

DEGRADAČNÍ PRODUKTY A NEČISTOTY PARACETAMOLU Z HLEDISKA JEJICH DETEKCE

LENKA HANYŠOVÁ, PETR KASTNER
a JIŘÍ KLIMEŠ

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv Farmaceutické fakulty UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

Hanysova@faf.cuni.cz

Došlo 12.7.04, přepracováno 8.2.05, přijato 12.3.05.

Klíčová slova: paracetamol, nečistoty, 4-aminofenol, stabilita

Obsah

1. Úvod
2. Detekce *p*-aminofenolu
3. Detekce 4-chloracetanilidu
4. Detekce oxidačních produktů 4-aminofenolu
5. Detekce 4-acetamidofenyl-acetátu
6. Závěr

1. Úvod

Paracetamol (4-acetamidofenol) je široce užívané léčivo pro své analgetické a antipyretické vlastnosti. Paracetamol se často užívá pro snížení horečky u bakteriálních či virových infekcí i u dětí, těhotných žen i starších pacientů, kteří se též potýkají s osteoartritidou a nezářetlivými muskuloskeletárními potížemi^{13,30,31}.

V České republice je registrováno mnoho léčivých přípravků s obsahem paracetamolu, ať již jde o přípravky jednosložkové nebo kombinované.

V současné době je kladen důraz na zabezpečení stále účinnějších a bezpečnějších léků. Jedním z hlavních atributů je stabilita léčiv a léků. Studium stability poskytuje údaje o primárních změnách fyzikálních a chemických vlastností jednotlivých složek léku proti původnímu stavu vlivem vnějších a vnitřních faktorů. Hlavním rozkladným procesem probíhajícím u léčiv se strukturou amidu je hydrolýza. V literatuře^{29,37,39,44} byl popsán mechanismus alkalické a kyselé hydrolýzy paracetamolu. Paracetamol je také citlivý na světlo a pokud obsahuje stopy 4-aminofenolu, oxiduje se, což se projeví barevnými změnami.

4-Aminofenoly se totiž dlouhodobým vystavením na vzduchu a světlu snadno oxidují na chinony, chinoniminy

a semichinoniminy^{3,8,17}. Suspenze obsahující paracetamol po 14 dnech výrazně mění zbarvení na hnědé až černé. Tenkovrstvou chromatografií lze prokázat přítomnost 4-aminofenolu a 4-acetamidofenyl-acetátu. Zatímco množství 4-aminofenolu a jeho barevných oxidačních produktů stoupá s časem, množství 4-acetamidofenyl-acetátu klesá až k nedetekovatelným hodnotám²¹. Při hodnocení 4-acetamidofenyl-acetátu se využívá chromatografických metod, TLC a GC^{21,23}. Byl sledován vliv teploty, světla a UV záření na stabilitu 4-aminofenolu¹⁸. Další dominantní nečistotou paracetamolu je 4-chloracetanilid. Profil nečistot a rozkladných produktů paracetamolu je přehledně zaznamenán v tabulce I (cit.¹⁴).

Jeden z hlavních úkolů farmaceutů je zpracování léčiva tak, aby se neporušila jeho původní stabilita a vyloučily se nevhodné kombinace léčiv s pomocnými látkami nebo nevhodný způsob uchovávání. Z toho vyplývá náročnost a složitost posuzování kvality, která se projeví v konečném důsledku v účinnosti a bezpečnosti léku. Kvalita údajů o stabilitě testovaného léčiva nebo léčivého přípravku je závislá na použitých analytických kontrolních metodách. Při studiu stability se volí takové analytické metody, které umožňují postihnout už malé změny. Při studiu stability se kromě stanovení obsahu účinné látky klade důraz i na čistotu, a proto je třeba využít širokou škálu analytických metod. Pro analytické hodnocení paracetamolu a jeho degradačních produktů či nečistot se velmi často užívá spektrálních i chromatografických metod, zvláště TLC. V lékopisech se hodnotí čistota paracetamolu na základě zkoušek limitů, které udávají povolené množství 4-aminofenolu a 4-chloracetanilidu v substanci paracetamolu. Podle lékopisu USA (USP) se využívá k hodnocení 4-aminofenolu spektrofotometrie a porovnává se absorbance zkoušeného a porovnávacího roztoku (0,005 %) při vlnové délce 710 nm (cit.⁴⁰). V evropském, britském a českém lékopise se barevná reakce 4-aminofenolu s činidlem nitroprusidem sodným hodnotí vzhledem k porovnávacímu roztoku vizuálně^{6,10,11}. Limitní množství 4-chloracetanilidu je v evropském, britském a českém lékopise také 0,005 %, jen v USP je tato hodnota 0,001 % v substanci paracetamolu a hodnotí se TLC.

