



Zrýchlená metóda štúdia stability liečiv a využitie v praxi

Mária Stankovičová, Želmíra Bezáková

Katedra farmaceutickej chémie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava



Súhrn

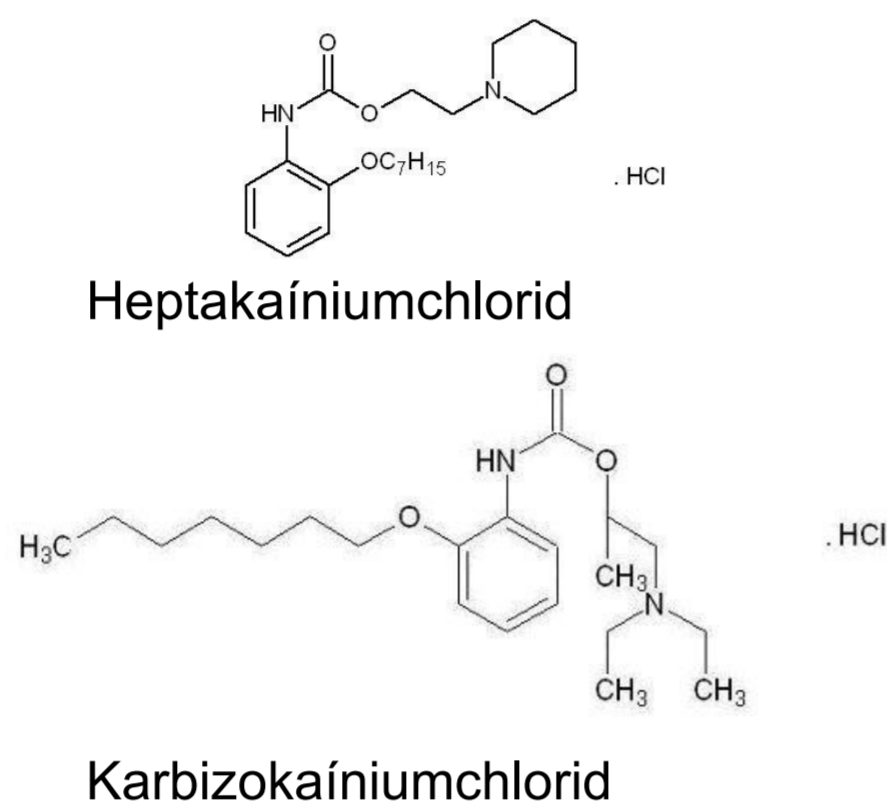
Študované látky

Materiál a metódy

Práca sa zaoberá štúdiom kinetiky hydrolyzy a stability dvoch potenciálnych liečiv heptakainínu a karbizokaínu (Obr. 1) za neizotermických podmienok.

Na vyhodnotenie stability v prostredí vodno-etanového roztoku NaOH c = 0,1 mol/l a tlmivých roztokov pH 7 a pH 8 sme vypracovali neizotermický test pre tieto liečivá, stanovili hodnoty aktivačnej energie E_A , rýchlostné konštanty k_0 pri začiatkovej teplote reakcie a pri teplote skladovania 20 °C, počas reakcie $t_{0,5}$ a čas použiteľnosti $t_{0,9}$ roztoku liečiva pri teplote 20 °C.

Obrázok 1



Študované látky, použité chemikálie a prístroje

Študované látky heptakainiumchlorid, Mr = 398,98 a karbizokaíniumchlorid, Mr = 400,99 boli pripravené vo forme hydrochloridov na Katedre farmaceutickej chémie FaFUK^{1,2}. Všetky použité chemikálie boli čisté p.a. Pre sledovanie priebehu spektier látok v UV oblasti spektra sme použili UV-1800 SHIMADZU UV spektrofotometer a na temperovanie roztokov termostat Memmert WB 10, Nemecko.

