

## STANOVENIE DIMETINDENU V RÔZNYCH LIEKOVÝCH FORMÁCH KAPILÁRNOU IZOTACHOFORÉZOU

KUBAČÁK P., MIKUŠ P., VALÁŠKOVÁ I., HAVRÁNEK E.

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, SR

### SÚHRN

#### Stanovenie dimetindenu v rôznych liekových formách kapilárnou izotachoforézou

Kapilárna izotachoforéza bola využitá na stanovenie dimetindenu v rôznych liekových formách. Bolo preskúšaných niekoľko elektrolytových systémov s rôznym zložením a rôznym pH. Pre validáciu metódy a stanovenie dimetindenu v reálnych vzorkách (gél, kvapky, kapsule) boli vybrané dva elektrolytové systémy. Bola hodnotená presnosť, správnosť, linearita, robustnosť a selektivita ITP metódy pre obidva elektrolytové systémy. Predúprava vzorky pred analýzou spočívala v rozpustení a nariadení príslušnej liekovej formy s obsahom dimetindenu demineralizovanou vodou na požadovanú koncentráciu. Takto upravená vzorka bola priamo dávkovaná do prístroja.

**K l ú č o v é s l o v á:** kapilárna izotachoforéza – kapilárna elektroforéza – dimetinden – liek – validácia

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 231–234

### SUMMARY

#### Dimethindene Determination in Various Dosage Forms by Means of Capillary Isotachopheresis

Capillary isotachopheresis was employed to determine dimethindene in various dosage forms. Several electrolyte systems of varying compositions and varying pH were tested. For validation of the method and the determination of dimethindene in real samples (gel, drops, capsules), two electrolyte systems were selected. Precision, correctness, linearity, robustness, and selectivity of the ITP method were evaluated for both electrolyte systems. The pre-treatment of the sample prior to analysis consisted in dissolving and diluting the pertinent dosage form containing dimethindene with demineralized water to the required concentration. The sample adjusted in this way was directly dosed into the apparatus.

**Key words:** capillary isotachopheresis – capillary electrophoresis – dimethindene – pharmaceutical product – validation

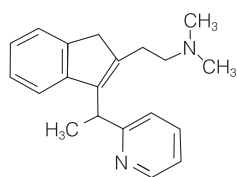
Čes. slov. Farm., 2005; 54, 231–234

Má

### Úvod

Dimetinden (obr. 1) [2-[1-[2-[(2-dimetylamino)etyl]inden-3-yl]etyl]pyridín] je silne účinné H<sub>1</sub>-antihistaminikum 1. generácie vhodné na liečbu bežných alergických reakcií. Má stredne vyjadrený sedatívny účinok a bol u neho popísaný aj stabilizujúci účinok na membrány žírnych buniek. Inhibuje taktiež pôsobenie ďalších mediátorov včasnej hypersenzitívnej reakcie (serotonín a bradykinín), čím vyvoláva zníženie zvýšenej permeability kapilár. Okrem liečby alergickej nádchy, urtikárie a angioedému sa jeho výrazný antipruriginózný účinok využíva pri liečbe rôznych kožných ochorení. Maximálny účinok dosahuje za 2–4 hodiny po aplikácii a 5–10 % absorbovaného množstva sa vylučuje nezmenené močom <sup>1)</sup>.

V literatúre je uvedených niekoľko prác zaoberajúcich sa stanovením dimetindenu najmä v matriciach biologického pôvodu. Kapilárna zónová elektroforéza (CZE) bola použitá na stanovenie jeho enantiomérov v ľudskom moči <sup>2,3)</sup>, sére a moči potkanov <sup>4)</sup> a pri štúdiu opačnej migrácie jeho enantiomérov v substancii s využitím metód NMR <sup>5)</sup> a ionizačnej hmotnostnej spektroskopie a kryštalografie <sup>6)</sup>. Spolu s inými bázičnými liečivami bol dimetinden chirálne separovaný metódou CZE s využitím metylovaného β-CD <sup>7)</sup>. Na stanovenie dimetindenu v biologickom materiáli boli tiež využité metódy HPLC <sup>8–12)</sup> a kombinácia GC a MS <sup>13)</sup>. Vo farmaceutických prípravkoch bol dimetinden stanovovaný spolu s inými antihistaminikami derivatizačnou spektrofotometriou <sup>14)</sup>.



