

**СРАВНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АНЕСТЕТИКОВ,
СОДЕРЖАЩИХ АРТИКАИН, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ**

**А.И. Марахова, доцент, М.А. Журавлева, аспирант, С.Н. Панов,
магистрант, Я.М. Станишевский[@], директор института**

*Институт Биохимической технологии и нанотехнологии,
Российский университет дружбы народов, Москва, 117198 Россия
[@] Автор для переписки, e-mail: stanysar@yandex.ru*

В статье представлены результаты сравнительного определения показателей качества четырех анестетиков, содержащих артикаин. Исследования проводились с применением методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (для определения содержания активного вещества и примесей), ядерного магнитного резонанса (для определения оптических изомеров (энантиомеров)) и потенциометрии (для установления рН раствора препарата). Установлено, что изучаемые препараты практически не отличаются по количественному содержанию действующего вещества – артикаина и соответствуют требованиям нормативной документации. Анализ на примеси показал разницу как в качественном, так и в количественном их содержании. Обнаружено, что во всех образцах артикаин содержится в виде эквимольной смеси R/S-энантиомеров. Значения рН водных растворов артикаинсодержащих анестетиков варьируют от 3.37 до 3.96.

Ключевые слова: артикаин, примеси, энантиомеры, местные анестетики, обезболивание, стоматология.

**COMPARISON OF PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME
ARTICAINE-CONTAINING ANESTHETICS USED IN STOMATOLOGY**

A.I. Marakhova, M.A. Zhuravleva, S.N. Panov, Ya.M. Stanishevskiy[@]

*Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology,
Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia
[@] Corresponding author e-mail: stanysar@yandex.ru*

The article presents the results of the comparative determination of the quality of four articaine-containing anesthetics. The studies were conducted using high performance liquid chromatography (to determine the content of the active substance and impurities), nuclear magnetic resonance (for the determination of optical isomers (enantiomers)) and potentiometry (to adjust the pH of the drug solution). It was found that the studied drugs do not differ in the quantitative content of the active substance – articaine – and correspond to the requirements of the regulatory documents. The analysis showed the difference in the qualitative and quantitative content of the impurities. It was found that all the samples contained articaine as an equimolar mixture of R/S enantiomers. The pH of the aqueous solutions of the articaine-containing anesthetics varies from 3.37 to 3.96.

Keywords: articainum, impurities, enantiomers, local anesthetics, anesthesia, stomatology.

Введение

На сегодняшний день широкое распространение в стоматологии получили местные анестетики, которые применяются специалистами во время стоматологического приема в целях купирования болевого

синдрома, возникающего у пациента во время хирургического вмешательства. Среди анестетиков особо известны лидокаин, мепивакаин и бупивакаин, содержащие в своей структуре амидную химическую связь. Артикаин отличается от перечисленных соединений наличием еще и боковой эфирной группы,

что выгодно сказывается на его фармакологической активности [1–3]. Так, метаболиты артикаина не являются иммуногенными, следовательно, препарат реже вызывает побочные аллергические реакции [1]; 90% действующего вещества гидролизуеться в кровяном русле, что значительно снижает степень его биотрансформации в печени [2, 3]. Кроме того, артикаин обладает повышенной липофильностью и способностью связываться с белками, что обуславливает его отличное проникновение внутрь нервного волокна и большой процент связывания активной молекулы в ионном канале [1–3].

На сегодняшний день на рынке широко представлены препараты местных анестетиков, содержащие артикаин в качестве действующего вещества, из которых оригинальным препаратом является «Ультракаин®», производимый компанией Санофи (Франция) [4].

Возрастающая популярность артикаинсодержащих анестетиков обязывает производителей лекарственного препарата обеспечивать надлежащее качество готовой лекарственной формы и сохранение физико-химических свойств активного вещества – артикаина.

