

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

М.Л. Пивовар, А.И. Жебентяев

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСТРАКЦИИ МЕТИЛПРОИЗВОДНЫХ КСАНТИНА БИНАРНЫМИ СМЕСЯМИ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Витебский государственный
медицинский университет

В статье представлены коэффициенты распределения теобромина, теофиллина и кофеина в 10 экстракционных смесях типа алкилгалогенид-спирт. Основу смеси составляли хлороформ и дихлорметан. В качестве добавок использовались изопропанол, н-бутанол и изобутанол. Установлено, что при экстракции данными смесями наблюдается синергетический эффект. Показано, что эффективность смесей, содержащих н-бутанол и изобутанол, по отношению к изученным веществам, отличается незначительно. В результате проведенного исследования установлено, что максимальное извлечение теобромина и теофиллина наблюдается при экстракции смесями, содержащими 33 % изобутанола в хлороформе и 50 % изопропанола в хлороформе. При экстракции кофеина смесями органических растворителей наблюдается уменьшение коэффициентов распределения с увеличением содержания спирта в экстрагенте.

Ключевые слова: кофеин, теобромин, теофиллин, экстракция, смеси органических растворителей

ВВЕДЕНИЕ

Метилпроизводные ксантина (МПК) неполностью экстрагируются из водной фазы органическими растворителями. Это связано с их высокой гидрофильностью и со способностью ионизироваться в водной фазе. Как известно, увеличить коэффициенты распределения позволяет изменение ионной силы и pH раствора. Это связано с тем, что при увеличении

ионной силы раствора наблюдается эффект высаливания метилпроизводных ксантина, обусловленный уменьшением гидратации их молекул. Изменением pH раствора обычно добиваются перехода большей части молекул вещества в неионизированную форму, лучше переходящую в органическую fazу. Как показывают проведенные нами ранее исследования [1], оптимальный интервал pH для экстракции данной группы веществ находится в диапазоне 2–7. Увеличение ионной силы раствора позволяет несколько увеличить коэффициенты распределения, однако полного извлечения теобромина и теофиллина из водной фазы при помощи однократной экстракции не наблюдается. С целью увеличения коэффициентов распределения на практике зачастую используют двух- и трехкомпонентные экстракционные смеси органических растворителей.

Анализ литературных данных показывает, что наиболее часто для экстракции используется смесь хлороформа с изопропанолом в различных соотношениях. Так, группой авторов [2] применялась смесь хлороформ-изопропанол (75:25) для извлечения теофиллина и ацетаминофена (внутренний стандарт) из плазмы крови. Анализ экстракта проводился методом тонкослойной хроматографии с применением пластин для ТСХ с силикагелем и смеси уксусной кислоты, изопропанола и толуола (1:12:6) в качестве подвижной фазы.

В статьях [3, 4] авторами предлагается использовать для экстракции кофеина и ряда его метаболитов из мочи смесь хлороформ-изопропанол (85:15 по объему). Полученные экстракты подвергались анализу методом обращено-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием.

Группой авторов [5] предложена методика изучения активности цитохрома P-450 CYP1A2. С этой целью кофеин, 1,7-диметилксантин и β-гидрокситеофиллин (внутренний стандарт) экстрагировались 5 мл смеси хлороформ-изопропанол (9:1). Полученный экстракт анализировался ме-

тодом ВЭЖХ. Детектирование производилось при длине волны 282 нм.

Аналогичную экстракционную смесь предложено использовать авторами работ [6, 7]. В статье [6] ее используют при анализе плазмы на содержание кофеина, теофиллина и фенобарбитала. Но, для увеличения извлечения веществ из плазмы экстракция проводилась при низких значениях pH и в присутствии избытка твердого аммония хлорида (в качестве высаливателя). Анализ полученного экстракта проводился методом ВЭЖХ. В работе [7] жидкость-жидкостная экстракция смесью хлороформ-изопропанол (9:1) использовалась при изучении стабильности кофеина в пробах мочи. Экстракция также проводилась в присутствии высаливателя, но, в отличие от предыдущей работы, в щелочной среде. Описанная методика включает анализ экстрактов методом обращено-фазной ВЭЖХ и позволяет определить кофеин в концентрации 6-30 мкг/мл.

Для экстракции метилпроизводных ксантина используется экстракционная смесь хлороформ-изопропанол (95:5). Например, авторами [8] использовалась данная смесь при анализе грудного молока на содержание никотина и его основных метаболитов, а также кофеина и ареколина. Описанная методика включает экстракцию кофеина, никотина и его основных метаболитов в нейтральной среде, а ареколина в щелочной, с последующим анализом экстрактов методом обращено-фазной ВЭЖХ-МС.