Těžištěm této práce je přehledné zpracování analytických hodnocení nečistot a rozkladných produktů paracetamolu.

2. Detekce *p*-aminofenolu

Chromatografické metody

TLC

1. Vzorky z léčivého přípravku s obsahem paracetamolu byly při 45 °C ponechány 4 dny a poté byl obsah

Tabulka I
Přehled doprovodných nečistot paracetamolu¹⁴

Nečistoty	Původ	Limity (dle USP)
4-Nitrofenol	prekurzor 4-aminofenolu	–
4-Aminofenol	meziprodukt při přípravě paracetamolu	< 0,025 %
4-Chloracetanilid	nečistota	< 10 p.p.m.
4-Acetamidofenyl-acetát	vedlejší produkt přípravy paracetamolu	1,1 až 1,3 %
Azoxybenzen	produkty redukce nitrobenzenu	–
Azobenzen		–
1,4-Benzochinon	oxidační produkty 4-aminofenolu	barevné změny paracetamolu (modrá, šedá, hnědá)
1,4-Benzochinonimin		
Semichinonimin		

4-aminofenolu analyzován na desce 0,25 mm silikagel GF 254 nm a jako mobilní fáze byla použita směs chloroform/aceton/kyselina octová (80:18:2). Pod UV lampou při 254 nm byla vidět zelená fluorescence. Limit detekce 4-aminofenolu byl 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.²¹).

2. Stopy 4-aminofenolu byly analyzovány na silikagelových deskách a jako mobilní fáze byla použita směs methylethylketon-kyselina octová (9:1). Pro vizuální detekci bylo použito činidlo 4-(dimethylamino) cinnamaldehyd. Limit detekce 4-aminofenolu byl 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.²⁷).

HPLC

1. Vzorky moči byly separovány na koloně s reverzní fází C 18 (300 × 3,9 mm, 10 μm). Jako mobilní fáze byla použita směs 0,005 M tetrabutylamonium-hydroxidu zneutralizovaného na pH 7,2 kyselinou fosforečnou s přídavkem 0,01 M tris(hydroxymethyl) aminomethanu a 0,005 M EDTA. Podíl methanolu v mobilní fázi se pohyboval od 0–50 %. Detekce při 254 nm, průtoková rychlost 2,0 ml min⁻¹ (cit.¹⁹).
2. Vzorky moči byly separovány na koloně s reverzní fází C 18 (300 × 3,9 mm, 10 μm). Jako mobilní fáze byla použita 1% kyselina octová/methanol/ethylacetát (900:150:1) pH 2,8. Detekce při 254 nm, průtoková rychlost 2,0 ml min⁻¹ (cit.¹⁹).
3. Vzorky moči po i.v. podání paracetamolu byly analyzovány na koloně s reverzní fází C 18 (300 × 3,9 mm, 10 μm) gradientovou elucí. Mobilní fáze A byla voda obsahující 0,005 M tetrabutylamonium-hydroxid, 0,01 M tris(hydroxymethyl)aminomethan a 0,005 M EDTA a mobilní fáze B byl 50% methanol. Mobilní fáze A protékala kolonou rychlostí 2,0 ml min⁻¹ v čase 0–4 min. Mobilní fáze B pak rychlostí 5,6 ml min⁻¹. Detekce při 254 nm (cit.¹⁹).
4. Separace 4-aminofenolu a dalších analgetik probíhala na koloně s reverzní fází C 18 (150 × 6,0 mm, 7 μm), mobilní fáze měla složení 1% kyselina octová / methanol (4:6, v/v). Detekce při 280 nm, průtoková rychlost 1,0 ml min⁻¹ a limit detekce 4-aminofenolu

byl 0,33 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.⁴⁶).

