

**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 «Удосконалення методик фармацевтичного аналізу похідних карбоксаміду на прикладі субстанції карбамазепіну»

Виконав: здобувач вищої освіти 6 курсу,  
групи 882А

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)

Філатова Марта Ростиславівна

(прізвище та ініціали)

Керівник - д.фарм.н.,

професорка Вельчинська О.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент \_\_\_\_\_

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

**Київ – 2023-2024 р.р.**

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	8
РОЗДІЛ 1. ОБЛАСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ЙОГО АНАЛОГІВ.....	8
1.1. Характеристика карбоксамідів.....	8
1.2. Роль карбамазепіну в медичній практиці.....	10
1.3. Токсичність карбамазепіну.....	12
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ЙОГО АНАЛОГІВ.....	19
2.1. Сучасні методи визначення карбамазепіну.....	19
2.2. Методи контролю якості препаратів на основі карбамазепіну.....	24
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	27
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформаїд

ДФУ – Державна Фармакопея України

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см<sup>-1</sup> – обернений сантиметр

ПМР – протонно-магнітний резонанс

ТМС – тетраметилсілан

Т. пл. – температура плавлення

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР  $^1\text{H}$  – протонний ядерно-магнітний резонанс

Alk – алкіл-радикал

°C – градуси Цельсія

CBZ – carbamazepine

FDA – Food and Drug Agency

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

LC-MS/MS – рідинна хроматографія-мас-спектрометрія

PBS – фосфатно-сольовий буфер

PVP K30 – полівінілпіролідон

SLS – лаурилсульфат натрію

SPE – твердофазна екстракція

USP – Фармакопея США

## ВСТУП

*Актуальність теми.* Серед біологічно активних речовин, які широко використовуються у створенні лікарських засобів великий відсоток займають речовини із гетероциклічною структурою. Це – похідні піримідинів, урацилу, пурину, конденсованих біциклічних систем, фурану, тіофену тощо. Гетероцикли відрізняються від інших хімічних сполук не тільки особливістю хімічної будови, але, й взаємовпливом або фрагментів в гетероциклічній молекулі, діючими електронними ефектами, утвореною системою спряження, набором фармакофорних угруповань. Більшість із таких молекул створювалися на підставі отриманих результатів віртуального скринінгу та молекулярного і фармакофорного моделювання, молекулярного докінгу.

Серед гетероциклів, які привертають увагу дослідників є азепіни та бензазепіни, які у сучасній медичній хімії відносяться до «привілейованих» структур. Ненасичені системи азепінів можуть існувати у ізомерних формах, активно вступають у хімічні модифікації із збільшенням фармакофорних угруповань, і тому, їх хімічні властивості сприяють, як розвитку хімії азепінів, так, й створенню нових біологічно активних сполук. Останнім часом синтезовано похідні азепіну із специфічною інгібуючою активністю фарнезилтрансферази, можуть бути АТФ-конкурентним інгібітором протеїнкінази А (РКА), потужними непептидними інгібіторами катепсину К та каспази 3. Бензазепіни використовують у якості фунгіцидів, у фармації.

Вихідний 1*H*-азепін – сполука не стабільна. Тому, у фармацевтичній практиці найбільш популярними є стабільні сполуки – похідні бензазепінів. Такою речовиною, яку досліджували в нашій роботі стала речовина бензо[*b*][1]бензазепін-11-карбоксамід, яка відноситься до активних діючих речовин лікарських засобів, наприклад карбамазепіну. Молекулі бензо[*b*][1]бензазепін-11-карбоксаміду притаманне специфічне поєднання фармакофорних угруповань, серед яких присутній дібензоазепіновий

фрагмент. Однак, у разі передозування карбамазепіну (бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду) описано розвиток токсичного епідермального некролізу, Dress-синдрому, колагенозу, руйнування кісткової тканини; летальний наслідок. Токсичні ефекти виникають часто за рахунок присутності у складі субстанції супровідних або споріднених речовин, неприпустимих домішок та продуктів деструкції, що ставить під сумнів ступінь очистки субстанції.

*Актуальність* дослідження полягає у розробці нових та удосконаленні існуючих методик хіміко-токсикологічного і фармацевтичного аналізу субстанції карбамазепіну (бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду), з метою виявлення і кількісного визначення неприпустимих складових у її складі, що може запобігати токсичним проявам речовини.

*Мета і завдання дослідження.* Розробка нових та удосконалення існуючих методик хіміко-токсикологічного і фармацевтичного аналізу субстанції карбамазепіну (бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду), з метою виявлення і кількісного визначення неприпустимих складових у її складі.

*Завдання дослідження:*

- дослідити фізико-хімічні параметри бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду субстанції та її модельних розчинів з метою виявлення продуктів її деструкції;
- підібрати умови та розробити методику хроматографічного дослідження методом ВЕРХ бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду субстанції на присутність специфікованих та неспецифікованих домішок;
- провести хроматографічне дослідження методом ВЕРХ досліджуваних зразків на присутність специфікованих та неспецифікованих домішок та інтерпретувати отримані результати.

*Методи дослідження.* Абсорбційна спектрофотометрія в ІЧ-області (спектрометр Specord M-80), УФ-спектрометрія (спектрометр Shimadzu UV-vis Spectrometer 1601 PC), ВЕРХ (хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором), комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

*Новизна та значення одержаних результатів.* Імплементация у практику хіміко-токсикологічного та фармацевтичного аналізу інструментальних методів (ВЕРХ, ІЧ, УФ) та розроблених або модифікованих методик виявлення і кількісного визначення неприпустимих складових у складі бензо[*b*][1]бензазепін-11-карбоксаміду субстанції для запобігання прояву небажаних ефектів та захисту здоров'я пацієнтів, які приймають лікарські засоби з активною діючою речовиною у складі.

*Апробація результатів дослідження.* Результат досліджень апробовано на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький Фармацевтичний Форум-23», Запоріжжя, 23-24 листопада 2023 р.

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

*Структура роботи:* загальну кількість сторінок–43, кількість розділів–3, кількість додатків–1, кількість використаних джерел–29.

## ОСНОВНА ЧАСТИНА

### РОЗДІЛ 1. ОБЛАСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ЙОГО АНАЛОГІВ

#### 1.1. Характеристика карбоксамідів

В сучасному фармацевтичному вивченні низка активних речовин займає цікаве місце, а серед них особливу увагу привертають карбоксаміди, представники яких здобули визнання за їхню високу ефективність та широкий спектр застосувань у клінічній практиці [1-5].

Карбоксаміди є групою хімічних речовин, що включає в себе сполуки з функціональними групами – карбонільною групою (C=O) та аміногрупою (NH<sub>2</sub>) в їхній молекулярній структурі. Молекула є неполярною, а субстанція не розчиняється у воді. Карбамойльна група є єдиним полярним угрупованням у молекулі. Таким чином, молекула карбамазепіну може вступати у взаємодію з біолігандами – полярними білками та неполярними ліпідами (за рахунок полярних фрагментів з атомами Оксигену та Нітрогену і неполярних фрагментів). Це робить їх одними із ключових представників класу нітрогеновмісних сполук, які відіграють важливу роль у біохімічних процесах (рис. 1.1.1).

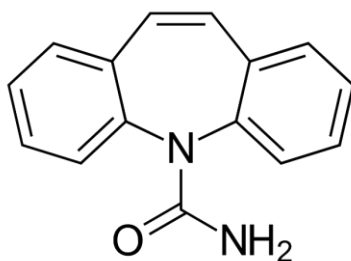


Рисунок 1.1.1. Хімічна формула карбамазепіну.

Карбоксаміди поділяються на кілька класів в залежності від хімічної будови та наявності функціональних груп у молекулах.



Класифікація карбоксамідів:

Ациклічні карбоксаміди:

- прості карбоксаміди (Primary Amides): мають структуру  $RCONH_2$ , де R - органічний залишок. Наприклад, метанамід.
- вторинні карбоксаміди (Secondary Amides): мають структуру  $RCONHR'$ , де R та R' – органічні залишки. Наприклад, діетиламід кислоти.
- третинні карбоксаміди (Tertiary Amides): мають структуру  $RCONRR'$ , де R, R' – органічні залишки. Цей клас карбоксамідів менш поширений порівняно з первинними та вторинними.

Циклічні карбоксаміди (Cyclic Amides):

містять кільцеву структуру у молекулі. Лактаміди – це циклічні аналоги простих карбоксамідів.

Представники класів карбоксамідів можуть мати різні фізико-хімічні та біологічні властивості, що визначає їх придатність для різних застосувань у фармацевтиці, хімії та інших галузях. Карбоксаміди мають значуще медичне та фармацевтичне використання завдяки їхнім унікальним хімічним властивостям та фармакологічному потенціалу.

Основні напрями застосування карбоксамідів:

Антиепілептичні засоби: Карбамазепін: Використовується для лікування різних форм епілепсії, включаючи парціальні та генералізовані напади.

Протизапальні препарати: Сульфасалазин: Застосовується у лікуванні захворювань, таких як ревматоїдний артрит та хвороба Крона.

Протигрибкові засоби: Флуконазол: Використовується для лікування грибкових інфекцій, таких як кандидоз та криптококкоз.

Анальгетики та протизапальні препарати: Ацетамінофен (парацетамол)

Гіполіпідемічні засоби: Клопідогрел: Використовується для профілактики тромбозу та ішемічних ускладнень у хворих на серцево-судинні захворювання.

Протипухлинні препарати: Темозоломід: Використовується для лікування деяких видів раку мозку, зокрема гліобластом та анапластичного астроцитому.

Антибіотики: Пеніцилінамід має антибіотичні властивості та використовується для лікування інфекцій.

Специфічні фармацевтичні застосування: ліки, що містять діуретичні агенти (наприклад, фуросемід).

Ці приклади вказують на широкий спектр застосування карбоксамідів у клінічній медицині та фармації, роблячи їх важливими компонентами у лікувальних стратегіях для різних захворювань.

## 1.2. Роль карбамазепіну в медичній практиці

Карбамазепін використовують у медичній практиці для лікування епілепсії. Епілепсія – це тривалий хронічний розлад активності мозку, який виникає у осіб різного віку і може бути успішно вилікуваний приблизно в 70% випадків. Існує широка гама протиепілептичних препаратів у сучасній медицині та фармації, але їх використання обмежується значною кількістю небажаних побічних ефектів [6-8].

Карбамазепін здатен контролювати та запобігати епілептичним нападам, що робить його невід'ємною частиною клінічного підходу до пацієнтів. Основним механізмом дії цього лікарського засобу є стабілізація клітинних мембран шляхом блокування навантаження натрієвих каналів та зменшення випуску глутамату, що сприяє контролю активності нервових клітин. Однак роль карбамазепіну не обмежується лише лікуванням епілепсії.

