

## PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

### DLOUHODOBÁ STABILITA ALKALOIDŮ V PEVNÝCH LÉKOVÝCH FORMÁCH

Článek je věnován 100. výročí založení Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

**KAREL NESMĚRÁK<sup>a</sup>, KAREL KUDLÁČEK<sup>a</sup>,  
PETR KOZLÍK<sup>a</sup>, MARTIN ŠTÍCHA<sup>b</sup>, PAVLA  
VAŠÍČKOVÁ<sup>a</sup> a JAN BABICA<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> Katedra analytické chemie, <sup>b</sup> Sekce chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 8, 128 40 Praha 2, <sup>c</sup> České farmaceutické muzeum, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Hospitál Kuks, 544 43 Kuks  
nesmerak@natur.cuni.cz

Došlo 31.8.19, přijato 30.9.19.

Klíčová slova: HPLC-MS, dlouhodobá stabilita, degradace, doba použitelnosti

### Úvod

Ačkoliv je stabilita účinných látek pro účely stanovení doby použitelnosti léčivých přípravků obvykle studována v rozsahu jednotek let, v poslední době se v literatuře diskutují otázky degradace účinných látek takových přípravků v řádu desítek let<sup>1</sup>. To by v případě některých látek mohlo vyústit v podstatné prodloužení doby použitelnosti daného léčivého přípravku, což by mělo nezanedbatelné ekonomické i ekologické dopady<sup>2</sup>. Možné prodloužení doby použitelnosti léčivého přípravku obecně závisí jak na chemické struktuře účinné látky, tak na použité lékové formě<sup>3</sup>. Léčivé látky mohou na základě své chemické struktury podléhat nejruznějším degradačním reakcím<sup>4</sup>. Nejčastěji se jedná o hydrolýzu, dehydrataci, isomerizaci a racemizaci, eliminaci, oxidaci, nebo o interakci s přítomnými pomocnými, nebo jinými účinnými látkami. Tyto reakce mohou být ovlivněny řadou faktorů, jako je světlo, teplota, vlhkost, přístup vzduchu (vzdušná oxidace), pH, nebo kontaminace mikroorganismy. Hlavní pozornost dosud publikovaných studií o dlouhodobé stabilitě účinných látek v řádu desítek let je věnována převážně injekčním formám léčivých přípravků, zřetelně méně často jsou studovány pevné lékové formy (tablety, dražé, čípky)<sup>1</sup>. Zřejmou výhodou injekčních forem léčivých přípravků je jejich hermetické oddělení od okolí, které může přispět k větší stabilitě přípravku<sup>5–9</sup>. Dosud nejstaršími pevnými formami léčivých přípravků, u nichž byla studována jejich

stabilita, nebo lépe řečeno složení po dlouhé době od jejich přípravy, byly tablety o stáří 40 let (cit.<sup>2</sup>).

V této práci jsme studovali stabilitu pevných forem léčivých přípravků s obsahem alkaloidů jako účinných látek, přičemž stáří přípravků bylo v rozmezí 23 až 73 let. Struktury účinných látek a obaly studovaných vzorků léčivých přípravků jsou uvedeny na obr. 1. K analýze byla použita metoda HPLC-MS, konkrétní podmínky byly modifikací v literatuře popsáných metod. Analýza vzorků proběhla v roce 2014, jeden přípravek byl analyzován v roce 2016.