Целью настоящего исследования является сравнительное изучение основных физико-химических показателей качества некоторых артикаинсодержащих анестетиков, доступных в России, таких как содержание активного вещества и примесей, определение оптических изомеров (энантиомеров) и pH раствора препарата.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были выбраны 4 препарата, характеристики которых представлены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика исследуемых анестетиков

№	Торговая марка	Описание	Серия	Производитель
1	Ультракаин® Д-С форте	Раствор для инъекций: 40 мг/мл артикаина и 0.01 мг/мл эpineфрина	4F450A	«Санофи-АвентисДойчландГмБХ», Германия
2	Артикаин 4% Инибса® с эpineфрином	Раствор для инъекций: 40 мг/мл артикаина и 0.01 мг/мл эpineфрина	J-15	«Лаборатория ИНИБСА С.А.», Испания
3	Брилокаин® с адреналином форте	Раствор для инъекций: 40 мг/мл артикаина и 0.01 мг/мл эpineфрина	041114	ЗАО «Брынцалов-А», Россия
4	Септанест® с адреналином	Раствор для инъекций: 40 мг/мл артикаина и 0.005 мг/мл эpineфрина	B12125 AA	«Септодонт», Франция

Установление показателей качества анестетиков проводилось с использованием методик фармакопейной статьи 1688 Европейской фармакопеи издания 8.5.

Количественное определение артикаина в препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Использовался жидкостной хроматограф Agilent 1200 (США) с УФ-детектором. Аналитическая длина волны 270 нм.

Подвижная фаза А (буферный раствор). 10.3 г натрия фосфата двузамещенного двуводного помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили объем раствора водой до метки, перемешивали. Доводили pH раствора до 6.9 с помощью 20% раствора кислоты ортофосфорной, фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0.45 мкм.

Подвижная фаза В – ацетонитрил.

Растворитель. Смешивали подвижные фазы А и В в соотношении 58:42, фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0.45 мкм.

Стандартный раствор. Около 20 мг (точная навеска) стандартного образца артикаина гидрохлорида (USP RS, кат. № 1042918) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в растворителе, доводили объем раствора тем же растворителем

до метки и перемешивали (концентрация артикаина гидрохлорида около 0.4 мг/мл).

Испытуемый раствор. Около 2.5 мл препарата помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяли в растворителе, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали (концентрация артикаина гидрохлорида около 0.4 мг/мл).

Хроматографические условия: колонка Luna 5u C18, 250×39 мм, 5 мкм; температура колонки 40°C; скорость потока 1 мл/мин; изократическое элюирование системой 58% А – 42% В; время хроматографирования 35 мин; объем вводимой пробы 10 мкл.

Количественное определение примесей проводили методом ВЭЖХ одновременно с количественным определением артикаина гидрохлорида. Содержание примесей рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{S \cdot 100}{S_{\text{сум.}}};$$

где S – площадь пика примеси на хроматограмме испытуемого раствора; $S_{\text{сум.}}$ – сумма площадей всех учитываемых пиков на хроматограмме испытуемого раствора.

Пробоподготовка и регистрация спектров ядерного магнитного резонанса (ЯМР)

С помощью медицинского шприца для инъекций содержимое ампул (1.0 мл) переносили в стеклянные вials объемом 5.0 мл, доводили pH до значения, примерно равного 10, с помощью раствора натрия карбоната, добавляли 2.0 мл дейтерохлороформа $CDCl_3$, откалиброванного по содержанию остаточного хлороформа (0.2%), 20.0 мг соли европия (европия трис(3-трифторметил)гидроксиметиленакамфорат), проводили обработку в УЗ-бане в течение 5 мин, затем образцы встряхивали на вортексе. Аликвоту раствора пробы (600 мкл) помещали в стандартную ампулу для ЯМР диаметром 5 мм. Спектры регистрировали на приборе JNMESCA-600 (JEOL, Япония) с рабочей частотой 600 МГц на протонах в следующих условиях: 32 К точек на спектр, количество накопленных спектров – 16, время задержки между импульсами

– 15 с, 90°-импульс.

