





دانشگاه آزاد اسلامی  
واحد تهران مرکزی  
دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc)  
گرایش تجزیه

عنوان:

اندازه‌گیری همزمان سولفاستامید سدیم و پردنیزولون در نمونه‌های حقیقی  
به کمک روشهای کالبراسیون چند متغیره

استاد راهنما:

دکتر امیر حسین محسن صرافی

استاد مشاور:

دکتر علیرضا فیض بخش

پژوهشگر:

مرضیه شیرعلی کلشادی

زمستان ۱۳۹۰



دانشگاه آزاد اسلامی  
واحد تهران مرکزی  
دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc)  
گرایش تجزیه

عنوان:

اندازه‌گیری همزمان سولفاستامید سدیم و پردنیزولون در نمونه‌های حقیقی  
به کمک روشهای کالبراسیون چند متغیره

استاد راهنما:

دکتر امیر حسین محسن صرافی

استاد مشاور:

دکتر علیرضا فیض بخش

پژوهشگر:

مرضیه شیرعلی کلشادی

زمستان ۱۳۹۰

پروردگارا!

ز می توانم موایشان که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دست های زحمت کشی که نتیجه تلاش برای افتخار من است، مرهی دارم. پس توفیقم ده که هر خطه سگر کزارشان باشم و ثانیه های عمرم را در عصای دست بودنشان بگذرانم.

لقد علم به

پر دم به استواری کوه

مادرم به زلالی چشمه

همسرم به صمیمیت باران

و تمامی کسانی که دوستان دارم

پاس و ستایش خدایی را که درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان،  
بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

پاسکزاری می‌کنم از استاد بزرگوار و ارجمندم جناب آقای دکتر امیر حسین محسن صرافانی که نتیجه سالها تجربه و  
اندوخته‌های علمی ایشان را هکشتای اینجانب در تهیه و تدوین این پایان نامه بوده است.

و همچنین از استاد گرامی جناب آقای دکتر علیرضا فیض بخش به پاس مشاوره‌های سودمند ایشان  
در طول انجام این پروژه، قدردانی می‌نمایم.

بسمه تعالی

## تعهد نامه اصالت پایان نامه کارشناسی ارشد

اینجانب مرضیه شیرعلی کلیشادی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه با شماره دانشجویی ۸۷۰۸۵۱۲۷۷۰۰ اعلام می‌نمایم که کلیه مطالب مندرج در این پایان‌نامه با عنوان: اندازه‌گیری همزمان سولفاستامید سدیم و پردنیزولون در نمونه‌های حقیقی به کمک روشهای کالیبراسیون چند متغیره حاصل کار پژوهشی خود بوده و چنانچه دستاوردهای پژوهشی دیگران را مورد استفاده قرار داده باشم، طبق ضوابط و رویه‌های جاری، آنرا ارجاع داده و در فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام. علاوه بر آن تأکید می‌نمایم که این پایان‌نامه قبلاً برای احراز هیچ مدرک هم سطح، پایین تر یا بالاتر ارائه نشده و چنانچه در هر زمان خلاف آن ثابت شود، بدینوسیله متعهد می‌شوم، در صورت ابطال مدرک تحصیلی‌ام توسط دانشگاه، بدون کوچکترین اعتراض آنرا بپذیرم.

تاریخ و امضاء

## بسمه تعالی

در تاریخ: ۱۳۹۰/۱۱/۳۰

دانشجوی کارشناسی ارشد آقای / خانم مرضیه شیرعلی کلشادی از پایان نامه خود دفاع نموده و با

نمره بحرّوف و با درجه

مورد تصویب قرار گرفت.