Карбамазепін має затвердження FDA для лікування епілепсії, трігемінальної невралгії та гострих маніакальних і змішаних епізодів при біполярному розладі I типу. Індикації для епілепсії специфічно охоплюють часткові судоми з комплексною симптоматикою (психомоторною, темпоральною), генералізовані тонічні судоми (великий) та змішані форми судом. Карбамазепін затверджений FDA як лікарський засіб для лікування першого вибору для трігемінальної невралгії. Системний огляд показує ефективність пролонгованої форми карбамазепіну в манії біполярного розладу I у пацієнтів із гострими маніакальними чи змішаними епізодами. Також, він використовується для невразливого шизофренії. Прості добре спроектовані випробування показали ефективність у пацієнтів із шизофренією з ЕЕГ-змінами, шизофренією з насильницькими епізодами та шизоафективним розладом. Він поліпшує як позитивні, так і негативні симптоми у пацієнтів із шизофренією. Інші застосування цього препарату включають лікування синдрому «неспокійні ноги» та зменшення агітації та агресії у пацієнтів з деменцією.

Ще одним важливим напрямком застосування цього препарату є лікування невропатичного болю та фіброміалгії. У пацієнтів із помірно до важкої синдромом відмови від алкоголю, карбамазепін продемонстрував клінічну ефективність у лікуванні. Однак, ця індикація не має схвалення від FDA, і не показано, що вона запобігає судомам відмови від алкоголю в порівнянні з бензодіазепінами. Карбамазепін також використовується позамітно для підтримуючої терапії біполярного розладу. У порівняльному випробуванні між карбамазепіном, літієм та вальпроїновою кислотою пацієнти, які приймали карбамазепін, мали вищий ризик рецидиву, але не значно вищий. У підсумку, карбамазепін визнаний як ефективний та важливий засіб у медичній практиці для лікування різних неврологічних та психіатричних станів, де його застосування спрямоване на поліпшення якості життя пацієнтів.

Однією із стратегій лікування SARS-CoV-2 (COVID-19) є втручання в реплікацію вірусу. Чудовою мішенню є у цьому контексті хімотрипсин-подібна протеїназа (3CLpro), яка не залежить від імуногенних реакцій господаря та приймає участь у генерації важливих для утворення репліказ неструктурних білків є чудовою фармацевтичною мішенню [9-11]. У цьому напрямку тривають дослідження щодо створення ефективних ліків на основі бензазепінів для лікування SARS-CoV-2 (COVID-19).

### 1.3.Токсичність карбамазепіну

Використання карбамазепіну може супроводжуватися різноманітними токсичними ефектами та побічними реакціями, які можуть впливати на різні системи організму [12-15]. Біологічні властивості бензазепінових сполук широко вивчаються. Метаболіт з азепіновим циклом, який виділено із гриба *Verticillium balanoides* є АТФ-конкурентним інгібітором протеїнкінази А (РКА). Тому цю сполуку вважають еталоном для розробки потенційних протипухлинних засобів та її аналогів із високою селективністю при інгібуванні протеїнкінази В (IC<sub>50</sub>, 20 нМ) над РКА (IC<sub>50</sub>. 1900 нМ).

(S)-3-метил-1-{3-оксо-1-[2-(3-піридин-2-ілфеніл)етеноїл]азепан-4-іл-карбамоїл}бутиламід (азепан) є непептидним інгібітором катепсину К. N-заміщений азепан відноситься до непептидних інгібіторів каспази 3. N-заміщене похідне азепан-індолу є естрогеном. 3-(ациламіно) азепан-2-они – це метаболічно стійкі інгібітори хемокіну.

Похідне 1Н-2-бензазепіну характеризується конформаційною обмеженістю та відноситься до подвійних інгібіторів ацетилхолінестерази (IC<sub>50</sub> = 14 нМ), а також є потенційним агентом для лікування хвороби Альцгеймера. Встановлено, що хіральний сульфоксид є одним із потужних антагоністів 5 хемокінових рецепторів СС (IC<sub>50</sub> = 1,9 нМ), а також потужним інгібітором злиття мембран (IC<sub>50</sub> = 1,0 нМ). Ця сполука є перспективним лідером для подальшого пошуку засобів проти ВІЛ.

Описано фармакологічну активність похідних 3-бензазепіну – сильнодіючих та селективних агоністів 5-HT<sub>2C</sub>-рецепторів. Є перспектива використання цих сполук для лікування ожиріння [16, 17].

Карбамазепін є антиепілептичним препаратом, широко використовуваним для лікування простих часткових судом та складних часткових судом, трігемінальної невралгії та біполярного афективного розладу. Карбамазепін також використовується для лікування постгерпетичної невралгії та фантомного болю в кінцівці. Доступні форми дозування карбамазепіну включають оральні таблетки по 100 мг і 200 мг, а також оральну суспензію 100 мг/5 мл.

Карбамазепін (5Н-дібензазепін-5-карбоксамід) є похідним іміностільбену з трициклічною структурою. Він вибірково інгібує фокуси високочастотних епілептичних розрядів, залишаючи недоторканою нормальну нейронну активність. Карбамазепін нерегулярно всмоктується після перорального застосування через його ліпофільну природу. Він має великий об'єм розподілу; пікові рівні в плазмі досягаються через 4-8 годин після прийому, але можуть займати до 24 годин для досягнення максимальних значень. Використання пролонгованого вивільнення може призвести до досягнення пікових рівнів аж через 4 дні після прийому. Основне місце обміну розташоване в печінці; його метаболіт також активний, що може збільшити тривалість симптомів токсичності [18-21].

Аутоіндукція мікросомального ферменту призводить до скорочення періоду напіввиведення карбамазепіну (10-20 годин) у пацієнтів, які використовують препарат довготривало, порівняно з тими, які мають короткотривалий вплив (31-35 годин). Процес аутоіндукції триває приблизно 4 тижні.

Карбамазепін стимулює синтез багатьох монооксигеназ та кон'югаційних ферментів, що призводить до обміну багатьох лікарських

засобів. Щодо взаємодій з ліками, карбамазепін викликає обмін інших протиепілептичних препаратів, таких як фенітоїн, клоназепам, примідон, вальпроїнова кислота та етосуксимід. Це може призвести до субтерапевтичних рівнів цих ліків, особливо фенітоїну [22, 23].

Карбамазепін зменшує тривалість та ефективність багатьох лікарських засобів, включаючи антикоагулянти, цитотоксичні препарати, анальгетики, антиретровірусні засоби, глюкокортикоїди, статини, антигіпертензиви, оральні контрацептиви, психотропні препарати та імунодепресанти. Це може призвести до неналежного лікування пацієнтів, які приймають ці препарати разом із карбамазепіном. Якщо прийом карбамазепіну призупинено, а інші препарати продовжуються, рівень цих препаратів може зростати, що веде до токсичності. Крім того, індукція ферментів може впливати на ферменти в ендогенних метаболічних шляхах, що може впливати на обмін кісток, гонадальних стероїдів та ліпідів. Це може призвести до остеопорозу, сексуальної дисфункції та судинних захворювань.

Інгібітори мікросомальних ферментів печінки, такі як еритроміцин, кларитроміцин та циметидин, підвищують рівні карбамазепіну та можуть спричинити токсичність. Карбамазепін може збільшити токсичність аденозину та збільшити ризик серцевого блоку. Пацієнтам, які приймають карбамазепін, слід використовувати низькі початкові дози аденозину.

Карбамазепін може перешкоджати дії оральних контрацептивів з низьким вмістом гормонів та призводити до рясних вагінальних кровотеч, овуляції та навіть вагітності у жінок, які приймають обидва препарати.

Армодафініл є стимулятором, і його показання включають обструктивну апное сну, нарколепсію та розлад сну при зміні зміни робочої зміни, і, як і карбамазепін, він є індуктором та субстратом для цитохрому P450 (CYP3A4). Дослідження взаємодії цих двох засобів виявило, що системна експозиція як карбамазепіну, так і армодафінілу зменшилася після

попереднього застосування іншого препарату; Можлива необхідність коригування дози при їх спільному введенні.

Цікаво відзначити, що карбамазепін виявляється в довкіллі. Європейські дослідження визначили карбамазепін як одну з найпоширеніших фармацевтичних забруднювачів ґрунтових вод. Викинутий в водойму через муніципальну каналізацію, карбамазепін може викликати токсичність у риб, включаючи молодь райдужної форелі.

Виявлено, що HLA-B1502 має сильний зв'язок із синдромом Стівенса-Джонсона, викликаним карбамазепіном, у людей китайського етнічного походження, збільшуючи ризик приблизно в 100 разів. Пізніше цей ризик було виявлено у представників інших азійських народів. В результаті цього перевірка на наявність HLA-B1502 перед призначенням карбамазепіну стала стандартною у популяції Південно-Східної Азії.

Пацієнти з токсичністю карбамазепіну можуть проявлятися неврологічними, окулярними, кардіоваскулярними та кутанними ознаками та симптомами. Окрім вимірювання рівня карбамазепіну в сироватці, обстеження повинно включати тестування для виявлення ускладнень органних систем та виключення альтернативних діагнозів. Лікування спрямоване на деконтамінацію та подальший супровід.

Також, у дорослих дози карбамазепіну, що перевищують 24 г, корелюють з смертельними наслідками. Гостра токсичність проявляється через 1-3 години після прийому і супроводжується порушеннями нейром'язової системи. Пацієнти мають порушену свідомість, що призводить до коми, тремору, неспокою, афетодних рухів, порушень психомоторики, запаморочення, сонливості, мідріазу і ністагму. Спочатку пацієнти відзначаються гіперрефлексією, але під час отруєння вони переходять у стан гіпорексії. Кардіальні та судинні ознаки, як правило, мають низьку токсичність, але при дозах понад 60 грамів може виникнути важка серцева

дисфункція. У випадках гострої токсичності необхідно моніторинг та лікування для уникнення ураження органів. Лікування передозування спрямоване на елімінацію препарату за допомогою викликання блювання, шлункового промивання, активованого вугілля та примусової діурезу. Шлункове промивання показане навіть після 4 годин від прийому. Судоми, викликані отруєнням карбамазепіном, слід лікувати бензодіазепінами, такими як діазепам [24, 25].

Тобто, можна сказати, що токсичність карбамазепіну виникає внаслідок його різноманітних фармакологічних ефектів, включаючи антиму斯卡ринову, анти-N-метил-D-аспартатну дію та вплив на натрієві канали. Серед гострих токсичних ефектів вказують атаксію, ністагм, кому, судоми, гіпотензію та тахікардію. До хронічних токсичних ефектів належать гепатотоксичність, гіпонатріємія, гіперчутливість, синдром гіперчутливості та тератогенні ефекти. Карбамазепін є індуктором CYP 3A4, що може призводити до різноманітних взаємодій з їжею або ліками, які метаболізують цією ферментативною системою.

