

- 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

хранить в защищенном от света месте обеспечивается для данного лекарственного средства помещением ампул из прозрачного стекла во внешний контейнер, изготовленный из картона. Кроме того, данное лекарственное средство, согласно требованию хранения при температуре от 0 до 5°C, должно храниться в холодильнике, что одновременно обеспечивает дополнительную защиту от света [2].

Предписание хранить раствор ацетилцистеина в защищенном от света месте соответствует требованиям Европейской фармакопеи (ЕФ) к условиям хранения, содержащимся в статьях для субстанции ацетилцистеина и для лекарственного средства ацетилцистеин для ингаляций. Аналогичные статьи включены также в Британскую Фармакопею, а статья для субстанции ацетилцистеина – в Государственную Фармакопею Украины [3,4]. Предписание хранить субстанцию ацетилцистеина и ацетилцистеин для ингаляций при пониженной температуре - в холодильнике в перечисленных зарубежных фармакопеях отсутствует. Фармакопея США содержит статьи: на субстанцию ацетилцистеина, на раствор ацетилцистеина, на раствор для ингаляций ацетилцистеина и изопротеренола гидрохлорида [5]. Во всех трех статьях предписывается хранение в плотно закрытых контейнерах, при “контролируемой комнатной температуре”.

Хранение раствора ацетилцистеина в защищенном от света месте при температуре от 0 до 5°C имеет целью предохранить ацетилцистеин от возможных процессов разложения. Молекула ацетилцистеина (N-ацетил-L-цистеин) содержит две функциональные группы, свойства которых могут обуславливать разложение вещества – тиольную и амидную. Тиольная группа способна окисляться под действием очень мягких окислителей, в частности, кислорода воздуха, при обычных условиях, с образованием дисульфидов [6]. Большая часть процессов окисления веществ в лекарственных средствах, представляющих собой водные растворы, является функцией растворенного в воде кислорода. С целью минимизировать окисление кислород обычно удаляют. Часто окисление кисло-

родом является цепной реакцией и катализируется ионами металлов M^{2+} . На практике для лекарственных средств, чувствительных к окислению в растворе, используют добавку антиоксидантов, а также связывают ионы тяжелых металлов действием этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). В частности, была изучена кинетика окисления каптоприла, содержащего тиольную группу. Показано, что в отсутствие ионов металла каптоприл подвергается аутоокислению [7]. Амиды представляют собой класс наименее реакционноспособных производных карбоновых кислот. Амидные связи менее подвержены гидролизу, так как входящая в амидную группу карбонильная группа менее электрофильна (связь углерод-азот имеет значительный вклад двойной связи), а образующаяся аминогруппа хуже как уходящая группа. Гидролиз амидов возможен с участием кислотных или основных катализаторов, причем более эффективен основной катализ [8, 9]. Гидролиз и окисление относятся к реакциям, которые могут катализироваться светом. Фотодеградация часто протекает по разным параллельным путям и приводит к образованию смеси продуктов. Механизмы процессов фотодеградации, как правило, очень сложные [9]. Европейская фармакопея требует контролировать методом ВЭЖХ в субстанции и лекарственных средствах, содержащих ацетилцистеин, содержание следующих сопутствующих примесей: L-цистин, L-цистеин, N,N-диацетил-L-цистин, N,N-диацетил-L-цистеин. При хранении подкисленного водного раствора с концентрацией ацетилцистеина 8 мг/мл не менее часа возможно образование 2-метил-2-тиазолин-4-карбоновой кислоты [3].

Из вышеизложенного следует, что, во-первых, во всех рассмотренных зарубежных фармакопеях в статьях для субстанций ацетилцистеина и лекарственных средств на основе ацетилцистеина отсутствует предписание “хранить в холодильнике”. Во-вторых, в Фармакопее США в этих статьях отсутствует предписание хранить в защищенном от света месте. Таким образом, хранение субстанции ацетилцистеина и лекарственных средств на его основе вне

холодильника и на свету зарубежные фармакопеи в принципе допускают. В связи с этим нами ставится вопрос о возможности временного изменения условий хранения отечественного лекарственного средства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, а именно, вне холодильника и на свету. В Государственной Фармакопее Республики Беларусь указывается, что в процессе местной транспортировки для лекарственных средств, не имеющих дополнительного указания по хранению “Не охлаждать” или “Не замораживать”, допускается кратковременное изменение условий хранения. Рассмотрение возможностей временного изменения условий хранения в других рабочих ситуациях, а также более подробное толкование самих возможностей изменения условий хранения в Государственной Фармакопее Республики Беларусь не приводится [2]. Для сравнения, в Фармакопее США понятие “контролируемая комнатная температура” трактуется как температура от 20 до 25°C, при этом допустимы временные изменения этих границ от 15 до 30°C, возможные в аптеках, клиниках и домашней обстановке. Предусматривается и возможность кратковременных подъемов температуры хранения до 40°C продолжительностью не более 24 часов. Также указывается, что лекарственное средство, для которого предписано хранение при “контролируемой комнатной температуре”, может храниться и в холодильнике, если это не запрещено в соответствующей фармакопейной статье или в надписи на упаковке [5].