Определение pH выполняли в соответствии с требованиями ГФ XII, ч. 1, с. 85, с использованием pH-метра METRONM «827 pH lab» (Швейцария), с основными техническими характеристиками: разрешающая способность 0.001 pH; точность измерений ± 0.003 .

Результаты и их обсуждение

Количественное определение артикаина и примесей

Результаты определения содержания артикаина гидрохлорида и примесей в исследованных препаратах приведены в табл. 2, а типичные хроматограммы в экспериментах по определению родственных примесей представлены на рис. 1.

Таблица 2. Сравнительное содержание артикаина и примесей в исследуемых препаратах

Препарат	Артикаин, мг/мл	Относительное время удерживания примесей	Сумма примесей, %
Артикаин 4% Инибса® с эпинефрином	39.4	0.37; 0.81; 1.49	0.101
Брилокаин® с адреналином форте	39.2	0.81	0.061
Септанест® с адреналином	39.1	0.37; 0.81; 0.89	0.077
Ультракаин® Д-С форте	39.2	0.35; 0.41	0.047

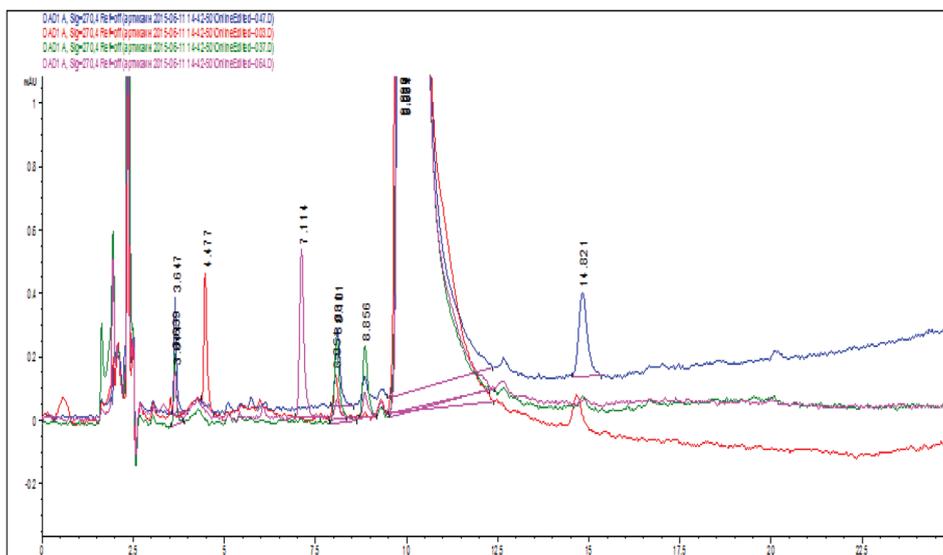


Рис. 1. Типичные хроматограммы, полученные в экспериментах по определению примесей в исследуемых артикаинсодержащих препаратах: Артикаин 4% Инибса® с эпинефрином; Брилокаин® с адреналином форте; Септанест® с адреналином; Ультракаин® Д-С форте.

Как показывают полученные результаты, исследуемые препараты практически не отличаются по количественному содержанию действующего вещества – артикаина, содержание которого находится в интервале концентраций от 39.1 до 39.4 мг/мл, что свидетельствует о доброкачественности препаратов по показателю «количественное содержание артикаина», установленному в нормативной документации.

Однако качественное и количественное содержание родственных примесей артикаина в препаратах различается (табл. 2, рис. 1). В оригинальном препарате Ультракаин® определяются две примеси с относительным временем удерживания на колонке, равным 0.35 и 0.41. Остальные препараты содержат примеси, отличные от обнаруженных и описанных для препарата Ультракаин®. Так, препараты Артика-

ин 4% Инибса® с эpineфрином и Септанест® с адреналином содержат по три примеси. Препарат Брилокаин® с адреналином форте содержит одну примесь с относительным временем удерживания 0.81. Интересным является тот факт, что примесь с относительным временем удерживания 0.81 выявляется во всех исследуемых препаратах, кроме Ультрикаина®.

