

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 лідокаїну в субстанції
лікарського засобу 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)

Ханчич Аня 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 АЦЕТАМІДІВ.....	11
1.1. Особливості хімічної будови	11
1.2. Біологічна активність	16
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ АЦЕТАМІДІВ.....	23
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	23
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
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

MAPK – mitogen-activated protein kinase

MDD – major depressive disorder

MS – multiple sclerosis

PD – Parkinson's disease

SMT – S-methylisothiurea sulfate

STAT – signal transducer and activator of transcription

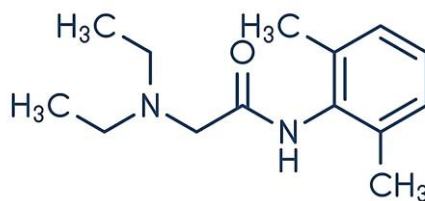
TNF- α – tumor necrosis factor-alpha

VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule-1

ВСТУП

Актуальність теми. Лідокаїн або ксилокаїн гідрохлорид (LD-HCl), аміноамід, має хімічну назву 2-(діетиламіно)-N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід моно гідрохлорид. Лідокаїн діє як місцевий анестетик, перешкоджаючи поширенню периферичних нервових імпульсів.

LD-HCl також використовується для спінальної анестезії та як антиаритмічний препарат. Лідокаїн є слабкою основою. Для приготування його водорозчинної солі та форми для ін'єкцій, необхідно додати гідрохлорид. Це широко використовуваний місцевий анестетик. Дозування для введення анестетика широко варіюється залежно від шляху та типу процедури. Найбільш поширені дозування, що містять 1-2% розчин лідокаїну (рис. 1) [1-5].



lidocaine

Рисунок 1. Хімічна формула Лідокаїну.

Лідокаїн також використовується як серцевий антиаритмічний засіб. Він діє шляхом блокування натрієвих каналів і зменшення частоти серцевих скорочень. Описано ситуації, коли лідокаїн показаний для серцевого лікування – це фібриляція шлуночків, шлуночкова тахікардія без пульсу, стійка мономорфна шлуночкова тахікардія зі збереженою функцією шлуночків. Перші дві ситуації супроводжують раптову зупинку серця. Дві другі ситуації вимагають базових знань про стан пацієнта та лікарняне середовище.

Лідокаїн гідрохлорид для ін'єкцій (USP) - це стерильний, непірогенний, ізотонічний розчин натрію хлориду. Класифікується як третинний амін, є

антиаритмічний засоб класу Ib (класифікація Вона-Вільямса). Лідокаїн впливає на центральну нервову систему (ЦНС), пригнічує рух іонів натрію, необхідних для проведення нервових імпульсів.

При будь-якому способі введення лідокаїн може досягти токсичних рівнів в організмі. У порівнянні з деякими іншими анестетиками та антиаритмічними засобами лідокаїн є достаньо безпечним для досягнення токсичних рівнів у крові. Його токсичність фіксується відносно рідко. Щоб запобігти токсичності та звести до мінімуму системні негативні ефекти, важливо відстежувати кумулятивну дозу.

Поріг дози для токсичності лідокаїну вважається 4,5 мг/кг маси тіла. При порушенні швидкості всмоктування при печінковій недостатності ця доза може бути меншою. Токсичність лідокаїну для м'язів і периферичних нервів може виникати локально або системно у випадку внутрішньовенної/внутрішньокісткової інфузії. Місцеві ознаки та симптоми токсичності - це оніміння, поколювання обличчя, шум у вухах, невиразне мовлення та тоніко-клонічні судоми. Системна токсичність призводить до судом, втрати свідомості та рідко серцевого колапсу.

Структурно лідокаїн розглядають як аналог ізограміну з відкритим ланцюгом. Він є біоізостеричним аналогом ізограміну (3-(диметиламінометил)індолом). Перевагами похідних лідокаїну перед похідними прокаїну є наступні: більш стійкі до гідролізу, можуть бути стерилізовані в автоклаві. Він більш потужний, має менші побічні ефекти, такі як менше місцеве подразнення порівняно з похідними прокаїну.

Молекула місцевого анестетика складається з трьох частин: 1) ароматичного кільця; 2) проміжний складноєфірний або амідний ланцюг; 3) кінцевий ланцюг. Залежно від типу ароматичного ланцюга місцеві анестетики можна розділити на амідні (наприклад, артикаїн, бупівакаїн, лідокаїн і

ропівакаїн) і складні ефіри (наприклад, бензокаїн, кокаїн, пропаракаїн і тетракаїн).

Порівняно з ефірними анестетиками, амідні місцеві анестетики частіше використовуються в клініках. Вони мають відносно нижчу алергічну реакцію людини. Амідні місцеві анестетики мають кращу розчинність у ліпідах.

