

# PARASHIKIM I QËNDRUESHMËRISË SË KLORHIDRATIT TË TIAMINËS NË TRETËSIRAT PËR INJEKSION

ENVER MUSTAJ, SKËNDER DURRËSI\*

## Summary

### SHELF-LIFE PREDICTION OF THIAMINE HCL IN INJECTABLE SOLUTIONS

**Background:** This investigation has been undertaken firstly, to find out another new formulation of thiamine hydrochloride with a longer shelf-life, and secondly, to verify in practice the possibility of prediction of shelf-lives by method of accelerated degradation applying liner regression analysis.

#### Methods and Results:

As a first step is performed a comparative investigation of methods for quantitative estimation of thiamine HCL in fresh solutions and, after accelerated degradation of them at high temperature as well. Thiamine HCL is dissolved to prepare a solution of 5% (the same concentration as injectable solutions).

In this solution is assayed quantitatively the substance by gravimetry, UV spectrometry, placed at constant temperature water-bath 80 °C for 144 hours and time after time is assayed quantitatively thiamine HCL by the same above-mentioned methods. After statistical elaboration of data, applying the F-test also, it was found that fluorometric method is more accurate and rapid as well, for assaing of substance in presence of his degradation products, and only this method is used during further estimation. As a second step are performed accelerated storage tests for three formulations (injectable solutions 5%), the first prepared using as stabiliser 0.1% L-cysteine HCL, the second is a formulation of Profarma which content as stabiliser buffer phosphato and 0.05% thioure as antioxidant, whereas the third is a preparation used by hospital pharmacies without stabiliser.

Ampoules of three formulations are immersed in constant temperature water-baths at 60 °, 70 °, 80 °C. At appropriate times, samples are moved from baths and are assaed for the content of thiamine HCL. Considering the degradation reaction as a first order kinetic, after statistical elaboration of data, applying the linear regression analysis are found the experimental shelf-lives for each formulation.

**Conclusions:** From this investigation results that it is possible to predict the shelf-lives by this method having a good reliabilty, the formulation I wich contains L-cysteine HCL as stabiliser has a longer shelf-life than formulation II and could be recomanded to replace it.

Tiamina është njëra prej vitaminave të tretshme në ujë, kimikisht e paqëndrueshme. Mënyra e shpërbërjes së saj varet nga kushtet e mjedisit (1). Në mungesë të oksigjenit dhe të joneve sulfite, ajo u nënshtrohet kryesisht reaksioneve të tipit hidrolitik. Natyra e hidrolizës varet nga pH i mjedisit. Tiamina është më e qëndrueshme afër vlerës 2 të pH-it dhe është e paqëndrueshme në tretësira bazike. Në tretësira me pH acid dhe asnjans, ajo hidrolizohet në një përbërës pirimidinik dhe një tjetër tiazolinik. Në këtë rast shpejtësia e reaksionit varet nga temperatura dhe nga pikpamja kinetike, konsiderohet si reaksion i rendit të parë (2).

Në këtë studim kemi patur si qëllim, të parashikojmë qëndrueshmërinë tri formulimeve të tretësirave për injeksion të klorhidratit të tiaminës me anë të metodave të vjetërimit të përshpejtuar, duke matur shpejtësinë e shpërbërjes në temperatura të larta.

Formulimi i parë është bazuar në rekomandimin e Agravat D.K. (3), duke përdorur si stabilizues klorhidrat L-cisteine. I dyti, është një formulim i Profarmës (4), i cili si stabilizues përmban tampon fosfat dhe 0.05 tioure si lëndë kundëroksiduese, ndërsa i tret, është një përgatesë që përshkruhet në Formularin Farmaceutik (5). Dy formulimet e fundit janë marrë në studim për të krahasuar qëndrueshmërinë e tyre, të njohur në temperaturën e mjedisit, me atë të formulimit të parë. Në këtë mënyrë, verifikohet edhe besueshmëria e metodës së vjetërimit të përshpejtuar.