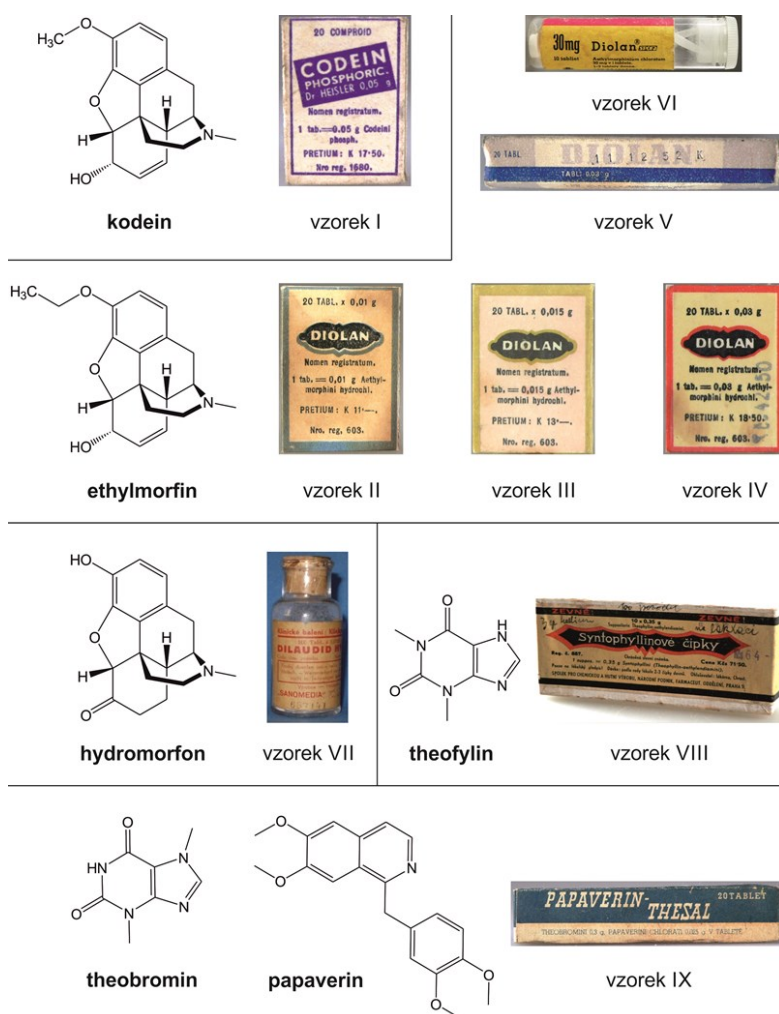
### Experimentální část

#### Analyzované vzorky

Studované vzorky léčivých přípravků (obr. 1) pocházely z Českého farmaceutického muzea v Kuksu, nebo sbírek Katedry analytické chemie PŘF UK. Podmínky skladování vzorků nejsou známy, předpokládá se jejich uložení v temnu při laboratorní, resp. pokojové, teplotě. Datace vzorků byla provedena buď na základě vytištěné šarže, nebo v některých případech jen přibližně podle informací na obalu (podle názvu firmy a udané ceny).

Vzorek I byly perorální tablety „Codein phosphoric. Dr. Heisler 0,05 g“, vyrobené firmou Dr. Robert Heisler v Chrastí u Chrudimi v rozmezí let 1944–1945 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří okolo 70 let), s deklarovaným obsahem fosforečnanu kodeinu 0,05 g v jedné tabletě. Tablety byly volně uloženy v originálním papírovém obalu.

Vzorkem II–VI byly tablety s hydrochloridem ethylmorfinu jako účinnou látkou, které byly k dispozici v několika šaržích. První tři šarže představovaly perorální tablety „Diolan“ vyrobené firmou Spolek pro chemickou a hutní výrobu v rozmezí let 1944–1945 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří okolo 70 let), deklarovaný obsah byl 0,01 g (vzorek II), 0,015 g (vzorek III) nebo 0,03 g (vzorek IV) hydrochloridu ethylmorfinu v jedné tabletě. Tablety byly volně uloženy v originálních papírových obalech. Čtvrtou šarží (vzorek V) byly perorální tablety „Diolan“ vyrobené firmou Slovafarma Hlohovec v roce 1952 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří 62 let), deklarovaný obsah hydrochloridu ethylmorfinu byl 0,03 g v jedné tabletě. Tablety byly uloženy v originálním skleněném obalu opatřeném plastovou zátkou. Pátou šarží (vzorek VI) byly perorální tablety „Diolan“ vyrobené firmou Spofa v roce 1991 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří 23 let), deklarovaný obsah hydrochloridu ethylmorfinu byl 30 mg v jedné tabletě. Tablety byly uloženy v originálním skleněném obalu opatřeném plastovou zátkou.