5. Analýza 4-aminofenolu a dalších aromatických aminů a fenolů v biologickém materiálu byla prováděna na koloně s reverzní fází C 18, mobilní fáze měla složení methanol/voda/kyselina fosforečná (0:70:0.1, v/v/v). Detekce 215 nm a průtoková rychlost 1,0 ml min⁻¹. Limit detekce 4-aminofenolu byl 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.⁵).
6. Vzorky léčivého přípravku s obsahem paracetamolu byly analyzovány na koloně s náplní C, mobilní fáze měla složení acetonitril/fosfátový pufr pH 5,5 (80:20, v/v), detekce při 244 nm. Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.²⁵).
7. Vzorky moči byly analyzovány na koloně s reverzní fází C 18, 4-aminofenol byl detekován fluorimetricky. Excitační maximum bylo 329 nm a emisní maximum při 432 nm (cit.²⁴).
8. 4-Aminofenol v barvách na vlasy byl analyzován na koloně s reverzní fází C 18, mobilní fáze byla směs methanol / 0,1% triethylamin – 0,02 mol l⁻¹ NH₄OAc o pH 5,20 (10:90) (cit.³⁵).
9. Vzorky léčivého přípravku s obsahem paracetamolu byly separovány na polyethylenglykolové koloně (150 × 4,6 mm, 5 μm), jako mobilní fáze sloužila směs 20 mM fosfátový pufr pH 7 / cetonitril (90:10, v/v), průtoková rychlost byla 1,0 ml min⁻¹ a detekce proběhla při 280 nm (cit.¹⁵).
10. Vzorky z biologického materiálu byly separovány na koloně s reverzní fází C 18 (200 × 4,0 mm, 7 μm) a jako mobilní fáze byla použita směs methanol / 50 mmol l⁻¹ fosfátový pufr (10:90, v/v). Elektrochemická detekce probíhala v trojelektrodové cele (disková zlatá elektroda, Ag/AgCl, kalomelová referenční elektroda s nasyceným roztokem KCl a platínová indikační elektroda). Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,22 mg ml⁻¹ (cit.⁴⁸).
11. 4-Aminofenol byl separován na chromatografické koloně s iontovýměnnou pryskyřicí (průměr 5 mm). Jako mobilní fáze byl použit 0,2 M fosfátový pufr a 0,2 M borátový pufr s pH 2–9. Detekce byla při 244 nm (cit.²²).

Metoda GC-MS

4-Aminofenol byl analyzován ve vlasech, po kapalinové extrakci byly komponenty vzorku derivatizovány *n*-hexanem s obsahem 1% heptafluorbutanoylchloridu. Jejich heptafluorbutanoyl deriváty byly koncentrovány a rozpuštěny v ethyl-acetátu. Vzorky byly analyzovány GC-MS. Jako vnitřní standard byl vybrán 2,4,6-trimethylanilin; limit detekce 4-aminofenolu byl 6 ng (cit.⁴).

Imunoanalýza

Ke stanovení 4-aminofenolu bylo využito schopnosti enzymu laktasy katalyzovat oxidaci 4-aminofenolu na 1,4-benzochinonimin. V bioenzymovém elektrodoovém systému byl nadbytek glukosy redukován glukosodehydrogenasou a měřen úbytek koncentrace kyslíku. Enzymová membrána byla umístěna na povrchu kyslíkové elektrody. Měření probíhalo v 1,2 ml průtokové cele. Doba analýzy byla 5 min. Limit detekce 4-aminofenolu byl 10 pg ml⁻¹ (cit.¹⁶).

