

## **Hemijska stabilnost lekova: uticaj svetlosti i temperature na stabilnost montelukasta u rastvoru**

**Branka Ivković\*, Milkica Crevar-Sakač, Zorica Vujić**

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,  
Vojvode Stepe 450, Beograd, Srbija

\*autor za prepisku: tel: +38111 391335; e-mail: [blucic@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:blucic@pharmacy.bg.ac.rs)

---

### **Kratak sadržaj**

U radu je dat prikaz ispitivanja uticaja temperature i svetlosti na stabilnost montelukasta u rastvorima (standardne supstance, tabletama za žvakanje i filmom obloženih tableta) koji se pripremaju u rutinskoj analizi u toku postupka ispitivanja prisustva srodnih supstanci. Sadržaj montelukasta i nastalih degradacionih proizvoda praćen je primenom RP–HPLC metode u definisanim vremenskim intervalima (0, 24 i 48h kada je u pitanju temperatura, odnosno 0 i 12h kada je u pitanju svetlost). Rezultati ispitivanja uticaja temperature, kao spoljašnjeg faktora nestabilnosti, ukazuju da su analizirani rastvori standarda montelukasta, tableta za žvakanje i filmom obloženih tableta stabilni u prihvatljivim granicama. Sadržaj montelukasta se kreće od 98 % – 100 % što zadovoljava farmakopejske zahteve, kao i zahteve specifikacije proizvoda. Pojedinačne i ukupne nečistoće su u dozvoljenim granicama. Prisustvo fotoreaktivnih funkcionalnih grupa u strukturi montelukasta uslovalo je nastanak fotodegradacionih proizvoda u količinama koje su izvan granica definisanih u monografiji montelukasta, kao i granica definisanih u specifikaciji gotovog proizvoda. Do fotodegradacije dolazi već u toku prvih 12 h. Porast sadržaja MOK-3 sulfoksida i nečistoće sa relativnim retencionim vremenom oko 0,76 zabeležen je u sva tri ispitivana uzorka. U vremenskom intervalu od 12 h uočen je porast sadržaja navedenih nečistoća 8-40 puta u poređenju sa vrednostima u početnom vremenu ispitivanja.

**Ključne reči:** Montelukast, studija stabilnosti, nečistoće, reverzno–fazna tečna hromatografija

---

## Uvod

Procesi sinteze, izolovanja i prečišćavanja jedinjenja su od velikog značaja u postupku dobijanja supstanci za farmaceutsku upotrebu. Postoji opšte pravilo da hemijska čistoća aktivnih farmaceutskih supstanci (eng. *Active Pharmaceutical Ingredient* – API) predstavlja kritičan parametar za njihovu dalju upotrebu. Američka Agencija za lekove i hranu (eng. *Food and Drug Administration* – FDA), Evropska regulatorna tela kao i ICH (eng. *International Conference on Harmonization* – ICH) smernice definišu granice iznad kojih sve prisutne nečistoće (uključujući i degradacione proizvode) u supstancama za farmaceutsku upotrebu, kao i u gotovim lekovima, moraju da budu izolovane i okarakterisane. Da bi se dobile informacije o stabilnosti aktivne farmaceutske supstance i opisali procesi degradacije izvode se „stres“ studije. U okviru ovih studija API se izlaže kritičnim uslovima pri čemu izbor parametara zavisi od hemijske strukture jedinjenja. Najčešće se ispituje uticaj temperature, vlage, svetlosti, kiseonika, kao i stabilnost u širokom opsegu pH vrednosti[1].

Stabilnost lekova je sposobnost farmaceutsko-tehnološke formulacije da u određenom kontejneru (pakovanju) zadrži hemijske, fizičke, mikrobiološke, toksikološke i terapijske osobine tokom vremena čuvanja i upotrebe leka, pod definisanim uslovima čuvanja. Mera stabilnosti leka je brzina promena koje nastaju u doziranom obliku a koje mogu biti fizičke, hemijske i mikrobiološke.

Fizička stabilnost lekova predstavlja sposobnost leka da zadrži nepromenjene fizičke karakteristike, odnosno, predstavlja odsustvo svih promena u pogledu izgleda formulacije, organoleptičkih osobina doziranog oblika, čvrstoće, veličine čestica, boje, itd.

Mikrobiološka stabilnost je sposobnost lekovite supstance/leka da proizvodi ostanu u definisanim granicama kvaliteta.

Hemijska stabilnost lekovitih supstanci je sposobnost supstance da zadrži nepromenjenu molekulsku strukturu (svoj hemijski identitet). Supstance koje ulaze u sastav leka, a koje su hemijski nestabilne podložne su reakcijama degradacije tokom kojih se dešavaju hemijske reakcije koje mogu da utiču kako na količinu aktivne supstance tako i na pojavu nečistoća, ukratko, na bezbednost i efikasnost primenjenog leka. FDA, EMA (eng. *European Medicines Agency*), kao i ICH smernice zahtevaju obavezno izvođenje testova stabilnosti kako bi se pratila i razumela promena kvaliteta supstanci za farmaceutsku upotrebu i leka, kao krajnjeg proizvoda, tokom vremena i pod uticajem različitih faktora okoline. Poznavanje hemijske stabilnosti jedinjenja, bilo da je u pitanju lek, konzervans ili ekscipijens, omogućava izbor odgovarajuće formulacije, pakovanje, opredeljuje način čuvanja leka i ukazuje na moguće interakcije sa ekscipijensom.

