

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ
(назва кафедри)**

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Розробка методики фармацевтичного аналізу методом ВЕРХ
супровідних домішок у субстанції ізохінолінію дибензенсульфонату»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи Б2А
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»
(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання
Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Дарієнко Олег Володимирович

(прізвище та ініціали)

Керівники ас. Бут І.О.,

д.х.н. ас. Левін М.Г.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: д.фарм.н., професор Вельчинська О.В.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2023-2024 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	8
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ХІНОЛІНІВ.....	8
1.1. Особливості хімічної будови хінолінів.....	8
1.2. Біологічна активність хінолінів.....	9
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ АТРАКУРІЮ.....	14
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості атракурію.....	14
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	21
ВИСНОВКИ.....	36
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	37
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

BTZ - бортезоміб

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

Hal – галоген

Heterocycl– гетероциклічний фрагмент

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

Ph – феніл

i-Pr – ізопропіл

ВСТУП

Актуальність теми. Основу молекули хіноліну складає біциклічна конденсована ароматична система, яка містить кільце бензену та кільце піридину. Велика кількість похідних хіноліну зустрічається у природних джерелах – це хінолінові алкалоїди. До них відносяться евокарпін із групи простих хінолінів, фліндерсин із групи трициклічних терпеноїдів, диктамнін та фагарин із групи похідних фуранохіноліну, хінін та хінідин із групи хініну тощо[1-6].

Незважаючи на вражаючі результати синтетичної хімії, натуральні продукти або їх модифікації становлять майже половину лікарських засобів, що використовуються для лікування раку, малярія, онхоцеркозу, лімфатичного філяріатозу. Виділення та медичне використання хініну із кори дерев роду *Cinchona* стало проривом у лікуванні малярії. Використання синтетичних аналогів, таких як хлорохін, артемизинин та артезунат покращило можливості лікування малярії [7, 8].

Хінолін був запропонований як привілейований молекулярний каркас у органічному синтезі та медичній хімії. Описано 8536 похідних хіноліну, розроблених з використанням протоколу CADMA-Chem. З них відібрано 25 похідних для дослідження кислотно-основних, антиоксидантних і нейропротекторних властивостей. Антиоксидантна активність спрогнозована на підставі потенціалу іонізації та енергії дисоціації зв'язку. Ці два механізми зазвичай беруть участь у процесах поглинання радикалів. Деякі з похідних хіноліну діють як інгібітори ферментів катехол-О-метилтрансферази (COMT), ацетилхолінестерази (AChE) і моноаміноксидази типу В (MAO-B). Деякі сполуки посилюють або зменшують нейропротекторну активність. Чотири похідних хіноліну можуть діяти як багатofункціональні антиоксиданти проти хвороб Альцгеймера (AD) та Паркінсона (PD) [9, 10].

За хімічною будовою Хінолін – це конденсована ароматична гетероциклічна структура з гетероатомом Нітроген. Їй притаманні реакції за участю гетероатома, електрофільного та нуклеофільного заміщення, окиснення, відновлення. Хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК – хінолін, 1-бензазин, 1-азанафтален, бензо[b]піридин.

Поєднання складної бензеногетероциклічної хімічно активної структури та вираженої біологічної активності перетворюють хінолін та його похідні на складний об'єкт, який має специфіку у фармацевтичному аналізі цієї субстанції. Молекула Хініну містить циклічну систему, яка характеризується делокалізованою електронною густиною, основні властивості притаманні за рахунок неподіленої електронної пари атому Нітрогену.

Атракурій – це лікарський засіб, міорелаксант, похідне хіноліну. Його хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК 2,2'-[1,5-пентаділ-біс-[окси(3-оксо-3,1-пропанділ)]]-біс-[1-[3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метил]ізохінолінія дибензенсульфонат. Можна передбачати у складі фармацевтичних композицій атракурію процеси внутрішньомолекулярної конденсації та утворення водневих зв'язків, оскільки у молекулі присутні незахищені гідрокси-, кето- та аміногрупи. Під час синтезу Атракурію утворюються побічні продукти реакцій, неприпустимі домішки, присутність яких важлива при оцінці якості його субстанції. Використання при аналізі субстанції атракурію високочутливих методів інструментального аналізу дозволяють виявити та ідентифікувати супровідні речовини та неприпустимих домішок, яку не регламентовано Фармакопеями.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка хроматографічних умов, методик виконання хроматографування методом ВЕРХ та приготування розчинів для дослідження супровідних домішок у складі атракурію субстанції.