Metody průtokové injekční analýzy

1. Byly analyzovány biologické vzorky, jako pracovní elektrolyt sloužil 50 mM fosfátový pufr pH (7,0). Elektrochemický detektor pracoval při 50 mV s⁻¹ s nepokrytou zlatou elektrodou a zlatou elektrodou modifikovanou *n*-alkanthiolem. Referenční elektroda byla Ag/AgCl (s nasyceným roztokem KCl). Potenciál se měřil od 0,4 do 1,20 V. Limit detekce 4-aminofenolu byl 1,0 mmol/l⁴⁸).
2. Extrakt z tablet obsahujících paracetamol a 4-aminofenol byl vstříknut jako 0,5% roztok kyseliny octové do roztoku v kapiláře, který protékal rychlostí 0,35 ml min⁻¹ a reagoval s činidlem (nitroprusid sodný) za vzniku barevné látky, která byla detekována spektrofotometricky při 710 nm. Limit detekce 4-aminofenolu byl 3 ng ml⁻¹ (cit.³⁸).
3. K roztoku 4-aminofenolu byl přidán roztok 8-chinolinolu v 0,4 mol l⁻¹ NaOH a 0,004 mol l⁻¹ KIO₄ bylo použito jako oxidační činidlo. Průtoková rychlost 3,5 ml min⁻¹, detekce při 244 nm. Limit detekce 4-aminofenolu 100 μg ml⁻¹ (cit.²⁰).
4. 4-Aminofenol procházel kapilárou dlouhou 1 m, která byla chlazená ledem na 0 °C. V reakční kapiláře dlouhé 4 m probíhala reakce mezi 4-aminofenolem a derivatizačním činidlem 0,1 mol l⁻¹ *o*-kresol v 3,5 mol l⁻¹ NaOH za tvorby barevného derivátu, který byl monitorován při 620 nm (cit.⁴⁵).

HPCE

Separace 4-aminofenolu v analgetické směsi probíhala v analyzátoru HPCE, který byl nastaven na 280 nm. Použitá kapilára byla 65,5 cm dlouhá, s 50 μm vrstvou nataveného SiO₂. Vložené napětí bylo 20 ± kV. Pufr, který protékal kapilárou, měl složení 40 mmol l⁻¹ borax / 10 mmol l⁻¹ β-cyclodextrin / 10% ethanol (pH 7,0 pomocí H₃PO₄). Limit detekce 4-aminofenolu byl 3,94 μg ml⁻¹ (cit.⁴⁶).

Diferenciální scanovací kalorimetrie

Tuhé vzorky paracetamolu znečištěné 4-aminofenolem byly zataveny v kapsli a ta byla zahřívána rychlostí 1 °C min⁻¹. Stopy 4-aminofenolu snižují bod tání ze 169 °C na 138 °C a na záznamu byl patrný pík eutektické směsi se složením paracetamol / 4-aminofenol 0,6/0,4 (cit.¹²).

Spektrofotometrické metody

1. Vzorky moči s obsahem 4-aminofenolu reagovaly s resorcinolem v přítomnosti manganatých iontů za vzniku indofenolového zbarvení. Měření probíhalo při 550 nm. Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,9 μg ml⁻¹ (cit.⁴¹).
2. Biologické vzorky s obsahem 4-aminofenolu byly analyzovány s použitím derivatizace *o*-kresolem v přítomnosti jodistanu jako katalyzátoru. Vzniklý indofenolový derivát je zbarven modře. Absorpční maximum se posunulo k vlnové délce 620 nm. Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,2 μg ml⁻¹ (cit.⁹).
3. Roztok 4-aminofenolu s 10% alkoholickým roztokem 1-naftolu a 5 ml 30% NaOH byl zahříván 1 min při 90 °C. Poté byla měřena absorbance při 590 nm (cit.²¹).
4. 4-Aminofenol byl oxidován 0,1 mol l⁻¹ K₂CrO₄ za vzniku fialově zbarveného oxidačního produktu. Ten byl kvantitativně extrahován do isobutylalkoholu a jeho absorbance byla měřena při 550 nm (cit.²).
5. 4-Aminofenol v biologickém materiálu byl oxidován bromnanem sodným. Jeho oxidační produkt reagoval s fenolem za tvorby indofenolového barevného produktu jehož absorpční maximum bylo 620 nm (cit.⁷).
6. 4-Aminofenol v tabletách s obsahem paracetamolu byl analyzován po barevné reakci se směsí 5 ml NaOCl a 0,1 mol l⁻¹ HCl pro úpravu pH na 3,4 a poté byl přidán 4% NaAsO₂. Vzniklý *N*-chlor-1,4-benzochinonimin reagoval s fenolem v přítomnosti borátového pufru pH 9,9 za vzniku stabilního modrého produktu indofenolového typu. Absorbance byla měřena při 625 nm (cit.²⁶).
7. 4-Aminofenol byl přímo oxidován kyanoželezitanem draselným v roztoku NaOH při 0 °C a po přidání fenolu vznikl barevný produkt *N*-(4-hydroxyfenyl)-1,4-benzochinonimin a ten byl stanovován při 635 nm (cit.²⁸).
8. 4-Aminofenol reagoval s 2,4-dinitrofenylhydrazinem v přítomnosti chloraminu T za vzniku barevného 2,4-dinitrofenylhydrazon-1,4-benzochinoniminu. Po extrakci do chloroformu byl detekován při 570 nm (cit.³³).
9. 4-Aminofenol ve směsi fenolů byl analyzován s využitím peroxidasy z arašidů a její katalytické aktivity v přítomnosti 4-aminofenolu. V prostředí peroxidu vodíku a po přidání *o*-dianisidinu nebo 3,3',5,5'-tetramethylbenzidinu byly vzorky měřeny při absorpčních maximech 440 nm, 375 nm a 465 nm. Hladiny fenolů byly hodnoceny ze spádu kinetické křivky v závislosti na čase. 4-Aminofenol byl zjištěn