## Hemijska degradacija lekova

Poznato je da veliki broj farmaceutski aktivnih supstanci podleže reakcijama degradacije ukoliko su izložene faktorima okoline ili se čuvaju u neadekvatnim uslovima. Hemijska stabilnost leka zavisi od strukturnih karakteristika jedinjenja koja ulaze u sastav leka, tj. od prisustva karakterističnih funkcionalnih grupa. Poznavanjem hemijske strukture supstanci često se mogu predvideti vrste degradacionih reakcija [1].

Najčešće hemijske reakcije koje utiču na degradaciju jedinjenja su hidroliza (solvoliza), oksidacija, dehidratacija, izomerizacija i racemizacija, fotodegradacija, dekarboksilacija, lek-ekscipijens i lek-lek interakcija, polimerizacija. Navedene hemijske reakcije se dešavaju pod uticajem različitih faktora kao što su promene pH, temperature, prisustvo vlage, svetlost...

Solvoliza je proces degradacije jedinjenja koji nastaje pod uticajem rastvarača. U ovom slučaju rastvarač je nukleofil koji „napada” elektropozitivne centre u molekuli, često ona jedinjenja koja sadrže „labilne” karbonilne funkcionalne grupe - estre, laktone i laktame. Najčešći rastvarač je voda (hidroliza). Proces hidrolize može biti usporen dodatkom korastvarača (etanol, polietilen glikol) [1].

Oksidacija nastaje kao posledica reakcije sa atmosferskim kiseonikom. Reakcije oksidacije mogu biti katalizovane jonima teških metala i prisustvom svetlosti a krajnji proizvod degradacije može biti stvaranje slobodnih radikala. Funkcionalne grupe koje podležu reakciji oksidacije su alkoholi, fenoli, aldehidi, nezasićene masne kiseline [2].

Dehidratacija je proces eliminacije vode iz jedinjenja koji često dovodi do promene kristalne strukture jedinjenja. Poznato je da neka anhidrovana jedinjenja imaju različitu brzinu rastvaranja u poređenju sa hidratisanim oblikom što može da utiče na brzinu rastvaranja doziranog oblika. Reakciji dehidratacije podležu npr. prostaglandini E1 i E2, eritromicin, šećeri, kao što su glukoza i laktoza (nastaje 5-hidroksimetil furfural).

Izomerizacija je proces prelaska jednog optičkog ili geometrijskog izomera u drugi. Racemizacija se dešava kada se optički aktivan oblik jedinjenja konvertuje u svoj enantiomer. Promena optičke aktivnosti može da rezultira promenom biološke aktivnosti: enantiomer koji nastaje može da ima manji terapijski efekat, nema delovanje ili da ispoljava toksične efekte (talidomid). Epimerizacija je promena konfiguracije na jednom hiralnem C atomu. Reakciji epimerizacije podležu pilokarpin, tetraciklini, etopozid, itd [1].

Fotodegradacija je reakcija degradacije koja se dešava pod uticajem svetlosti, naročito UV zračenja koje ima manju talasnu dužinu i veću energiju u odnosu na dnevnu svetlost. Svetlosna energija koju jedinjenja apsorbuju može dostići tzv. energiju aktivacije nakon čega započinju procesi degradacije ili se apsorbovana energija može preneti na druge molekule koje su dalje podložne reakcijama oksidacije, polimerizacije,

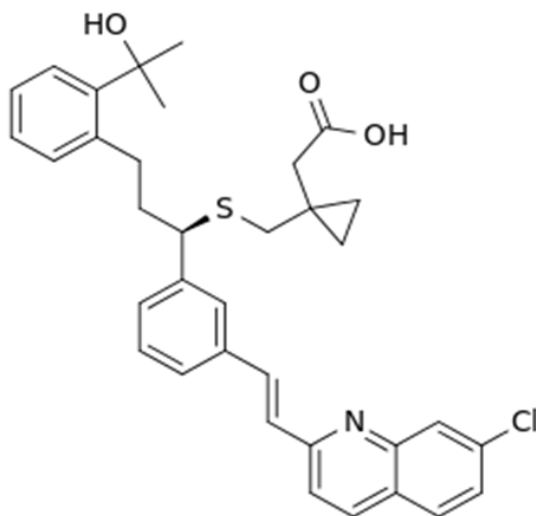
itd. Primeri fotodegradacije su dehidrogenacija nifedipina, fotodegradacija hlorohinina, primahina. Fotodegradacija se može kontrolisati upotrebom neprovidne ili obojene ambalaže.

Porast temperature najčešće ubrzava reakcije oksidacije, redukcije i hidrolize. Sagledavajući uticaj pH vrednosti sredine na stabilnost jedinjenja treba uzeti u obzir činjenicu da većina supstanci za farmaceutsku upotrebu, u pogledu kiselo-baznih osobina, pripada grupi slabih kiselina ili slabih baza koje su stabilne u opsegu pH vrednosti od 4,0 do 8,0. Promenom pH vrednosti rastvora menja se stepen jonizacije jedinjenja i rastvorljivost što može da vodi ka nestabilnosti jedinjenja. Da bi se sprečila degradacija izazvana velikim promenama pH vrednosti sredine često se koriste puferi: acetatni, citratni, fosfatni. Prisustvo vlage ubrzava hemijske reakcije oksidacije, redukcije, hidrolize i podstiče mikrobiološku kontaminaciju [1].

Kako bi se povećala hemijska stabilnost lekova primenjuju se različiti pristupi kao što su modifikacija molekulske strukture jedinjenja, građenje kompleksa lek-ekscipijens, građenje inkluzionih kompleksa sa ciklodekstrinima, inkorporiranje leka u liposome, micele, emulzije, dodatak stabilizatora (npr. antioksidansi), pakovanje u odgovarajuću ambalažu...