#### Materiali dhe metoda

Si material studimi u përdorën 3 llojet e tretësirave për injeksion të klorhidratit të tiaminës, të përgatitura sipas formulave të mëposhtme, të cilat paraqiten në tabelën nr. 1. Për të tri tretësirat pH-i u rregullua në vlerën 3.7. Klorhidratit i tiaminës ishte

\* Dërguar në Redaksi më 20 Korrik 1995, miratuar për botim më 12 Janar 1996.

Nga Katedra e Farmacisë, Fakulteti i Shkencave të Natyrës. (E.M., S.D.)

Adresa për letërkëmbim: E. Mustafaj: Katedra e Farmacisë, Fakulteti i Shkencave të Natyrës.

prodhim kinez dhe i përgjigjej kërkesave të BP 1988, klorhidratit i L-cisteinës, tioureja, dihidrogjenfosfati i natriumit dhe monohidrogjenfosfati i natriumit ishin prodhime të firmës Merck, të cilësisë R, ndërsa uji për injeksion u prodhua në Profarma me aparat me termokompresion të firmës Ponzini. U shfrytëzuan aparatet e mëposhtme: pH-metër digital i firmës Radelkis (Hungari), Spekol (Carl-Zeiss, Jena, DDR), Polarograf LP7 (Laboratori Pristroje, Praha, Çekosllovakia) dhe Spektrofotometër i tipit VSU2-P (Carl-Zeiss, Jena, DDR).

Në fillim është kryer një studim krahasues i metodave të përcaktimit sasior të klorhidratit të tiaminës në tretësira të sapopërgatitura dhe në ato të mbajtura në

temperaturë 80 ° C, derisa përmbajtja e tij të ulet afër 50%.

Krahasimi është bërë midis metodës gravimetrike (6,7), spektrofotometrike në UV (8), polarografike (8) dhe fluorometrike (9).

### Rezultatet dhe diskutimi

Nga krahasimi i rezultateve të fituara prej vlersimit sasior të tiaminës pas shpërbërjes, duke përdorur të katër metodat e mësipërme dhe pas përpunimit statistikor të të dhënave, është vërejtur se mes tyre ekzistonte një ndryshim i konsiderueshëm. Në këto kushte, për të gjetur se cila ishte metoda më e përshtatshme për vlerësim, u zbatua F-test (10).

$$F\text{-ratio} = \frac{Sb^2}{Sb^2} = \frac{[1/(k-1)] [(\sum xi)^2/ni + (\sum xj)^2/nj + \dots - T/ni + nj + \dots]}{[(\sum xi^2 - (\sum xi)^2/ni) + (\sum xj^2 - (\sum xj)^2/nj) + \dots]/[(\sum n)-k]}$$

Nga njehsimet doli se vlerësimi sasior i tiaminës, në prani të produkteve të shpërbërjes, me metodën spektrofotometrike në UV dhe atë polarografike nuk ishte i përshtatshëm, për shkak të interferencës së atyre produkteve në spektrin UV dhe përkatësisht edhe në valën polarografike. Ndërsa midis dy metodave të tjera, u zgjodh ajo fluorometrike si më e shpejtë.

Në tabelën nr. 2 janë dhënë rezultatet e fituara gjatë shpërbërjes termike të tri formulimeve në temperaturat 60 °, 70 ° dhe 80 ° C. Duke e konsideruar reaksionin e shpërbërjes si një kinetikë të rendit të parë dhe duke kryer më tej, njehsimet e të dhënave të tabelës nr. 2 u gjetën funksionet e vlerësimit, të cilët ishin në përputhje me ekuacionin e përgjithshëm të vijës së drejtë

$$Y = bx + a, \text{ gjithashtu u gjetën edhe } t_{60}^{90}, t_{70}^{90}, \text{ dhe } t_{80}^{90} \text{ për}$$