Але, карбамазепін часто призначається лікарями первинної допомоги, неврологами та спеціалістами з болю. Призначаючи цей препарат, важливо інформувати пацієнта про можливі побічні ефекти. Тому пацієнти потребують уваги всього інтерпрофесійного медичного колективу, до якого входять лікарі, медсестри та фармацевти, які всі координують свою діяльність і взаємодіють у відкритому обміні інформацією щодо розвитку клінічної ситуації пацієнта. Ця інтерпрофесійна командна робота покращить терапевтичні результати та мінімізує побічні ефекти у пацієнтів, які отримують терапію карбамазепіном.

Найпоширеніші побічні ефекти карбамазепіну включають запаморочення, сонливість, атаксію, нудоту та блювоту. Хоча вони виникають рідше, це пов'язано з чорною коробкою, що стосується кількох важких дерматологічних реакцій. У пацієнтів китайського етнічного походження



дослідження показали сильний зв'язок між геном HLA-B\*1502 та синдромом Стівенса-Джонсона/токсичною епідермальною некролізом (SJS/TEN).

Якщо ліки призначені для лікування судом, то лікарі первинної допомоги не повинні змінювати дозу без попередньої консультації з неврологом пацієнта. Пацієнтам слід попередити, щоб вони не поєднували цей засіб з іншими протисудомними препаратами, алкоголем або наркотиками.

Через активність CYP одночасне призначення карбамазепіну з оральними контрацептивами, варфаріном, нефазодоном і т. д. може впливати на рівні плазми. Карбамазепін може автоіндукцію свого обміну, зменшуючи напівжиття при повторних дозах (рис. 1.3.1).

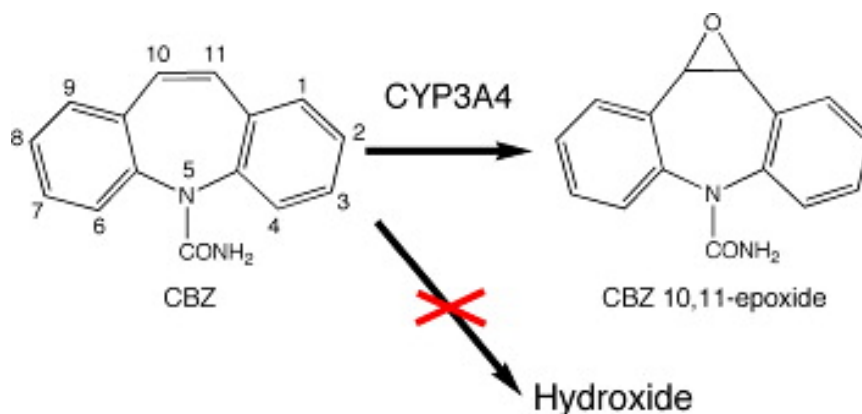


Рисунок 1.3.1. Схема метаболізму CBZ.

Метаболізм дибензазепінів відбувається двома шляхами (рис.1.3.2): біоактивації хіноніміну за участю цитохрому P450 та Глутатіону (GSH) та біоактивації за допомогою арен-оксиду формації за участю цитохрому P450 та Глутатіону (GSH), а на окремому етапі – за участю епоксид-гідролази, в результаті чого утворюються гідроксипохідні дибензазепіну.

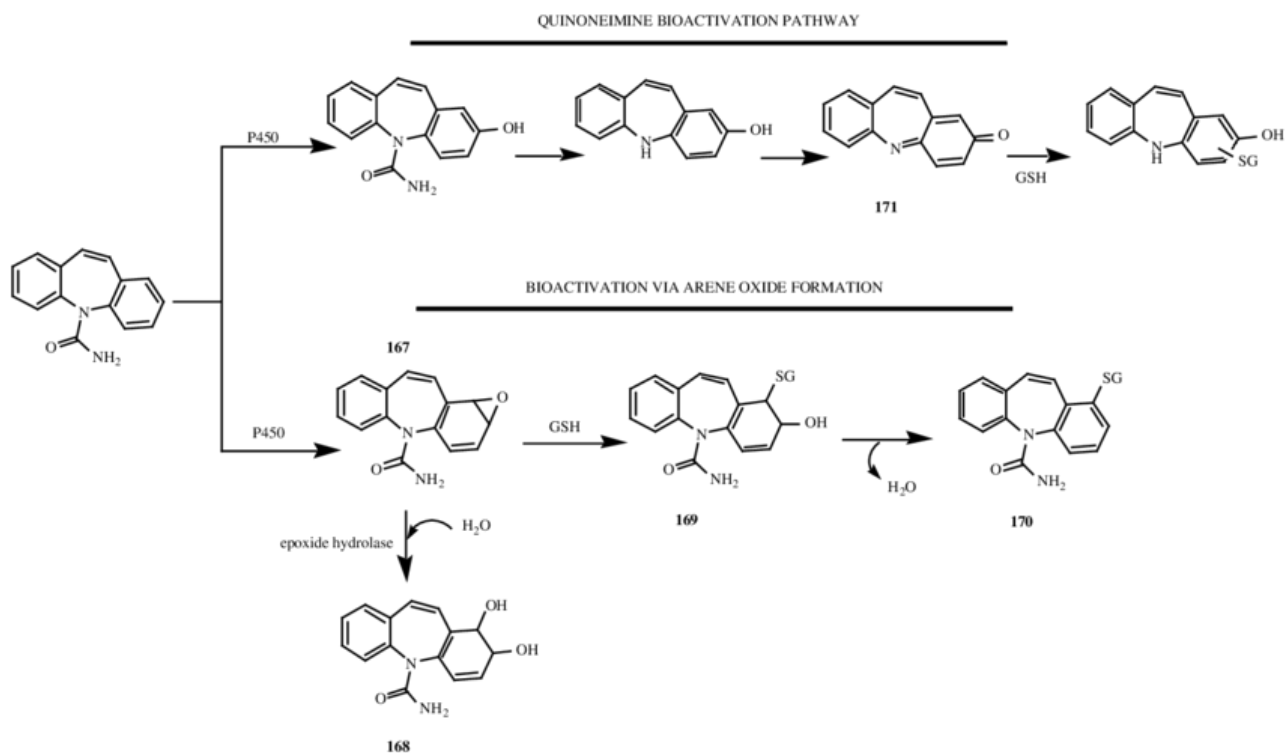


Рисунок 1.3.2. Схема метаболізму дибензазепінів.

Карбамазепін є одним із перших антиконвульсантів, які використовуються для лікування біполярного розладу. Зазвичай він добре переноситься порівняно з літієм і вальпроїною кислотою. Нова капсула пролонгованого вивільнення, схвалена FDA (2004), розроблена для зменшення коливань рівнів плазми і зниження частоти побічних ефектів.

Таким чином похідні азепіну та бензазепіну не тільки широко використовуються у медичній та фармацевтичній практиках, але активно досліджуються у лабораторіях, оскільки виявляють величезний спектр біологічних властивостей та перспективні для розширення номенклатури ліків.

## РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КАРБАМАЗЕПІНУ ТА ЙОГО АНАЛОГІВ

### 2.1. Сучасні методи визначення карбамазепіну

Особливістю хімічної будови азепінів є присутність семичленного гетероциклического кільця – це *1H*-азепін (сполука 1), *1H*-1-бензазепін (сполука 2), *1H*-2-бензазепін (сполука 3), *3H*-3-бензазепін (сполука 4) (рис. 2.1.1).

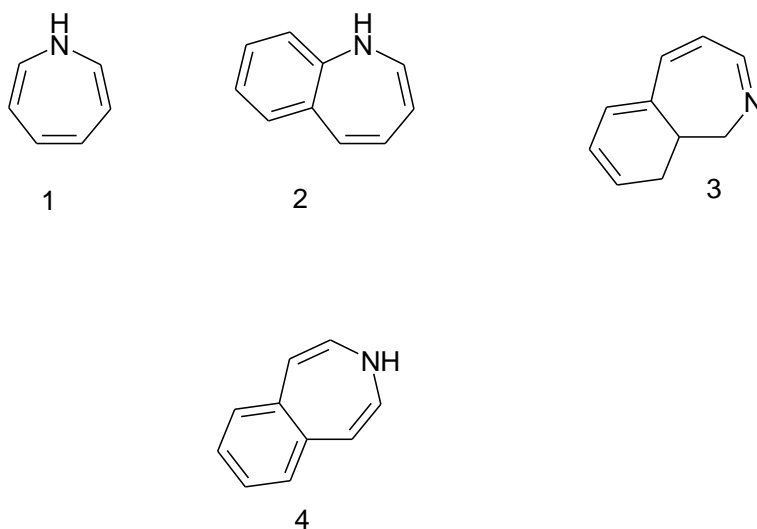
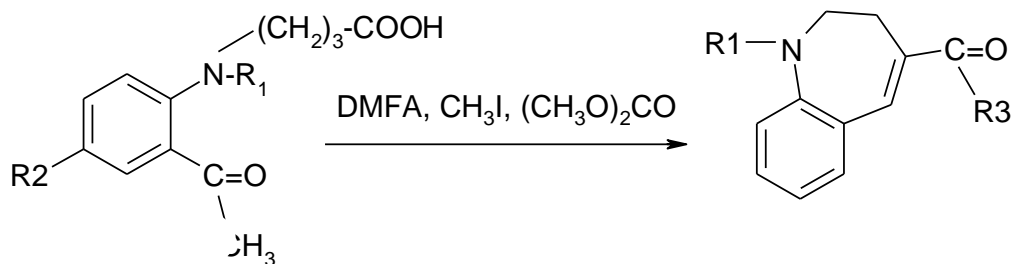


Рисунок 2.1.1. Хімічні формули азепінів.

Сполука *1H*-азепін є не стабільною, тому синтезують її більш стабільні похідні для використання у різних областях науки та виробництва.

Азепіни синтезують різними синтетичними методами. Одним із них є реакція внутрішньомолекулярної циклізації естеру що дозволяє отримати 1-бензазепіни (рис. 2.1.2)



де  $R^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$ ,  $R^2 = \text{Br}$ ,  $R^3 = \text{Et}$

Рисунок 2.1.2. Синтез 1-бензазепінів.

Бензазепіни отримують за реакцією Сузукі-Міяура, перетворюючи їх потім у різноманітні похідні гідролізом та амінуванням (рис.2.1.3).