Obr. 1. Struktury účinných látek a obaly studovaných vzorků léčivých přípravků

Vzorek VII byly perorální tablety „Dilaudid hydr.“ vyrobené jako klinický vzorek firmou Sanomedia (Praha) v roce 1941 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří 73 let), deklarovaný obsah hydrochloridu hydromorfonu byl 0,0025 g v jedné tabletě. Tablety byly uloženy v originálním skleněném obalu opatřeném korkovou zátkou.

Vzorek VIII byly čípky „Syntophyllin“ vyrobené firmou Spolek pro chemickou a hutní výrobu v roce 1948 (v době analýzy v roce 2016 tedy ve stáří 68 let), deklarovaný obsah aminofylinu dihydrátu 0,35 g v jednom čípku. Čípky byly jednotlivě obaleny originálním obalem z hliníkové fólie.

Vzorek IX byly perorální tablety „Papaverin-Thesal“ vyrobené firmou Spofa v roce 1954 (v době analýzy v roce 2014 tedy ve stáří 60 let), deklarovaný obsah účinných látek byl 0,3 g theobrominu a 0,025 g hydrochloridu papaverinu v jedné tabletě. Tablety byly uloženy v originálním skleněném obalu opatřeném plastovou zátkou.

### Chemikálie

Ke kvantifikaci účinných látek v analyzovaných vzorcích byly použity standardy: hemihydrát fosforečnanu kodeinu Ph. Eur. 2012 97 % (Zentiva), ethylmorphin > 99 % (Sigma-Aldrich), theofylin > 99 % (Sigma-Aldrich), theobromin ≥ 99 % (Sigma-Aldrich) a papaverin hydrochlorid ≥ 98 % (Sigma-Aldrich).

Ostatní použité chemikálie byly (pokud není udáno jinak) analytické čistoty: acetonitril pro HPLC (Lach-Ner), amoniak 25% vodný roztok (Lach-Ner), mravenčan amonný (Sigma-Aldrich), mravenčí kyselina 86% (Lachema), octan amonný (Lach-Ner) a octová kyselina 80% (Lach-Ner).

## Příprava vzorků k analýze

V případě analýzy vzorků ve formě tablet byly odváženy dvě tablety analyzovaného přípravku, následně homogenizovány v třecí misce a odvážen podíl, který byl rozpuštěn v odměrné baňce v příslušné mobilní fázi. Roztok byl přefiltrován pomocí stříkačkového filmu pórovitosti 0,2  $\mu\text{m}$  (Whatmann). V případě vzorku VIII byl odvážený čípek rozpuštěn v 250 ml mobilní fáze v odměrné baňce v ultrazvukové lázni a následně přefiltrován skleněnou fritou S3. Získaný filtrát byl dále naředěn mobilní fází v poměru 1:25.

## Kapalinová chromatografie s hmotností detekcí

Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí probíhala na přístroji UHPLC Nexera XR (Shimadzu) ve spojení s trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem Agilent 6460 (Agilent Technologies). Hmotnostní detekce probíhala za použití elektrosprejové ionizace v pozitivním módu (ESI+). Jako zmlžovací plyn byl použit dusík (380 kPa). Jako sušící plyn byl použit dusík o průtoku 11  $\text{dm}^3 \text{min}^{-1}$ , teplotě 350  $^\circ\text{C}$  a napětí na kapiláře 4 kV. Rozsah měření byl 50–700  $m/z$ . Ke kvantifikaci byla použita metoda kalibračních závislostí. Statistické vyhodnocení bylo provedeno z trojnásobné analýzy vzorku.

