

УДК 615.014.4:612.015.348:543.422.3

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СОЛИ АДЕМЕТИОНИНА С ТОЛУОЛСУЛЬФОКИСЛОТОЙ

Морозов А.В.

Пятигорский медико-фармацевтический институт, Пятигорск, Россия (357532, г. Пятигорск, ул. Калинина, 11), andrewmorozov@mail.ru

Проведено изучение стабильности соли адеметионина. В первой серии субстанцию соли адеметионина герметично закрывали во флаконах и хранили при температуре 20 ± 2 °С. Вторую серию в герметично закрытых флаконах хранили в термостате при температуре 40 ± 1 °С. В каждой серии проводили количественное определение адеметионина с периодичностью в 60 дней – в первой серии и 30 дней – во второй. Количественное определение адеметионина проводили спектрофотометрическим методом. Содержание адеметионина рассчитывали по рабочему стандартному образцу, в качестве которого использовали субстанцию адеметионина. Изучение деструкции адеметионина во время хранения при 20 и 40 °С показало, что адеметионин сохраняет показатели качества в первом случае в течение 24 месяцев, во втором – 12 месяцев. В качестве второго метода контроля стабильности был использован метод ТСХ. Хроматографировали в системе этанол : вода : уксусная кислота (65:34:1). После высушивания хроматограммы проявляли в УФ-свете. В образцах, хранившихся 2 года при температуре 20 °С и при температуре 40 °С 12 месяцев, дополнительных пятен не появляется. Установлен оптимальный срок хранения соли – 2 года.

Ключевые слова: адеметионин, толуолсульфокислота, соль.

STUDYING OF STABILITY OF SALT ADEMETHIONINE FROM THE TOLUENSULFONIC ACID

Morozov A.V.

Pyatigorsk physician – pharmaceutical Institute, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorsk, Street Kalinin, 11), andrewmorozov@mail.ru

Studying of stability of salt of ademethionine was carried out. In the first series a salt substance of ademethionine hermetically closed in bottles and stored at a temperature of 20 ± 2 °C. The second series in hermetically closed bottles stored in the thermostat at a temperature of 40 ± 1 °C. In each series quantitative definition of ademethionine with frequency in 60 days – in the first series and 30 days – to the second was carried out. Quantitative definition of ademethionine was carried out with UV- spectrophotometry method. The content of ademethionine counted with a help of WS of ademethionine. Destruction studying of ademethionine in a storage time at 20 °C and 40 °C showed that ademethionine keeps quality indicators in the first case within 24 months, in the second –12 months. As the second control method of stability the TLC method was used. The samples were chromatographyed in system of ethanol: water: acetic acid (65:34:1). After drying chromatograms were showed in UV-light. In samples stored 2 years at a temperature of 20 °C and at a temperature of 40 °C of 12 months additional spots wasn't appear. The optimum period of storage of salt – is established, it is 2 years.

Keywords: ademethionine, toluensulfonic acid, salt.

Введение

Адеметионин (S - аденозил – L - метионин) играет важную роль в биохимических процессах в организме человека. Адеметионин производится человеческим организмом и присутствует практически во всех тканях организма. Он важен для образования глутатиона, водорастворимого пептида, помогающего организму бороться со свободными радикалами. Адеметионин также помогает при жировой дистрофии печени, а также играет роль в защите организма от сердечной недостаточности. Является донором метильных групп, что важно для метаболизма. В общем адеметионин повышает уровень функционирования остальных

аминокислот в организме. Дефицит адеметионина может стать причиной дисфункции важного гормона – мелатонина, который играет роль в регулировании процесса сна и кардиоритме. Применяется адеметионин при внутривенном холестазах, токсическом поражении печени, в т.ч. алкогольном, лекарственном, вирусном гепатите и т.п. [1].

Однако главным недостатком адеметионина является его неустойчивость при комнатной температуре. Основным продуктом распада адеметионина является метилтиоаденозин (МТА). Процесс распада адеметионина на метилтиоаденозин связан с нуклеофильной атакой карбоксильного углерода на аминокислотный гамма-метилен, который вступает в реакцию с соседним сульфониом. На стабильность адеметионина, помимо температуры, также влияет значение pH. Кислое значение pH предотвращает быстрое разрушение адеметионина до МТА. При высоком значении pH стабильность в растворе низкая и молекула быстро разлагается согласно различным механизмам [2-4].

Добавление растворов различных кислот, солей, а также полианионов и высокомолекулярных веществ к раствору адеметионина приводит к получению стабильных солей адеметионина [5].

В данной статье нами изучена стабильность соли адеметионина с толуолсульфокислотой.

Методики исследования

Субстанцию адеметионина с серной и п-толуолсульфокислотой получали биосинтетическим способом.

