

Arch. Pharm. (Weinheim) 315, 614–619 (1982)

Untersuchung der Stabilität von Nystatin und Natamycin mit Hilfe der UV-Spektrophotometrie

Jozeffna Ružičková und Vojtech Parrák^{*)**})

Staatliches Institut für Arzneimittelkontrolle, Kvetná 11, 898 05 Bratislava, ČSSR
Eingegangen am 10. August 1981

Die vorgelegte Arbeit befaßt sich mit einer physikochemischen Studie und mit der Prüfung der Stabilität von Nystatin und Natamycin in Substanz und in Arzneiformen.

Determination of the Stability of Nystatin und Natamycin by UV Spectrophotometry

A physico-chemical study and the determination of the stability of Nystatin and Natamycin as such and in selected dosage forms are described.

Nystatin und Natamycin sind in der Therapie häufig angewandte Antibiotika mit fungistatischer Wirkung. Es sind makrozyklische Laktone amphoterer Charakters, charakterisiert durch die Anzahl der Doppelbindungen. Sie zeigen daher im UV-Bereich charakteristische Maxima. Nystatin bei den Wellenlängen 230 nm, 291 nm, 305 nm und 319 nm, Natamycin bei 291 nm, 303 nm und 318,5 nm (± 2 nm).

In zahlreichen Arzneibüchern werden die Messung des Absorptionsspektrums und die Verhältnisswerte von Absorptionen der charakteristischen Banden als Identitätsprüfung angegeben. Zur Herstellung von Lösungen werden verschiedene Lösungsmittel verwendet. Nach den Literaturangaben sind die erwähnten Stoffe instabil, gegen Licht, Wärme, gegen pH-Veränderungen empfindlich und unterliegen einer Oxidation durch Einwirkung des Luftsauerstoffes. Sie sind in Wasser und in den üblichen Lösungsmitteln praktisch unlöslich, lösen sich in Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid und in angesäuerten oder alkalischen Methanol-Lösungen^{1,2,3,4,5,6,7,8}).

Mit Hilfe der UV-Spektrophotometrie wurde der Einfluß von Lösungsmitteln auf die Absorptionen der charakteristischen Nystatin- und Natamycin-Banden, wie auch auf die Verhältnisse in den Absorptionsmaxima in Zeitabhängigkeit verfolgt. In den angewandten Lösungen erfolgte bei Nystatin nach 24 Std. ein Abfall der Absorptionswerte um 7 bis 8,5 %. Die Werte der Absorption von Natamycin in denselben Lösungen veränderten sich nach 24 Std. nicht wesentlich, woraus hervorgeht, daß Natamycin stabiler ist. Die Verhältnisswerte der Absorptionen der charakteristischen Banden veränderten sich in den Lösungen nach 24 Std. nicht.

Weiterhin wurde die Stabilität von Nystatin und Natamycin in Substanz und in ausgewählten Arzneiformen unter nachgeahmten (beschleunigten) klimatischen Bedingungen verfolgt. Der Versuch erstreckte sich auf 70 Tage (Substanzen) bis 3 Monate (Arzneiformen).

Die unter diesen Aufbewahrungsbedingungen gewonnenen experimentellen Ergebnisse bestätigen, daß Natamycin stabiler ist.

^{**) Herrn Prof. Dr. H. Oelschläger zum 60. Geburtstag gewidmet.}

Durchführung der Untersuchungen und Ergebnisse

0,050 g Nystatin und 0,050 g Natamycin wurden: – in der Mischung aus 5 ml Essigsäure und 45 ml Methanol gelöst und mit Methanol zu 100,0 ml aufgefüllt (Lösung A),
– in 5 ml Dimethylsulfoxid gelöst und mit Methanol zu 100,0 ml aufgefüllt (Lösung B).

Die Lösungen A und B wurden mit Methanol verdünnt und Spektren am Perkin-Elmer UV-VIS Double Beam Spectrophotometer Modell 200-20, im Bereich von 330 nm bis 230 nm, Schichtdicke 1 cm, gegen Blindversuch aufgenommen. Die Ergebnisse sind in den Tab. 1–5 angegeben.