secilin formulim. Përpunimi statistikor i të dhënave për qëndrueshmërinë u bazua në përdorimin e analizës së regresionit linear (1). Në tabelën nr 3 janë paraqitur funksionet e vlerësimit dhe kohët për një shpërbërje 10% në temperaturat eksperimentale (t90). Meqenëse na intereson të parashikojmë qëndrueshmërinë e secilit formulim në temperaturën e mjedisit (20°C), analizuam korrelacionin që ekziston ndërmjet inversit të temperaturës (për komoditet 1/T 10 3) dhe logaritmit të orëve të domosdoshme për një shpërbërje 10%. (Ekuacioni i Arrheniusit). Të dhënat e fituara nga njehsimet janë paraqitur në tabelën nr 4. Funksionet e

vlerësimit për formulimet I, II dhe III marrin këtë formë:

$$Y = 0.2162 \times 1 + 2.4515 \quad r_1 = 0.9882$$

$$Y = 0.2235 \times 2 + 2.4795 \quad r_2 = 0.9962$$

$$Y = 0.3204 \times 3 + 2.4606 \quad r_3 = 0.9936$$

Ekstrapolimi i këtyre funksioneve për temperaturën 20 ° C (temperatura e mjedisit), e cila i përgjigjet vlerës së 1/T 10 3 = Y = 3.4129, dha këto vlera:

$$x_1 = 4.468 \text{ (log)}$$

$$x_2 = 4.1762 \text{ (log)}$$

$$x_3 = 2.9722 \text{ (log)},$$

të cilat u përgjigjen numrave të plotë: x 1 = 27977 orë, afërsisht 39 muaj, x 2 = 15006 orë, afërsisht 21 muaj, x 3 = 938 orë, më shumë se një muaj. Qëndrueshmëria, për formulimet II dhe III në temperaturën e mjedisit, e deklaruar nga kushtet teknike të prodhuesve është përkatësisht 18 muaj dhe 30 ditë.

Duke marrë parasysh rezultatet e mësipërme, të cilat theksojmë që janë paraprake, mund të thuhet se është e mundur të parashikohet qëndrueshmëria e këtyre formave farmaceutike me këtë metodë duke patur një besueshmeri të mirë, dhe se formulimi I, i cili përmban klorhidrat L-cisteine si lëndë stabilizuese ka një qëndrueshmëri më të madhe se sa formulimi II dhe mund të rekomandohet për ta zëvendësuar atë.

**Tabela nr. 1.** Formulimet e ndryshme të tretësirave për injeksion të klorhidratit të tiaminës.

Përbërja	I	II	III
Klorhidrat tiamine	50.0 g	50.0 g	50.0 g
Klorhidrat L-cisteine	1.0 g	-	-
Dihidrogjenfosfat natriumi (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	-	3.78 g	-
Monohidrogjinfosfat natriumi (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	-	-	-
Tioure	-	0.15 g	-
Klorur natriumi	-	-	2.0 g
Ujë për injeksion	deri 1000.0 ml	1000.0 ml	1000 ml

**Tabela nr. 2.** Rezultatet e shpërbërjes termike të tri formulimeve të tretësirës për injeksion të klorhidratit të tiaminës në 60 °, 70 ° dhe 80 ° C

Nr.	60 °			70 °			80 °		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
I	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996
	6	99.0	1.995	2	98.9	1.995	1	98.8	1.994
	12	98.8	1.994	4	98.4	1.992	3	98.3	1.992
	24	98.3	1.992	12	98.0	1.991	10	96.7	1.985
	48	97.6	1.989	36	96.3	1.983	27	93.5	1.971
	96	96.4	1.984	96	93.3	1.969	81	86.6	1.937
II	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996
	6	98.9	1.995	2	98.8	1.994	1	98.6	1.993
	12	98.4	1.993	4	98.3	1.992	3	97.6	1.989
	24	98.0	1.991	12	96.6	1.985	10	94.2	1.974
	48	97.2	1.987	36	94.0	1.973	27	90.7	1.957
	96	94.4	1.974	96	89.8	1.953	81	81.2	1.909
III	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996	0	99.1	1.996
	6	96.4	1.984	2	98.0	1.991	1	97.9	1.990
	12	95.1	1.978	4	94.8	1.976	3	95.2	1.978
	24	92.3	1.965	14	91.3	1.960	10	91.5	1.961
	48	89.7	1.952	36	84.9	1.928	27	79.7	1.901
	96	83.8	1.923	96	76.6	1.884	81	66.1	1.820

