполуки навіть при тривалому застосуванні [47].

На клітинному рівні МСМ діє як донор сірки, що критично важливо для цілісності хряща та захисту хондроцитів від окислювального стресу. Дослідження підтверджують, що використання метилсульфонілметану при остеоартриті забезпечує значне зниження інтенсивності болю та пригнічення запальних медіаторів порівняно з плацебо. Вживання МСМ позитивно впливає на мобільність пацієнтів, зменшуючи ранкову скутість суглобів та полегшуючи виконання повсякденних фізичних завдань. Зокрема, аналіз ефективності МСМ при артрозі гомілковостопного суглоба демонструє результати, зіставні за дієвістю з традиційними методами терапії [48]. Оскільки промивання суглоба видаляє продукти розпаду, прийом хондропротекторів із МСМ допомагає швидше «побудувати» нову тканину або сповільнити деградацію хряща [49].

Згідно з результатами дослідження, хондроїтину сульфат, глюкозамін та метилсульфонілметан не виявили значущого впливу на активність основних ферментів цитохрому Р450, що відповідають за метаболізм ліків у печінці. Це свідчить про те, що дані речовини мають низький потенціал взаємодії з лікарськими засобами, зокрема зі знеболювальними засобами, які часто призначають при артриті. Дослідники підтвердили, що навіть у концентраціях, що перевищують стандартні добові дози, ці речовини не змінюють швидкість виведення ліків з організму. Таким

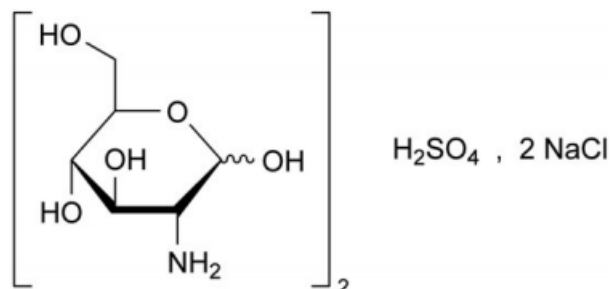
чином, поєднання цих речовин із традиційною терапією є безпечним для пацієнтів і не потребує коригування дозування супутніх препаратів [50].

Автори зазначають, що синергічна дія колагену 2-го типу, МСМ, глюкозаміну та хондроїтину протягом 8 тижнів визнана ефективною та безпечною; вона допомагає відновити гомеостаз хрящової тканини та зменшити запалення, що робить цей комплекс перспективним доповненням до традиційної терапії та фізичних вправ [51]. Підтвердженням цього є також дані про ефективність додавання гіалуронової кислоти до зазначеного комплексу при фасетковому синдромі поперекового відділу: тримісячний курс такої нутритивної підтримки забезпечив статистично значуще зниження інтенсивності болю за шкалою VAS (з 7,7 до 2,6 бала) та суттєве покращення функціонального стану пацієнтів [52]. Отже, поєднання цих структурних компонентів хряща з протизапальними агентами дозволяє досягти стабільного терапевтичного ефекту як при остеоартриті суглобів, так і при дегенеративних змінах хребта.

Дослідження продемонструвало, що гіалуронова кислота та хондроїтину сульфат, особливо при їх комбінованому застосуванні, значно знижують експресію прозапальних цитокінів (інтерлейкін-6 та інтерлейкін-8) і пригнічують активацію ядерного фактора каппа В у моделі запалення епітелію сечового міхура. Комбінація також сприяла відновленню бар'єрної функції клітин (через підвищення експресії білка щільних контактів *zonula occludens-1*) та посиленню місцевого антимікробного захисту, що обґрунтовує їх застосування при інтерстиціальному циститі / синдромі болю в сечовому міхурі [53].

1.4 Фізико-хімічні властивості та сучасні методи аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів об'єкту дослідження

**Глюкозаміну натрію сульфат**  
**Glucosamine Sulfate Sodium Chloride**



$C_{12}H_{28}Cl_2N_2Na_2O_{14}S$

М.м. 573,31

Біс(2-аміно-2-дезоксид-глюкопіранози)сульфат біс(натрій)хлорид

Білий або майже білий кристалічний порошок. Розчинність: добре розчинний у воді, помірно розчинний у метанолі, практично нерозчинний в ацетоні.

Методи ідентифікації:

1. Інфрачервона спектрофотометрія – порівнюють зі стандартним зразком.
2. Дає реакцію (а) на хлориди.
3. Водний розчин субстанції дає реакцію (а) на натрій.
4. Дає реакцію (а) на сульфати.
5. Питоме оптичне обернення водного розчину субстанції має бути від +50,0 до +55,0 (висушена речовина).

Кількісне визначення глюкозаміну сульфату проводять методом кислотно-основного титрування (метод зворотньої алкаліметрії), кінцеву точку титрування визначають потенціометрично [54-55].

Фармакопея США (USP) [56] регламентує визначення глюкозаміну сульфату проводити методом рідинної хроматографії з УФ-детектуванням при 195 нм. Використовують колонку типу L8 (зворотно-фазова сорбція). Розділення здійснюється із використанням рухомої фази, що складається з ацетонітрилу та фосфатного буфера. Ідентифікацію та кількісне визначення проводять шляхом

порівняння площі піка досліджуваного зразка з площею піка стандартного розчину з урахуванням коефіцієнтів перерахунку.

Також даний метод використовують також для таблеток, що містять глюкозаміну натрію сульфату.

Відповідно до USP 36 кількісне визначення глюкозаміну натрію сульфату та метилсульфонілметану у складі таблеток обґрунтовано проведено методом рідинної хроматографії. Для глюкозаміну застосовано попередню дериватизацію о-фтанальдегідом з метою підвищення чутливості та специфічності визначення.

Комбіновані таблетки містять три діючі речовини різної хімічної природи, тому монографія USP закладає різні аналітичні підходи:

- глюкозамін - ідентифікація та кількісне визначення методом рідинної хроматографії з дериватизацією з УФ-детектуванням при 340 нм.
- хондроїтину натрію сульфат - електрофорез для ідентифікації; титрування катіонним реагентом для кількісного визначення.
- метилсульфонілметан - ідентифікація та кількісне визначення методом рідинної хроматографії.

Основною проблемою при аналізі глюкозаміну сульфату є відсутність у його структурі подвійних зв'язків (хромофорів), що робить його «невидимим» для стандартних УФ-детекторів при звичайних довжинах хвиль. Ефективним рішенням цієї проблеми є розробка методик обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (RP-HPLC). Оскільки молекула глюкозаміну слабо поглинає УФ-світло, деякі автори використовують метод передколонкової дериватизації для підвищення чутливості детектування [57].

Для розділення компонентів у таких випадках застосовують колонки C18 (250 мм × 4,6 мм або 150 мм × 4,6 мм) та рухоми фазу на основі суміші водно-буферного розчину з ацетонітрилом або тетрагідрофураном [57, 58].

Особливий науковий інтерес становить розробка експрес-методів для одночасного визначення глюкозаміну в багатоконпонентних лікарських формах. Зокрема, було запропоновано економічну та селективну методику RP-HPLC для аналізу глюкозаміну сульфату, метилсульфонілметану та діацереїну у комбінованих

таблетках. Дослідження проводили на колонці Zodiasil C18 (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм) за температури 30°C. На відміну від методів із дериватизацією, у цій методиці детектування здійснювали за допомогою PDA-детектора при довжині хвилі 210 нм, що дозволило ідентифікувати компоненти за їхнім власним поглинанням у короткохвильовій УФ-області. Використання рухомої фази вода : ацетонітрил (50:50 v/v) при швидкості потоку 0,8 мл/хв забезпечило швидке розділення [59].

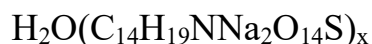
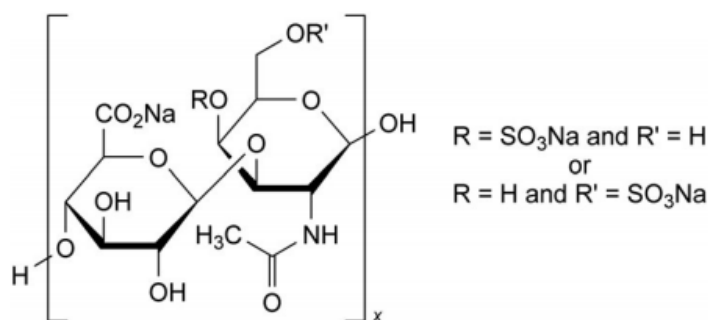
У роботі [60] проведено порівняння двох методів РХ (HPLC-ELSD з аміноколоною та HPLC-UV з колоною C18) для визначення глюкозаміну та хондроїтину сульфату в дієтичних добавках. Показано, що застосування детектора випаровувального світлорозсіювання (ELSD) забезпечує ефективне розділення аналітів та дозволяє ефективно аналізувати речовини без виражених хромофорних груп і забезпечує належне розділення компонентів.

Особливістю молекул глюкозаміну та хондроїтину є відсутність виражених хромофорних груп, що суттєво ускладнює їх детекцію за допомогою стандартних УФ-детекторів без попередньої дериватизації. Для вирішення цієї проблеми було розроблено та валідовано чутливу та стабільну RP-HPLC методику з використанням рефрактометричного детектора. Повне розділення обох активних речовин досягається в ізократичному режимі на колонці Hypersil BDS Phenyl (250 x 4.6 мм, 5 мкм). Як рухома фаза використовується фосфатний буфер (pH 2.5), а як розчинник - вода очищена. Швидкість потоку: 0.2 мл/хв; температура колонки: 40°C [61].

Іншим ефективним підходом до аналізу глюкозаміну та хондроїтину у дієтичних добавках є застосування гідрофільної взаємодіючої рідкої хроматографії (HILIC) у поєднанні з ELSD. Ця комбінація дозволяє подолати труднощі, пов'язані з низьким утримуванням глюкозаміну на стандартних сорбентах. Розділення проводиться на спеціалізованій колонці ZIC-HILIC (150 мм x 4.6 мм, 5 мкм), яка забезпечує кращу селективність для цукроподібних структур. Використовується суміш ацетонітрилу, 30 мМ формиату амонію та води у співвідношенні 77:20:3 при pH 4.5. Ізократична система зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Температура термостата колонки: 35°C. Об'єм інжекції: 5 мкл [62].

Сучасним напрямком у контролі якості багатокомпонентних дієтичних добавок є використання спектроскопії ядерного магнітного резонансу (ЯМР). Цей метод дозволяє проводити одночасне визначення глюкозаміну, хондроїтину та інших супутніх компонентів (наприклад, метилсульфонілметану, мальтодекстрину) без необхідності попереднього розділення або дериватизації [63].

### Хондроїтину натрію сульфат Chondroitin Sulfate Sodium



Природний сополімер, основою якого є переважно 2 дисахариди: [4)-(β-D-глюкопіранозилуронова кислота)-(1→3)-[2-(ацетиламіно)-2-деокси-β-D-галактопіранозил 4-сульфат]-(1→] та [4)-(β-D-глюкопіранозилуронова кислота)-(1→3)-[2-(ацетиламіно)-2-деокси-β-D-галактопіранозил 6-сульфат]-(1→], натрію сіль [54-56, 64].

Білий або майже білий гігроскопічний порошок. Легко розчинний у воді, практично не розчинний в ацетоні та етанолі (96 %).

Ідентифікацію субстанції глюкозаміну сульфату здійснюють за допомогою інфрачервоної спектроскопії з порівнянням із спектром стандартного зразка, проведенням якісної реакції на натрій (а), а також застосуванням методу електрофорезу з реєстрацією електрофореграми та визначення питомого оптичного обертання (від -20 до -30 (для субстанції, одержаної із наземних тварин) або від -12 до -19 (для субстанції, одержаної із морських тварин)) [54-56, 64].

Серед сучасних методів ідентифікації глікозаміногліканів можна виділити метод ЯМР-спектроскопії. У роботі [65] запропоновано стратегію структурного

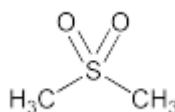
аналізу вуглеводів із використанням багатовимірної ЯМР-спектроскопії (2D та 3D NMR), що дозволяє подолати проблему перекривання сигналів у спектрах та дає змогу ідентифікувати повторювані дисахаридні фрагменти типу А та С хондроїтину сульфату.

Згідно фармакопей [54-56] кількісне визначення хондроїтину сульфату натрію проводять методом осаджувального титрування катіонним поверхнево-активним реагентом (цетилпіридинію хлоридом) з візуальною або фотометричною фіксацією кінцевої точки.

Даний метод USP також рекомендує використовувати для таблеток хондроїтину натрію сульфату [56].

### Метилсульфонілметан

### Methylsulfonylmethane



М.м. 94,13

диметилсульфон

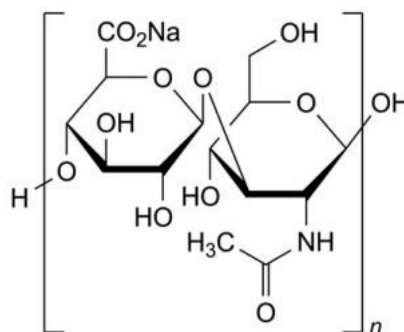
Згідно вимог USP субстанцію метилсульфонілметану підтверджують методом інфрачервоної спектрофотометрії та хроматографії. Для кількісного визначення використовують метод газової хроматографії з полуменево-іонізаційним детектуванням із використанням внутрішнього стандарту [56].

Відповідно до вимог USP [56], для кількісного визначення метилсульфонілметану у формі таблеток рекомендовано застосування методу газової хроматографії. Зокрема, для аналізу комерційно доступних дієтичних добавок з МСМ успішно впроваджено методику ГХ із використанням полум'яно-іонізаційного детектора (ПІД) на капілярній колонці з диметилполісілоксаном, де як внутрішній стандарт застосовували метиловий ефір діетиленгліколю [66].

Спираючись на ці результати, науковцями було розроблено та валідовано методику одночасного аналізу МСМ та гіалуронової кислоти у комбінованих зразках із використанням ГХ та рідинної хроматографії з флуоресцентним детектуванням ( $\lambda_{\text{exc}} = 255 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 330 \text{ нм}$ ) після дериватизації гіалуронової кислоти з використанням флуоренілметилоксихарбонілхлориду [67].

### Натрію гіалуронат

### Sodium Hyaluronate



Натрієва сіль гіалуронової кислоти, глікозаміноглікан, що складається з D-глюкуронової кислоти та N-ацетил-D-глюкозаміну дисахаридних одиниць

Білий або майже білий, дуже гігроскопічний порошок або волокнистий агрегат. Малорозчинний або розчинний у воді, практично не розчинний в ацетоні та безводному етанолі [54-56].

Ідентифікацію субстанції натрію гіалуронату здійснюють за допомогою інфрачервоної спектрофотометрії з порівнянням із спектром стандартного зразка, проведенням якісної реакції на натрій (а) [54-55].

Кількісний вміст глюкуронової кислоти в субстанції натрію гіалуронату визначають спектрофотометричним методом. Метод ґрунтується на утворенні забарвленого комплексу продуктів дегідратації глюкуронової кислоти з карбазолом у кислому середовищі з подальшим вимірюванням оптичної густини при 530 нм [54, 55, 68, 69].

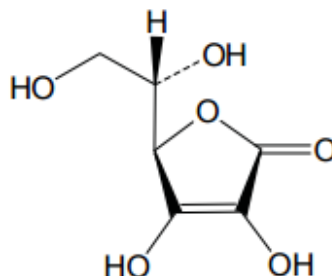
Японська фармакопея [68] для ідентифікації глюкуронової кислоти в розчині для ін'єкції з натрію гіалуронату використовує реакцію на уронові кислоти – з

карбазолом, утворюється червоне або червоно-фіолетове забарвлення. Для підтвердження специфічного дисахаридного фрагмента гіалуронату – реакцію з реактивом 4-диметиламінобензальдегідом - з'являється жовтувато-червоне або червоне забарвлення. Для підтвердження полісахаридної природи та аніонний характер гіалуронату – реакцію з цетилпіридинію хлоридом, утворюється білий осад.

Метод рідинної хроматографії розроблено для визначення натрію гіалуронату у фармацевтичних препаратах. Оскільки сполука є високомолекулярним полімером і не має вираженого хромофора, автори застосували ексклюзивну хроматографію з УФ-детектуванням при довжині хвилі 205 нм. Розділення проводилося в ізократичному режимі з використанням фосфатного буфера (рН 7,0), що дозволило досягти стабільного часу утримування та ефективного кількісного аналізу як субстанцій, так і готових лікарських форм [70, 71].

### Аскорбінова кислота

#### Ascorbic Acid



$C_6H_8O_6$

М.м. 176.1

(5R)-5-[(1S)-1,2-Дигідроксиетил]-3,4-дигідрокси-фуран-2(5H)-он

Кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали, що змінюють колір під впливом повітря і вологи. Легко розчинний у воді, помірно розчинний в етанолі (96 %) і практично не розчинний у діетиловому ефірі [54-56, 64].

Для ідентифікації субстанції аскорбінової кислоти використовують абсорбційну спектрофотометрію в ультрафіолетовій області - водний розчин у кислому середовищі має максимум поглинання при 243 нм та питомий показник поглинання від 545 до 585.

Для підтвердження структурної тотожності застосовують інфрачервону спектrophотометрію: спектр досліджуваної речовини повинен відповідати спектру фармакопейного стандартного зразка аскорбінової кислоти.

Для підтвердження кислотних властивостей визначають рН водного розчину, який повинен знаходитися в межах 2,1-2,6.

Для підтвердження відновних властивостей проводять реакцію з срібла нітратом в кислому середовищі - утворюється сірий осад.

Питоме оптичне обертання водного розчину має бути від +20.5 до +21.5 [72].

Японська фармакопея [68] для ідентифікації субстанції аскорбінової кислоти використовує реакції, що ґрунтуються на її виражених відновних властивостях. Зокрема, у присутності калію перманганату або 2,6-дихлороіндофенолу відбувається негайне знебарвлення розчину внаслідок окиснення аскорбінової кислоти до дегідроаскорбінової форми. Додатково застосовується підтверджувальна реакція після попереднього окиснення йодом: у присутності іонів міді (II) та піролу при нагріванні формується характерне синє забарвлення, що свідчить про утворення специфічного комплексу продуктів окиснення аскорбінової кислоти.

Кількісний вміст аскорбінової кислоти визначають методом йодометричного титрування. Метод ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти до окисно-відновної взаємодії з йодом. Кінцеву точку титрування фіксують за появою стійкого фіолетово-синього забарвлення комплексу йоду з крохмалем [54-56, 64].

Огляд сучасних джерел наукової літератури показав, що дегенеративні захворювання суглобів, зокрема остеоартрит, залишаються однією з найпоширеніших патологій опорно-рухового апарату, що зумовлює активний пошук ефективних підходів до їх фармакотерапії. Встановлено, що перспективним напрямом лікування таких захворювань є застосування хондропротекторних лікарських засобів, до складу яких входять глюкозаміну сульфат натрію, хондроїтину натрію сульфат, метилсульфонілметан, натрію гіалуронат та інші біологічно активні сполуки, здатні впливати на метаболізм хрящової тканини, зменшувати запальні процеси та сприяти відновленню структури суглобового хряща.

Аналіз результатів фармакологічних та клінічних досліджень свідчить, що комбіноване застосування зазначених активних фармацевтичних інгредієнтів забезпечує більш виражений терапевтичний ефект завдяки їх синергічній дії та комплексному впливу на різні ланки патогенезу остеоартриту. У зв'язку з цим створення комбінованих лікарських засобів хондропротекторної дії є актуальним напрямом сучасних фармацевтичних досліджень.

Разом з тим встановлено, що питання стандартизації та аналітичного забезпечення контролю якості багатокомпонентних лікарських засобів, що містять активні інгредієнти різної хімічної природи, залишаються недостатньо вивченими. Це зумовлює необхідність розробки та наукового обґрунтування сучасних фізико-хімічних методів фармацевтичного аналізу, придатних для ідентифікації та кількісного визначення активних компонентів у складі комбінованих лікарських форм.

Отже, перспективним напрямом досліджень є розробка складу та технології комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії, а також створення комплексу аналітичних методик для забезпечення його стандартизації та контролю якості на всіх етапах життєвого циклу.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналітичний супровід фармацевтичної розробки – безперервний процес, який триває від моменту появи ідеї до виходу препарату на ринок. Його можна розділити на кілька стратегічних етапів, кожен з яких має свої специфічні завдання, серед яких:

- вивчення фізико-хімічних властивостей речовин (розчинність, гігроскопічність, рKa), стабільність субстанцій та їх сумісність;
- розробка та оптимізація аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення;
- супровід розробки складу лікарської форми (контроль критичних параметрів якості і фармако-технологічних випробувань);
- дослідження стабільності;
- валідація аналітичних методик.

Дослідження фармакотехнологічних характеристик порошку лікарського засобу виконували методом нерухомої лійки з використанням насадки діаметром  $10 \pm 0,01$  мм (тест «Плинність») та вібраційного пристрою «Farma test» (Німеччина).

Насипну густину визначали на пристрої для визначення об'ємної маси типу РТ-TD1 (Farma Test, Німеччина) (100,0 г).

Для потенціометричного визначення рН використовували рН-метр «Seven Easy» фірми «Mettler Toledo» (США).

Оцінювання сумісності компонентів лікарського засобу, кількісне визначення натрію гіалуронату здійснювали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій ділянках на двопробеному спектрофотометрі Specord 200 «AnalytikJena» (Німеччина), вимірюючи оптичну густину в кюветах із шаром завтовшки 10 мм.

Ступінь гігроскопічності визначали у скляних бюксах із використанням ексикатора, заповненого насиченим розчином *амонію хлориду Р*.

## 2.1 Методи дослідження

З метою науково-практичного обґрунтування складу, технології та аналітичного супроводу фармацевтичної розробки капсул і порошку для внутрішнього застосування у формі саше було використано сучасні фізичні, фізико-хімічні методи аналізу та фармакотехнологічні випробування, методи кількісного визначення, статистичний аналіз результатів хімічних і технологічних досліджень, валідацію аналітичних методик та випробувань.

### 2.1.1 Фізичні, фізико-хімічні методи дослідження, фармакотехнологічні випробування

Фізичні, фізико-хімічні методи дослідження, фармакотехнологічні випробування та методи кількісного визначення, використані під час дослідження: визначення ступеня гігроскопічності; потенціометричне титрування; об'ємне титрування; ГХ; РХ; спектрофотометрія.

#### 2.1.1.1 Визначення ступеня гігроскопічності речовин

Фармакотехнологічні характеристики порошкових систем детерміновані властивостями їхніх активних компонентів. Зокрема, за умови перевищення парціального тиску водяної пари в атмосфері над аналогічним показником на поверхні твердої фази, спостерігається сорбція вологи (гігроскопічність). Це ініціює міжкомпонентні взаємодії та утворення нових сполук, що критично змінює властивості суміші [73]. Визначення ступеня гігроскопічності є стратегічним завданням, оскільки дозволяє не лише встановити умови зберігання, а й превентивно нівелювати небажані реакції на етапі виробництва, обґрунтовувати вибір допоміжних речовин та оптимізувати технологічний процес [73].

Дослідження ступеня гігроскопічності вихідних АФІ та допоміжних речовин виконували згідно з вимогами статті ДФУ 5.11 «Розділ «Властивості» у монографіях» [54, 73] за методикою:

Використовують зважену скляну посудину із зовнішнім діаметром 50 мм і заввишки 15 мм. Зважують посудину та кришку ( $m_1$ ). Зазначену у випробуванні на втрату в масі під час висушування або на вміст води наважку випробовуваної субстанції поміщають у посудину та зважують ( $m_2$ ). Посудину без кришки поміщають за температури 25°C в ексікатор з насиченим розчином амонію хлориду  $P$  і витримують протягом 24 год. Закривають посудину кришкою та зважують ( $m_3$ ). Збільшення в масі, у відсотках, обчислюють за формулою (2.1):

$$\frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad (2.1)$$

#### 2.1.1.2 Вивчення хімічної сумісності компонентів лікарського засобу

Згідно з керівництвом СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Лікарські засоби фармацевтична розробка (ICH Q8) [74], вивчення сумісності компонентів є критичним етапом розробки комбінованих ЛЗ. Оцінка взаємодій між АФІ та допоміжними речовинами дозволяє ще на етапі преформуляції виявити ризики зниження стабільності чи накопичення продуктів деградації, забезпечуючи відповідність вимогам модуля 3 реєстраційного досьє.

Сумісність компонентів ЛЗ досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій ділянках відповідно до вимог ДФУ 2.2.25 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовому та видимому діапазоні» [75].

##### Приготування випробовуваних розчинів

*Розчин глюкозаміну сульфату.* 0,150 г глюкозаміну сульфату поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 води  $P$ , доводять тим же розчинником до мітки й перемішують.

*Розчин хондроїтин сульфату натрію (ХС).* 0,050 г хондроїтин сульфату натрію поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 води  $P$ , доводять тим же розчинником до мітки й перемішують.

*Розчин метилсульфонілметану (МСМ).* 0,040 г метилсульфонілметану поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 води  $P$ , доводять тим

же розчинником до мітки й перемішують (вихідний розчин АСК). До 1,0 мл вихідного розчину АСК додають 5,0 мл *води Р*.

*Розчин аскорбінової кислоти (АК)*. 0,008 г аскорбінової кислоти поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 *води Р*, доводять тим же розчинником до мітки й перемішують (вихідний розчин АК). До 1,0 мл вихідного розчину АК додають 5,0 мл *води Р*.

*Розчин натрію гіалуронату*. 0,003 г натрію гіалуронату поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 *води Р*, доводять тим же розчинником до мітки й перемішують.

*Розчин сорбіту*. 0,100 г сорбіту поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 *води Р*, доводять тим же розчинником до мітки й перемішують.

*Розчин лимонної кислоти*. 0,049 г лимонної кислоти поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 *води Р*, доводять тим же розчинником до мітки й перемішують.

Для вивчення можливої взаємодії двокомпонентних розчинів з АФІ: до 5,0 мл вихідного розчину АК додавали 5,0 мл будь-якого з перелічених розчинів глюкозаміну сульфату, ХС, МСМ, натрію гіалуронату, лимонної кислоти або сорбіту. Реєстрували УФ-спектр субстанцій спочатку окремо, а потім попарно в аналогічній концентрації.

## 2.2 Методики визначення діючих речовин

При розробці методик ідентифікації та кількісного визначення АФІ в складі досліджуваного лікарського засобу враховували вимоги чинного законодавства України, міжнародних стандартів якості та загальних статей Державної фармакопеї України, а також положення керівництва СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Лікарські засоби фармацевтична розробка (ICH Q8), що відповідає документу Європейського агентства з лікарських засобів (ЕМА) та ICH Q8 (R2) [73, 74, 76].

Відповідно до Настанов МОЗ України, вимог Міжнародної ради з гармонізації (ICH), рекомендацій Європейської директиви з якості лікарських засобів та охорони

здоров'я [77], Фармакопеї США [56] та ВООЗ [78], методики кількісного визначення АФІ у складі лікарського засобу може бути затверджена лише після проведення їх валідації.

Об'єктами дослідження були дослідні серії комбінованого лікарського засобу у формі саше та капсул наступних складів, зазначених в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

## Об'єкти дослідження

№ з/п	Речовини	Капсули	Саше	Виробник	Серія, використана в дослідженні, кількісний вміст АФІ
		Кількість, мг			
1	Глюкозаміну сульфат натрію	750	1500	Shandong Xiwang Sugar Industry, Китай	XWAC003, 99,97%
2	Хондрітину натрію сульфат	250	500	Bioiberica, s.a.u. R.M. Barcelona, Іспанія	F0932, 105,00%
3	Метилсульфонілметан	200	400	Shijiazhuang Jirong Pharmaceutical, Китай	101-1303006, 100,05%
4	Аскорбінова кислота	40	80	SD LUWEI Pharmaceutical, Co . Ltd, Китай	201404197, 99,63%
5	Натрію гіалуронат	15	30	Nippon Rica, Японія	5992-143, 96,40%
6	Сорбітол	-	1000	Evonic Industries, Німеччина	2111240201, 99,93%
7	Лимонна кислота	-	490	Shandong Ensing Industry Co., Ltd, Китай	3MT2504023, 99,90%
8	Магнію стеарат	10	-	Новохім, Україна	MS-019, 98,27 %
9	Аеросил	10	-	Evonik Operations GmbH, Китай	233101830, 99,8 %
10	Полівінілпіролідону (ПВП К-25)	1	-	Boai NKY Medical Holdings Ltd, Китай	2509141624, 25,3 %

Усі активні фармацевтичні інгредієнти та допоміжні речовини використовували фармакопейної якості, відповідно до сертифікатів якості виробника та вимог чинних фармакопей (USP, EP). Наважки зразків зважували на аналітичних вагах AXIS (Польща). Пробопідготовку здійснювали з використанням мірного посуду класу А та реактивів, що відповідають вимогам Європейської фармакопеї та Державної фармакопеї України. При необхідності - для розчинення зразків використовували ультразвукову баню Kraft & Dele KD500 (Польща).