## Výsledky a diskuse

Bylo studováno devět vzorků pevných forem historických léčivých přípravků s obsahem benzoisochinolinových, xantinových a isochinolinových alkaloidů. Přehled dosažených výsledků podává souhrnně tab. I.

## Vzorek I

Vzorek I obsahoval jako účinnou látku kodein, benzoisochinolinový alkaloid využívaný pro antitusivní vlastnosti, méně pro účinky analgetické. K analýze vzorku I byla modifikována metoda z literatury<sup>10,11</sup>. Separace vzorku I rozpuštěného v acetonitrilu probíhala na koloně ProntoSIL C18 (200  $\times$  2,0 mm, 3,0  $\mu\text{m}$ ; Bischoff Chromatography) izokratickou elucí s mobilní fází obsahující acetonitril a 0,01  $\text{mol dm}^{-3}$  vodný mravenčanový tlumivý roztok ( $\text{HCOOH}/\text{HCOONH}_4$ ) o pH 3,00 v poměru 50:50 ( $v/v$ ) při průtoku 0,20  $\text{ml min}^{-1}$ . Retenční čas kodeinu byl 2,6 min, jeho identita byla potvrzena změřením ESI+ hmotnostních spekter a jejich porovnáním s literaturou<sup>10,12</sup> a spektrem získaným změřením standardu. V analyzovaném vzorku I nebyly nalezeny žádné degradační produkty, čemuž odpovídá i nalezený obsah kodeinu  $98,0 \pm 0,7\%$  deklarovaného obsahu. Z hlediska stability byla v literatuře popsána dlouhodobá stabilita kodeinu ve 20–40 let starých tabletech, v nichž bylo nalezeno > 95 % deklarovaného obsahu látky<sup>2,3</sup>. Podle stabilitních studií přispívají

Tabulka I

Výsledky identifikace a stanovení účinných látek v analyzovaných vzorcích pevných forem léčivých přípravků

| Vzorek | Stáří / let | Účinná látka, CASRN   | $m/z$                   |                                                        | Nalezeno <sup>a</sup> / % |
|--------|-------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------|
|        |             |                       | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | dceřiné ionty                                          |                           |
| I      | 70          | kodein, 76-57-3       | 300,3                   | 282,3; 243,1; 225,1; 215,1; 199,1; 183,1               | $98,0 \pm 0,7$            |
| II     | 70          | ethylmorfin, 76-58-4  | 314,3                   | 296,2; 257,1; 239,1; 229,1; 213,1; 201,1; 183,2        | $98,4 \pm 0,2$            |
| III    | 70          | ethylmorfin, 76-58-4  | 314,3                   | 296,2; 257,1; 239,1; 229,1; 213,1; 201,1; 183,2        | $114,6 \pm 0,7$           |
| IV     | 70          | ethylmorfin, 76-58-4  | 314,3                   | 296,2; 257,1; 239,1; 229,1; 213,1; 201,1; 183,2        | $100,0 \pm 0,9$           |
| V      | 62          | ethylmorfin, 76-58-4  | 314,3                   | 296,2; 257,1; 239,1; 229,1; 213,1; 201,1; 183,2        | $117,9 \pm 0,4$           |
| VI     | 23          | ethylmorfin, 76-58-4  | 314,3                   | 296,2; 257,1; 239,1; 229,1; 213,1; 201,1; 183,2        | $109,3 \pm 0,3$           |
| VII    | 73          | hydromorfon, 466-99-9 | 286,2                   | 268,1; 255,1; 243,0; 229,0; 211,0; 199,0; 185,0; 157,0 | – <sup>b</sup>            |
| VIII   | 68          | theofylin, 58-55-9    | 181,1                   | 124,0                                                  | $104,9 \pm 0,3^c$         |
| IX     | 60          | theobromin, 83-67-0   | 181,3                   | 163,0; 138,0; 110,0                                    | $93,1 \pm 0,4$            |
|        |             | papaverin, 58-74-2    | 340,6                   | 324,2; 296,1; 250,1 202,0; 171,0                       | $53,7 \pm 0,8$            |

<sup>a</sup> Vztaženo k deklarovanému obsahu. <sup>b</sup> Nestanovené pro nedostupnost standardu. <sup>c</sup> Přepočítáno na čistý theofylin.

k degradaci kodeinu zejména neutrální a alkalické pH a vyšší teplota, degradačními reakcemi jsou především oxidace a isomerizace<sup>13,14</sup>.

#### Vzorky II–VI

Účinnou látkou ve vzorcích II–VI byl ethylmorfin, syntetický derivát morfinu produkovaný alkylací morfinu, čímž se dosáhne snížení analgetického a zvýšení antitusického účinku. K analýze vzorků II–VI byla použita modifikace v literatuře popsané metody<sup>11,15</sup>. Separace vzorku rozpuštěného v acetonitrilu probíhala na koloně Watrex RP C18 (250 × 4,0 mm, 5 μm) izokratickou elucí s mobilní fází obsahující acetonitril a 0,01 mol dm<sup>-3</sup> vodný mravenčanový tlumivý roztok (HCOOH/HCOONH<sub>4</sub>) o pH 3,00 v poměru 40:60 (v/v) při průtoku 0,65 ml min<sup>-1</sup>. Retenční čas ethylmorfinu byl 6,3 min, jeho identita byla potvrzena změřením ESI+ hmotnostních spekter a jejich porovnáním s literaturou<sup>16,17</sup> a spektrem získaným změřením standardu. V analyzovaných vzorcích II–VI nebyly nalezeny žádné degradační produkty, nalezený obsah ethylmorfinu odpovídal obsahu deklarovanému. U vzorků III, V a VI byly nalezeny vyšší obsahy ethylmorfinu, což lze vysvětlit chybou při výrobě, resp. nedokonalostí kontrolních metod v době výroby daných léčivých přípravků. Z hlediska stability byla v literatuře popsána pouze stabilita ethylmorfinu v roztocích, kde k degradaci přispívá neutrální pH a přítomnost kyslíku<sup>18</sup>, hlavní degradační reakcí je hydrolyza.

#### Vzorek VII

Vzorek VII obsahoval jako účinnou látku hydromorfon, hydrogenovaný keton morfinu s asi pětkrát vyšším analgetickým účinkem než má samotný morfin. Vzhledem ke strukturální podobnosti hydromorfonu s ethylmorfinem byla pro analýzu vzorku VII použita metoda popsaná výše u analýzy vzorků II–VI. Retenční čas hydromorfonu byl 5,8 min, jeho identita byla potvrzena změřením ESI+ hmotnostních spekter a jejich porovnáním s literaturou<sup>19,20</sup>. Protože nebyl k dispozici standard hydromorfonu, nebylo možné kvantifikovat jeho obsah ve vzorku. Vzhledem k tomu, že ve vzorku nebyly detegovány žádné degradační produkty hydromorfonu, lze usuzovat na jeho dlouhodobou stabilitu v tomto léčivém přípravku. Tento závěr lze podpořit výsledky rozsáhlých studií o stabilitě strukturálně příbuzného morfinu v léčivých přípravcích, které ukazují, že degradace morfinu je urychlována přítomností kyslíku a při vyšším pH roztoku, zatímco teplota a světlo mají na degradaci jen malý vliv<sup>21</sup>.