Sledovanie stability študovaných látok neizotermickým testom vo vodno-etanovom roztoku NaOH a v tlmivých roztokoch s hodnotou pH 7,0 a pH 8,0

Roztoky študovaných látok s koncentráciou 0,001 mol/l sme podrobili hydrolyze vo vodno-etanovom roztoku NaOH c = 0,1 mol/l, koncentrácia etylalkoholu bola 50 % V/V, vo vodno-etanovom tlmivom roztoku s hodnotou pH 7,0 a iónovou silou $\mu = 0,1$ mol/l pripravenom z 0,58 g NaOH, 3,40 g KH_2PO_4 a 0,78 g KCl na celkový objem 500,0 ml v zmesi prevarenej destilovanej vody a s objemom 250,0 ml etylalkoholu; vo vodno-etanovom tlmivom roztoku s hodnotou pH 8,0 a iónovou silou $\mu = 0,1$ mol/l pripravenom rovnakým spôsobom z 0,92 g NaOH, 3,40 g KH_2PO_4 a 0,145 g KCl. Priebeh hydrolyzy sme sledovali pomocou spektrofotometrie v UV oblasti spektra. Spektrum pripravených roztokov sme zmerali a zaznamenali absorbanciu pri štyroch vlnových dĺžkach - 280 nm, 236 nm, 294 nm a 296 nm oproti slepému roztoku. Táto absorbancia prislúchala hodnote A_0 v čase $t = 0$ hod. Roztok sme preliali do 100,0 ml odmernej banky a vložili do vytemperovaného termostatu na požadovanú teplotu. V rámci experimentu sme postupne odoberali vzorku a zvyšovali teplotu v určitých časových intervaloch a zmerali jej absorbanciu pri štyroch uvedených vlnových dĺžkach oproti slepému roztoku. Pre uvedené intervaly rastu teploty sme zvlášť vyhodnotili konštanty úmernosti rastu teploty B podľa rovnice (5). Z nameraných hodnôt absorbancie sme pomocou rovnice (6) vyhodnotili neizotermický test stability študovaných látok podľa Rogersa^{3,4}, rovnica (6) a to rýchlostnú konštantu na začiatku reakcie k_0 a hodnotu aktivačnej energie E_A . Počas reakcie $t_{0,5}$ sme vypočítali podľa rovnice (2), čas použiteľnosti $t_{0,9}$ podľa rovnice (3), rýchlostnú konštantu pri zvolenej teplote 20 °C k_{20} podľa rovnice (7).

Úvod a cieľ práce

Zrýchlené testy stability liečiv umožňujú za neizotermických podmienok skrátiť čas na získanie údajov pre predpoveď stálosti. Vzorky liečiv sa testujú pri teplote, ktorá sa zvyšuje podľa vopred nastaveného programu. Metóda je založená na Arrheniovom vzťahu závislosti reakčnej rýchlosti od teploty rovnako ako štúdiom reakčnej kinetiky za izotermických podmienok. Pri neizotermickom teste je potrebné nájsť funkčnú závislosť medzi teplotou a časom, aby sa dali získať kinetické údaje z jedného testu stability, počas ktorého sa teplota zvyšuje.

Cieľom práce je štúdium kinetiky hydrolyzy a stability látok heptakainiumchloridu a karbizokaíniumchloridu za neizotermických podmienok experimentov, stanovenie hodnôt rýchlostných konštant, a aktivačnej energie podľa vopred určených programov rastu teploty v prostredí vodno-etanového roztoku NaOH 0,1 mol/l a tlmivých roztokov s hodnotou pH 7,0 a pH 8,0. Zistenie času stálosti pripravených roztokov.