امضاء استاد راهنما

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
۲	مقدمه
<b>فصل اول</b>	
۳	۱-۱- بیوگرافی داروهای سولفاستامید سدیم، پردنیزولون و بلفامید
۳	۱-۱-۱- بیوگرافی داروی سولفاستامید سدیم
۵	۱-۲-۱- بیوگرافی داروی پردنیزولون
۷	۱-۳-۱- بیوگرافی داروی بلفامید
۸	۲-۱- پیشینه تحقیق
۸	۱-۲-۱- پیشینه داروی سولفاستامید سدیم
۱۰	۲-۲-۱- پیشینه داروی پردنیزولون
<b>فصل دوم</b>	
۱۵	۱-۲- تاریخچه و کاربرد کمومتریکس
۱۷	۲-۲- تعریف کمومتریکس و مزایای استفاده از آن
۱۸	۳-۲- ارتباط کمومتریکس با سایر رشته‌ها
۱۹	۴-۲- هرم و سلسه مراتب استفاده از کمومتریکس
۱۹	۵-۲- آنالیز تک جزئی
۲۰	۶-۲- آنالیز چند جزئی
۲۰	۷-۲- آنالیز کمی (کالیبراسیون)
۲۲	۸-۲- کالیبراسیون کلاسیک (تک متغیره)
۲۴	۹-۲- کالیبراسیون معکوس



- ۲-۱۰- معایب روش‌های کالیبراسیون تک متغیره و مقایسه آن با روشهای کالیبراسیون چند متغیره ..... ۲۶
- ۲-۱۱- کالیبراسیون چند متغیره ..... ۲۸
- ۲-۱۲- امتیازات کالیبراسیون چند متغیره ..... ۲۹
- ۲-۱۳- روش مستقیم ..... ۳۱
- ۲-۱۳-۱- روش حداقل مربعات کلاسیک (CLS) ..... ۳۱
- ۲-۱۳-۱-۱- امتیازات روش CLS ..... ۳۳
- ۲-۱۳-۲- معایب روش CLS ..... ۳۳
- ۲-۱۴- روشهای غیر مستقیم ..... ۳۳
- ۲-۱۴-۱- روش رگرسیون خطی چندگانه (MLR) یا (ILS) ..... ۳۴
- ۲-۱۴-۱-۱- امتیازات روش ILS ..... ۳۴
- ۲-۱۴-۲- معایب روش ILS ..... ۳۵
- ۲-۱۴-۳- مزایای روش MLR نسبت به CLS ..... ۳۶
- ۲-۱۴-۲- روشهای آنالیز فاکتور (FA) ..... ۳۶
- ۲-۱۴-۲-۱- پیش پردازش داده‌ها ..... ۳۶
- ۲-۱۴-۲-۲- آنالیز اجزای اصلی PCA ..... ۳۷
- ۲-۱۴-۲-۲-۱- چگونگی تعیین تعداد فاکتور (PC) ..... ۴۱
- ۲-۱۴-۲-۳- روش رگرسیون اجزای اصلی (PCR) ..... ۴۳
- ۲-۱۴-۲-۳-۱- مزایای روش PCR ..... ۴۳
- ۲-۱۴-۲-۳-۲- معایب روش PCR ..... ۴۴
- ۲-۱۴-۲-۳-۳- مزیت روش PCR نسبت به روش MLR ..... ۴۴
- ۲-۱۴-۲-۴- حداقل مربعات جزئی PLS ..... ۴۵
- ۲-۱۴-۲-۴-۱- روش PLS-1 ..... ۴۶

۴۸	..... ۲-۱۴-۲-۴-۲- روش PLS-2 و مزایای آن
۴۹	..... ۲-۱۴-۲-۴-۳- مزایای PLS
۴۹	..... ۲-۱۴-۲-۴-۴- معایب PLS
۵۰	..... ۲-۱۵- معیار توانایی پیش بینی مدل
۵۱	..... ۲-۱۶- ارزیابی مدل (معتبرسازی مدل)
۵۱	..... ۲-۱۶-۱- خود پیش بینی
۵۲	..... ۲-۱۶-۲- ارزیابی متقاطع (معتبرسازی متقاطع)
۵۲	..... ۲-۱۶-۳- مجموعه مستقل
۵۳	..... ۲-۱۷- طراحی آزمایش
۵۵	..... ۲-۱۷-۱- طراحی فاکتوریل