### ***Stabilnost montelukasta***

Montelukast je selektivni, oralni antagonist leukotrienskih receptora koji specifično inhibira cisteinil leukotrien CysLT1 receptor (Slika 1). U obliku natrijumove soli koristi se u terapiji hronične astme, bronhospazma, alergijskog rinitisa i urtikarija. Hemijski, montelukast je (R,E)-2-(1-((1-(3-(2-(7-hlorohinolin-2-il)vinil)fenil)-3-(2-(2-hidroksipropan-2-il) fenil) propiltio) metil)ciklopropil) sirćetna kiselina.

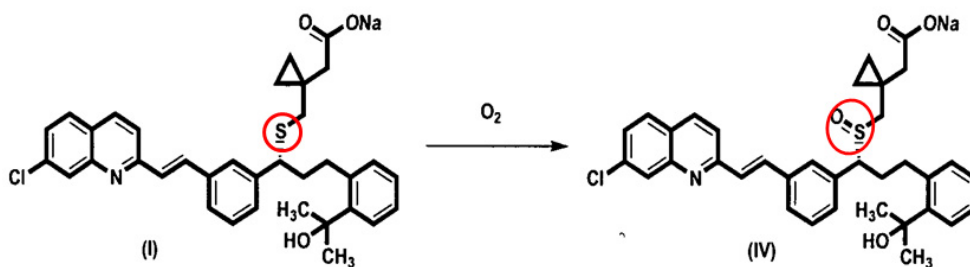


Slika 1. Hemijska struktura montelukasta

Figure 1. Chemical structure of Montelukast

Montelukast je slabo rastvorljivo, lipofilno, amfoterno jedinjenje (log P 8,79 (ADMET predictor) i pKa 2,7 i 5,8 [3]). U strukturi montelukasta nalaze se brojne funkcionalne grupe koje utiču na hemijsku stabilnost ovog jedinjenja. Poznato je da montelukast podleže reakcijama degradacije koje se prema vrsti hemijskih transformacija mogu podeliti u tri grupe [4]:

1. Oksidacija merkapto grupe do sulfoksida (Slika 2):

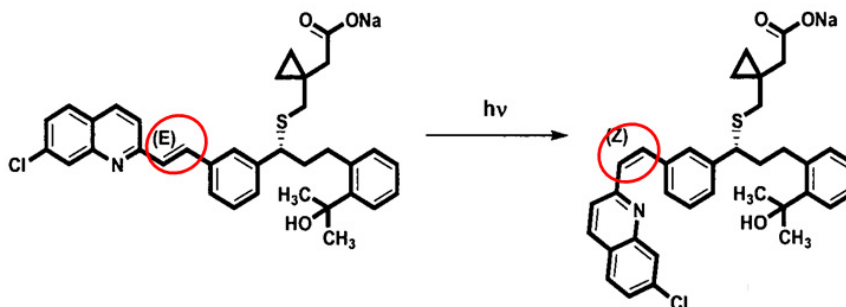


Slika 2. Oksidacija tioetra do sulfoksida

Figure 2. Oxidation of thioether to sulfoxide

Sulfoksid je neaktivna nečistoća koja smanjuje efikasnost unetog leka. Stabilan farmaceutsko-tehnološki oblik je onaj koji ne sadrži više specificirane količine sulfoksida kada se čuva pod deklarisanim uslovima.

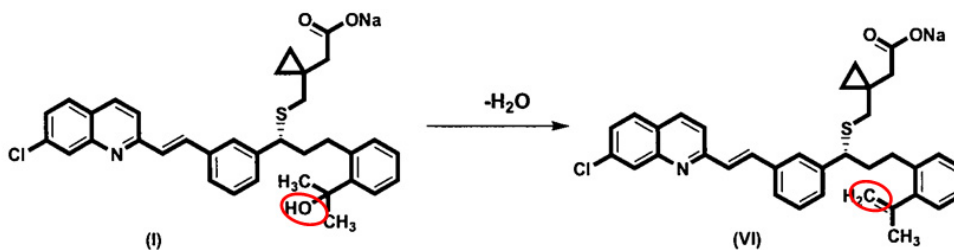
2. Izomerizacija dvostruke veze (Slika 3):



Slika 3. Izomerizacija dvostruke veze

Figure 3. Isomerisation of double bond

3. Dehidracija terciarnog alkohola (Slika 4):



Slika 4. Dehidracija terciarnog alkohola

Figure 4. Dehydration of tertiary alcohols

Zbog hemijske nestabilnosti montelukasta u pripremi formulacija posebna pažnja je posvećena izboru pomoćnih supstanci (ekscipijensa): sredstva za dopunjavanje, vezivanje, za raspadljivost, za klizanje, kao i lubrikansi [5–6]. Formulacije koje sadrže mikrokristalnu celulozu povećavaju količinu sulfoksida zbog mogućeg prisustva vodonik-peroksida [7]. Sličan efekat izaziva prisustvo aspartama u formulaciji zbog

čega je njegova količina u tabletama za žvakanje ograničena na 1 mg/tab. Montelukast se u prometu nalazi u obliku filmom obloženih tableta, tableta za žvakanje i granula.

U literaturi su opisane *stability indicating* metode [8–10], metode ispitivanje uticaja svetlosti i temperature na stabilnost montelukasta u rastvoru i čvrstom stanju [10], kao i mehanizam kinetike fotodegradacije [13, 14]. Određivanje montelukasta u doziranim oblicima može se vršiti primenom metode voltimetrije [15], spektrofotometrije [16], HPLC metode [17]. Opisane su i metode istovremenog određivanja montelukasta i desloratadina [18] i levocetirizina [19] u doziranim oblicima kao i određivanje montelukasta u biološkom materijalu [20–22].

