

STABILIZACE ZBARVENÍ CASTELLANOVA ROZTOKU BEZ FUCHSINU ČL 2002 A KONTROLA JEJÍ ÚČINNOSTI

ŠUBERT J., CIESLAROVÁ M.

Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv

SOUHRN

Stabilizace zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 a kontrola její účinnosti

Edetan disodný v množství nejméně 0,01 % je účinným stabilizátorem nízké úrovně zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002. Spektrofotometrické měření barevnosti a vyčíslení barevných rozdílů ΔE^* v rovnoměrném barevném prostoru CIELAB z transmittance se jeví vhodnou metodou kontroly účinnosti stabilizace zbarvení přípravku.

Klíčová slova: Castellánův roztok bez fuchsinu – stabilizace zbarvení – edetan disodný – CIELAB

Čes. slov. Farm., 2006; 55, p. 29–31

SUMMARY

Stabilization of Colouring of Castellani's Solution without Fuchsin Ph.B. MMII and Control of Its Efficacy

Disodium edetate in an amount of at least 0.01 % is an effective stabilizer of a low level of colouring of Castellani's solution without fuchsin Ph.B. MMII. Spectrophotometric measurement of colouring and expressing in numbers of colour differences ΔE^* in the uniform colour space CIELAB from transmittance seem to be a suitable method of stabilization efficacy control of colouring of the preparation.

Key words: Castellani's solution without fuchsin – stabilization of colouring – disodium edetate – CIELAB

Čes. slov. Farm., 2006; 55, p. 29–31

Má

Castellanův roztok patří ke starším, v léčebné praxi však stále užívaným léčivým přípravkům¹⁻⁵⁾. V České republice⁶⁾ a v SR⁷⁾ je oficiální Castellánův roztok bez fuchsinu.

Přípravek, který je v ČR v současnosti častěji než připravován v lékárnách pouze rozvažován, má být tekutinou téměř bezbarvou až slabě hnědožlutou nebo slabě červenou⁶⁾. Může tedy vykazovat a zpravidla již bezprostředně po výrobě či přípravě v lékárně vykazuje jisté zbarvení, jehož původ je v lékopisem tolerovaném zbarvení roztoků fenolu a resorcinolu, které jsou jeho součástí. Je však známo, že zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 se v rámci jeho doby použitelnosti postupně prohlubuje. Různá intenzita a někdy i odlišný odstín zbarvení může vyvolat a v některých případech i vyvolává již v době výdeje přípravku z lékárny nejen u pacientů pochybnosti o jeho kvalitě. Obdobný problém byl řešen v souvislosti s Castellánovým roztokem bez fuchsinu odlišného složení, neobsahujícího fenol a kyse-

linu boritou a obsahujícího chlorkresol, přidavkem edetanu disodného⁸⁾. Náš příspěvek se zabývá stabilizací nízké intenzity zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsinu ve složení ČL 2002⁶⁾ za použití stejné látky. Ke kontrole účinnosti edetanu disodného jako stabilizátoru bylo použito instrumentální měření barevnosti v kolorimetrické měrné soustavě CIE, které se osvědčilo při řešení různých problémů farmacie a analytické chemie⁹⁻¹¹⁾.

POKUSNÁ ČÁST

Ke stabilizačním pokusům byl použit Castellánův roztok bez fuchsinu ve složení odpovídajícím ČL 2002⁶⁾ z průmyslové produkce (VAKOS XT, Praha, originální balení výrobce po 1000 g, č.š. 221204 a 120305). Edetan disodný dihydrát (dále EDD) p.a. (Penta) byl přidáván 6 týdnů od data výroby přípravku. Části přípravku stabilizované EDD a bez