## فصل سوم

۵۸	..... ۳-۱- مقدمه
۵۹	..... ۳-۲- بخش تجربی
۵۹	..... ۳-۲-۱- مواد شیمیایی
۵۹	..... ۳-۲-۲- دستگاهها و نرم افزارهای بکار رفته
۶۰	..... ۳-۲-۳- روش کار در کالیبراسیون چند متغیره
۶۰	..... ۳-۲-۳-۱- طریقه تهیه بافر اسید فسفریک
۶۰	..... ۳-۲-۳-۲- طریقه تهیه نمونه‌های سنتزی و حقیقی
۶۱	..... ۳-۳- نتایج و بحث بر روی نتایج
۶۱	..... ۳-۳-۱- طیفهای جذبی فرا بنفش - مرئی سولفاستامید و پردنیزولون
۶۳	..... ۳-۳-۲- طراحی تجربی نمونه‌های کالیبراسیون و تست
۶۵	..... ۳-۳-۳- انتخاب تعداد فاکتور بهینه و ناحیه طیفی بهینه

۶۸	..... (Full Cross Validation) کامل
	۴-۳-۳- رسم نمودارهای معتبرسازی متقاطع کامل
	۵-۳-۳- تشخیص نمونه‌های دور (Outlier) با استفاده از مقدار باقیمانده غلطی (Residual)
۶۹	..... قبل از مدلسازی
	۶-۳-۳- معتبرسازی داخلی
۷۳	.....
	۷-۳-۳- معتبرسازی خارجی
۷۶	.....
	۸-۳-۳- آنالیز نمونه‌های تجاری
۷۹	.....
	۹-۳-۳- تشخیص نمونه‌های حاوی مقادیر دور
۸۱	.....
	۱۰-۳-۳- نتیجه‌گیری
۸۳	.....
	پیشنهادات
۸۴	.....
	واژه‌نامه
۸۵	.....
	منابع و ماخذ
۸۸	.....
	Abstract (چکیده انگلیسی)
۹۰	.....

## فهرست اشکال

صفحه	عنوان
..... ۴	شکل (۱-۱): شکل ساختاری سولفاستامید سدیم.....
..... ۶	شکل (۲-۱): شکل ساختاری پردنیزولون .....
..... ۸	شکل (۳-۱): اشکال مختلف داروی بلفامید .....
..... ۱۸	شکل (۱-۲): ارتباط کمومتری کس با سایر رشته‌ها .....
..... ۱۹	شکل (۲-۲): هرم و سلسله مراتب استفاده از کمومتری کس .....
..... ۲۲	شکل (۳-۲): کالیبراسیون تک متغیره و چند متغیره .....
..... ۲۴	شکل (۴-۲): (a) کالیبراسیون کلاسیک (b) کالیبراسیون معکوس .....
..... ۲۵	شکل (۵-۲): خطوط کالیبراسیون کلاسیک و معکوس که با هم سازگارند.....
..... ۲۵	شکل (۶-۲): خطوط کالیبراسیون کلاسیک و معکوس که به علت حضور یک نقطه دور افتاده با هم سازگار نیستند .....
..... ۳۸	شکل (۷-۲): نحوه کار PCA .....
..... ۴۰	شکل (۸-۲): شماتیک روش PCA .....
..... ۴۲	شکل (۹-۲)(a) نمودار PRESS در مقابل تعداد فاکتور .....
..... ۴۳	شکل (۹-۲)(b): نمودار PRESS را در مقابل تعداد فاکتور.....
..... ۴۷	شکل (۱۰-۲): روش کار ۱- PLS .....
..... ۶۲	شکل (۱-۳): طیف جذبی فرابنفش - مرئی سولفاستامید و پردنیزولون در حلال بافر اسید فسفریک در ناحیه طیفی ۳۰۸-۲۰۲ nm .....
..... ۶۲	شکل (۲-۳): طیف جذبی فرابنفش - مرئی مخلوط سنتزی سولفاستامید سدیم، پردنیزولون و نیز نمونه حقیقی در حلال بافر اسید فسفریک در ناحیه ۲۰۲-۳۰۸nm .....
..... ۶۳	شکل (۳-۳): طراحی فاکتوریل پنج سطحی برای دو متغیر .....