Для этого 150 г дрожжей, накопленных в среде Шленка, подвергали лизису, путем добавления 20 мл этилацетата и 100 мл 0,35 Н кислоты серной, перемешивали 2 ч. По окончании лизиса остатки дрожжей отделяли от лизата с помощью центрифугирования. К полученному лизату добавляли 50 мл 5%-ного водного раствора пикролоновой кислоты. Образующийся осадок отстаивали в течение 12 ч, после чего его промывали дважды водой. Полученный таким образом осадок растворяли в 40 мл смеси, состоящей из 0,1 н серной и 0,1 н п-толуолсульфокислоты. К полученному раствору добавляли 40 мл н-бутанола. После разделения органический слой отбрасывали, а к водному добавляли обесцвечивающий уголь и фильтровали. К фильтрату добавляли 80 мл этанола при перемешивании. Образующийся осадок отстаивали и отделяли декантацией. Полученный осадок растворяли в 5 мл 15%-ного раствора п-толуолсульфокислоты в метаноле. К полученному раствору добавляли изопропанол. Сразу образуется белый гигроскопичный осадок, очень легко растворимый в воде и практически не растворимый в основных органических растворителях.

Для полученной субстанции определяли сроки хранения.

В первой серии субстанцию соли адеметионина с толуолсульфокислотой герметично закрывали во флаконах и хранили при температуре 20 ± 2 °С. Вторую серию в герметично

закрытых флаконах хранили в термостате при температуре 40 ± 1 °С. В каждой серии проводили количественное определение адеметионина с периодичностью в 90 дней.

Количественное определение адеметионина проводили спектрофотометрическим методом. Спектр поглощения адеметионина в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной приведен на рисунке 1.

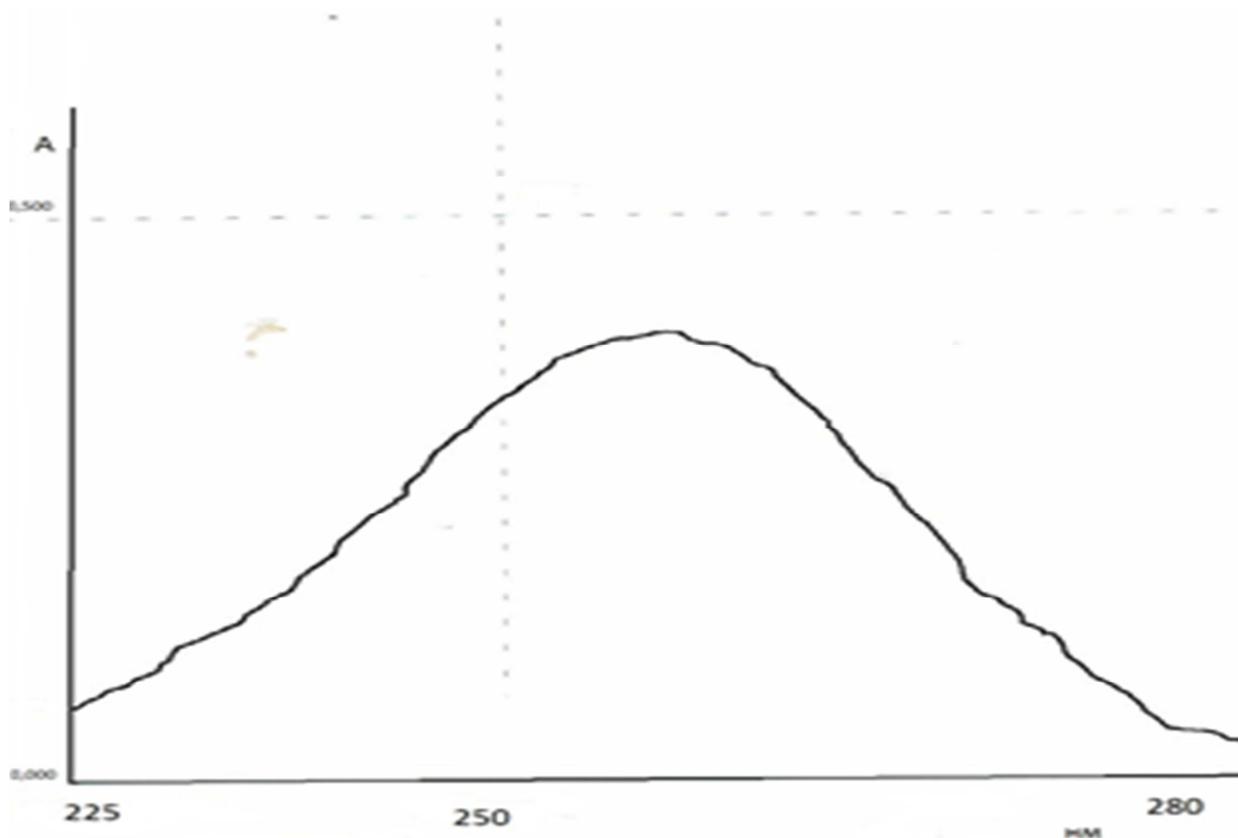


Рис. 1. Спектр поглощения раствора адеметионина в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной.