В работе [9] предложено использовать экстракционную смесь хлороформ-изопропанол (95:5) для экстракции из плазмы крови целой группы веществ различного химического строения. Среди них: теофиллин, кофеин, ацетаминофен, хлорамфеникол, фенобарбитал и проч. Процедура пробоподготовки включает добавление к плазме крови трех внутренних стандартов, жидкость-жидкостную экстракцию и анализ экстракта методом обращено-фазной ВЭЖХ с УФ-детектированием.

В статье [10] описана методика определения теофиллина в плазме крови методом газовой хроматографии. Кроме экстракции смесью хлороформ-изопропанол

(95:5), в процессе пробоподготовки использовалась реэкстракция в водную фазу, содержащую натрия гидроксид, и повторная экстракция смесью хлороформ-изопропанол для очистки экстракта. Полученный экстракт подвергался дериватизации и вводился в хроматограф. Аналогичная экстракционная смесь используется [11] при пробоподготовке с целью количественного определения теофиллина в плазме крови. Экстракт анализировался методом ВЭЖХ.

Анализ литературных данных показывает, что в ряде случаев в экстракционной смеси используется вместо хлороформа дихлорметан. Так, в работе [12] при определении теофиллина в крови недоношенных новорожденных методом газовой хроматографии экстракцию проводили смесью дихлорметан-изопропанол в кислой среде. В работе [13] авторы показывают, что при пробоподготовке для ВЭЖХ-определения теофиллина и ряда фторхинолонов в плазме результаты использования смесей хлороформ-изопропанол и дихлорметан-изопропанол могут быть сходными.

В некоторых случаях вместе с хлорпроизводными алканов используются и другие органические растворители, кроме изопропанола. Например, в работах [14, 15] при определении содержания кофеина в моче методом ВЭЖХ в процессе пробоподготовки использовали экстракцию в щелочной среде смесью дихлорметан-метанол (9:1 по объему).

Описаны методики, в которых хлорпроизводные алканов в экстракционных смесях заменялись другими органическими растворителями. Например, в работах [16, 17] при исследовании содержания кофеина, теофиллина и их метаболитов в моче методом ВЭЖХ при пробоподготовке использовали экстракционную смесь этилацетат-изопропанол.

Отдельного внимания заслуживает методика, предложенная авторами в работе [18]. В данной работе описана методика газохроматографического определения теофиллина в плазме. В процессе пробоподготовки для экстракции использовалась трехкомпонентная смесь метиленхлорид-

гексан-уксусная кислота (80:20:0,1 по объему). Для уменьшения экстракции примесей из плазмы использовался высаливатель аммония сульфат. Полученный экстракт подвергали дериватизации и вводили в хроматограф.

Анализ литературных данных показывает отсутствие единого подхода к подбору системы для экстракции изучаемых компонентов. Кроме того, в литературных источниках отсутствуют данные по коэффициентам распределения МПК в применяемых системах, об их эффективности и конкретных рекомендациях по их применению, которые позволяли бы сделать однозначный вывод об их использовании в том или ином случае.

Данная работа имеет целью изучить экстракцию теобромина, теофиллина и кофеина двухкомпонентными смесями органических растворителей (типа алкилгалогенид-спирт) из водной фазы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали образцы кофеина (моногидрата), теобромина и теофиллина (моногидрата) фармакопейной чистоты. В качестве экстрагентов были использованы смеси хлороформа или дихлорметана с различной мольной долей или объемной долей н-бутанола, изобутанола или изопропанола. Для расчета изомолярной серии мольные объемы каждого растворителя вычисляли по уравнениям [19]:

$$V_1 = M_1/\rho_1; \quad (1),$$

$$V_2 = M_2/\rho_2; \quad (2),$$

где: V_1 , V_2 – мольные объемы растворителей;

M_1 , M_2 – молярные массы;

ρ_1 , ρ_2 – плотности (г/мл) растворителей.

Далее рассчитывали объемы каждого растворителя для бинарной смеси:

$$V_{m1} = n_1 \cdot V_1; \quad (3),$$

$$V_{m2} = (1-n_1) \cdot V_2 = n_2 \cdot V_2; \quad (4),$$

$$n_1 + n_2 = 1; \quad (5),$$

где: V_{m1} , V_{m2} – мольные объемы растворителей в бинарной смеси, n_1 и n_2 – мольные доли соответствующих растворителей.