přidavku stabilizátoru byly rozplněny do úzkohrdých skleněných lékovek z hnědě zbarveného skla o objemu 200 ml uzavřených šroubovacím plastovým uzávěrem s plastovou podložkou. Teplota v průběhu jejich uchovávání a sledování se pohybovala v rozmezí 18–26 °C. Barva přípravku na začátku stabilizačních pokusů a v průběhu dalšího sledování byla hodnocena vizuálně metodou I ČL 2002 s tím, že porovnávací tekutinou byla čištěná voda. Absorpční spektra stabilizovaného a nestabilizovaného Castellanova roztoku bez fuchsinu ve viditelné oblasti (380–770 nm) byla měřena v květách z křemenného skla s tloušťkou absorbující vrstvy 1 cm spektrofotometrem Helios Beta (ThermoSpectronic) v režimu Intelliscan, NORMAL a alternativně v plastových semimikrokvětách fy Brand Plastibrand®, kat. č. 7591 50 (tloušťka absorbující vrstvy 1 cm) proti čištěné vodě. Spektra transmitance pak v režimu COLOUR, 600 nm/min, za jinak stejných podmínek. Z měření transmitance byly vyčíslovány souřadnice L^* , a^* , b^* a z nich barevné rozdíly $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ v jednotkách CIE¹⁰⁻¹²⁾. K přepočtu hodnot transmitance na souřadnice rovnoměrného barevného prostoru CIE L^* , a^* , b^* (dále CIELAB) byl použit program Chroma v 2.0 Colour Measurement, Part No: 9423 UV8 5010 E (ChromSpec s.r.o.). Hodnoty souřadnic L^* , a^* , b^* byly vyčíslovány pro normalizované světlo C, odpovídající průměrnému dennímu světlu a pro zorný úhel 10°. Průměrná relativní směrodatná odchylka jako charakteristika přesnosti¹⁸⁾ určení ΔE^* počítaná z rozpětí ($n=5$ nebo $n=4$) z celkového rozsahu jednotlivých hodnot ΔE^* 0,34–4,5 ve druhém stabilizačním pokusu ($N=90$, z toho 4 hodnoty byly vyloučeny jako odlehlé testem z rozpětí výsledků¹⁸⁾) byla 8,3 %. Mimo rámec stabilizačních pokusů byla za stejných podmínek měřena a dále zpracována spektra transmitance Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 z běžné produkce VAKOS XT, Praha (č.š. 830904 a 431004) a Tamda, Olomouc (č.š. 01020604). Tyto vzorky byly z načatých 1000 g balení přípravku k rozvažování v lékárnách.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Možný mechanismus vzniku a prohlubování zbarvení v přípravcích typu Castellanova roztoku bez fuchsinu a stabilizačního účinku edetanu disodného je diskutován v práci¹³⁾. Zbarvení se v průběhu uchovávání mění a prohlubuje i u Castellanova roztoku bez fuchsinu ve složení podle ČL 2002. Vizuální hodnocení včetně popisu těchto změn použitým lékopisným postupem se však ukázalo vzhledem k nízké úvodní úrovni zbarvení přípravku obtížným až problematickým. Měřením absorpčních spekter dvou šarží Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 6 týdnů od data jejich výroby byla ve viditelné oblasti zjištěna slabá absorpce v oblasti kratších vlnových délek, která od 380 nm k 700 nm dále klesá se zpomalením poklesu v oblasti okolo 470 nm. V průběhu uchovávání a prohlubování zbarvení přípravku se jeho absorpce ve viditelné spektrální oblasti zvyšuje, aniž by absorpční spektrum vykazovalo vyhodnotitelné absorpční maximum či minimum. Jednoznačnějším prostředkem k charakterizaci zbarvení přípravku a jeho změny se proto jeví jeho číselný popis souřadnicemi rovnoměrného barevného prostoru CIELAB a zejména hodnotami barevných rozdílů ΔE^* , které byly již dříve v odlišných kolorimetrických systémech CIE při výpočtu z hodnot transmitance úspěšně použity k řešení jiných problémů farmaceutické analytiky, např.^{14, 15)}. Při instrumentálním měření barevnosti ve stabilitních studiích jde sice o metodu nespécifickou, někdy však citlivější, než HPLC, například¹⁶⁾. Úvodní měření tří různých vzorků Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 pocházejících z lékáren, kam byly dodány z běžné produkce dvou různých výrobců, provedená v době 4,5–8,5 měsíce od data výroby ukázala, že při jejich porovnání s čistou a bezbarvou tekutinou s parametry CIELAB $L^* = 100$, $a^* = b^* = 0$ hodnoty ΔE^* , a tím i vizuální barevné vjemy mohou kolísat v extrémně širokém rozmezí. U sledovaných vzorků bylo 11–109 jednotek CIE (\bar{x} z $n=2$).

