

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 транексамової кислоти в субстанціях лікарських засобів методом ВЕРХ»

Виконав: здобувач вищої освіти 3 курсу, групи Б1Б
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)

Рожко Софія Миколаївна

(прізвище та ініціали)

Керівник: к.мед.н, ас. Брезіцька Н.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: доцент, к.фарм.н. Нароха В.П.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2024-2025 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	11
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ АМІНОКИСЛОТ.....	11
1.1. Особливості хімічної будови	11
1.2. Біологічна активність	16
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ АМІНОКИСЛОТ.....	20
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	20
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY.....	40

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

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

Ach – acetylcholine

AD – Alzheimer's disease

AMPK – 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-methylisothiourrea sulfata

STAT – signal transducer and activator of transcription

TXA – tranexamic acid

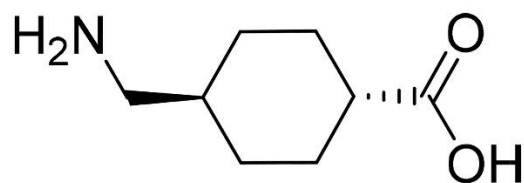
ВСТУП

Актуальність теми. Транексамова кислота (транс-4-(амінометил)циклогексанкарбонова кислота або ТХА) – це препарат, який використовується для лікування або запобігання надмірної крововтрати внаслідок великої травми, кровотечі після пологів, хірургічного втручання, видалення зуба, носової кровотечі та менструацій. Він використовується для лікування спадкового ангіоневротичного набряку. Приймають лікарський засіб перорально та у вигляді внутрішньовенних ін'єкцій або шляхом внутрішньом'язової ін'єкції.

Транексамова кислота є синтетичним аналогом лізину. Діє як антифібринолітик, зв'язуючи ділянки рецепторів лізину на плазміногені, зменшуючи перетворення плазміногену в плазмін та запобігаючи деградації фібрину. При цьому зберігається структура матричної структури фібрину.

Транексамова кислота має у вісім разів більшу антифібринолітичну активність, ніж її аналог ϵ -амінокапронова кислота. Транексамова кислота інгібує активність плазміну зі слабкою дією ($IC_{50} = 87 \text{ мМ}$) та може блокувати активний сайт урокінази плазміногенного активатора (uPA) з високою специфічністю. Побічні ефекти після прийому препарату виникають рідко. Іноді спостерігаються зміни кольорового зору, судоми, згустки крові та алергічні реакції. Транексамова кислота безпечна для використання під час вагітності та годування груддю[1-6].

Транексамову кислоту вперше синтезували в 1962 році дослідники Шосукі та Утако Окамото. Він входить до списку основних лікарських засобів Всесвітньої організації охорони здоров'я (рис. 1).



Tranexamic acid

1

Рисунок 1. Структура транексамової кислоти.

Транексамова кислота часто використовується після великої травми. Транексамова кислота використовується для запобігання та лікування крововтрати в різних ситуаціях.

Встановлено, що транексамова кислота знижує ризик смерті з будь-якої причини у людей. Він найбільш ефективний, якщо його прийняти протягом перших трьох годин. Він також знижує ризик смерті при введенні його протягом перших трьох годин після травми головного мозку. Транексамова кислота використовується для лікування менструальних кровотеч.

Препарат безпечно та ефективно лікує регулярні рясні менструальні кровотечі. Дозу не потрібно коригувати для жінок у віці від 12 до 16 років. Транексамова кислота та інші пероральні препарати (мефенамінова кислота) виявилися такими ж ефективними, як внутрішньоматкова спіраль з левоноргестрелом [7-11].

Нещодавно ТХА було включено до основного списку основних лікарських засобів ВООЗ для використання у дорослих пацієнтів із травмами та з ризиком значної кровотечі протягом 8 годин. Повідомлялося про його корисність у широкому діапазоні клінічних станів для лікування аномальної кровотечі або схильності до кровотечі.

ТХА використовується для лікування жінок, які страждають на менорагію, кровотечу під час вагітності, лікування післяпологової кровотечі, при кровотечі з верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, для зменшення крововтрати та переливання у пацієнтів з травмами.

Терапевтична цінність ТХА розглядається для запобігання росту клітин карциноми яєчників людини. Були запропоновані інші потенційні клінічні та косметичні застосування для ТХА - лікування індукованої ультрафіолетовим випромінюванням пігментації, пригнічення індукованої ультрафіолетовим опроміненням очей, для активації меланоцитів [12-20].

