



**М. В. КРАСНОСЕЛЬСЬКИЙ**

*М. В. Красносельський, директор ДУ «Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України», доктор медичних наук, професор*

*П. Ю. Костя, молодший науковий співробітник відділення онкохірургії ДУ «Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України»*

*А. А. Хижняк, завідувач кафедри медицини невідкладних станів, анестезіології та інтенсивної терапії Харківського національного медичного університету, доктор медичних наук, професор*

*М. П. Дикий, начальник відділу Національного наукового центру «Харківський фізико-технічний інститут», доктор фізико-математичних наук*

*О. П. Медведєва, старший науковий співробітник Національного наукового центру «Харківський фізико-технічного інститут», кандидат біологічних наук*

## Визначення стабільності бупівакаїну гідрохлориду в ліпідних середовищах для пролонгованої місцевої анестезії

### Вступ

Проблема стабілізації і тривалості знеболювання при роботі з місцевими анестетиками є актуальною. Незважаючи на стрімкий розвиток анестезіологічної техніки, часто доводиться вдаватися до граничних доз місцевих анестетиків з метою отримання сильнішого і тривалішого нервового блоку. Часто неадекватне знеболювання в післяопераційний період, зокрема за допомогою місцевих анестетиків, потенціює запальну реакцію, призводить до дискомфорту пацієнта і збільшення тривалості госпіталізації. Відсутність адекватного знеболювання місцевими анестетиками може бути обумовлена неможливістю або невчасністю подання препарату, як у контексті епідуральної катетеризації, так і при використанні місцевого анестетика для знеболювання післяопераційної рани безпосередньо, але з тим лише уточненням, що

в останньому випадку список ефективних препаратів досить пролонгованої дії практично порожній.

Саме тому була взята для розгляду можливість пролонгації дії амідних анестетиків за допомогою спеціальних ліпідних середовищ. Враховуючи їх здатність перебирати на себе молекули амідних анестетиків і «укладати» їх у ліпідні оболонки, постало питання вивчення стабільності цієї сполуки і можливості її подальшого практичного застосування при здійсненні блокад. З цією метою було обрано бупівакаїну гідрохлорид як найбільш хімічно стабільний з групи амідів.

Особливо слід зазначити, що у великій кількості статей, присвячених модифікації бупівакаїну гідрохлориду різними ліпосомальними фракціями для досягнення фіксації молекули бупівакаїну, забезпечення ефективнішого місцевого блоку, і, відповідно, тривалішого

вивільнення препарату, практично відсутні відомості про використання для цих цілей різних медичних препаратів ліпідної природи [2–4, 7]. Також необхідно підкреслити, що на відміну від традиційних фармакологічних методів дослідження стабільності препарату в реальному часі, прискореного, довгострокового, а також стресс-тесту, цей метод дозволяє достовірно оцінювати сумісність і стабільність комбінації препаратів у стислі терміни.

Саме тому метою роботи стало вивчення сумісності і стабільності бупівакаїну гідрохлориду в ліпідних середовищах у динаміці з використанням методу спектрофотометрії.

### Матеріали та методи

Як зразок використовували Бупівакаїн-ЗН ( $C_{18}H_{28}N_2O$ ) (рис. 1) в розведенні 5 мг/мл ([www.zn.kharkov.ua](http://www.zn.kharkov.ua)). У 1 мл розчину міститься бупівакаїну гідрохлорид 5 мг та допоміжні речовини: натрію хлорид, розчин хлористоводневої кислоти або гідроксиду натрію, вода для ін'єкцій.

Були приготовані стандартні проби бупівакаїну гідрохлориду в таких розведеннях фізіологічним розчином: 0,25, 0,5 і 1,0 мг/мл.

Оптичні спектри приготованих проб реєстрували на спектрофотометрі СФ-46 в UV-Vis діапазоні 200–320 нм у динаміці через 2,5; 5; 24; 75 год, 1 тижд. Вимірювання проведено відносно розчину

натрію хлориду 0,9 % («Юрія фарм») в кварцевих кюветах з товщиною шару 1 см.