Для забезпечення аналітичного супроводу фармацевтичної розробки та контролю якості комбінованого лікарського засобу застосовано комплекс хімічних, фізичних та фізико-хімічних методів аналізу. Вибір аналітичних методів дослідження здійснювали з урахуванням фізико-хімічних властивостей активних фармацевтичних інгредієнтів, їх концентрації у складі багатокомпонентного лікарського засобу, а також сучасних фармакопейних вимог щодо ідентифікації, кількісного визначення та валідації аналітичних методик.

### 2.2.1. Методика визначення хондроїтин натрію сульфату

Потенціометричне титрування проводили 0,01-0,0010 М розчинами цетилпіридинію хлориду при температурі  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  за допомогою цетилпіридиній-селективного індикаторного електроду при реєстрації відгуку потенціометром Radelkis OP-208/1 з аналого-цифровим перетворювачем (АЦП ADA-1406 (HOLIT DataSystems, Україна) при постійному перемішуванні розчинів на магнітній мішалці. Схема вимірювань: Ag, AgCl/KCl нас./Досл. розчин //Мембрана//  $10^{-3}\text{M}$  ЦПсі/AgCl, Ag. Стандартний 0,001 М або 0,01 М розчин цетилпіридинію хлориду додавали порціями по 0,5 мл і реєстрували зміну потенціалу (E, мВ), або ж титрування проводили до досягнення певного значення потенціалу індикаторної системи.

*Приготування розчинів для титрування:* 0,100 г хондроїтину натрію сульфату або порошку лікарського засобу, еквівалентну 0,100 г хондроїтину натрію сульфату, вміщують в мірну колбу на 100,0 мл, розчиняють у 50 мл води і доводять об'єм розчину водою до мітки. До 2,0 мл отриманого розчину додають 20-40 мл води і титрують 0,001 М розчином цетилпіридинію хлориду потенціометрично.

1 мл 0,001 М розчину цетилпіридинію хлориду відповідає 2,577 мг  $\text{H}_2\text{O}(\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NNa}_2\text{O}_{14}\text{S})_x$  (хондроїтину натрію сульфату)

Перевірка відгуку використаних ІСЕ щодо катіону цетилпіридинію свідчить про прояв електродної функції близької до Нернстівської для однозарядного катіону ( $58 \pm 3$  мВ/рС) у діапазоні концентрацій цетилпіридинію від  $10^{-3}$  до  $10^{-6}$  моль/л.

Вплив систематичної похибки титрування усували первинною стандартизацією титранту та спеціальним встановленням кінцевої точки при титруванні об'єкту дослідження, витримуючи температурний режим  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  і використовуючи мірний посуд класу А [79].

Вихідною стандартною речовиною для встановлення фактичної концентрації робочого 0,001 М розчину цетилпіридинію хлориду обрано додецилсульфат натрію.

Методика проведення стандартизації 0,001 М розчину цетилпіридинію хлориду. Наважку 0,2884 г додецилсульфат натрію (288,38 г/моль) розчиняли у дистильованій воді, доводили об'єм розчину до 1000 мл у мірній колбі при температурі  $20^\circ\text{C}$ . 1 мл виготовленого 0,00100 М розчину переносили у комірку для титрування оснащену іон-селективним та електродом порівняння і магнітною мішалкою, добавляли 20-40 мл води і титрували 0,0010 М розчином цетилпіридиній хлориду порціями по 0,5 мл реєструючи зміни потенціалу індикаторної системи. Концентрацію розчину ЦП знаходили використовуючи середнє значення з не менше 2-х титрувань за рівнянням:  $C(\text{ЦП}) = C(\text{ДДС}) \times V(\text{ДДС}) / V(\text{ЦП})$  - у моль/л,

Вміст хондроїтин натрію сульфату в субстанції і досліджуваних лікарських формах розраховували за формулою 2.2:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_{\text{м.к.}} \cdot 100(m_c)}{m_{\text{н}} \cdot V_{\text{п}}} \quad (2.2)$$

де  $V$  – об'єм 0,001 М розчину цетилпіридинію хлориду, витрачений на титрування, мл;

$K$  – поправочний коефіцієнт до титру (коефіцієнт коригування титру) ;

$T$  - маса аналізованої речовини, яка відповідає 1 мл титранту номінальної концентрації;

$m$  – маса наважки, г.

$m_c$  – середня маса вмісту капсул або порошку саше, г.

Вміст хондроїтин натрію сульфату в порошку саше має бути від 475 мг до 525 мг, в капсулах – від 237,5 мг до 262,5 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

### 2.2.2 Методика визначення глюкозаміну сульфату

Експериментальні дослідження проводились впродовж 2025 року. Дослідження здійснювали на рідинному хроматографі – KNAUER, обладнаному УФ-детектором (KNAUER GmbH, Німеччина); аналітичні ваги – AXIS (Польща); колонку хроматографічну ACE C18, розміром 150 × 4,6 мм з розміром частинок сорбенту 5 мкм.

Випробування проводили методом рідинної хроматографії (ДФУ\*, 2.2.29, 2.2.46).

*Випробовуваний розчин.* Наважку порошку саше або капсул, еквівалентну 40 мг глюкозаміну сульфату, поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 15 мл води для хроматографії, доводять тим же розчинником до мітки і перемішують. До 5,0 мл отриманого розчину додають 5 мл фосфатного буферного розчину з рН 8,4, 10 мл 0,1% метанольного розчину фенілізотіоціанату і отриману суміш нагрівають 20 хвилин на водяній бані при температурі 80<sup>0</sup>С. До реакційної суміші додають 1,0 мл 0,32 мМ розчину фосфорної кислоти і знову нагрівають 20 хвилин на водяній бані при тій самій температурі. Охолоджують, об'єм розчину доводять водою для хроматографії до позначки та перемішують.

*Розчин порівняння.* Близько 40,0 мг глюкозаміну сульфату поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 10 мл води для хроматографії, доводять об'єм до позначки тим самим розчинником та перемішують. До 5,0 мл отриманого розчину додають 5 мл фосфатного буферного розчину з рН 8,4, 10 мл 0,1% метанольного розчину фенілізотіоціанату і отриману суміш нагрівають 20 хвилин на водяній бані при температурі 80<sup>0</sup>С. До реакційної суміші додають 1,0 мл 0,32 мМ розчину фосфорної кислоти і знову нагрівають 20 хвилин на водяній бані при тій самій

температурі. Охолоджують, об'єм розчину доводять водою для хроматографії до позначки та перемішують.

*Плацебо.* Близько 2400 мг хондроїтину натрію сульфату, 60 мг МСМ, 13 мг аскорбінової кислоти, 78 мг лимонної кислоти і 160 мг сорбітол поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють у 30 мл води для хроматографії, доводять об'єм до позначки тим самим розчинником та перемішують. До 5,0 мл отриманого розчину додають 5 мл фосфатного буферного розчину з рН 8,4, 10 мл 0,1% метанольного розчину фенілізотіоціанату і отриману суміш нагрівають 20 хвилин на водяній бані при температурі 80°C. До реакційної суміші додають 1,0 мл 0,32 мМ розчину фосфорної кислоти і знову нагрівають 20 хвилин на водяній бані при тій самій температурі. Охолоджують, об'єм розчину доводять водою для хроматографії до позначки та перемішують.

Перед хроматографуванням розчини фільтрують крізь мембранний фільтр з розміром пор не більше 0.45 мкм.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором за таких умов:

– хроматографічна колонка АСЕ С18, розміром 150 × 4,6 мм з розміром частинок сорбенту 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги до придатності хроматографічної системи;

– швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;

– температура термостата колонки – 25 °С;

– об'єм інжекції – 20 мкл;

– довжина хвилі детектування – 230 нм;

– рухома фаза: метанол : вода для хроматографії (67 : 33).

Вміст глюкозаміну сульфату в порошок саше (капсулах), у грамах, розраховують за формулою 2.3:

$$X, \Gamma = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 50,0 \cdot 25,0 \cdot 5,0 \cdot B}{S_0 \cdot m_i \cdot 5,0 \cdot 25,0} \quad (2.3)$$

де  $S_i$  – середнє значення площ піку глюкозаміну сульфату, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піку глюкозаміну сульфату, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка (глюкозаміну сульфату), у грамах;

$m_1$  – маса наважки лікарського засобу, у грамах;

$V$  – середня маса вмісту порошку саше або капсул, у грамах.

Вміст глюкозаміну сульфату в порошку саше має бути від 1,425 г до 1,575 г, в капсулах – від 0,712 г до 0,788 г на момент випуску та в процесі зберігання.

### 2.2.3 Методика кількісного визначення метилсульфонілметану

Випробування проводили методом газової хроматографії (ДФУ\*, 2.2.28, 2.2.46).

Дослідження здійснювали на газовому хроматографі Shimadzu GC- 2010 Plus AF з полуменево-іонізаційним детектором (Японія) та газовому хроматографі з мас-селективним детектуванням Shimadzu GC/MS GCMS-QP2020 EI (Японія).

*Розчинник:* метанол для хроматографії.

*Випробуваний розчин.* Кількість досліджуваного препарату, еквівалентну 20,0 мг метилсульфонілметану вміщують в мірну колбу на 50,0 мл, збовтують з 20 мл метанолу для хроматографії на ультразвуковій бані при кімнатній температурі впродовж 10 хвилин, доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки. Суміш фільтрують, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

*Розчин порівняння.* 20,0 мг метилсульфонілметану розчиняють в 20 мл метанолу для хроматографії і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 50,0 мл.

Умови хроматографування наведені в табл. 2.2.

Таблиця 2.2

**Умови проведення визначення метилсульфонілметану в складі лікарського засобу методом газової хроматографії**

<i>Хроматографічна система</i>	
<i>Прилад</i>	
Shimadzu GC- 2010 Plus AF	Shimadzu GC/MS GCMS-QP2020 EI
<i>Детектор</i>	
полуменево-іонізаційний	мас-детектор, іонізація – електронним ударом
<i>Колонка</i>	
капілярна колонка RXI-5MS (USA), довжина – 30 м, діаметр 0,25 мм, фаза – 0,25 мкм	капілярна колонка HP-5MS (USA), довжина – 30 м, діаметр 0,25 мм, фаза – 0,25 мкм
<i>Температура</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Колонка: 40 °С, тримати 5 хв., нагрівання – 10 °С/хв., T<sub>кінець</sub>=280°С</li> <li>- Інжектор: 250 °С</li> <li>- Детектор: 300 °С</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Колонка: 40 °С, тримати 5 хв., нагрівання – 10 °С/хв., T<sub>кінець</sub>=280°С</li> <li>- Інжектор: 250 °С</li> <li>- Детектор: температура інтерфейса: T=280°С</li> <li>- Температура іонного джерела: T=200°С</li> </ul>
-	<i>Енергія іонізації: 70eV</i>
<i>Газ-носії: гелій</i>	
<i>Швидкість потоку: 1,5 мл/хв</i>	
<i>Об'єм інжектора: 1 мкл</i>	
<i>Тип інжектора: Split</i>	
<i>Співвідношення розділення 40:1</i>	

Вибір капілярних колонок типу 5MS був обумовлений їх універсальністю, термічною стабільністю та здатністю забезпечувати ефективне розділення низькомолекулярних сірковмісних органічних сполук, зокрема сульфонів. Застосування неполярної стаціонарної фази дозволило мінімізувати вплив матричних компонентів комбінованого лікарського засобу та забезпечити відтворювані значення часу утримування метилсульфонілметану при різних типах детектування.

Вміст метилсульфонілметану в порошку саше (капсулах), у грамах, розраховують за формулою 2.4:

$$X, \text{Г} = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 50,0 \cdot B}{S_0 \cdot m_i \cdot 50,0} \quad (2.4)$$

де  $S_i$  – середнє значення площ піку метилсульфонілметану, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піку метилсульфонілметану, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка метилсульфонілметану, у міліграмах;

$m_i$  – маса наважки лікарського засобу, у грамах;

$B$  – середня маса вмісту порошку саше або капсул, у грамах.

Вміст метилсульфонілметану в порошку саше має бути від 380 мг до 420 мг, в капсулах – від 190 мг до 210 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

Валідацію методики проводили для аналізу методом стандарту в умовах звичайної (непарофазової) хроматографії згідно вимог загальної статті ДФУ 5.3.N.2. «Валідація аналітичних методик і випробувань» [79, 80]. Для приготування розчинів МСМ в концентрації 80,0 – 120% від номінального, брали наважки модельної суміші 0,16 г, 0,17 г, 0,18 г, 0,19 г, 0,20 г, 0,21 г, 0,22 г, 0,23 г та 0,24 г розчиняли в 10 мл метанолу для хроматографії і доводили об'єм розчину тим же розчинником до 50,0 мл. Потім 1 мкл кожного розчину вводили в газовий хроматограф та аналізували за оптимізованих умов. Дані використовували для побудови кривої залежності площі піку від концентрації.

## 2.2.4 Методики визначення аскорбінової кислоти

Ідентифікацію аскорбінової кислоти проводили за реакцією з натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолу: до 5 мл розчину лікарського засобу (приготовленого як зазначено в випробуванні «кількісне визначення») додають 1–2 краплі титрованого розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Відбувається миттєве знебарвлення розчину реактиву, що підтверджує наявність аскорбінової кислоти.

Визначення аскорбінової кислоти здійснювали титриметричним методом.

Наважку досліджуваного порошку саше або вмісту капсули, еквівалентному 50 мг аскорбінової кислоти розчиняють у 50 мл *води, вільної від вуглецю діоксиду, Р*. Додають 1 мл *крохмалю розчину Р* і титрують 0.05 М розчином йоду до одержання стійкого фіолетово-синього забарвлення.

1 мл 0.05 М розчину йоду відповідає 8.81 мг  $C_6H_8O_6$ .

Вміст аскорбінової кислоти в порошку в саше (капсулах), у міліграмах, розраховують за формулою 2.5:

$$X, \text{мг} = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot B}{m_n} \quad (2.5)$$

де  $V$  – об'єм 0.05М розчину йоду, витрачений на титрування;

$K$  – поправковий коефіцієнт;

$T$  – титр 0.05 М розчину йоду за аскорбіновою кислотою;

$m_n$  – маса наважки лікарського засобу, у грамах;

$B$  – середня маса вмісту порошку саше або капсул, у грамах.

Кількісний вміст аскорбінової кислоти в порошку саше має бути від 76 мг до 84 мг, в капсулах – від 38 мг до 42 мг на період випуску і впродовж терміну зберігання.

## 2.2.5 Методика визначення натрію гіалуронату

Визначення натрію гіалуронату проводили методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні (ДФУ\*, 2.2.25) за продуктом реакції з карбазолом.

*Реактив А.* У колбу поміщають 0,95 г натрію тетраборату Р і розчиняють у 100 мл сірчаної кислоти концентрованої Р. Готують безпосередньо перед використанням.

*Реактив Б.* У колбу поміщають 0,125 г карбазолу Р і розчиняють у 100 мл етанолу безводного Р.

*Випробуваний розчин.* У мірну колбу місткістю 100 мл поміщають масу порошку лікарського засобу, еквіваленту 0,0085 г натрію гіалуронату, розчиняють у 70 мл води Р, доводять об'єм тим самим розчинником до мітки.

*Початковий стандартний розчин.* У колбу поміщають 0,1 г (точна наважка) D-глюкуронової кислоти Р, попередньо висушеної до постійної маси у вакуумі над фосфору(V) оксидом Р, розчиняють у воді Р і доводять тим самим розчинником до 100,0 мл.

*Калібрувальні розчини.* Готують 5 розчинів з концентраціями D-глюкуронової кислоти Р в діапазоні від 6,5 мкг/г до 65 мкг/г шляхом розведення вихідного розчину порівняння.

У крижану баню поміщають 25 пробірок, пронумерованих від 1 до 25. У пробірки від 1 до 15 трічі вносять 1,0 мл калібрувальних розчинів, у пробірки з 16 по 24 трічі вносять 1,0 мл трьох випробуваних розчинів, в пробірку 25 вносять 1,0 мл води (контрольний розчин). У кожну пробірку додають 5,0 мл реактиву А, попередньо охолодженого в крижаній бані. Пробірки щільно закривають пластиковими кришками, струшують вміст та витримують у водяній бані точно 15 хв. Охолоджують у крижаній бані і додають у кожну пробірку 0,20 мл реактиву Б. Повторно закривають пробірки, струшують і витримують у водяній бані точно 15 хв. Охолоджують.

Вимірюють оптичну густину розчинів при довжині хвилі 530 нм у кюветі з товщиною шару 1 см відносно води.

За калібрувальним графіком, побудованим за середніми значеннями оптичної густини для кожного калібрувального розчину, визначають середні значення концентрації D-глюкуронової кислоти у випробуваних розчинах.

Вміст натрію гіалуронату в складі об'єктів дослідження у міліграмах (Х) обчислюють за формулою 2.6:

$$X = \frac{C_1 \cdot P \cdot 100 \cdot 401,3 \cdot B \cdot 1000}{C_0 \cdot (100 - W) \cdot 194,1}, \quad (2.6)$$

де  $C_1$  – середнє значення знайденої концентрації D-глюкуронової кислоти у випробуваному розчині, мг/г;

$C_0$  – вміст D-глюкуронової кислоти у випробуваному розчині, мг/г;

$P$  – вміст глюкуронової кислоти у стандартному зразку, %;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %;

401,3 – відносна молекулярна маса дисахаридного фрагменту;

194,1 – відносна молекулярна маса глюкуронової кислоти;

$B$  – середня маса вмісту саше або капсул, у грамах.

Кількісний вміст натрію гіалуронату в порошку саше має бути від 28,5 мг до 31,5 мг, в капсулах – від 14,25 мг до 15,75 мг на період випуску і впродовж терміну зберігання.

Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Для оцінки точності та відтворюваності результатів розраховували середнє значення, стандартне відхилення та відносне стандартне відхилення. Валідацію аналітичних методик здійснювали відповідно до вимог Державної фармакопеї України [79].

## Висновки до розділу 2

1. Наведено склад розробленого комбінованого лікарського засобу, який запропоновано в двох лікарських формах – порошку для орального застосування та капсул.

2. Визначено об'єкти та умови проведення досліджень для розробки оптимального складу та раціональної технології виробництва капсул і порошку для приготування орального розчину у формі пакету (саше).

3. Сформовано комплекс методик контролю якості ЛЗ, що охоплюють ідентифікацію і кількісне визначення діючих речовин багатокomпонентного

лікарського засобу із застосуванням хімічних методів ідентифікації та титриметричного кількісного визначення, і таких фізико-хімічних методів аналізу, як газова хроматографія, абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовому та видимому діапазоні і рідинна хроматографія.

*Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13>
2. Koptielov A.S., Plyska V.I., Bevz O.V., Rudakova O.V., Bevz N.Yu., Studenyak Ya.I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3–11. URL: <https://doi.org/10.24959/ophcj.25.350114>
3. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. № 1 (59). P. 91–99. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242> (Scopus Q3).
4. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Аналіз фармакологічної активності глюкозаміну і хондроїтину з урахуванням введення додаткових діючих речовин // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Internet-конференції* (18 травня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С. 176.
5. Коптелов А., Плиска В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Internet-конференції* (25 вересня 2024 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2024. С. 87.
6. Плиска В.І., Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Студеняк Я.І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами //

*Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024: зб. тез доп. К.: Інтерсервіс, 2024. С. 140.*

7. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом рідинної хроматографії // *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (20–21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66–67.*

### РОЗДІЛ 3

## ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ КОМБІНОВАНОГО ХОНДРОПРОТЕКТОРНОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ВИВЧЕННЯ СУМІСНОСТІ ТА СТАБІЛЬНОСТІ АФІ

Основними етапами фармакотехнологічних досліджень стали:

- обґрунтування переліку АФІ для введення у лікарську форму в формі порошку в саше пакетах та капсулах;
- визначення фізичних, фізико-хімічних критеріїв і характеристик індивідуальних речовин та їх сумішей для оцінювання сумісності компонентів;
- визначення фармакотехнологічних показників проводилося за методиками Державної фармакопеї України (насипна густина та густина після усадки порошків); текучість порошків (кут укосу та коефіцієнт Гауснера); оптична мікроскопія.
- запропонування технологічної схеми виготовлення твердих лікарських форм.

### 3.1 Теоретичне обґрунтування вибору активних компонентів та допоміжних речовин

Актуальність пошуку нових методів та фармакологічних засобів лікування хворих на остеоартроз обумовлена тим, що дане захворювання займає майже 80% в загальній структурі патології суглобів у осіб старше 60 років, у 10–30% випадків остеоартроз призводить до непрацездатності різного ступеня [81].

Для медикаментозного лікування ОА зазвичай застосовують такі лікарські засоби, як нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), опіоїди, кортикостероїди, препарати, специфічні для циклооксигенази (ЦОГ-1/ЦОГ-2) та хондропротектори. Серед хондропротекторів особливу ланку займають глікозаміноглікани – довгі нерозгалужені ланцюги гетерополісахаридів, які побудовані з димерів похідних моносахаридів, що повторюються і частіше за все сульфатовані. Представниками глікозаміногліканів, що широко застосовуються у медичній практиці для лікування ОА, є хондроїтину сульфат натрію і солі глюкозаміну сульфату, роль яких в організмі

різноманітна: регуляція водного балансу, контроль дифузії різних сполучень у міжклітинному просторі дерми, опора для клітин під час їх міграції та ін. [82-83]. Суміш хондроїтину і глюкозаміну діє, насамперед, як протизапальний засіб, володіє антиоксидантними властивостями, поліпшує регенерацію тканин тощо. Нині для підсилення дії суміші цих АФІ у дієтичні добавки додають рослинні компоненти, вітаміни груп D і C, гіалуронову кислоту, колаген, метилсульфонілметан тощо. Під час додавання до суміші хондроїтину сульфату і глюкозаміну сульфату НПЗП, наприклад ібупрофену або диклофенаку калію, утворюється група комбінованих протизапальних (протиревматичних) засобів, таких як АртифлексУльтра, ТерафлексАдванс, Протекон Фаст<sup>®</sup>, Мовекс<sup>®</sup> [84-85].

До лінійних полісахаридів відносять і гіалуронову кислоту (ГК), що належить до групи глікозаміногліканів, і за хімічною будовою є повторенням дисахаридних з'єднань N-ацетилглюкозаміну та глюкуронової кислоти. Комбінація 2,5 тис. дисахаридів утворює молекули ГК з молекулярною масою приблизно 5,0 млн Да. У цьому вигляді молекула ГК наявна у міжклітинному матриксу сполучної тканини. Особливо висока концентрація ГК у таких тканинах як шкіра, хрящ, пуповина, синовіальна рідина, склисте тіло. Гіалуронова кислота нормалізує в'язкоеластичні, амортизуючі та змашувальні властивості синовіальної рідини; впливає на ноцирецептори проміжного шару синовіальної оболонки та знижує індукцію медіаторів болю, що обумовлює знеболюючий ефект; складає основу для агрекану, який є важливим для забезпечення структурної та функціональної цілісності суглобового хряща; утримує молекули води для надання необхідних фізичних властивостей синовіальній рідині; має протективний ефект по відношенню до клітин хрящової тканини — хондроцитів; полегшує проникнення живильних речовин, що необхідні для побудови матриксу хряща. Доведено, що вона взаємодіє із специфічними рецепторами клітин (CD44, RHAMM, ICAM) та знижує концентрацію медіаторів запалення в синовіальній рідині, що обумовлює протизапальний ефект, а також пригнічує активність ферментів, що руйнують суглобовий хрящ. Екзогенна ГК стимулює синтез ендогенної ГК та синтез компонентів позаклітинного матриксу хряща, гальмує процес втрати протеогліканів хрящем, знижує рівень апоптозу

хондроцитів. Показано, що зниження в'язкоеластичних властивостей синовіальної рідини при остеоартрозі збільшує чутливість хряща до ушкодження. За результатами клінічних досліджень, проведених за останні 20 років, доведена висока ефективність ГК при лікуванні хворих на остеоартроз [18].

Перспективним є створення нової твердої лікарської форми, яка складається із суміші хондроїтину натрію сульфату і глюкозаміну сульфату натрію з посиленням протибольового ефекту додаванням метилсульфонілметану [86], введенням натрію гіалуронату для збільшення в'язкоеластичних властивостей синовіальної рідини та збільшенням антиоксидантних властивостей шляхом уведення до складу аскорбінової кислоти [87].

Докладні профілі обраних препаратів (хімічні властивості, фармакокінетика, метаболіти, транспортні білки, мішені) перевіряли за допомогою сайту drugbank.ca [88]. Аналіз взаємодії між обраними лікарськими речовинами та рівень небезпеки їх застосування при сумісній присутності (severity), опис клінічних наслідків взаємодії, рівень доказовості, рекомендації щодо управління ризиком проводили за допомогою програми Drug–Drug Interaction Checker [89].

Отже, основними АФІ для створення твердої форми запропоновано глюкозаміну сульфат натрію, хондроїтину сульфат натрію, метилсульфонілметан, натрію гіалуронату і аскорбінову кислоту. Дози діючих речовин було дібрано з огляду на наявність відповідних компонентів в аналогах, що присутні або були присутні на фармацевтичному ринку, а також за критерієм віднесення засобу до ОТС-сегмента.

### 3.2 Дослідження фізико-хімічної сумісності активних фармацевтичних інгредієнтів

Для оцінювання сумісності було проведено експериментальні дослідження гігроскопічності, хімічної взаємодії / хімічної стабільності.

Дослідження ступеня гігроскопічності вихідних АФІ та допоміжних речовин здійснювали згідно із загальною статтею ДФУ 5.11 «Розділ «Властивості» у монографіях» [73] за методикою (розділ 2, методика 2.3.1.1.).

Результати і висновки щодо гігроскопічності АФІ наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

### Визначення гігроскопічності АФІ

АФІ	Середнє значення збільшення маси, %	Висновок
Глюкозаміну сульфат натрію	0,0267%	Не гігроскопічна
Хондроїтину сульфат натрію	7,7404%	Гігроскопічна
Метилсульфонілметан	0,0850%	Не гігроскопічна
Аскорбінова кислота	0,0287%	Не гігроскопічна
Натрію гіалуронат	9,3649%	Гігроскопічна
Сорбітол	2,6111%	Гігроскопічна
Лимонна кислота	2,3862%	Гігроскопічна

За результатами досліджень було виявлено, що глюкозаміну сульфат, аскорбінова кислота та метилсульфонілметан є негігроскопічними речовинами; хондроїтину натрію сульфат, натрію гіалуронат, сорбітол і лимонна кислота є гігроскопічними сполуками [73].

Відповідно до рекомендацій ІСН Q8 (R2) [74, 76] щодо фармацевтичної розробки багатокомпонентних лікарських засобів наступним етапом було проведення оцінки сумісності компонентів між собою. На початковій стадії здійснювали візуальне оцінювання сумішей компонентів у попарних комбінаціях. У ході досліджень не було виявлено змін сипучості, агломерації частинок або змін зовнішнього вигляду сумішей, що свідчить про відсутність фізичної несумісності між досліджуваними компонентами.

Хімічну сумісність компонентів, зокрема у присутності аскорбінової кислоти як потенційно реакційноздатної відновлювальної сполуки, досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій ділянках відповідно до вимог ДФУ 2.2.25 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовому та видимому діапазоні» [90].

Абсорбційні спектри водних розчинів аскорбінової кислоти (0,4 мкг/мл) та її сумішей з компонентами, взяті у пропорції, згідно рецептури, також розчин плацебо (компонентів засобу, без додавання аскорбінової кислоти) наведено на рисунку 3.1.