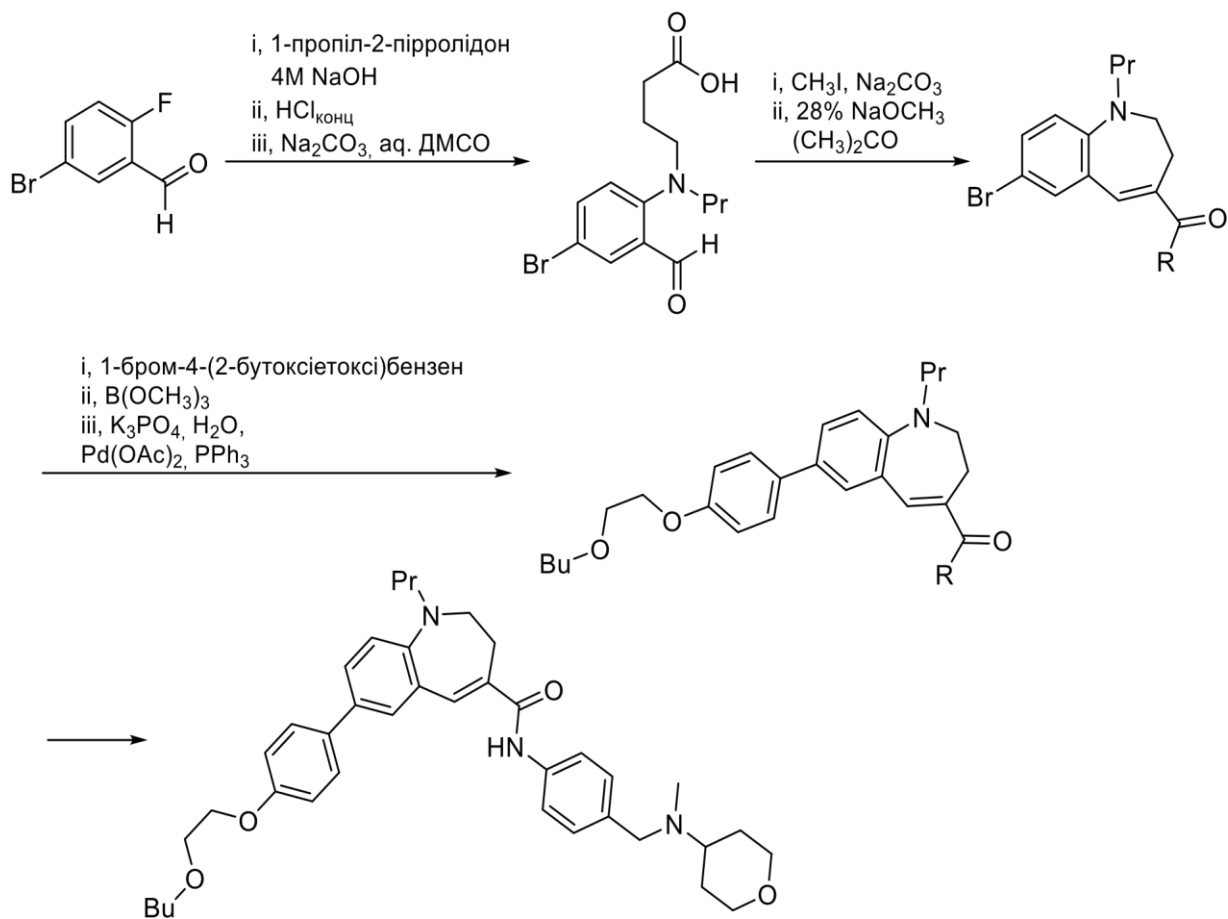


Рисунок 2.1.3. Синтез 1-бензазепінів.

2-Бензазепінони синтезують каталітичною циклізацією бутенамідів у ДМФ/Н<sub>2</sub>О. При цьому утворюються побічні продукти восьмичленні гетероцикли. А у разі проведення реакції у безводному ДМФА переважає утворення шестичленного кільця (рис. 2.1.4).

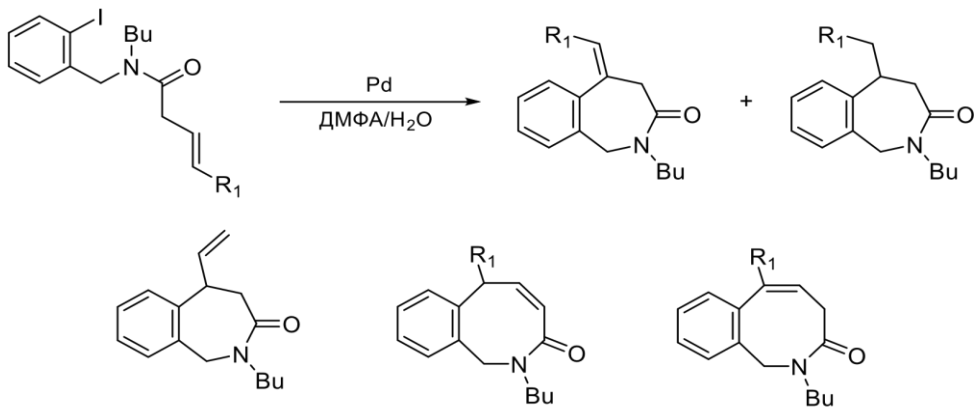
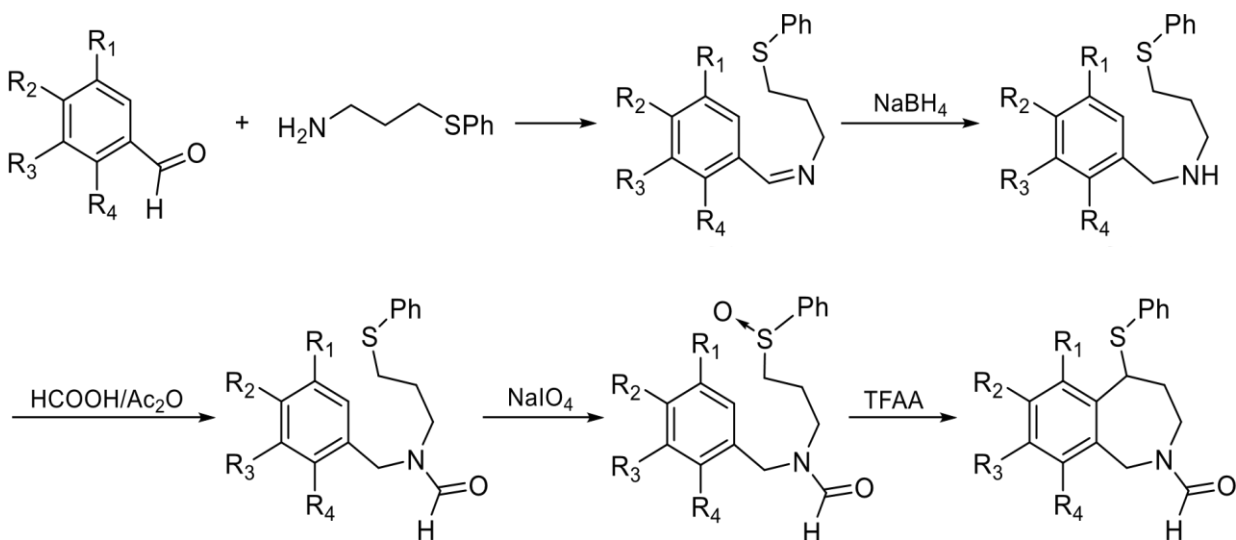


Рисунок 2.1.4. Синтез 2-бензазепіонів.

За рахунок послідовних перетворень (модифікована реакція Пумерера) – реакції ароматичних альдегідів з аміном, в результаті чого отримували іміни, які відновлювали, N-формілювали та окислювали до сульфоксидів, отримано семичленні гетероцикли – похідні бензазепіну (рис. 2.1.5).



де  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OMe$ ,  $R^4 = H$

Рисунок 2.1.5. Синтез за реакцією Пумерера.

На рисунку 2.1.6 показана схема хімічних реакцій, у які здатні вступати дибензазепіни, а саме CBZ:

-окиснення за бензеновим циклом з утворенням епоксиду – карбмазепіну 2,3-епоксид;

- окиснення за азепіновим циклом з утворенням епоксиду – карбамазепіну 10,11-епоксид;
- зменшення семичленного циклу із утворенням 9-акридинкарбоксальдегіду;
- гідроліз за позицією N-азепінового циклу з утворенням іміностильбену;
- гідроксилювання бензенового кільця – утворення 2-гідроксикарбамазепіну;
- гідроксилювання іміностильбену – утворення 2-гідроксиіміностильбену;
- гідроксилювання карбамазепіну 2,3-епоксиду – утворення 3-гідроксикарбамазепіну та 2,3-дигідроксикарбамазепіну (карбамазепіну катехолу);
- окиснення 2-гідроксиіміностильбену до імінохінону;
- окиснення 2,3-дигідроксикарбамазепіну (карбамазепіну катехолу) до карбамазепіну-*o*-хінону.

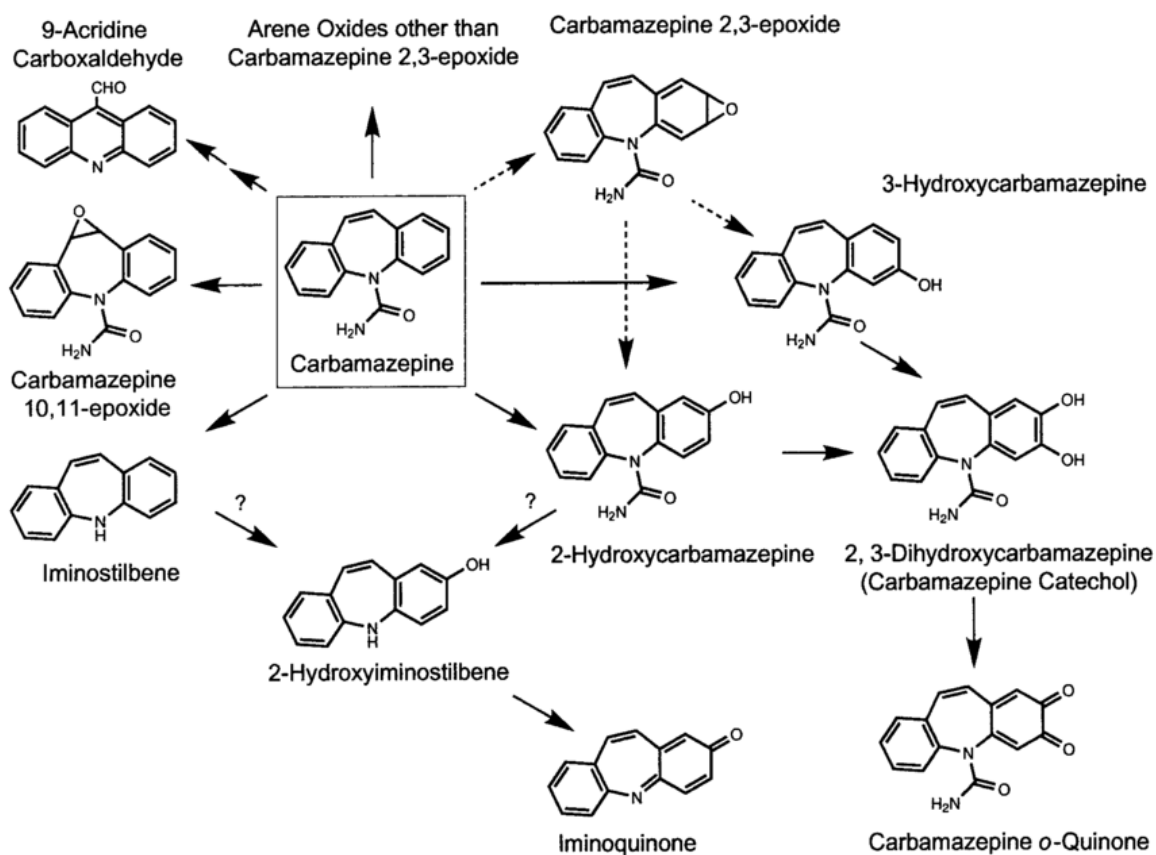


Рисунок 2.1.6. Схеми хімічних перетворень карбамазепіну та продуктів його реакцій.