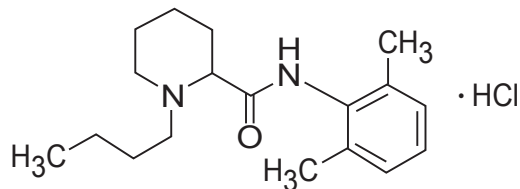


Рис. 1. Структурна формула бупівакаїну гідрохлориду

Як ліпідні середовища для стабілізації бупівакаїну гідрохлориду були використані Ліпін (ЗАТ «Біолік»), Ліпофундин МСТ/ЛСТ 10 % («В. Braun Melsungen AG», Німеччина), Гелофузин («В. Braun Melsungen AG», Швейцарія / Німеччина). Усі препарати сертифіковані і затверджені в Україні. Оптичні спектри поглинання бупівакаїну в ліпідних середовищах реєстрували після інкубації за температури 37 °С впродовж 60 хв. На рН-метрі-340 виміряно показники рН досліджуваних проб.

### Результати досліджень та їх обговорення

На рис. 2–6 представлено оптичні спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду (залежність довжини хвилі  $\lambda$ , нм, від концентрації С, мг/мл) в різних розведеннях фізіологічним розчином: 0,25; 0,5; 1,0 мг/мл через 2,5; 5; 24; 48 год. і 1 тижд., відповідно.

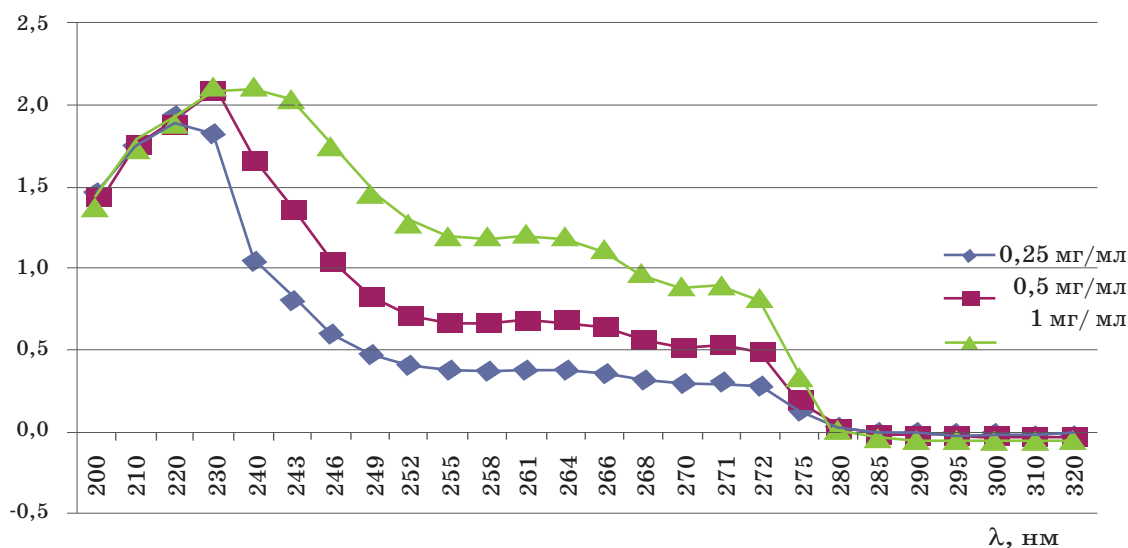


Рис. 2. Спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду через 2,5 год після розведення