Neben der Beobachtung, wie die Absorptionen durch die angewandten Lösungsmittel beeinflusst werden, wurde festgestellt, daß der Unterschied in den Absorptionen der Nystatin-Banden, nach dem Lösen in saurem Milieu und Dimethylsulfoxid, nicht bedeutend ist, Tab. 1

Tab. 1: Einfluß der Lösungsmittel (Essigsäure und Methanol – Lösung A, Dimethylsulfoxid und Methanol – Lösung B) auf die Absorptionen der Nystatin-Banden

Lösung A mg/100 ml	A bei λ_{\max}		
	291 nm	305 nm	319 nm
0,50	0,278	0,414	0,373
0,75	0,417	0,636	0,566
1,00	0,560	0,840	0,780
1,50	0,846	1,558 x	1,294 x

Lösung B mg/100 ml	A bei λ_{\max}		
	291 nm	305 nm	319 nm
0,50	0,272	0,425	0,380
0,75	0,416	0,633	0,580
1,00	0,571	0,850	0,790
1,50	0,848	1,700 x	1,353 x

x) Bei Anwendung der Konz. 1,5 mg Nystatin in 100 ml wurde eine lineare Abhängigkeit der Banden bei 305 nm und 319 nm nicht mehr beobachtet.

In den unterschiedlich hergestellten Lösungen bewegte sich der Wert für A_{291}/A_{305} zwischen 0,640 bis 0,671 und für A_{319}/A_{305} zwischen 0,889 bis 0,929, d. h. in den von Arzneibüchern angegebenen Grenzen^{1,2,3}. Tab. 2.

Außerhalb der Grenzen sind die Verhältniszerte der Absorptionen, wenn diese der linearen Abhängigkeit nicht mehr entsprechen.

Beim Verfolgen der Beständigkeit von Nystatin wurde weiterhin beobachtet, daß sich die Absorptionen aller Banden proportional mit der Aufbewahrungszeit verminderten, wobei in den Lösungen, die mit Zusatz von Essigsäure hergestellt wurden, ein höherer Abfall des Antibiotika-Gehaltes wahrgenommen werden konnte. Tab. 3. Es ist interessant, daß die Werte von A_{291}/A_{305} und A_{319}/A_{305} das festgelegte Limit von 0,61 bis 0,73 und 0,83 bis 0,96 nicht einmal nach 24 Std. überschreiten^{1,2,3}.

Tab. 2: Verhältniswerte der Absorptionen von Nystatin-Banden in den Lösungen A und B

mg/100 ml	Lösung A		mg/100 ml	Lösung B	
	$A_{291 \text{ nm}}$	$A_{319 \text{ nm}}$		$A_{291 \text{ nm}}$	$A_{319 \text{ nm}}$
	$A_{305 \text{ nm}}$	$A_{305 \text{ nm}}$		$A_{305 \text{ nm}}$	$A_{305 \text{ nm}}$
0,50	0,671	0,900	0,50	0,640	0,894
0,75	0,655	0,889	0,75	0,657	0,916
1,00	0,666	0,928	1,00	0,671	0,929
1,50	0,543	0,830	1,50	0,528	0,796

$$\frac{\text{Sollwert } A_{291 \text{ nm}}}{A_{305 \text{ nm}}} = 0,61 \text{ bis } 0,73$$

$$\frac{\text{Sollwert } A_{319 \text{ nm}}}{A_{305 \text{ nm}}} = 0,83 \text{ bis } 0,96$$

Tab. 3: Absorptions-Veränderungen der Nystatin-Banden in den Lösungen A und B in Zeitabhängigkeit für die Konzentration des Nystatins 1,0 mg in 100 ml Lösung

Lösung A			
Zeitabstand der Messung (h)	A bei λ_{max}		
	291 nm	305 nm	319 nm
sofort	0,560	0,840	0,780
1	0,545	0,828	0,772
2	0,550	0,830	0,775
4	0,538	0,810	0,756
24	0,520	0,770 (- 8,34 %)	0,712

Lösung B			
Zeitabstand der Messung (h)	A bei λ_{max}		
	291 nm	305 nm	319 nm
sofort	0,571	0,850	0,790
1	0,570	0,860	0,780
2	0,560	0,844	0,782
4	0,552	0,820	0,774
24	0,536	0,788 (- 7,30 %)	0,730

Bei der spektralphotometrischen Studie des Natamycins in den Lösungen A und B (s. Tab. 4 und 5) wurde, im Gegensatz zu den Nystatin-Lösungen, nicht einmal nach 24 Std. eine Veränderung der Absorptionen beobachtet. Ein geringer Abfall der Absorption ($\sim 0,1$ A) erfolgte in den durch das Lösen des Natamycins in Dimethylsulfoxid und Methanol hergestellten Natamycin-Lösungen (Lösung B).

