

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 «Субстанція похідного ацетаніламід у та особливості
фармацевтичного аналізу незадекларованих АФІ у її складі»

Виконав: здобувач вищої освіти 3 курсу, групи Б1А
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)

Кукса Віктор Вікторович

(прізвище та ініціали)

Керівник: проф., д.фарм.н. Вельчинська О.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: доцент, к.фарм.н. Негода Т.С.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2023-2024 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	9
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ АЦЕТАНІЛАМІДІВ.....	9
1.1. Особливості хімічної будови ацетаніламідів.....	9
1.2. Біологічна активність ацетаніламідів.....	13
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ.....	18
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості парацетамолу.....	18
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	29
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
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

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спин-спінової взаємодії, герци

NAPQI – N-ацетил-пара-бензохінонімін

ВСТУП

Актуальність теми. Кора верби — джерело саліцину (саліцилатів), а кора хінної — джерело хініну, відомого як протималярійний засіб. Були відкриті два альтернативних препарати, ацетанлід і фенацетин, які стали використовуватися у медицині як жарознижуючі.

Ацетанлід (N-фенілацетамід) є ароматичною сполукою, яка має фенільне кільце, приєднане до ацетамідогрупи ($-\text{NHCOCH}_3$). У 1886 р. цей лікарський засіб було введено у медичну практику. Ацетанлід застосовується як болезаспокійливий та жарознижуючий засіб. Було виявлено багато похідних ацетанліду. Вони мають антимікробну, знеболюючу, протизапальну, жарознижувальну, антиоксидантну, протисудомну, протиракову, гіпоглікемічну та протималярійну дії.

Ацетанлід відіграє важливу роль у синтезі хімічних речовин як проміжні продукти та прекурсори.

Ацетамінофен є активним інгредієнтом у комбінації, у більш ніж 100 безрецептурних продуктів та лікарських засобів, що відпускаються за рецептом. Перше клінічне застосування ацетамінофену датується 1893 роком у якості ефективного жарознижуючого засобу у порівнянні із фармакологічними ефектами антипірину та фенацетину.

Пізніше ацетамінофен був знову відкритий як основний метаболіт фенацетину та ацетанліду в організмі людини.

Його випускали у комбінації з аспірином і кофеїном. У зв'язку із занепокоєння щодо побічних ефектів на ШКТ аспірину та метгемоглобінемії ацетанліду, підвищилася популярність ацетамінофену як безпечного жарознижуючого анальгетика.

Однак, стало відомо про гепатотоксичність ацетамінофену. Крім гепатотоксичності, були виявлені інші небажані ефекти: токсичність легенева, ниркова та ендокринна токсичність.

Крім сильної жарознижувальної та знеболювальної дії, ацетамінофен

виявляє слабку протизапальну дію.

Дослідження показують, що ацетамінофен знижує рівень метаболітів простагландинів у сечі. Він не зменшує синтез простагландинів тромбоцитами або слизовою оболонкою шлунка.

Ацетамінофен є слабким інгібітором як циклооксигенази-1 (ЦОГ-1), ЦОГ-2, пригнічує ЦОГ-3 *in vitro* [1-5].

Парацетамол (ацетамінофен) має хімічну номенклатурну назву за ІЮПАК 4'-гідрокси-ацетанілід; *para*-ацетамінофенол; ацетофен; *para*-ацетиламідофенол; N-ацетил-*para*-амінофенол; *para*-ацетиламінофенол; пара-гідроксіяцетанілід; N-*para*-гідроксифенілацетамід.

Парацетамол використовується як безпечний і жарознижуючий лікарський засіб. Він відноситься до кращих альтернативних анальгетиків, якщо порівнювати з аспірином. Особливо це важливо для пацієнтів із порушеннями згортання крові, людей з виразковою хворобою в анамнезі, хто не переносить аспірин, для дітей. Парацетамол вперше був використаний у клінічній медицині в 1893 році. Традиційна пероральна доза парацетамолу для дорослих становить 500–1000 мг. Дозування можна повторювати кожні 4 години. Загальна добова доза не повинна перевищувати 4000 мг. Для дітей – це рекомендована доза 10–15 мг/кг маси тіла. Не рекомендується тривале застосування парацетамолу (більше 10 днів) [6-12].

Парацетамол є метаболітом фенацетину. Проведено дослідження канцерогенності фенацетину, доведено, що токсичність має парацетамол, як метаболіт фенацетину. Некроз печінки після введення парацетамолу вперше був зареєстрований у щурів. Ознаками некрозу є гідропічна вакуолізація, центрілобулярний некроз, інфільтрація макрофагами та регенеративна активність. Токсичні ефекти у собак і кішок, які отримували одноразову пероральну дозу парацетамолу, включали печінкову центрілобулярну патологію у собак, а коти, у яких не відбувається кон'югація екзогенних сполук у організмі, мали більш дифузні патологічні зміни печінки.