Целью настоящего исследования было проведение ускоренных испытаний стабильности отечественного лекарственного средства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, при изменении условий хранения, а именно, при хранении вне холодильника, на свету.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения ускоренных испытаний стабильности использовали серийный образец лекарственного средства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, ампулы 5 мл, № 10, выпущенный

РУП “Белмедпрепараты” 29.04.2008 г. (срок годности 09.2012 г.) После выпуска и до начала испытаний образец хранился в складских и в аптечных условиях согласно условиям хранения в течение семи месяцев. Состав лекарственного средства: ацетилцистеин 200 г, натриевая соль ЭДТА 0,4 г, 2М натрия гидроксида до pH 6,8-7,8, вода для инъекций до 1 л.

При изучении стабильности ЛС оценивали внешний вид раствора и содержание возможных продуктов разложения. Внешний вид раствора оценивали визуально.

Ускоренные испытания стабильности ЛС в соответствии с Методическими указаниями [10] проводились с минимально допустимым сроком изменения условий хранения – 1 месяц. Половина ампул из одной и той же упаковки № 10 хранилась в течение месяца при комнатной температуре на солнечном свету (вне внешнего картонного контейнера). Вторая половина ампул хранилась весь период без нарушения условий хранения для сравнения.

Для обнаружения возможных продуктов разложения ЛС применялась методика ЕФ, пригодная для анализа методом обращенно-фазовой ВЭЖХ как субстанции ацетилцистеина, так и для раствора ацетилцистеина для ингаляций [3].

Для приготовления подвижной фазы были использованы ацетонитрил для ВЭЖХ производства Криохром, осч, вода бидистиллят, ортофосфорная кислота конц., 85% производства Kiedel-de haen (30417), соответствующие требованиям для ВЭЖХ.

В качестве стандартного образца для ВЭЖХ использовали натриевую соль ЭДТА, осч.

Хроматографирование проводили на жидкостном микроколоночном хроматографе Agilent 1200 (США). Стальная колонка производства фирмы Agilent (США), длиной 150 мм и внутренним диаметром 3,0 мм, была упакована сорбентом Zorbax SB-C18 (3,5 мкм). Отличием от методики ЕФ являлось использование более короткой колонки меньшего внутреннего диаметра и меньшая скорость подачи подвижной фазы – 0,5 мл/мин. В остальном усло-

вия хроматографирования соответствовали методике ЕФ.

Подвижную фазу для изократического элюирования согласно методике ЕФ готовили смешиванием ацетонитрила с водой в соотношении 97:3 по объему и довели затем смесь до рН 3,0 ортофосфорной кислотой. Перемешивание смеси осуществляли с помощью магнитной мешалки, рН измеряли потенциометрически на рН-метре Hanna instruments. Полученный раствор фильтровали через целлюлозный мембранный фильтр Agilent с диаметром пор 0,45 мкм и использовали в течение трех суток.

В дополнение к методике ЕФ с изократическим элюированием проводили хроматографирование в условиях градиентного элюирования при повышении концентрации ацетонитрила в подвижной фазе до 10%.

Для приготовления исследуемых растворов ацетилцистеина вначале 1 мл раствора ацетилцистеина для ингаляций помещали в мерную колбу емкостью 25 мл и разбавляли водой до метки - раствор (а). Затем 1 мл раствора (а) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и разбавляли водой до метки - раствор (б), который подвергали хроматографированию. Раствор (б) использовали не более часа, затем готовили свежий раствор. Стандартный раствор ЭДТА готовили по точной навеске вначале с концентрацией около 1 мг/мл, затем разбавлением полученного раствора готовили раствор для хроматографирования с концентрацией около 40 мкг/мл. Растворы перед введением в хроматограф фильтровали через мембранный шприцевой фильтр с диаметром пор 0,2 мкм.

Ввод анализируемых растворов в петлевой дозатор проводили микрошприцом 50 мкл. Объем введения (объем петлевого дозатора) – 20 мкл. Спектрофотометрическое детектирование проводили при 220 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно ЕФ, при хроматографировании субстанции ацетилцистеина или его раствора для ингаляций в стандартных ус-

ловиях время удерживания ацетилцистеина составляет около 6,4 мин. В случае наличия сопутствующих примесей их времена удерживания составят: L-цистин, около 2,2 мин; L-цистеин, около 2,4 мин; 2-метил-2-тиазолин-4-карбоновая кислота, около 3,3 мин; N,N-диацетил- L-цистин, около 12 мин; N,S-диацетил-L-цистеин, около 14 мин [3].