Tab. 4: Einfluß der Lösungsmittel (Essigsäure und Methanol – Lösung A, Dimethylsulfoxid und Methanol – Lösung B) auf die Absorptionen der Natamycin-Banden

Lösung A mg/100 ml	A bei λ_{\max}		
	291 nm	305 nm	318,5 nm
0,25	0,180	0,294	0,253
0,50	0,372	0,598	0,530
0,75	0,570	0,596	0,835
Lösung B mg/100 ml	A bei λ_{\max}		
	291 nm	305 nm	318,5 nm
0,25	0,180	0,290	0,260
0,50	0,390	0,616	0,550
0,75	0,576	0,697	0,852

Tab. 5: Absorptions-Veränderungen der Natamycin-Banden in den Lösungen A und B in Zeitabhängigkeit für die Konzentration des Natamycins 0,5 mg in 100 ml Lösung

Zeitabstand der Messung (h)	Lösung A		
	A bei λ_{\max}		
	291 nm	303 nm	318,5 nm
sofort	0,372	0,598	0,530
1	0,380	0,599	0,539
2	0,378	0,596	0,531
4	0,376	0,597	0,533
24	0,372	0,595	0,530
Zeitabstand der Messung (h)	Lösung B		
	A bei λ_{\max}		
	291 nm	303 nm	318,5 nm
sofort	0,390	0,616	0,550
1	0,384	0,609	0,549
2	0,384	0,616	0,548
4	0,382	0,609	0,539
24	0,380	0,604	0,533

Beim Verfolgen der Stabilität unter nachgeahmten (beschleunigten) klimatischen Bedingungen gemäß der Tschechoslowakischen Staatlichen Norm – ČSN 86 2002⁹⁾ wurde die Nystatin- und Natamycin-Substanz in verschlossenen Gefäßen und die Arzneifertigwaren mit Nystatin-Gehalt:

Fungicidin-Drageés, Fungicidin Vaginaltabletten und mit Natamycin-Gehalt: Pimafucin-Drageés, Pimafucin Vaginaltabletten in Originalverpackungen im Klimaprüfschrank Feutron bei relativer Luftfeuchtigkeit von 75 % und abwechselnd in 24-Std. Zyklen bei einer Temp. von 25° und 40° aufbewahrt. Der Versuch erstreckte sich auf 70 Tage (Substanzen) bis 3 Monate (Arzneifertigwaren). Zur Berechnung des Antibiotika-Gehalts wurde die Absorption der mittleren Bande (λ_{\max} 305 nm, resp. 303 nm) herangezogen. Als Vergleichsstandards dienten die gleichen Chargen der im Kühlschrank bei 5° aufbewahrten Substanzen und dieselben Chargen der in Originalverpackungen bei Raumtemp. aufbewahrten Arzneifertigwaren. Der Wirkstoff wurde in Dimethylsulfoxid gelöst und zur Verdünnung und Herstellung der Lösungen Methanol verwendet.

Nach 10-wöchiger Aufbewahrung konnte festgestellt werden:

1. Nystatin färbte sich intensiver gelb bzw. gelborange. Die Farbe von Natamycin veränderte sich nur geringfügig.

2. Masse-Veränderung; bei Nystatin um + 4,20 %, bei Natamycin um + 0,2 %. Im weiteren Verlauf der Aufbewahrung veränderte sich die Masse geringfügig.

3. Während der ersten 10 d erfolgte ein Abfall des Nystatingehalts um 5 %, nach 30 d um 15 %, nach 70 d um 17 % und unter den angegebenen Bedingungen ein Abfall des Natamycingehalts um 4 % (spektralphotometrische Bestimmung).