При проведении исследований использовали растворители квалификации ч.д.а. Перед приготовлением экстракционных смесей хлороформ предварительно очищали от этилового спирта. Остальные растворители дополнительной очистке не подвергали.

Для приготовления буферного раствора использовали соли квалификации ч.д.а.

Ввиду частичной растворимости изобутанола и бутанола в воде, водная фаза предварительно насыщалась одним из них (в зависимости от состава экстракционной смеси). В данном случае расчет коэффициентов распределения осуществлялся по классической формуле (6):

$$D = \frac{C_o}{C_b} \quad (6),$$

где: C_o – концентрация вещества в органической фазе;

C_b – концентрация вещества в водной фазе.

Изопропанол неограниченно смешивается с водой и при экстракции частично переходит в водный раствор, распределяясь между водной и органической фазами. Данное явление приводит к значительному изменению соотношения объемов фаз после экстракции. Для его компенсации предварительно были установлены объемы водной и органической фаз после экстракции смесями органических растворителей с различным содержанием изопропанола. При расчетах коэффициентов распределения в формулу (6) вводили коэффициент r , и она приобретала вид (7):

$$D = \frac{C_o}{C_b} \cdot r \quad (7),$$

$$\text{где: } r = \frac{V_b}{V_o};$$

V_b – объем водной фазы;

V_o – объем органической фазы.

Равновесную экстракцию при равных объемах водной и органической фаз (по 4 мл) изучали в экстракционных фляконах объемом 10 мл. Температура при изучении экстракционных характеристик составляла 20 ± 1 °С. В каждый флякон по-

мешали рассчитанные объемы растворов теобромина, теофиллина или кофеина и буферного раствора с рН=5,0. Экстракцию проводили 4 мл смеси органических растворителей во вращающем экстракторе в течение 5 мин. По окончании экстракции флаконы центрифугировали при 3000 об/мин 5 мин для предотвращения образования микроэмulsion в водной фазе. Анализ водной фазы осуществляли УФ-спектрофотометрическим методом (при длине волны 273 нм для кофеина и теобромина и 272 нм для теофиллина) на регистрирующем спектрофотометре Specord 250 и спектрофотометре СФ-46. Для расчета концентраций исследуемых веществ в

водной фазе предварительно были построены градиуровочные графики и рассчитаны молярные коэффициенты поглощения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования влияния содержания н-бутанола и изобутанола в органической фазе на коэффициенты распределения был получен ряд зависимостей, имеющих сходный вид. Для примера на рисунке 1 отображена зависимость коэффициентов распределения теобромина и теофиллина от мольной доли спирта в хлороформе.