Гепатотоксичний ефект досліджували гістологічно. Спостерігалася важка хронічна гепатотоксичність із центрілобулярною гепатоцитомегалією, цирозом, некрозом гепатоцитів. Спостерігали макроскопічно та мікроскопічно деформовану печінку з обширним лобулярним колапсом, лімфоїдною агрегацією у портальних шляхах. Були описані ультраструктурні зміни в печінці щурів, які отримували парацетамол. Гістопатологічний огляд зрізів печінки мишей B6C3F1, які отримували парацетамол у дозі 3000, 6000 або 12 500 мг/кг вказав на важку форму ураження печінки з центрілобулярним некрозом [13-22]. Таким чином, Парацетамол є токсичною лікарською речовиною. Контроль якості цього лікарського засобу і субстанції повинен проводитися високотехнологічними інструментальними методами. Висока якість парацетамолу є важливою для захисту здоров'я та життя пацієнтів.

Парацетамол є високоактивною функціональною органічною сполукою. Молекула містять фармакофорні угруповання, функціональні групи – аміно групу, ареновий цикл, гідрокси групу, ацето-групу. Молекулі притаманна делокалізація електронної густини та її стабільність. Під час синтезу субстанції, неповного її очищення, міжмолекулярної взаємодії можливе утворення супровідних речовин, домішок, продуктів міжмолекулярних реакцій. Важливим завданням фармацевтичного аналізу парацетамолу є використання у її фармацевтичному аналізі сучасних інструментальних методів та розширення кола фізико-хімічних методів.

Актуальним завданням роботи є розробка хроматографічних умов при дослідженні субстанції парацетамолу методом ВЕРХ, методик пробопідготовки зразків при виконанні досліджень, які дозволять зробити коректні висновки щодо присутності у субстанції незадекларованих АФІ.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка умов хроматографування методом ВЕРХ та методик дослідження зразку субстанції парацетамолу з метою виявлення у субстанції незадекларованих АФІ.

Завдання експериментального дослідження:

- розробити умови хроматографування методом ВЕРХ субстанції парацетамолу;
- розробити методики хроматографування методом ВЕРХ субстанції парацетамолу;
- провести хроматографічні дослідження зразків субстанції парацетамолу у порівнянні зі стандартними зразками та інтерпретувати результати досліджень.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – ZORBAX Eclipse Plus C18 з розмірами 150x4,6x3,5; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у розробці умов та методик досліджень методом ВЕРХ субстанції парацетамолу з метою виявлення незадекларованих АФІ.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «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.

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 – 24.

SUMMARY

Kuksa Viktor
**ACETANILAMIDE DERIVATIVE SUBSTANCE AND PECULIARITIES OF
PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF UNDECLARED APIs IN ITS COPOSITION**

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: professor, doctor of pharm.sciences Welchinska Olena.

Keywords: Oxaliplatin, antitumour activity, HPLC, admixture.

Introduction. Paracetamol (acetaminophen) has the chemical nomenclature name of IUPAK 4'-hydroxy-acetanilide; para-acetaminophenol; acetophen; para-acetylamidophenol; N-acetyl-para-aminophenol; para-acetylaminophenol; para-hydroxyacetanilide; N-para-hydroxyphenylacetamide. Paracetamol is used as an analgesic and antipyretic drug. It is one of the best alternative analgesics compared to aspirin. This is especially important for patients with blood coagulation disorders, people with a history of peptic ulcer disease, who cannot tolerate aspirin, and for children. During the synthesis of a substance, its incomplete purification, intermolecular interaction, the formation of accompanying substances, impurities, products of intermolecular reactions is possible. An important task of the pharmaceutical analysis of paracetamol is the use of modern instrumental methods and the expansion of the range of physicochemical methods in its pharmaceutical analysis. The actual task of the work is the development of chromatographic conditions for the study of the substance of paracetamol by HPLC, methods of sample preparation during research, which will make it possible to draw correct conclusions about the presence of undeclared APIs in the substance.

Materials and methods. Research object are Paracetamol substance, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of Paracetamol. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector), column ZORBAX Eclipse Plus C18, 150x4,6x3,5; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The conditions of chromatographic research and methods of preparation of samples using the HPLC method of the Paracetamol substance were developed in order to determine the undeclared APIs in its composition, namely, modifications were proposed: buffer solution (1000 ml water P, 0.66 ml orthophosphate acid, pH 6.3 potassium hydroxide); solvent (buffer solution and acetonitrile in a ratio of 80:20 (v/v%)).

Conclusions. Using the HPLC method, unacceptable impurities were found in the composition of the studied sample: unacceptable impurities D (R=17.149 min (imp 1)), E (R=20.375 min (imp 2)), H (R=30.729 min (imp 3)), and also an admixture of Ibuprofen (R=55.935 min (imp ibuprofen)). It was found that under the proposed conditions of chromatography using the HPLC method, the peaks of the Paracetamol standard (DFU) and the sample have a shift: the Rt values of the studied Paracetamol sample are in the range of 9.201-9.274 min, compared to the Rt values of the standard - in the range of 9.201-9.282 min, which can be explained by the influence of impurities present in the substance.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

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.



FIP Symposium, Digital Event
«Pharmacists support to medication
management for people living with
HIV», 01.12.2023, The Netherland
(Online educational activity).
Certificate.