При хроматографии в изократических условиях растворов образцов ЛС ацетилцистеина, хранившихся согласно условиям хранения, на хроматограммах регистрировались два пика со временами удерживания: пик (1), 1,9 мин; пик (2), 5,1 мин. При хроматографировании стандартного раствора ЭДТА регистрируется 1 пик со временем удерживания 1,9 мин. Таким образом, пик (1) относится к содержащемуся в ЛС ЭДТА. Пик (2), согласно данным методики ЕФ [3], однозначно можно идентифицировать по времени удерживания как пик ацетилцистеина. Уменьшение времени удерживания ацетилцистеина от 6,4 мин до 5,1 мин связано с применением в нашем исследовании более короткой колонки.

При хроматографии в изократических условиях растворов образцов ЛС ацетилцистеина, хранившихся в течение месяца вне внешнего контейнера на солнечном свету при комнатной температуре, полученные хроматограммы оказались идентичны по числу пиков, временам удерживания и высотам пиков хроматограммам растворов образцов ЛС ацетилцистеина, хранившихся согласно условиям хранения.

При хроматографировании растворов образцов ЛС как хранившихся согласно условиям хранения, так и подвергнутых ускоренным испытаниям в режиме: изократическое элюирование – 10 мин, затем градиентное элюирование – 20 мин, новых пиков в режиме градиентного элюирования не зарегистрировано.

Изменений внешнего вида образцов ЛС, подвергнутых ускоренным испытаниям, не зарегистрировано.

Данный эксперимент подтвердил предположение, что лекарственное средство ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций, сохраняет стабильность при

кратковременном изменении условий хранения, а именно, при хранении ампул вне внешнего контейнера, при комнатной температуре, на свету в течение месяца.

Автор выражает благодарность В.И. Фадееву за консультации и помощь при проведении хроматографического анализа. Особая благодарность А.К. Жерносеку за консультации и предоставление необходимой литературы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ускоренные испытания стабильности на основе метода ВЭЖХ отечественного лекарственного средства ацетилцистеин, 20%-ный раствор для ингаляций (РУП "Белмедпрепараты") показали его стабильность при хранении в течение месяца в условиях, отличающихся от рекомендованных условий хранения - вне внешнего контейнера, при комнатной температуре, на свету.

SUMMARY

V.P. Bystryakov

INVESTIGATION OF STABILITY OF ACETYLCYSTEINE SOLUTION

Acetylcysteine injection, 20% (RUE "Belmedpreparaty"), must be stored in dark place at temperature from 0 till 5 °C. Short-time investigation of stability of this preparation by means of HPLC method showed its stability till month storage in another conditions – ampoules without additional container, at room temperature, at sunlight.

Keywords: acetylcysteine injection, short-time investigation of stability, storage conditions, reversed phase HPLC.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – М.: Медицина, 1987. - Т.1. – 624 с.
2. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т.1 Общие методы контроля качества лекарственных средств / УП "Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении"; под общ. ред. Г.В. Годоваль-

никова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – 656 с.

3. British Pharmacopoeia-2001, version 5.0 [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (177 Мб). –Norwich, 2001. – 1 электр. опт. диск (CD-ROM).

4. Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". – Харків, 2001.

5. The United States Pharmacopoeia, (The USP 24th Ed), Version 4/2 [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (245 Мб), Maryland, 2000. – 1 электр. опт. диск (CD-ROM).

6. Иванов, В.Г. Органическая химия / В.Г. Иванов. - М.: Академия, 2006. – 621 с.

7. Drugs and the pharmaceutical sciences. A Series of Textbooks and Monographs / ed. by J. Swabrick. - N.Y.: Marcel Dekker, Ink. - Vol.107: Drug Stability. Principles and Practices / ed. by Jens T. Carstensen, C.T. Rhodes. - Third Edition. - 2000. – 670 p.

8. Ким, А.М. Органическая химия / А.М. Ким - Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2002. – 971 с.

9. Yoshioka, S. Stability of Drugs and Dosage Forms / S. Yoshioka, J. Stella. – N.Y.: Kluwer Acad. Publishers, 2002. – 268 p.

10. Методические указания. Изучение стабильности и установление сроков годности новых субстанций и готовых лекарственных средств. МУ 09140.07–2004. – Минск: Концерн "Белбиофарм". – НПРУП "Лотис", 2004. – 57 с.

Адрес для корреспонденции:

210038, Республика Беларусь,
г. Витебск, Московский проспект, 33,
Витебский государственный
университет им. П.М. Машерова,
кафедра химии,
тел. раб.: 8 (0212) 25-50-45,
e-mail : bystrakou @ tut.by.

Быстряков В.П.

Поступила 30.12.2009 г.