Výsledky

Heptakainiumchlorid													
Krivka rastu teploty				$\ln(\ln(A_0/A_t)) = f \ln(1+t)$				Rýchlostná konštantka k_0 [h ⁻¹]	Počas rozkladu $t_{0,5}$ [h]	Aktivačná energia E_A [kJ/mol]	Rýchlostná konštantka k_{20} [h ⁻¹] pri 20 °C	Počas rozkladu $t_{0,5}$ [h]	Čas použiteľnosti $t_{0,9}$ [h]
Rozsah teplôt [°C]	B [K ⁻¹]	n	r	a_0	a_1	n	r						
NaOH 0,1 mol/l													
40 – 82	$1,90 \times 10^{-4}$	14	0,994	-4,68	2,69	14	0,989	$2,505 \times 10^{-2}$	27,7	73,9	$3,54 \times 10^{-3}$	195,8	29,7
66 – 90	$1,12 \times 10^{-4}$	11	0,983	-3,69	1,85	11	0,998	$4,619 \times 10^{-2}$	15,0	63,6	$1,37 \times 10^{-3}$	506,1	76,6
66 – 88	$9,20 \times 10^{-5}$	9	0,983	-3,58	1,79	9	0,998	$4,741 \times 10^{-2}$	14,6	62,9	$1,46 \times 10^{-3}$	474,6	72,0
pH 7,0													
66 – 86	$1,33 \times 10^{-4}$	6	0,997	-6,74	2,42	6	0,912	$2,88 \times 10^{-3}$	240,6	89,1	$2,08 \times 10^{-5}$	33 317	5 048
66 – 86	$9,55 \times 10^{-5}$	6	0,988	-6,57	2,00	6	0,925	$2,79 \times 10^{-3}$	248,4	87,1	$2,25 \times 10^{-5}$	30 800	4 667
pH 8,0													
60 – 86	$1,24 \times 10^{-4}$	7	0,992	-6,74	2,42	7	0,817	$3,76 \times 10^{-3}$	184,3	77,6	$8,23 \times 10^{-5}$	8 420	1 276
66 – 86	$1,02 \times 10^{-4}$	5	0,993	-6,57	2,00	5	0,950	$4,99 \times 10^{-3}$	138,9	73,8	$8,19 \times 10^{-5}$	8 461	1 282
Karbizokaíniumchlorid													
NaOH 0,1 mol/l													
60 – 88	$1,86 \times 10^{-4}$	10	0,993	-6,01	3,60	10	0,979	$8,86 \times 10^{-3}$	78,2	116,5	$2,84 \times 10^{-5}$	24 401	3 697
pH 7,0													
66 – 88	$1,60 \times 10^{-4}$	5	0,996	-7,65	3,42	5	0,961	$1,63 \times 10^{-3}$	425,1	126,1	$1,52 \times 10^{-6}$	455 921	69 079
pH 8,0													
66 – 88	$1,28 \times 10^{-4}$	5	0,997	-6,10	2,81	5	0,997	$6,31 \times 10^{-3}$	110	117,3	$9,59 \times 10^{-6}$	72 262	10 949

Výpočty

Izotermický test stability

Rýchlostná konštantka 1. poriadku k [h⁻¹]:

$$\ln(a-x) = \ln a - kt \quad (1)$$

a – koncentrácia (absorbancia A_0) na začiatku reakcie,
 $(a-x)$ – koncentrácia (absorbancia A_t) v čase experimentu t - čas

Počas $t_{0,5}$:

$$t_{0,5} = \frac{0,693}{k} \quad (2)$$

Čas použiteľnosti $t_{0,9}$:

$$t_{0,9} = \frac{0,105}{k} \quad (3)$$

Aktivačná energia E_A :

$$\log k = \log A - \frac{E_A}{2,303 RT} \quad (4)$$

Neizotermický test stability podľa Rogersa^{3,4}:

Funkcia teplota - čas:

$$1/T_0 - 1/T_1 = B \ln(1+t) \quad (5)$$

B - konštantka úmernosti pre rast teploty [K⁻¹]