V prvním stabilizačním experimentu byly sledovány velikosti barevných změn nestabilizovaného Castellanova roztoku a roztoku stabilizovaného 0,01 % a 0,02 % EDD v průběhu jejich uchovávání po dobu 9 týdnů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1, přičemž hodnoty ΔE^* byly počítány z rozdílu hodnot souřadnic CIELAB získaných aktuálním měřením a měřením výchozího stavu v den zahájení experimentu. Je zřejmé, že již 0,01 % EDD výrazně snižuje nárůst zbarvení přípravku při jeho uchovávání a vykazuje tedy dobrý účinek při stabilizaci nízké úrovně zbarvení přípravku. Překračuje-li hodnota ΔE^* nestabilizovaného přípravku 1,5 jako nejmenší hodnotu barevného rozdílu, kterou je schopno lidské oko rozlišit¹⁷⁾ již v průběhu dvou týdnů, u přípravku stabilizovaného 0,01 % nebo 0,02 % EDD tomu tak nebylo ani po 9 týdnech. Při použití 0,02 % EDD byly hodnoty ΔE^* charakterizující nárůst zbarvení přípravku vesměs menší, než při použití 0,01 % EDD, rozdíly však nebyly výrazné.

Další pokus provedený s jinou šarží přípravku byl zaměřen na zjištění, zda zvyšování obsahu EDD v přípravku nad 0,02 % přináší další zlepšení. K tomu byly porovnávány barevné změny přípravku obsahujícího 0,02 %, 0,03 % a 0,04 % EDD. Výsledky jsou uvedeny v tab. 2. Změny zbarvení (ΔE^*) Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 stabilizovaného 0,02 % – 0,04 % edetanu disodného v průběhu uchovávání –

Další pokus provedený s jinou šarží přípravku byl zaměřen na zjištění, zda zvyšování obsahu EDD v přípravku nad 0,02 % přináší další zlepšení. K tomu byly porovnávány barevné změny přípravku obsahujícího 0,02 %, 0,03 % a 0,04 % EDD. Výsledky jsou uvedeny v tab. 2. Změny zbarvení (ΔE^*) Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 stabilizovaného 0,02 % – 0,04 % edetanu disodného v průběhu uchovávání –

Tab. 1. Změny zbarvení (ΔE^*) nestabilizovaného (N) a edetanem disodným stabilizovaného Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 v průběhu uchovávání

Obsah stabilizátoru v přípravku (%)	ΔE^* CIE (\bar{x} z $n=2$) po 2, 5, 7 a 9 týdnech			
	2	5	7	9
N	1,7	2,4	3,8	4,9
0,01	1,1	0,73	1,1	1,2
0,02	1,0	0,65	0,85	1,3

Tab. 2. Změny zbarvení (ΔE^*) Castellanova roztoku bez fuchsinu ČL 2002 stabilizovaného 0,02 % – 0,04 % edetanu disodného v průběhu uchovávání –

Obsah stabilizátoru v přípravku (%)	ΔE^* CIE (\bar{x} z $n=5$) po 2, 4, 6, 8, 11 a 14 týdnech					
	2	4	6	8	11	14
0,02	0,58	0,54	1,0 ^{a)}	2,0 ^{a)}	2,7 ^{a)}	4,1 ^{a)}
0,03	0,44	0,59	0,97	1,7	2,6	3,9
0,04	0,44	0,53	0,95	1,3	2,5	3,9

^{a)} po vyloučení odlehlého výsledku testem z rozpětí¹⁸⁾ ($\alpha=0,05$) vyčíslen aritmetický průměr z výsledků 4 měření