Stres studije stabilnosti se izvode u ranoj fazi razvoja proizvoda, a koji obuhvata i razvoj i optimizaciju analitičke metode. Ova faza podrazumeva, pored definisanja optimalnih hromatografskih uslova i ispitivanje stabilnosti standardnih i analiziranih rastvora, što ima za cilj definisanje eksperimentalnih procedura i uslova pod kojima će se izvoditi priprema rastvora za analizu. Stabilnost rastvora se definiše kao vremenski interval u okviru koga su rastvori koji se koriste za analizu stabilni. Eksperimentalno se utvrđuje tako što se primenom validirane metode izvrši analiza propisanih ispitivanih i standardnih rastvora unapred utvrđenom dinamikom u odnosu na sveže pripremljeni standardni rastvor.

Cilj ovog rada bio je da se ispita uticaj temperature i svetlosti na stabilnost montelukasta u rastvorima montelukast tableta za žvakanje, montelukast filmom obloženih tableta i rastvoru standarda montelukast natrijuma koji se pripremaju u postupku ispitivanja prisustva i određivanja srodnih supstanci.

## **Eksperimentalni deo**

*Oprema:* hromatograf Agilent Technologies HP 1200 sa DAD detektorom, Dionex UltiMate 3000 UHPLC sa DAD detektorom.

*Reagensi:* Za pripremu mobilne faze i rastvora korišćeni su reagensi HPLC čistoće: acetonitril (Sigma, Aldrich, Nemačka), ortofosforna kiselina (Sigma, Aldrich, Nemačka), natrijum-dihidrogenfosfat, dihidrat (Sigma, Aldrich, Nemačka), metanol (Sigma, Aldrich, Nemačka), voda HPLC kvaliteta dobijena sistemom TKA (USA).

*Standardne supstance:* **Montelukast natrijum**, radni standard, **MOK-3 sulfoksid** (2-(1-((1R)-1-(3-[(E)-2-(7-hloro-2-hinolil)-1-etenil]fenil)-3-[2-(1-hidroksi-1-metil etil)fenil] propil sulfonil metil)ciklopropil] sirćetna kiselina) (Slika 3), **Stiren nečistoća** (1-[[[(1R)-1-[3-[(1E)-2-(7-hloro-2-hinolil)etil]fenil]-3-[2-[1-(1-metil etil)]fenil] propil] tio] metil] ciklopropil] sirćetna kiselina) (Slika 4).

*Dozirani farmaceutski oblici:* Montelukast tablete za žvakanje i Montelukast filmom obložene tablete.

## *Priprema rastvora*

**Pufer pH 3,7:** 4,4 g natrijum-dihidrogenfosfata, dihidrata, prenese se u odmerni sud od 1000 mL, rastvori u 800 mL vode i dopuni vodom do oznake. pH vrednost rastvora se podesi na 3,7 fosfornom kiselinom.

**Osnovni standardni rastvor montelukasta**, u koncentraciji  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  pripremi se u metanolu, dok su **osnovni standardni rastvori nečistoća (MOK-3 sulfoksida i stiren nečistoće)** u koncentraciji  $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$  pripremljeni u acetonu. Posle dužeg stajanja stiren nečistoće u metanolnom rastvoru može doći do interakcije alkohola sa dvostrukom vezom pa je aceton, zbog dobre rastvorljivosti i stabilnosti, izabran kao rastvarač za nečistoće.

**Rastvori korišćeni za procenu pogodnosti sistema** u koncentraciji: montelukast  $0,001 \text{ mg mL}^{-1}$ , MOK-3 sulfoksid  $0,001 \text{ mg mL}^{-1}$  i stiren nečistoća  $0,001 \text{ mg mL}^{-1}$  pripreme se u smeši metanol voda (9:1 V/V).

Analizirani rastvor standarda montelukasta, kao i analizirani rastvori Montelukast tableta za žvakanje i filmom obloženih tableta pripremljene su u koncentraciji od  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$  u smeši metanol/voda (9:1 V/V).

*Hromatografski uslovi:* kolona–zadovoljavajuće razdvajanje montelukasta i degradacionih proizvoda postignuto je na koloni BDS HYPERSIL C18, 100 mm x 4,6 mm,  $3 \mu\text{m}$  veličine čestica uz gradijentno eluiranje mobilnom fazom A koju čini smeša – pufer pH 3,7: ACN u odnosu 80:20 i mobilnom fazom B – smeša pufer pH 3,7: ACN u odnosu 20:80 (V/V). Protok mobilne faze bio je  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , temperatura kolone  $27 \text{ }^\circ\text{C}$ , talasna dužina detekcije 225 nm i volumen injektovanja  $20 \mu\text{L}$ . Program gradientnog eluiranja: 0-30min A: 50 %→20 %, 30-35 min A: 20 %→5 %, 35-45 min A: 5 %, 45-50 min A: 5→50 %, 50-60 min A: 50 %.