v koncentracích 0,5 až 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ (cit.³²).

10. 4-Aminofenol byl analyzován s využitím jeho oxidačních přechodů a možnosti kopulační reakce s 2,5-dimethylfenolem, která byla katalyzována jodistanem sodným. Vzniklý indofenolový derivát byl měřen při 635 nm. Limit detekce 4-aminofenolu byl 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.¹).
11. 4-Aminofenol reagoval za laboratorní teploty se sulfidem sodným v přítomnosti různých oxidačních činidel (Ce^{4+} , Fe^{3+}). Během deseti minut vznikl barevný produkt, který byl stabilní nejméně 3 h, měření probíhalo při 550 nm. Detekční limit 4-aminofenolu byl 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.¹³).
12. 4-Aminofenol byl analyzován vysoce citlivou fotometrickou metodou (thermal lensing). Reakcí s resorcinolem v alkalickém prostředí vznikl jeho derivát. Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,1 mg ml^{-1} (cit.⁴³).

Gravimetrie

Paracetamolové konjugáty v moči byly extrahovány do etheru a hydrolyticky štěpeny za vyšší teploty a v kyselém prostředí; uvolněný 4-aminofenol byl hodnocen gravimetricky³⁶.

Spektroelektrochemické metody

4-Aminofenol v roztoku byl kvantitativně stanoven cyklickou voltametrií. Spektroelektrochemická cela byla spojena s optickou částí spektrofotometru a dopadající paprsek byl rovnoběžný s pracující elektrodovou plochou. K trojelektrodovému systému (nasycená kalomelová elektroda, Ag/AgCl referenční elektroda a platinová indikační elektroda) byl připojen potenciostat, na elektrody byl aplikován potenciálový skok $+ 0,2 \pm 0,8$ V. Absorbance při 270 nm byla měřena v různých časech. Limit detekce 4-aminofenolu byl 0,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.⁴⁷).

3. Detekce 4-chloracetanilidu

Metoda TLC

1. Hladiny 4-chloracetanilidu v paracetamolu byly stanoveny tenkovrstvou chromatografií, jako mobilní fáze byla použita směs cyclohexan / aceton / diisobutylketon / methanol / voda (100:80:30:5:1), separace probíhala na skleněných deskách 20 × 20 cm potažených bezvodým silikagelem v 0,25 mm vrstvě. Detekce UV lampou při 253–257 nm. Limit detekce 4-chloracetanilidu v paracetamolu byl 0,03 % (cit.³⁴).
2. Hladiny 4-chloracetanilidu v paracetamolu byly stanoveny tenkovrstvou chromatografií, jako mobilní fáze byla použita směs chloroform / benzen / aceton (60:10:25), separace probíhala na silikagelových deskách. Limit detekce 4-chloracetanilidu v paracetamolu byl 0,001 % (cit.²⁷).