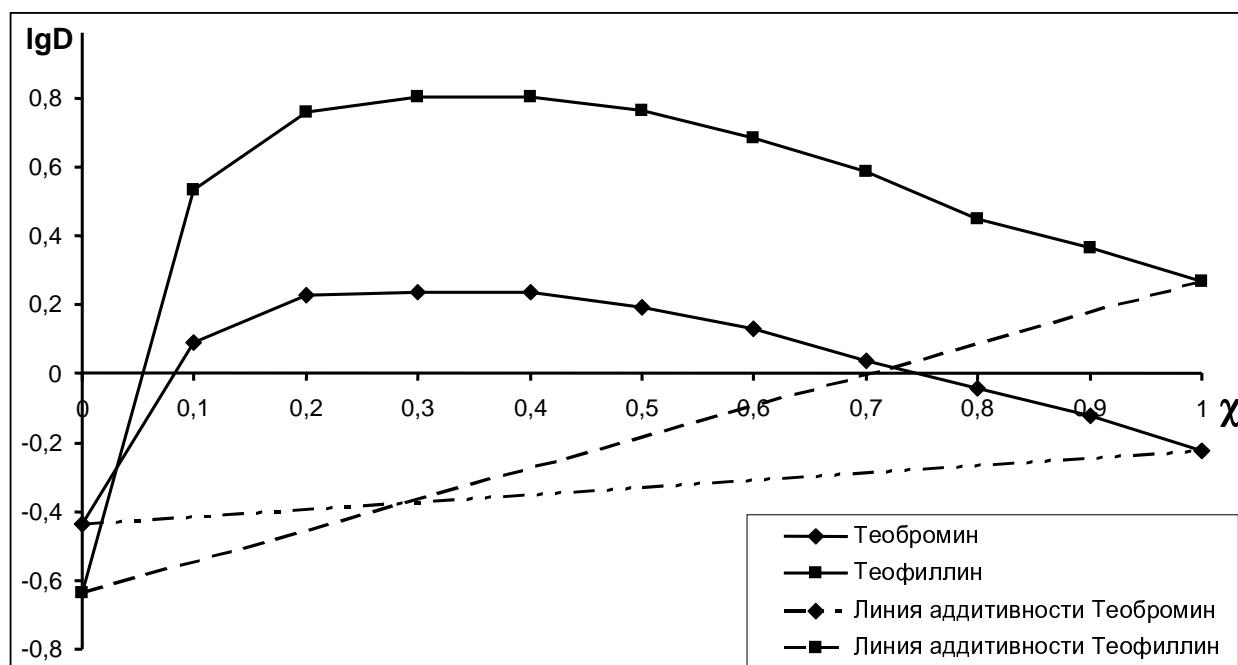


Рисунок 1 – Зависимость коэффициентов распределения метилпроизводных ксантина от мольной доли (χ) н-бутанола в экстракционной смеси хлороформ: н-бутанол

Как видно из приведенной диаграммы, при экстракции метилпроизводных ксантина наблюдается синергетический эффект. На кривой можно выделить три участка. На первом (мольная доля н-бутанола и изобутанола от 0 до 0,30) наблюдается увеличение коэффициентов распределения теобромина и теофиллина относительно линии аддитивности (пунктирная линия на графиках). Данное явление можно объяснить тем, что бутанол и изобутанол участвуют в процессах сольватации молекул, что облегчает их переход в органическую фазу. На втором участке

(мольная доля н-бутанола и изобутанола от 0,30 до 0,40) наблюдается плато с мало изменяющимися коэффициентами распределения. Очевидно, в данном диапазоне концентраций в органической фазе присутствует достаточное количество н-бутанола или изобутанола для устойчивого существования сольватов теобромина и теофиллина в среде малополярного органического растворителя (хлороформа). Третий участок кривой (мольная доля н-бутанола и изобутанола от 0,40 до 1,0) характеризуется постепенным снижением коэффициентов распределения до значений, равных

экстракции чистыми спиртами. Вероятно, образующиеся сольваты лучше экстрагируются малополярными органическими растворителями (такими, как хлороформ или дихлорметан), чем полярными спиртами. Постепенное уменьшение содержания хлороформа в органической фазе и, как следствие, увеличение её полярности, очевидно, и обусловливают данный эффект.

При экстракции кофеина наблюдается иная, по сравнению с выше описанной, зависимость (рисунок 2). В данном случае отсутствует резкий скачок коэффициентов распределения, который наблюдался в случае с теобромином или теофилином. При экстракции смесями хлороформ: н-бутанол и хлороформ: изобутанол наблюдается падение, в пределах которого коэффициенты распределения изменяются в малой степени, несмотря на значительное увеличение содержания спирта в экстракционной смеси (до мольной доли 0,30

или 32,8 % (об/об)). При дальнейшем увеличении содержания спирта в экстракционной смеси происходит резкое падение коэффициентов распределения. В связи с этим можно сделать вывод, что образующиеся сольваты молекул кофеина имеют близкие экстракционные характеристики, по сравнению с самими молекулами кофеина. И поэтому синергетический эффект, наблюдаемый при экстракции, лишь компенсирует падение экстрагирующей способности системы, не давая коэффициентам распределения снижаться в соответствии с линией аддитивности.

Следует отметить, что кривые зависимостей коэффициентов распределения от мольной доли бутанола и изобутанола в экстракционных смесях практически одинаковы. Это можно объяснить тем, что эти спирты близки по структуре, молекулярной массе и, соответственно, проявляют близкие свойства.