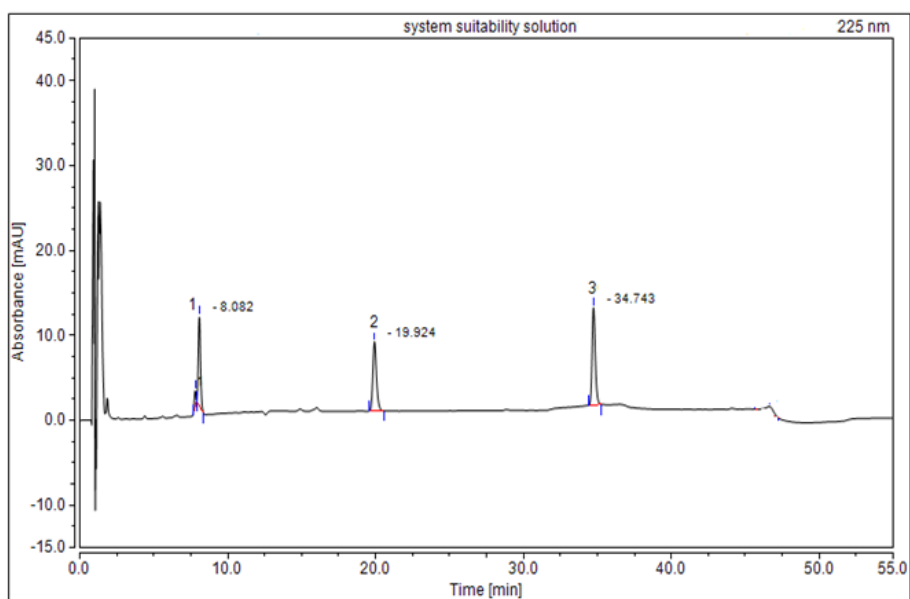
## **Rezultati i diskusija**

U radu su prikazani rezultati ispitivanja stabilnosti montelukasta u rastvorima koji se koriste u postupku ispitivanja srodnih supstanci u toku rutinske kontrole farmaceutskih doziranih oblika montelukasta (filmom obložene tablete i tablete za žvakanje). Ispitivanje stabilnosti je vršeno RP-HPLC metodom koja omogućava razdvajanje aktivne supstance od degradacionih proizvoda, koji mogu nastati u toku pripreme, analize i čuvanja rastvora. Predložena metoda je validirana, i utvrđeno je da je metoda dovoljno osetljiva, selektivna i reproduktivna. Pre izvođenja bilo kog eksperimenta za validaciju metode potrebno je dokazati da je HPLC sistem pogodan, a da definisana procedura obezbeđuje pouzdane, tačne i reproduktivne rezultate. Procena pogodnosti sistema je izvršena praćenjem faktora rezolucije, asimetrije pika kao i broja teorijskih platoa. Podaci su prikazani u Tabeli I i na Slici 5.



**Tabela I** Parametri pogodnosti sistema**Table I** System suitability parameters

Pik	Jedinjenje	Retenciono vreme (min.)	Faktor rezolucije ( $R_s$ ) (>2)	Asimetrija pika (T) (<2)	Broj teorijskih platoa (N) (>2000)
1	MOK-3 sulfoksid	8,082	33,34	1,16	13556
2	montelukast	19,924	36,34	1,25	33628
3	stiren nečistoća	34,743	15,84	1,20	131579

**Slika 5. Hromatogram rastvora za proveru pogodnosti sistema****Figure 5. Chromatogram showing system suitability**

U izvedenoj studiji stabilnosti montelukasta u rastvoru praćen je uticaj dva spoljašnja faktora koji mogu uticati na hemijski integritet jedinjenja: temperatura i svetlost. Poznato je da temperatura, kao i svetlost katalizuju mnoge degradacione procese kao što su oksidacija, hidroliza, izomerizacija i sl.

### Uticaj temperature na stabilnost montelukasta u rastvoru

Prilikom procene stabilnosti montelukasta u standardnom i ispitivanim rastvorima tableta praćen je sadržaj montelukasta, poznatih i nepoznatih nečistoća u trenutku pripreme rastvora, nakon 24h i 48h, u rastvorima koji su čuvani na sobnoj temperaturi i u frižideru (4°C). Rastvori za analizu su pripremani i čuvani u odmernim sudovima od tamnog stakla. Rezultati ispitivanja prikazani su u Tabelama II, III i IV.

**Tabela II** Rezultati stabilnosti montelukasta u rastvoru montelukast radnog standarda

**Table II** Results of stability study of montelukast in the standard solution of Montelukast

Sobna temperatura				
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Površina pika	RSD	Razlika u površini (%)
0	montelukast	1225,96	1,25	-
24		1220,01	0,60	-0,46
48		1205,70	1,39	-1,65
0	MOK-3 sulfoksid	1,83	0,41	-
24		1,83	0,42	-
48		1,84	0,14	+0,55
0	Stiren nečistoća	2,85	0,33	-
24		2,86	0,19	+0,35
48		2,88	0,66	+1,05
Temperatura frižidera (4-8 °C)				
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Površina pika	RSD	Razlika u površini (%)
0	montelukast	1225,96	0,73	-
24		1222,11	0,94	-0,31
48		1217,22	0,81	-0,71
0	MOK-3 sulfoksid	1,83	0,09	-
24		1,83	0,35	-
48		1,83	0,24	-
0	Stiren nečistoća	2,85	0,12	-
24		2,85	0,44	-
48		2,86	0,26	+0,35

**Tabela III** Rezultati stabilnosti montelukasta u rastvoru Montelukast tableta za žvakanje**Table III** Results of stability study of montelukast in the solution of Montelukast chewing tablets

Sobna temperatura				
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj	RSD	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,57	0,26	-
24		99,61	0,25	+0,04
48		98,04	0,25	-1,53
0	MOK-3 sulfoksid	0,14	1,26	-
24		0,14	2,38	-
48		0,15	1,51	+0,01
0	Stiren nečistoća	0,06	0,26	-
24		0,05	0,30	-0,01
48		0,06	0,05	-
0	Nepoznata nečistoća (RRT~0,75)	0,06	2,29	-
24		0,06	2,37	-
48		0,08	2,83	+0,02
Temperatura frižidera (4-8 °C)				
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj (%)	RSD	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,57	0,26	-
24		99,69	0,25	+0,12
48		99,05	0,26	-0,52
0	MOK-3 sulfoksid	0,11	1,26	-
24		0,07	3,29	-0,04
48		0,12	1,35	+0,10
0	Stiren nečistoća	0,06	0,26	-
24		0,07	2,09	+0,01
48		0,06	2,11	-
0	Nepoznata nečistoća (RRT~0,75)	0,06	2,29	-
24		0,05	3,22	+0,01
48		0,03	1,52	-0,03