Субстанція СВЗ погано розчинна у воді. Завдяки сучасним технологіям розроблена нова форма таблеток ЕОР СВЗ з підсилювачами розчинності та полімер, що набухає. Метою такої розробки є зменшення побічних ефектів та покращення пацієнтом режиму прийому ліків [26]. Обрана комбінація солюбілізуючих носіїв, які покращають розчинення лікарської речовини. Розроблено новий планшет ЕОР.

Досліджено вплив різних змінних складів ядра та оболонки таблетки на шляхи вивільнення оптимізацією одного параметра та ортогонального дизайну. За результатами дослідження, значно покращена розчинність СВЗ за допомогою застосування комбінованого полівінілпіролідону (PVP K30) і лаурилсульфату натрію (SLS) у мінімальних кількостях. Швидкість вивільнення ЛЗ залежить від кількості та Мм пластифікатора. Впливає, також, осмотичний агент. Кількість набухаючого полімеру, в'язкість, товщина напівпроникної мембрани, також, впливають на швидкість вивільнення. Виявлено, що на тенденцію досягнення кінетики нульового порядку впливають не компоненти ядра, а компоненти оболонки.

Таким чином, розроблена форма таблетки задовольняє критерії USP. Така форма здатна доставляти СВЗ 80% до біологічних мішеней приблизно протягом до 12 год.

Методом твердофазної екстракції (SPE) з РХ у тандемі із мас-спектрометрією (LC-MS/MS) проведено кількісне визначення карбамазепіну та п'яти його метаболітів (10,11-дигідро-10,11-епоксикарбамазепіну, 10,11-дигідро-10,11-дигідроксикарбамазепін, 2-гідроксикарбамазепін, 3-гідроксикарбамазепін, 10,11-дигідро-10-гідроксикарбамазепін). За допомогою методу SPE проводили концентрацію цільових сполук із водних розчинів. За допомогою електророзпилювача LC-MS/MS аналізували екстракти. Паралельно виконується моніторинг швидкості процесу. Інструментальні межі виявлення 0,8-4,8 пг.

Карбамазепін та його 5 метаболітів були кількісно визначені вказаними методами. Метаболіт 10,11-дигідро-10,11-дигідроксикарбамазепін виявлено у 3 рази вищих концентраціях, ніж вихідна сполука – карбамазепін. Таке дослідження кількісного визначення одночасно карбамазепіну та його 5-ти метаболітів було проведено вперше.

## 2.2. Методи контролю якості препаратів на основі карбамазепіну

Структурові особливості молекули бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду забезпечують можливість молекули не тільки вступати в хімічні модифікації, а, й визначати речовину інструментальними методами (рис. 2.2.1)

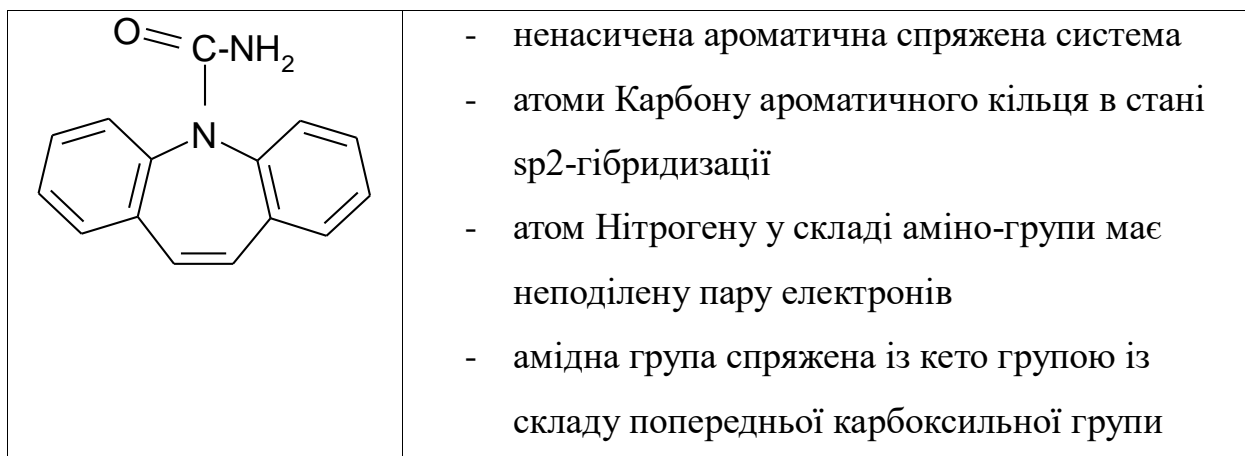


Рисунок 2.2.1. Особливості хімічної природи молекули бензо[b][1]бензазепін-11-карбоксаміду.

Імплементация високотехнологічних інструментальних методів у аналіз карбамазепіну та його аналогів залишається важливою складовою аналізу, оскільки ці речовини можуть небезпечно впливати на організм людини.

Карбамазепін або 5Н-добензо[b,f]азепін-5-карбоксамід є субстанцією з білим або жовтуватим-білим кольором, це – кристалічний порошок без запаху. Має різну розчинність у полярних та неполярних розчинниках. Речовина є поліморфною. Допускається кристалічна форма. Брутто-формула  $C_{15}H_{12}N_2O$ .

Розчинність (за ДФУ): дуже мало розчинний у вода *P*, легко розчинний у метиленхлориді *P*, помірно розчинний в ацетоні *P* та етанолі (96%) *P*.



До випробувань субстанції відноситься визначення кислотності або лужності. Виконують процедуру таким чином: субстанцію розчиняють у воді *P* вільної від карбону діоксиду *P*, струшують, фільтрують, додають розчини фенолфталеїну *P* та натрію гідроксиду. З'являється червоне забарвлення, яке після додавання розчину хлористоводневої кислоти знебарвлюється. Червоне забарвлення з'являється, також, при додаванні розчину *P* метилового червоного. Ідентифікацію 5Н-добензо[*b,f*]азепін-5-карбоксаміду проводять визначенням температури плавлення – 189-193°C. Також, використовують метод ІЧ-спектрофотометрії.

Згідно ДФУ [27] у субстанції супровідні домішки виявляються методом РХ (2.2.29). Випробувані розчини готують у метанолі. Розчин порівняння містить 7,5 мг ФСЗ карбамазепіну, 7,5 мг ФСЗ карбамазепіну домішки А, 7,5 мг імінодибензилу Р (домішки Е) у метанолі. Рухома фаза наступна: ТГФ Р-метанол Р2-вода Р (3:12:85) з додаванням мурашиної кислоти безводної Р і триетиламіну Р. УФ-детектування проводять при 230 нм.

У ДФУ декларується 7 домішок 5Н-добензо[*b,f*]азепін-5-карбоксаміду, а саме А (10,11-дигідро-5Н-добензо[*b,f*]азепін-5-карбоксамід або 10,11-дигідрокарбамазепін) та Е (10,11-дигідро-5Н-добензо[*b,f*]азепін або імінодибензил) – специфіковані домішки (рис. 2.2.2) та неспецифіковані домішки В, С, D, F, G, вміст яких нормується загальноприйнятими критеріями.

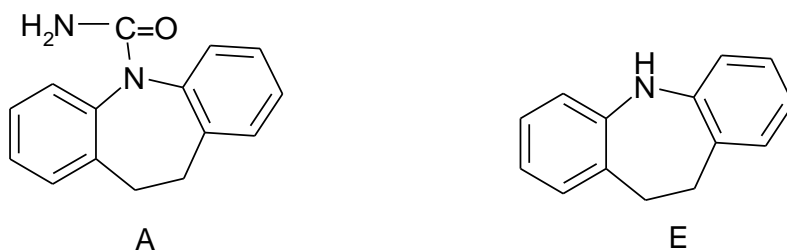
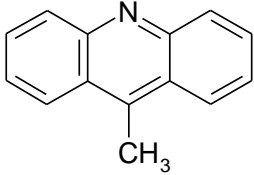
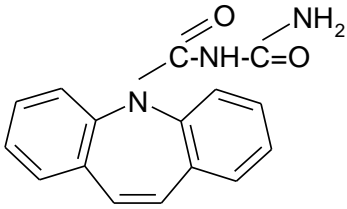
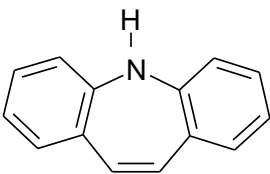
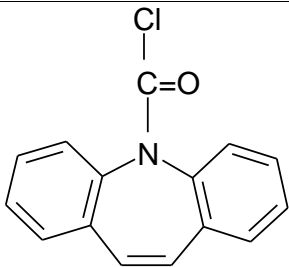
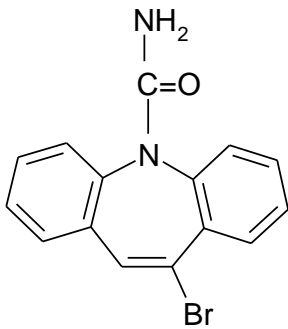


Рисунок 2.2.2. Хімічні формули специфікованих домішок А (10,11-дигідро-5Н-добензо[*b,f*]азепін-5-карбоксамід або 10,11-дигідрокарбамазепін) та Е (10,11-дигідро-5Н-добензо[*b,f*]азепін або імінодибензил).