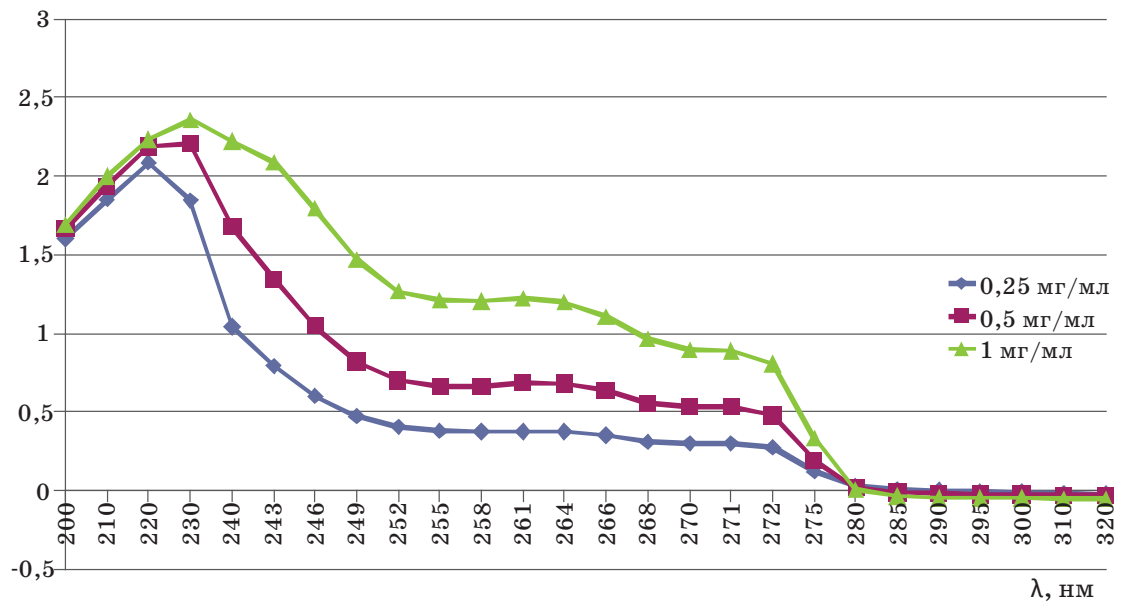


Рис. 3. Спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду через 5 год після розведення

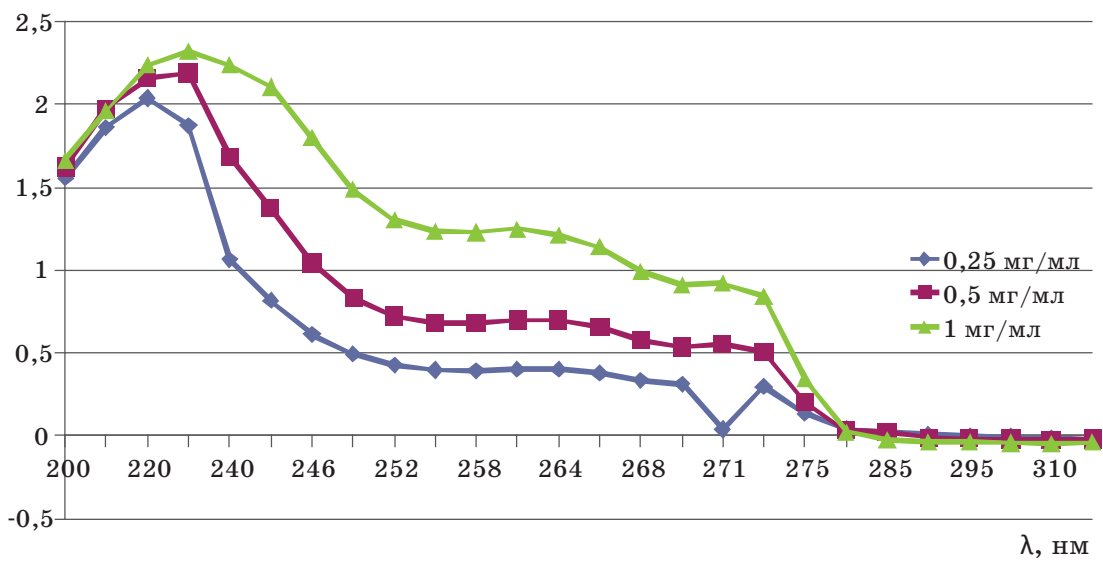


Рис. 4. Спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду через 24 год після розведення