Наибольшее количество примесей (>0.1%), по результатам анализа, содержится в препарате Артикаин 4% Инибса® с эpineфрином, промежуточное значение (0.05–0.1%) обнаружено в препаратах Септанест® с адреналином, Брилокаин® с адреналином форте, низкое содержание примесей (<0.05%) характерно для препарата Ультрикаин® Д-С форте.

Отличие в чистоте артикаина, входящего в состав исследуемых препаратов, вероятно, является следствием различных технологий, используемых при производстве субстанции действующего вещества оригинального и воспроизведенных препаратов. Косвенным подтверждением этого может служить и

разный качественный состав примесей.

Необходимо отметить, что согласно ЕФ изд. 8.5. все родственные примеси артикаина должны быть описаны и определены на этапе фармацевтической разработки, так как они могут обладать не определенными ранее свойствами. Поэтому при смене технологии получения субстанции необходимо должное внимание уделять качественному и количественному анализу конечного продукта и, при выявлении различий в составе по сравнению с оригинальным препаратом, изучению фармакологических характеристик.

Определение состава оптических изомеров (энантиомеров)

Условия регистрации спектров ЯМР ¹H лекарственных препаратов подбирали экспериментальным путем. Были использованы различные подходы, оптимизированы условия пробоподготовки и регистрации спектров, выбран подходящий сдвигающий реагент – соль европия. Типичный спектр ЯМР ¹H представлен на рис. 2.

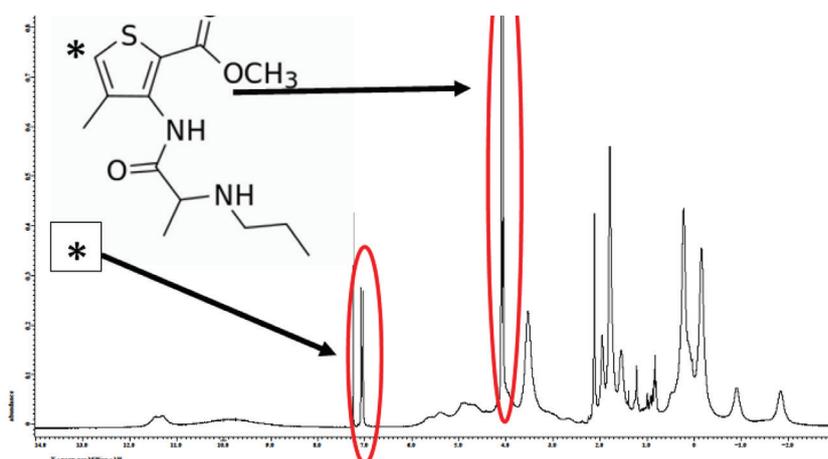


Рис. 2. Типичный спектр ЯМР ¹H артикаинсодержащего препарата (Ультрикаин® Д-С форте) в дейтерохлороформе, сдвигающий реагент – соль европия (* – обозначен хиральный центр молекулы артикаина, обведены две формы энантиомеров).

По соотношению площадей сигналов, соответствующих R- и S-энантиомерам артикаина, было рассчитано относительное содержание энантиомеров в лекарственных препаратах (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительное содержание R/S-энантиомеров в исследуемых препаратах

Препарат	Соотношение R/S-энантиомеров, %
Артикаин 4% Инибса® с эpineфрином	50:50
Брилокаин® с адреналином форте	52:48
Септанест® с адреналином	50:50
Ультрикаин® Д-С форте	52:48

Методом спектроскопии ЯМР ¹H с применением сдвигающего реагента европия трис(3-трифторметил)гидроксиметиленакамфората определено содержание энантиомеров в исследуемых препаратах, содержащих артикаин. Обнаружено, что образцы Артикаина 4% Инибса® с эpineфрином и Септанеста® с адреналином содержат артикаин в виде эквимолярной смеси R/S-энантиомеров, т.е. являются рацематами. В то время как анализируемые серии препаратов Ультрикаин® Д-С форте и Брилокаин® имеют слегка повышенное содержание R-энантиомеров (52%).