До неспецифікованих домішок відносять:

  	<b>B</b> 9-метилакридин  <b>C</b> N-карбамоїлкарбамазепін  <b>D</b> іміностілбен
 	<b>F</b> 5-хлоркарбоніліміностілбен  <b>G</b> 10-бромкарбамазепін

Європейська Фармакопея [28] та Польська Фармакопея [29] декларують аналогічні умови приготування досліджуваних розчинів, метод РХ з УФ-детектуванням при 230 нм.

### РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Для виконання хіміко-токсикологічних досліджень субстанції 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду (виробник Індія) проведено підбір системи розчинників та досліджено його розчинність.

Підбором розчинників виявлено, що субстанція 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду розчиняється в органічних розчинниках табл. 3.1.)

Таблиця 3.1. Дослідження розчинності 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду

Згідно ДФУ [27]	Знайдено
дуже мало розчинний у вода <i>P</i>	1) помірно розчинний в етанолі (96%)
легко розчинний у метиленхлориді <i>P</i>	(3 мг/мл)
помірно розчинний в ацетоні <i>P</i>	2) помірно розчинний в ДМСО (25
помірно розчинний в етанолі (96%) <i>P</i>	мг/мл)
	3) помірно розчинний в ДМФА (25
	мг/мл)
	4) помірно розчинний у водних
	буферних розчинах (фосфатний
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$ , карбонатний
	$\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ )
	5) помірно розчинний у
	пропіленгліколі-хлороформі (1:10)
	6) помірно розчинний у водн.р-ні 2-
	гідроксипропіл- $\beta$ -циклодекстрину
	(29 мг/мл)
	7) добре розчинний у ДМФА-
	моноетиловий етер етиленгліколю

	8) добре розчинний у суміші ДМСО-фосфатно-сольовий буфер (PBS) (1:1) при значенні рН 7.2
--	--

Методика (дослідження розчинності). Субстанцію 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду розчиняли у ДМСО, розбавляли водним буфером фосфатно-сольовим (PBS). Субстанція має розчинність 0,5 мг/мл у суміші ДМСО-фосфатно-сольовий буфер (PBS) (1:1) при значенні рН 7.2. Аналогічно проведені інші розчинення.

Методика (дослідження розчинності). Субстанцію 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду у надлишковій кількості (40 мг) переносили у флакон (із 10 мл вільного об'єму) із кришкою, яка герметично закривається, струшували на ротаційному шейкері 24 годин при 25°C. Зразки фільтрували через мембранний фільтр 0,45 мкм (Millipore). Проводити органолептичне дослідження зразків на присутність нерозчинених кристалів та інших механічних включень. Зразки готові для спектрофотометричного дослідження у разі необхідності.

Модельні зразки біологічного матеріалу – субстанція 5Н-дибензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду розчиненою у системі ДМСО-PBS, 1:1 (24 год витримана при Т 25°C).

Методика (визначення рН модельного зразку за допомогою лакмусових папірців). Синій і червоний лакмусовий папір опускають в досліджуваний розчин на 1-2 хв, проводять органолептичний контроль. Спостерігали почервоніння синього папірця, а колір червоного папірцю залишався практично без зміни. Значення рН досліджуваного модельного зразку 4.5.

Реакція розчину буде змінюватися до кислої після катаболічних процесів та вивільнення певної кількості вільних Н<sup>+</sup>, які будуть утворюються

в результаті дисоціації органічних і неорганічних кислот. Іони  $H^+$  можуть зв'язуватися з буферними основами. Оскільки досліджувана субстанція слабо розчиняється у воді та інших полярних розчинниках, її розчиняли у системі ДМСО-PBS, 1:1 і потім переносили у розчин. Можна припустити утворення кислих метаболітів (продукти окиснення, гідроксилування) субстанції 5Н-добензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду, присутність яких знизила значення рН у бік кислого до 4.5.

УФ-спектр поглинання модельного зразку субстанції 5Н-добензо[b,f]азепін-5-карбоксаміду, 20 мг/л (у метанолі) (спектрометр Shimadzu UV-vis Spectrometer 1601 PC). УФ-спектр субстанції СВЗ має максимуми поглинання  $\lambda = 237, 285$  нм (Clark, А 1%, 1 см=490) (рис. 3.1).

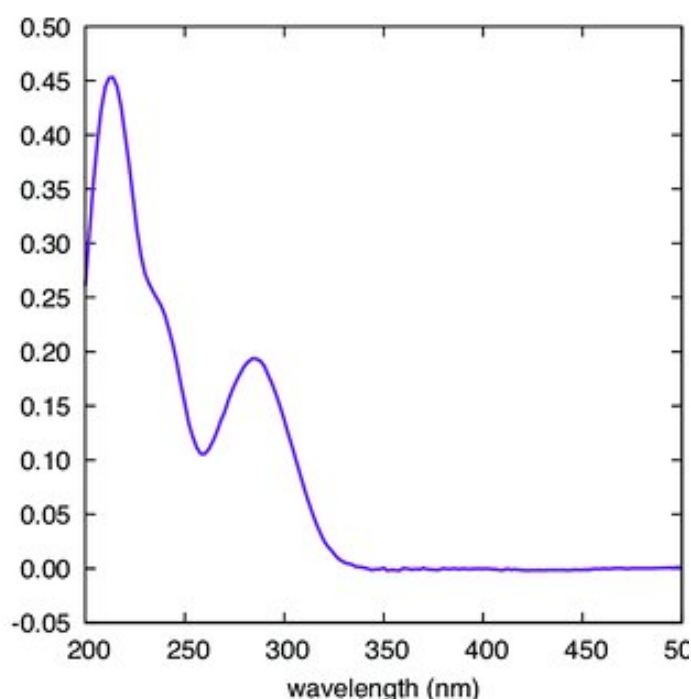


Рисунок 3.1. УФ-спектр СВЗ (субстанція).

На записаному УФ-спектрі модельного зразку (CBZ+ ДМСО-PBS, 1:1) спостерігалися максимуми поглинання  $\lambda = 259, 330$  нм (рис. 3.2). Крім того, присутній максимум поглинання  $\lambda = 214$  нм, що вказує на присутність продуктів деструкції досліджуваної субстанції.

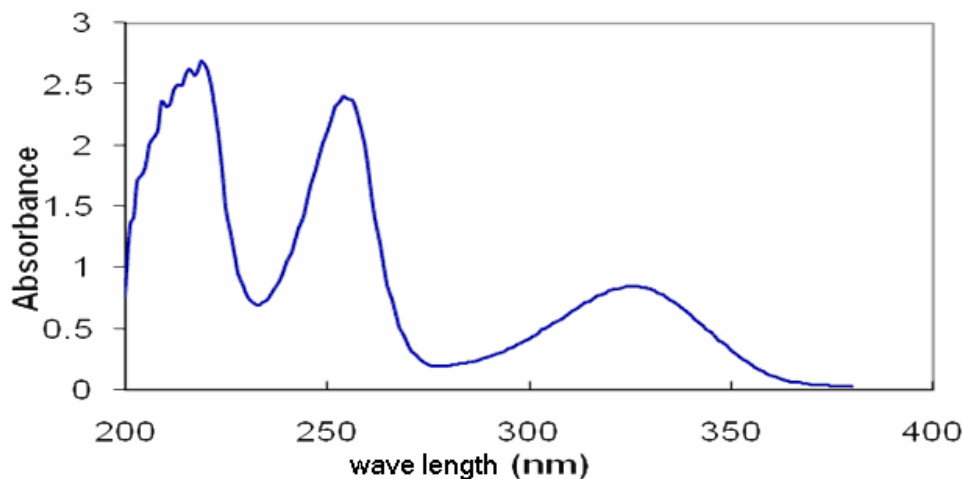


Рисунок 3.2. УФ-спектр модельного зразку сечі (CBZ+ ДМСО-PBS, 1:1).

ІЧ-спектр CBZ (субстанції) містить нехарактеристичні смуги помірної інтенсивності деформаційних коливань  $\delta_{NH}$  при  $1600\text{ cm}^{-1}$ , характеристичні смуги валентних коливань  $\nu_{C=O}$  при  $1715\text{ cm}^{-1}$ , смуги валентні коливання зв'язку C-N розташовані при  $1380\text{ cm}^{-1}$ , смуги деформаційних коливань  $\delta_{NH_2}$  спостерігаються при  $3500\text{-}3625\text{ cm}^{-1}$ .

ІЧ-спектр модельного зразку сечі (CBZ+ ДМСО-PBS, 1:1) (Specord M-80) (рис. 3.3) містить нехарактеристичні смуги помірної інтенсивності деформаційних коливань  $\delta_{NH}$  при  $1606\text{ cm}^{-1}$ , характеристичні смуги валентних коливань  $\nu_{C=O}$  при  $1696\text{ cm}^{-1}$ , смуги валентні коливання зв'язку C-N розташовані при  $1388\text{ cm}^{-1}$ , відсутні смуги деформаційних коливань  $\delta_{NH_2}$  спостерігаються при  $3500\text{-}3625\text{ cm}^{-1}$ .

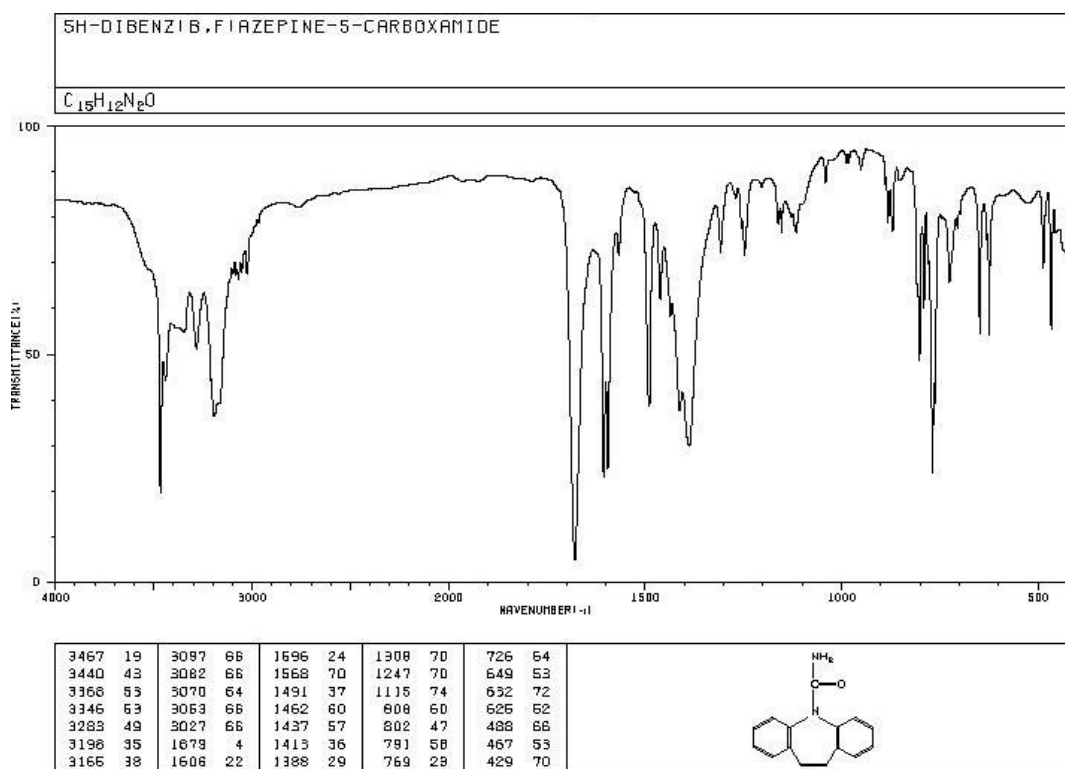


Рисунок 3.3. ІЧ-спектр модельного зразку сечі (CBZ+ ДМСО-PBS, 1:1).