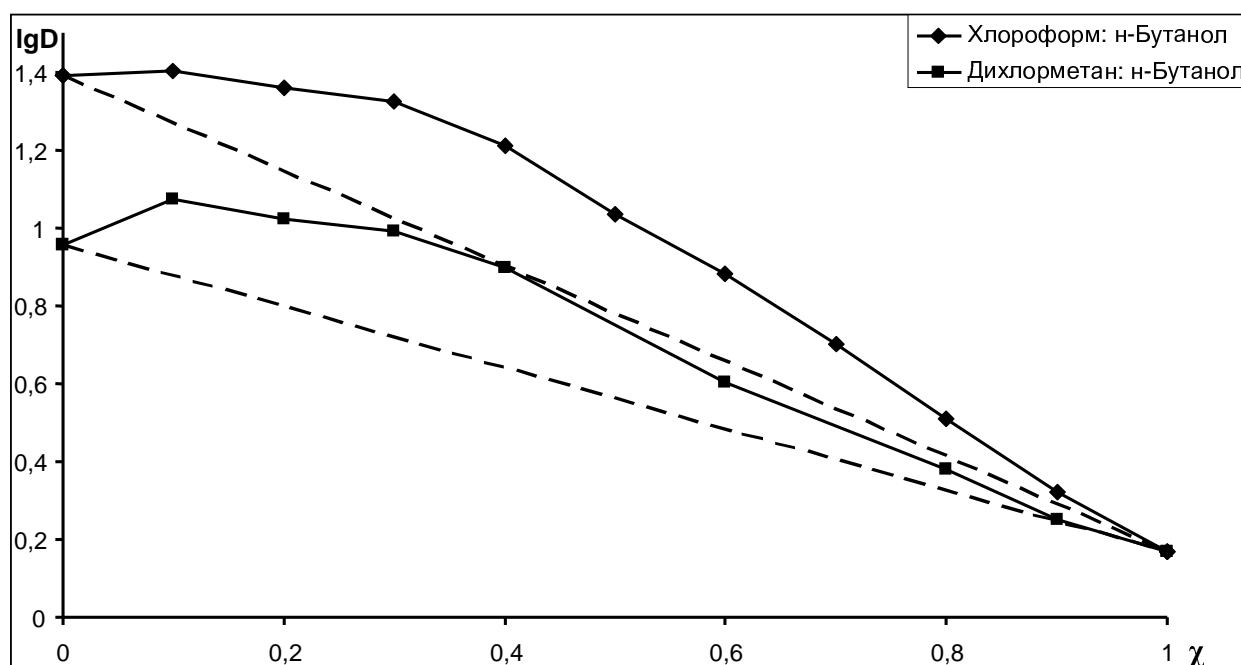


Рисунок 2 – Зависимость коэффициентов распределения кофеина от мольной доли (χ) н-бутанола в экстракционных смесях

Из-за высокой растворимости изопропанола в воде исследовали диапазон его концентраций в экстракционной смеси от 0 до 50% (по объёму).

Большие концентрации изопропанола в хлороформе или дихлорметане исследовать было нецелесообразно из-за зна-

чительной потери органической фазы при экстракции.

Как и в предыдущем случае, полученные диаграммы для смесей на основе хлороформа и дихлорметана похожи и различаются лишь величиной коэффициентов распределения. Для примера на ри-

сунке 3 приведена зависимость коэффициентов распределения теобромина, теофиллина и кофеина от объемного процента изопропанола в экстракционной смеси хлороформ: изопропанол.

Как видно из приведенной диаграммы, коэффициенты распределения теобромина и теофиллина возрастают экспоненциально с увеличением содержания изопропанола в экстракционной смеси и достигают максимума при содержании спирта 45-50 % по объему. При экстракции кофеина данной экстракционной смесью наблюдается иная зависимость. При увеличении содержания изопропанола в экстракционной смеси до 5 % наблюдается рост коэффициентов распределения, а при дальнейшем увеличении содержания спир-

та в экстракционной смеси наблюдается практически линейное уменьшение коэффициентов распределения. Очевидно, что процессы, протекающие в данной экстракционной смеси, аналогичны описанным выше, протекающим в смесях, содержащих н-бутанол и изобутанол. Но увеличение коэффициентов распределения теобромина и теофиллина выше при использовании изопропанола, чем при использовании н-бутанола и изобутанола. Это можно объяснить тем, что молекула изопропанола меньше и, следовательно, легче заменяет молекулы воды в сольватной оболочке молекул теобромина, теофиллина и кофеина при их экстракции из водной фазы в органическую.

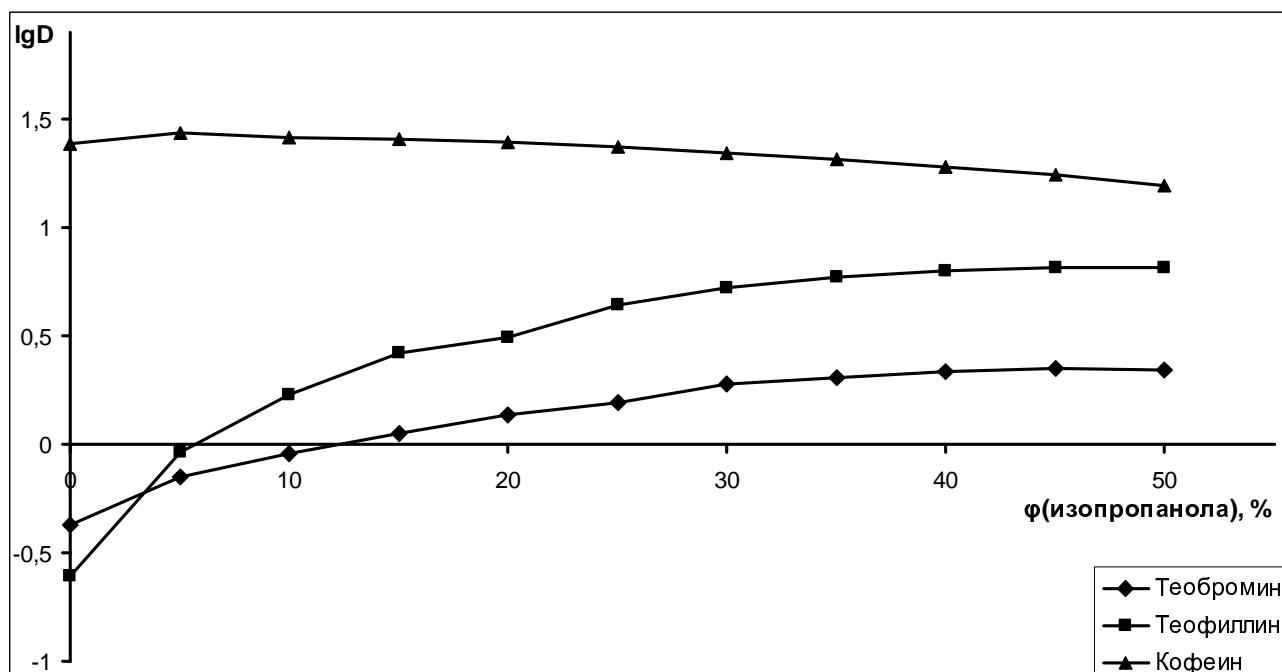


Рисунок 3 – Зависимость коэффициентов распределения метилпроизводных ксантина от содержания изопропанола в экстракционной смеси хлороформ: изопропанол

Таким образом, можно заключить, что оптимальное содержание н-бутанола или изобутанола в экстракционных смесях на основе хлороформа и дихлорметана лежит в пределах мольной доли спирта 0,3-0,4 в смеси (или 30-50 % по объему в зависимости от смеси). Использование экстракционной смеси, содержащей 45-50 % изопропанола, можно считать оптимальным для одновременного извлечения трех изученных веществ из водной фазы. Данные о коэффициентах распределения ме-

тилпроизводных ксантина при экстракции смесями органических растворителей с оптимальным соотношением компонентов приведены в таблице 1.

При анализе данных, приведенных в таблице, стоит отметить, что, несмотря на высокие коэффициенты распределения теобромина и теофиллина при экстракции смесью хлороформ: изопропанол (50%), для практических целей целесообразнее использовать смеси, содержащие н-бутанол или изобутанол. Это связано с

тем, что для анализа, после экстракции, отбирается органическая фаза. Соответственно, чем больше органической фазы отобрано для анализа, тем больше исследуемого вещества будет изолировано. При использовании экстракционной смеси хло-

роформ: изопропанол теряется до 30 % (в зависимости от состава) органической фазы за счет растворимости изопропанола в воде. При использовании смесей хлороформа с н- или изобутанолом потеря органической фазы минимальна.

Таблица 1 – Коэффициенты распределения метилпроизводных ксантина при экстракции смесями органических растворителей ($n=5$; $\alpha=0,05$)

| Вещество: Экстрагент: | Теобромин | Теофиллин | Кофеин |
|--|-----------|-----------|------------|
| хлороформ: н-бутанол ($\chi=0,30$; $\phi=0,33$) | 1,43±0,01 | 6,48±0,06 | 21,12±0,27 |
| хлороформ: н-бутанол ($\chi=0,40$; $\phi=0,43$) | 1,38±0,04 | 6,52±0,02 | 16,24±0,11 |
| хлороформ: изобутанол ($\chi=0,30$; $\phi=0,33$) | 1,49±0,02 | 6,75±0,06 | 21,81±0,26 |
| хлороформ: изобутанол ($\chi=0,40$; $\phi=0,43$) | 1,43±0,01 | 6,72±0,05 | 17,51±0,16 |
| дихлорметан: н-бутанол ($\chi=0,30$; $\phi=0,38$) | 1,18±0,03 | 4,27±0,06 | 9,82±0,16 |
| дихлорметан: н-бутанол ($\chi=0,40$; $\phi=0,49$) | 1,12±0,01 | 4,27±0,06 | 7,87±0,10 |
| дихлорметан: изобутанол ($\chi=0,30$; $\phi=0,38$) | 1,19±0,02 | 4,23±0,05 | 11,09±0,32 |
| дихлорметан: изобутанол ($\chi=0,40$; $\phi=0,49$) | 1,16±0,01 | 4,37±0,03 | 8,83±0,26 |
| хлороформ: изопропанол ($\phi=0,50$) | 2,09±0,01 | 7,81±0,04 | 17,74±0,13 |
| дихлорметан: изопропанол ($\phi=0,50$) | 1,57±0,02 | 4,51±0,02 | 9,82±0,20 |

Примечание: в графе «Экстрагент» в скобках указывается соответствие мольной доли спирта (χ) в смеси его объемной доле (ϕ) в этой смеси.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Определены коэффициенты распределения теобромина, теофиллина и кофеина в 10 экстракционных смесях типа алкилгалогенид-спирт.
- При экстракции метилпроизводных ксантина изученными смесями органических растворителей наблюдается синергетный эффект.
- Лучшими для экстракции теобромина и теофиллина из водных растворов являются смеси, содержащие 0,30 мольные доли ($\phi=0,33$) изобутанола (н-бутанола) в хлороформе и 0,50 объемные доли изопропанола в хлороформе.

4. Коэффициенты распределения кофеина при экстракции смесью хлороформ: изопропанол ($\phi=0,05$) и чистым хлороформом отличаются незначительно, что делает нецелесообразным использование смесей органических растворителей при извлечении кофеина из водных растворов.

5. Коэффициенты распределения МПК для смесей, содержащих н-бутанол и изобутанол, различаются незначительно.

SUMMARY

M.L. Pivavar, A.I. Zhebentyaev
THE STUDY OF METHYLBANTINES' EXTRACTION WITH MIXTURES OF ORGANIC DISSOLVENTS

Distribution coefficients of theobromine, theophylline and caffeine in 10 extraction mixtures are presented in the article. Chloroform and dichloromethane make up the basis of mixture. Isopropanol, butanol and isobutanol were used as additives. It has been established that synergistic effect is seen while the extraction of these mixtures. It has been also shown that efficiency of mixtures with butanol and isobutanol differs insignificantly in comparison with examined substances. As a result we have established that maximal extraction of theobromine and theophylline can be seen during the extraction with mixtures that have 33 % of isobutanol in chloroform and 50 % of isopropanol in chloroform. A decrease of distribution coefficients is observed with an alcohol increase in the extractant while the extraction of caffeine in mixtures of organic solvents.

Keywords: caffeine, theobromine, theophylline, extraction, mixtures of organics solvents

ЛИТЕРАТУРА

- Пивовар, М.Л. Определение количественных характеристик экстракции производных ксантина различными органическими растворителями / М.Л. Пивовар, А.И. Жебентяев // Вестник фармации. – 2008. - № 4. – С. 64-71.
- A quantitative thin layer chromatography method for determination of theophylline in plasma / A. Mirfazaelian [et al] // J. Pharm. Sci. – 2002. – Vol. 5, № 2. – P. 131-134.
- In vivo evaluation of CYP1A2, CYP2A6, NAT-2 and xanthine oxidase activities in a Greek population sample by the RP-HPLC monitoring of caffeine metabolic ratios / E. Begas [et al] // Biomed. Chromatogr. – 2007. – Vol. 21, № 2. – P. 190-200.
- Bendriss, E.K. Liquid chromatographic method for the simultaneous determination of caffeine and fourteen caffeine metabolites in urine / E.K. Bendriss, N. Markoglou, I.W. Wainer // J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. – 2000. – Vol. 746, № 2. – P. 331-338.
- Use of caffeine as a probe for rapid determination of cytochrome P-450 CYP1A2 activity in humans / D.S. Ou-Yang [et al] // Zhongguo Yao Li Xue Bao. – 1998. – Vol. 19, № 1. – P. 44-46.
- Soto-Otero, R. High-performance liquid chromatographic procedure for the simultaneous determination of theophylline, caffeine, and phenobarbital in neonates / R. Soto-Otero, E. Mendez-Alvarez, G. Sierra-Marcuño // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1985. – Vol. 23, № 5. – P. 303-306.
- Stability studies of selected doping agents in urine: caffeine / R. Ventura [et al] // J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci. – 2003. – Vol. 795, № 2. – P. 167-177.
- Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry assay for determination of nicotine and metabolites, caffeine and arecoline in breast milk / M. Pellegrini [et al] // Rapid Commun. Mass. Spectrom. – 2007. – Vol. 21, № 16. – P. 2693-2703.
- Meatherall, R. Isocratic liquid chromatographic determination of theophylline, acetaminophen, chloramphenicol, caffeine, anticonvulsants, and barbiturates in serum / R. Meatherall, D. Ford // Ther. Drug Monit. – 1988. – Vol. 10, № 1. – P. 101-115.
- Bailey, D.G. Improved theophylline serum analysis by an appropriate internal standard for gas chromatography / D.G. Bailey, H.L. Davis, G.E. Johnson // J. Chromatogr. – 1976. – Vol. 21, № 2. – P. 263-268.
- Soldin, S.J. A rapid micromethod for measuring theophylline in serum by reverse-phase high-performance liquid chromatography / S.J. Soldin, J.G. Hill // Clin. Biochem. – 1977. – Vol. 10, № 2. - P. 74-77.
- Determination of plasma theophylline in the newborn by high resolution gas chromatography and specific detection / F. Berthou [et al] // Ann. Biol. Clin. – 1978. – Vol. 36, № 6. – P. 497-507.
- Davis, J.D. Simultaneous assay of fluoroquinolones and theophylline in plasma by high-performance liquid chromatography / J.D. Davis, L. Aarons, J.B. Houston // J. Chromatogr. – 1993. – Vol. 621, № 1. – P. 105-109.
- Van Thuyne, W. Distribution of caffeine levels in urine in different sports in relation to doping control before and after the removal of caffeine from the WADA doping list /