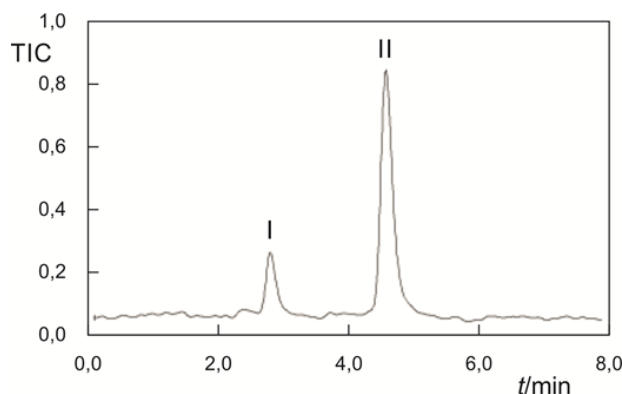
#### Vzorek VIII

Účinnou látkou vzorku VIII byl aminofylin, směs xantinového alkaloidu theofylinu (užíván pro bronchodilatační účinky při léčbě respiračních onemocnění) a ethylendiaminu v poměru 2:1. Účelem ethylendiaminu je zvyšovat rozpustnost theofylinu. K analýze vzorku VIII byla modifikována metoda z literatury<sup>22</sup>, separace vzorku roz-

puštěného v mobilní fázi probíhala na koloně Zorbax Eclipse C18 (150 × 4,6 mm, 3,5 μm; Agilent) izokratickou elucí s mobilní fází obsahující acetonitril a 0,02 mol dm<sup>-3</sup> vodný acetátový tlumivý roztok (CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) o pH 4,00 v poměru 20:80 (v/v) při průtoku 0,50 ml min<sup>-1</sup>. Retenční čas theofylinu byl 3,9 min. Identita theofylinu byla potvrzena změřením ESI+ hmotnostních spekter a porovnáním s literaturou<sup>23,24</sup> a spektrem získaným změřením standardu. Analýzou vzorku VIII nebyly nalezeny žádné degradační produkty, čemuž odpovídá i nalezený obsah theofylinu 104,9 ± 0,3 % deklarovaného obsahu (po přepočítání na čistý theofylin). Z hlediska stability byla v literatuře popsána dlouhodobá stabilita a účinnost theofylinu ve 35 let starých tabletkách, ve kterých bylo nalezeno 90 % deklarovaného obsahu látky<sup>25</sup>. Za stresové faktory zvyšující degradaci theofylinu byly určeny zejména kyselá pH a vyšší teplota<sup>22,26</sup>.

#### Vzorek IX

Vzorek IX obsahoval jako účinné látky dva alkaloidy. Prvním byl xantinový alkaloid theobromin, pocházející ze semen kakaovníku pravého, dříve užívaný pro vasodilatační a diuretické účinky. Druhým pak isochinolinový alkaloid papaverin, získávaný z opia, s účinky spasmolytickými a vasodilatačními. K analýze vzorku IX byla použita metoda navržená na základě literatury<sup>10,27–29</sup>, separace vzorku rozpuštěného ve směsi acetonitril–voda v poměru 50:50 (v/v) probíhala na koloně Watrex RP C18 (250 × 4,0 mm, 5 μm) izokratickou elucí s mobilní fází obsahující acetonitril a 0,01 mol dm<sup>-3</sup> vodný mravenčanový tlumivý roztok (HCOOH/HCOONH<sub>4</sub>) o pH 3,00 v poměru 50:50 (v/v) při průtoku 0,65 ml min<sup>-1</sup>. Retenční čas theobrominu byl 2,9 min, papaverinu 4,7 min (obr. 2). Identita obou alkaloidů byla potvrzena změřením ESI+ hmotnostních spekter a jejich porovnáním s literaturou



Obr. 2. HPLC/MS chromatogram analyzovaného vzorku IX (perorální tablety „Papaverin-Thesal“) v ESI+ módu. Píky (I) theobromin, (II) papaverin. Měřeno na koloně Watrex RP C18 (250 × 4 mm, 5 μm) s mobilní fází obsahující acetonitril a 0,01 mol dm<sup>-3</sup> vodný mravenčanový tlumivý roztok (HCOOH/HCOONH<sub>4</sub>) o pH 3,00 v poměru 50:50 (v/v) při průtoku 0,65 ml min<sup>-1</sup>