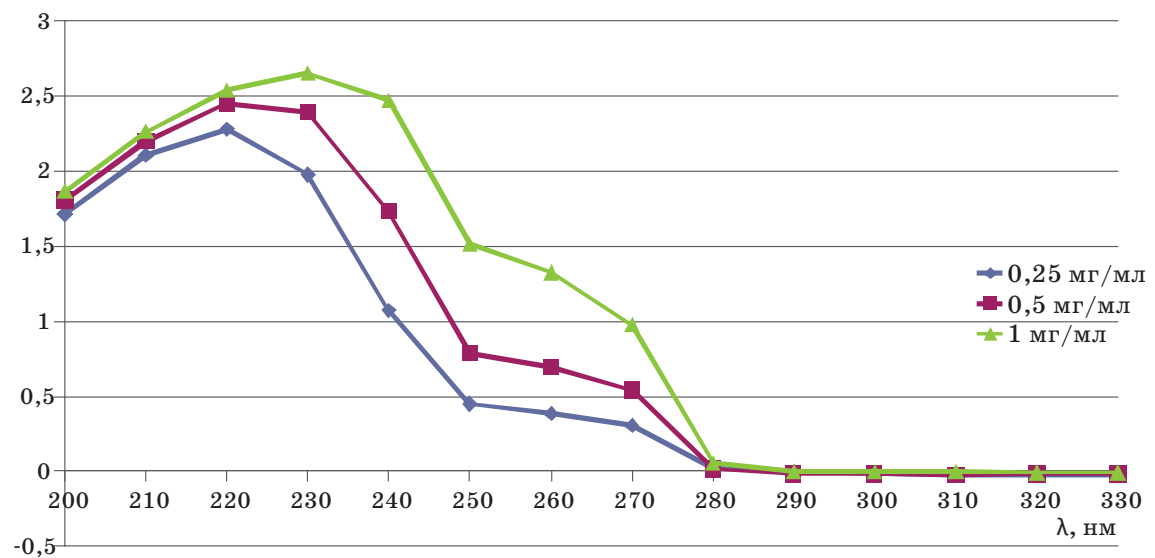


Рис. 5. Спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду через 72 год після розведення

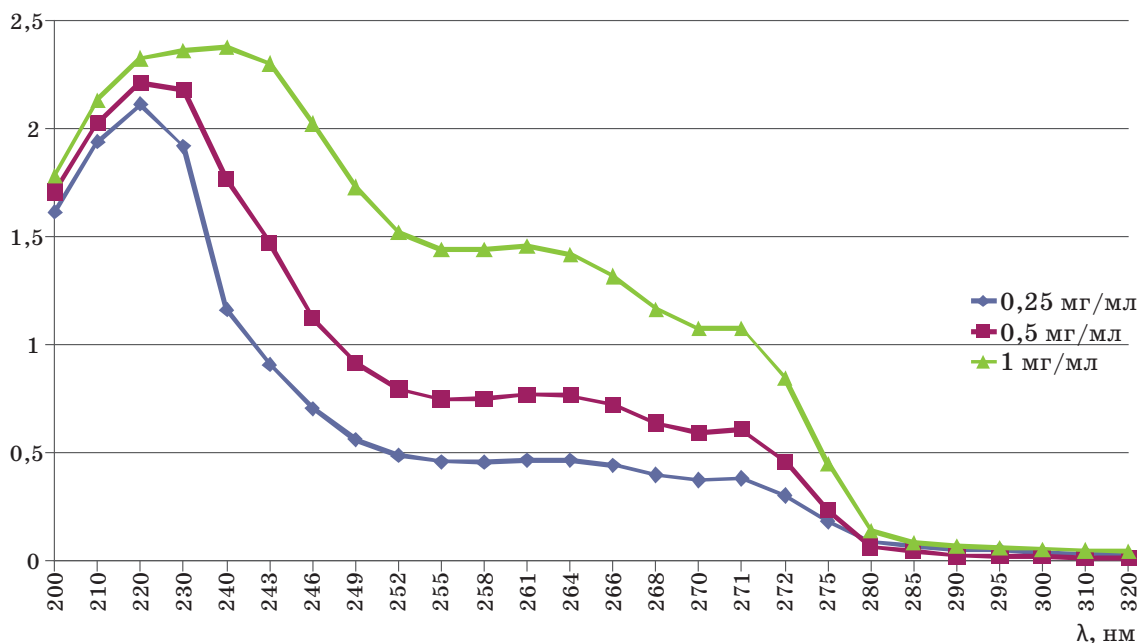


Рис. 6. Спектри поглинання бупівакаїну гідрохлориду через тиждень після розведення

Як видно з рис. 2–6, усі спектри мають однаковий профіль з незначною відмінністю в рівні інтегрального поглинання. У кожному зі спектрів спостерігається по три смуги поглинання: одна, широка, з максимумом при 223 нм, друга, плавніша, при 262 нм і третя, менш виражена, при 271 нм. Усі три максимуми розташовані в УФ-ділянці. Отримані результати узгоджуються з даними роботи [1], у якій максимум оптичного поглинання бупівакаїну гідрохлориду у водному розчині, виміряний на спектрофотометрі (Hitachi U-2000), становив 220 нм.