**Tabela IV** Rezultati stabilnosti montelukasta u rastvoru Montelukast film tableta**Table IV** Results of stability study of montelukast in the solution of Montelukast film coated tablets

Sobna temperatura				
Vremeispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj	RSD	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,58	0,09	-
24		99,63	0,08	+0,05
48		99,02	0,09	-0,56
0	MOK-3 sulfoksid	0,08	2,90	-
24		0,08	2,38	-
48		0,08	1,51	-
0	Stiren nečistoća	0,02	0,77	-
24		0,03	0,44	+0,01
48		0,02	0,07	-
0	Nepoznatanečistoća (RRT~0,75)	0,01	2,90	-
24		0,02	2,37	+0,01
48		0,02	2,83	-
Temperatura frižidera (4-8 °C)				
Vremeispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj	RSD	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,58	0,09	-
24		99,52	0,05	-0,06
48		99,02	0,10	-0,56
0	MOK-3 sulfoksid	0,08	2,38	-
24		0,06	2,22	-0,02
48		0,08	1,38	-
0	Stiren nečistoća	0,02	0,77	-
24		0,01	0,55	-0,01
48		0,01	1,00	-
0	Nepoznatanečistoća (RRT~0,75)	0,01	2,90	-
24		0,02	1,85	+0,01
48		0,02	1,85	-

Na osnovu dobijenih vrednosti relativnih standardnih devijacija ( $RSD < 5 \%$ ) [8, 9] može se izvesti zaključak da je montelukast stabilan u svim ispitivanim rastvorima kako na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$  tako i na sobnoj temperaturi.

Sadržaj montelukasta u standardnom rastvoru je u opsegu 98-102 %, a pojedinačne i ukupne nečistoće u dozvoljenim granicama [7] čime je potvrđeno da su ispitivani rastvori stabilni 48h. Sadržaj montelukasta u rastvorima tableta za žvakanje, kao i filmom obloženih tableta je u opsegu 95 % – 105 %, a pojedinačne i ukupne nečistoće u dozvoljenim granicama koje su definisane specifikacijom proizvoda (MOK-3  $\leq 0,5 \%$ , stiren  $\leq 0,5 \%$ , nepoznate nečistoće  $\leq 0,2 \%$  i ukupne nečistoće  $\leq 1,5 \%$ ).

U svim ispitivanim uzorcima rastvora tableta montelukasta detektovane su i nepoznate nečistoće pri čemu je praćena nečistoća čije je prisustvo potvrđeno i u rastvoru standarda montelukasta (RRT 0,75). Ostale nepoznate nečistoće u rastvoru standarda detektovane su u količini manjoj od 0,01 % i tokom ispitivanja nisu pokazivale značajnu tendenciju porasta (njihov sadržaj nije prelazio 0,01 %).

#### *Uticaj svetlosti na stabilnost montelukasta u rastvoru*

U strukturi montelukasta nalaze se fotoreaktivne funkcionalne grupe, toetarska i alkenska grupa. Svetlost može katalizovati inicijalnu reakciju oksidacije montelukasta te je stoga praćen porast sadržaja sulfoksida koji nastaje oksidacijom tio etra (Slika 3). Svetlost katalizuje reakcije izomerizacije dvostruke veze u strukturi montelukasta pri čemu nastaje Z izomer (Slika 4). Specifikacijom proizvoda Z izomer nije definisan kao poznata nečistoća te se u ispitivanju vodi kao nepoznata nečistoća i granice za njegov sadržaj su strožije (0,2 %) u poređenju sa MOK-3 sulfoksidom i stiren nečistoćom (0,5 %).

Studije fotodegradacije montelukasta izvedene pod uticajem dnevne svetlosti, pokazale su da svetlost kao ispitivani faktor ima veći uticaj na integritet strukture montelukasta u poređenju sa temperaturom. Ispitivani rastvori i rastvori standarda pripremani su i čuvani u odmernim sudovima od bezbojnog stakla, na sobnoj temperaturi. Inicijalna koncentracija montelukasta poređena je sa koncentracijom montelukasta u istim rastvorima nakon 24 h. Dobijeni rezultati su ukazivali na degradaciju aktivne supstance više od 10 % tako da je izvedena nova studija u kojoj je degradacija praćena u toku 12 h. (Tabela V, Slika 6).

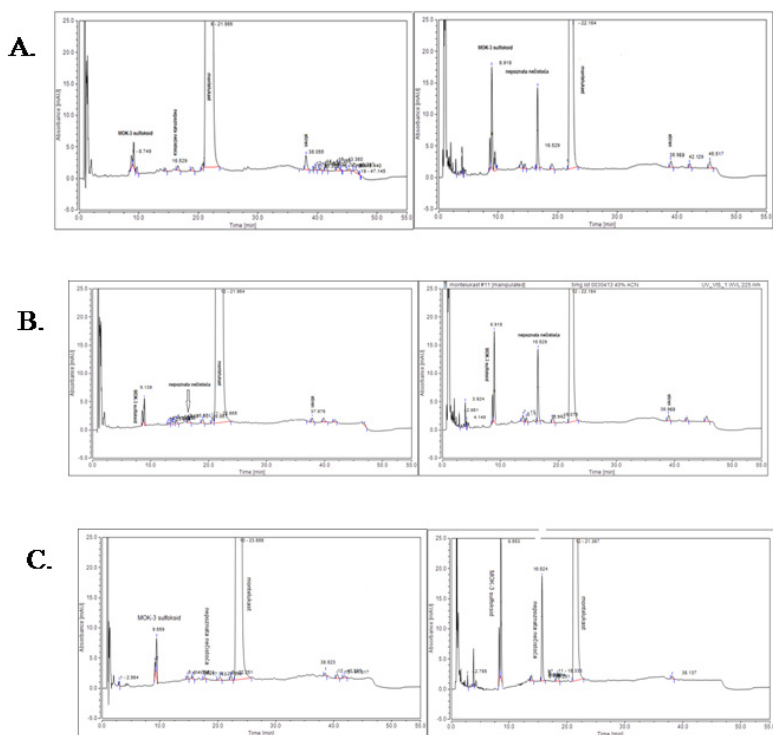
**Tabela V** Rezultati fotodegradacije montelukasta u ispitivanim uzorcima**Table V** Results of photodegradation studies of montelukast in the investigated solutions

