

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 «Визначення супровідних домішок в субстанції артикаїну (Comb drug) методом ВЕРХ»

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)

Козійчук Віта Сергіївна
(прізвище та ініціали)

Керівник: професор, д.мед.н. Ніженковська І.В.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

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

Київ – 2024-2025 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	12
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ ТІОФЕНУ	12
1.1. Особливості хімічної будови	12
1.2. Біологічна активність	17
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ПОХІДНИХ ТІОФЕНУ	23
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	23
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	28
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY.....	41
ДОДАТОК 1.....	42

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 – мікромметр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – наномметр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

Ach – acetylcholine

AD – Alzheimer's disease

АМРК – adenosine monophosphate protein kinase

CAP – cholinergic anti-inflammatory pathway

ChAT – choline acetyltransferase

CO-OPERA – Citicoline Oral Plus Endovascular Recanalization for Acute Ischemic Stroke

CRP – C-reactive protein

CTP – cytidine triphosphate

GPx – glutathione peroxidase

GSH – glutathione

ICH – intracerebral hemorrhage

iNOS – inducible nitric oxide synthase

IRS-1 – insulin receptor substrate-1

LIDO - lidocaine

MS – multiple sclerosis

PD – Parkinson's disease

SMT – S-methylisothiouria sulfate

STAT – signal transducer and activator of transcription

TXA – tranexamic acid

ВСТУП

Актуальність теми. Артикаїн або (RS)-метил-4-метил-3-(2-пропіламінопропаноїламіно)тіофен-2-карбоксилат це місцевий анестетик, відноситься до амідів. У структурі молекули артикаїну міститься тіофенове кільце. Це єдиний місцевий анестетик з тіофеновим кільцем у структурі. Його називають «тіофенним» анестетиком. Наявність гетероциклічного фрагменту у молекулі артикаїну забезпечує його розчинність у ліпідах (рис.1).

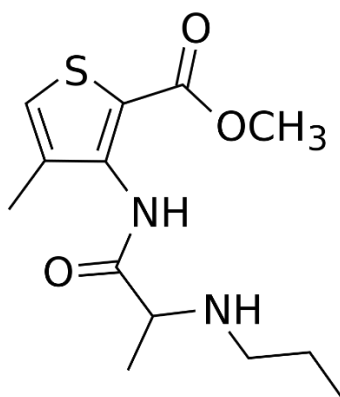


Рисунок 1. Структура артикаїну.

Артикаїн використовується для знеболення, викликає повністю оборотний стан анестезії під час стоматологічних процедур. У стоматології артикаїн застосовується для інфільтраційних ін'єкцій.

Артикаїн асоціювався з більш високим ризиком пошкодження нервів під час використання при блокаді. Артикаїн здатний проникати через щільну коркову кістку в нижній щелепі краще, ніж більшість інших місцевих анестетиків. Артикаїн краще працює у пацієнтів з гіпокаліємічною сенсорною надмірною стимуляцією, ніж лідокаїн, який не дуже ефективний.

Дослідження показали, що артикаїн є більш ефективним, ніж лідокаїн при знеболюванні задньої першої молярної області. Артикаїн в 3,81 рази частіше, ніж лідокаїн, виробляє успішну анестезію при застосуванні для

інфільтраційних ін'єкцій. Немає доказів, що підтверджують перевагу артикаїну над лідокаїном для блокад нижніх альвеолярних нервів [1-6].

Було продемонстровано, що артикаїн перевершує лідокаїн у застосуванні додаткової інфільтрації після постійного болю при успішній блокаді нижнього зубного нерва з лідокаїном.

Артикаїн гідрохлорид використовується у вигляді 4-% розчину з концентрацією адреналіну 1:100 000 або 1:200 000. Зазвичай він поставляється в карпулі об'ємом 1,7 мл для використання в стоматології.

Максимальна доза артикаїну становить 7 мг/кг (3,2 мг/фунт). Його можна вводити дорослим і дітям старше чотирьох років. Його тривалість коливається від 45 хвилин до 75 хвилин. Період напіврозпаду становить 20 хвилин.

Дослідження показали ефективність артикаїну як місцевого анестетика при застосуванні для локальної інфільтрації. Артикаїн може призвести до парестезії. Артикаїн викликає більш високу частоту парестезії, ніж інші стоматологічні місцеві анестетики. Частота зареєстрованих парестезій становить лише приблизно 1 з 3,2 мільйона випадків при використанні артикаїну. Додаткові дослідження показали, що артикаїн можна використовувати для нервових блокад.