Можна зробити висновок, що молекули субстанції CBZ у модельному зразку підлягали деструкції, або реакціям окиснення та гідролізу, оскільки сигнали просторово доступних функціональних груп ( $NH_2$ ) не проявляються на спектрі.

Фармацевтичні дослідження 2 зразки субстанції CBZ (виробник Індія) щодо присутності специфікованих та неспецифікованих, а також супровідних домішок для встановлення ступеню чистоти субстанції.

Матеріали та методи. Інструментальні дослідження проводили на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором при 230 нм.

У якості стандартного зразку використовували фармакопейні стандартні зразки Державної фармакопеї України карбамазепіну, карбамазепіну домішки А та імінодобензил R (домішка Е).

Умови хроматографування: колонка – NUCLEOSIL 100-5 CN-RP, 250x4,6x5; час хроматографування – 60 хв; потік – 1,5 мл/хв; детектування – УФ при 230 нм; об'єм інжекції – 20 мкл; температура колонки – 25°C. Готували розчин (ТГФ *P*, метанол *P*, вода *P* у співвідношенні 3:12:85; до 1000 мл цього розчину додати 0,3 мл мурашиної кислоти *P* та 0,5 мл триетиламін *P*).

*Приготування випробувального розчину.* 60 мг субстанції карбамазепіну розчиняли у 20 мл метанолу *P*. 10 мл отриманого розчину доводили до 20 мл водою *P* (концентрація карбамазепіна 1,5 мг/мл).

*Приготування стандартного розчину (ДФУ).* Наважку 7,5 мг карбамазепіна, 7,5 г карбамазепіну домішки А та 7,5 мг імінодобензилу В (домішка Е) розчиняли в 100 мл метанолу *P*. 1 мл отриманого розчину доводили до 50 мл сумішшю води *P* та метанолу *P* у співвідношенні 50/50.

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS.

Для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ використовували реактиви: мурашину кислоту (чистоти АР), метанол (чистоти для ВЕРХ), воду (чистоти для ВЕРХ) триетиламін (чистоти для ВЕРХ).

Отримані результати хроматографування методом ВЕРХ стандартного розчину (фармакопейні зразки) та випробуваних розчинів (2 зразки субстанції) надано у таблицях 3.2, 3.3.



Таблиця 3.2. Результати хроматографування методом ВЕРХ стандартного зразку.

	<i>Стандартний розчин</i>						
	<i>Imp A</i>		<i>Карбадіазепін</i>		<i>R</i>	<i>Imp E</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>		<i>RT</i>	<i>Area</i>
	11,715	63,699	13,838	94,445	3,4	32,240	4,493
	11,710	63,941	13,831	94,633	3,4	32,344	4,472
	11,707	63,253	13,829	92,911	3,4	32,371	4,481
	11,705	63,615	13,827	94,001	3,4	32,405	4,428
	11,704	63,100	13,824	93,324	3,4	32,382	4,520
	11,702	63,269	13,822	93,132	3,4	32,438	4,586
<b>Середнє</b>	<b>11,707</b>	<b>63,480</b>	<b>13,829</b>	<b>93,741</b>	<b>3,4</b>	<b>32,363</b>	<b>4,497</b>
<b>SD</b>			<b>0,006</b>	<b>0,720</b>			
<b>RSD(≤15.0%)</b>			<b>0,04%</b>	<b>0,77%</b>			

Таблиця 3.3. Результати хроматографування методом ВЕРХ досліджуваних зразків субстанції CBZ.

<i>Зразок 1</i>												
	<i>Imp 1</i>		<i>Imp 2</i>		<i>Imp A</i>		<i>CBZ</i>		<i>Imp 3</i>		<i>Imp E</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	3,837	0,577	9,615	1,307	11,722	4,868	13,622	41580,425	23,585	5,410	32,037	1,724
	3,834	0,568	9,599	1,170	11,719	4,811	13,609	41591,387	23,569	5,779	32,010	1,756
	3,834	0,553	9,581	1,254	11,714	5,146	13,611	41563,527	23,598	5,771	32,026	1,782
<b>Середнє</b>	<b>3,835</b>	<b>0,566</b>	<b>9,598</b>	<b>1,244</b>	<b>11,718</b>	<b>4,942</b>	<b>13,614</b>	<b>41578,446</b>	<b>23,584</b>	<b>5,653</b>	<b>32,024</b>	<b>1,754</b>

<i>Зразок 2</i>												
	<i>Imp 1</i>		<i>Imp 2</i>		<i>Imp A</i>		<i>CBZ</i>		<i>Imp 3</i>		<i>Imp E</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	3,829	0,534	9,581	1,229	11,724	5,102	13,626	41548,384	23,613	5,553	32,216	1,761
	3,835	0,528	9,602	1,235	11,737	5,084	13,640	41595,537	23,633	5,426	32,225	1,613
	3,829	0,552	9,606	1,266	11,726	4,808	13,631	41532,359	23,622	5,364	32,257	1,643
<b>Середнє</b>	<b>3,831</b>	<b>0,538</b>	<b>9,596</b>	<b>1,243</b>	<b>11,729</b>	<b>4,998</b>	<b>13,632</b>	<b>41558,760</b>	<b>23,623</b>	<b>5,448</b>	<b>32,233</b>	<b>1,672</b>

Також, записано хроматограми стандартного зразку та 2-х досліджуваних зразків субстанції CBZ (рис. 3.4, 3.5).

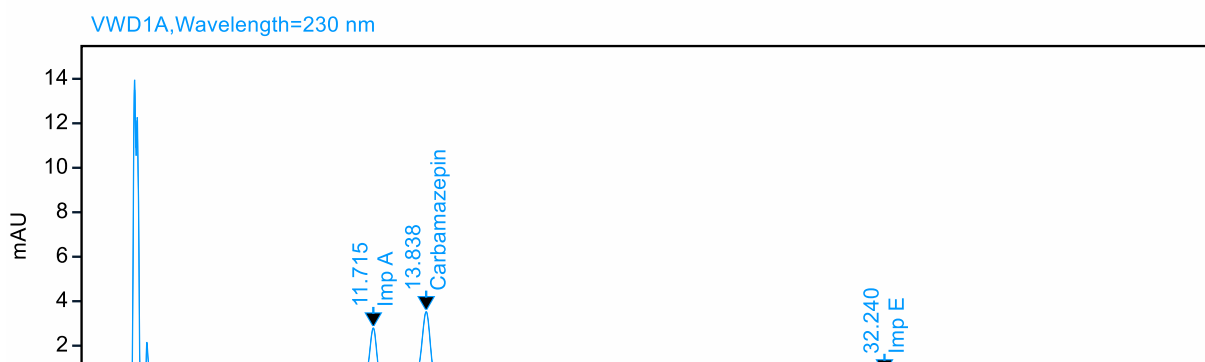


Рисунок 3.4. Хроматограма (ВЕРХ) досліджуваного фармакопейного зразку.

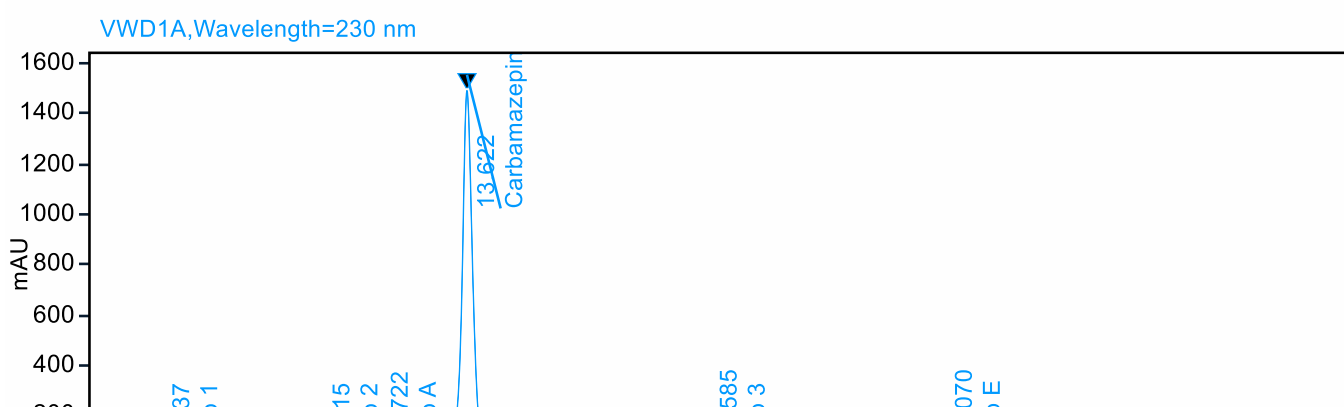


Рисунок 3.5. Хроматограма (ВЕРХ) досліджуваного зразку субстанції СВЗ.

Знайдено, що досліджувана субстанція окрім домішок А та Е містить не ідентифіковані неприпустимі домішки: *Imp 1* (Rt 3,831), *Imp 2* (Rt 9,596) та *Imp 3* (Rt 23,623), що свідчить про недостатню ступінь очищення субстанції та дозволяє виявити неприпустимі домішки більш сучасним високочутливим методом ВЕРХ.

Дослідження субстанцій СВЗ є перспективним у разі залучення у якості детектора мас-спектрометрію, що дозволить ідентифікувати неприпустимі супровідні речовини в субстанції карбамазепіну.