Как известно, оптические изомеры не отличаются друг от друга по таким показателям, как температура кипения, температура плавления, спектрам ИК, УФ, ЯМР. Изомеры отличаются по биологическим эффектам и такому физическому свойству, как вра-

шение плоскости поляризации плоскополяризованного света [5].

Из литературных данных известно, что разные энантиомеры артикаина имеют различную способность к проникновению через липидную мембрану [6], что, в свою очередь, может отражаться и на клиническом эффекте [7]. Показано, что *R*-энантиомеры артикаина лучше проникают через липидный бислой, чем *S*-энантиомеры [6].

Подобный эффект в зависимости от стереохимического строения был описан и для других лекарственных препаратов, в том числе и для местного анестетика бупивакаина, *S*-энантиомер которого обладает пониженной эффективностью и повышенной токсичностью по сравнению с *R*-формой [8].

Таким образом, факт повышенного содержания *R*-энантиомера в препарате местного анестетика на основе артикаина, исходя из большего сродства такого изомера к липидному бислою, может рассматриваться в пользу препарата.

Определение значения pH раствора

Результаты определения pH исследуемых препаратов представлены в табл. 4.

Таблица 4. Определенные значения pH растворов анестетиков (расположены в порядке снижения pH)

Препарат	Значение pH
Ультракаин® Д-С форте	3.960
Септанест® с адреналином	3.575
Артикаин 4% Инибса® с эпинефрином	3.447
Брилокаин® с адреналином форте	3.367

В результате проведенного эксперимента было обнаружено, что наибольшее значение водородного показателя в препарате Ультракаин® Д-С форте

(3.960), а наименьшее – в препарате Брилокаин® с адреналином форте (табл. 4).

Показатель pH местного анестетика имеет важное значение, так как известно, что более кислый раствор анестетика отличается замедленным временем действия. Это объясняется тем, что при низком pH большинство молекул анестетика существует в форме катиона (BH^+) (рис. 3), и для проникновения через липидный бислой молекуле потребуется время для перехода в незаряженное состояние (*B*). Известно, что полное превращение молекул анестетика в липидорастворимую форму (*B*) после проведенной инъекции может занимать до 45 мин [9]. В настоящее время иногда используются специальные системы смешивания раствора анестетика перед инъекцией с раствором, позволяющим значительно повысить pH в карпуле, и тем самым повысить количество анестетика в липидорастворимой форме, а также снизить болевые ощущения в области инъекции, вызванные кислой средой ($pH < 7$) [9, 10]. К сожалению, на сегодняшний день такие системы пока не стали популярными в связи с увеличением стоимости препарата и ответственностью врача за смешение двух растворов в стерильных условиях.

Результаты проведенного анализа показали, что препарат Ультракаин® Д-С форте обладает самым высоким значением pH среди исследуемых препаратов, что способствует уменьшению болевых ощущений у пациентов во время инъекции и более комфортному проведению вмешательства, чем при использовании анестетиков с более низким pH. Кроме того, более высокое значение pH раствора анестетика благоприятствует более быстрому переходу молекулы артикаина в липидорастворимую форму, что приводит к ускорению проникновения молекулы через липидный бислой нервного волокна и проявления фармакологического эффекта [8, 9].

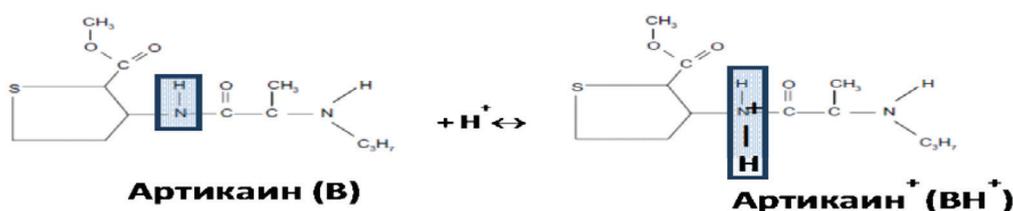


Рис. 3. Артикаин в незаряженной (*B*) и заряженной (BH^+) форме.