В кожному конкретному випадку необхідно визначати - підходить артикаїн для виконання блокади нерва або ні. Пацієнти можуть мати вищий ризик розвитку ускладнень. Артикаїн не є особливим протипоказанням для нервових блокад. Клініцисти та пацієнти повинні знати, що при застосуванні артикаїну спостерігається вищий рівень парестезії, ніж при застосуванні інших місцевих анестетиків в стоматології.

Універсальність та ефективність артикаїну в стоматології. Було доведено, що артикаїн є ефективним і безпечним місцевим анестетиком для використання в стоматології. Він може використовуватися для дітей і для дорослих пацієнтів. Особливо корисний артикаїн для локальної інфільтрації молярів нижньої щелепи.

Завдяки своїй універсальності та ефективності артикаїну гідрохлорид як популярний місцевий анестетик схвалений FDA. Це другий найбільш використовуваний стоматологічний місцевий анестетик у Сполучених Штатах Америки.

Артикаїн, як новий препарат для місцевої стоматологічної анестезії, став популярним у клініці. Анестезуюча ефективність артикаїну в клінічному стоматологічному лікуванні краща, ніж лідокаїну. Його безпека статистично не відрізняється від лідокаїну. Артикаїн має ряд переваг, може бути гнучко обраний для клінічного застосування. Артикаїн має великий потенціал для широкого застосування в стоматологічних клініках у найближчому майбутньому [7-11].

ДФУ та Європейська Фармакопея регламентують аналіз лікарського засобу Артикаїн гідрохлориду. Супровідні речовини (специфіковані та неспецифіковані домішки) аналізують методом рідинної хроматографії.

До специфікованих домішок відносяться домішка А.

До неспецифікованих домішок відносяться домішки В, С, D, E, F, G, H, I, J.

Домішка А. метил 4-метил-3-[[2-(пропіламіно)ацетил]аміно]тіофен-2-карбоксилат (ацетамідоартикаїн),

Домішка В. 4-метил-3-[[2-(пропіламіно)пропаніл] - аміно]тіофен-2-карбонова кислота (артикаїнова кислота),

Домішка С. 1-метилетил 4-метил-3-[[[(2RS)-2-(пропіламіно)пропаноіл]аміно]тіофен-2-карбоксилат (ізопропіловий ефір артикаїну),

Домішка D. метил 3-[[[(2RS)-2-(етиламіно)пропаноіл]аміно]-4-метилтіофен-2-карбоксилат (етилартикаїн),

Домішка Е. метил 4-метил-3-[[[(2RS)-2-[(1-метилетил)аміно]пропаноіл]аміно]тіофен-2-карбоксилат (ізопропілартикаїн),

Домішка F. 4-метил-N-пропіл-3-[[[(2RS)-2-(пропіламіно)пропаноіл]аміно]тіофен-2-карбоксамід (пропіонамід артикаїнової кислоти),

Домішка G. метил 3-[[[(2RS)-2-(бутиламіно)пропаноіл]аміно]-4-метилтіофен-2-карбоксилат (бутилартикаїн),

Домішка H. метил 3-[[[(2RS)-2-(дипропіламіно)пропаноіл]аміно]-4-метилтіофен-2-карбоксилат (дипропілартикаїн),

Домішка I. метил 3-аміно-4-метилтіофен-2-карбоксилат (3-аміноартикаїн),

Домішка J. метил 3-[[[(2RS)-2-бромпропаноіл]аміно]-4-метилтіофен-2-карбоксилат (бромсполука).

Домішки можуть бути присутні на достатньому рівні. Їх вміст обмежений за критеріями прийнятності для невизначених домішок.

Таким чином, субстанція для виготовлення фармацевтичної композиції із ТХА у складі вимагає фармацевтичної процедури для підтвердження її чистоти, оскільки вона може містити супровідні речовини – неприпустимі домішки.

Використовуючі рекомендації Фармакопей для хроматографування випробовуваної субстанції методом рідинної хроматографії необхідно

адаптувати для аналізу випробовуваного зразку з АФІ Артикаїн методом ВЕРХ як більш ефективного методу. Речовина може підлягати хімічній деградації під впливом різних чинників та утворювати молекули іншої структури.

Можливе утворення її побічних продуктів під час синтезу субстанції. Під час очистки досліджуваної субстанції залишаються специфіковані і неспецифіковані домішки. Всі ці фактори можуть призвести до зниження якості та чистоти випробовуваної субстанції.