4. Detekce oxidačních produktů 4-aminofenolu

Metody HPLC⁴²

1. Vodné vzorky byly separovány na koloně Merckogel PGM, jako mobilní fáze sloužil 0,05 mol l^{-1} fosfátový pufr (pH 6) popřípadě směs 0,05 mol l^{-1} fosfátového pufru a 0,66 mol l^{-1} borátového pufru (pH 6). Detekce probíhala při 280 nm.
2. Vodné vzorky byly separovány na koloně C18 s reverzní fází a jako mobilní fáze byl použit 0,01 mol l^{-1} fosfátový pufr (pH 7). Detekce probíhala při 280 nm.
3. Hydrochinon byl analyzován po oxidaci na 1,4-benzochinon přes impregnovaný skleněný filtr manganistanem draselným. 1,4-Benzochinon byl dále sorbován na polystyrenovém kopolymeru a následně desorbován acetonitrilem. Analýza probíhala na koloně s reverzní fází s detekcí při 290 nm.
4. Vodné roztoky hydrochinonu byly analyzovány po extrakci hydrochinonu z modifikovaných celulosových filtrů 1% kyselinou octovou. Vzorky byly nastříkovány na kolonu s reverzní fází C18 a jako mobilní fáze byla použita 1% kyselina octová; detekce probíhala při 290 nm.

Metoda GC⁴²

Vodné roztoky fenolů byly extrahovány do methy-lisobutylketonu a derivatizací byly připraveny jejich trimethylsilyl deriváty. Vzorky byly separovány na koloně Chromosorb W potažené 5% tris(2,4-dimethylfenyl)-fosfátem. Detekce plamenioionizačním detektorem.

5. Detekce 4-acetamidofenyl-acetátu

Metody TLC

1. 4-Acetamidofenyl-acetát jako 2% substance v paracetamolu byl analyzován na deskách 0,25 mm silikagelu GF 254 nm a jako mobilní fáze byla použita směs chloroform / aceton / kyselina octová (80:18:2). Detekce UV lampou při vlnové délce 254 nm. Limit detekce 4-acetamidofenyl-acetátu byl 0,2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.²¹).
2. Vzorky získané po dvoutýdenním působení 1% H_2O při 50 °C na paracetamol s aspirinem byly nanášeny v objemech 20 μl na silikagelovou desku. Jako mobilní fáze byla použita směs chloroform / ethanol / kyselina octová (88:10:2). Detekce parami jodu²³.
3. 20 μl ethanolického filtrátu z tablet paracetamolu bylo nanášeno na 0,25 mm silikagelovou desku aktivovanou 1 h při 105 °C. Jako mobilní fáze byla použita směs chloroform / aceton / kyselina octová (80:18:2). 4-Acetamidofenyl-acetát se jevil jako žlutá skvrna pod UV lampou při vlnové délce 350 nm. Detekční limit 4-acetamidofenyl-acetátu byl 15 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.²³).

Metoda GC

Vzorky směsi aspirinu, paracetamolu a kofeinu byly analyzovány na hliníkové koloně 1,5 m dlouhé s náplní 5% Carbowax 20 M na Chromosorbu G 70/80. Teplota kolony byla 225 °C, plamenoionizační detektor a injektor byly temperovány na 275 °C. Průtokové rychlosti plynů byly: helium 60 ml min⁻¹, vodík 65 ml min⁻¹ a vzduch 300 ml min⁻¹. Množství 4-acetamidofenyl-acetátu bylo určeno porovnáním s výškou píku standardu 4-acetamidofenyl-acetátu²³.

6. Závěr

Ze studií stability paracetamolu je patrný význam analytických hodnocení jeho rozkladných produktů. Hladiny 4-acetamidofenyl-acetátu a 4-chloracetanilidu v paracetamolu byly hodnoceny tenkovrstvou chromatografií^{21,23,27,34}. Ke stanovení 4-acetamidofenyl-acetátu bylo také využito plynové chromatografie²³. Při monitorování lékových hladin, hodnocení metabolitů paracetamolu v moči a separaci paracetamolu v analgetické směsi s obsahem 4-aminofenolu byla nejčastěji využívána metoda HPLC.

