

STUDIUL CROMATOGRAFIC AL STABILITĂȚII UNOR ANTIBIOTICE ÎN SOLUȚII OFTALMICE VISCOASE

Eva Szánthó, Zamfira Csat-Stinzel, Iolanda Geréd,
Eleonora Kinczel

Într-o lucrare anterioară (1) am arătat modificările survenite în acțiunea unor soluții viscoase oftalmice cu antibiotice (sulfat de neomicină 1 %, cloramfenicol 0,25 % și clorhidrat de tetracilină 1 %) în prezența unor agenți de viscozitate, în concentrații izosmotice (MC 0,5 %, CMCNa 0,25 %, PVP 3,5 %, PVA 3 %, dextran 3 % și alginat de sodiu 0,75 %) prin determinarea acțiunii antimicrobiene a soluțiilor în cursul conservării, rezultate verificate și spectrofotometric (2, 3) prin determinarea cantităților de antibiotice dializate.

În lucrarea de față prezentăm rezultatele cercetărilor noastre cu privire la stabilitatea aceluiași preparate cu metoda cromatografiei în strat subțire.

Material și metodă

Pentru a urmări schimbările survenite în cursul conservării, controlul cromatografic s-a efectuat în diferite perioade ale stocării, aplicînd pe cromatoplăci 20 μ g antibiotic. Evaluările s-au făcut față de martori reprezentați de antibioticul nedescompus (M) și produșii săi de hidroliză (H). Stratul subțire s-a preparat din Silicagel G Merck și apă (10:28), în cazul neomicinei și al cloramfenicolului, respectiv Silicagel G Merck și soluție de EDTA 5 % cu pH 7,5 (10:28) în cazul tetracilinei. Activarea plăcilor s-a efectuat la 105° C timp de 30'.

1. Stabilitatea neomicinei s-a urmărit cu metoda lui Wallhäusser (4) modificată de noi. Solventul de migrare a fost constituit din cloroform-metanol-NH₄OH (2:1:1), iar identificarea spoturilor s-a efectuat cu o soluție de ninhidrină 0,3 % (ninhidrin 0,3 g, acid acetic 3 ml și n-butanol ad 100 ml). Spoturile colorate violaceu apar după o uscare și încălzire în etuvă timp de 20 de minute la 100° C.

2. Dintre metodele cromatografice utilizate pentru identificarea cloramfenicolului (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), am aplicat metoda lui Sahli (13) întrebunțînd ca solvent de migrare amestec de n-butanol-acid acetic-apă (4:1:4) iar ca relevator două soluții folosite consecutiv: I soluție cu clorură de staniu în acid clorhidric (3 ml SnCl₂ 15 % + 15 ml HCl conc. ad 200 ml apă); II soluție 1 % p-dimetilamino-benzaldehidă (1 g p-dimetilamino-benzaldehidă + 20 ml HCl conc. ad. 100 ml apă). Atît după migrare, cît și după relevare, plăcile s-au uscat timp de 10 minute, la o temperatură de 85° C în etuvă, cînd apar spoturi galbene bine conturate.

3. Pentru separarea și identificarea tetraciclinei, am ales dintre metodele citate în literatura de specialitate (14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21) pe cea a lui *Fernandez* (16) folosind ca solvent de migrare acetat de etil-acetonă-apă (10:20:3). Migrarea se efectuează la întuneric (21) și se repetă de 2—3 ori (22). După uscarea și menținerea plăcilor în etuvă timp de 15—20 de minute la 100° C, apar spoturi de un galben slab vizibil cu ochiul liber, care la lumina UV sînt intens galbene, fluorescente, bine conturate în cîmp violet.

Rezultate și discuții

1. Stabilitatea sulfatului de neomicină s-a urmărit numai în prezența a 4 agenți de viscozitate (MC, PVA, PVP, dextran), antibioticul fiind incompatibil cu substanțele macromoleculare anionice (CMCNa, alginat de sodiu). În general s-a dovedit a fi stabil în prezența agenților cercetați. După 3 săptămîni de stocare, pe lângă neomicina cu $R_f = 0,36$ în prezența MC și PVA apare un produs de degradare, neamina cu $R_f = 0,53$ și doi produși de descompunere în prezența PVP și dextran, neamina și neobiozamina cu $R_f = 0,65$. Degradările sînt minime și nu se accentuează nici după 7 săptămîni de stocare (fig. nr. 1. N = neomicină C + B, N₁ = neomicină A (neamina), N₂ = neobiozamină C + B).

		M	H	MC			PVA			PVP			Dextran		
Săpt				1	3	7	1	3	7	1	3	7	1	3	7
N ₂	R _f 0,65														
N ₁	R _f 0,53														
N	R _f 0,36														

Fig. nr. 1

2. În cazul cloramfenicolului, după 7 zile de stocare, în prezența MC apare primul produs de descompunere, aminoalcoolul cu $R_f = 0,58$; după 14 zile intervine și în prezența alginatului de sodiu o descompunere cu două spoturi, aminoalcoolul și p-nitrobenzaldehidă cu $R_f = 0,19$. Cea mai bună stabilitate s-a observat în prezența dextranului, a CMCNa și a PVA (fig. nr. 2. C = cloramfenicol, C₁ = aminoalcool, C₂ = p-nitrobenzaldehidă).