v tabulce 2, přičemž hodnoty ΔE^* byly opět počítány z rozdílu hodnot souřadnic CIELAB získaných aktuálním měřením a měřením v den zahájení pokusu. Ukazuje, že u této šarže přípravku je nárůst zbarvení rychlejší (pravděpodobný důsledek v tomto pokusu vyšší průměrné teploty v laboratoři při uchovávání vzorků). Hodnota $\Delta E^* = 1,5$ byla překročena při koncentracích EDD 0,02 % a 0,03 % již 8 týdnů po zahájení pokusu, při koncentraci EDD 0,04 % o něco později. Jde však při ní o první vizuálně postřehnutelný barevný rozdíl. Hodnoty barevného rozdílu ΔE^* byly po 8 týdnech uchovávání při obsahu 0,03 %, resp. 0,04 % EDD zřetelně menší, než při obsahu 0,02 % EDD. Pokles průměrné hodnoty ΔE^* zvýšením obsahu EDD z 0,02 % na 0,03 % byl statisticky významný ($\alpha=0,01$, Moorův test¹⁸), podobně jako její další pokles při zvýšení obsahu EDD z 0,03 na 0,04 % ($\alpha=0,01$, Lordův test¹⁸). Rozdíly získané s větším časovým odstupem ale nebyly stejně přesvědčivé. Po 11 týdnech byl statisticky významný ($\alpha=0,01$, Moorův test) pouze pokles průměrné hodnoty ΔE^* při zvýšení obsahu EDD z 0,02 na 0,04 %, po 14 týdnech při zvýšení obsahu EDD z 0,02 na 0,03 % ($\alpha=0,05$) a z 0,02 na 0,04 % ($\alpha=0,01$). Z těchto výsledků lze soudit, že stabilizační účinek 0,02–0,04 % EDD se v rámci sledované doby uchovávání přípravku výrazně neliší, vyšší obsah EDD však působil příznivě. Vzhledem k průměrné hodnotě odhadu relativní směrodatné odchylky určení ΔE^* byla provedena kontrola těchto výsledků s využitím hodnot Δb^* jako rozdílu hodnot souřadnice b^* rovnoměrného barevného prostoru CIELAB, jejíž hodnoty se v průběhu sledování výrazněji měnily a průměrná relativní směrodatná odchylka jejího měření počítaná z rozpětí výsledků ve druhém stabilizačním pokusu byla pouze 0,85 % (což je charakteristika přesnosti podstatně příznivější než byla zjištěna z hodnot ΔE^*), závěry z nich však nebyly odlišné. Je tedy zřejmé, že EDD obsažený v množství nejméně 0,01 % se jeví účinným stabilizátorem nízké úrovně zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsínu ve složení podle ČL 2002 a instrumentální měření barevnosti založené na měření transmitance roztoku a jejím přepočtu na souřadnice rovnoměrného barevného prostoru CIELAB následované vyčíslením barevných rozdílů ΔE^* je vhodnou metodou kontroly účinnosti stabilizace nízké úrovně zbarvení přípravku.

LITERATURA

1. British Pharmaceutical Codex 1973, London, The Pharmaceutical Press, 1973, s. 766.
2. The United States Pharmacopeia (USP 28) – The National Formulary (NF 23), Rockville, The United States Pharmacopeial Convention, 2004, s. 349.
3. Magenta paint (Castellani's paint). Dostupné na: <http://www.edae.gr/formulary.html>, 20.7.2005.
4. PharmWebEGYPT.com: Castellani's Paint. Dostupné na: http://pharmwebegypt.com/serv_Dispensing.asp 8. 11. Paints, 20.7.2005.
5. The South Africa Medicines Formulary: ANTISEPTIC AND DISINFECTANTS, Castellani's Paint. Dostupné na: <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/jmoodie/d08html.html>, 20.7.2005.
6. Český lékopis 2002, 5. díl, Praha, Grada Publishing, 2002, s. 5615.
7. Slovenský farmaceutický kódex, Vydanie prvé, Bratislava, Herba, 1997, s. 309.
8. Deutscher Arzneimittel-Codex / Neues Rezeptur-Formularium, 5. Ergänzung 1988, články Castellanishe Lösung a Farblose Castellanishe Lösung, Eschborn, Govi-Verlag, Stuttgart, Deutscher Apotheker-Verlag.
9. Šubert, J. et al.: Českoslov. Farm., 1978; 27, 152-160.
10. Hunter, R. S.: Pharm. Technol., 1981; 5 (3), 63-67.
11. Krishna Prasad, K. M. M. et al.: Talanta, 1996; 43, 1187-1206.
12. The United States Pharmacopeia (USP 28) – The National Formulary (NF 23), Rockville, The United States Pharmacopeial Convention, 2004, s. 2616-2618.
13. Miethke, T.: Krankenhauspharmazie, 1990; 11, 151-153.
14. Křepinský, J., Stiborová, J.: Českoslov. Farm., 1968; 17, 143-149, 190-193, 235-240, 287-289, 349-352.
15. Šubert, J., Čižmárik, J.: Českoslov. Farm., 1976; 25, 161-164.
16. Shephard, A. B. et al.: Talanta, 1999; 48, 585-593.
17. Stark, G. et al.: Int. J. Pharm., 1996; 143, 93-100.
18. Eckschlager, K. et al.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL, 1980, 223 s.

Došlo 12. 8. 2005.

Přijato ke zveřejnění 20. 10. 2005.

prof. RNDr. Jan Šubert, CSc.
Palackého 1/3, 612 42 Brno
e-mail: subertj@vfu.cz

ZPRÁVY

● Český lékař mezi světovými špičkami

Na slavnostním zasedání Světové lékařské asociace v Santiagu de Chile byla ve druhé polovině října inagurována exkluzivní kniha nejvýznamnějších lékařů světa.

Mezi 65 lékaři je zařazen i český lékař – prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, předseda České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. V knize je uveden jeho životopis a zmíněn přínos pro světovou medicínu.

(pol)