4. Die Verhältniswerte der Absorptionen von Nystatin und auch Natamycin bewegten sich zwischen 0,61 bis 0,73 für $A_{291\text{nm}} / A_{305, \text{ resp. } 303 \text{ nm}}$ und zwischen 0,83 bis 0,96 für $A_{319, \text{ bzw. } 318,5 \text{ nm}} / A_{305, \text{ bzw. } 303 \text{ nm}}$.

Die Veränderung des Wirkstoffgehalts in den im Verlauf von 3 Monaten unter den angegebenen Bedingungen aufbewahrten Arzneifertigwaren ist in Tab. 6 dargestellt.

Tab. 6: Veränderung des Wirkstoffgehalts

Arzneimittel	Wirkstoffgehalt			
	Zu Beginn des Versuches	Nach 1 Monat	Nach 2 Monaten	Nach 3 Monaten
Fungicidin Drageés	100,0	98,2	98,1	97,0
Pimafucin Drageés	100,0	98,8	99,0	99,0
Fungicidin Vaginaltabletten	100,0	96,0	91,0	88,0
Pimafucin Vaginaltabletten	100,0	98,6	98,2	97,4

Daraus geht hervor, daß im Präparat Fungicidin Vaginaltabletten spektralphotometrisch die bedeutendste Veränderung im Wirkstoffgehalt ermittelt wurde. Das Verpackungsmaterial veränderte sich im Verlauf der 3 Monate nicht. Fungicidin und Pimafucin-Vaginaltabletten wurden bröcklig, Fungicidin-Drageés matt.

Literatur

- 1 Brit. 1973.
- 2 2. AB DDR.
- 3 Ph. Hung. VI.
- 4 Brit. 1973, Add. 1977.
- 5 Martindale Extra Ph. 27th Ed. 1978.
- 6 A. H. Thomas, *Analyst*. (London) 101, 321, 1202 (1976).
- 7 M. Heřmanský, *Cesk. Farm.* 14, 329 (1965).
- 8 V. Parrák, E. Radějová und J. Ružičková: „Ein Beitrag zur Beurteilung der Stabilität mancher Arzneimittelgruppen“; vorgetragen auf der bilateralen Konferenz der Pharmazeutischen Gesellschaften der DDR und ČSSR „Analytisches Studium der Arzneimittelstabilität“, Mai 1979, in der Hohen Tatra, ČSSR.
- 9 ČSN 86 2002, Vydavatelství ÚNM, Praha 1973.

[Ph 475]

Arch. Pharm. (Weinheim) 315, 619–630 (1982)

Über Mannichbasen, 19. Mitt.¹⁾**Mannich-Reaktionen mit 1-Naphthol und primären Aminen**

Hans Möhrle* und Kristina Tröster

Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf, Universitätsstr. 1,
4000 Düsseldorf 1

Eingegangen am 11. August 1981

Primäre Amine ergeben unter konventionellen „*Mannich*-Bedingungen“ mit 1-Naphthol selten einheitliche Produkte und die Hydrochloride führen z. T. zu methylenverknüpften Derivaten.

Dagegen lassen sich aus Azomethinen der tert.-Alkylamine gezielt mono- und disubstituierte *Mannich*basen darstellen. Hexahydro-s-triazine einfacher primärer Amine liefern in guten Ausbeuten Mono-*Mannich*basen.

Mannich Bases, XIX: Mannich Reactions with 1-Naphthol and Primary Amines

Under conventional *Mannich* conditions primary amines rarely react with 1-naphthol to yield uniform products. The hydrochlorides partly give methylene linked derivatives. However, mono- and disubstituted *Mannich* bases are formed from azomethines of tert.-alkylamines. Hexahydrotriazines of simple primary amines yield mono-*Mannich* bases in good yields.

Für die Klärung der Struktur des Produkts aus der Reaktion von 1-Naphthol mit Hexamethylenetetramin nach *Duff* und *Bills*²⁾ schienen Modellversuche mit primären Aminen geeignet. Im Vergleich zu sekundären Aminen¹⁾ ergeben sich dadurch zusätzliche Angriffspunkte, die den Reaktionsablauf weiter differenzieren können.