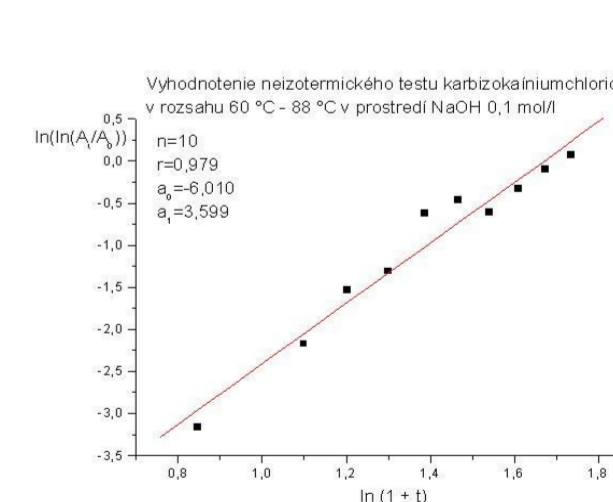
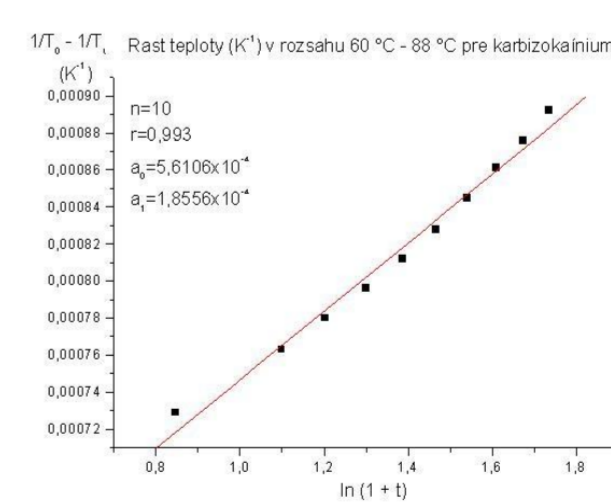
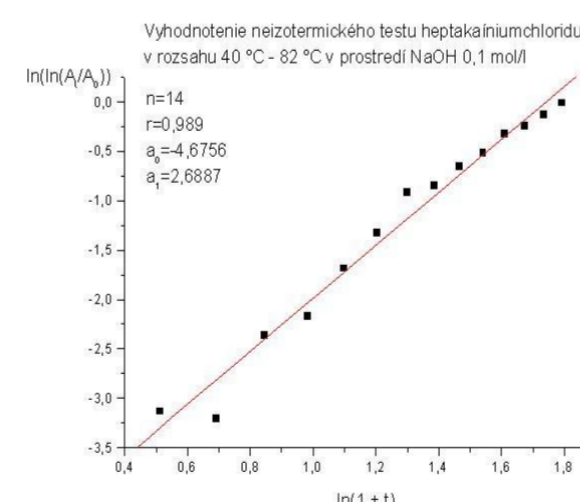
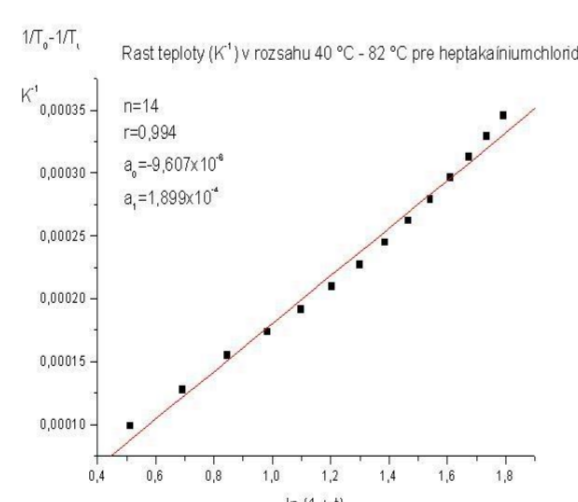
Aktivačná energia E_A [kJ·mol⁻¹] a hodnota k_0 :

$$\ln(\ln(a/(a-x))) = \ln k_0 + E_A/R B \ln(1+t) \quad (6)$$

Rýchlostná konštantka pre zvolenú teplotu (20 °C) k_{20} :

$$\ln k_{20} = \ln k_0 - E_A/(1/T_1 - 1/T_2)/R \quad (7)$$

A – frekvenčný faktor
 T – termodynamická teplota [K]
 R – univerzálna plynová konštantka 8,315 [J · K⁻¹ · mol⁻¹]



Záver pre prax

Vypracovali sme zrýchlený test stability podľa Rogersa pre dve liečivá, heptakainiumchlorid a karbizokaíniumchlorid. Podľa dosiahnutých výsledkov stálosť heptakainiumchloridu v prostredí tlmivého roztoku s hodnotou pH 7,0 je v priemere 200 dní, stálosť karbizokaíniumchloridu v prostredí tlmivého roztoku pH 7,0 je 2878 dní, čo je viac ako 7 rokov. Vyššia stabilita karbizokaínu v porovnaní s heptakainóm vyplýva z rozvetvenia spojovacieho reťazca v molekule a tým vyššia ochrana funkčnej skupiny, ktorá podlieha hydrolyze.

Metóda štúdia stability liečiv neizotermickým testom má výhodu v tom, že v rámci jedného experimentu sa dajú získať parametre potrebné pre výpočet času použiteľnosti liečiva, čím sa ušetrí čas aj energia. Na druhej strane je nevyhnutné vopred zistiť vhodné podmienky experimentu pre liečivo, na čo je potrebné štúdium stability resp. kinetiky hydrolyzy za izotermických podmienok.

Literatúra

- Čizník, J., Borovský, A., Švec, P.: Acta Fac. Pharm. Univ. Comenianae 1976, **29**, 76-77.
- Beneš, L., Švec, P., Kozlovský, J., Borovský, A.: Čes. slov. Farm. 1978, **27**, 167-172.
- Rogers, A.R.: J. Pharm. Pharmacol. 1963, **15**, 101T-105T.
- Kersten D., Göber, B., Pharmazie 1984, **39**, 213-225.