Оптичне поглинання розчину в кюветі з товщиною шару 1 см при максимумі 223 нм становить не менше 0,53 і не більше 0,58, а при максимумі 271 нм — не менше 0,43 і не більше 0,48.

У типових спектрах поглинання бупівакаїну гідрохлориду спостерігається чітка залежність від обраної концентрації: найвищі значення має розчин з концентрацією 1 мг/мл, найменші — зразок з концентрацією 0,25 мг/мл. Було проведено вимірювання і в інших ділянках спектра: синьому (450 нм), зеленому (520 нм), жовтому (590 нм) і червоному (670 нм). Досліджуваний препарат в цих ділянках взагалі не мав жодних піків, це свідчить про те, що відповідальним за поглинання в УФ-ділянці міг бути тільки присутній у розчині бупівакаїну гідрохлорид.

Згідно з даними літератури [3, 5, 6], найвищу пролонговану стабільність різні анестетики проявляють у фосfolіпідних дегідратаційно-регидратаційних системах, наприклад, ліпосомах. За хімічним складом ліпосоми схожі з природними мембранами клітин, тому є біосумісними.

На рис. 7 представлено оптичні спектри початкових ліпідних середовищ. Вимірювання проведено в діапазоні 200–450 нм відносно фізіологічного розчину, позбавленого максимумів поглинання в цьому спектральному діапазоні. Проведене порівняння показало, що максимуми спектрів Ліпофундину МСТ/ЛСТ 10 % і Гелофузину практично збігаються за формою і характером з максимумом в ділянці 237 нм. Оптичний спектр Ліпіну має плавніший характер із слабо вираженим максимумом в ділянці 210 нм.

На рис. 8 і 9 наведено оптичні спектри ліпідних середовищ, що вивчаються, з бупівакаїном гідрохлоридом у динаміці через 60 хв і 5 діб після розведення. Поясненням спостережуваної близькості спектрів, мабуть, є той факт, що основний вклад у комплекси, що вивчаються, вносять не ліпідні середовища, а безпосередньо бупівакаїну гідрохлорид, який має оптичний максимум в УФ-ділянці. Такий близький просторовий характер оптичних спектрів підтверджує