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
۶۴	جدول (۱-۳) مشخصات غلظتی نمونه‌های سری کالیبراسیون
۶۴	جدول (۲-۳) مشخصات غلظتی نمونه‌های سری تست
۶۹	جدول (۳-۳) مقادیر RMSEP و Cross Validation برای تعداد فاکتور بهینه در مدل‌سازی
۷۴	جدول (۴-۳) مقادیر غلظت‌های پیش بینی شده و درصد بازیابی نمونه‌ها در سری کالیبراسیون (PLS-2)
۷۵	جدول (۵-۳) پارامترهای آماری و رگرسیونی و RMSEC برای نتایج سری کالیبراسیون
۷۷	جدول (۶-۳): مقادیر غلظت‌های پیش بینی شده و درصد بازیابی نمونه‌ها در سری تست (PLS-2)
۷۸	جدول (۷-۳) پارامترهای آماری و رگرسیونی و RMSEP برای نتایج سری تست
۷۹	جدول (۸-۳) نتایج حاصل از آنالیز نمونه حقیقی (سولفاستامید ۱۰٪) توسط روش کالیبراسیون چند متغیره (PLS-2)
۸۰	جدول (۸-۳) نتایج حاصل از آنالیز نمونه حقیقی (سولفاستامید ۲۰٪) توسط روش کالیبراسیون چند متغیره (PLS-2)
۸۱	جدول (۱۰-۳) مقادیر SEE و حد تشخیص

## فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۶۶.....	نمودار (۱-۳) RMSEP و برای SULF با روش PLS2
۶۶.....	نمودار (۲-۳) RMSEC برای SULF با روش PLS2
۶۷.....	نمودار (۳-۳) RMSEP برای PRED با روش PLS2
۶۷.....	نمودار (۴-۳) RMSEC برای PRED با روش PLS2
۶۸.....	نمودار (۵-۳) Cross Validation برای SULF با روش PLS2
۶۹.....	نمودار (۶-۳) Cross Validation برای PRED با روش PLS2
۷۰.....	نمودار (۷-۳) نمونه‌های ۱۴، ۱۵ و ۲۷ (V4-1, V4-2, V13) بیرون گذاشته شده اند
۷۱.....	نمودار (۸-۳) نمونه ۱۱ (V1-2) بیرون گذاشته شده است
۷۱.....	نمودار (۹-۳) نمونه‌های ۱۲ و ۱۶ (V1-3, V4-3) بیرون گذاشته شده است
۷۲.....	نمودار (۱۰-۳) نمونه‌های ۲۱ و ۲۵ (V11-3, V9) بیرون گذاشته شده اند
۷۳.....	نمودار (۱۱-۳) نمودار نهایی پس از حذف نقاط دور افتاده.....
	نمودار (۱۲-۳) رسم مقادیر تخمین زده شده در برابر مقادیر واقعی برای SULF در سری
۷۵.....	کالیبراسیون (PLS-2).....
	نمودار (۱۳-۳) رسم مقادیر تخمین زده شده در برابر مقادیر واقعی برای PRED
۷۶.....	در سری کالیبراسیون (PLS-2).....
۷۸.....	نمودار (۱۴-۳) رسم مقادیر پیش بینی در برابر مقادیر واقعی برای SULF در سری تست (PLS-2).....
۷۹.....	نمودار (۱۵-۳) رسم مقادیر پیش بینی در برابر مقادیر واقعی برای PRED در سری تست (PLS-2).....
	نمودار (۱۶-۳) رسم باقیمانده غلظتی پیش بینی نشده در برابر غلظت‌های واقعی برای SULF
۸۱.....	در سری کالیبراسیون برای روش PLS-2.....
	نمودار (۱۷-۳) رسم باقیمانده غلظتی پیش بینی نشده در برابر غلظت‌های واقعی برای PRED

- در سری کالیبراسیون برای روش PLS-2 ..... ۸۱
- نمودار (۳-۱۸) رسم باقیمانده غلظتی پیش بینی نشده در برابر غلظت‌های واقعی برای SULF
- در سری تست برای روش PLS-2 ..... ۸۲
- نمودار (۳-۱۹) رسم باقیمانده غلظتی پیش بینی نشده در برابر غلظت‌های واقعی برای PRED
- در سری تست برای روش PLS-2 ..... ۸۲

## چکیده

با استفاده از روشهای کالیبراسیون چند متغیره می توان ترکیبات با همپوشانی طیفی را با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، بدون نیاز به جداسازی اولیه در ناحیه ای از طول موجها با بیشترین اطلاعات طیفی مورد بررسی و اندازه گیری کمی همزمان قرار دارد.