(pro theobromin<sup>23,24,30</sup>, pro papaverin<sup>10,29,31</sup>) a spektrem získaným změřením standardu. Analýzou vzorku IX nebyly nalezeny žádné degradační produkty, stanovený obsah theobrominu odpovídá  $93,1 \pm 0,4$  % deklarovaného obsahu. V případě papaverinu bylo ale ve vzorku IX stanoveno pouze  $53,7 \pm 0,8$  % deklarované hodnoty, což vzhledem k neprokázané degradaci látky (nepřítomnosti možných degradačních produktů papaverinaldinu ani papaverinolu<sup>32</sup>), lze pravděpodobně vysvětlit jako chybu při výrobě. Pro stabilitu theobrominu neposkytuje literatura podstatné údaje, je nicméně známo, že jeho roztoky se rozkládají za varu<sup>33</sup>, případně v alkalickém pH (cit.<sup>34</sup>). U papaverinu je z hlediska dlouhodobé stability popsána jeho oxidace na papaverinaldin a papaverinol, která probíhá pouze v roztocích<sup>32</sup>.

## Závěr

Analýzou devíti historických vzorků pevných lékových forem (tablety a čípky) byla zjištěna dlouhodobá stabilita účinných látek ze skupiny alkaloidů. Z pohledu účinné látky by tedy studované přípravky vyhověly ustanovením lékopisů, které požadují obsah v rozmezí 95–105 % deklarovaného obsahu. Na druhou stranu je třeba upozornit, že k použitelnosti konkrétního přípravku patří i mnohé další parametry. Jedná se o první studii stability pro pevné lékové formy ve stáří okolo 70 let. Zjištěná stabilita účinných látek koresponduje s dlouhodobou stabilitou jiných molekul se skupiny alkaloidů (alkaloidy ipecacuanhy) ve farmaceutických vzorcích z 18. století<sup>35</sup>.