Офіційний метод для визначення LD-HCL у фармацевтичних препаратах є метод рідинної хроматографії. Він цитується у Фармакопеї США (NF-27, 2008).

ДФУ регламентує аналіз Лідокаїну у формі Лідокаїну хлориду. Європейська Фармакопея регламентує аналіз Лідокаїну та Лідокаїну Гідрохлориду Моногідрату. Американська Фармакопея регламентує аналіз цього лікарського засобу. Супровідні речовини (специфіковані та неспецифіковані домішки) аналізують методом рідинної хроматографії.

До специфікованих домішок відносять домішка А. Інші домішки можуть бути присутні на достатньому рівні. Їх вміст обмежений за критеріями прийнятності для інших/невизначених домішок та/або Контроль домішок у субстанціях для фармацевтичного використання проводиться для домішок: В, С, D, E, F, G, H, I, J. Домішка А. 2,6-диметиланілін, домішка В. 2-(діетилазіноіл)-N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід (лідокаїну N-оксид), домішка С. N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід, домішка D. N-(2,6-диметилфеніл)-2-(етиламіно)ацетамід, домішка E. 2,2'-імінобіс(N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід), домішка F. 2-(діетиламіно)-N-(2,3-диметилфеніл)ацетамід, домішка G. N-(2,6-диметилфеніл)-2-((1-метилетил)аміно)ацетамід, домішка H. 2-хлор-N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід, домішка I. 2-(діетиламіно)-N-(2,4-диметилфеніл)ацетамід, домішка J. 2-(діетиламіно)-N-(2,5-диметилфеніл)ацетамід. Крім того, молекула лідокаїну є оптично активною, тому в субстанції цієї речовини можлива присутність її оптичних ізомерів.

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

Використовуючі рекомендації ДФУ та Європейської Фармакопеї для хроматографування випробовуваної субстанції методом рідинної хроматографії необхідно адаптувати для аналізу випробовуваного зразку з АФІ Лідокаїн методом ВЕРХ як більш сучасного та ефективного методу. Молекули речовини 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 лідокаїну визначають методом рідинної хроматографії (РХ). Визначають чистоту субстанцій на присутність енантіомерів, оскільки молекула містить асиметричні атоми Карбону.

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

Під час розробки або адаптування умов хроматографування випробовуваної субстанції Лідокаїну важливо розробити коректні умови хроматографування, оскільки вони повинні забезпечити виявлення одночасно

АФІ – лідокаїн, 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 Лідокаїну для приготування фармацевтичних препаратів хроматографічним методом (ВЕРХ) з УФ-детектуванням при модифікації довжин хвиль.

Метою експериментального дослідження є ідентифікація АФІ – Лідокаїн 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 – Лідокаїн та супровідних речовин 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 – X Terra RP 18, 150x4,6x3,5; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у ідентифікації та визначенні чистоти АФІ Лідокаїну 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 – 40.

SUMMARY

Hanchich Anya
**DETERMINATION OF ACCOMPANING IMPURITIES OF LIDOCAINE IN THE
DRUG SUBSTANCE BY HPLC**

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: PhD (Med), as. Brizytska N.V.

Keywords: lidocaine, LIDO, HPLC, impurities, scaffold.

Introduction. Lidocaine or xylocaine hydrochloride (LD-HCl), an aminoamide, has the chemical name 2-(diethylamino)-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamide monochloride. Lidocaine acts as a local anesthetic, preventing the propagation of peripheral nerve impulses. LD-HCl is also used for spinal anesthesia and as an antiarrhythmic drug. Lidocaine is a weak base. Hydrochloride must be added to prepare its water-soluble salt and injection form. It is a widely used local anesthetic. The dosage for anesthetic administration varies widely depending on the route and type of procedure. The most common dosages containing 1-2% lidocaine solution.

Materials and methods. Objects of research are substance of lidocaine and its standard samples. Research subject: development of conditions for HPLC study of pharmaceutical analysis of lidocaine substances. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector, X Terra RP 18 column, 150x4.6x3.5; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The study of the purity of the Lidocaine substance and its identification (by retention time) under alternative chromatography conditions by the HPLC method with a higher identification capacity at UV detection of 276 nm was carried out.

Conclusions. The conditions for HPLC chromatography of the Lidocaine substance were adapted (UV detection at 276 nm, flow rate 1.4 ml/min; mobile phases: mobile phase A: 4.85 g of potassium dihydrogen phosphate R, up to 1000 ml of water R, pH 8.0 (p.n. sodium hydroxide), 430 ml of acetonitrile R; mobile phase B: acetonitrile R); quantitative determination was performed spectrophotometrically at a wavelength of 276 nm; used a solution of lidocaine with a concentration of 0.005 mg/ml.