Standardni rastvor montelukast natrijuma			
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj (%)	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,27	-
12		96,86	-2,41
0	MOK-3 sulfoksid	0,07	-
12		0,95	+0,88
0	Stiren nečistoća	0,02	-
12		0,08	+0,06
0	Nepoznata nečistoća (RRT~0,75)	0,05	-
12		0,61	+0,56
Rastvor Montelukast tableta za žvakanje			
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj (%)	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,36	
12		96,83	-2,53
0	MOK-3 sulfoksid	0,086	
12		1,01	+0,924
0	Stiren nečistoća	0,04	
12		0,06	+0,04
0	Nepoznata nečistoća (RRT~0,75)	0,02	
12		0,81	+0,61
Rastvor Montelukast filmom obloženih tableta			
Vreme ispitivanja	Jedinjenje	Sadržaj (%)	Razlika u sadržaju (%)
0	montelukast	99,39	
12		97,39	-2,0
0	MOK-3 sulfoksid	0,14	
12		1,12	+1,14
0	Stiren nečistoća	0,01	
12		0,02	+0,01
0	Nepoznata nečistoća (RRT~0,75)	0,09	
12		0,67	+0,58

Uticaj svetlosti dovodi do smanjenja sadržaja montelukasta i do porasta sadržaja MOK-3 sulfoksida i nečistoće čije je RRT oko 0,76. Sadržaj nečistoća već nakon 2 h prelazi granice koje su definisane farmakopejom (MOK-3 sulfoksid  $\leq 0,2$  %, nepoznate nečistoće pojedinačno  $\leq 0,1$  %) [9]. Stiren nečistoća nije pokazivala značajniju tendenciju porasta pod dejstvom svetlosti i njen sadržaj je bio u granicama farmakopejskih zahteva ( $\leq 0,3$  %) [9].

U svim uzorcima tableta montelukasta koje su bile izložene dejstvu svetlosti detektovane su nečistoće koje se pojavljuju na retencionim vremenima poznatih nečistoća (MOK-3 i stiren nečistoće), ali i nepoznate od kojih je praćena nečistoća čije je prisustvo potvrđeno i u rastvoru standarda montelukasta (RRT oko 0,76). Pod dejstvom svetlosti količina aktivne supstance je opadala ali je i dalje ostajala u granicama definisanim specifikacijom gotovog proizvoda (95 % – 105 %). S druge strane, sadržaj nečistoća u ispitivanim rastvorima je u toku 12 h porastao od 8 do 40 puta u poređenju sa inicijalnom koncentracijom tako da je prelazio granice definisane specifikacijom (0,5 % za poznate tj. 0,2 % za nepoznate nečistoće).

Tablete koje sadrže farmaceutski aktivne supstance osetljive na fotohemijsku degradaciju oblažu se polimernim filmom sa UV apsorberom koji generalno eliminiše efekat svetlosti na aktivnu supstancu tokom čuvanja i upotrebe proizvoda. U ovoj studiji ispitivana je i fotostabilnost rastvora filmom obloženih tableta Montelukasta. Rezultati prikazani u Tabeli VI i na Slici 6 ukazuju da je stepen fotodegradacije gotovo identičan u sva tri ispitivana uzorka iz jednostavnog razloga što se ispitivanje stabilnosti izvodi u rastvoru, a ne sa čvrstim uzorcima, pa prisustvo fotoprotektivnog filma nema značajnu ulogu u stabilnosti pripremljenih rastvora. Rastvori ovih tableta pripremaju se i čuvaju pod istim uslovima kao i rastvori standarda i tableta za žvakanje.



**Slika 6. Hromatogrami praćenja stabilnosti analiziranih rastvora: A. Hromatogrami rastvora standarda u 0h i 12h, B. Hromatogrami rastvora Montelukast tableta za žvakanje u 0h i 12h i C. Hromatogrami rastvora Montelukast filmom obloženih tableta u 0h i 12h**

**Figure 6. Chromatograms showing stability of tested solutions A. standard solution after 0h and 12h; B. Solution of Montelukast chewing tablets after 0h and 12h; C. Solution of Montelukast film coated tablets after 0h and 12h**

## Zaključak

U radu je prikazan uticaj temperature i svetlosti na stabilnost standardnog rastvora montelukasta kao i rastvora koji se pripremaju pri analizi nečistoća i srodnih supstanci u doziranim oblicima montelukasta: tabletama za žvakanje i filmom obloženih tableta. Zaključeno je da dnevna svetlost u većoj meri katalizuje hemijsku degradaciju montelukasta u poređenju sa temperaturom.

U cilju dobijanja pouzdanih rezultata analize u postupku ispitivanja i određivanja sadržaja srodnih supstanci u rastvorima montelukast tableta za žvakanje i filmom obloženih tableta potrebno je vršiti pripremu rastvora u odmernim sudovima od tamnog stakla i pripremljene ratvore analizirati u toku 48 h na sobnoj temperaturi.