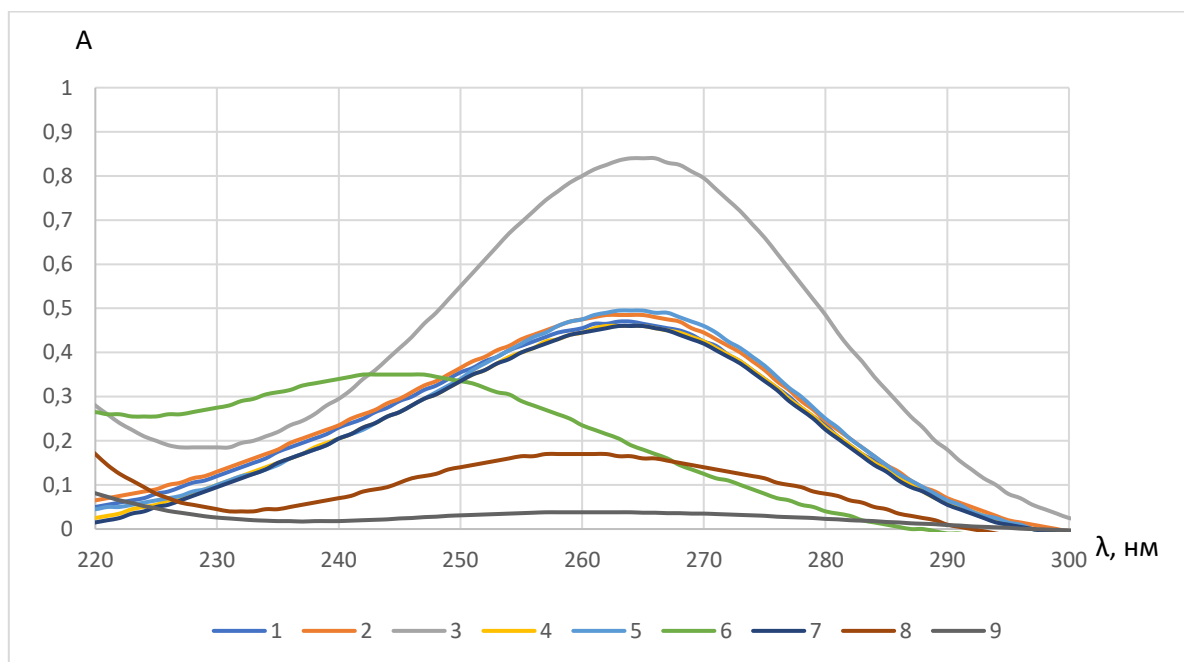


Рисунок 3.1. Абсорбційні спектри водних розчинів аскорбінової кислоти (1) та сумішей з глюкозаміну сульфат натрію (2), хондроїтину сульфат натрію (3), метилсульфонілметан (4), натрію гіалуронат (5), кислота лимонна (6), сорбітол (7); розчин хондроїтину сульфату (8) та плацебо (9).

Дані рисунку 3.1 свідчать, що виявлені зміни інтенсивності поглинання не супроводжувалися появою нових максимумів або батохромних/гіпсохромних зсувів, характерних для утворення продуктів хімічної взаємодії, що свідчить про відсутність деградації аскорбінової кислоти у присутності інших компонентів. Абсорбційний спектр поглинання 0,8 мкг/мл розчину аскорбінової кислоти (1) характеризується наявністю максимуму поглинання за довжині хвилі 263 нм. На характер абсорбційного спектру аскорбінової кислоти практично не впливають глюкозаміну сульфат натрію (2), метилсульфонілметан (4), натрію гіалуронат (5) і сорбітол (7). Для суміші аскорбінової кислоти з хондроїтину сульфатом натрію (3) було зафіксовано підвищення інтенсивності поглинання без зміщення максимуму, що свідчить про спектральний синергізм компонентів, який не супроводжується утворенням

продуктів хімічної деградації. Кисле середовище, створене лимонною кислотою, переводить аскорбінову кислоту в неіонізовану форму, що значно сповільнює її окиснення і приведе до зсуву максимуму поглинання майже на 20 нм – максимум спостерігається за довжини хвилі 244 нм. Вплив хондроїтин натрію сульфату спостерігався у спектрі поглинання водного розчину суміші усіх компонентів без додавання аскорбінової кислоти (9).

Попередні дослідження свідчать про те, що компоненти суміші не вступають у хімічну взаємодію і є хімічно стабільними та можуть бути запропоновані у вигляді капсул і саше наступного складу (табл. 3.2) [91].

Таблиця 3.2

**Суміш компонентів для приготування твердих лікарських форм**

№ з/п	Речовини	Капсули	Саше	Функціональне призначення
		Кількість, мг		
1	Глюкозаміну сульфат	750	1500	АФІ (хондропротектор, стимулятор синтезу глікозаміногліканів)
2	Хондроїтину натрію сульфат	250	500	АФІ (хондропротектор, компонент хрящової тканини)
3	Метилсульфонілметан	200	400	АФІ (джерело органічної сірки, протизапальний компонент)
4	Натрію гіалуронат	15	30	АФІ (хондропротектор, компонент синовіальної рідини)
5	Аскорбінова кислота	40	80	АФІ (антиоксидант, кофактор синтезу колагену)
6	Сорбітол	-	1000	наповнювач, коригент смаку
7	Лимонна кислота	-	490	регулятор кислотності, коригент смаку, стабілізатор середовища
8	Магнію стеарат	10	-	Лубрикант
9	Аеросил	10	-	Глідант
10	Полівінілпіролідону (ПВП К-25)	1	-	Зв'язуюча речовина, стабілізатор

### 3.3 Розробка технологічної схеми виробництва

Оптична мікроскопія показала відмінність у розмірі та формі кристалів різних компонентів суміші. Кристали субстанцій D-глюкозаміну сульфату натрію, аскорбінової кислоти та метилсульфонілметану мають подібну структуру та розмір у діапазоні від 20 до 200 мкм. Хондроїтину натрію сульфат відрізняється дрібнодисперсністю та розміром 1–20 мкм із кубічною формою кристалів, що забезпечує неоднорідності дозування і фасування, а також для уникнення проблем з ущільненням або грудками порошку.

Проведений аналіз за оптичною мікроскопією показав значну відмінність кристалів хондроїтину сульфату натрію від субстанцій D-глюкозаміну сульфату натрію, аскорбінової кислоти та метилсульфонілметану (рис. 3.2-3.6).

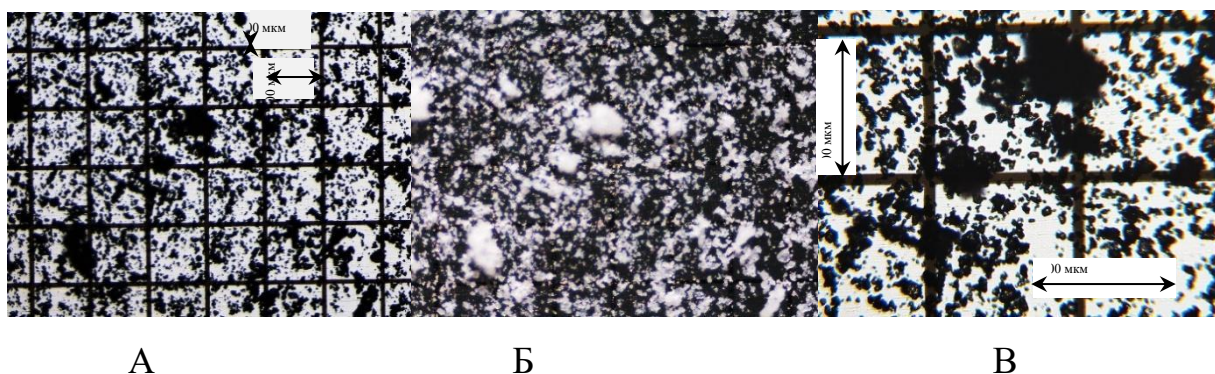


Рис. 3.2 Субстанція хондроїтину сульфату (А - збільшення в 40 разів, Б – збільшення у 40 разів зі зміною поляризації світла, В – збільшення у 100 разів)

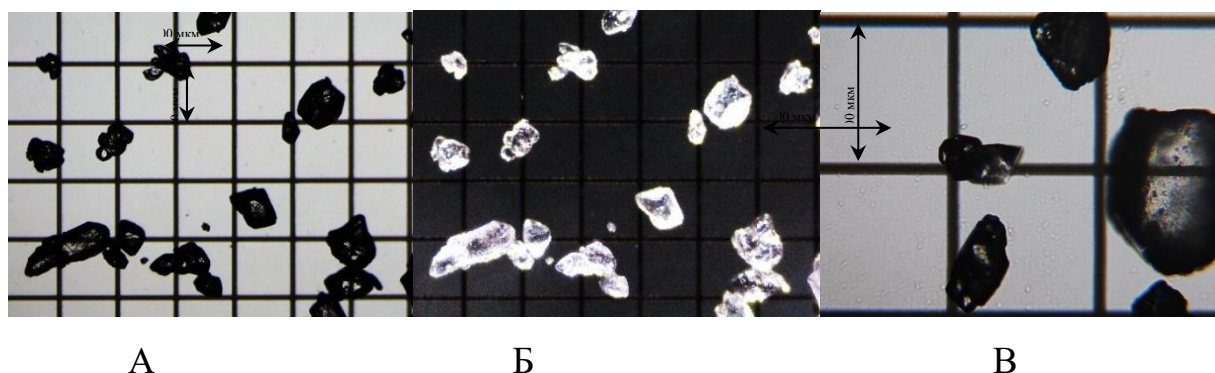


Рис. 3.3 Субстанція D-глюкозаміну сульфату (А - збільшення в 40 разів, Б – збільшення у 40 разів зі зміною поляризації світла, В – збільшення у 100 разів)

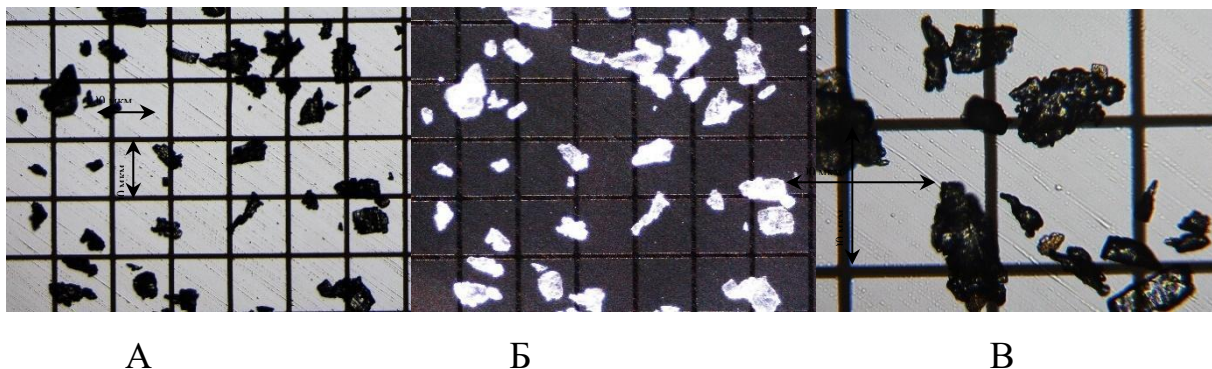


Рис. 3.4 Субстанція аскорбінової кислоти (А - збільшення в 40 разів, Б – збільшення у 40 разів зі зміною поляризації світла, В – збільшення у 100 разів)

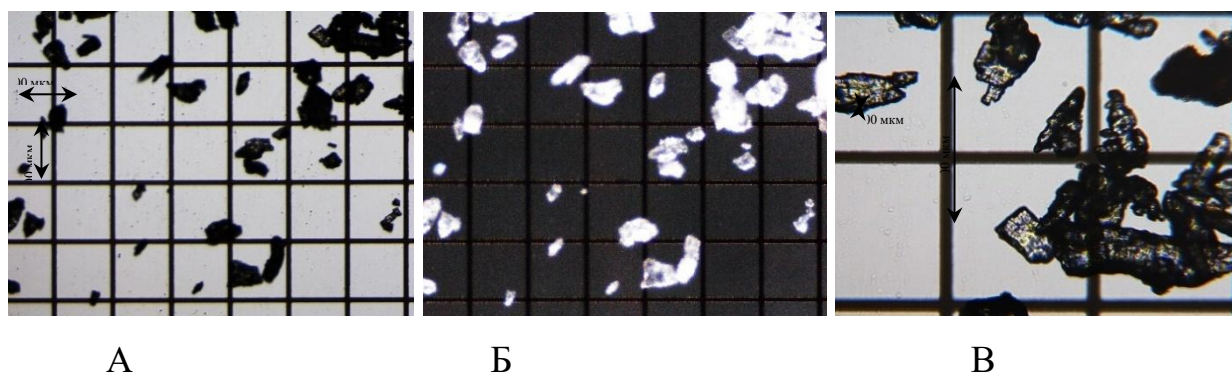


Рис. 3.5 Субстанція метилсульфонілметану (А - збільшення в 40 разів, Б – збільшення у 40 разів зі зміною поляризації світла, В – збільшення у 100 разів)

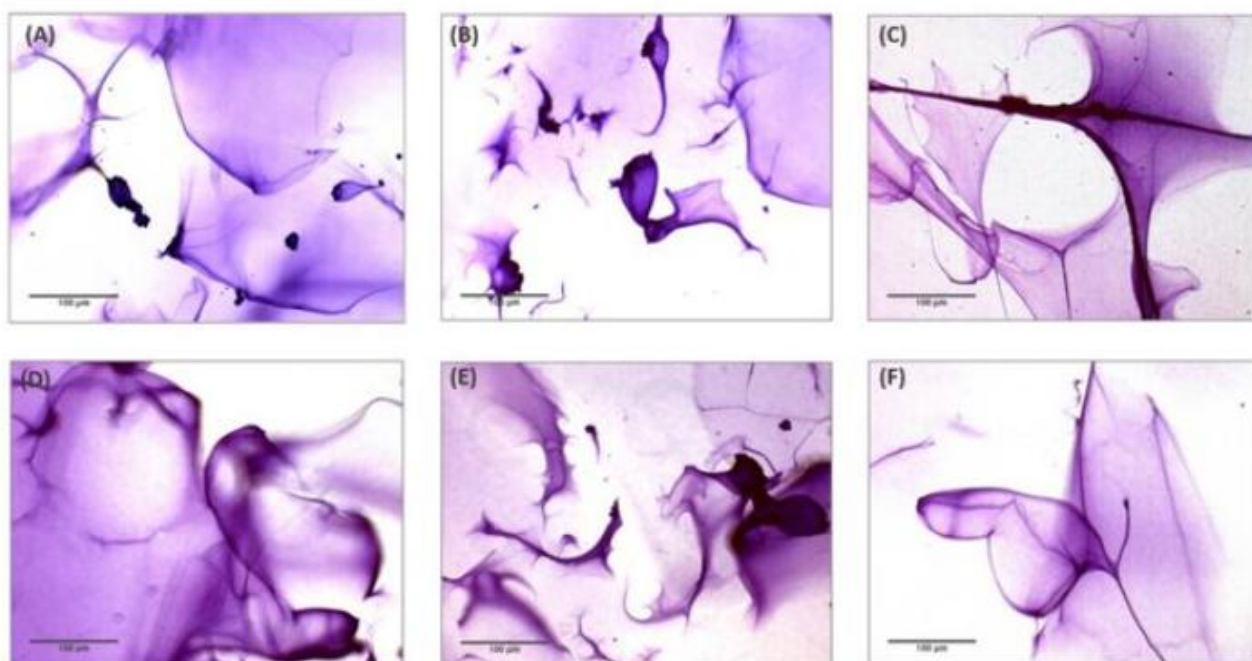


Рис. 3.6 Оптичне мікроскопічне дослідження (10×) шести дермальних філерів на основі гіалуронової кислоти, зшитих PEGDE, після фарбування 1% розчином толуїдинового синього: (A) гідрогель ГК 22 мг/мл; (B) гідрогель ГК 24 мг/мл; (C) гідрогель ГК 26 мг/мл LR; (D) гідрогель ГК 26 мг/мл LV; (E) гідрогель ГК 26 мг/мл з СаНА; (F) гідрогель ГК 28 мг/мл

Розмір кристалів субстанцій D-глюкозаміну сульфату натрію, аскорбінової кислоти та метилсульфонілметану варіюється в діапазоні від 20 до 200 мкм. Зазначені речовини мають кристалічну структуру з переважно кубічною та колоноподібною формою кристалів. Натомість хондроїтину натрію сульфат характеризується значно дрібнішою дисперсністю: розмір його частинок становить 1–20 мкм, що може негативно впливати на текучість порошкової суміші.

З метою оцінки технологічної придатності субстанцій до виробництва твердих лікарських форм було проведено дослідження фармакотехнологічних показників, зокрема текучості порошків, кута укосу, насипної густини, густини після усадки та коефіцієнта Гауснера (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3

## Фармакотехнологічні показники субстанцій

Субстанція/ показник	Текучість, с/100г	Кут укошу, град	Насипна густина, г/мл	Насипна густина після усадки (500), г/мл	Коефіцієнт Гауснера
Глюкозаміну сульфат натрію	15,2±0,2	27±1 (текучість дуже хороша*)	0,953±0,012	1,012±0,014	1,06 (відмінна текучість**)
Метилсуль- фонілметан	29,0±0,2	32± 2 (текучість хороша*)	0,659±0,008	0,806±0,011	1,22 (задовільна текучість**)
Аскорбінова кислота	12,2±0,1	26±1 (текучість дуже хороша*)	0,888±0,011	0,979±0,013	1,10 (відмінна текучість**)
Хондроїтину натрію сульфат	45,7±4,2	48±4 (текучість незадовільна*)	0,566±0,007	0,851±0,011	1,50 (погана текучість**)
Натрію гіалуронат	45,8±4,7	49±5 (текучість незадовільна*)	0,406±0,006	0,595±0,012	1,47 (погана текучість**)

Примітки: n = 5; P = 95 %

1. \* - згідно з таблицею текучості та відповідного куту укошу 2.9.36 Текучість порошків [73].

2. \*\* - згідно з таблицею шкали текучості 2.9.36. Текучість порошків [73].

Отримані результати (табл. 3.3) свідчать, що глюкозаміну сульфат натрію та аскорбінова кислота характеризуються високою текучістю та сприятливими технологічними властивостями, тоді як хондроїтину натрію сульфат має незадовільну текучість (кут укошу 48°; коефіцієнт Гауснера 1,50), що потребує врахування при формуванні складу порошкових сумішей та виборі технологічних прийомів змішування.

Отримані результати стали підґрунтям для подальшого обґрунтування складу комбінованого лікарського засобу у формі порошку для приготування орального розчину в пакеті (саше) та капсул.

Технологія отримання лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку в саше пакетах та капсул може проводитися декількома класичними методами: пряме пресування та застосування попередньої грануляції [92].

Використання прямого пресування більш економічно вигідно, завдяки можливості скорочення технологічного процесу, зменшення кількості устаткування для його проведення та дає змогу скоротити витрати та зменшити можливість контамінації напівпродуктів. Технологія прямого пресування передбачає відповідних властивостей субстанцій, що входять до складу лікарської форми – насамперед текучості та форми кристалів. При незадовільних показниках властивостей АФІ рекомендується вводити допоміжні речовини, фармакотехнологічний ефект яких направлений на підвищення текучості порошкоподібної маси, збільшенню зчеплення між субстанціями тощо [93, 94].

Введення допоміжних речовин до складу лікарського засобу хондропротекторної дії із вмістом глюкозаміну сульфату натрію, хондроїтину сульфату натрію, аскорбінової кислоти, метилсульфонілметану і натрію гіалуронату необхідний для покращення текучості отриманої порошкоподібної маси [95, 96].

### 3.3.1 Технологічна схема виробництва капсул

Спираючись на фізико-хімічні, фармакотехнологічні та органолептичні властивості окремих інгредієнтів суміші, оптимальною лікарською формою є капсули тверді желатинові. З метою забезпечення однорідності дозування, покращення плинності та підвищення насипної густини суміші використовували метод вологого гранулювання перед заповненням капсул (рис. 3.7). Як зволожувач обрали 5 % розчин полівінілпіролідону (ПВП К-25), для обпудрювання додатково використовували магнію стеарат з аеросилом, які ефективно запобігають агрегації готових гранул.

Підготовчі заходи щодо виробничих приміщень, обладнання, повітряного середовища, а також персоналу й спеціального одягу виконуються відповідно до вимог стандартів підприємства та чинних нормативно-правових документів. Надходження, зберігання і переміщення вихідної сировини, допоміжних та пакувальних матеріалів організовують відповідно до стандартів підприємства, які регламентують їх рух від моменту приймання на підприємстві до передачі у виробничий процес, у тому числі – вхідний контроль.

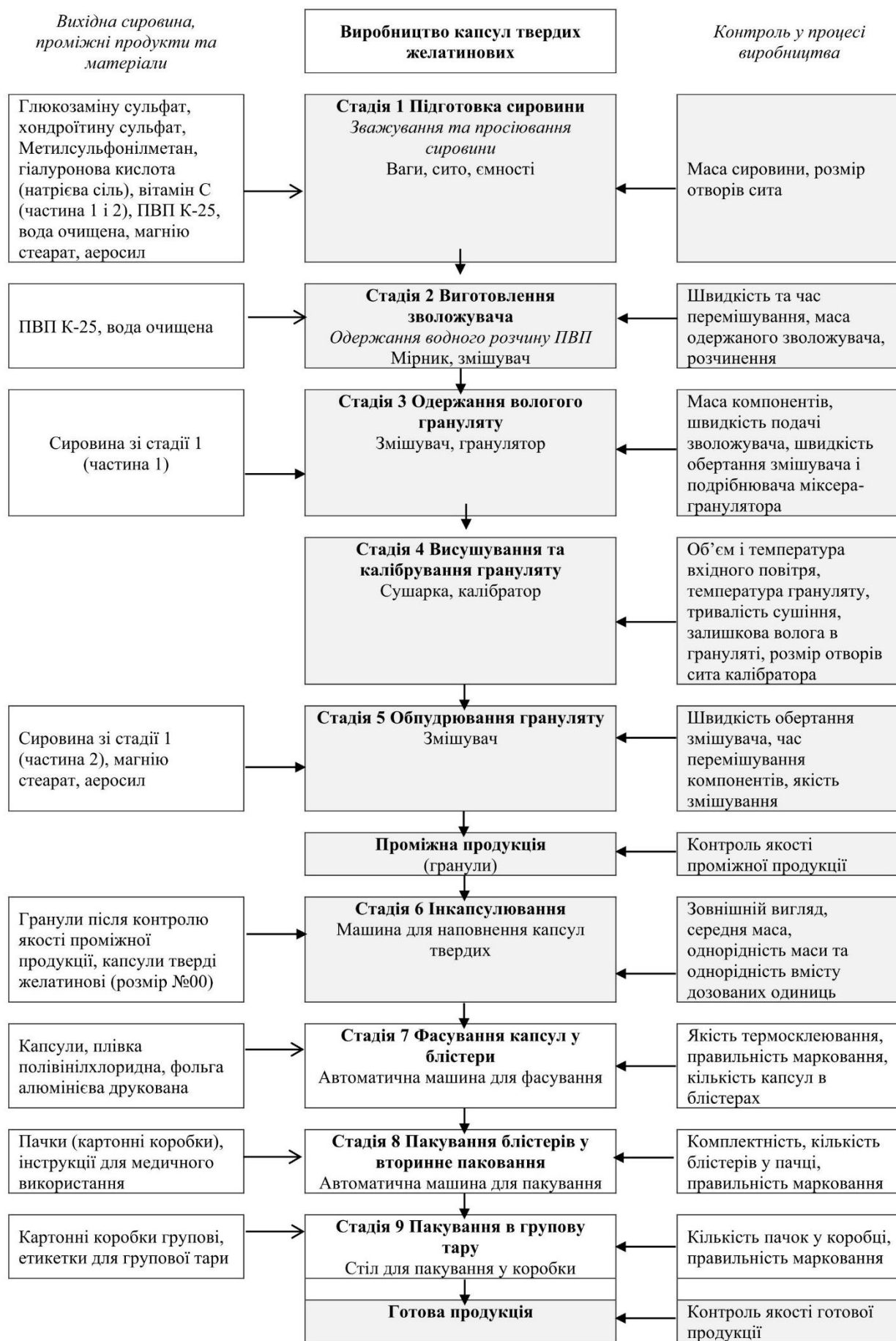


Рис. 3.7 Технологічна блок-схема виробництва капсул твердих желатинових

*Етапи технологічного процесу* виконують в приміщеннях зі встановленим класом чистоти.

Стадія 1. Підготовка сировини. Для виробництва препарату використовують лише ту сировину, яка пройшла вхідний контроль і відповідає затвердженим показникам якості. Якість очищеної води, що застосовується для приготування зволожувача, контролюється відповідно до чинної специфікації. Активні фармацевтичні інгредієнти та допоміжні речовини зважують у попередньо відтарованих і промаркованих ємностях. Усі компоненти, крім ПВП К-25, просіюють через сито з діаметром отворів 1,0 мм. Контроль якості просіювання здійснюють візуальним методом.

Стадія 2. Виготовлення зволожувача. Відмірюють необхідну кількість води очищеної у ємність, яку встановлюють на змішувач. Після запуску змішувача частинами додають ПВП К-25. Перемішування здійснюють за кімнатної температури до утворення однорідного прозорого розчину. Готовий зволожувач зважують і передають на наступну стадію.

Стадія 3. Одержання вологого грануляту. У робочу ємність завантажують частину 1 сировини і здійснюють змішування за швидкості  $60 \pm 10$  об/хв протягом 15-20 хвилин. Далі виконують зволоження суміші за швидкості змішувача  $70 \pm 10$  об/хв і подрібнювача  $1000 \pm 100$  об/хв із використанням 5 % розчину полівінлпіролідону. Сформований гранулят вивантажують через вбудований млин із ситом 5,0 мм у промарковані ємності та направляють на сушіння.

Стадія 4. Висушування та калібрування грануляту. Вологий гранулят завантажують у сушарку і висушують до залишкової вологості 1,0-2,0 % за температури вхідного повітря  $70 \pm 5$  °С та температури продукту  $40 \pm 5$  °С. Після цього гранулят подрібнюють через сито з розміром отворів 1,0 мм на калібраторі. Одержаний гранулят зважують і передають далі.

Стадія 5. Обпудрювання грануляту. Калібрований гранулят змішують з додаванням частини 2 сировини. Перемішування здійснюють за швидкості  $6 \pm 2$  об/хв протягом 10-15 хв. Далі проводять обпудрювання магнію стеаратом та аеросилом протягом 4-5 хв.

Проміжна продукція. Отриману масу для капсулювання зважують, герметично закривають у промарковані ємності та направляють на інкапсуляцію після підтвердження її відповідності вимогам нормативних документів.

Стадія 6. Інкапсулювання. Масу для капсулювання фасують у капсули №00. Після наповнення капсули полірують і сортують. Протягом процесу здійснюють періодичний контроль маси та зовнішнього вигляду. Після завершення стадії визначають кількісний вихід і масу капсул, які не відповідають вимогам. Далі перевіряють однорідність маси та вмісту дозованих одиниць.

Стадія 7. Фасування капсул у блістери. Капсули фасують у контурні чарункові упаковки (блістери) по 10 одиниць у блістер з ПВХ-плівки та друкованої алюмінієвої фольги. Під час процесу контролюють заповнення комірок, температурні режими, зовнішній вигляд і герметичність блістерів. Зважаючи на наявність аскорбінової кислоти у складі препарату, герметичність є ключовим фактором вибору блістерної упаковки як первинного пакування.

Стадія 8. Пакування у вторинне пакування. Блістери упаковують у пачки (картонні коробки) по 6 блістерів разом з інструкцією. Контролюють комплектність та правильність маркування, зокрема назву препарату, номер серії і термін придатності.

Стадія 9. Пакування в групову тару. Пачки вручну укладають у коробки з гофрокартону, які заклеюють і маркують груповими етикетками.

Готову продукцію переміщують на карантинний склад для зберігання за температури не вище 25 °C і передають до відділу контролю якості для приймального контролю. Після успішного завершення контролю видається сертифікат якості, і продукцію дозволяють до реалізації. Готовий лікарський засіб зберігають на складі готової продукції за температури не вище 25 °C.

### 3.3.2 Технологічна схема виробництва порошку для внутрішнього застосування у вигляді саше

Виробництво порошку для внутрішнього застосування у вигляді саше (табл. 3.3) складається з підготовчої стадії, основної технологічної стадії та пакування (рис. 3.8).



Рис. 3.8 Технологічна блок-схема виробництва порошку в саше пакеті для виготовлення орального розчину

Стадія 1. Підготовка сировини. Активні фармацевтичні інгредієнти та допоміжні речовини зважують у попередньо відтарованих і промаркованих ємностях. Усі компоненти подрібнюють для отримання речовин з однаковим розміром частинок, що в умовах промислового виготовлення порошків є одним з факторів забезпечення однорідності змішування. Усі компоненти просіюють через сито з діаметром отворів, який відповідає ступеню подрібнення сировини. Контроль якості просіювання здійснюють візуальним методом.

Стадія 2. Виготовлення порошкової суміші. Підготовлену сировину завантажують у змішувач. Змішування здійснюють за швидкості 5-10 об/хв протягом 20-25 хв, контролюючи однорідність змішування.

Проміжна продукція. Отриману порошкову суміш зважують, герметично закривають у промарковані ємності та направляють на фасування після підтвердження її відповідності вимогам нормативних документів.

Стадія 3. Фасування порошку у стік пакети. За допомогою автоматичного фасувально-пакувального апарату для саше наповнюють та запаюють стік пакети. Контролюють середню масу, однорідність маси та однорідність вмісту дозованих одиниць.

Стадія 4. Пакування у вторинне пакування. Саше упаковують у пачки (картонні коробки) по 6 штук разом з інструкцією. Контролюють комплектність та правильність маркування, зокрема назву препарату, номер серії і термін придатності.

Стадія 5. Пакування в групову тару. Пачки вручну укладають у коробки з гофрокартону, які заклеюють і маркують груповими етикетками.

Готову продукцію переміщують на карантинний склад для зберігання за температури не вище 25 °C і відносній вологості не вище 60 %, передають до відділу контролю якості для приймального контролю. Після успішного завершення контролю видається сертифікат якості, і продукцію дозволяють до реалізації. Готовий лікарський засіб зберігають на складі готової продукції за температури не вище 25 °C і відносній вологості не вище 60 %.

Таким чином, параметри технологічного процесу є базовими для напрацювання дослідно-промислових серій препаратів в умовах підприємства і розробки схеми валідації технологічного процесу.

### Висновки до розділу 3

1. Вивчено фізичні і фізико-хімічні характеристики для оцінювання сумісності при створенні комбінованих твердих лікарських форм хондропротекторної дії.

2. За результатами спектрофотометричного дослідження встановлено повну хімічну сумісність реакційно здатної аскорбінової кислоти з глюкозаміном, хондроїтином, МСМ та натрію гіалуронатом в межах обраної рецептури. Відсутність батохромних зсувів та нових максимумів поглинання підтверджує стабільність активних речовин і відсутність процесів їхньої деградації при сумісній присутності. Спектральний синергізм із хондроїтину сульфатом та прогнозована зміна спектра в присутності лимонної кислоти додатково верифікують збереження фізико-хімічних властивостей системи, що обґрунтовує доцільність створення даної багатокомпонентної суміші.

3. Виконані експериментальні дослідження із визначення основних фармакотехнологічних характеристик АФІ комбінованих препаратів. Визначено основні стадії та визначені критичні параметри технологічного процесу. За отриманими результатами розроблено технологію виробництва капсул і порошку для виготовлення орального розчину у формі саше.

*Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Коптелов А.С., Дейнека А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Визначення фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів під час розроблення лікарського засобу хондропротекторної дії, *Health & Education*. 2024. Вип. 1. С. 99-104. <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.13>.

2. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13>

3. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Аналіз фармакологічної активності глюкозаміну і хондроїтину з урахуванням введення додаткових діючих речовин // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Internet-конференції* (18 травня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С. 176.

## РОЗДІЛ 4

### СТАНДАРТИЗАЦІЯ РОЗРОБЛЕНОГО СКЛАДУ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ У ФОРМІ ПОРОШКУ ТА КАПСУЛ

Стандартизація комбінованого лікарського засобу, що містять декілька активних фармацевтичних інгредієнтів різної хімічної природи, є складним завданням фармацевтичного аналізу. Кожен із компонентів потребує індивідуального підходу до ідентифікації та кількісного визначення з урахуванням фізико-хімічних властивостей, можливих інтерференцій та регуляторних вимог.

У даному розділі наведено результати розробки та валідації аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії у формі порошку в саше та капсул.

З огляду на різну хімічну природу компонентів лікарського засобу (амінополісахариди, полісахариди, органічні кислоти та низькомолекулярні органічні сполуки) під час проведення дослідження було розроблено та експериментально обґрунтовано методики ідентифікацій та кількісного визначення АФІ у складі комбінованого лікарського засобу в формі порошку, фасованому в саше пакети та у формі капсул, а також проведена оцінка їх придатності для застосування в системі контролю якості відповідно до фармакопейних вимог та міжнародних стандартів.

#### 4.1 Визначення хондроїтину натрію сульфату

Сучасні дослідження свідчать про значну варіабельність якісного та кількісного складу хондроїтину натрію сульфату (ХС), особливо у складі комбінованих лікарських засобів, де можливе співіснування інших полісахаридів або допоміжних речовин, що можуть впливати на результати аналітичного визначення [97]. У зв'язку з цим особливого значення набуває застосування селективних і відтворюваних методик аналізу, які забезпечують достовірне кількісне визначення ХС у багатокомпонентних лікарських засобах хондропротекторної дії.

За даними сучасних досліджень, традиційні фармакопейні методики не завжди забезпечують достатню чутливість і селективність при аналізі комбінованих лікарських засобів, що обумовлює необхідність оптимізації або розроблення нових аналітичних підходів [98].

Аналітична методика ґрунтується на здатності хондроїтину натрію сульфату утворювати важкорозчинні іонні асоціати з цетилпіридинію хлоридом (ЦПХ), що дозволяє застосовувати титриметричний підхід для кількісного визначення цієї сполуки. Методика індикаторного/фотометричного титрування регламентована провідними фармакопеями, зокрема Європейською фармакопеєю, Британською фармакопеєю та Державною фармакопеєю України, і складається з двох етапів: титрування сполуки розчином 4,000 г/л ЦПХ з візуальним чи інструментальним встановленням кінцевої точки або фотометричним титруванням розчином 1,000 г/л ЦПХ [54, 64].

При розробці титриметричної методики необхідною умовою є вивчення валідаційних характеристик, серед яких невизначеність методики титрування, котра залежить від способу стандартизації титранту (первинний або вторинний), а в деяких випадках від температури приміщення, точності бюретки, чистоти вихідних стандартних речовин, тощо.

Розробка методики кількісного потенціометричного визначення титруванням розчином цетилпіридинію хлориду хондроїтин натрію сульфату у суміші з D-глюкозаміну натрію сульфатом, метилсульфонілметаном, аскорбіновою кислотою, натрію гіалуронатом, лимонною кислотою та сорбітолом полягала в наступному:

- підібрати іонселективний електрод;
- обрати оптимальні умови потенціометричного титрування;
- здійснити стандартизацію розчину цетилпіридинію хлориду;
- апробувати методику для кількісного визначення хондроїтину натрію сульфату в присутності інших компонентів суміші;
- здійснити визначення кількісного вмісту хондроїтин натрію сульфату в складі комбінованого лікарського засобу за запропонованою титриметричною методикою.

ЦПХ належить до групи катіонних поверхнево-активних речовин і широко використовується для потенціометричного титрування аніонних поверхнево-активних сполук. ХС за рахунок наявності у структурі карбоксильних і сульфатних груп є негативно зарядженим полісахаридом, що обумовлює взаємодію з катіонами ЦП і забезпечує селективність перебігу титриметричної реакції та встановленням кінцевої точки титрування за допомогою ЦП-селективного електроду [99].

Розробку методики кількісного потенціометричного визначення хондроїтину натрію сульфату в суміші титруванням розчином цетилпіридинію хлориду розпочинали з вибору іонселективного електроду. За описаною модифікованою методикою [100] отримували іонний асоціат [101] шляхом взаємодії водних 0,01 М розчинів ЦПХ додецилсульфатом натрію або тетрафенілборатом натрію у співвідношенні 1:1, при виділенні відповідних іонних асоціатів, виготовляли іонселективні мембрани з використанням полівінілхлориду марки 6602 та Fluka. ПВХ-електроди містили ~1% асоціату та  $73 \pm 3\%$  пластифікатора, одного із числа диестерів фталевої кислоти /октил, ноніл/ чи о-нітрофенілоктилового етеру.

Стабільність іон-селективних електродів на основі іонних асоціатів цетилпіридинію з додецилсульфатом та тетрафенілборатом [102] перевіряли протягом 30 послідовних титрувань (впродовж 6 місяців). Суттєвих відмінностей у значеннях об'єму титранту при визначенні кінцевої точки титрування не виявлено.

Для підбору оптимальних умов титрування хондроїтин натрію сульфату вивчали поведінку потенціометричних систем із різними електродами, селективність методики, вплив рН, лінійність та відтворюваність методики на субстанції, модельній суміші, лікарському засобі та плацебо.

В ході потенціометричного титрування ХС 0,01-0,001 М розчинами ЦПХ спостерігається типовий характер кривих титрування, дві з яких для різних електродів наведено на рис. 4.1, де приведена одна із диференційних залежностей. На кривій титрування 0,001 М розчинами ЦП спостерігається стрибок титрування більший за 60 мВ, що забезпечує надійне встановлення точки кінця титрування, при незначному впливі природи іон-селективного електроду [103].

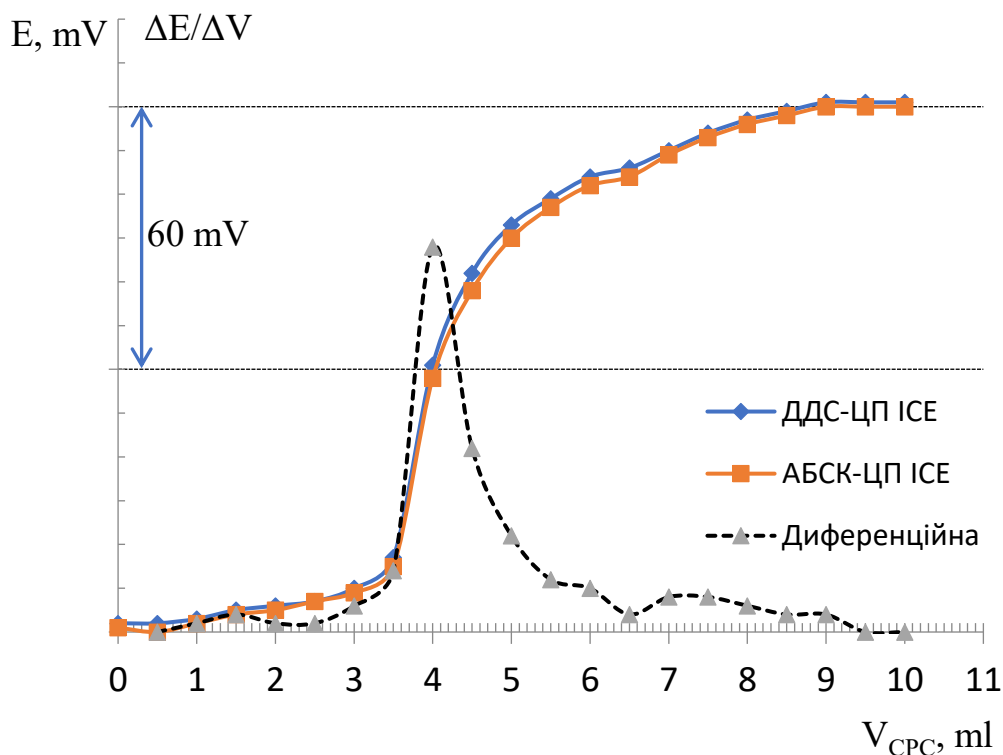


Рис. 4.1 Вихідна (класична) та диференційна криві титрування проби хондроїтину натрію сульфату  $0,01 M$  розчином ЦПХ з використанням двох різних іон-селективних електродів

У зв'язку із асиметрією кривих титрування за реакціями, стехіометрія яких відрізняється від значення  $1:1$ , та частої неоднаковості мономерних ланок природних поліелектролітів постає важливе питання правильного встановлення точки еквівалентності та розрахунку результатів аналізу. Для з'ясування невизначеності такого аналізу, експериментально, протягом двох років вивчалась поведінка титриметричних систем та способи обробки/розрахунку результатів титрування. Перш за все підбирався спосіб стандартизації титранту, для чого найбільш вдалим виявилось використання у ролі вихідної речовини додецилсульфату натрію при контролі результатів за стандартом субстанції ХС.

На рис. 4.2 наведено типові дані отримані при стандартизації титранту за ДДС та ХС із відповідними способами обробки експериментальних даних.

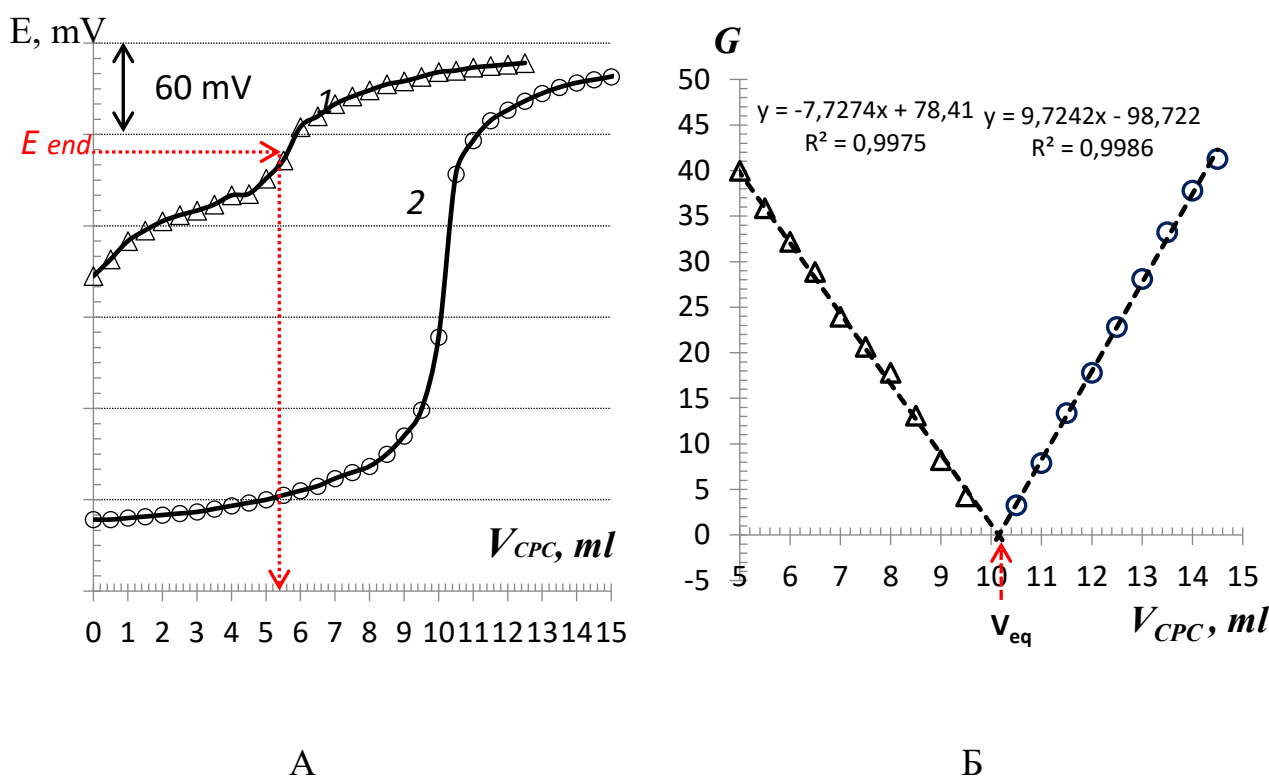


Рис. 4.2 Криві потенціометричного титрування 0.001 М розчином ЦПХ стандартного розчину ДДС (2) та розчину субстанції хондроїтин натрію сульфату (1) із TPhB-CP електродом (А) та обробка кривої титрування ДДС за методом Грана (Б)

$$G = (V_{total} + V_{CP}) \times 10^{((k \pm E)/S)}$$

Отримані результати показують, що стрибок титрування ХС є значно меншим порівняно із титруванням ДДС, але він дозволяє проводити визначення ХС при концентрації останнього у титрованому розчині у межах від 0,02 до 10 мг/мл при відповідній концентрації титранту (із титром 0,35 – 3,50 мг/мл).

Встановлення об'єму титранту (ЦПХ) що відповідає точці еквівалентності проводили різними способами, а саме: до сталого потенціалу, який відповідає т.е. ( $E_{end}$ ), обробкою залежностей  $EPC = f(t)$  за методом Грана та знаходженням похідних (рис.5.2). З'ясовано, що найбільш надійним з точки зору селективності та правильності є спосіб титрування до встановленого значення  $E_{end}$ , попередньо встановленого за даними стандартизації і титрування субстанції ХС. У зв'язку із асиметричністю кривої титрування хондроїтину, зумовленої різними коефіцієнтами взаємодії, що відрізняються від одиниці, саме цей спосіб дозволяє отримати надійні результати. При стандартизації титранту (ЦП) за ДДС можна використовувати будь

які з перерахованих способів встановлення кінцевої точки титрування, які на відміну від титрування ХС дають практично однакові результати. (Рис. 4.2 Б). Слід зауважити, що диференційна обробка кривих чутлива до інтервалу об'єму порцій титранту  $\Delta V_{\text{ЦПХ}}$ , які вводяться при титруванні і відповідно може характеризуватись більшою невизначеністю.

Присутність сторонніх інтерферентів, які утворюють більш стійкі/менш розчинні іонні асоціати з цетилпіридинієм призводить у звичайному виконанні титрування до позитивних систематичних похибок визначення хондроїтин сульфату, проте при врахуванні такого впливу шляхом побудови диференційних кривих у певній мірі можна врахувати та нівелювати такі впливи (Рис. 4.3). Проте необхідно враховувати те, що диференційна форма показує точку перегину кривої титрування, яка не співпадає із точкою еквівалентності при титруванні за стехіометрією відмінною від 1:1. Це буде відігравати певну роль при титруванні мінімальних кількостей ХС.

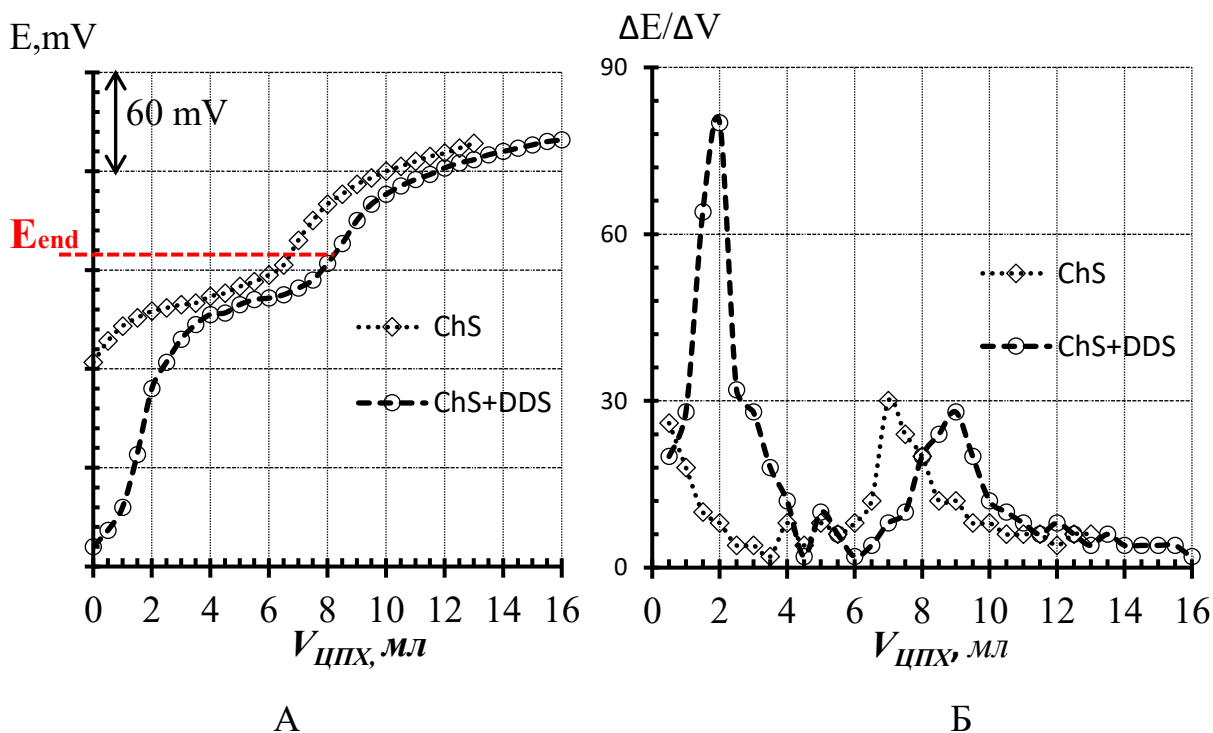


Рис. 4.3 Криві титрування 0,001 М розчином ЦПХ: глюкозаміну і суміші глюкозаміну з ДДС (А), та відповідні диференційні залежності (Б)

Якщо ж титрування здійснювати у присутності сторонніх поліелектролітів, які утворюють менш стійкі/більш розчинні іонні асоціати, як то гіалуронату, то систематичну похибку можна усунути шляхом титрування до певного потенціалу, який відповідає точці еквівалентності реакції взаємодії ХС з ЦПХ (Рис. 4.4)

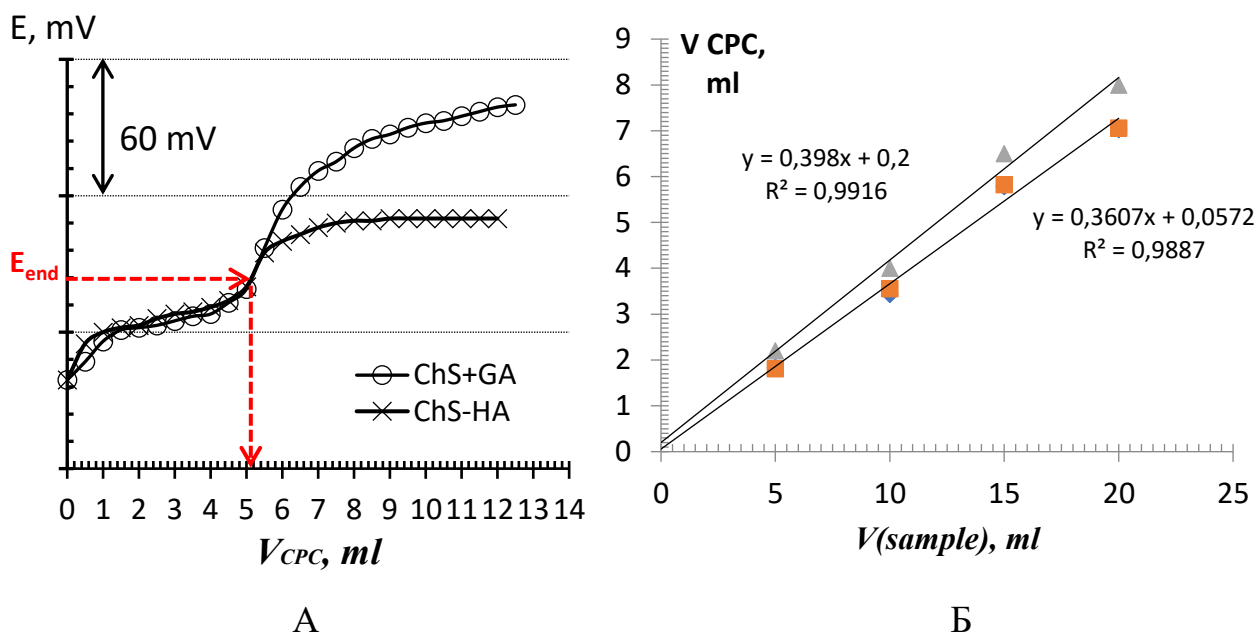


Рис. 4.4 Криві титрування ХС 0,001 М розчином ЦПХ у присутності 8-кратного надлишку глюкозаміну та відповідно 10- кратного гіалуронату натрію (А) та графіки залежності об'єму титранту від об'єму проби при різних способах встановлення точки кінця титрування (Б)

Отже, при титруванні ХС у присутності сторонніх інтерферентів, наприклад, гіалуронової кислоти надійні результати одержуються тільки при титруванні до сталого значення потенціалу ( $E_{end}$ ).

Титрування до постійного значення  $E_{end}$  є зручним при автоматизації титрування з використанням автотитраторів. Функція Грана для даних, отриманих після т.е. не дозволяє отримати правильні результати у присутності аніонних інтерферентів, що здатні взаємодіяти з ЦПХ з утворенням іонних асоціатів меншої стійкості/більшої розчинності порівняно з асоціатами ЦП-Глюкозамін. Враховуючи стійкість іонних асоціатів глюкозаміну у порівнянні з асоціатами ДДС, при задовільних параметрах іон-селективного індикаторного електроду, потенціал кінця титрування ( $E_{end}$ ) можна вибрати виходячи із потенціалу точки кінця титрування ДДС

розчинами ЦП, який у випадку 0,001 М розчину титранту буде на 60-70 мВ більш позитивним [104].

Лінійність методики досліджували шляхом титрування різних об'ємів проб розчину хондроїтину натрію сульфату при різній обробці даних (Рис. 5.4. Б). Лінійність методики кількісного потенціометричного визначення хондроїтин натрію сульфату в суміші вивчали при допусках вмісту діючої сполуки  $\pm 5\%$  в межах від номінальної концентрації сполуки за методикою від 80% до 120% і будували графік залежності в нормалізованих координатах (табл. 4.1) [79].

Таблиця 4.1

**Визначені валідаційні параметри методики**

Параметр	Результат
Кількість визначень	27 (9 x 3 аліквоти)
Діапазон концентрацій	80 – 120 % (80,0 мг – 120,0 мг)
a	0,200
b	0,398
r <sup>2</sup>	0,9916 Відповідає
Середнє значення Z%	100.09
Статистична незначущість систематичної похибки: $\delta \leq 1,89$	$0.5523 \leq 1.89$ Виконується
Практична незначущість систематичної похибки: $\delta \leq 1,0667$	$0.09 \leq 1.0667$ Виконується
Загальний висновок про прецизійність і правильність	Відповідає

Вивчення залежності електроаналітичних властивостей іон-селективного електрода від кислотності середовища показало, що у діапазоні рН 4–8 відгук електродів та форма потенціометричних кривих титрування залишаються стабільними. Отримані результати свідчать про відсутність істотного впливу рН на

перебіг титриметричної реакції, що підтверджує робастність розробленої методики та можливість її застосування в широкому інтервалі умов аналізу.

Результати кількісного визначення хондроїтин натрію сульфату у складі субстанції та комбінованого лікарського засобу в формі саше та капсул наведено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

**Результати визначення хондроїтин натрію сульфату у складі субстанції та лікарського засобу в формі саше та капсул**

<b>Об'єкт дослідження</b>	<b>Заявлений вміст</b>	<b>Знайдений вміст</b>	<b>SD</b>	<b>RSD</b>	<b>Висновок</b>
Субстанція	100.0 %	100.13 %	0.2628	0.16	Відповідає
Лікарський засіб в формі порошку в саше	500.0 мг	500.36 мг (100,07 % від номінального)	1.3106	0.26	Відповідає
Лікарський засіб в формі капсул	250.0 мг	250.42 мг (100,17 % від номінального)	0.2312	0.09	Відповідає

Встановлено, що фактичний вміст діючої речовини узгоджується із заявленим. Відносне стандартне відхилення (RSD) не перевищувало 3.0 % в жодному визначенні, що відповідає вимогам фармакопей до аналітичних методик. Отримані дані підтверджують правильність та практичну придатність запропонованої методики для контролю якості готових лікарських засобів.

Запропонований підхід може бути інтегрований у рутинний контроль якості без застосування дорогого обладнання, що робить його привабливим для лабораторій малих та середніх фармацевтичних підприємств.

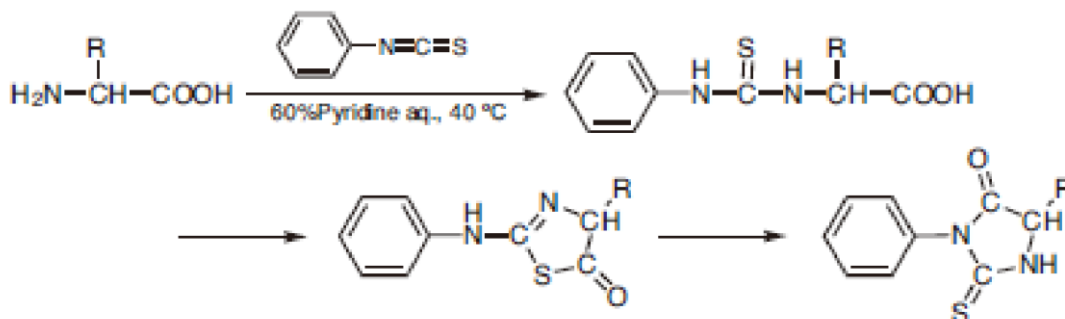
Таким чином, розроблена потенціометрична титриметрична методика забезпечує селективне та відтворюване визначення хондроїтину натрію сульфату у присутності супутніх компонентів комбінованого лікарського засобу. Отримані

результати підтверджують її придатність для використання у системі контролю якості субстанції та готових лікарських засобів [105].

#### 4.2 Визначення глюкозаміну натрію сульфату

Глюкозамін є високо полярною сполукою, яка не містить виражених хромофорних груп, що значно ускладнює його пряме визначення методами ультрафіолетової спектрофотометрії або рідинної хроматографії з УФ-детектуванням. У зв'язку з цим у сучасній аналітичній та фармацевтичній практиці застосовують попередню дериватизацію аміногрупи глюкозаміну реагентами ізотіоціанатного або флуоресцентного типу, що дозволяє підвищити чутливість та селективність хроматографічного аналізу [106].

Для покращення відгуку УФ-детектора для проведення дослідження був обраний фенілізотіоціанат, який реагує з аміногрупою глюкозаміну у лужному середовищі з утворенням похідного тіосечовини [107]:



Використання фенілізотіоціанату як дериватизуючого реагенту дозволяє отримати стабільне ароматичне похідне, яке характеризується інтенсивним поглинанням у УФ-області спектра та забезпечує підвищення чутливості методу у декілька разів порівняно з прямим детектуванням.

Кількість фенілізотіоціанату, необхідну для протікання реакції, встановлювали експериментально в межах концентрації реагенту від 0,0-01 г/мл до 0,01 г/мл і встановили, що після додавання від 0,008 г/мл до 0,01 г/мл метанольного розчину реактиву площа хроматографічного піку майже не змінюється.

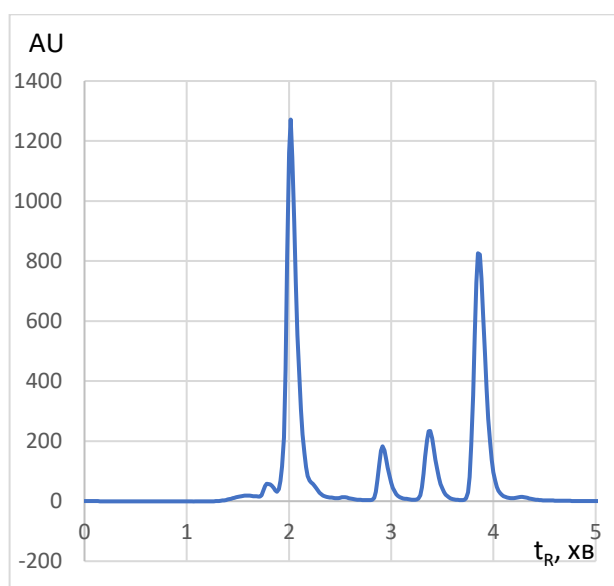
Для вивчення валідаційних характеристик проводили перевірку лінійності,

правильності і прецизійності методики методом «введено-знайдено». Допустима концентрація глюкозаміну натрію сульфату на момент випуску знаходиться в межах  $\pm 5\%$  від номінальних значень, для дослідження лінійності, правильності і збіжності діапазон концентрацій обирали від 80 % до 120 %, з кроком в 5 %. Критерії прийнятності  $B = 5\%$  свідчать, що максимальна невизначеність аналізу не має перевищувати 1,6 %.

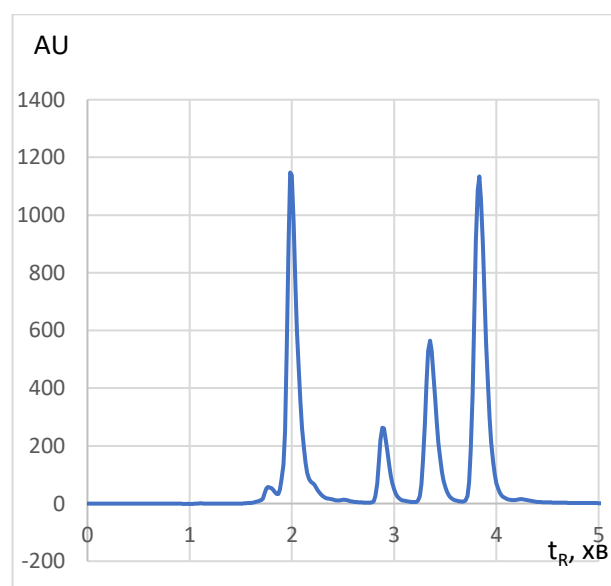
Специфічність методики підтверджено шляхом порівняння хроматограм випробовуваних розчинів саше (рис. 4.5 А), капсул (рис. 4.5 Б), розчину порівняння (рис. 4.5 В) та розчину плацебо (рис. 4.5 Г).

На поданих хроматограмах (рис. 4.5) чітко відокремлюються піки похідного глюкозаміну, що збігаються за часом утримування з піками відповідного стандартного зразка (2,21 хв). Також на хроматограмі розчину плацебо не виявлено піків, час утримування яких збігався б з часом утримування піків похідного глюкозаміну, що доводить специфічність запропонованої методики.

Збіжність результатів не перевищує  $\pm 2\%$ . Це свідчить про можливість одночасної ідентифікації та кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнту у складі досліджуваного засобу у формі саше та капсул.



А



Б

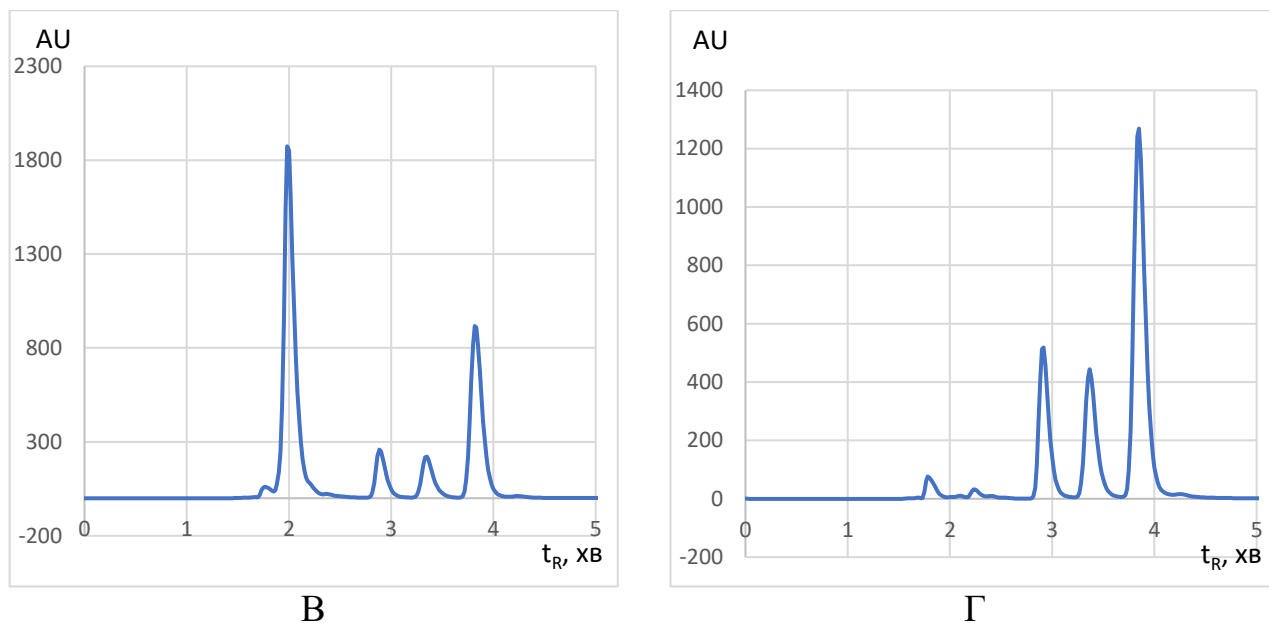


Рис. 4.5 Типові хроматограми випробовуваних розчинів саше (рис. 4.5 А), капсул (рис. 4.5 Б), розчину порівняння (рис. 4.5 В) та розчину плацебо (рис. 4.5 Г) при проведенні визначення глюкозаміну сульфату

Отримані в процесі дослідження хроматограми відповідають зазначеним критеріям оцінки придатності хроматографічної системи (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

#### Результати проведення тесту «Придатність хроматографічної системи»

Критерій	Вимоги	Результати за піком
АСЕ С18		
Ефективність хроматографічної колонки	> 2000 т.т.	3984
Коефіцієнт симетрії	від 0,8 до 1,5	1,00
Відносне стандартне відхилення, %	< 1,0	0,59
Коефіцієнт розділення	$\geq 1,5$	1,50

Вивчаючи робасність, досліджували стабільність розчинів у часі (табл. 4.4). Критерій незначущості проти максимально допустимої невизначеності результатів аналізу ( $\Delta_{AS} = 1,6\%$ ) виконується впродовж 1 години, тобто розчини необхідно використовувати свіжоприготовлені [79].

Таблиця 4.4

### Результати визначення стабільності розчинів

	0 хвилин	Через 1 годину	Зміни, у %	Через 6 годин	Зміни, у %
<i>rso</i>	10581	10533	0,46	10343	2,25
<i>test</i>	10320	10281	0,38	10038	2,73
$\Delta_{сер}$			0,42		2,49

У результаті дослідження лінійності з'ясовано, що значення коефіцієнтів кореляції  $r = 0.9991$  задовольняє вимоги критерію прийнятності ( $r > 0,9981$ ) (табл. 4.5). Отже, у всьому діапазоні концентрацій від 80 % до 120 % до номінальної кількості компоненту в лікарському засобі методика є лінійною.

Таблиця 4.5

### Результати оцінки параметрів валідації для кількісного визначення глюкозаміну сульфату

Параметр	Вимоги, %	Отримане значення, %	Відповідність критерію
$\Delta_{AS}\%$	$\leq 1,6$	1,29	Виконується
$ a $	$\leq 2,6$	0,94	Виконується
$S_0$	$\leq 0,84$	0,75	Виконується
$r$	$> 0,9981$	0,9991	Виконується
$ Z - 100 $	$\leq 0,37$	0,31	Виконується за двома критеріями
	$\leq 0,51$		
$\Delta Z$	$\leq 1,6$	0,61	Виконується
$\Delta_{intra}$	$\leq 1,6$	0,93	Виконується

На рис. 4.6 наведено залежність аналітичного сигналу від фактичної концентрації розчинів глюкозаміну сульфату в нормалізованих координатах мають лінійний характер.

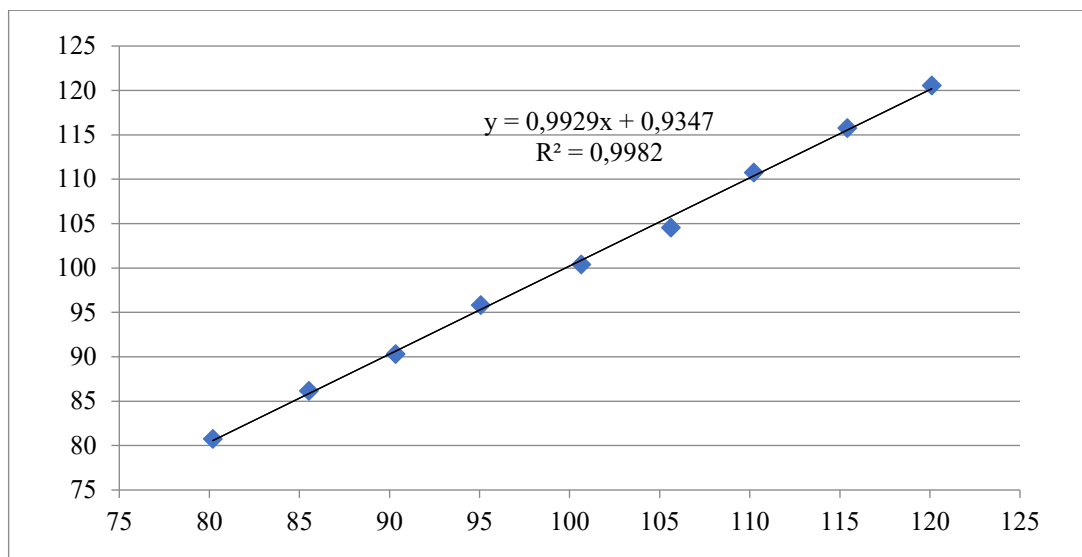


Рис. 4.6 Графіки лінійної залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації розчинів глюкозаміну сульфату, побудовані в нормалізованих координатах

Доведено, що методика характеризується достатньою збіжністю та правильністю в усьому діапазоні досліджуваних концентрацій (табл. 5.5). Знайдені значення  $\Delta_Z$  для глюкозаміну сульфату – 0,61% менше критичного значення для збіжності результатів (1,6 %), що задовольняє критерії прийнятності валідаційного показника «Прецизійність». Систематична похибка методики  $\delta = 0,31\%$  задовольняє вимоги валідаційного показника «Правильність» за двома критеріями – статистичної незначущості ( $\leq 0,37$ ) і практичної незначущості ( $\leq 0,51$ ).

Усі розраховані валідаційні параметри відповідають визначеним критеріям, отже, методика є коректною і може бути використана для кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнта досліджуваних лікарських форм.

Кількісне визначення глюкозаміну сульфату в досліджуваних об'єктах виконували на шести зразках. Метрологічні характеристики методики визначення кількісного вмісту визначуваної речовини наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

**Метрологічні характеристики кількісного вмісту глюкозаміну сульфату**

$m$	$\nu$	$X_i, \text{г}$	$X_{cp}, \text{г}$	$S^2$	$S_x$	$P$	$t(P, \nu)$	$\Delta x$	$\underline{\varepsilon}, \%$
Лікарський засіб у формі саше									
6	5	1504,98	1506,74	14,17	1,54	0,95	2,5706	9,68	0,26
		1503,70							
		1505,96							
		1509,34							
		1503,41							
		1513,07							
Лікарський засіб у формі капсул									
6	5	751,20	751,20	1,67	0,53	0,95	2,5706	3,32	0,44
		752,75							
		751,71							
		749,27							
		750,15							
		752,13							

Таким чином, відносна невизначеність середнього визначення з ймовірністю 95 % становить  $< 0,50 \%$ , а істинний вміст глюкозаміну сульфату в порошку можна вважати  $1500,0 \text{ г} \pm 0,0026 \text{ г}$  та в капсулах –  $750,0 \text{ г} \pm 0,0044 \text{ г}$ .

На підставі отриманих результатів запропонована методика може бути рекомендована для проведення ідентифікації та кількісного визначення глюкозаміну сульфату в складі досліджуваного лікарського засобу при проведенні допромислових дослідженнях, при розробці та реєстрації лікарських засобів, а також як стандартна процедура контролю якості у фармацевтичному виробництві.

#### 4.3 Визначення метилсульфонілметану

Метилсульфонілметан (МСМ) є низькомолекулярною органічною сполукою, яка характеризується високою леткістю та термічною стабільністю. МСМ є фармакопейною субстанцією, згідно монографій Фармакопеї США

«Метилсульфонілметан», «Метилсульфонілметан таблетки», «Глюкозаміну, хондроїтину сульфату натрію та метилсульфонілметану таблетки» та «Глюкозаміну та метилсульфонілметану таблетки» [56], ідентифікацію та кількісне визначення АФІ проводять методом газової хроматографії з полум'яно-іонізаційним детектуванням із застосуванням внутрішнього стандарту. З використанням капілярної колонки 30 м × 0,53 мм, з товщиною плівки 5 мкм, фазою G2. Об'єм інжекції становить 1 мкл досліджуваного розчину 0,4 мг/мл метилсульфонілметану, приготовленого шляхом розчинення зразку в метанолі (до 1,0 л) та додаванням внутрішнього стандарту метилового ефіру діетиленгліколю (0,6 мл). Газ-носіє – гелій, температура колонки – 120 °С, температура детектора та інжекції - 250 °С. Швидкість потоку – 5 мл/хв та режимом введення Split 2:1. Водночас відсутні валідовані методики із застосуванням методу зовнішнього стандарту для багатокомпонентних лікарських засобах у формі порошку.

Вихідним пунктом розробки усіх валідаційних критеріїв є встановлення критеріїв прийнятності [79]. Для цього отримували по 5 хроматограм розчину порівняння (рис. 4.7 А, 4.8 А) випробовуваного розчину (рис. 4.7 Б, 4.8 Б) та розчинів плацебо (рис. 4.7 В, 4.8 В). Площі піків, отримані в результаті досліджень наведені в табл. 4.7, 4.8.

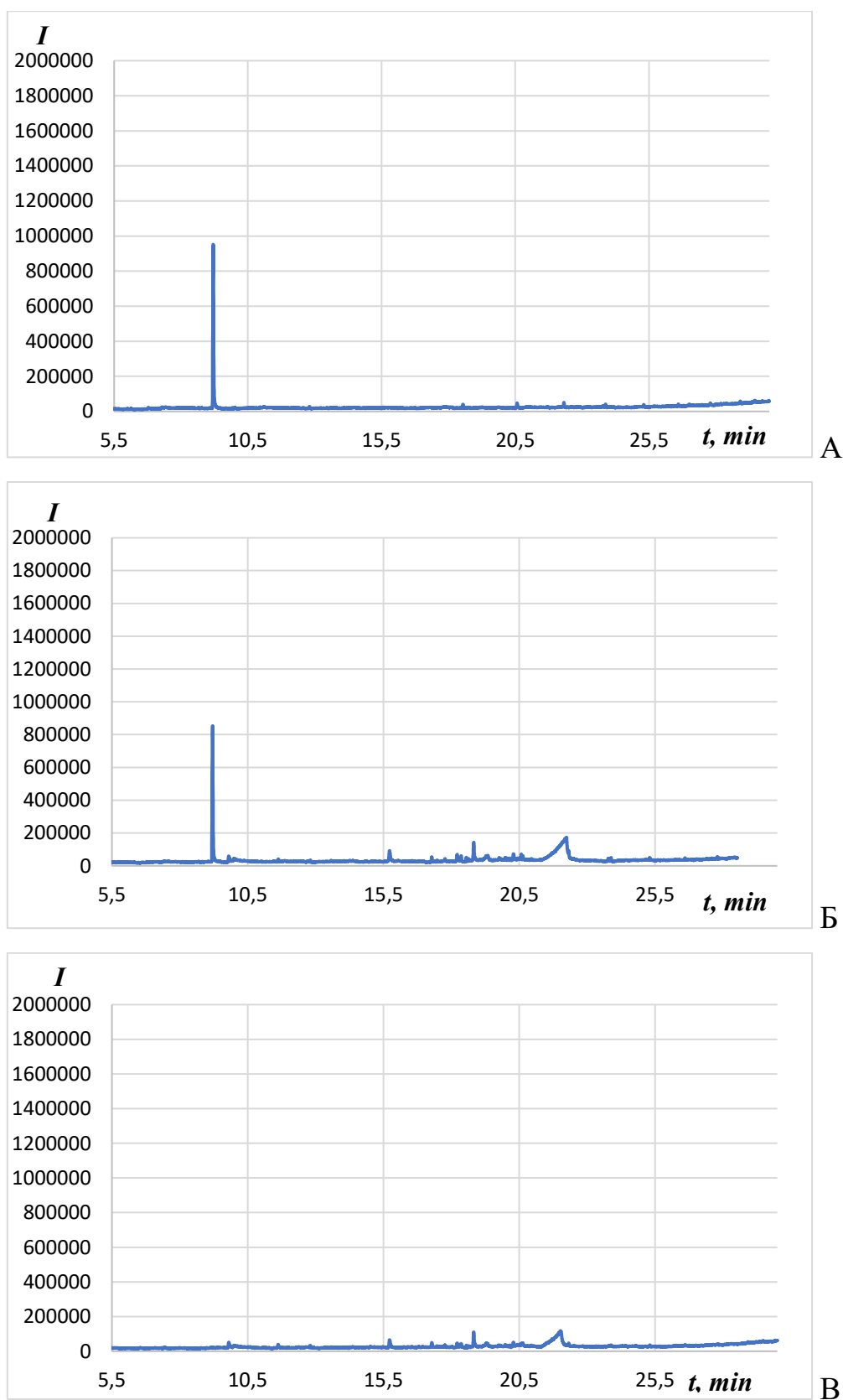


Рис. 4.7 Типова ГХ/МС хроматограма розчину порівняння (А), випробовуваного розчину (Б), розчину плацебо (В)

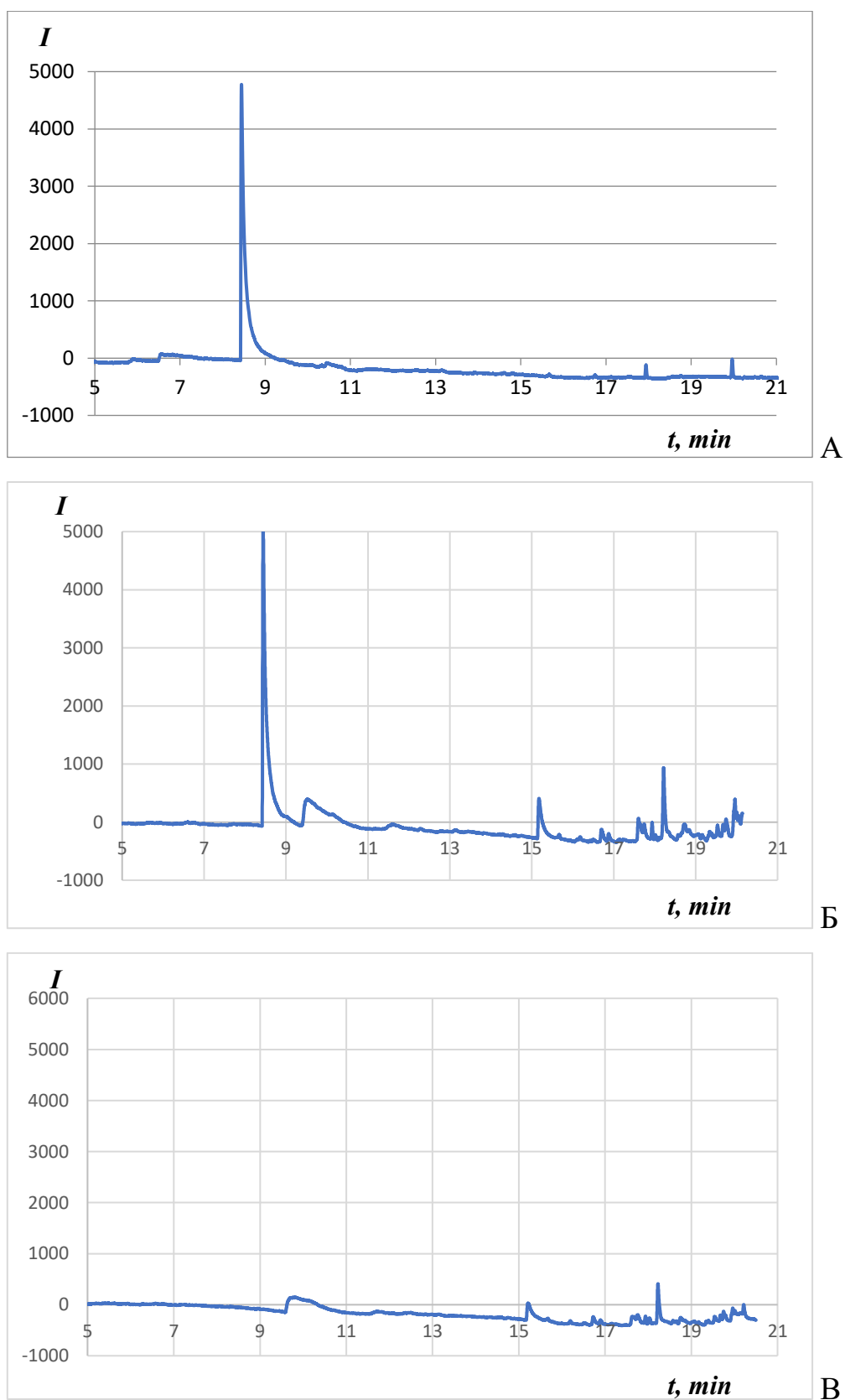


Рис. 4.8 Типова ГХ/ПІД хроматограма розчину порівняння (А), випробовуваного розчину (Б) та розчину плацебо (В)

Таблиця 4.7

**Площі піків випробовуваного розчину й розчину порівняння, які отримані під час кількісного визначення метилсульфонілметану методом ГХ/МС**

	Площі піків ( $S$ і $Sst$ ) для хроматограм №				
	1	2	3	4	5
Випробовуваний розчин	1844912	1829775	1839102	1832668	1841958
Розчин порівняння	1892345	1873210	1886789	1879654	1875767

Відносні стандартні відхилення площ піків для випробовуваного розчину становлять 0,40 %, розчину порівняння – 0,42 %, що свідчить про високу прецизійність методу ГХ/МС за умов повторюваності.

Таблиця 4.8

**Площі піків випробовуваного розчину й розчину порівняння, які отримані під час кількісного визначення метилсульфонілметану методом ГХ/ПД**

	Площі піків ( $S$ і $Sst$ ) для хроматограм №				
	1	2	3	4	5
Випробовуваний розчин	32160	32340	32210	32310	32240
Розчин порівняння	32230	32410	32300	32370	32275

Дані таблиці 4.8 демонструють низькі значення відносного стандартного відхилення (випробовуваного розчину – 0,35 %, розчину порівняння – 0,38 %). Порівняльний аналіз результатів, отриманих із використанням мас-селективного та полум'яно-іонізаційного детектування, свідчить про зіставну прецизійність обох методик у межах повторюваності. Водночас застосування ГХ/МС забезпечує додаткову ідентифікаційну надійність за рахунок мас-спектральних характеристик аналіту, що є особливо важливим на етапах розробки та валідації лікарського засобу, тоді як ГХ/ПД може бути рекомендований для рутинного кількісного контролю якості.

Однією з валідаційних характеристик, що була визначена до початку інших валідаційних досліджень стала перевірка стабільності випробовуваного розчину та розчину порівняння (табл. 4.9), що є складовою оцінки робастності, оскільки зміна концентрації аналіту в розчинах може впливати на достовірність отриманих результатів [108, 109].

Таблиця 4.9

**Результати вивчення стабільності випробовуваного розчину та розчину порівняння**

Хроматограма	Площа МСМ	«Знайдено / введено»	Відхилення від 100%
ГХ/МС			
Випробовуваний розчин, свіжоприготовлений	1837483	-	-
Випробовуваний розчин, 24 год	1826485	99,40	-0,6
ГХ/ПД			
Випробовуваний розчин, свіжоприготовлений	32272		
Випробовуваний розчин, 24 год	32158	99,65	-0,35
ГХ/МС			
Розчин порівняння, свіжоприготовлений	1881553	-	-
Розчин порівняння, 24 год	1879649	99,89	-0,11
ГХ/ПД			
Розчин порівняння, свіжоприготовлений	32317		
Розчин порівняння, 24 год	32264	99,87	-0,13
Вимога:			≤ 5 %
Висновок:			Витримуються

Для підтвердження специфічності аналітичної методики та ідентифікації аналітів визначуваних речовин порівнювали хроматограми, одержані з наступних розчинів:

- розчину порівняння (рис. 4.7 А, 4.8 А)
- випробовуваного розчину (рис. 4.7 Б, 4.8 Б)
- розчинів плацебо (рис. 4.7 В, 4.8 В)

На хроматограмах розчину плацебо відсутні додаткові піки, час утримування яких співпадав би з часами утримування цільового піку МСМ. Це підтверджує специфічність методики та відсутність впливу допоміжних речовин на визначення активного фармацевтичного інгредієнту у досліджуваному лікарському засобі.

Лінійність для досліджуваної методики вивчали для 9 концентрацій розчинів МСМ, які охоплювали діапазон від 80 % до 120 % від номінального вмісту активного фармацевтичного інгредієнту в модельній суміші (рис. 4.9).

Методики продемонстрували лінійність у діапазоні концентрацій 0,32 – 0,48 мг/мл (що відповідає 80–120% від номінальної концентрації) з коефіцієнтами кореляції  $r > 0,9981$  незалежно від детектування.

Межа виявлення ( $LOD = 3.3 \times s_a / b$ ) і межа кількісного визначення ( $LOQ = 10 \times s_a / b$ ) були розраховані як інформація про те, наскільки діапазон застосування методики перевищує її граничні можливості («запас міцності» методики).

Межа виявлення МСМ за запропонованими методиками становить 0,013 %, 0,0088 % та межа кількісного визначення – 0,04 % та 0,026 % для ГХ/МС і ГХ/ПД, відповідно. Тобто отримані значення LOD та LOQ значно менші за запропоновану концентрацію МСМ в випробовуваному розчині.

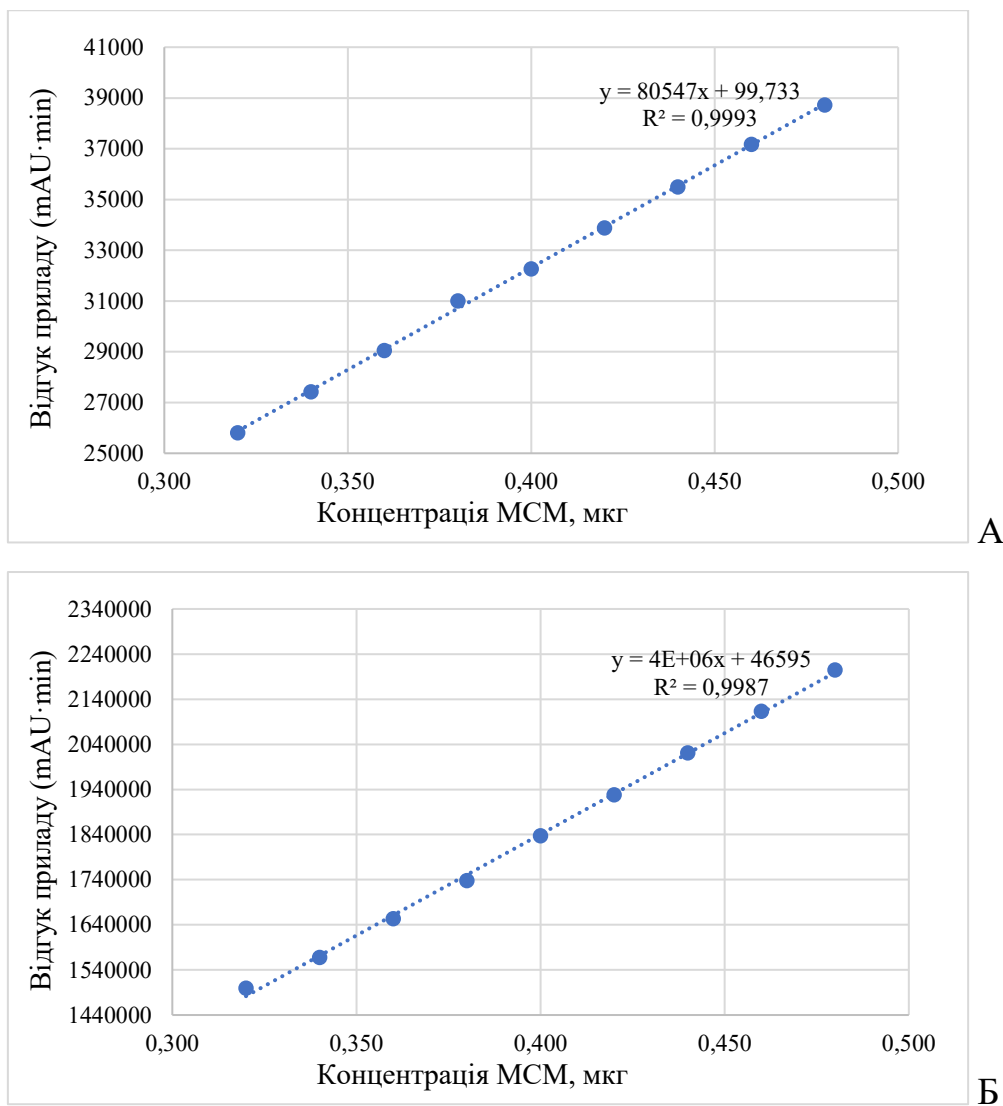


Рис. 4.9 Графік залежності відгуку приладу від концентрації МСМ у модельних розчинах методами: ГХ/МС (А); ГХ/ПІД (Б)

Отже, отримані в дослідженні значення лінійності, прецизійності та меж виявлення узгоджуються з даними, наведеними в сучасних публікаціях щодо газохроматографічного аналізу МСМ [110, 111]. Водночас запропоновані методики суттєво не впливають на пробопідготовку та в умовах аналізу методом ГХ/МС час утримування МСМ складав  $9,157 \pm 0,06$  хв ( $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ). Для розчину випробовуваного зразка з аналогічною концентрацією МСМ хроматографічний пік реєструвався при 9,163 хв (рис. 4.7 Б).

Методику ідентифікації та кількісного визначення МСМ було запропоновано із застосуванням методу ГХ/ПІД. Час утримування МСМ при аналізі методом ГХ/ПІД склав 8,456 хв ( $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ) (рис. 4), модельної суміші – 8,442 хв (рис. 4.8 Б).

Відсутність інтерферуючих піків на хроматограмах розчину плацебо (рис. 4.7 В, 4.8 В) підтверджує, що допоміжні речовини та супутні активні фармацевтичні інгредієнти не впливають на визначення МСМ, що є принципово важливим для аналізу комбінованих лікарських засобів.

Кількісний вміст МСМ в досліджуваній суміші розраховували з використанням площі піка випробовуваного зразка у порівнянні з площею піка розчину порівняння, отримуючи по 5 хроматограм для кожного розчину (таблиця 4.10).

Таблиця 4.10

#### Результати кількісного визначення МСМ в досліджуваному лікарському засобі

Методика	Площа піку випробовуваного розчину	Площа піку розчину порівняння	Вміст МСМ в складі порошку	Вміст у % відносно номінального
ГХ/МС	1837483±0,40	1881553±0,42	401,934±1,13	100,48
ГХ/ПД	32272±0,35	32317±0,38	401,546±0,81	100,39

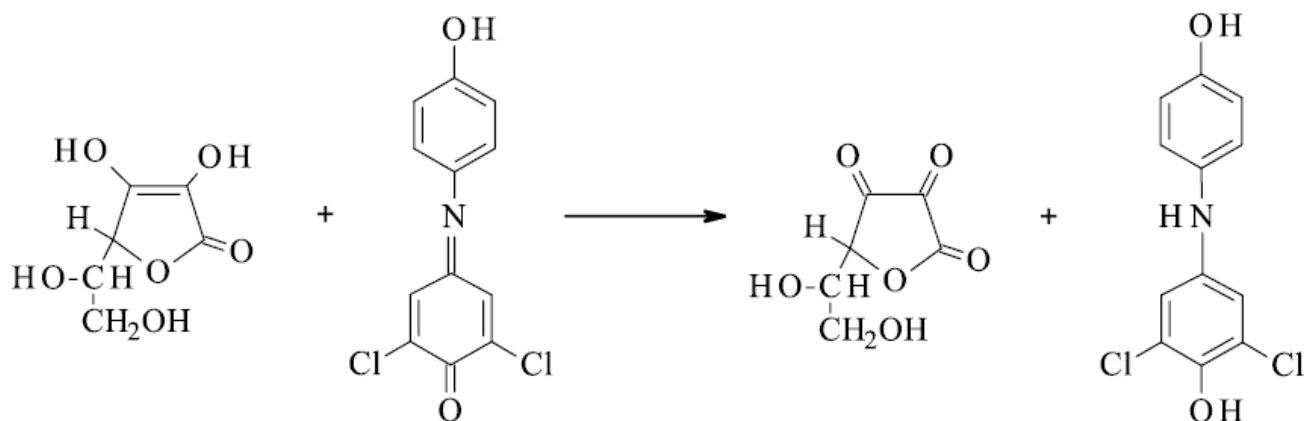
Отримані результати (таблиця 4.10) також підтверджують доцільність застосування методу зовнішнього стандарту для кількісного визначення МСМ у складі комбінованого лікарського засобу без зниження точності аналізу.

Застосування двох типів детектування дозволило комплексно оцінити можливості газової хроматографії для аналізу МСМ. Метод ГХ/МС забезпечує високу специфічність ідентифікації завдяки мас-спектральним характеристикам, що є особливо важливим на етапах розробки лікарського засобу. Натомість метод ГХ/ПД характеризується простотою реалізації, високою чутливістю та придатністю для рутинного кількісного контролю.

На відміну від методик Фармакопеї США, які передбачають застосування внутрішнього стандарту та специфічних колонок, запропонований підхід не потребує введення додаткових стандартних речовин, що зменшує потенційні джерела аналітичної похибки [112].

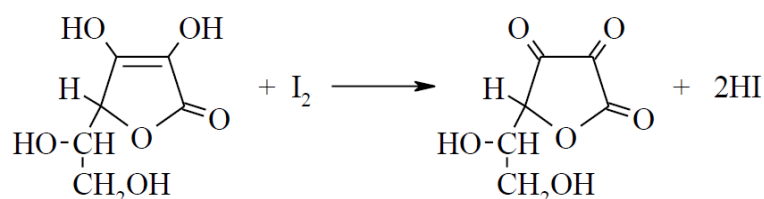
#### 4.4 Визначення аскорбінової кислоти

Ідентифікацію аскорбінової кислоти в складі досліджуваного лікарського засобу здійснювали за реакцією з 2,6-дихлорфеноліндофенолу натрію, згідно монографії Японської фармакопеї на субстанції та готові лікарські засоби аскорбінової кислоти [68]. В основі взаємодії лежить окисно-відновна реакція:



В результаті цієї взаємодії при додаванні до розчину лікарського засобу титрованого розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу (синій розчин) спостерігалось його знебарвлення.

Відповідно до вимог Державної фармакопеї України [64], кількісне визначення аскорбінової кислоти проводять методом йодометричного титрування, що ґрунтується на її відновних властивостях до дегідроаскорбінової кислоти відповідно до реакції:



Метод характеризується простотою виконання, високою точністю та економічною доцільністю, що особливо важливо для рутинного контролю якості.

Досліджуваний лікарський засіб у формі порошку в саше пакеті містить глюкозаміну натрію сульфат, хондроїтину натрію сульфат, метилсульфонілметан, натрію гіалуронат, сорбітол та лимонну кислоту. Проведене попереднє вимірювання рН водного розчину лікарського засобу показало значення 2,62, що зумовлено

наявністю лимонної та аскорбінової кислот. Кисле середовище є сприятливим для стабільності йоду та перебігу реакції титрування, тому додаткове підкислення розчину сульфатною кислотою не було необхідним. Порівняльні дослідження титрування аскорбінової кислоти у середовищі розведеної сульфатної кислоти та у присутності лимонної кислоти продемонстрували практично однаковий об'єм 0,05 М розчину йоду, що свідчить про відсутність впливу лимонної кислоти на стехіометрію реакції та точність визначення. Для лікарського засобу у формі капсул проводили підкислення розчином сульфатної кислоти [96].

Особливу увагу було приділено оцінці селективності методики. Встановлено, що інші активні інгредієнти препарату не проявляють відновних властивостей у зазначених умовах. Солі глюкозаміну та хондроїтину є аміносахаридами, які не вступають у пряму реакцію з йодом за кімнатної температури в кислому середовищі. Метилсульфонілметан є стабільною сульфоною сполукою і не здатний відновлювати галогени. Натрію гіалуронат є високомолекулярним полісахаридом, що також не впливає на перебіг окисно-відновної реакції. Сорбітол за умов дослідження не проявляв інтерференції, що підтверджено відсутністю зміни об'єму титранту при аналізі модельних сумішей без аскорбінової кислоти. Отримані результати дозволяють стверджувати, що методика є селективною щодо визначення аскорбінової кислоти у присутності супутніх речовин.

Відповідно до вимог ДФУ, при валідації титриметричних методик оцінку показників правильності та прецизійності доцільно проводити одночасно з дослідженням лінійності у встановленому діапазоні концентрацій. Щоб не змінювати вже опрацьований підхід, було взято 9 точок (формальні вимоги до вивчення прецизійності), що дозволяє отримати також і менш жорсткі критерії (за рахунок збільшення числа ступенів свободи) в діапазоні концентрацій 80% - 120 % від номінальної маси (2,5 г порошку, еквівалентній 0,05 г АФІ) з кроком 5%. Такий діапазон відповідає рекомендаціям Державної фармакопеї України для методик кількісного визначення діючих речовин у готових лікарських засобах.

У звичайному фармакопейному титруванні, на відміну від хроматографії і спектрофотометрії, відсутній стандарт, тому для переходу в нормалізовані

координати досліджувану наважку доцільно нормалізувати шляхом поділу на номінальну масу наважки  $m_T$ , зазначену в методиці.

Відповідно, отримали такі нормалізовані координати:

$$X_i(\%) = \frac{m_i}{m_T} \times 100; \quad Y_i(\%) = \frac{V_i}{V_T} \times 100; \quad Z_i(\%) = \frac{Y_i}{X_i} \times 100$$

Таблиця 4.11

**Приготування розчинів ЛЗ у формі порошку і результати кількісного визначення аскорбінової кислоти при вивченні внутрішньолабораторної прецизійності**

№ досліджу	Наважка ЛЗ, г	Вміст аскорбінової кислоти у взятій наважці ЛЗ, г	Об'єм титранту, витрачений на титрування наважки, мл	Введено вміст, % норм.	Знайдено вміст, % норм.
1	2.0400	0.0408	3.80	81.60	81.73
2	2.1201	0.0424	4.10	84.80	84.85
3	2.2405	0.0448	4.60	89.60	90.10
4	2.3850	0.0477	5.20	95.40	95.66
5	2.5150	0.0503	5.80	100.60	101.18
6	2.6049	0.0521	6.20	104.20	104.42
7	2.7551	0.0551	6.95	110.20	110.68
8	2.8902	0.0578	7.55	115.60	116.14
9	3.0601	0.0612	8.35	122.40	121.15

Таблиця 4.12

## Результати дослідження прецизійності і правильності

Введено у % від номінальної концентрації ( $X_i$ , факт., %)	Знайдено у % від номінальної концентрації ( $Y_i$ , %)	Знайдено у % до введеного $Z_i(\%) = \frac{Y_i}{X_i} \times 100$
81.60	81.73	100.15
84.80	84.85	100.06
89.60	90.10	100.56
95.40	95.66	100.27
100.60	101.18	100.58
104.20	104.42	100.21
110.20	110.68	100.44
115.60	116.14	100.46
122.40	121.15	98.98
Середнє, $Z_{\text{сер}}\%$		100.19
Відносне стандартне відхилення, $Sz\%$		0.1933
Відносний довірчий інтервал $\Delta z\% = t(95\%, 9-1) \cdot Sz$		0.3663
Критичне значення для збіжності результатів ( $\Delta_{As}$ ), %		1.60
<b>Оцінка збіжності:</b>		0.19 < 1.60
<b>Оцінка правильності:</b>		
Систематична похибка, $\delta \% =  Z_{\text{сер}} - 100 $		0.19
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \frac{2}{3} \times \max \Delta_{As} = \frac{2}{3} \times 1.6 = 1.07\%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \Delta_{As}$		0.19 < 1.07
2) практична незначущість: $\delta \leq 0,32 \times 5 = 1.60\%$		0.19 < 1.60
Загальний висновок про методику		КОРЕКТНА

Графік лінійної залежності наведено на рис. 4.10.

Як свідчать наведені в табл. 4.13 дані, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення аскорбінової кислоти підтверджується в усьому діапазоні концентрацій від 80 % до 120 % від їх номінальної концентрації у випробовуваному розчині.

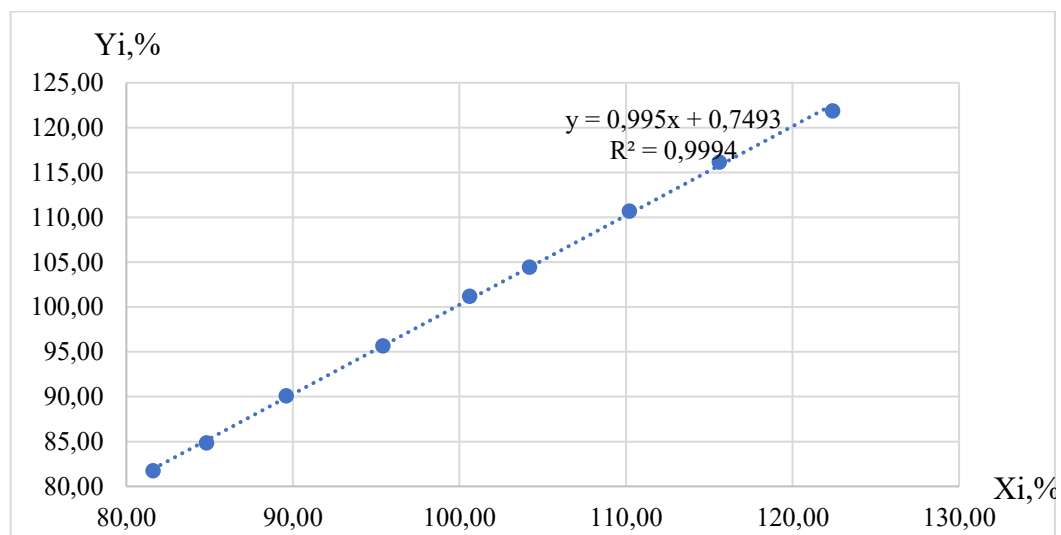


Рис. 4.10 Лінійна залежність знайденої концентрації аскорбінової кислоти від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Таблиця 4.13

### Характеристики лінійної залежності $Y_i = a + b \cdot X$

Параметр	Значення	Стандартне відхилення	Критерій статистичної незначущості	Критерій практичної прийнятності	Висновок
a	0.4496	1.2765	$ a  \leq 1.30$		відповідає
b	0.9950	0.0126			
$ 1 - b $	0.0050	0.0239	$ 1 - b  \leq 0.012$		відповідає
$S_0$	0.4981			$\leq 0.63$	відповідає
r	0.9997			$\geq 0.9996$	відповідає
$r^2$	0.9994			$\geq 0.9979$	відповідає
$\Delta_{RI,80}$	1.0621			$\leq 1.7066$	відповідає
$\Delta_{RI,120}$	1.0638			$\leq 1.7066$	відповідає
Загальний висновок про методику					відповідає

Отримані значення (табл. 4.12, 4.13) відносного стандартного відхилення та коефіцієнта кореляції підтверджують відповідність методики вимогам ДФУ.

Результати кількісного визначення аскорбінової кислоти у складі субстанції та комбінованого лікарського засобу в формі саше та капсул наведено в табл. 4.14.

*Таблиця 4.14*

**Результати визначення аскорбінової кислоти в складі лікарського засобу в формі порошку в саше та капсул**

<b>Об'єкт дослідження</b>	<b>Заявлений вміст</b>	<b>Знайдений вміст</b>	<b>SD</b>	<b>RSD</b>	<b>Висновок</b>
Лікарський засіб в формі порошку в саше	80.0 мг	80.22 мг (100,28 % від номінального)	1.3106	1.63	Відповідає
Лікарський засіб в формі капсул	40.0 мг	40.56 мг (101,40 % від номінального)	0.5149	1.27	Відповідає

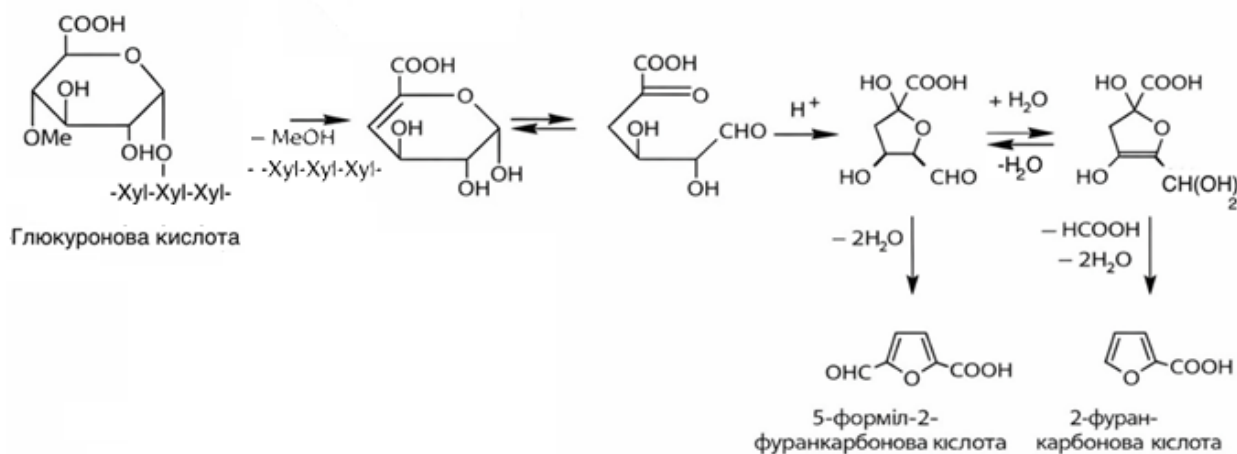
У результаті проведених досліджень обґрунтовано застосування методу йодометричного титрування для кількісного визначення аскорбінової кислоти у складі розробленого комбінованого лікарського засобу. Показано, що присутність допоміжних речовин та інших активних компонентів не впливає на перебіг окисно-відновної реакції з йодом та не спричиняє інтерференції при титруванні.

Встановлено, що кисле середовище, сформоване наявністю лимонної та аскорбінової кислот у складі лікарського засобу у формі порошку в саше пакеті, є достатнім для стабільного перебігу реакції, що дозволяє проводити титрування без додаткового підкислення розчину. Проте для кількісного визначення аскорбінової кислот у складі лікарського засобу у формі капсул – методика потребує додавання кислоти сульфатної розведеної.

Отримані результати свідчать про достатню селективність, правильність та прецизійність запропонованої методики, що дозволяє рекомендувати її для використання у системі контролю якості розробленого лікарського засобу.

#### 4.5. Визначення натрію гіалуронату

Визначення натрію гіалуронату здійснювали відповідно до вимог монографії Європейської фармакопеї на субстанцію «Натрію гіалуронат» з використанням методу абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні (ДФУ/ЄФ, 2.2.25). Метод базується на специфічній кольоровій реакції D-глюкуронової кислоти, яка є структурним компонентом гіалуронової кислоти, з карбазолом у кислому середовищі [113]:



У результаті взаємодії утворюється стабільний забарвлений комплекс світло червоно-фіолетового кольору. Отриманий продукт реакції характеризується максимумом світлопоглинання при довжині хвилі 530 нм, що дозволяє здійснювати його ідентифікацію та кількісне визначення методом спектрофотометрії. Застосування карбазольного методу забезпечує достатню селективність і чутливість для аналізу полісахаридів, що містять уронові кислоти, включаючи натрію гіалуронат, що підтверджено сучасними дослідженнями.

Оскільки використана методика кількісного визначення натрію гіалуронату є фармакопейною та регламентована Європейською фармакопеєю, проведення її повної аналітичної валідації не вимагалось. Водночас з метою підтвердження

придатності методу для аналізу об'єкті дослідження було здійснено оцінку специфічності, що дозволило встановити відсутність впливу допоміжних речовин та інших активних фармацевтичних інгредієнтів суміші.

Вивчали характери спектрів калібрувальних розчинів D-глюкуронової кислоти (6,5 мкг/г, 15 мкг/г, 35 мкг/г, 50 мкг/г, 65 мкг/г), випробовуваних розчинів лікарських форм порошку в саше пакетах та капсульної маси в діапазоні довжин хвиль 400-800 нм (рис. 4.11).

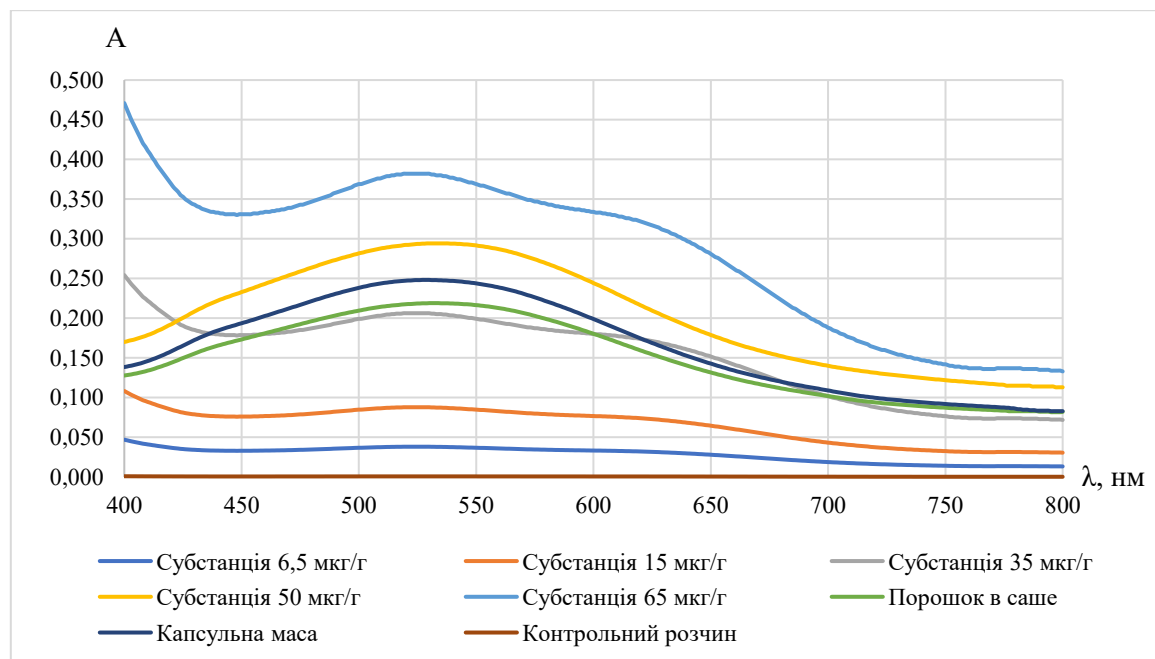


Рис. 4.11 Типові абсорбційні спектри продуктів реакції з розчином карбазолу при проведенні спектрофотометричного визначення натрію гіалуронату

Калібрувальний графік абсорбцій при довжини хвилі 530 нм калібрувальних розчинів D-глюкуронової кислоти наведено на рис. 4.12.

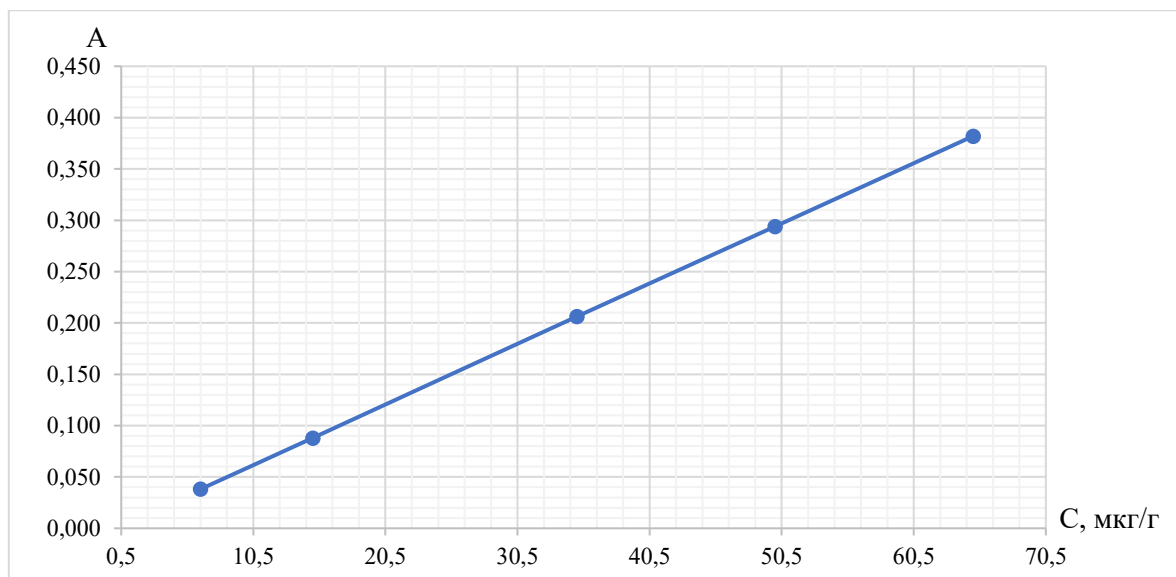


Рис. 4.12 Калібрувальний графік, побудований за середніми значеннями оптичної густини при довжини хвилі 530 нм для кожного калібрувального розчину.