В спектре поглощения адеметионина имеется одна широкая полоса поглощения с максимумом при 256 нм. Толуолсульфокислота в этой области не имеет светопоглощения и не мешает определению адеметионина. Содержание адеметионина рассчитывали по рабочему стандартному образцу, в качестве которого использовали субстанцию, соответствующую ФС.

Точную навеску соли массой около 0,1 г растворяли в мерной колбе вместимостью 100 мл в 0,1 М кислоте хлористоводородной и доводили до метки той же кислотой. Аликвоту 25 мл переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки 0,1 М кислотой хлористоводородной. Оптическую плотность полученного раствора регистрировали при длине волны 256 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность РСО с концентрацией 0,001%.

Расчет содержания адеметионина проводили по формуле:

$$X = \frac{A_x \times C_{ст} \times 40 \times 100}{A_{ст} \times a},$$

где:

$A_x, A_{ст}$ - значение оптической плотности исследуемого и стандартного растворов;

$C_{ст}$ - концентрация раствора РСО, %;

a – масса навески исследуемого образца.

Результаты анализа адеметионина, полученные в период хранения, приведены в таблице 1.

Таблица 1. Изменение содержания адеметионина (%) в процессе хранения

t, дни \ T °C	90	180	270	360	450	540	630	720
20 °C	41,2	41,15	41,17	41,15	41,14	41,15	41,13	41,11
40 °C	41,2	41,18	41,15	41,12	40,90	40,70	40,55	40,15

Приведенные результаты показывают, что при нормальной температуре соль адеметионина с толуолсульфокислотой сохраняет стабильность на протяжении всего срока хранения. Срок наблюдения был 2 года. При температуре 40 °C через 360 суток наблюдается тенденция к снижению содержания адеметионина.

В качестве второго метода контроля стабильности был использован метод ТСХ. Для выявления возможных продуктов деструкции адеметионин был подвержен термическому разложению. Образец субстанции метионина помещали в термостат и выдерживали в течение часа при 100 °C. Далее проводили хроматографирование всех образцов адеметионина: подвергшийся термическому разложению; образцы, заложенные на хранение; фармакопейный образец.

Из всех образцов готовили водные растворы с концентрацией около 0,1%. Хроматографировали в системе этанол : вода : уксусная кислота (65:34:1). После высушивания хроматограммы проявляли в УФ-свете. На хроматограммах проявляется четкое пятно адеметионина с $R_f=0,3$. В образце, подвергнутом термическому разложению, проявляется дополнительное пятно с $R_f=0,65$. В образцах, хранившихся 2 года при температуре 20 °C и при температуре 40 °C 12 месяцев, дополнительных пятен не появляется. Однако при температуре 40 °C после хранения 13-15 месяцев появляется дополнительное пятно с $R_f=0,62$.

Эти результаты показывают, что соль адеметионина с толуолсульфокислотой стабильна не менее 2 лет.

Выводы.

1. Проведено изучение деструкции адеметионина во время хранения при 20 °С и при 40 °С и показано, что адеметионин сохраняет показатели качества в процессе хранения в первом случае в течение 24 месяцев во втором случае – в течение 12 месяцев.
2. Методом ТСХ показано, что после хранения в течение 24 месяцев при 20 °С и 12 месяцев при 40 °С могут появляться продукты деструкции адеметионина.
3. На основании исследования стабильности можно установить срок хранения соли адеметионина с толуолсульфокислотой – 2 года.

Список литературы

1. Регистр лекарственных средств России РЛС. Энциклопедия лекарств. - 19-й вып. / гл. ред. Г.Л. Вышковский. – М. : РЛС-МЕДИА, 2010. - С. 80.
2. Регистр лекарственных средств России РЛС. Энциклопедия лекарств. - 19-й вып. / гл. ред. Г.Л. Вышковский. – М. : РЛС-МЕДИА, 2010. - С. 963.
3. Aminosugar, glycosaminoglycan, and S-adenosylmethionine composition for the treatment and repair of connective tissue [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.google.ru/patents/US6271213>.
4. Composition and use of ademetionine against ageing of the skin [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.google.com/patents/US4956173>.
5. Sulphonic acid salts of S-adenosilmethionine [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.google.com/patents/US4057686>.

Рецензенты:

Компанцев В.А., д.фарм.н., профессор кафедры неорганической химии Пятигорского медико-фармацевтического института, филиала ГБОУ ВПО «ВолгГМУ», г. Пятигорск.

Кодониди И.П., д.фарм.н., доцент кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института, филиала ГБОУ ВПО «ВолгГМУ», г. Пятигорск.