## Literatura

1. Carstensen JT. Drug stability. Principles and Practice, Second Edition, Marcel Dekker, New York, 1995.
2. Hovorka, SW, Schöneich C. Oxidative degradation of pharmaceuticals: theory, mechanisms and inhibition. J Pharm. Sci. 2001; 90: 253-69.
3. Okumu A, DiMaso M, Löbenberg R. Dynamic dissolution testing to establish *in vitro/in vivo* correlations for montelukast sodium, a poorly soluble drug. Pharm Res. 2008; 25(12):2778-85.
4. Patent WO 2009111998 A2
5. Kmar PP. Formulation development and evaluation of montelukast sodium chewable tablets. J Chem PharmaceutSci. 2013;6(1):35-40.
6. Mahesh E, Kumar GBK, Ahmed MG, Kumar PK. Formulation and evaluation of montelukast sodium fast dissolving tablets. Asian J Biomed Pharmaceut Sci. 2012; 2(14):75-82.
7. European Pharmacopoeia 8<sup>th</sup> edition, Council of Europe, Strasbourg 2014.
8. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH): Stability testing of new drug substance and products Q1A(R2), Switzerland, 2003.
9. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH): Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2(R1), Switzerland, 2005.
10. Haque AM, Prashanth K, Manikanta A, Hasan S, Pradeep T, Nivedita G, Diwan PV. Stability indicating RP-HPLC method for the estimation of montelukast in pharmaceutical dosage form. J Pharm Biomed Anal. 2012;1(6):31-6.
11. Bapatu HR, Kumar MR, Garg LK, Venugopal D, Reddy AM. A Validated stability indicating UPLC method for montelukast impurities in montelukast sodium oral granules. International J Pharm Biomed Anal. 2012;3(1):345-55.
12. Al Omari MM, Zoubi RM, Hasan EI, Khader TZ, Badwan AA. Effect of light and heat on the stability of montelukast in solution and its solid state. J Pharm Biomed Anal. 2007;45:465-71.
13. Maafi M, Maafi W. Montelukast photodegradation: elucidation of  $\Phi$ -order kinetics, determination of quantum yields and application to actinometry. Int J Pharm.. 2014;471:544-52.
14. Roman J, Breier AR, Steppe M. Stability Indicating LC Method to determination of sodium montelukast in pharmaceutical dosage form and its photodegradation kinetics. J Chromatogr Sci. 2011;49:540-6.
15. Alsarra I, Al-Omar M, Gadkariem EA, Belal F. Voltammetric determination of montelukast sodium in dosage forms and human plasma. Farmaco. 2005;60(6-7):563-7.
16. Bankar RM, Patel DB. Spectrophotometric Determination of montelukast sodium and desloratadine in combined dosage form. Chem Tech. 2013;5(1):136-41.
17. Singh RM, Saini PK, Mathur SC, Singh GN, Lal B. Development and validation of a RP-HPLC method for estimation of montelukast sodium in bulk and in tablet dosage form. Indian J Pharm Sci. 2010;72(2):235-7.

18. Radhakrishna T, Narasaraju A, Ramakrishna M, Satyanarayana A. Simultaneous determination of montelukast and loratadine by HPLC and derivative spectrophotometric methods. *J Pharm Biomed Anal.* 2003;31:359–68.
19. Rote AR, Niphade VS. Determination of montelukast sodium and levocetirizine dihydrochloride in combined tablet dosage form by HPTLC and first-derivative spectrophotometry. *J Liq Chromatogr R T.* 2011;34:155-67.
20. Rawls SM, Kunk L. An automated method for the determination of montelukast in human plasma using dual-column HPLC analysis and peak height summation of the parent compound and its photodegradation product. *Pharm Res.* 2004;21:1539–44.
21. Challa BR, Awen BZ, Chandu BR, Khagga M, Kotthapalli CB. Method development and validation of montelukast in human plasma by HPLC coupled with ESI-MS/MS: application to a bioequivalence study. *Scientia Pharmaceutica.* 2010;78(3):411-22.
22. Patel NK, Subbaiah G, Shah H, Kundlik M, Sanyal M, Shrivastav PS. Rapid determination of montelukast in human plasma by LC-ESI-MS/MS and its application to a bioequivalence study. *Anal Lett.* 2009;42(13):2041-59.

# Chemical stability of drugs: influence of light and temperature on montelukast stability in solution

Branka Ivković\*, Milkica Crevar-Sakač, Zorica Vujić

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, Belgrade, Serbia

\*corresponding author: Tel: +38111 391335; e-mail: [blucic@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:blucic@pharmacy.bg.ac.rs)

---

## Summary

In this paper, influence of temperature and light on stability of montelukast in solutions (standard substance, chewable tablets and film coated tablets) which were prepared during routine analysis of related substances was investigated. The content of montelukast and degradation products was determined by HPLC method at defined time intervals (influence of temperature was tested at the beginning, after 24 hours, and after 48 hours, and influence of light was tested at the beginning of the experiment and after 12 hours). Stability of montelukast in tested solutions under influence of temperature was acceptable. The content of montelukast ranged from 98 % to 100 %, which meets the pharmacopoeia requirements and specifications. Individual and total impurities were within acceptable limits. Presence of photosensitive functional groups in structure of montelukast led to significant photodegradation. Individual and total impurities in samples which were under influence of light were above acceptable limits. Photodegradation occurred during first 12 hours. Content of MOK-3 sulphoxide and unknown impurity on RRT 0.76 was above limits in all examined samples. Over a period of 12 h the content of those impurities grew 8-40 fold compared to time zero values.

**Key words:** montelukast, stability testing, impurities, reverse-phase liquid chromatography

---