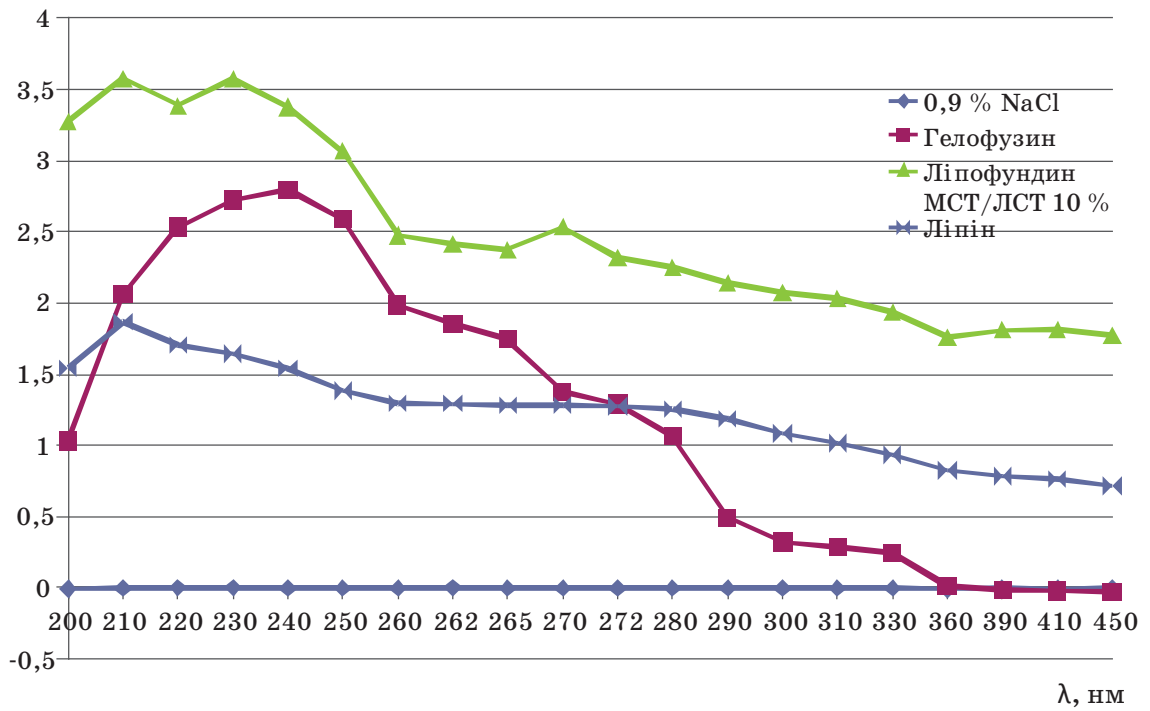


Рис. 7. Оптичні спектри вихідних ліпідних середовищ

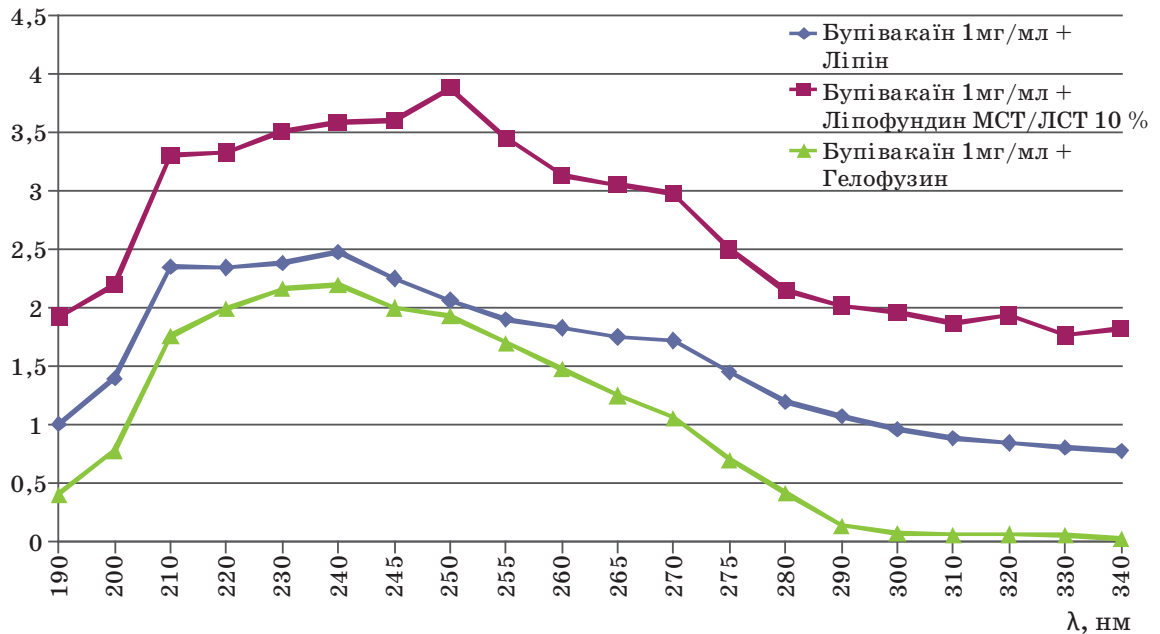


Рис. 8. Оптичні спектри бупівакаїну гідрохлориду в різних ліпідних середовищах (через 60 хв) після розведення

