

Zakład Farmacji Stosowanej, Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej,
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr farm. Henryk Nerlo

Stanisława UMER

Trwałość roztworów wodnych prednizolonu

Устойчивость водных растворов преднизолонa

Stability of Aqueous Prednisolone Solutions

Prednizolon należy do glikokortykosteroidów z dwoma podwójnymi wiązaniami 1—2 i 4—5 w pierścieniu A, dlatego jest bardziej wrażliwy na światło aniżeli związki o jednym wiązaniu podwójnym w tym pierścieniu (1). Króczyński (2) podaje, że pod wpływem światła prednizolon traci aktywność farmakologiczną. Wiąże się to ze zmianami strukturalnymi w pierścieniu A i B oraz w bocznym łańcuchu ketolowym przy węglu 17, który może ulegać utlenieniu. Barton i Taylor (3) podczas naświetlania octanu prednizolonu światłem ultrafioletowym otrzymali octan lumiprednizolonu. Hamlin i współpracownicy (4) badając płyny oftalmiczne stwierdzili większą wrażliwość na światło ultrafioletowe prednizolonu niż hydrokortyzonu. Literatura podaje, że na trwałość prednizolonu wpływ ma także pH roztworu (2, 5, 6) i tlen z powietrza (5, 6).

Wobec coraz szerszego zastosowania tego związku w praktyce farmaceutycznej i braku sprecyzowanych danych odnośnie do jego trwałości w roztworach wodnych celem pracy było: 1) określenie trwałości prednizolonu w roztworach wodnych w obecności powietrza, azotu i dwutlenku węgla, oraz 2) zbadanie wpływu temperatury, niektórych przeciwutleniaczy, metali ciężkich i pH na trwałość tego związku w roztworach wodnych.

Część doświadczalna

Do badań przygotowano 0,01% roztwory wodne prednizolonu, używając wody podwójnie destylowanej i wyjałowionej w autoklawie w temp. 120°C przez 30 min. Otrzymane roztwory sączono przez sączek Schotta G-5, rozlewano do ampulek i zatapiano. Ampułki przechowywano w temp. pokojowej i temp. 60°C. Następnie oznaczano zawartość substancji czynnej bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania. Celem przeprowadzenia oznaczeń prednizolonu ekstrahowano go chloroformem z przygotowanych roztworów. Do badania pobierano 10 ml roztworu i wytrząsano dwukrotnie po 30 min., biorąc za każdym razem po 10 ml chloroformu. Wyciąg chloroformowy w ilości 8 ml (400 prednizolonu) przenoszono do kolby miarowej o pojemności 25 ml i odparowywano do sucha na łaźni wodnej. Pozostałość rozpuszczano w 10 ml etanolu i oznaczano metodą tetrazoliową — farmakopealną, podawaną w piśmiennictwie zagranicznym (4, 5, 6).

Trwałość roztworów wodnych prednizolonu badano również przy pomocy chromatografii cienkowsarstwowej używając jako adsorbenta żelu krzemionkowego Kieselgel G wg Stahla firmy Merck. Płytki szklane dokładnie umyte i wysuszone w temp. pokojowej powlekano mieszaniną żelu krzemionkowego z wodą w stosunku 1 : 2. Pokryte płytki suszono w temp. pokojowej przez 15 min. i utrwalano przez 1 godz. w suszarce w temp. 105° (7). Następnie nanoszono wyciągi chloroformowe z przygotowanych roztworów wodnych w ilości 8 ml (400 prednizolonu) za pomocą mikropipety w punktach startowych w odległości 1,5 cm od dolnego brzegu tak, aby średnica nanoszonych plam nie przekraczała 5 mm. Po wysuszeniu plam chromatogramy rozwijano w komorze wysyczonej mieszaniną chloroform — etanol 9 : 1 (8). Czas rozwijania wynosił 40 min. Po rozwinięciu chromatogramów płytki suszono w temp. pokojowej przez 10 min., następnie wywoływano 0,5% roztworem waniliny w mieszaninie kwasu siarkowego i alkoholu etylowego 4 : 1 (9), po czym ogrzewano jeszcze kilkanaście minut w temp. 100°. Otrzymane plamy zidentyfikowano i obliczano ich Rf.