Заключение

Фармакологический эффект активной молекулы в любом лекарственном препарате определяется сложной совокупностью ее свойств, а также свойствами фармацевтической композиции в целом. Эффективность и безопасность местных анестетиков на основе артикаина также определяется как количеством действующего вещества, так и составом при-

месных веществ, соотношением оптических изомеров артикаина и pH готовой лекарственной формы анестетика. Проведенный физико-химический анализ артикаинсодержащих анестетиков показал, что:

1. Выявленные примеси – производные артикаина в проанализированных препаратах существенно отличаются качественно и количественно от описанных примесей в оригинальном препарате Ультракаин®.
2. Все проанализированные анестетики явля-

ются смесью практически равных количеств оптических изомеров – *R/S*-энантиомеров артикаина, хотя повышенный уровень *R*-энантиомеров, обнаруженный в проанализированной серии оригинального препарата Ультракаин®, может рассматриваться в его пользу, ввиду существующих литературных данных о большем сродстве *R*-энантиомера артикаина к липидному бислою нервного волокна.

3. Оригинальный препарат Ультракаин® обладает наивысшим значением рН раствора из исследованных анестетиков, что в большей мере способствует комфортному проведению хирургического вмешательства, по сравнению с анестетиками с более низким рН, а также обуславливает более быстрое его действие.

Список литературы:

1. Becker D.E., Reed K.L. // *Anesth. Prog.* 2006. V. 53. P. 98–109.
2. Vree T.B., Gielen M.J. // *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2005. V. 19. P. 293–308.
3. Yapp K.E., Hopcraft M.S., Parashos P. // *Br. Dent. J.* 2011. V. 210. P. 323–329.
4. Столяренко П.Ю. // *Стоматолог-практик.* 2010. № 5. С. 46–48.
5. Василенко И.А., Лебедева М.В., Листров В.А. // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2015. Т. 1. № 10. С. 92–106.
6. Steinkopf S., Hanekam L., Schaathun M., Budnjo A., Haug B.E., Nerdal W. // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2012. Vol. 47. № 2. P. 394–401.
7. Столяренко П.Ю. // *Стоматолог-практик.* 2013. № 3. С. 40–48.
8. Columb M., Ramsaran R. // *Anesthesia and Intensive Care Medicine.* 2010. V. 11. № 3. P. 113–117.
9. Malamed S.F., Falkel M. // *SAAD Dig.* 2013. V. 29. P. 9–17.
10. Cepeda M.S., Tzortzopoulou A. // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2010. V. 12. CD006581.

References:

1. Becker D.E., Reed K.L. // *Anesth. Prog.* 2006. V. 53. P. 98–109.
2. Vree T.B., Gielen M.J. // *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2005. V. 19. P. 293–308.
3. Yapp K.E., Hopcraft M.S., Parashos P. // *Br. Dent. J.* 2011. V. 210. P. 323–329.
4. Stolyarenko P.Yu. // *Stomatolog-practic (Dental practices).* 2010. № 5. P. 46–48.
5. Vasilenko I.A., Lebedeva M.V., Listrov V.A. // *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv (Drug Development & Registration).* 2015. V. 1. № 10. P. 92–106.
6. Steinkopf S., Hanekam L., Schaathun M., Budnjo A., Haug B.E., Nerdal W. // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2012. Vol. 47. № 2. P. 394–401.
7. Stolyarenko P.Yu. // *Stomatolog-practic (Dental practices).* 2013. № 3. С. 40–48.
8. Columb M., Ramsaran R. // *Anesthesia and Intensive Care Medicine.* 2010. V.11. № 3. P. 113–117.
9. Malamed S.F., Falkel M. // *SAAD Dig.* 2013. V. 29. P. 9–17.
10. Cepeda M.S., Tzortzopoulou A. // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2010. V. 12. CD006581.