## LITERATURA

- Zilker M., Sörgel F., Holzgrabe U.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 166, 222 (2019).
- Cantrell L., Suchard J. R., Wu A., Gerona R. R.: *Arch. Intern. Med.* 172, 1685 (2012).
- Lyon R. C., Taylor J. S., Porter D. A., Prasanna H. R., Hussain A. S.: *J. Pharm. Sci.* 95, 1549 (2006).
- Yoshioka S., Stella V. J.: *Stability of Drugs and Dosage Forms*. Kluwer, New York 2002.
- Nesměrák K., Štícha M., Čvančarová M.: *Anal. Lett.* 43, 2572 (2010).
- Kudláček K., Nesměrák K., Štícha M., Kozlík P., Babica J.: *Monatsh. Chem.* 148, 1613 (2017).
- Kudláček K., Nesměrák K., Štícha M., Kozlík P., Babica J.: *Monatsh. Chem.* 149, 1555 (2018).
- Zilker M., Sörgel F., Holzgrabe U.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 150, 318 (2018).
- Nesměrák K., Kudláček K., Štícha M., Kozlík P., Babica J.: *Monatsh. Chem.* 150, 1611 (2019).
- Zhang Z., Yan B., Liu K., Bo T., Liao Y., Liu H.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22, 2851 (2008).
- Berg T., Lundanes E., Christophersen A. S., Strand D. H.: *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 877, 421 (2009).
- Zayed M. A., Hawash M. F., Fahmey M. A.: *Spectrochim. Acta, Part A* 64, 363 (2006).
- Gundermann P., Pohloudek-Fabini R.: *Pharmazie* 35, 296 (1980).
- Powell M. F.: *J. Pharm. Sci.* 75, 901 (1986).
- Concheiro M., de Castro A., Quintela Ó., Cruz A., López-Rivadulla M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 2329 (2008).
- Thörngren J. O., Östervall F., Garle M.: *J. Mass Spectrom.* 43, 980 (2008).
- Bijlsma L., Sancho J. V., Hernández F., Niessen W. M. A.: *J. Mass Spectrom.* 46, 865 (2011).
- Kulesh K. F., Bugrim N. A.: *Farmatsiya (Moscow, Russ. Fed.)* 17, 27 (1968). *Chem. Abstr.* 69:30100.
- Jeong E. S., Kim S. H., Cha E. J., Lee K. M., Kim H. J., Lee S. W., Kwon O. S., Lee J.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 29, 367 (2015).
- Liu H. C., Liu R. H., Ho H. O., Lin D. L.: *Anal. Chem.* 81, 9002 (2009).
- Vermeire A., Remon J. P.: *Int. J. Pharm.* 187, 17 (1999).
- Maithani M., Singh R.: *J. Anal. Bioanal. Tech.* 2, 1000116 (2011).
- Bartella L., Di Donna L., Napoli A., Siciliano C., Sindona G., Mazzotti F.: *Food Chem.* 278, 261 (2018).
- Porcelli B., Marinello E., Pagani R., Curcuruto O., Fontana S., Traldi P.: *Org. Mass Spectrom.* 27, 1225 (1992).
- Regenthal R., Stefanovic D., Albert T., Trauer H., Wolf T.: *Hum. Exp. Toxicol.* 21, 343 (2002).
- Brower J. F., Juenge E. C., Page D. P., Dow M. L.: *J. Pharm. Sci.* 69, 942 (1980).
- Ptolemy A. S., Tzioumis E., Thomke A., Rifai S., Kellogg M.: *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 878, 409 (2010).
- Song M., Wang T., Li Q., Zhao L., Fang H., Li D., Bi K.: *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 903, 23 (2012).
- Peng Z., Song W., Han F., Chen H., Zhu M., Chen Y.: *Int. J. Mass Spectrom.* 266, 114 (2007).
- Liguori A., Mascaro P., Porcelli B., Sindona G., Uccella N.: *Org. Mass Spectrom.* 26, 608 (1991).
- Wood G. W., Mak N., Hogg A. M.: *Anal. Chem.* 48, 981 (1976).
- Hermann T. W., Girreser U., Michalski P., Piotrowska K.: *Arch. Pharm. (Weinheim Ger.)* 335, 167 (2002).
- Lorant B.: *Nahrung* 12, 351 (1968).
- Jang J. H., Park Y. D., Ahn H. K., Kim S. J., Lee J. Y., Kim E. C., Chang Y. S., Song Y. J., Kwon H. J.: *Chem. Pharm. Bull.* 62, 328 (2014).
- Nesměrák K., Kudláček K., Štícha M., Červený V., Kunešová J., Yildiz I.: *Monatsh. Chem.* 149, 1535 (2018).

**K. Nesměrák<sup>a</sup>, K. Kudláček<sup>a</sup>, P. Kozlík<sup>a</sup>, M. Štícha<sup>b</sup>, P. Vašíčková<sup>a</sup>, and J. Babica<sup>c</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague;* <sup>b</sup> *Section of Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague;* <sup>c</sup> *Czech Pharmaceutical Museum, Faculty of Pharmacy, Charles University, Kuks*): **Long-Term Stability of Alkaloids in Solid Dosage Forms**

There are only few studies showing that shelf-lives of pharmaceutical preparations are often longer than expiration dates (which usually range from 3 to 5 years). The objective of the study was to determine the content of nine solid dosage forms of pharmaceutical preparations with the alkaloid content ranging in age from 23 to 73 years by means of HPLC-MS/MS. Codeine, ethylmorphine, hydro-

morphine, aminophylline, theobromine, and papaverine were the active pharmaceutical ingredients of the analyzed preparations. The conditions for analysis on the reverse phase C18 of the preparations under study were modified according to literature and optimized. The compounds were identified by ESI+ tandem mass spectrometry. The quantification of the active pharmaceutical ingredient in a particular preparation was based on calibration dependence. There was no evidence of any alkaloid degradation in the pharmaceutical preparations analyzed, and the found content ranged from 93 to 113 % of that declared (with the exception of the papaverine preparation, where the found content of 53.8 % is interpretable by a manufacturing error).

Keywords: HPLC-MS, long-term stability, degradation, shelf-life, alkaloid