در این پژوهش اندازه گیری همزمان دو داروی سولفاستامید سدیم و پردنیزولون با استفاده از روش اسپکتروفتومتری - کالیبراسیون چند متغیره مورد بررسی قرار گرفته است. این اندازه گیری ها بدون جداسازی دو جزء مورد نظر و فقط با حل کردن استانداردها و نمونه حقیقی در حلال بافر اسید فسفریک با  $\text{pH} = 4/5$  و سپس تعیین همزمان غلظت هر دو آنالیت توسط سیستم کالیبراسیون چند متغیره انجام شد. در این تحقیق از روش حداقل مربعات جزئی (PLS) برای اندازه گیری همزمان این دو دارو در ناحیه طیفی  $202-308 \text{ nm}$  استفاده شد.

مقادیر  $R^2$  برای نمونه های سنتزی سری تست در این مدل سازی برای سولفاستامید سدیم و پردنیزولون به ترتیب  $0/9979$  و  $0/9920$  و حد تشخیص نیز  $0/1749$  و  $0/1686$  میلی گرم در لیتر می باشد.

بنابراین از روش حاضر می توان به عنوان یک روش ساده، سریع و نسبتاً ارزان جهت تعیین مقدار این دو ماده در قطره های تجاری بدون مزاحمت مواد پر کننده در صنایع داروسازی و آزمایشگاههای کنترل کیفیت استفاده کرد.



## مقدمه

کنترل کیفیت مواد موثره داروها به روشهای تجزیه ای سریع و معتبر نیاز دارد. اسپکتروفوتومتری UV-Vis، انتخاب ارجح در میان تکنیک‌های دستگاهی در صنایع بواسطه سادگی عمل، ارزانی و دقت بالای آن می‌باشد. ولی گزینش پذیری آن ناچیز است و در آنالیزهای چند جزئی در روشهای کلاسیک کاربرد ندارند. در اندازه‌گیری‌های یک جزئی و چند جزئی توسط تکنیک ماوراء بنفش و مرئی در برخی موارد با استفاده از طیفهای مشتقی و اندازه‌گیری دو یا چند طول موج می‌توان تا حدی مشکلات ایجاد شده از تداخلات و همپوشانی طیفی و گزینش پذیری ناچیز را حل کرد، ولی اگر تداخلات طیفی جدی و یا همپوشانی طیفی آنالیزهای چند جزئی موجود بود، روش ذکر شده کارایی لازم را بخصوص در اندازه‌گیری‌های چند جزئی به طور همزمان ندارد. برای حل این مشکل از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده می‌شود، ولی این روش نیز دارای معایبی از قبیل کندی و گرانی می‌باشد.

در سالهای اخیر، روشهای کالیبراسیون چند متغیره جهت اندازه‌گیری مخلوط یک یا چند ترکیب باخصوصیات طیفی مشابه بکار برده شده است. حداقل مربعات جزئی (PLS) یک روش کالیبراسیون چند متغیره بر پایه تحلیل عاملی است. بررسی مقالات علمی منتشر شده در سالهای اخیر نشان می‌دهد که بهترین روشهای غلبه بر همپوشانی‌ها و مزاحمت‌های طیفی در هنگام اندازه‌گیری همزمان دو یا چند آنالیت در یک نمونه، روشهای کالیبراسیون چند متغیره می‌باشد که برای آنالیز کمی آنالیت‌هایی که طیف آنها تا صددرصد همپوشانی دارند، بکار برده شده‌اند. روشهای چند متغیره به همراه داده‌های اسپکتروفوتومتری، مزایای سادگی و ارزان بودن را دارا هستند. بنابراین این روشها برای اندازه‌گیری داروها بکار برده شده‌اند، زیرا روشهای اسپکتروسکوپی و کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، کند، گران و پیچیده هستند. هدف این پایان نامه، بررسی توانایی روشهای حداقل مربعات جزئی برای تعیین کمیت آنالیت‌های چند جزئی بدون جداسازی قبلی، با بکارگیری مدل‌های بهینه در آماده سازی دارویی است.

# فصل اول

## ۱-۱- بیوگرافی داروهای سولفاستامید سدیم، پردنیزولون و بلفامید

### ۱-۱-۱- بیوگرافی سولفاستامید سدیم:

دسته دارویی: این دارو جزء دسته آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد و به لحاظ شیمیایی به گروه سولفونامیدها تعلق دارد.