Метрологічні характеристики методики визначення кількісного вмісту визначуваної речовини в об'єктах дослідження наведено в табл. 4.15

Таблиця 4.15

**Метрологічні характеристики кількісного визначення натрію гіалуронату**

$X_i, \text{г}$	$X_{cp}, \text{г}$	$\nu$	$S^2$	$S_x$	$P$	$t(P, \nu)$	$\Delta x$	$\underline{\xi}, \%$
Лікарський засіб у формі порошку в саше пакеті								
29,60	29,64	2	0,0016	0,023	0,95	4,3027	0,17	0,34
29,68								
29,65								
Лікарський засіб у формі капсул								
15,26	15,26	2	0,0006	0,015	0,95	4,3027	0,06	0,41
15,29								
15,24								

Таким чином, відносна невизначеність середнього визначення з ймовірністю 95 % становить  $< 0,50$  %, а істинний вміст натрію гіалуронату в порошку можна вважати  $30,0 \text{ мг} \pm 0,34 \text{ мг}$  та в капсулах –  $15,0 \text{ мг} \pm 0,41 \text{ мг}$ .

#### Висновки до розділу 4

1. Розроблено комплекс аналітичних методик для стандартизації комбінованого лікарського засобу у формі порошку в саше пакетах та капсул, що містить активні фармацевтичні інгредієнти різної хімічної природи. Запропонований підхід забезпечує селективне та відтворюване визначення полісахаридів, аміносахаридів, органічних кислот і низькомолекулярних органічних сполук у складі багатокомпонентного лікарського засобу хондропротекторної дії.

2. Розроблено потенціометричну титриметричну методику кількісного визначення хондроїтину натрію сульфату з використанням цетилпіридинію хлориду та іон-селективного електрода. Показано, що методика характеризується лінійністю у діапазоні 80–120 %, коефіцієнтом кореляції  $r^2 = 0,9916$  та середнім значенням визначення 100,07 % (порошок в саше) та 100,17 % (капсули) від номінального. Відносне стандартне відхилення не перевищувало 3.0 % в жодному визначенні, що відповідає вимогам фармакопей до аналітичних методик.

3. Розроблено хроматографічну методику визначення глюкозаміну натрію сульфату з попередньою дериватизацією фенілізотіоціанатом, що забезпечує підвищення чутливості та селективності аналізу. Вивчені валідаційні характеристики підтвердила відповідність методики вимогам Державної фармакопеї України специфічність, лінійність ( $r \geq 0,9991$ ), правильність, прецизійність ( $RSD \leq 2$  %) і робасність.

4. Запропоновано газохроматографічні методики ідентифікації та кількісного визначення метилсульфонілметану із застосуванням мас-селективного та полум'яно-іонізаційного детектування. Показано, що метод ГХ/МС забезпечує високу специфічність ідентифікації аналіту, тоді як метод ГХ/ПД є придатним для рутинного контролю якості. Встановлено, що відносне стандартне відхилення площ

пиків становить 0,40 % для ГХ/МС та 0,35 % для ГХ/ПД. Отримані результати підтверджують високу чутливість і придатність методик для контролю якості лікарського засобу.

5. Ідентифікацію аскорбінової кислоти запропоновано проводити за реакцією з розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу натрію, а кількісне визначення із застосуванням методу йодометричного титрування. Встановлено лінійність титриметричної методики у діапазоні 80–120 %, коефіцієнт кореляції  $r = 0,9997$ , відносне стандартне відхилення 0,19 %, систематична похибка 0,19 %. Фактичний вміст аскорбінової кислоти становив 80,22 мг у порошку (100,28 %) та 40,56 мг у капсулах (101,40 %) від номінального..

6. Ідентифікацію та кількісне визначення натрію гіалуронату запропоновано за методикою монографії ЄФ на субстанцію «Натрію гіалуронат» методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовому та видимому діапазоні за продуктом карбазольної реакції з вимірюванням оптичної густини в максимумі світлопоглинання при довжині хвилі 530 нм. Продемонстровано експериментально, що методика забезпечує достатню чутливість та відтворюваність результатів при аналізі лікарських форм, а отримані метрологічні характеристики відповідають вимогам фармакопей.

7. Проведені дослідження підтвердили, що запропонований комплекс аналітичних методик забезпечує повний контроль якості активних фармацевтичних інгредієнтів розробленого комбінованого лікарського засобу та може бути використаний при розробці нормативної документації на лікарський засіб у формі порошку в саше та капсул.

*Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13>

2. Koptielov A.S., Plyska V.I., Bevz O.V., Rudakova O.V., Bevz N.Yu., Studenyak Ya.I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3–11. URL: <https://doi.org/10.24959/ophcj.25.350114>
3. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. № 1 (59). P. 91–99. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242> (Scopus Q3).
4. Коптелов А., Плиска В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Інтернет-конференції (25 вересня 2024 р., м. Харків)*. Харків: НФаУ, 2024. С. 87.
5. Плиска В.І., Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Студеняк Я.І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами // *Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024: зб. тез доп. К.: Інтерсервіс, 2024. С. 140.*
6. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом рідинної хроматографії // *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (20–21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя)*. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66–67.

## РОЗДІЛ 5

### РОЗРОБКА СПЕЦИФІКАЦІЇ НА ГОТОВИЙ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

#### 5.1 Показники якості та методики аналізу об'єктів дослідження

Для розробки специфікації були використані вимоги ДСТУ 1.7-2001 «Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів» [114], ДСТУ 1.5-2003 «Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів» [115] та ДФУ, зокрема загальної монографії «Фармацевтичні препарати» [116], монографій на дозовані форми «Порошки для орального застосування» [75] та «Капсули» [116].

Виробництво ЛЗ має відбуватися в межах відповідної системи якості та відповідати стандартам, встановленим для даного виду продукції. Діючі та допоміжні речовини, використовувані у складі фармацевтичних препаратів, мають витримувати вимоги відповідних загальних монографій, наприклад «Субстанції для фармацевтичного застосування», а готова продукція має відповідати вимогам специфікації, що є частиною реєстраційного дос'є та підлягає попередньому оцінюванню уповноваженим органом.

За результатами проведених досліджень було сформовано проєкт специфікації з відповідними критеріями прийнятності та методами контролю (табл. 5.16).

## ПРОЄКТ СПЕЦИФІКАЦІЇ

**Комбінований лікарський засіб хондропротекторної дії у формі порошку для орального розчину та капсулах**

Назва показника	Допустимі межі		Методи контролю
	порошок для орального розчину	капсули	
1	2	3	4
Опис	Порошок від білого до світло-жовтого кольору	Тверді прозорі желатинові капсули, що містять порошок від білого до світло-жовтого кольору	Візуально
Середня маса вмісту	4000,0 мг $\pm$ 7.5 % (від 3700,0 мг до 4300,0 мг)	1255,0 мг $\pm$ 7.5 % (від 1160,88 мг до 1349,13 мг)	ДФУ, 2.9.5
Відхилення в масі	Маса 18 з 20 випробовуваних одиниць не повинна мати відхилення від середньої маси більше ніж на $\pm$ 7.5 %, жодна маса одиниці не повинна мати відхилення від середньої маси більше $\pm$ 15 %		ДФУ, 2.9.5
Розпадання	-	Не більше 30 хв.	ДФУ, 2.9.1
Ідентифікація хондроїтину натрію сульфат	Утворює осад під час проведення кількісного визначення титруванням розчином цетилпіридинію хлориду		ДФУ, 2.2.36
глюкозаміну натрію сульфат	Час утримання головного піку хроматограми випробовуваного розчину, приготованого для кількісного визначення, має збігатися із часом утримування піку на хроматограмі стандартного розчину.		ДФУ, 2.2.29
метилсульфонілметан	Час утримання головного піку хроматограми випробовуваного розчину, приготованого для кількісного визначення, має збігатися із часом утримування піку на хроматограмі розчину порівняння.		ДФУ, 2.2.28

Продовження таблиці 5.16

1	2	3	4
аскорбінова кислота	Має витримувати реакцію з 2,6-дихлорфеноліндофенолом		ДФУ
натрію гіалуронат	Спектр поглинання випробовуваного розчину, приготовленого для кількісного визначення, вимірюваний в діапазоні 450 нм – 650 нм, має мати максимум абсорбції при 530 нм.		ДФУ, 2.2.25
pH розчину	від 2,50 до 3,50	від 3,70 до 4,70	ДФУ, 2.2.3
Супровідні домішки	Є завданням подальших досліджень		ДФУ
Однорідність дозованих одиниць	Витримує вимоги ДФУ, 2.9.40		ДФУ, 2.9.40, 2.2.29
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): не більше $10^3$ КУО у 1 г; Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС): не більше $10^2$ КУО у 1 г. Відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1 г.		ДФУ, 5.1.4, 2.6.12, 2.6.13
Кількісний вміст хондроїтину натрію сульфат	від 475 мг до 525 мг	від 237,5 мг до 262,5 мг	ДФУ, 2.2.36
глюкозаміну натрію сульфат	від 1425 мг до 1575 мг	від 712 мг до 788 мг	ДФУ, 2.2.29, 2.2.46
метилсульфонілметан	від 380 мг до 420 мг	від 190 мг до 210 мг	ДФУ, 2.2.28, 2.2.46
аскорбінова кислота	від 76 мг до 84 мг	від 38 мг до 42 мг	ДФУ
натрію гіалуронат	від 28,5 мг до 31,5 мг	від 14,25 мг до 15,75 мг	ДФУ, 2.2.25

Розділ «Опис». Порошок від білого до світло-жовтого кольору з кристалічними частками.

Розділи «Ідентифікація» і «Кількісний вміст» проводили згідно методикам, описаним в розділах 2 і 4.

Фармакотехнологічні параметри «Однорідність дозованих одиниць» і «Розпадання» (капсул) визначали згідно ДФУ розділів 2.9.40 і 2.9.1 відповідно.

## 5.2. Вивчення стабільності та встановлення терміну придатності лікарського засобу

Дослідження стабільності лікарських засобів є одним із ключових етапів фармацевтичної розробки та регламентується міжнародними рекомендаціями ІСН Q1A (R2), які встановлюють вимоги до планування, проведення та інтерпретації стабілітаційних випробувань з метою обґрунтування терміну придатності та умов зберігання лікарського препарату. Відповідно до цих рекомендацій стабільність визначається як здатність лікарського засобу зберігати встановлені фізико-хімічні, мікробіологічні та фармакотехнологічні характеристики протягом усього терміну придатності за визначених умов зберігання [117]. Особливо складним завданням є забезпечення стабільності комбінованих лікарських засобів, які містять декілька активних фармацевтичних інгредієнтів різної хімічної природи, оскільки між ними можливі фізико-хімічні взаємодії, що можуть призводити до зміни їх стабільності, біодоступності або фармакологічної активності. Основною метою таких досліджень є підтвердження здатності лікарського препарату зберігати встановлені показники якості в межах специфікації протягом визначеного терміну придатності.

У зв'язку з цим дослідження стабільності розробленого лікарського засобу проводили відповідно до вимог ІСН за довгострокових умов зберігання при температурі  $(25 \pm 2)$  °C та відносній вологості  $(60 \pm 5)$  %, що відповідає кліматичній зоні II. У процесі дослідження оцінювали основні критичні показники якості лікарського засобу, зокрема опис, рН розчину, мікробіологічну чистоту, ідентифікацію активних компонентів та їх кількісний вміст (табл. 5.17).

Результати досліджень показали, що значення рН протягом усього періоду зберігання залишалися в межах встановлених специфікацій як для порошку у пакетах-саше, так і для лікарської форми капсул.

Кількісний вміст активних фармацевтичних інгредієнтів протягом 24 місяців зберігання залишався в межах встановлених критеріїв прийнятності. Відсутність значущих змін концентрації солей глюкозаміну, хондроїтину,

метилсульфонілметану, натрію гіалуронату та аскорбінової кислоти свідчить про стабільність розробленої композиції та відсутність процесів деградації АФІ.

Мікробіологічні показники досліджуваних серій лікарського засобу відповідали вимогам ДФУ та ЄФ щодо нестерильних лікарських форм для перорального застосування. Загальне число аеробних мікроорганізмів та грибів не перевищувало допустимих значень, а бактерії *Escherichia coli* у досліджуваних зразках не виявлялися.

Отримані результати підтверджують достатню фізико-хімічну та мікробіологічну стабільність розробленого комбінованого лікарського засобу. Збереження показників якості протягом 24 місяців зберігання свідчить про раціональність підбраного складу лікарської форми, технології виготовлення та пакувального матеріалу. Таким чином, проведені дослідження стабільності дозволили обґрунтувати встановлення терміну придатності лікарського засобу впродовж 24 місяців при зберіганні при температурі не вище 25 °С.

Таблиця 5.17

**Результати вивчення стабільності порошку у формі орального розчину і капсул в процесі зберігання за температури (25 ± 2) °С**

Показник якості за проектом МКЯ	Критерії прийнятності	Термін зберігання, міс.						
		Довгострокове зберігання (температура (25±2)°С, відносна вологість (60±5) %)						
		0	3	6	9	12	18	24
<b>Опис</b>	Вміст саше – порошок білого або блідо-жовтого кольору з кристалічними	Серія 01. Відповідає Серія 02. Відповідає Серія 03. Відповідає						
	Тверді прозорі желатинові капсули, що містять порошок від білого до світло-жовтого кольору	Серія 04. Відповідає Серія 05. Відповідає Серія 06. Відповідає						
<b>Ідентифікація</b>								
<i>Хондроїтину натрію сульфат</i>	Утворюється осад білого кольору під час проведення кількісного визначення титруванням розчином цетилпіридинію хлориду	Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
<i>Глюкозаміну натрію сульфат</i>	На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаній у розділі «Кількісне визначення», час утримування піку має збігатися з часом утримування піку на хроматограмі розчину порівняння з точністю ± 2 %.	Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають
<i>Метилсульфонілметан</i>	На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаній у розділі «Кількісне визначення», час утримування піку метилсульфонілметану має збігатися з часом утримування піку на хроматограмі розчину порівняння з точністю ± 2 %.	Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають
<i>Аскорбінова кислота</i>	Має знебарвлювати 2,6-дихлорфеноліндофенолу	Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають

Продовження таблиці 5.17

Показник якості за проектом МКЯ	Критерії прийнятності	Термін зберігання, міс.						
		Довгострокове зберігання (температура (25±2)°С, відносна вологість (60±5) %)						
		0	3	6	9	12	18	24
<i>Натрію гіалуронат</i>	Спектр поглинання випробовуваного розчину, приготовленого для кількісного визначення, вимірюваний в діапазоні 450 нм – 650 нм, має мати максимум абсорбції при 530 нм.	Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають		Серії 01 -03. Відповідають
		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають		Серії 04 -06. Відповідають
рН	Порошок в саше: від 2,50 до 3,50	Серія 01. 2,92	Серія 01. 2,93	Серія 01. 2,91	Серія 01. 2,91	Серія 01. 2,92	Серія 01. 2,89	Серія 01. 2,89
		Серія 02. 2,91	Серія 02. 2,90	Серія 02. 2,90	Серія 02. 2,90	Серія 02. 2,91	Серія 02. 2,88	Серія 02. 2,88
		Серія 03. 2,89	Серія 03. 2,91	Серія 03. 2,92	Серія 03. 2,92	Серія 03. 2,93	Серія 03. 2,87	Серія 03. 2,88
	Капсули: від 3,70 до 4,70	Серія 04. 4,29	Серія 04. 4,32	Серія 04. 4,31	Серія 04. 4,31	Серія 04. 4,32	Серія 04. 4,33	Серія 04. 4,32
		Серія 05. 4,28	Серія 05. 4,30	Серія 05. 4,30	Серія 05. 4,30	Серія 05. 4,30	Серія 05. 4,34	Серія 05. 4,33
		Серія 06. 4,30	Серія 06. 4,31	Серія 06. 4,33	Серія 06. 4,33	Серія 06. 4,28	Серія 06. 4,32	Серія 06. 4,30
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): не більше 10 <sup>3</sup> КУО у 1 г; Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС): не більше 10 <sup>2</sup> КУО у 1 г. Відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1 г.	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує	Серія 01. Витримує
		Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує	Серія 02. Витримує
		Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує	Серія 03. Витримує
		Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує	Серія 04. Витримує
		Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує	Серія 05. Витримує
		Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує	Серія 06. Витримує
Супровідні домішки		Не досліджувались						

## Продовження таблиці 5.17

Показник якості за проектом МКЯ	Критерії прийнятності	Термін зберігання, міс.						
		Довгострокове зберігання (температура (25±2)°С, відносна вологість (60±5) %)						
		0	3	6	9	12	18	24
<b>Кількісне визначення</b> (вміст в одному пакеті / капсулі):								
<i>Хондроїтин натрію сульфат</i>	від 475 мг до 525 мг (саше)	<b>Серія 01.</b> 511,04 мг <b>Серія 02.</b> 510,98 мг <b>Серія 03.</b> 510,40 мг	-	-	-	<b>Серія 01.</b> 506,56 мг <b>Серія 02.</b> 504,27 мг <b>Серія 03.</b> 502,81 мг	-	<b>Серія 01.</b> 505,14 мг <b>Серія 02.</b> 503,64 мг <b>Серія 03.</b> 500,90 мг
	від 237,5 мг до 262,5 мг (капсули)	<b>Серія 04.</b> 253,39 мг <b>Серія 05.</b> 253,64 мг <b>Серія 06.</b> 250,41 мг	-	-	-	<b>Серія 04.</b> 253,32 мг <b>Серія 05.</b> 252,47 мг <b>Серія 06.</b> 249,42 мг	-	<b>Серія 04.</b> 250,06 мг <b>Серія 05.</b> 249,38 мг <b>Серія 06.</b> 248,31 мг
<i>Глюкозаміну натрію сульфат</i>	від 1425 мг до 1575 мг (саше)	<b>Серія 01.</b> 1541,60 мг <b>Серія 02.</b> 1541,46 мг <b>Серія 03.</b> 1540,90 мг	-	-	-	<b>Серія 01.</b> 1540,47 мг <b>Серія 02.</b> 1539,96 мг <b>Серія 03.</b> 1538,05 мг	-	<b>Серія 01.</b> 1539,86 мг <b>Серія 02.</b> 1538,21 мг <b>Серія 03.</b> 1537,62 мг
	від 712 мг до 788 мг (капсули)	<b>Серія 04.</b> 752,38 мг <b>Серія 05.</b> 750,57 мг <b>Серія 06.</b> 749,39 мг	-	-	-	<b>Серія 04.</b> 749,49 мг <b>Серія 05.</b> 750,05 мг <b>Серія 06.</b> 749,23 мг	-	<b>Серія 04.</b> 750,02 мг <b>Серія 05.</b> 749,86 мг <b>Серія 06.</b> 750,38 мг
<i>Метилсульфонілметан</i>	від 380 мг до 420 мг (саше)	<b>Серія 01.</b> 413,94 мг <b>Серія 02.</b> 410,27 мг <b>Серія 03.</b> 409,72 мг	-	-	-	<b>Серія 01.</b> 409,49 мг <b>Серія 02.</b> 402,18 мг <b>Серія 03.</b> 400,53 мг	-	<b>Серія 01.</b> 400,88 мг <b>Серія 02.</b> 399,92 мг <b>Серія 03.</b> 399,23 мг
	від 190 мг до 210 мг (капсули)	<b>Серія 04.</b> 201,17 мг <b>Серія 05.</b> 201,09 мг <b>Серія 06.</b> 200,38 мг	-	-	-	<b>Серія 04.</b> 200,43 мг <b>Серія 05.</b> 199,09 мг <b>Серія 06.</b> 199,64 мг	-	<b>Серія 04.</b> 199,21 мг <b>Серія 05.</b> 198,92 мг <b>Серія 06.</b> 198,57 мг

## Продовження таблиці 5.17

Показник якості за проектом МКЯ	Критерії прийнятності	Термін зберігання, міс.						
		Довгострокове зберігання (температура (25±2)°С, відносна вологість (60±5) %)						
		0	3	6	9	12	18	24
<i>Аскорбінова кислота</i>	від 76 мг до 84 мг (саше)	<b>Серія 01.</b> 80,22 мг				<b>Серія 01.</b> 78,73 мг		<b>Серія 01.</b> 78,01 мг
		<b>Серія 02.</b> 80,11 мг	-	-	-	<b>Серія 02.</b> 78,10 мг	-	<b>Серія 02.</b> 77,94 мг
		<b>Серія 03.</b> 80,05 мг				<b>Серія 03.</b> 77,85 мг		<b>Серія 03.</b> 77,82 мг
	від 38 мг до 42 мг (капсули)	<b>Серія 04.</b> 41,24 мг				<b>Серія 04.</b> 39,78 мг		<b>Серія 04.</b> 39,01 мг
<b>Серія 05.</b> 41,37 мг		-	-	-	<b>Серія 05.</b> 39,82 мг	-	<b>Серія 05.</b> 38,87 мг	
<b>Серія 06.</b> 40,01 мг					<b>Серія 06.</b> 38,53 мг		<b>Серія 06.</b> 38,65 мг	
<i>Натрію гіалуронат</i>	від 28,5 мг до 31,5 мг (саше)	<b>Серія 01.</b> 29,46 мг				<b>Серія 01.</b> 28,74 мг		<b>Серія 01.</b> 28,72 мг
		<b>Серія 02.</b> 30,07 мг	-	-	-	<b>Серія 02.</b> 28,72 мг	-	<b>Серія 02.</b> 28,64 мг
		<b>Серія 03.</b> 29,05 мг				<b>Серія 03.</b> 28,63 мг		<b>Серія 03.</b> 28,59 мг
	від 14,25 мг до 15,75 мг (капсули)	<b>Серія 04.</b> 15,26 мг				<b>Серія 04.</b> 14,85 мг		<b>Серія 04.</b> 14,84 мг
<b>Серія 05.</b> 15,33 мг		-	-	-	<b>Серія 05.</b> 14,55 мг	-	<b>Серія 05.</b> 14,72 мг	
<b>Серія 06.</b> 14,71 мг					<b>Серія 06.</b> 14,96 мг		<b>Серія 06.</b> 14,65 мг	

Разом з тим, незважаючи на отримані результати досліджень стабільності та підтвердження відповідності розробленого лікарського засобу встановленим специфікаціям, актуальним напрямом подальших наукових досліджень залишається вивчення профілю домішок АФІ в складі комбінованого ЛЗ у процесі зберігання. Особливу увагу необхідно приділяти ідентифікації та кількісному визначенню потенційних продуктів деградації глюкозаміну, хондроїтину сульфату, метилсульфонілметану та натрію гіалуронату, оскільки складна полімерна структура глікозаміногліканів може обумовлювати утворення низькомолекулярних фрагментів у результаті гідролітичних або окиснювальних процесів. Відповідно до сучасних регуляторних вимог ІСН Q3А [118] та ІСН Q3В [119], дослідження домішок має важливе значення для забезпечення якості, безпеки та ефективності лікарських засобів, оскільки навіть незначні кількості продуктів деградації можуть впливати на фармакологічні властивості препарату або його токсикологічний профіль. У зв'язку з цим перспективним напрямом подальших досліджень є розробка та впровадження високочутливих хроматографічних методів аналізу для детального вивчення домішкового профілю розробленого лікарського засобу впродовж усього терміну зберігання.

#### Висновки до розділу 5

1. Запропоновані методики контролю якості ЛЗ у вигляді порошків для приготування розчину для орального застосування і капсул. Проведені комплексні дослідження свідчать про стабільність порошків як у формі саше для приготування орального розчину, так й у формі капсул впродовж 24 місяців при зберіганні в оригінальних упаковках при температурі не вище 25°C.

2. Експериментально доведено, що кількісний вміст АФІ перших трьох дослідних серій лікарського засобу у формі порошку та капсул впродовж всього строку дослідження стабільності залишається в межах допустимих норм ( $\pm 5\%$ ).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13>
2. Koptielov A.S., Plyska V.I., Bevz O.V., Rudakova O.V., Bevz N.Yu., Studenyak Ya.I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3–11. URL: <https://doi.org/10.24959/ophcj.25.350114>
3. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. № 1 (59). P. 91–99. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242> (Scopus Q3).
4. Коптелов А., Плиська В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Інтернет-конференції (25 вересня 2024 р., м. Харків)*. Харків: НФаУ, 2024. С. 87.
5. Плиська В.І., Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Студеняк Я.І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами // *Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024: зб. тез доп. К.: Інтерсервіс, 2024. С. 140.*
6. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом рідинної хроматографії // *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (20–21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя)*. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66–67.

## ВИСНОВКИ

1. На основі аналізу сучасних наукових джерел узагальнено дані щодо фармакотерапії остеоартрозу та застосування лікарських засобів хондропротекторної дії. Показано доцільність використання комбінованих лікарських засобів, що містять глюкозаміну сульфат та хондроїтину натрію сульфат при поєднанні з метилсульфонілметаном, аскорбіною кислотою та натрію гіалуронатом, які проявляють синергічну дію та сприяють покращенню функціонального стану суглобового хряща.

2. Проведено аналіз сучасного фармацевтичного ринку хондропротекторних лікарських засобів та встановлено, що більшість представлених препаратів є моно- або двокомпонентними, тоді як комбіновані лікарські засоби із розширеним складом активних компонентів представлені обмежено. Це свідчить про наявність науково-практичної потреби у створенні нових багатокомпонентних лікарських засобів хондропротекторної дії. На підставі отриманих результатів обґрунтовано вибір активних фармацевтичних інгредієнтів для створення комбінованого лікарського засобу.

3. Досліджено фізико-хімічні та фармакотехнологічні властивості активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин, запропонованих для введення до складу комбінованого лікарського засобу. Визначено основні технологічні характеристики порошкових сумішей, зокрема насипну густину, густину після усадки, текучість, кут укосу та коефіцієнт Гауснера, що дозволило оцінити придатність компонентів до формування твердих лікарських форм, розробити технологію виробництва, забезпечивши однорідність дозування АФІ у складі ЛЗ.

4. У результаті дослідження гігроскопічності, сумісності та стабільності компонентів модельної суміші встановлено відсутність небажаних фізико-хімічних взаємодій між активними фармацевтичними інгредієнтами та допоміжними речовинами. Підтверджено хімічну стабільність аскорбінової кислоти в присутності інших компонентів препарату методом абсорбційної спектрофотометрії у ультрафіолетовому та видимому діапазонах. Обґрунтовано використання сорбітолу

як наповнювача та коригента смаку, а лимонної кислоти — як регулятора кислотності та органолептичного коригента для лікарського засобу у формі порошку для орального застосування. Встановлено доцільність застосування багат шарового ламінованого пакувального матеріалу типу «буфлен» для захисту порошкової суміші від впливу вологи та форми капсул фасованих в блістери. Визначено, що оптимальним способом отримання порошкової суміші є метод прямого змішування, який забезпечує рівномірний розподіл активних фармацевтичних інгредієнтів у суміші, спрощує технологічний процес виробництва та зменшує виробничі витрати.

5. Розроблено та науково обґрунтовано комплекс аналітичних методик для ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів у складі комбінованого лікарського засобу з використанням хімічних, спектральних та хроматографічних досліджень.