## ВИСНОВКИ

1. За допомогою нових розроблених методик досліджено фізико-хімічні параметри бензо[*b*][1]бензазепін-11-карбоксаміду (CBZ) субстанції (розчинність, рН значення її модельного зразку у сечі), проведено хіміко-токсикологічне дослідження її модельних розчинів сечі з CBZ+ДМСО-фосфатно-сольовий буфер (PBS), в результаті чого виявлено, що субстанція краще розчинна у суміші ДМСО-фосфатно-сольовий буфер (PBS) (1:1) при значенні рН 7.2 порівняно із іншими розчинниками, а значення рН досліджуваного модельного зразку сечі з CBZ змінюється до 4.5, що може бути результатом деструкції речовини (зміни її структури молекули підтверджуються УФ- та ІЧ-спектрами).
2. Підібрано умови та розроблено методику хроматографічного дослідження методом ВЕРХ CBZ субстанції на присутність специфікованих та неспецифікованих домішок.
3. Хроматографічне дослідження методом ВЕРХ досліджуваних зразків субстанції CBZ на присутність специфікованих та неспецифікованих домішок показало, що, окрім допустимих домішок А та Е зразки містять не ідентифіковані неприпустимі домішки: *Imp 1* (Rt 3,831), *Imp 2* (Rt 9,596) та *Imp 3* (Rt 23,623), що свідчить про недостатню ступінь очищення субстанції.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. European Chemicals Agency (ECHA): <http://echa.europa.eu/>, <https://echa.europa.eu/web/guest/legal-notice>
2. Maan JS, Duong TVH, Saadabadi A. Carbamazepine. 2023 Jan. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
3. Bunting SY, Lapworth DJ, Crane EJ, Grima-Olmedo J, Koroša A, Kuczyńska A, et al. Emerging organic compounds in European groundwater. *Environ Pollut*. 2021 Jan 15. 269:115945. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
4. Schwartz RA, McDonough PH, Lee BW. Toxic epidermal necrolysis: Part I: Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology and immunopathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2013;69:173.e1–13. doi: 10.1016/j.jaad.2013.05.003.
5. Philip Wexler, Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), Academic Press, 2014, pp. 665–667, ISBN 9780123864550, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00705-3>.
6. Carbamazepine Toxicity. Author: Muhammad Waseem, MBBS, MS, FAAP, FACEP, FAHA; Chief Editor: Stephen L Thornton, MD Updated: Sep 05, 2023.
7. Thong B. Stevens-Johnson syndrome / toxic epidermal necrolysis: an Asia-Pacific perspective. *Asia Pac Allergy*. 2013;3:215–23. doi: 10.5415/apallergy.2013.3.4.215.
8. Gambeta E, Chichorro JG, Zamponi GW. Trigeminal neuralgia: An overview from pathophysiology to pharmacological treatments. *Mol Pain*. 2020 Jan-Dec;16:1744806920901890.
9. Wu, F., Zhao, S., Yu, B., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020. Vol. 579, № 7798. P. 265–269. 2.

10. Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020. Vol. 579, № 7798. P. 270–273.
11. Chen, Y., Liu, Q., Guo, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*. 2020. Vol. 92, № 4. P. 418– 423.
12. Li ZH, Zlabek V, Velisek J, Bai Z, Jia K, Chen G, Liao X, Cao Z, Zhao Y, et al. Carbamazepine induces hepatotoxicity in zebrafish by inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Environ Pollut*. 2021 May 1. 276:116688. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
13. Apfelbaum JD, Caravati EM, Fernández-López L, Mancini R, Rotolo MC, Navarro-Zaragoza J, Hernández Del Rincón JP, Falcón M. Carbamazepine Overdose after Psychiatric Conditions: A Case Study for Postmortem Analysis in Human Bone. *Toxics*. 2022 Jun 13. 10 (6):[[QxMD MEDLINE Link](#)].
14. Vander T, Odi H, Bluvstein VG, Gummin DD, Mowry JB, Beuhler MC, Spyker DA, Rivers LJ, Feldman R, et al. 2021 Annual Report of the National Poison Data System(©) (NPDS) from America's Poison Centers: 39th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2022 Dec. 60 (12):1381-1643. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
15. John S, Balakrishnan K, Sukasem C, Anand TCV, Canyuk B, Pattharachayakul S. Association of *HLA-B\*51:01*, *HLA-B\*55:01*, *CYP2C9\*3*, and Phenytoin-Induced Cutaneous Adverse Drug Reactions in the South Indian Tamil Population. *J Pers Med*. 2021 Jul 28. 11 (8):[[QxMD MEDLINE Link](#)].
16. Toda, N., Tago, K., Marumoto, S., et al. A conformational restriction approach to the development of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter as potential agents for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2003. Vol. 11, № 20. P. 4389–4415.

17. Seto, M., Miyamoto, N., Aikawa, K., et al. Orally active CCR5 antagonists as anti-HIV-1 agents. Part 3: Synthesis and biological activities of 1-benzazepine derivatives containing a sulfoxide moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2005. Vol. 13, № 2. P. 363–386.
18. Ihtisham K, Ramanujam B, Srivastava S, Mehra NK, Kaur G, Khanna N, et al. Association of cutaneous adverse drug reactions due to antiepileptic drugs with HLA alleles in a North Indian population. *Seizure*. 2019 Mar. 66:99-103. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
19. Gallego MDC, García MA. Acute Carbamazepine Intoxication. *Neurol Int*. 2022 Jul 22. 14 (3):614-618. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
20. Hou WS, Tsai JP, Chiu YH, Lu ML. Carbamazepine-induced DRESS Syndrome: A Rare Delayed Hypersensitivity Reaction. *J Psychiatr Pract*. 2022 Mar 3. 28 (2):166-169. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
21. Yakut N, Yuksel E, Algul M, Armut M, Akar HH. Diagnostic challenges of old diseases in the COVID-19 era: a report of two cases of carbamazepine-induced DRESS syndrome. *Wounds*. 2022 Oct. 34 (10):E101-E103. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
22. Nasif MA, Falana HH, Hamed HKH, Yousef QGH, Jaradat MA. Severe Carbamazepine Toxicity Treated with Continuous Venovenous Hemofiltration at Palestine Medical Complex: Two Case Reports. *Int Med Case Rep J*. 2022. 15:205-208. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
23. Al Rajaibi R, Al Rumhi T, Al Abri AM. Carbamazepine-Induced Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis Overlap Treated Successfully with Oral Cyclosporin: Case report and literature review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2021 Aug. 21 (3):491-494. [[QxMD MEDLINE Link](#)].
24. Latifi S, Messer T. The Efficacy of Tiapride and Carbamazepine Combination Therapy in Reducing Alcohol Withdrawal Symptoms: A

- Systematic Review and Meta-Analysis. Pharmacopsychiatry. 2019 Sep;52(5):209-216. [[PubMed](#)]
25. Gambeta E, Chichorro JG, Zamponi GW. Trigeminal neuralgia: An overview from pathophysiology to pharmacological treatments. Mol Pain. 2020 Jan-Dec;16:1744806920901890. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
26. Márton Pápai, Tibor Benedek, András Táncsics, Till L. V. Bornemann, Julia Plewka, Alexander J. Probst, Daood Hussein, Gergely Maróti, Ofr Menashe, Balázs Kriszt. Selective enrichment, identification, and isolation of diclofenac, ibuprofen, and carbamazepine degrading bacteria from a groundwater biofilm. Environmental Science and Pollution Research (2023) 30:44518–44535. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24975-6>
27. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2. стор. 350-352.
28. European Pharmacopoeia. Strasburg. 10-th ed. V.1.2019, p.2078-2080.
29. Farmakopea Polska, XI, Tom III, 2017, strona 2299-2300.

## SUMMARY

**Filatova Marta**  
IMPROVEMENT OF METHODS OF PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF  
CARBOXAMIDE DERIVATIVES ON THE EXAMPLE OF THE SUBSTANCE  
CARBAMAZEPINE

**The department of medicinal chemistry and toxicology**

**Scientific supervisor: prof., d. pharm. sc. Welchinska O.V.**

**Keywords:** carbamazepine (CBZ), carboxamide, toxicological analysis, HPLC.

**Introduction.** The relevance of the research lies in the development of new and improvement of existing methods of chemical-toxicological and pharmaceutical analysis by HPLC method of the substance carbamazepine (benzo[b][1]benzazepine-11-carboxamide), in order to identify and quantify unacceptable components in its composition, which can prevent toxic manifestations substances



**Materials and methods.** Research objects are substance CBZ (benzo[b][1]benzazepine-11-carboxamide), urine colution of CBZ. Research subject: solubility, pH value, purity of the CBZ substance. Computer analysis using the OpenLab CDS.

**Results.** The physical-chemical parameters of the benzo[b][1]benzazepine-11-carboxamide (CBZ) substance (solubility, pH value of its model sample in urine) were investigated with the help of newly developed methods, and a chemical-toxicological study of its model urine solutions with CBZ+DMSO-phosphate-saline buffer (PBS), as a result of which it was found that the substance is more soluble in a mixture of DMSO-phosphate-saline buffer (PBS) (1:1) at a pH value of 7.2 compared to other solvents, and the pH value of the tested of a model sample of urine with CBZ changes to 4.5, which may be the result of the destruction of the substance (changes in the structure of the molecule are confirmed by UV and IR spectra). Select the conditions and develop a method of chromatographic research using the HPLC method of CBZ substance for the presence of specified and unspecified impurities. Chromatographic analysis by HPLC of the tested samples of the CBZ substance for the presence of specified and unspecified impurities showed that, in addition to permissible impurities A and E, the samples contain unidentified unacceptable impurities: Imp 1 (Rt 3,831), Imp 2 (Rt 9,596) and Imp 3 (Rt 23,623), which indicates insufficient purification of the substance.

**Conclusions.**The developed methods of winter toxicological and pharmaceutical analysis of the substance may have the prospect of implementing its analysis in laboratories.





<p>Науково-практичний семінар «Мистецтво фармації», Київ, МОЗ України, 15.02.2023 (програма безперервного професійного розвитку), Сертифікат № 2023-1004-5500582-100350 (10 балів).</p>	
<p>Фахова школа «Професійний розвиток провізора-фармацевта під час пандемії», Київ, Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупіка, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, 17.12.2023 (програма безперервного професійного розвитку), Сертифікат № 473.</p>	
<p>Фахова школа «Інфекції сечових</p>	

шляхів у вагітних – що потрібно знати лікарю первинної ланки», Київ, Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупіка, 17.12.2023 (програма безперервного професійного розвитку), Сертифікат № 1438.



Вельчинська О.,  
Мелешко Р., Філатова  
М., Штих О.  
Особливості аналізу  
субстанції  
гетероциклічного  
похідного  
карбоксаміду. Тези  
доповіді.  
Всеукраїнська  
науково-практична  
конференція з  
міжнародною участю  
«Запорізький  
Фармацевтичний  
Форум-23»,  
Запоріжжя, 23-24  
листопада 2023, стор.  
24.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

## МАТЕРІАЛИ

ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО- ПРАКТИЧНОЇ  
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ  
«ЗАПОРІЗЬКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
ФОРУМ - 2023»

23-24 листопада 2023 року



Запоріжжя – 2023