ДФУ не регламентує аналіз ТХА. Європейська Фармакопея регламентує аналіз ТХА. Супровідні речовини (специфіковані та неспецифіковані домішки) аналізують методом рідинної хроматографії.

До специфікованих домішок ТХА відносяться домішки В, С, D, E, F.

Специфіковані та неспецифіковані домішки аступні:

Домішка А. (1r,4r,1'r,4'r)-4,4'-[азандилбіс(метилен)]ді(циклогексан-1-карбонова кислота),

Домішка В. (1s,4s)-4-(амінометил)циклогексан-1-карбонова кислота,

Домішка С. (4RS)-4-(амінометил)циклогекс-1-ен-1-карбонова кислота,

Домішка D. 4-(амінометил)бензойна кислота,

Домішка Е. (1r,4r)-4-[[[(1r,4r)-4-(амінометил)циклогексан-1-карбоксамідо]метил]циклогексан-1-карбонова кислота,

Домішка F. (1r,4r)-4-(формамідометил)циклогексан-1-карбонова кислота.

Інші 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 Європейської Фармакопеї для хроматографування випробовуваної субстанції методом рідинної хроматографії необхідно адаптувати для аналізу випробовуваного зразку з АФІ ТХА методом ВЕРХ як більш сучасного та ефективного методу. Молекули речовини часто можуть підлягати хімічній деградації під впливом різних чинників та утворювати молекули іншої структури.

Під час синтезу субстанції можливе утворення її побічних продуктів. 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 субстанцій ТХА визначають методом рідинної хроматографії (РХ). Визначають чистоту субстанцій на присутність енантіомерів.

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

Під час розробки або адаптування умов хроматографування випробовуваної субстанції ТХА важливо розробити коректні умови хроматографування. Вони повинні забезпечити виявлення одночасно АФІ –

ТХА, специфіковані та неспецифіковані домішки, ізомери, їх кількісне визначення та запобігти хімічній деградації компонентів субстанції.

Актуальним завданням експериментальної роботи є ідентифікація з подальшим кількісним визначенням специфікованих або неспецифікованих домішок субстанції ТХА для приготування фармацевтичних препаратів хроматографічним методом (ВЕРХ) з УФ-детектуванням при модифікації довжин хвиль.

Метою експериментального дослідження є ідентифікація АФІ – ТХА у випробовуваній субстанції з метою визначення її чистоти, кількісного 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 – Транексамову кислоту 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 – ODS HYPERSIL, 250x4,6x5; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у ідентифікації та визначенні чистоти АФІ ТХА та домішок у складі випробовуваної субстанції

високотехнологічним методом ВЕРХ в умовах, які дозволять зберегти хімічну структуру досліджуваних 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-практичної 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 – 40, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 34.

Keywords: tranexamic acid, TXA, HPLC, impurities, scaffold.

Introduction. Tranexamic acid (trans-4-(aminomethyl)cyclohexanecarboxylic acid or TXA) is a drug used to treat or prevent excessive blood loss from major trauma, bleeding after childbirth, surgery, tooth extraction, epistaxis, and menstruation. It is used to treat hereditary angioedema. Tranexamic acid is a synthetic analogue of lysine. Acts as an antifibrinolytic by binding to lysine receptor sites on plasminogen, reducing the conversion of plasminogen to plasmin and preventing fibrin degradation. At the same time, the structure of the matrix structure of fibrin is preserved. The SPU does not regulate TXA analysis. The European Pharmacopoeia regulates the analysis of TXA. Accompanying substances (specified and unspecified impurities) are analyzed by liquid chromatography. Specified TXA impurities include B, C, D, E, F.

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

Results. A study of the purity of the tranexamic acid substance and its identification (by retention time) under alternative conditions of chromatography using the HPLC method with higher identification capacity at UV detection at 254 nm was carried out. The conditions of HPLC chromatography of the substance tranexamic acid were adapted (UV detection at 254 nm, flow 0.8 ml/min; injection 10 µl, mobile phase: pH value 2.5).

Conclusions. Using the HPLC method, it was found that THA does not contain accompanying impurities and unacceptable impurities in the tested substance, which confirms the high purity and quality of the tested substance.