Wpływ temperatury oraz obecności powietrza atmosferycznego, azotu i dwutlenku węgla

W celu zbadania wpływu obecności powietrza atmosferycznego, azotu i dwutlenku węgla na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przygotowane 0,01% roztwory dzielono i kolejno ampułkowano w obecności tych gazów. Zawartość substancji czynnej bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania w temp. pokojowej i temp. +60° przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Zawartość prednizolonu w roztworach wodnych ampułkowanych w obecności powietrza atmosferycznego, azotu i dwutlenku węgla bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania w temp. pokojowej i temp. +60°
The contents of prednisolone in aqueous solutions amouled in presence of air, nitrogen and carbon dioxide just after preparation and preservation in room temperature and temp. 60°

Czas przechowywania w dniach	Powietrze		Azot		Dwutlenek węgla	
	temp. pokojowa	temp. +60°	temp. pokojowa	temp. +60°	temp. pokojowa	temp. +60°
	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	0,0	4,0	0,0	0,0	0,0	3,0
11	2,0	6,0	0,0	2,0	1,0	5,0
15	4,0	13,0	1,0	5,0	2,0	9,0
18	6,0	18,0	2,0	8,0	3,0	12,0
25	8,0	25,0	3,0	12,0	5,0	18,0
33	10,0	33,0	5,0	18,0	6,0	25,0
36	11,0	36,0	5,0	20,0	7,0	31,0
44	14,0	44,0	6,0	24,0	8,0	37,0
52	16,0	52,0	7,0	28,0	10,0	45,0
60	18,0	—	8,0	—	11,0	—
67	20,0	—	9,0	—	13,0	—
75	22,0	—	10,0	—	14,0	—
85	26,0	—	12,0	—	16,0	—

— = nie badano.

Z danych tabeli wynika, że obecność powietrza atmosferycznego wpływa niekorzystnie na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przechowywanych w temp. pokojowej i temp. $+60^{\circ}$. Obecność dwutlenku węgla wyraźnie przedłuża trwałość tego związku w tych samych warunkach, a obecność azotu jeszcze bardziej go stabilizuje. Zawarte w tab. 1 wyniki wskazują, że podwyższona temperatura powoduje szybszy rozkład prednizolonu w roztworach wodnych.

Stabilizujący wpływ dwutlenku węgla i azotu na rozkład prednizolonu w roztworach wodnych, stwierdzony metodą kolorymetryczną, potwierdziły nasze badania chromatograficzne. Na chromatogramach badanych roztworów obserwowano początkowo po jednej plamie koloru brązowego o $R_f = 0,48$ zidentyfikowanej na podstawie wzorca jako prednizolon. Po 10 dniach przechowywania w temp. 60° na chromatogramie roztworu tego związku ampulkowanego w obecności azotu obserwowano również jedną plamę zidentyfikowaną jako prednizolon. Natomiast chromatogramy identycznych roztworów ampulkowanych w obecności dwutlenku węgla i powietrza wykazywały oprócz prednizolonu dodatkową plamę barwy szaroniebieskiej o $R_f = 0,82$.

Wpływ przeciwutleniaczy na trwałość prednizolonu

Dla określenia wpływu przeciwutleniaczy na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przygotowano następujące roztwory: 0,2% roztwór pirosiarczynu sodowego, 0,5% roztwór rongalitu i 0,5% roztwór wersenianu sodowego, w których kolejno rozpuszczano po 0,01% prednizolonu. W roztworach tych oznaczano ilościową zawartość substancji czynnej bezpośrednio po przy-

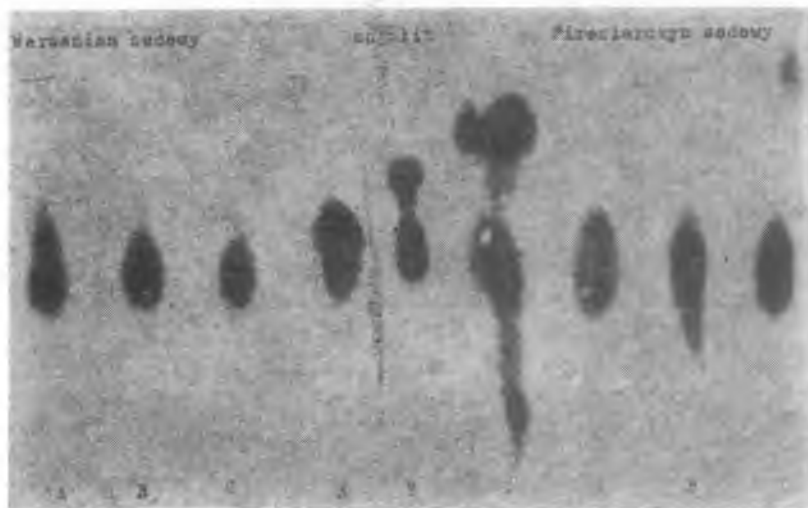
Tab. 2. Zawartość prednizolonu w roztworach wodnych z dodatkiem 0,5% wersenianu sodowego, 0,5% rongalitu i 0,2% pirosiarczynu sodowego bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania w temperaturze pokojowej i temp. $+60^{\circ}$. The contents of prednisolone in aqueous solutions with additions of 0.5% sodium versenate, 0.5% rongolite and 0.2% sodium metabisulphite just after preparation and preservation in room temperature and temp. 60°