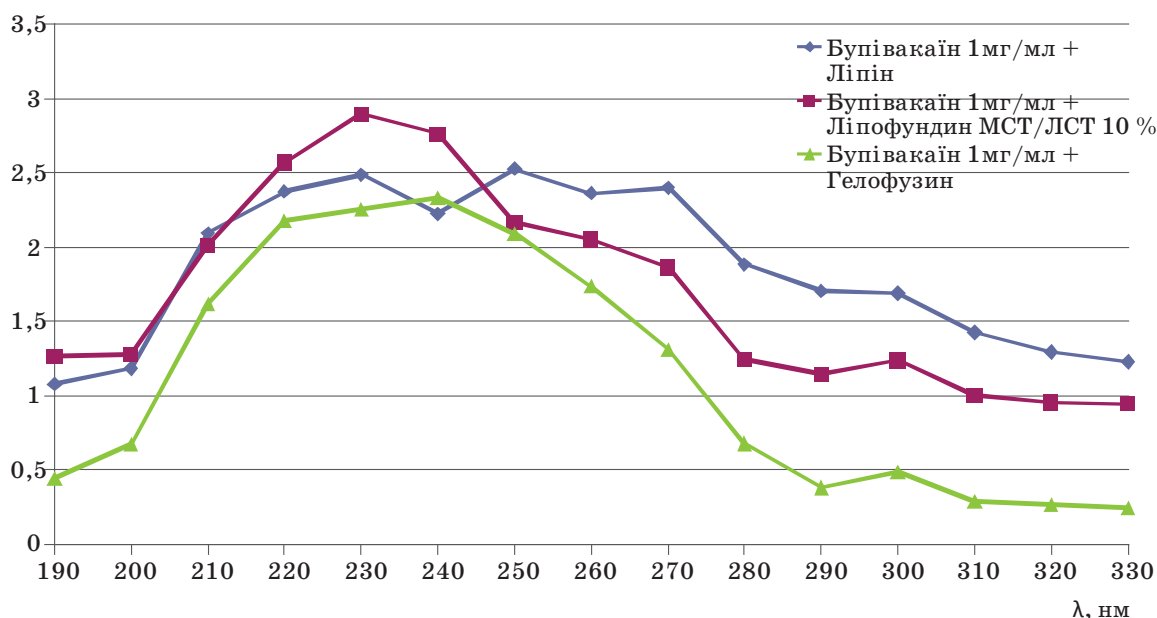


Рис. 9. Оптичні спектри бупівакаїну гідрохлориду в різних ліпідних середовищах (через 5 діб)

продовжену стабільність анестетика — бупівакаїну гідрохлориду. Помилка проведених вимірювань складала  $\pm 10\%$ . В досліджуваних розчинах рН складав 5–5,5.

Як ефективні ліпідні середовища для отримання високої стійкості і стабілізації бупівакаїну гідрохлориду були використані відомі в медичній практиці препарати Ліпін, Ліпофундин МСТ/ЛСТ 10 % і Гелофузин (модифікований желатин, колоїдний плазмозамінник).

## Висновки

1. Запропонована методика спектрофотометрії дослідження сумісності і стабільності комбінації препаратів на прикладі сполуки бупівакаїну гідрохлориду з ліпідним середовищем у різних розведеннях є перспективною для вивчення.

2. Методика спектрофотометрії дозволяє оцінити сумісність і стабільність препарату, групи препаратів в стислі терміни, порівняно з стандартними фармацевтичними методами.

3. Досліджено UV-Vis спектральну зону поглинання бупівакаїну гідрохлориду. Найбільш виражені максимуми поглинання лежать в діапазоні 220–272 нм.

4. Показано, що сполука амідного анестетика бупівакаїну гідрохлориду з різними ліпідними середовищами (Ліпін, Ліпофундин МСТ/ЛСТ 10 % і Гелофузин) є стабільною в динаміці дослідження на підставі даних спектрофотометрії.

5. На основі аналізу оптичних спектрів ліпідних середовищ, що вивчаються, у поєднанні з бупівакаїном гідрохлоридом проведено оцінку найбільш значущого в перспективі використання сполучення — бупівакаїну гідрохлориду і Ліпофундину МСТ/ЛСТ 10 %.

6. Сполука бупівакаїну гідрохлориду і Ліпофундину МСТ/ЛСТ 10 % має науковий і практичний потенціал у контексті вивчення проблеми продовженої анестезії місцевими анестетиками.