	M	H	MC	CMCNa	PVP	PVA	Dextran	Alg Na
Sept			1 4 8 1	2 1 3 4 2 1			2 1 2 1 2 1	
C ₁ Rf 0,82	●	●	●	● ● ●	● ● ● ● ●	●	● ●	● ● ● ●
C ₂ Rf 0,58		●	● ●		● ● ●		●	● ●
C ₃ Rf 0,19		●	● ●					● ●

Fig. nr. 2

3. Tetraciclina în prezența agenților de vîscozitate suferă deja după 3 zile de la preparare o descompunere accentuată. Pe lângă tetraciclina cu $R_f = 0,35$, din fiecare soluție se poate identifica un spot de descompunere, 4-epitetraciclina cu $R_f = 0,17$. Acest proces se intensifică după 7, respectiv 28 zile de stocare, descompunerea cea mai pronunțată observîndu-se în prezența CMCNa, PVP, PVA, dextran cu trei produși de degradare 4-epitetraciclina cu $R_f = 0,17$, 4-epianhidrotetraciclina cu $R_f = 0,24$ și anhidrotetraciclina cu $R_f = 0,90$. O stabilitate relativ mai bună s-a observat în soluțiile de MC și alginat de sodiu (fig. nr. 3. T = tetraciclina, T₁ = 4-epitetraciclina, T₂ = epianhidrotetraciclina, T₃ = anhidrotetraciclina).

	M	H	MC	CMCNa	PVP	PVA	Dextran	Alg Na
zile			3 7 28 3	3 7 28 3	3 7 28 3	3 7 28 3	3 7 28 3	3 7 28 3
T ₃ Rf 0,90	●							
T ₂ Rf 0,24	●	●	●	●	●	●	●	●
T ₁ Rf 0,17	●	●	●	●	●	●	●	●

Fig. nr. 3

Degradarea se observă și organoleptic, prin schimbarea culorii soluțiilor din galben spre brun, respectiv precipitarea lor.

Concluzii

1. Sulfatul de neomicină s-a dovedit a fi stabil în prezența agenților de vîscozitate utilizați, timp de 7 săptămîni de stocare, cu degradări minime (PVP, dextran).

2. Cloramfenicolul arată cea mai bună stabilitate în soluție viscoasă de dextran, CMCNa și PVA.

3. Tetraciclina suferă deja în primele zile după preparare o descompunere accentuată, urmată de o precipitare și intensificare a culorii de la galben spre brun.

Sosit la redacție: 3 octombrie 1977.

Bibliografie

1. *Adám L., Giurgiu M., Domokos L., Lőrinczi Lenke*: Revista medicală (1977), XXIII, 1, 75; 2. *Vejdělek H.*: Handbuch der Kolorimetrie Band I. 1029, 1969; 3. * * * Norma Internă 4437/72; 4. *Wallhäuser K. H.*: Antibiotica, în *Stahl E.*: Dünnschichtchromatographie. Ed. Springer, Berlin—Heidelberg—New-York, 1967, 541; 5. *Dony M.*: J. Pharm. belg. (1965), 11, 68; 6. *Higucki T., Bias Ch. D.*: J. Amer. pharm. Ass. Sci. (1953), 42, 707; 7. *Higucki T.*: J. Amer. Pharm. Ass. Sci. (1954), 43, 129; 8. *Koltz L.*: Pharm. Zhalle (1963), 3, 243; 9. *Grigorescu E., Verbuță A., Iiduc E.*: Practica farm. (1970), III, 2, 125; 10. *Libosvár I.*: Çs, Farm. (1972), 11, 73; 11. *Rousselet R., Paris R.*: Ann. Pharm. Franç. (1964), 22, 249; 12. *Saba R., Mannier D., Khalil F. R.*: Pharm. Acta. Helv. (1967), 6, 335; 13. *Sahli M., Ziegler H., Oesch M.*: Pharm. Ztg. Verein Apoth. ztg. (1965), 110, 1542; ref. Pharm. Halle. (1967), 105, 6, 319; 14. *Bozzi F., Valdebouze*: J. Chromat. (1972), 72, 426; 15. *Brünzell A.*: Pharm. Ztg. Verein Apoth. Ztg. (1962), 107, 272; 16. *Fernandez A. A., Neceda V. T., Carrera E. S.*: J. Pharm. Sci. (1969), 58, 4, 443; 17. *Hoeck G., Kapétanidis I., Mirimanoff A.*: Pharm. Acta. Helv. (1972), 5, 316; 18. *Kapadia G. I.*: J. Pharm. Sci. (1964), 53, 223; 19. *Lloyd P. B., Cornford C. C.*: J. Chromat. (1970), 53, 403; 20. *Simmons D. L., Coorengel C. K., Rubelka R., Seers P.*: J. Pharm. Sci. (1966), 55, 219; 21. *Senani D., Anker I.*: Pharm. Acta Helv. (1964), 39, 518; 22. *Keiner I., Hüttenrauch R., Poethke W.*: Pharm. Zhalle (1966), 105, 11, 705.

Eva Szánthó, Zamfira Csath-Stíncl, Iolanda Geréd, Eleonora Kinczel

CHROMATOGRAPHIC STUDY ON THE STABILITY OF SOME ANTIBIOTICS IN VISCOUS OPHTHALMIC SOLUTIONS

The authors have examined the stability in time regarding three antibiotics (neomycin sulphate 1%, chloramphenicol 0.25% and tetracycline chlorhydrate 1%) in the presence of some viscosity agents (MC, CMCNa, PCP, PVA, dextran and sodium alginate) through thin-layer chromatography. — 1. Neomycin sulphate proved to be stable in the presence of viscosity agents for 7 weeks with minimal degradations. — 2. Chloramphenicol shows the best stability in viscous dextran, CMCNa and PVA solutions. — 3. Tetracycline underwent marked decomposition in the first days after preparation, which was noted from an organoleptic point of view, too. — 4. The concordance pointed out between the findings from chromatographic control and those related after bacteriological and spectrophotometric check-up confirms the necessity of a proper selection of auxiliary agents added to these antibiotics in ophthalmic solutions.