Podle lékopisů (EP, BP, USP, ČL)^{6,10,11,40} se 4-aminofenol jako nečistota v substanci paracetamolu hodnotí barevnou reakcí s činidlem nitroprusidem sodným. Vzniklé modré zbarvení se porovnává s roztokem, který obsahuje limitní množství *p*-aminofenolu 0,005 %. Což odpovídá 25 µg 4-aminofenolu v 500 mg paracetamolu v 1 tabletě. Další metody už umožňují stanovení *p*-aminofenolu v paracetamolu. Pro rutinní analýzu a rychlé stanovení byly prezentovány vysoce citlivé a automatizované metody používající deprivatizaci a průtokovou injekční analýzu ke stanovení nižších množství tohoto produktu degradace. Průtoková injekční analýza ve srovnání s HPLC zvyšuje citlivost detekce a posunutím detekce k vyšším vlnovým délkám také specifickou. Reakci s derivatizačním činidlem se zabránila interferenci matrice absorbující v UV oblasti při stanovení stopového množství 4-aminofenolu. Dále byly prezentovány metody HPLC se spektrofotometrickou, elektrochemickou a fluorescenční detekcí. Srovnáním analytických dat získaných analýzou HPLC a HPCE byly zjištěny nižší detekční limity a rozlišení pík analyzovaných látek při použití HPLC než u HPCE. V této práci byly také prezentovány imunologické metody, GC a spektrofotometrické metody využívající UV detekci nebo reakci vedoucí k barevnému derivátu. Oblíbená podskupina derivatizačních metod používá různé indofenolové deriváty 4-aminofenolu. Některé vysoce citlivé fotometrické techniky s vysokou reprodukovatelností byly používány pro stanovení 4-aminofenolu jako nečistoty v přípravcích s obsahem paracetamolu a dosažené detekční limity byly pětikrát nižší než limity získané standardním postupem barevnou reakcí s nitroprusidem sodným.

Práce byla vypracována za podpory výzkumného záměru MSM 111600001.

LITERATURA

1. Afshari J. T., Tsan-Zon Li: *Anal. Chim. Acta* 443, 165 (2001).
2. Basu A. P.: *Indian J. Pharm.* 30, 280 (1968).
3. Beňo P. a kol.: *Stabilita liečiv a liekov*. Bratislava 2003.
4. Bloomfield M. S.: *Talanta* 58, 1301 (2002).
5. Brega A., Prandini P., Amaglio C., Pafumi E.: *J. Chromatogr.*, A 535, 311 (1990).
6. *British Pharmacopoeia*, Vol. 1, 1. vyd., HMSO, London 1993.
7. Brodie B. B., Axelrod J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 94, 22 (1948).
8. Carmel G. W., Angelis J. (Warner-Lambert Pharmaceutical Co.): *U. S.* 2,998, 450 1961.
9. Criado A., Cárdenas S., Gallego M., Valcárcel M.: *Talanta* 53, 417 (2000).
10. Český lékopis 2002, 1. vyd. Grada, Praha 2002.
11. *European Pharmacopoeia*, 4. vyd., EPQM, Strasbourg 2002.
12. Fahrensarsang D., Kadejinda W., Sunthornpit A.: *Pharm. Sci. Technol.* 23 (2000).
13. Fardous A. M., AbdAllah M. A., Shammatt S. M.: *Talanta* 44, 61 (1997).
14. Florey K. (ed.): *Analytical Profiles of Drug Substances* 3. Academic Press, New York, London 1974.
15. García A., Rupéres F. J., Marín A., de la Maza A., Barbas C.: *J. Chromatogr.*, B (2002).
16. Ghindilis A. L., Makower A., Bauer C. G., Bier F. F., Scheller F. W.: *Anal. Chim. Acta* 304, 25 (1995).
17. Hahn J. H., Quinn J. F. (Monsanto Chemical Co.): *U. S.* 3,042,719 (Cl.260-562) 1962.
18. Hanyšová L., Kastner P., Klimeš J.: *Chem. Listy* 98, 152 (2004).
19. Hart S. J., Tontodonati R., Calder I. C.: *J. Chromatogr.*, B 225, 387 (1981).
20. Hasan B. A., Khalaf K. D., Morales-Rubio A., de la Guardia M.: *J. Anal. Chem.* 354, 216 (1996).
21. Kalatzis E.: *J. Pharm. Sci.* 59, 193 (1970).
22. Koshy K. T., Lach J. L.: *J. Pharm. Sci.* 50, 113 (1961).
23. Koshy K. T., Troup A. E.: *J. Pharm. Sci.* 56, 1117 (1967).
24. Meyer J., Karst U.: *Chromatographia* 54, (2001).
25. Monser L., Darghouth F.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 27, 851 (2002).
26. Murfin J. W.: *Analyst* 97, 670 (1972).
27. *National Formulary*, 13. vyd., str. 856. American Pharmaceutical Press, Washington 1970.
28. Ninomiya T.: *Yakugaku Zasshi* 85, 39 (1965).
29. Noble M., Clough G. F.: *Hepatol. Nutr.* 4, 58 (2001).
30. Reynolds J. (ed.): *Martindale* 31., Royal Pharmaceutical Society, London 1996.
31. Rodenas V., García M. S.: *Talanta* 52, 517 (2000).
32. Rumack B. H.: *Drug Intell. Clin. Pharm.* 19, 911