6. За результатами проведених досліджень встановлено, що розроблений комбінований лікарський засіб у формі порошку для приготування орального розчину та капсул характеризується стабільністю складу, однорідністю дозування та відповідністю встановленим показникам якості. Отримані результати свідчать про наукову обґрунтованість запропонованого складу, технології виготовлення та аналітичного забезпечення контролю якості препарату, що підтверджує перспективність його подальшого впровадження у фармацевтичне виробництво.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ohlendorf D. et al. Arthrose. Eine szientometrische Analyse. *Orthopäde*. 2015. Vol. 44. P. 71–79. DOI: 10.1007/s00132-014-3015-6.
2. Yue L., Berman J. What is osteoarthritis? *JAMA*. 2022. Vol. 327, No. 13. P. 1300.
3. WHO Fact Sheets. Osteoarthritis. 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/osteoarthritis> (accessed: 20.03.2023).
4. Moreira E. M. et al. Arthrosis: knowledge profile of bajeense women on prevention, diagnosis and treatment. *Brazilian Journal of Development*. 2021. Vol. 7, No. 9. P. 87045–87073.
5. Fischer S. et al. Superiority of upper ankle arthrodesis over total ankle replacement in the treatment of end-stage posttraumatic ankle arthrosis. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2022. Vol. 142, No. 3. P. 435–442.
6. Cho C. H. et al. Rapid destructive arthrosis due to subchondral insufficiency fracture of the shoulder. *Diagnostics*. 2020. Vol. 10, No. 11. P. 1–12.
7. Hu L., Zhang X., Kourkouvelis N., Shang X. The mysteries of rapidly destructive arthrosis of the hip joint: a systematic literature review. *Annals of Palliative Medicine*. 2020. Vol. 9, No. 3. P. 1220229–1221229.
8. Pagano S. et al. Arthrosis diagnosis and treatment recommendations in clinical practice: an exploratory investigation with the generative AI model GPT-4. *Journal of Orthopaedics and Traumatology*. 2023. Vol. 24, No. 1. P. 1–11.
9. Jantzen C. et al. Ankle arthrosis. *Ugeskrift for Laeger*. 2020. Vol. 182, No. 42. P. V04200244.
10. Nakamura K. et al. T1 pelvic angle is associated with rapid progression of hip arthrosis. *European Spine Journal*. 2023. Vol. 32, No. 4. P. 1463–1470. DOI: 10.1007/s00586-023-07580-0
11. Борейко О. О. Сучасні уявлення про розвиток остеоартрозу, методи діагностики і лікування. *Медсестринство*. 2021. № 2. С. 75–80.
12. Обейдат Х., Карпінська О. Д. Остеоартроз колінного суглоба. *Травма*. 2021. Т. 22, № 3. С. 5–11. DOI: 10.22141/1608-1706.3.22.2021.236317.

13. Nazlıgül A. S. et al. The effect of high tibial osteotomy and unicompartmental knee arthroplasty. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2024. Vol. 144, No. 9. P. 3989–3994.

14. Fuggle N. et al. Treatment of osteoporosis and osteoarthritis in the oldest old. *Drugs*. 2025. Vol. 85, No. 3. P. 343–360.

15. Ібрагімов Е. Ю. та ін. Сучасні погляди на фізичну реабілітацію. *Український журнал медицини*. 2022. Т. 7, № 2. С. 209–213.

16. Nechita F. Study on the development of therapeutic protocol. *Bulletin of the Transilvania University*. 2020. Vol. 13. P. 237–242.

17. Ponti A. D. Current approach to the conservative management of arthrosis. *Minerva Medica*. 2022. Vol. 113, No. 4. P. 675–682.

18. Настанова № 00396. Остеоартроз [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://guidelines.moz.gov.ua/documents/3259> (дата звернення: 16.03.2024).

19. Bannuru R. R. et al. OARSI guidelines. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2019. Vol. 27. P. 1578–1589.

20. Kolasinski S. L. et al. 2019 ACR guideline. *Arthritis Care & Research*. 2020. Vol. 72, No. 2. P. 149–162.

21. Brophy R. H., Fillingham Y. A. AAOS guideline. *JAAOS*. 2022. Vol. 30, No. 9. P. e721–e729.

22. Bishnoi M., Jain A., Hurkat P., Jain S. K. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis. *Glycoconjugate Journal*. 2016. Vol. 33, No. 5. P. 693–705. DOI: 10.1007/s10719-016-9665-3.

23. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/> (дата звернення: 14.05.2023).

24. Reginster J. Y., Veronese N. Highly purified chondroitin sulfate: a literature review on clinical efficacy and pharmacoeconomic aspects in osteoarthritis treatment. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2021. Vol. 33, No. 1. P. 37–47.

25. Yang J. et al. Recent advance in delivery system and tissue engineering applications of chondroitin sulfate. *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 230. P. 115650.

26. Kowitsch A., Zhou G., Groth T. Medical application of glycosaminoglycans: a review. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2018. Vol. 12, No. 1. P. e23-e41.
27. Krichen F. et al. Isolation, purification and structural characteristics of chondroitin sulfate from smooth hound cartilage: in vitro anticoagulant and antiproliferative properties. *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 197. P. 451-459.
28. Hogwood J. et al. The effect of increasing the sulfation level of chondroitin sulfate on anticoagulant specific activity and activation of the kinin system. *PLoS One*. 2018. Vol. 13, No. 3. P. e0193482.
29. Chahed L. et al. Anticoagulant activity of fucosylated chondroitin sulfate isolated from *Cucumaria syracusana*. *Process Biochemistry*. 2020. Vol. 91. P. 149-157.
30. Zhou C. et al. Purification, characterisation and antioxidant activities of chondroitin sulphate extracted from *Raja porosa* cartilage. *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 241. P. 116306.
31. Yang J. et al. Physicochemical, structural characterization, and antioxidant activities of chondroitin sulfate from *Oreochromis niloticus* bones. *Food Science and Human Wellness*. 2023. Vol. 12, No. 4. P. 1102-1108.
32. Safari E., Hassan Z. M. Immunomodulatory effects of shark cartilage: stimulatory or anti-inflammatory. *Process Biochemistry*. 2020. Vol. 92. P. 417-425.
33. Jiang S. et al. Immunomodulatory effects of fucosylated chondroitin sulfate from *Stichopus chloronotus* on RAW 264.7 cells. *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 251. P. 117088.
34. da Cunha A. L., Aguiar J. A., da Silva F. S. C., Michelacci Y. M. Do chondroitin sulfates with different structures have different activities on chondrocytes and macrophages? *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 103. P. 1019-1031.
35. Chihaoui M. et al. Comparative analysis of physicochemical characteristics of chondroitin sulfate from avian cartilage: antioxidant, anti-inflammatory and anti-nociceptive properties. *Chemistry Africa*. 2024. Vol. 7, No. 3. P. 1269-1282.

36. Gross A. R., Theoharides T. C. Chondroitin sulfate inhibits secretion of TNF and CXCL8 from human mast cells stimulated by IL-33. *BioFactors*. 2019. Vol. 45, No. 1. P. 49-61.
37. Kuryata O. et al. Chondroitin sulfate in osteoarthritis management among diabetic patients: molecular mechanisms and clinical potential. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2023. Vol. 30, No. 4. P. 481-493.
38. Kang H. E. et al. Pharmacokinetic comparison of chitosan-derived and biofermentation-derived glucosamine in nutritional supplement for bone health. *Nutrients*. 2022. Vol. 14, No. 15. P. 1-8.
39. Veronese N. et al. Glucosamine sulphate: an umbrella review of health outcomes. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2020. Vol. 12. P. 1-12.
40. Baden K. E. R. et al. The safety and efficacy of glucosamine and/or chondroitin in humans: a systematic review. *Nutrients*. 2025. Vol. 17, No. 13. P. 2093.
41. Zhu X., Sang L., Wu D., Rong J., Jiang L. Effectiveness and safety of glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2018. Vol. 13. P. 170. DOI: 10.1186/s13018-018-0871-5.
42. Osama M. et al. Effects of glucosamine and chondroitin sulfate supplementation in addition to resistance exercise training and manual therapy in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Journal of the Pakistan Medical Association*. 2022. Vol. 72, No. 7. P. 1272-1277.
43. Filipovic K. et al. Glucosamine sulfate efficacy in treating knee osteoarthritis: a follow-up study. *Acta Clinica Croatica*. 2022. Vol. 61, No. 3. P. 436-448.
44. Ruiz-Romero V., Toledano-Serrabona J., Gay-Escoda C. Efficacy of the use of chondroitin sulphate and glucosamine for the treatment of temporomandibular joint dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *CRANIO*. 2025. Vol. 43, No. 1. P. 60-69.
45. Rabade A. et al. Evaluation of efficacy and safety of glucosamine sulfate, chondroitin sulfate, and their combination regimen in the management of knee

osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Inflammopharmacology*. 2024. Vol. 32, No. 3. P. 1759-1775.

46. Agiba A. M. et al. Nutraceutical formulations containing glucosamine and chondroitin sulphate in the treatment of osteoarthritis: emphasis on clinical efficacy and formulation challenges. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2017. Vol. 9, No. 2. P. 1-7.

47. Butawan M., Benjamin R. L., Bloomer R. J. Methylsulfonylmethane as an antioxidant and its use in pathology. In: Pathology. Oxidative Stress and Dietary Antioxidants / ed. V. R. Preedy. London: Academic Press, 2020. P. 277-288.

48. Akpınar K., Simsek E. K., Ozen O. I., Haberal B. The effect of MSM in the treatment of ankle arthrosis: is MSM as effective as methylprednisolone or hyaluronic acid? *Journal of Orthopaedic Research*. 2024. Vol. 42, No. 7. P. 1527-1535.

49. Kilic S. C. Does glucosamine, chondroitin sulfate, and methylsulfonylmethane supplementation improve the outcome of temporomandibular joint osteoarthritis management with arthrocentesis plus intraarticular hyaluronic acid injection: a randomized clinical trial. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2021. Vol. 49, No. 8. P. 711-718.

50. Kim S. M. et al. Investigation of drug-interaction potential for arthritis dietary supplements: chondroitin sulfate, glucosamine, and methylsulfonylmethane. *Molecules*. 2023. Vol. 28, No. 24. P. 1-10.

51. Ayhan F. F. et al. The effect of combined hydrolyzed type 2 collagen, methylsulfonylmethane, glucosamine sulfate and chondroitin sulfate supplementation on knee osteoarthritis symptoms. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2024. Vol. 70, No. 2. P. 259-268.

52. Emet A., Demirtas Y. The effect of glucosamine, hyaluronic acid, methyl sulfomethane (MSM), chondroitin sulfate, and type 2 collagen treatment on facet joint syndrome. *Van Tıp Dergisi*. 2023. Vol. 30, No. 4. P. 321-326.

53. Stellavato A. et al. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate, alone or in combination, efficiently counteract induced bladder cell damage and inflammation. *PLoS One*. 2019. Vol. 14, No. 6. P. e0218475.

54. European Pharmacopoeia. 11th ed. Vol. II. Strasbourg: Council of Europe, 2022. 4370 p.
55. British Pharmacopoeia 2025. London: The Stationery Office, 2024. Available at: <https://www.pharmacopoeia.com/shop/publications/bp2025>
56. The United States Pharmacopeia 47 - National Formulary 42. Rockville, MD: USP-NF, 2024.
57. Semiz A., Duman O., Tunc S. Development of a reversed phase-high performance liquid chromatographic method for the analysis of glucosamine sulphate in dietary supplement tablets. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020. Vol. 93. P. 103607.
58. Choezom L., Chandan R. S., Gurupadayya B. M., Barath M. Method development and validation of glucosamine in marketed tablet using RP-HPLC method. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 13, No. 2. P. 1850.
59. Rajitha G., Susmita A. G., Kranthi K. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for the simultaneous estimation of glucosamine sulphate, methyl sulfonyl methane and diacerein in tablet dosage form. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021. Vol. 11, No. 2. P. 85-91.
60. Sui C., Feng S., Wang K. Comparison of 2 HPLC methods for determination of glucosamine and chondroitin sulfate in health food. *Physical Testing and Chemical Analysis. Part B: Chemical Analysis*. 2020. Vol. 56, No. 10. P. 1091-1095. DOI: 10.11973/lhgy-hx202010008.
61. Kulkarni S. et al. Development and validation of green chemistry HPLC-RI method for the simultaneous estimation of glucosamine and chondroitin sulfate from drug products. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*. 2022. Vol. 9. P. 67-74.
62. Wahyuningsih E., Primaharinastiti R., Yuwono M. Development and validation of a HILIC-HPLC-ELSD method for simultaneous determination of glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate in dietary supplements. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2023. Vol. 58. P. e20686.
63. Adels K., Elbers G., Diehl B., Monakhova Y. Multicomponent analysis of dietary supplements containing glucosamine and chondroitin: comparative low- and high-field NMR spectroscopic study. *Analytical Sciences*. 2024. Vol. 40, No. 1. P. 101-113.

64. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2014. Т. 2. 724 с.
65. Shi Q. et al. A general strategy for the structural determination of carbohydrates by multi-dimensional NMR spectroscopies. *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 267. P. 118218.
66. Park S.-W., Islam F., Lee W. Convenient determination of methylsulfonylmethane for commercially available dietary supplement formulations using gas chromatography-flame ionization detector. *2015 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea*, South Korea, October 2015. 2015. P. 681.
67. Harmita H., Hayun H., Geofani M. H. Quantification of hyaluronic acid and methylsulfonylmethane in dietary supplements. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, No. 1. P. 143-148. DOI: 10.22159/ijap.2020.v12s1.FF032.
68. The Japanese Pharmacopoeia. 18th ed. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare, 2021.
69. The Korean Pharmacopoeia. 10th ed. Seoul, 2016.
70. Ruckmani K. et al. Determination of sodium hyaluronate in pharmaceutical formulations by HPLC-UV. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2013. Vol. 3, No. 5. P. 324-329.
71. El-Behairy M. F., Taher M., Abdallah I. A. Straightforward determination of sodium hyaluronate in active pharmaceutical ingredient and ophthalmic formulations: validation and stability study. *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*. 2020. Vol. 4, No. 4. P. 147-152.
72. The International Pharmacopoeia. 11th ed. Geneva: World Health Organization, 2022.
73. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2015. Т. 1. 1128 с.

74. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2011. 42 с.
75. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Доповнення 5. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2021. 424 с.
76. ICH guideline Q8 (R2) on pharmaceutical development. 2017. 24 p.
77. Technical guide for the elaboration of monographs. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2015. 74 p.
78. Supplementary guidelines on good manufacturing practices: validation. WHO Technical Report Series. 2006. No. 937. P. 107-178.
79. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Доповнення 7. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2024. Т. 2. 424 с.
80. Dejaegher B., Smeyers-Verbeke J., Vander Heyden Y. Validation of gas chromatographic methods. In: Gas Chromatography / ed. C. F. Poole. 2nd ed. Elsevier, 2021. P. 547-560. DOI: 10.1016/B978-0-12-820675-1.00027-7.
81. Осадчук Т. І., Калашніков А. В., Костогриз О. А., Проценко В. В. Оперативне лікування хворих на остеоартроз колінних суглобів. *Клінічна та профілактична медицина*. 2023. № 7. С. 13-20. DOI: 10.31612/2616-4868.7.2023.02.
82. Martel-Pelletier J., Farran A., Montell E., Verges J., Pelletier J.-P. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate. *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 4277-4289. DOI: 10.3390/molecules20034277.
83. Gregori D., Giacobelli G., Minto C. et al. Association of pharmacological treatments with long-term pain control in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and network meta-analysis. *JAMA*. 2021. Vol. 325, No. 3. P. 256-266. DOI: 10.1001/jama.2020.21713.

84. Colletti A., Cicero A. F. G. Nutraceutical approach to chronic osteoarthritis: from molecular research to clinical evidence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, No. 23. P. 12920. DOI: 10.3390/ijms222312920.

85. Cheleschi S. et al. A combination of celecoxib and glucosamine sulfate has anti-inflammatory and chondroprotective effects: results from an in vitro study on human osteoarthritic chondrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, No. 16. P. 8980. DOI: 10.3390/ijms22168980.

86. Lubis A. M. T., Siagian C., Wonggokusuma E., Marsetyo A. F., Setyohadi B. Comparison of glucosamine-chondroitin sulfate with and without methylsulfonylmethane in grade I-II knee osteoarthritis: a double blind randomized controlled trial. *Acta Medica Indonesiana*. 2017. Vol. 49, No. 2. P. 105-111.

87. Li H. et al. Associations between dietary antioxidants intake and radiographic knee osteoarthritis. *Clinical Rheumatology*. 2016. Vol. 35, No. 6. P. 1585-1592. DOI: 10.1007/s10067-016-3177-1.

88. DrugBank [Electronic resource]. Available at: <https://go.drugbank.com/> (accessed: 25.08.2025).

89. Drugs.com. Drug Interactions Checker [Electronic resource]. Available at: [https://www.drugs.com/drug\\_interactions.html](https://www.drugs.com/drug_interactions.html) (accessed: 17.09.2025).

90. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Доповнення 8. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2025. 452 с.

91. Коптелов А. С., Дейнека А. С., Бевз Н. Ю., Кухтенко О. С. Визначення фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів під час розроблення лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2024. Вип. 1. С. 99-104. DOI: 10.32782/health-2024.1.13.

92. Промислова технологія лікарських засобів / Є. В. Гладух та ін. Харків: Новий світ 2000, 2018. 525 с.

93. Тихонов О. І. Біофармація: підручник / за ред. О. І. Тихонова. 2-ге вид., перероб. і доп. Харків: Золоті сторінки, 2019. 224 с.

94. Симоненко Н. А. та ін. Обґрунтування вибору допоміжних речовин при розробці складу таблеток "Пастинокард". *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2023. Т. 16, № 3(43). С. 236-243. DOI: 10.14739/2409-2932.2023.3.287001.

95. Коптелов А. С., Бевз Н. Ю., Штримайтис О. В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96-102. DOI: 10.32782/health-2025.4.13.

96. Restaino O. F., Finamore R., Diana P. et al. Evaluation of commercial chondroitin sulfate samples. *Carbohydrate Polymers*. 2019. Vol. 222. P. 114998.

97. Patil R. N., Deore B. L., Gurav D. G. Analytical method development and validation. *Indian Journal of Pharm Drug Studies*. 2024. P. 1-7.

98. Khaled E., Aboul-Enein H. Y. Surfactants. In: *Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors*. Elsevier, 2015. P. 905-930.

99. Muller W. et al. How do anions affect self-assembly and solubility of cetylpyridinium surfactants in water? *Journal of Physical Chemistry B*. 2013. Vol. 117, No. 5. P. 1345-1356. DOI: 10.1021/jp310225k.

100. Fizer O., Fizer M., Sidey V., Studenyak Y. Predicting the end point potential break values: a case of potentiometric titration of lipophilic anions with cetylpyridinium chloride. *Microchemical Journal*. 2021. Vol. 160, Part B. P. 105758. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105758.

101. Hajdukovic M. et al. A functionalized nanomaterial based, new, solid state cationic-surfactant-selective sensor with fast response and low noise. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2017. Vol. 251. P. 795-803. DOI: 10.1016/j.snb.2017.05.067.

102. Fizer O., Fizer M., Filep M., Studenyak Y., Mariychuk R. Deciphering the structural and functional peculiarities of the classic ionophore cetylpyridinium tetraphenylborate. *Journal of Molecular Liquids*. 2025. P. 127858.

103. Плиська В. І., Коптелов А. С., Бевз Н. Ю., Студеняк Я. І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами. *Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції 2024*: зб. тез доп. Київ: Інтерсервіс, 2024. 140 с.

104. Коптелов А., Плиска В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату. *Modern Chemistry of Medicines*: матеріали Міжнар. Internet-конф. (25 вересня 2024 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2024. С. 87.

105. Koptielov A. S., Plyska V. I., Bevz O. V., Rudakova O. V., Bevz N. Yu., Studenyak Ya. I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3-11. DOI: 10.24959/ophcj.25.350114.

106. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом рідинної хроматографії. *Запорізький фармацевтичний форум - 2025: Фармація майбутнього - від сучасного стану - до глобальних викликів*: зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 20-21 листопада 2025 р. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66-67.

107. Gaonkar P., Khanvilkar V., Shettigar R. et al. Spectrophotometric method for determination of glucosamine in tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006. Vol. 68. P. 83-84.

108. Kozhuharov V. R., Ivanov K., Karcheva-Bahchevanska D., Prissadova N., Ivanova S. Development and validation of gas chromatography-mass spectrometry method for quantification of sibutramine in dietary supplements. *Processes*. 2023. Vol. 11, No. 8. P. 2337. DOI: 10.3390/pr11082337.

109. Cherniakova V. et al. Determination of chromatographic conditions for quantitative assessment of active components in complex nasal spray after manufacturing and expiry date. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. No. 1(47). P. 30-39. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.299184.

110. Honvo G., Reginster J. Y., Rabenda V., Geerinck A., Mkinsi O., Charles A., Bruyere O. Safety of symptomatic slow-acting drugs for osteoarthritis: outcomes of a systematic review and meta-analysis. *Drugs & Aging*. 2020. Vol. 37, No. 9. P. 625-640. DOI: 10.1007/s40266-020-00786-7.

111. Satinsky D., Pospisilova M., Sladkovsky R. A new gas chromatography method for quality control of methylsulfonylmethane content in multicomponent dietary supplements. *Food Analytical Methods*. 2014. Vol. 7. P. 1118-1122. DOI: 10.1007/s12161-013-9722-5.

112. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. No. 1(59). P. 91-99. DOI: 10.15587/2519-4852.2026.353242.

113. Li J., Kisara K., Danielsson S., Lindstrom M. E., Gellerstedt G. An improved methodology for the quantification of uronic acid units in xylans and other polysaccharides. *Carbohydrate Research*. 2007. Vol. 342, No. 11. P. 1442-1449. DOI: 10.1016/j.carres.2007.03.031.

114. Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів: ДСТУ 1.7:2001 / О. Одноколов, В. Тетера, Я. Юзьків. Київ: Держспоживстандарт України, 2003. 32 с.

115. Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів: ДСТУ 1.5:2003 / І. Аширова, О. Брянська, Є. Козир, Я. Юзьків. Київ: Держспоживстандарт України, 2003. 91 с.

116. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид. Доповнення 3. Харків: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2018. 416 с.

117. Note for Guidance on Stability Testing: Stability Testing of New Drug Substances and Products: CPMP/ICH/2736/99 (ICH Topic Q1A (R2)). 2003. 24 p.

118. Impurities in New Drug Substances: CPMP/ICH/2737/99 (ICH Topic Q3A (R2)). 2006. 15 p.

119. Impurities in New Drug Products: CPMP/ICH/2738/99 (ICH Topic Q3B (R2)). 2006. 15 p.

**ДОДАТКИ**

*Список публікацій здобувача*

1. Коптелов А.С., Дейнека А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Визначення фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів під час розроблення лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2024. Вип. 1. С. 99–104. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.13>
2. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Штримайтис О.В. Дослідження сумісності компонентів та стабільності комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2025. Вип. 4. С. 96–102. URL: <https://doi.org/10.32782/health-2025.4.13>
3. Koptielov A.S., Plyska V.I., Bevz O.V., Rudakova O.V., Bevz N.Yu., Studenyak Ya.I. The potentiometric quantification of chondroitin sodium sulfate using ion-selective electrodes. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2025. Vol. 23, No. 4. P. 3–11. URL: <https://doi.org/10.24959/ophcj.25.350114>
4. Koptielov A., Petruk V., Bevz O., Rudakova O., Kryvanych O., Bevz N., Studenyak Y. Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2026. № 1 (59). P. 91–99. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242> (Scopus Q3)
5. Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Аналіз фармакологічної активності глюкозаміну і хондроїтину з урахуванням введення додаткових діючих речовин // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Internet-конференції* (18 травня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С. 176.
6. Коптелов А., Плиска В., Студеняк Я., Бевз Н., Кухтенко О. Розробка методики кількісного визначення хондроїтину сульфату // *Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнар. Internet-конференції* (25 вересня 2024 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2024. С. 87.
7. Плиска В.І., Коптелов А.С., Бевз Н.Ю., Студеняк Я.І. Потенціометричне титрування хондроїтину сульфату з цетилпіридиній-селективними електродами // *Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024: зб. тез доп.* К.: Інтерсервіс, 2024. С. 140.

8. Коптелов А., Студеняк Я., Бевз Н., Георгіянц В. Розробка методики кількісного визначення глюкозаміну в комбінованому лікарському засобі методом рідинної хроматографії // *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (20–21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя)*. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2025. С. 66–67.

### Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науковопрактичних конференціях різного рівня:

1. Міжнародна Internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 18 травня 2023 р., форма участі – публікація тез);
2. Міжнародна Internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 25 вересня 2024 р., форма участі – публікація тез);
3. Міжнародна наукова конференція «Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції – 2024» (Київ, 16–18 жовтня 2024 р., форма участі – публікація тез);
4. Всеукраїнська науково-практична конференція (з міжнародною участю) «Запорізький Фармацевтичний Форум 2025: Фармація майбутнього - від сучасного стану до глобальних викликів» (Запоріжжя, 20–21 листопада 2025 р., форма участі – публікація тез).

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор з якості

ПрАТ Фармацевтична Фабрика «ВІОЛА»

Наталія КАНДИБЕЙ

„29” \_\_\_\_\_ 2025 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Оцінка фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів комбінованого лікарського засобу хондропротекторної дії з метою прогнозування технології одержання та обґрунтування складу допоміжних речовин твердої лікарської форми.
- 2. Установа, автор:**  
Національний фармацевтичний університет, кафедра фармацевтичної хімії.  
61002, Україна, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53.  
Аспірант Коптелов А.С., канд. фарм. наук, доцент Бевз Н.Ю.
- 3. Джерела інформації:** Коптелов А.С., Дейнека А.С., Бевз Н.Ю., Кухтенко О.С. Визначення фармакотехнологічних показників активних фармацевтичних інгредієнтів під час розроблення лікарського засобу хондропротекторної дії. *Health & Education*. 2024. Вип. 1. С. 99–104.  
<https://doi.org/10.32782/health-2024.1.13>
- 4. Де впроваджено:**  
Відділ з фармацевтичної розробки ПрАТ ФФ «Віола».
- 5. Форма впровадження:**  
Використання результатів дослідження при фармацевтичній розробці твердої лікарської форми хондропротекторної дії та при підготовці технічного файлу лікарського засобу в частині обґрунтування технології одержання та вибору допоміжних речовин.
- 6. Ефективність впровадження:**  
Підвищення наукової обґрунтованості фармацевтичної розробки комбінованого лікарського засобу, оптимізація вибору технологічних параметрів виробництва та складу допоміжних речовин.
- 7. Термін впровадження:** 2025 рік.

Відповідальний за впровадження:

Начальник відділу фармацевтичної розробки

Лілія АРТЕМЧУК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи  
ДВНЗ «Ужгородського  
національного університету»  
проф. Іван МИРОНЮК



2026 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Пропозиція до впровадження:** експериментальні дослідження щодо кількісного визначення метилсульфонілметану в комбінованому препараті методом газової хроматографії.
- 2. Установа, автор:** 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, НФаУ, кафедра фармацевтичної хімії, аспірант Коптелов А. С., доц. Бевз Н. Ю.
- 3. Джерела інформації:**  
Koptielov, A., Petruk, V., Bevz, O., Rudakova, O., Kryvanych, O., Bevz, N., Studenyak, Y. (2026). Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *Sciencerise: pharmaceutical science*, (1 (59), 91–99. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242>  
Розроблено альтернативний підхід до кількісного аналізу метилсульфонілметану у комбінованих препаратах. Метод базується на газовій хроматографії з використанням зовнішнього стандарту та двох варіантів детектування: полум'яно-іонізаційного та мас-селективного.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармацевтичних дисциплін ДВНЗ «Ужгородського національного університету».
- 5. Форма впровадження:** використання в навчальній роботі кафедри.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти у підходах до розробки методик ідентифікації та кількісного визначення.
- 7. Термін впровадження:** березень 2026 року.

Завідувач

кафедри фармацевтичних дисциплін

ДВНЗ «Ужгородського національного університету»,

канд. фарм. наук, доцент

А.Л. Штробля

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та наукової роботи ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»

доктор медичних наук,

проф. Вікторія Сергієнко

2026 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція до впровадження:** матеріали експериментальних досліджень щодо кількісного визначення метилсульфонілметану в комбінованому препараті методом газової хроматографії.

**2. Установа, автор:** 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, НФаУ, кафедра фармацевтичної хімії, аспірант Коптелов А.С., доц. Бевз Н.Ю.

**3. Джерела інформації:**

Koptielov, A., Petruk, V., Bevz, O., Rudakova, O., Kryvanych, O., Bevz, N., & Studenyak, Y. (2026). Gas chromatographic determination of methylsulfonylmethane in an anti-arthritic combined pharmaceutical product. *Sciencerise: pharmaceutical science*, (1 (59), 91–99. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2026.353242>

Обґрунтовано альтернативний спосіб визначення метилсульфонілметану методом ГХ із зовнішнім стандартом, що передбачає використання двох типів детектування: мас-селективного та полум'яно-іонізаційного.

**4. Де впроваджено:** в наукову роботу кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». Дисципліна «Фармацевтична хімія».

**5. Форма впровадження:** проведення наукових досліджень.

**6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань науковців з розробки методів кількісного визначення метилсульфонілметану в лікарських засобах.

**7. Термін впровадження:** 2026-2027 н.р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фармацевтичної, органічної і

біоорганічної хімії ДНТ «ЛНМУ імені

Данила Галицького», д. фарм. н., професор

Роман Лесик