Як відомо, супровідні речовини у складі лікарського засобу Артикаїну гідрохлориду визначають методом рідинної хроматографії (РХ). Визначають чистоту субстанцій на присутність енантіомерів.

Виходячи із наявності описаних фармакопейних методик дослідження лікарського засобу Артикаїну гідрохлориду методом РХ постає завдання розробити або модифікувати умови хроматографічного дослідження та методики дослідження чистоти субстанції цього лікарського засобу, який досліджували, методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Це дозволить впровадити метод ВЕРХ у фармацевтичний аналіз субстанції Артикаїну.

Під час розробки або адаптування умов хроматографування випробовуваної субстанції Артикаїну важливо розробити коректні умови хроматографування. Вони повинні забезпечити виявлення одночасно АФІ – Артикаїн та його супровідні речовини, а також, наявність ізомерів і домішок, їх кількісне визначення та запобігти хімічній деградації компонентів субстанції.

Актуальним завданням експериментальної роботи є ідентифікація з подальшим визначенням специфікованих або неспецифікованих домішок субстанції або неприпустимих речовин і продуктів хімічної деградації в субстанції Артикаїну для приготування фармацевтичних препаратів

хроматографічним методом (ВЕРХ) з УФ-детектуванням при модифікації довжин хвиль.

Метою експериментального дослідження є ідентифікація АФІ – Артикаїну у випробовуваній субстанції з метою визначення її чистоти, визначення домішок за допомогою хроматографічного (ВЕРХ) методу з УФ-детектуванням при модифікації довжини хвилі шляхом адаптації умов та методик дослідження, які дозволять захистити структуру молекул від хімічної деградації.

Завдання експериментального дослідження:

- ідентифікувати АФІ – Артикаїн та супровідні речовини у складі випробовуваної субстанції та визначити її чистоту методом ВЕРХ;
- адаптувати методики дослідження та розробити умови дослідження, які дозволять захистити структуру молекул від хімічної деградації;
- провести інструментальні дослідження випробовуваних зразків у порівнянні зі стандартними та інтерпретувати отримані результати.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія, хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – Symmetry300 C18; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у ідентифікації та визначенні чистоти АФІ Артикаїну та домішок у складі випробовуваної субстанції високотехнологічним методом ВЕРХ в умовах, які дозволять зберегти хімічну структуру досліджуваного АФІ від хімічної деградації.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації тези доповіді на V Науково-практичній конференції з міжнародною участю

«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» в онлайн форматі 28-29 січня 2025 р., м. Київ, Україна.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 42, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 28.

SUMMARY

Koziychuk Vita

DETERMINATION OF ACCOMPANING IMPURITIES IN THE SUBSTANCE OF ARTICAINE (COMB DRUG) BY THE HPLC METHOD

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: prof., doctor of med. sc. Nizhenkovska I.V.

Keywords: articaine, thiophene, anesthetic, HPLC, impurities, scaffold.

Introduction. Articaine is a local anesthetic that belongs to amides. The structure of the articaine molecule contains a thiophene ring. It is the only local anesthetic with a thiophene ring in the structure. It is called a "thiophene" anesthetic. The presence of a heterocyclic fragment in the articaine molecule ensures its solubility in lipids. The SPU and the European Pharmacopoeia regulate the analysis of the medicinal product Articaine hydrochloride. Accompanying substances (specified and unspecified impurities) are analyzed by liquid chromatography. Specified impurities include impurity A.

Materials and methods. Objects of research are substance of Articaine and its standard samples. Research subject: development of conditions for HPLC study of pharmaceutical analysis of Articaine substances. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector, column Symmetry300 C18; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The study of the purity of the Articaine substance and its identification (by retention time) under alternative conditions of chromatography using the HPLC method with a higher identification capacity at UV detection of 276 nm was carried out. The conditions of chromatography by the HPLC method of Articaine substance were adapted (UV detection at 276 nm; mobile phase: acetonitrile R - acetic acid anhydrous R - water for chromatography R (5:1:8, V/V/V), 1 g of sodium heptanesulfonate, pH (3.4±0.1) using 1 M sodium hydroxide solution;

Conclusions. Using the HPLC method, it was found that Articaine contained accompanying substances and unacceptable impurity 1 in the tested substance, which confirms the insufficient purity and quality of the tested substance.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів

За матеріалами дослідження прийняті до публікації тези доповіді на V Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» в онлайн форматі 28-29 січня 2025 р., м. Київ, Україна.

Приймала участь у вебінарі у якості слухача – FIP, The Netherland.