- (1985).
33. Sakurai H., Umeda M.: Yakugaku Zasshi 82, 1282 (1962).
 34. Savidge R. A., Wragg J. S.: J. Pharm. Pharmacol. 17, 60 (1965).
 35. Shao B. H., Xu X. Z., Yan J. W., Fu X. Y.: J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 24, 241 (2001).
 36. Smith J. N., Williams R. J.: Biochem. J. 42, 538 (1948).
 37. Song H., Chen T. S.: J. Biochem. Mol. Toxicol. 15, 34 (2001).
 38. Tanada N., Kashimura S., Kageura M.: J. Forensic Sci. 44, 292 (1999).
 39. Thompson D. C., Perera K., London R.: Drug Metab. Dospod. 24, 866 (1996).
 40. United States Pharmacopoeia, 21. vyd., Rockville, U. S. Pharmacopoeial Convention, 2003.
 41. Van Bocxlaer J. F., Clauwaert K. M., Lambert W. E., De Leenheer A. P.: Clin.Chem. 43, 627 (1997).
 42. www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc157.htm
 43. www.tls-msu.narod.ru/Conferences/SETAC-2001.htm
 44. Yoshida R., Oikawa S., Ogawa Y., Miyakoshi Y.: Mutat. Res. 415, 139 (1998).
 45. Zhang W. H., Galal A., Robinson J. F., Marawi I., Ridgway T. H., Lunsford S. K.: Electrochim. Acta 23, 3511 (1998).
 46. Zhang S. S., Liu H. X., Yuan Z. B.: J. Chromatogr., B. 705, 165 (1998).
 47. Zhang J., Yao S., Nie L., Wei W.: J. Anal. Sci. 16, 87 (2000).
 48. Zhiming L., Jinghong L., Shaojun D., Erkang W.: Anal. Chem. 68, 2432 (1996).

L. Hanyšová, P. Kastner, and J. Klimeš
(Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové): Degradation Products and Impurities of Paracetamol from Viewpoint of Analytical Detection

A review on impurities and basic degradation products of paracetamol and their evaluation is presented. A wide variety of separation and non-separation methods are available for the purpose, such as derivatisation colorimetric, HPLC and FIA methods. The methods are compared with those used in pharmacopoeias.

TECHNICKÝ SLOVNÍK NAUČNÝ



Projekt největšího výkladového slovníku z oblasti techniky za poslední půlstoletí se úspěšně uzavřel.

OSMÝ - POSLEDNÍ - SVAZEK JIŽ VYŠEL

Celý Technický slovník naučný o celkovém rozsahu 330 AA zahrnuje ve svých 8 svazcích na celkem 3711 stránkách téměř 40 000 hesel, která jsou průběžně doplněna 2481 černobílými ilustracemi a 130 tabulkami. V každé knize je 8 stran barevné přílohy s celkem 453 tematicky zaměřenými ilustracemi.

Vy, kteří jste si postupně kupovali jednotlivé svazky, si jistě koupíte i tento poslední. Vy, kteří jste zatím váhali - kupte celý technický slovník naučný najednou za ceny, které s rostoucími rozsahy jednotlivých svazků rostly:

1. svazek 390 Kč	5. svazek 410 Kč
2. svazek 410 Kč	6. svazek 410 Kč
3. svazek 410 Kč	7. svazek 490 Kč
4. svazek 410 Kč	8. svazek 550 Kč

Při osobním odběru v redakci Encyklopedického domu a pro knihovny a školy sleva 10 %. Při nákupu celého díla obdržíte dárek z dílny našeho vydavatelství.

Informujte se na adrese: Encyklopedický dům, s.r.o., Prvního pluku 8-10, 186 30 Praha 8, tel. 224 918 831, fax 224 920 576 a na stránkách www.encyklopedie.cz