## Список літератури

1. Biodistribution of liposome-associated bupivacaine after extradural administration to rabbits / J. G. Boogaerts, N. D. Lafont, S. Carlino [et al.] // Br. J. Anesth. — 1995. — Vol. 75, N 3. — P. 319–325.
2. DRV Liposomal Bupivacaine: preparation, characterization and in vivo evaluation in mice / G. J. Grant, Y. Barenholz, B. Piskoun [et al.] // Pharm. Res. — 2001. — Vol. 18, N 3. — P. 336–343.
3. Liposomal bupivacaine. Extended duration nerve blockade using large unilamellar vesicles that exhibit a proton gradient / J. J. Mowat, M. J. Mok, B. A. MacLeod, T. D. Madden // Anesthesiology. — 1996. — Vol. 85, N 3. — P. 635–643.
4. Prolonged analgesia with liposomal bupivacaine in a mouse model / G. J. Grant, K. Vermeulen, I. Langerman [et al.] // Reg. Anesth. — 1994. — Vol. 19, N 4. — P. 264–269.
5. Stereospecific interaction of bupivacaine enantiomers with lipid membranes / M. Mizogami, H. Tsuchiya, T. Ueno [et al.] // Reg. Anesth. Pain Med. — 2008. — Vol. 33, N 4. — P. 304–311.
6. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposome bupivacaine administered via a single epidural injection to healthy volunteers / E. R. Viscusi, K. A. Candiotti, E. Onel [et al.] // Reg. Anesth. Pain Med. — 2012. — Vol. 37, N 6. — P. 616–622.
7. Yu H. Y. Prolonged local anesthetic of bupivacaine liposomes in rats / H. Y. Yu, P. Sun, W. Y. Hou // I. J. Pharm. — 1998. — Vol. 176, N 1. — P. 133–136.

## Резюме

### Визначення стабільності бупівакаїну гідрохлориду в ліпідних середовищах для пролонгованої місцевої анестезії

*М. В. Красносельський,  
П. Ю. Костя,  
А. А. Хижняк,  
М. П. Дикий,  
О. П. Медведєва*

Метод спектрофотометрії було використано для визначення стабільності бупівакаїну гідрохлориду в початковому стані і при використанні різних ліпідних середовищ на основі наявних медичних препаратів (Ліпін, Ліпофундин МСТ/ЛСТ 10 %, Гелофузин). Виміряно оптичні спектри ліпідних фракцій бупівакаїну гідрохлориду в динаміці. Встановлено ідентичність характеру оптичних спектрів поглинання досліджуваних зразків в УФ-ділянці. Найбільша стабільність в області максимального поглинання при  $\lambda = 220$ ,  $\lambda = 262$  і  $\lambda = 271$  нм показана для бупівакаїну гідрохлориду в ліпідному середовищі Ліпофундину МСТ/ЛСТ 10 %.

**Ключові слова:** бупівакаїну гідрохлорид, спектрофотометрія, ліпіди.

### Determination of bupivacaine hydrochloride stability in a lipid environment for sustained local anesthesia

*M. V. Krasnoselskiy,  
P. Y. Kostya,  
A. A. Hizhnyak,  
N. P. Dikiy,  
E. P. Medvedeva*

Spectrophotometry method was used to determine the stability of bupivacaine hydrochloride in the original condition and with different lipid environments on the basis of available medicines (Lipin, Lipofundin MCT/LCT 10 %, Gelofusine). The optical spectrum of the lipid fractions of bupivacaine was determined in dynamics. The identity of the character of the optical spectrum absorption of the samples in the UV region was established. The greatest stability for bupivacaine hydrochloride is indicated in the region of maximum absorption at  $\lambda = 220$ ,  $\lambda = 262$  and  $\lambda = 271$  nm for the lipid environment of Lipofundin MCT/LCT 10 %.

**Key words:** bupivacaine hydrochloride, spectrophotometry, lipids.

## Summary

### Определение стабильности бупивакаина гидрохлорида в липидных средах для пролонгированной местной анестезии

*Н. В. Красносельский,  
П. Ю. Костя,  
А. А. Хижняк,  
Н. П. Дикий,  
Е. П. Медведева*

Метод спектрофотометрии был использован для определения стабильности бупивакаина гидрохлорида в исходном состоянии и при использовании различных липидных сред на основе имеющихся медицинских препаратов (Липин, Липофундин МСТ/ЛСТ 10 %, Гелофузин). Измерены оптические спектры липидных фракций бупивакаина гидрохлорида в динамике. Установлена идентичность характера оптических спектров поглощения исследуемых образцов в УФ-области. Наибольшая стабильность в области максимального поглощения при  $\lambda = 220$ ,  $\lambda = 262$  и  $\lambda = 271$  нм показана для бупивакаина гидрохлорида в липидной среде Липофундина МСТ/ЛСТ 10 %.

**Ключевые слова:** бупивакаина гидрохлорид, спектрофотометрия, липиды.