موارد مصرف: این دارو در درمان التهاب عفونی ملتحمه و سایر عفونت‌های سطحی چشم ناشی از ارگانسیم‌های حساس تراخم و سایر عفونت‌های کلامیدیایی مصرف می‌شود و بطور همزمان نباید با فرآورده‌های چشمی حاوی نقره مثل نیترات نقره استفاده شود. [۱]

نام فارسی: سولفاستامید سدیم (چشمی)

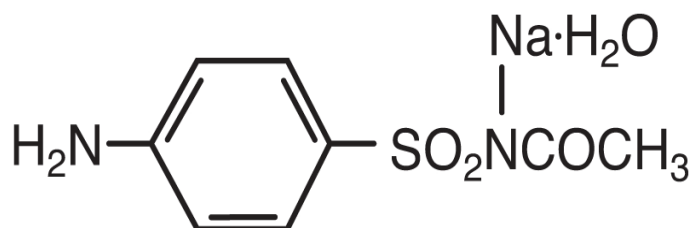
نام انگلیسی: SULFACETAMIDE SODIUM (Ophthalmic)

نام‌های تجاری دارو: Sodium Sulamyd, Bleph, Cetamide, Ophthecet, Sebizon,

نام شیمیایی / سیستماتیک (آیوپاک):

N-Sulfanilylacetamide monosodium salt monohydrate

فرمول شیمیایی: سولفاستامید سدیم دارای فرمول مولکولی  $C_8H_9N_2Na \cdot 3S \cdot H_2O$  و وزن مولکولی (جرم مولی)  $254/24$  گرم بر مول می‌باشد. شکل ساختاری آن در شکل (۱-۱) نشان داده شده است.



شکل (۱-۱): شکل ساختاری سولفاستامید سدیم

مکانیسم اثر:

این دارو یک آنتی بیوتیک با طیف گسترده و متوقف کننده رشد میکروارگانیسم‌های حساس می‌باشد. همانطور که قبلاً اشاره شد سولفاستامید سدیم به گروه سولفونامیدها تعلق دارد و سولفونامیدها بدلیل شباهت ساختمانی با پارآمینوزوئیک اسید (PABA) به صورت رقابتی انزیم دی‌هیدروپتروآت سنتتاز باکتری را که مسئول تبدیل کردن PABA به اسید دی‌هیدروفولیک است، مهار می‌کنند. این امر در نهایت منجر به وقفه در ساخت پورین‌ها، تیمیدین و DNA می‌گردد. [۴]

این دارو عوارضی از قبیل خارش، قرمزی، تورم، درد یا سایر علائم تحریک موضعی نیز ممکن است ایجاد کند. [۲]

اشکال دارویی: قطره چشمی ۱۰٪ و ۲۰٪

#### ۱-۲-۱- بیوگرافی پردنیزولون:

دسته دارویی و موارد مصرف: پردنیزولون یک کورتیکواستروئید قوی است. نوع خوراکی و تزریقی آن برای گروهی از بیماریها مثل ناراحتی‌های روماتیسمی، بیماریهای پوستی، حساسیت‌ها و برخی اختلالات خونی تجویز می‌شود. قطره‌های چشمی آن از التهاب چشم در ورم ملتحمه یا قرنیه می‌کاهد. پردنیزولون برای درمان التهاب روده بزرگ استفاده می‌شود. این دارو را می‌توان برای برطرف کردن روماتیسم و التهاب مفصل به درون مفاصل تزریق نمود. پردنیزولون را همراه با فلودروکورتیزون برای اختلالات غده هیپوفیز و فوق کلیه مصرف می‌کنند، همچنین از آن در درمان برخی سرطان‌ها استفاده می‌شود. [۱]

نام فارسی: پردنیزولون

نام انگلیسی: Prednisolone

نام‌های تجاری دارو: Deltasone, Meticorten, Liquid Pred, Orasone Prednicen-M, Prednicot,

.,Predsole Pro cortisole, Minims, prednisolone Deltastab, Deltacortrill, Sterapred

نام شیمیایی (آیوپاک): (11 $\beta$ )-11,17,21-trihydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione