

Zuurstof meten en verwijderen bij parenterale apotheekbereidingen

## Meer stabiliteit door minder oxidatie

C.W. Swart

Apotheek Haagse Ziekenhuizen

O.S.N.M. Smeets

WINAp-LNA, Den Haag

P.P.H. Le Brun

Apotheek Haagse Ziekenhuizen

*Bij ontleding door oxidatie speelt zuurstof in de oplossing of uit de lucht een belangrijke rol. Verwijdering van opgeloste zuurstof en het tegengaan van opname uit de lucht bieden dan ook goede perspectieven voor een betere houdbaarheid. Voor het meten van het zuurstofgehalte wordt een zuurstofmeter gebruikt.*

Tijdens het bewaren van geneesmiddelen kunnen veranderingen optreden die resulteren in een aanzienlijke gehaltevermindering, vorming van toxische ontledingsproducten, onacceptabel uiterlijk of bederf. De meest voorkomende ontledingsreacties zijn hydrolyse en oxidatie. In apotheekbereidingen gaat het bij oxidaties meestal om reacties met in water opgeloste zuurstof en zuurstof uit de lucht. Hoe snel een oxidatiereactie verloopt is, in tegenstelling tot hydrolyse, moeilijk te voorspellen omdat de snelheid en de mate van zuurstofaanvoer niet voorspelbaar zijn [1].

Vaak worden antioxidantia en/of complexvormers aan de oplossing toegevoegd om het geneesmiddel te beschermen [1]. De effectiefste manier om oxidatie te

voorkomen is het verwijderen van zuurstof uit de oplossing door doorleiding van een inert gas en vermindering van heropname van zuurstof. →

### Kernpunten

- Vanwege de stabiliteit is zuurstofverwijdering bij de bereiding van parenterale preparaten soms noodzakelijk.
- Het al dan niet zuurstofvrij maken moet een vast aandachtspunt zijn in het kader van de ontwerp kwaliteit.
- Zuurstofmeters zijn belangrijk bij de controle van de zuurstofconcentratie.
- De gevoeligheid van de zuurstofmeter is een aandachtspunt bij aanschaf.

## Antioxidantia en complexvormers

Bescherming van het product door een antioxidans berust op een van de volgende principes:

- de standaardredoxpotentiaal van het antioxidans is lager dan die van het geneesmiddel, daardoor wordt eerst het antioxidans geoxideerd;
- het toegevoegde antioxidans reduceert het geoxideerde geneesmiddel;
- door toevoeging van het antioxidans wordt het oxidatieproces gestopt, doordat het antioxidans elektronen en waterstofionen levert die door vrije radicalen worden opgenomen.

Een algemeen nadeel van antioxidantia is dat sommige geneesmiddelen zelf een dermate lage standaardredoxpotentiaal hebben, dat ze niet met gebruikelijke antioxidantia beschermd kunnen worden.

Van het veel gebruikte natriummetabisulfiet (natriumpyrosulfiet) is overgevoeligheid bekend; bij circa 10% van de patiënten die inhalatiepreparaten gebruiken, wordt overgevoeligheid gemeld. Verder reageert natriummetabisulfiet met een aantal geneesmiddelen, waaronder prednisolondinatriumfosfaat en adrenalinetartraat, waardoor de werkzaamheid van het product verlaagd wordt. Ook is bekend dat natriummetabisulfiet reageert onder vorming van sulfaat waardoor de pH van de oplossing daalt [1].

Bescherming door complexvormers berust op het principe dat zware metalen zoals ijzer of koper, die veelal oxidatiereacties katalyseren, worden gebonden aan de complexvormer en niet meer vrij in oplossing zijn. Voorbeelden van complexvormers zijn dinatriumedetaat en citroenzuur.

Gezien de nadelen van het gebruik van natriummetabisulfiet en het feit dat het toevoegen van alleen een complexvormer niet voldoende is om het geneesmiddel tegen oxidatie te beschermen, is het in veel gevallen beter de oplossing zuurstofvrij te maken.

## Zuurstofvrij maken

Stikstof is het meest gebruikte gas om een oplossing zuurstofvrij te maken. De effectiviteit ervan hangt onder andere af van de wijze van doorleiden, de gasdruk, de vorm van het vat, het volume enzovoort. Uit onderzoek blijkt dat de beste en snelste resultaten worden behaald wanneer [2, 3]:

- stikstof wordt doorgeleid met een zogenaamd bruissteentje, van onder uit het bereidingsvat;
- het contactoppervlak tussen de oplossing en de lucht zo klein mogelijk is, waarbij bij voorkeur geen cilindrische vaten maar nauwmondse erlenmeyers of maatkolven gebruikt worden;
- het bereidingsvat zoveel mogelijk wordt afgedekt.

Om te bepalen hoe lang een inert gas moet worden doorgeleid en wat de restzuurstofconcentratie na een bepaalde tijd is, wordt gebruikgemaakt van een zuurstofmeter. In de Apotheek Haagse Ziekenhuizen is de Hanna Instruments 9142 zuurstofmeter van Zeta Engineering in gebruik. Deze meter wordt hier als voorbeeld besproken.

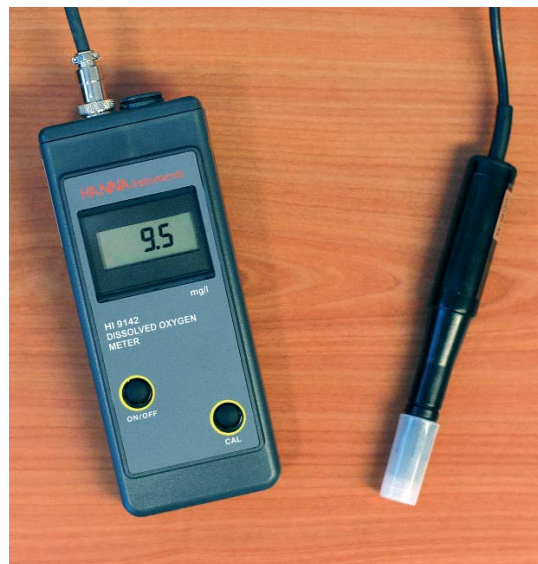
## Werking zuurstofmeter

De zuurstofmeter is wat uiterlijk en afmetingen betreft te vergelijken met een portable pH-meter [figuur 1]. De elektrode bestaat uit een zilveren anode en een platina kathode. De anode en de kathode worden beschermd door een kunststof kap die gevuld is met een kaliumchlorideoplossing. Deze elektrolytoplossing zorgt voor elektrochemisch contact tussen anode en

*Het toevoegen van  
alleen een complexvormer is niet  
voldoende om het geneesmiddel te beschermen*

Figuur 1

DE HI 9142 PORTABLE ZUURSTOFMETER



kathode. De kap bevat verder een Teflon-membraan dat alleen permeabel is voor gassen; zuurstof kan vanuit de oplossing de elektrode in maar andere componenten van de oplossing kunnen dat niet.

Door over de elektrode een spanning te zetten wordt zuurstof aan de kathode gereduceerd tot water en wordt zilverchloride gevormd aan de anode. Deze reacties veroorzaken een stroom die groter is naarmate de zuurstofconcentratie van de te meten oplossing hoger is (volgens de wet van Faraday). De range waarbinnen gemeten kan worden is 0,0-19,9 ppm.

De eigenschappen van het membraan zijn bepalend voor de hoeveelheid zuurstof die bij de kathode komt. Het membraan is daarmee van invloed op de gevoeligheid, de responsnelheid en zelfs de lineariteit van de elektrode. Teflon geeft een snelle respons maar is gevoelig voor het grenslaageffect dat optreedt bij het niet of niet goed roeren van de oplossing.

De meeste zuurstofmeters hebben een temperatuursensor en corrigeren daarmee automatisch voor het feit dat de oplosbaarheid van zuurstof in water afhankelijk is van de temperatuur.

## Grenslaageffect

In een geroerde oplossing vindt transport van zuurstof op twee manieren plaats: convectie en diffusie. Bij *convectie* wordt zuurstof middels een mechanisch proces door de bulk van de oplossing verplaatst. Hierbij is het roeren van de oplossing de belangrijkste methode om een homogene samenstelling van de oplossing te handhaven

Transport door *diffusie* vindt plaats in de grenslaag, een dunne vloeistoffilm om de elektrode, onder invloed van een concentratiegradiënt. Zuurstof verplaatst zich van een gebied met een hoge concentratie naar een gebied met een lage concentratie. De dikte van de grenslaag hangt onder andere af van de manier van roeren en de roersnelheid. Door harder te roeren wordt de grenslaag dunner en ligt de gemeten zuurstofconcentratie dichterbij de werkelijke concentratie in de bulk van de oplossing. Te hard roeren geeft turbulentie, waardoor de grenslaag geen constante dikte heeft; dit benadeelt de meting. Meestal is de film dunner en minder aan veranderingen onderhevig als de elektrode zelf in de oplossing roteert dan wanneer de oplossing met een roervlo langs een stilstaande elektrode wordt bewogen. Wanneer niet wordt geroerd, neemt de dikte van de film en daarmee het concentratieverschil toe.

Men neemt aan dat tijdens het roeren een dun vloeistoflaagje als een film om de elektrode blijft zitten. In dit laagje vindt geen transport door convectie plaats. De dikte van de film hangt af van de configuratie van het vat en de elektrode en ook van de manier van roeren en de roersnelheid. Als de roersnelheid toeneemt, neemt de dikte van de film af en komt de gemeten concentratie steeds dichterbij de werkelijke concentratie in de bulk van de oplossing. Meestal is de film dunner en minder aan veranderingen onderhevig als de elektrode zelf in de oplossing roteert dan wanneer de oplossing met een roervlo langs een stilstaande elektrode wordt bewogen. Wanneer niet wordt geroerd, neemt de dikte van de film toe. Het is belangrijk dat de dikte van de film constant is tijdens de meting; daarom moet turbulentie door te hard roeren voorkomen worden.

## Kalibratie

De zuurstofmeter dient voor gebruik op twee punten gekalibreerd te worden. Voor kalibratie van het nulpunt wordt door de leverancier van de meter een zuurstofvrije natriumsulfietoplossing meegeleverd. Voor de kalibratie van het tweede punt zijn verschillende methoden bekend, waaronder instelling op 100% in lucht of met lucht verzadigd water, of vaststelling dat de aflezing in lucht een bepaald aantal ppm is.

Volgens de informatie van de leverancier is het belangrijk bij de kalibratie te corrigeren voor de zoutconcentratie van de te meten oplossing. De oplosbaarheid van zuurstof in water is immers omgekeerd evenredig met de zoutconcentratie. Het is echter niet duidelijk of ook gecorrigeerd moet worden voor zoutvormen van geneesmiddelen of, zoals de leverancier beweert, alleen voor natriumchloride. Correctie vindt plaats door de 100%-kalibratie voor elke gram zout per liter met 0,5% te verminderen; voor een 0,9% natriumchlorideoplossing zou 95,5% ingesteld moeten worden.

Een praktisch bezwaar hierbij is dat bij de kalibratie geen decimalen ingesteld kunnen worden.

## Nulstroom

Wanneer de meter 0 ppm zuurstof aangeeft, betekent dat dat de nulstroom verwaarloosbaar klein is ten opzichte van de stroom bij relevante concentraties. Meestal komt deze stroom overeen met 0,01-1% van de stroom die is veroorzaakt door met zuurstof verzadigd water [Productinformatie Hanna Instruments]. In apotheekbereidingen zijn de relevante concentraties echter veel lager dan in andere vakgebieden waar de

---

*Wanneer niet wordt geroerd, neemt de dikte van de film en daarmee het concentratieverschil toe*

---

zuurstofmeter gebruikt wordt, zoals viskwekerijen of milieumetingen. De grootte van de stroom bij 0 ppm is daarom bij gebruik van een zuurstofmeter in de apotheek een punt van aandacht.

## Meting

De elektrode is alleen geschikt voor nog uit te vullen oplossingen; in een ampul of een injectieflacon kan niet gemeten worden omdat de elektrode hiervoor te groot is. De elektrode kan als inert beschouwd worden; een zuurstofmeting kan daarom direct in het bereidingsvat plaatsvinden, maar de elektrode moet dan wel goed schoon zijn.

Tijdens de meting dient de toevoer van het inerte gas (tijdelijk) gestopt te worden, omdat het gas turbulentie in de oplossing veroorzaakt en er gasbellen op het membraan van de zuurstofmeter gevormd worden. Continue meting is daarom niet mogelijk.

## FNA-parenteralia

Op verzoek van de NVZA heeft het WINAp/de LNA de afgelopen jaren bereidingsvoorschriften voor parenterale preparaten opgesteld die worden opgenomen in het Formularium Nederlandse Apothekers. Bij een aantal producten speelt zuurstof een grote rol bij de stabiliteit van de desbetreffende injectievloeistof. Onderstaand wordt als voorbeeld de houdbaarheid beschreven *van fysostigminesalicylaatinjectie 2 mg/2 ml*.

Fysostigminezouten kunnen rood kleuren door contact met metaal of door langdurige blootstelling aan warmte, licht en lucht. In oplossing ontleedt fysostigmine door hydrolyse in eseroline, dat gemakkelijk door oxidatie in rubreserine (rode kleur) overgaat. Verdere ontleding leidt tot eserineblauw en eserinebruin. Eseroline zou niet werkzaam zijn [4, 5]. Rubreserine en eserineblauw zijn zwakker werkzaam dan fysostigmine [5, 6].

Het geleidelijk roze verkleuren van de injectievloeistof wordt door vorming van het ontledingsproduct rubreserine door de beroepsgroep onaanvaardbaar geacht. In de USP is de volgende opmerking in de monografie van de fysostigmine-injectievloeistof →

opgenomen: "do not use the injection if it is more than slightly discolored" [7].

Om oxidatie te voorkomen zijn bij de ontwikkeling van het FNA-voorschrift twee maatregelen genomen. Ten eerste is natriummetabisulfit 0,01% aan het preparaat toegevoegd om oxidatie tijdens bereiding, bewaring en toediening aan de patiënt te voorkomen. Om oxidatie tijdens het bereidingsproces te voorkomen, wordt natriummetabisulfit opgelost voorafgaand aan het oplossen van fysostigmine. Deze combinatie van maatregelen is gebaseerd op onderzoek van Trose [8].

De gebruikelijke concentratie van natriummetabisulfit bedraagt 0,1% [9]. Deze concentratie is hoger dan de minimaal noodzakelijke hoeveelheid. Het is bekend dat natriummetabisulfit een adduct kan vormen met fysostigminesalicylaate [10, 11]. Ook is melding gemaakt van overgevoeligheidsreacties op natriummetabisulfit. Dit zijn redenen om de hoeveelheid ervan zo veel

*Het geleidelijk roze  
verkleuren van de injectievloeistof wordt  
door de beroepsgroep onaanvaardbaar geacht*

mogelijk te beperken. De minimaal benodigde concentratie is onbekend en arbitrair vastgesteld op 0,01%.

Ten tweede wordt om oxidatie van fysostigmine te voorkomen voorafgaand aan het oplossen van de fysostigminesalicylaate het water zoveel mogelijk zuurstofvrij gemaakt door doorleiding van een inert gas. Tijdens de bereiding en het uitvullen in de ampullen wordt eveneens voortdurend onder doorleiding van stikstof gewerkt.

Tot slot is gekozen voor een ampul van 2 ml, aangezien de ampul van 1 ml veel moeilijker onder zuurstofvrije omstandigheden is uit te vullen. Daarnaast komt de hoeveelheid in een ampul van 2 ml overeen met de gebruikelijke dosering.

Na de ontwikkeling van de samenstelling zijn twee charges drie jaar lang onder twee condities bewaard en op vastgestelde tijdstippen onderzocht. De belangrijkste bevindingen zijn weergegeven in tabel 1.

Op grond van deze bevindingen is geconcludeerd dat bij 4°C het product stabiel is gedurende 36 maanden. Bij 25°C is de oplossing minder stabiel; er treedt

verkleuring op. Vanwege het gebruik van fysostigmine als noodmedicatie is het praktischer deze niet in de koelkast te bewaren. In het FNA is er daarom de voorkeur aan gegeven de injectie bij kamertemperatuur te bewaren, met een bewaartermijn van 24 maanden, met toevoeging van de melding de injectievloeistof alleen te gebruiken indien deze kleurloos is.

### Besluit

Vanwege de stabiliteit is zuurstofverwijdering bij de bereiding van parenterale preparaten soms noodzakelijk. Het al dan niet verwijderen van zuurstof moet een vast aandachtspunt zijn bij het ontwikkelen van een bereidingsvoorschrift. Het is een onderdeel van de ontwerp kwaliteit. Om praktische redenen moet zuurstofvrij maken worden vermeden indien het niet echt nodig is. Zuurstofmeters zijn belangrijk bij de controle van de zuurstofconcentratie. Voor betrouwbare resultaten moet voldoende aandacht worden gegeven aan de kalibratie en de meting zelf ●

### LITERATUUR

- 1 Bouwman-Boer Y, Zuidema J. Stabiliteit en houdbaarheid. In: Bolhuis GK, Bouwman-Boer Y, Kadir F, red. Recepteerkunde. Kleinschalige bereiding van geneesmiddelen. Den Haag: Koninklijke Nederlandse Maatschappij ter bevordering der Pharmacie; 1999. p. 105-13.
- 2 Commissie Bereiding NVZA. Zuurstofmeting als inprocescontrole. Ziekenhuisfarmacie. 1995;11:140.
- 3 Filius PMG, Sterrenburg JM, Boom FA. Zuurstofmeting als inprocescontrole. Bereiding van oxidatiegevoelige geneesmiddelen. Pharm Weekbl. 2000;135:862-7.
- 4 Yang ST, Wilken LO. The effects of autoclaving on the stability of physostigmine salicylate in buffer solutions. J Parent Sci Technol. 1988;42:62-7.
- 5 Muhtadi FJ, El-Hwary SS. Analytical profile of physostigmine salicylate. In: Florey K, red. Analytical profiles of drug substances. San Diego (California): 1989;18:289-350.
- 6 Hemsworth BA, West GB. Anticholinesterase activity of some degradation products of physostigmine. J Pharm Sci. 1970;59:118-20.
- 7 The United States Pharmacopeia. 27ste ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2003.
- 8 Trose D, Slowig P. Zur stabilisierung von Physostigminsalicylat-injectionen. Pharmazie. 1985;40:124-6.
- 9 Zuidema J, Bolhuis GK, Bouwman-Boer Y. Grondstoffen. In: Bolhuis GK, Bouwman-Boer Y, Kadir F, red. Recepteerkunde. Kleinschalige bereiding van geneesmiddelen. Den Haag: Wetenschappelijk Instituut Nederlandse Apothekers; 1999. p. 192.
- 10 Hussain A, Wahner H, Triplett J. Unusual reversible attack by sodium bisulfite on physostigmine. J Pharm Sci. 1978;67:742-3.
- 11 Hussain A, Iga K. Kinetics and equilibria of the reaction between physostigmine and bisulfite. J. Parent Drug Ass. 1979;33:32-9.

Correspondentie kan worden gericht aan mevr. drs. C.W. Swart, Apotheek Haagse Ziekenhuizen, Postbus 43100, 2504 AC Den Haag.

Tabel 1

RESULTATEN HOUDBAARHEIDSONDERZOEK FYSOSTIGMINESALICYLAAT

Bewaarconditie	Gehalte	Eseroline	Rubreserine
4°C	onveranderd na 36 maanden	0,1-0,2%	niet aantoonbaar
25°C	onveranderd na 24 maanden	0,1-0,2%	<0,1%
25°C	onveranderd na 36 maanden	0,2-0,4%	0,1%