Czas przechowywania w dniach	Wersenian sodu		Rongalit		Pirosiarczyn sodu	
	temp. pokojowa	temp. $+60^{\circ}$	temp. pokojowa	temp. $+60^{\circ}$	temp. pokojowa	temp. $+60^{\circ}$
	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
8	0,0	0,0	2,0	3,0	0,0	1,0
11	0,0	0,0	5,0	7,0	1,96	2,94
15	0,0	0,95	8,0	10,0	4,92	6,9
19	0,95	1,89	10,0	14,0	7,85	10,8
21	2,83	4,72	14,0	18,0	10,8	14,71
25	4,72	7,55	17,0	23,0	14,71	18,63
30	6,6	11,32	20,0	28,0	16,67	24,51
33	10,38	14,15	23,0	31,0	17,65	31,38
38	11,32	19,81	26,0	35,0	21,57	37,26
43	13,21	22,64	30,0	40,0	23,53	41,18
47	14,15	24,34	32,0	43,0	25,49	45,10
54	16,98	28,3	37,0	50,0	29,41	51,96
62	18,87	32,08	43,0	54,0	38,24	59,81
81	24,34	42,43	56,0	75,0	44,12	77,45

gotowaniu i po okresie przechowywania w temp. pokojowej i temp. $+60^{\circ}\text{C}$ metodą tetrazoliową. Wyniki przedstawiono w tab. 2. Z tabeli wynika, że spośród przebadanych przeciwutleniaczy wersenian sodu wyraźnie przedłuża trwałość prednizolonu w roztworach wodnych. Wpływ ten jest szczególnie widoczny przy podwyższonej temperaturze przechowywania $+60^{\circ}\text{C}$. Przy tej temperaturze pozostałe przeciwutleniacze wykazały niewielki wpływ na trwałość prednizolonu, a przy temp. pokojowej dodatniego ich wpływu nie obserwowano.

Trwałość prednizolonu w roztworach wodnych z dodatkiem przeciwutleniaczy analizowano metodą chromatograficzną. Bezpośrednio po przygotowaniu na chromatogramach badanych roztworów obserwowano po jednej plamie koloru brązowego o $R_f = 0,48$ zidentyfikowanej na podstawie wzorca jako prednizolon.

Po 10 dniach przechowywania w temp. pokojowej na chromatogramach roztworów wodnych prednizolonu z dodatkiem 0,5% wersenianu sodowego i 0,2% pirosiarczynu sodowego stwierdzono również po jednej plamie o $R_f = 0,48$ zidentyfikowanej jako prednizolon, tylko w roztworze z dodatkiem 0,5% rongalitu obserwowano dodatkową plamę koloru niebieskiego o $R_f = 0,64$. Po tym samym okresie przechowywania w temp. $+60^{\circ}\text{C}$ na chromatogramie roztworu prednizolonu z dodatkiem 0,5% wersenianu sodowego stwierdzono jedną plamę barwy brązowej o $R_f = 0,48$ zidentyfikowanej jako prednizolon, zaś na chromatogramie roztworu z dodatkiem 0,2% pirosiarczynu sodowego dodatkową plamę barwy szaroniebieskiej o $R_f = 0,82$, a na chromatogramie roztworu z dodatkiem 0,5% rongalitu oprócz prednizolonu 3 plamy produktów rozkładu: pierwsza plama barwy pomarańczowej o $R_f = 0,74$, druga plama



Ryc. 1. Chromatogramy roztworów wodnych prednizolonu z dodatkiem: 0,5% wersenianu sodowego, 0,5% rongalitu i 0,2% pirosiarczynu sodowego bezpośrednio po przygotowaniu i po 10 dniach przechowywania w temp. pokojowej i temp. $+60^{\circ}$; A — wzorzec, B — temp. pokojowa, C — temp. $+60^{\circ}$

The chromatograms of aqueous solutions of prednisolone containing: 0,5% sodium versenate, 0,5% rongalite and 0,2% sodium metabisulphite just after preparation and after 10 days preservation in room temperature and temp. $+60^{\circ}$; A — pattern, B — room temperature, C — temp. $+60^{\circ}$

barwy niebieskiej o R_f — 0,64 i trzecia barwy fioletowej o R_f — 0,2, co obrazuje ryc. 1.

Wpływ metali ciężkich na trwałość prednizolonu

Celem określenia wpływu metali ciężkich na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przygotowano kolejno 0,05% roztwór octanu ołowiu, 0,05% roztwór siarczanu miedzi, 0,05% roztwór chlorku wapnia i 0,05% roztwór octanu cynku, w których rozpuszczono po 0,01% prednizolonu. W roztworach tych oznaczono ilościową zawartość substancji czynnej bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania w temp. pokojowej i temp. $+60^\circ\text{C}$. Wyniki przedstawiono w tab. 3. Jak widać, obecność metali ciężkich wpływa niekorzystnie na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przechowywanych w temp. pokojowej i temp. $+60^\circ$. Szczególnie niekorzystny wpływ mają jony miedzi i ołowiu, mniejszy — jony cynku i wapnia. Podwyższona temperatura jeszcze bardziej przyspiesza rozkład prednizolonu w roztworach wodnych z dodatkiem metali ciężkich.

Tab. 3. Zawartość prednizolonu w roztworach wodnych z dodatkiem 0,05% octanu ołowiu, 0,05% siarczanu miedzi, 0,05% chlorku wapnia i 0,05% octanu cynku bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania

The contents of prednisolone in aqueous solutions with addition of 0.05% lead acetate, 0.05% copper sulphate, 0.05% calcium chloride, and zinc acetate 0.05% just after preparation and preservation

Czas przechowywania w godz.	Octan ołowiu		Siarczan miedzi		Chlorek wapnia		Octan cynku	
	temp. pokojowa	temp. $+60^\circ$	temp. pokojowa	temp. $+60^\circ$	temp. pokojowa	temp. $+60^\circ$	temp. pokojowa	temp. $+60^\circ$
	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
12	0,91	7,28	0,88	7,90	0,0	1,77	0,0	1,89
24	0,91	17,28	1,76	15,79	0,0	2,64	0,95	2,83
36	1,82	21,82	2,64	21,93	0,89	4,43	0,95	4,72
49	2,73	30,0	3,52	30,71	0,89	6,20	1,89	6,6
70	3,64	42,73	5,27	45,62	0,89	7,97	1,89	9,44
85	4,55	51,82	6,15	54,39	1,77	8,85	2,83	11,32
100	4,55	60,91	7,03	64,92	1,77	12,39	2,83	14,15
121	5,46	73,64	7,90	78,08	2,66	15,05	3,78	16,98
143	6,37	—	9,65	—	2,66	17,70	4,72	20,76
166	8,19	—	11,41	—	3,54	19,47	5,66	23,59
180	9,10	—	13,16	—	3,54	22,12	5,66	25,48

— = nie badano.

Wpływ pH na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych

Dla zbadania wpływu pH na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przygotowano bufor uniwersalny wg Brittona i Robinsona o pH od 4,0—10,0 (10) o składzie 0,04-m kwas octowy lodowaty, 0,04-m kwas fosforowy 90%, 0,04-m kwas borowy i 0,2-m wodorotlenek sodu w doświadczalnie dobranym stosunku. Bufor ten w zależności od dodanej objętości roztworu wodorotlenku sodu posiada odpowiednie wartości pH. W tak przygotowanych roztworach o pH 4,0, 5,0, 6,0, 8,5, i 10,0 rozpuszczono po 0,01%

Tab. 4. Zawartość prednizolonu w roztworach wodnych buforowanych o pH 4,0—10,0
 The contents of prednisolone in buffered aqueous solutions (pH 4.0—10.0) just after

Czas przechowywania w dniach	pH = 4,0		pH = 5,0	
	temp. pokojowa	temp. +60°	temp. pokojowa	temp. +60°
	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %
0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	2,59	6,0	1,89	4,72
9	5,18	10,35	3,78	8,50
16	9,49	18,11	6,6	15,10
20	11,21	22,49	8,50	18,87
25	14,66	28,45	10,38	23,59
30	17,25	34,49	13,21	29,25
34	19,83	38,80	14,15	33,02
39	23,28	43,97	16,98	37,74
43	25,00	48,28	18,87	41,51
50	29,32	56,90	22,64	48,12
57	33,63	64,66	24,34	55,67
62	36,21	69,83	27,36	60,38
70	41,38	79,31	31,14	67,93
80	47,42	—	35,85	77,36

— = nie badano.

prednizolonu i oznaczano zawartość substancji czynnej bezpośrednio po przygotowaniu i po okresie przechowywania w temp. pokojowej i temp. +60°. Dane przedstawia tab. 4. Z danych tej tabeli wynika, że kwaśne i alkaliczne środowisko wpływa niekorzystnie na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych przechowywanych w temp. pokojowej i temp. +60°, powodując szybki rozkład tego związku. Optymalne pH dla prednizolonu wynosi 6,0.

Wnioski

1. Roztwory wodne prednizolonu ampułkowane w obecności azotu i dwutlenku węgla posiadają większą trwałość aniżeli ampułkowane w obecności powietrza atmosferycznego.

2. Spośród przebadanych przeciwutleniaczy najlepsze działanie stabilizujące wykazuje wersenian sodu.

3. Jony metali ciężkich zwiększają rozkład prednizolonu w roztworach wodnych. Największy rozkład stwierdzono w obecności jonów miedzi, najmniejszy w obecności jonów wapnia.

4. Na trwałość prednizolonu w roztworach wodnych duży wpływ ma pH środowiska. Określone doświadczalnie optymalne pH wynosi 6,0. Zakwaszenie lub zalkalizowanie roztworu powoduje szybki rozkład tego związku.

5. Temperatura +60°C w czasie przechowywania przyspiesza rozkład prednizolonu w roztworach wodnych o różnych pH.

PIŚMIENNICTWO

1. Collard R. E.: *Pharm. J.*, 186, 113—117, 1961.
2. Krówczyński L.: *Farm. Pol.*, 24, 251—260, 1968.
3. Barton D. H. R., Taylor W. C.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 244—245, 1958.
4. Hamlin W. E., Chuiski T., Johnson R. H., Wagner J. G.: *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, Ed. 49, 253—255, 1960.

bezpośrednio po przygotowywaniu i po okresie przechowywania
preparation and preservation

pH = 6,0		pH = 8,5		pH = 10,0	
temp. pokojowa	temp. +60°	temp. pokojowa	temp. +60°	temp. pokojowa	temp. +60°
ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %	ubyt. w %
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	1,67	3,71	7,41	8,50	12,27
0,84	2,50	8,34	12,97	16,04	22,64
0,84	4,17	14,82	22,23	28,31	40,57
1,67	5,84	19,45	27,78	35,85	50,95
1,67	7,50	24,08	34,26	45,29	64,16
2,50	8,34	29,63	40,75	52,84	76,42
2,50	10,0	33,34	46,30	60,38	—
3,34	10,84	37,04	53,71	69,82	—
3,34	12,50	41,67	58,34	77,36	—
4,17	14,17	48,15	67,6	—	—
5,00	16,67	54,63	77,78	—	—
5,00	17,50	59,26	—	—	—
5,84	20,00	67,60	—	—	—
6,67	23,34	76,86	—	—	—

5. Chulski T., Forist A. A.: *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, Ed. 47, 553—555, 1958.
6. Guttman D. E., Meister P. D.: *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, Ed. 47, 773—778, 1958.
7. Smoczkiewiczowa A.: *Metody chromatograficzne w badaniach leków*. PZWL, Warszawa 1965, 28.
8. Schwarz V.: *Pharmazie*, 18, 122—124, 1963.
9. Matthews J. S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 69, 163, 1963, cytuje *Chem. Abstr.* 58, 14043 d, 1963.
10. Szyszko E.: *Instrumentalne metody analityczne* PZWL, 245, Warszawa 1971.

Otrzymano 22 IV 1974.

РЕЗЮМЕ

Исследовано устойчивость преднизолонa в водных растворах в присутствии воздуха, азота и двуокиси углерода. Определено влияние температуры избранных про-
тивоокислителей, тяжелых металлов, и pH на устойчивость этого соединения.

SUMMARY

The stability of prednisolone in aqueous solutions in the presence of air, nitrogen and carbon dioxide was investigated and the effect of temperature, of selected an-
tioxidants, of heavy metals as well as of pH on this compound stability was deter-
mined.