Ku a = koha në orë; b = % e klorhidratit të tiaminës (50 mg/ml = 100%); c = log. i përqendrimit.

**Tabela nr. 3.** Funksionet e vlerësimit dhe kohët për një shpërbërje 10% në temperaturat eksperimentale (t 90)

Temp. në ° C	Nr.form.	Funksioni i vlerësimit	r	t 90 në orë
60	I	$Y = -0.00012x + 1.9955$	0.9982	344.16
	II	$Y = -0.0002x + 1.996$	0.9950	209.0
	III	$Y = -0.0007x + 1.9884$	0.983	48.85
70	I	$Y = -0.00027x + 1.9944$	0.9916	149.18
	II	$Y = -0.0004x + 1.9932$	0.9843	97.25
	III	$Y = -0.0011x + 1.9836$	0.9637	26.72
80	I	$Y = -0.0007x + 1.9937$	0.9956	56.42
	II	$Y = -0.001x + 1.9908$	0.9890	36.6
	III	$Y = -0.0021x + 1.9844$	0.9798	14.38

ku, X = koha në orë; r = koeficienti i korrelimit;

Y = log. i përqendrimit aktual.

**Tabela nr. 4.** Të dhëna për korrelimin midis inversit të temperaturës ( $1/T \cdot 10^3$ ) dhe logaritmit të orëve të domosdoshme për një shpërbërje 10%

Temp. në °C	Nr. form	t <sub>90</sub> në orë	$1/T \cdot 10^3 = Y$	log. i t <sub>90</sub> = X
60	I	344.16	-	2.5367
	II	209.0	3.003	2.3201
	III	48.85	-	1.6888
70	I	149.18	-	2.1737
	II	97.25	2.9154	1.9878
	III	26.72	-	1.4268
80	I	56.42	-	1.7514
	II	36.6	2.8328	1.5634
	III	14.38	-	1.1577

#### BIBLIOGRAFIA

1. Connors AK., Amidon L.G., Stella J : Strategy and Tactics of Stability Testing, Thiamine hydrochloride. In: Chemical Stability of Pharmaceuticals. 2ed ed. New York: John Wiley and Sons, 1986; 135-159, 764-773.
2. Windheuser J.J., Higuchi : Kinetics of thiamine hydrolysis. J Pharm Sci 1962; 51: 352-64.
3. Agrawal DK, Stabilisation of vitamins in pharmaceutical preparations, VI. Indian J Technol 1963; 1: 90-3.
4. Standarde Shtetërore, STASH; 143/85-87, Zv.4990-82.
5. Formular Farmaceutik. Tiranë 1989; 104.
6. Beckett A.H., Stenlake J.: Gravimetric methods. In: Practical Pharmaceutical Chemistry. Part one London: The Atholone Press, 1988: 225-227.
7. Farmacopea Ufficiale : 1985, 2, 9: 1669.
8. Strohecker R., Hening I.M.: Vitamin B1 (Thiamine): Chemical and physicochemical methods. In: Vitamin Assay. Darmstadt: Verlag Chemie; 1965: 80-82, 88-91.
9. United (the) States Pharmacopoeia. 1970, 18 : 913.
10. Carstensen J.T.H.: Pharmaceutical statistics. In: Theory of Pharmaceutical Systems, New York and London: Academic Press; 1972: 3-55.