- W. Van Thuyne, F.T. Delbeke // Int. J. Sports. Med. – 2006. – Vol. 27, № 9. – P. 745-750.
15. Van Thuyne, W. Distribution of caffeine levels in urine in different sports in relation to doping control / W. Van Thuyne, K. Roels, F.T. Delbeke // Int. J. Sports. Med. – 2005. – Vol. 26, № 9. - P. 714-718.
16. Rasmussen, B.B. Determination of theophylline and its metabolites in human urine and plasma by high-performance liquid chromatography / B.B. Rasmussen, K. Brøsen // J. Chromatogr. B Biomed. Appl. – 1996. – Vol. 676, № 1. – P. 169-174.
17. Rasmussen, B.B. Determination of urinary metabolites of caffeine for the assessment of cytochrome P4501A2, xanthine oxidase, and N-acetyltransferase activity in humans / B.B. Rasmussen, K. Brøsen // Ther. Drug. Monit. – 1996. – Vol. 18, № 3. – P. 254-262.
18. Schwertner, H.A. Analysis for underivatized theophylline by gas-chromatography on a silicone stationary phase, SP-2510-DA / H.A. Schwertner. // Clin. Chem. – 1979. – Vol. 25, № 2. – P. 212-214.
19. Мокшина, Н.Я. Явление синергизма при сорбции и экстракции биологически активных веществ / Н.Я. Мокшина, В.Ф. Селеменев, Г.Ю. Орос // Сорбцион. и хроматогр. проц. – 2002. - Т. 2, вып. 2. – С. 166-175.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра токсикологической
и аналитической химии,
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-06,

Пивовар М.Л.

Поступила 14.07.2009 г.

В.П. Быстряков

**ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ
РАСТВОРА АЦЕТИЛЦИСТЕИНА**

Витебский государственный
университет им. П.М. Машерова

Лекарственное средство отечественного производства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций (РУП "Белмедпрепараты"), предписывается хранить в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5°C. В зарубежных фармакопеях отсутствует требование хранить субстанцию ацетилцистеина и ЛС ацетилцистеин для ингаляций при пониженной температуре - в холодильнике. В Фармакопее США отсутствует также предписание хранить субстанцию ацетилцистеина и ЛС на его основе в защищенном от света месте. Ускоренные испытания стабильности на основе метода ВЭЖХ ЛС ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, показали его стабильность при хранении в течение месяца в условиях, отличающихся от рекомендованных условий хранения – ампулы хранились вне внешнего контейнера, при комнатной температуре, на свету.

Ключевые слова: ацетилцистеин, раствор для ингаляций, ускоренные испытания стабильности, условия хранения, обращенно-фазовая ВЭЖХ.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное средство отечественного производства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, лекарственная форма – ампулы 5 мл, № 10, согласно Инструкции по применению (утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 29.04.2008) и надписи на внешнем контейнере предписывается хранить в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5°C. Такое требование к условиям хранения раствора ацетилцистеина существовало и ранее [1]. В соответствии с Государственной Фармакопеей Республики Беларусь требование