Після того, як ми проаналізували результати досліджень атракурію субстанції методом рідинної хроматографії (РХ) щодо ідентифікації специфікованих або/і неспецифікованих домішок, нами заплановано до виконання наступні завдання дослідження:

- запропонувати, розробити та адаптувати умови хроматографування методом ВЕРХ атракурію субстанції з метою визначення супровідних речовин та домішок;
- розробити методику хроматографування методом ВЕРХ атракурію субстанції та методики приготування розчинів;
- виконати хроматографічне дослідження методом ВЕРХ зразків атракурію субстанції у порівнянні зі стандартними за розробленою методикою та інтерпретувати отримані результати.

Методи дослідження. Високоефективна рідинна хроматографія на хроматографі DIONEX Ultimate 3000 з УФ детектором, колонка – BDS Hypersil C18, 250x4,6x5; комп'ютерний аналіз за програмою Chromeleon 7.2 SR 4.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у імплементації методу ВЕРХ у фармацевтичний аналіз атракурію субстанції, що реалізує використання цього методу у фармацевтичному аналізі.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р.

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 20.

SUMMARY

Darienko Oleg
DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR PHARMACEUTICAL ANALYSIS BY HPLC OF ACCOMPANUNG IMPURITIES IN THE ISOQUINOLINUM DIBENZENESULFONATE SUBSTANCE.

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: as. But I.O.;
doctor of chemical sciences, as. Levin M.G.

Keywords: atracurium, quinoline, HPLC, pharmaceutical analysis.

Introduction. Atracurium is a medicine, a muscle relaxant, a quinoline derivative. It is possible to predict the processes of intramolecular condensation and formation of hydrogen bonds in the composition of pharmaceutical compositions of atracurium, since unprotected hydroxy, keto, and amino groups are present in the molecule. During the synthesis of Atracurium, side products of reactions, unacceptable impurities are formed, the presence of which is important in assessing the quality of its substance. The use of highly sensitive methods of instrumental analysis in the analysis of the atracurium substance allows detection and identification of accompanying substances and unacceptable impurities, which are not regulated by the Pharmacopoeia.

Materials and methods. Research object is atracurium substance, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of quinolones. Methods: HPLC (DIONEX Ultimate 3000 chromatograph with UV detector), column BDS Hypersil C18, 250x4,6x5; computer analysis using the Chromeleon 7.2 SR 4. program.

Results. Techniques for performing HPLC chromatography, methods for preparing test solutions of the atracurium substance were developed, performance conditions were selected, namely: Buffer solution: (mobile phase A (10.2 g of potassium dihydrogen phosphate was dissolved in 1000 ml of water and the pH of the solution was adjusted to 3, 0 ± 0.05 with phosphoric acid Mobile phase A: methanol-acetonitrile buffer solution in the ratio 5:20:75 Mobile phase B: methanol-acetonitrile buffer solution in the ratio 30:20:50.

Conclusions. The conducted chromatographic study using the HPLC method of the atracurium substance showed that the substance under study contains 6 unspecified and unidentified impurities, among which the unacceptable impurity Rongalit is present: Imp.1 ($R_t = 12.500$ min), Imp.2 ($R_t = 17.622$ min), Imp.3 ($R_t = 31.822$ min), Imp.4 ($R_t = 34.527$ min), Imp.5 ($R_t = 34.983$ min), Imp.6 ($R_t = 36.001$ min), the content of which negatively affects the quality of the substance.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Welchinska O., Kuksa V., Darienko O. METHODS OF PREDICTING THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW URACILS USING THE SWISS TARGET PROGRAM. Тези доповіді на конференцію «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., стор. 376.



2. FIP Symposium, Digital Event «Real-time release for dissolution testing of an oral solid dosage form – case study from industry (part I) and regulatory expectations (part II)» 30.11.2023, The Netherland (Online educational activity). Certificate.