Obr. 1. Vzorec dimetindenu

Monografia dimetindenu nie je uvedená v Slovenskom liekopise, uvádza sa v Európskom liekopise 4, ktorý pre jeho stanovenie predpisuje acidimetrickú titráciu kyselinou chloristou v bezvodnom prostredí za poteciometrickej indikácie ekvivalenčného bodu <sup>15)</sup>.

Cieľom našej práce bolo vypracovanie podmienok pre separáciu, identifikáciu a kvantifikáciu dimetindenu v troch jeho liekových formách (Fenistil® kapsule, Fenistil® kvapky a Fenistil® gél) metódou kapilárnej izotachoforézy (ITP) v jednej analýze, ako aj zhodnotenie validáčnych parametrov použitej metodiky.

## POKUSNÁ ČASŤ

### Chemikálie a roztoky

Elektrolytové systémy pre ITP analýzu mali nasledujúce zloženie:

#### Systém č. 1

Vodiaci elektrolyt:  $1 \cdot 10^{-2}$  mol.l<sup>-1</sup> octan sodný a kyselina octová ako protiión do výslednej hodnoty pH 4,0 a 0,1% m-hydroxyetylcelulóza ako aditívum.

Zakončujúci elektrolyt:  $5 \cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup> kyselina glutámová.

#### Systém č. 2

Vodiaci elektrolyt:  $1 \cdot 10^{-2}$  mol.l<sup>-1</sup> octan draselný a kyselina octová ako protiión do výslednej hodnoty pH 4,8 a 0,2 % m-hydroxyetylcelulóza ako aditívum.

Zakončujúci elektrolyt:  $1 \cdot 10^{-2}$  mol.l<sup>-1</sup> β-alanín.

Roztoky vodiacich a zakončujúcich elektrolytov boli získané z Chemického ústavu PRIF UK v Bratislave. Dimetinden maleinát dodala MP Biomedicals, Inc., USA, Fenistil® kapsule (obsah dimetindenu 4 mg v 1 kapsule), Fenistil® kvapky (obsah dimetindenu 1 mg v 1 ml roztoku) a Fenistil® gél (obsah dimetindenu 1 mg v 1 g gélu) boli od výrobcu Novartis Consumer Health SA, Nyon, Švajčiarsko. Voda používaná na prípravu roztokov bola demineralizovaná reverznou osmózou na stĺpci zmesného ionexu zariadením Rowapur a dočisťovaná zariadením Ultrapur (obidva Premier, Arizona, USA).

### Príprava vzoriek

Obsah desiatich kapsúl s obsahom dimetindenu bol zvážený a následne homogenizovaný. Množstvo zmesi zodpovedajúce 8 mg dimetindenu bolo suspendované v 40 ml demineralizovanej vody po dobu 24 hodín. 5 ml tejto suspenzie bolo podrobené centrifugácii (5000 ot/min) po dobu 10 min a po nariadení supernatantu na výslednú koncentráciu 100 mg/l dávkané (30 μl) priamo do prístroja cez jednorázový membránový filter (veľkosť pórov 1,2 μm).

10 g gélu (obsahujúce 10 mg dimetindenu) sa rozpustilo v 50 ml demineralizovanej vody. Z tohto roztoku sa pred analýzou pripravili merané vzorky riedením vodou na výslednú koncentráciu 100 mg/l a priamo dávkané do prístroja cez jed-

norázový membránový filter (1,2 μm).

Kvapky s obsahom dimetindenu boli riedené priamo pred analýzou na požadovanú koncentráciu (100 mg/l) a dávkané priamo do prístroja.

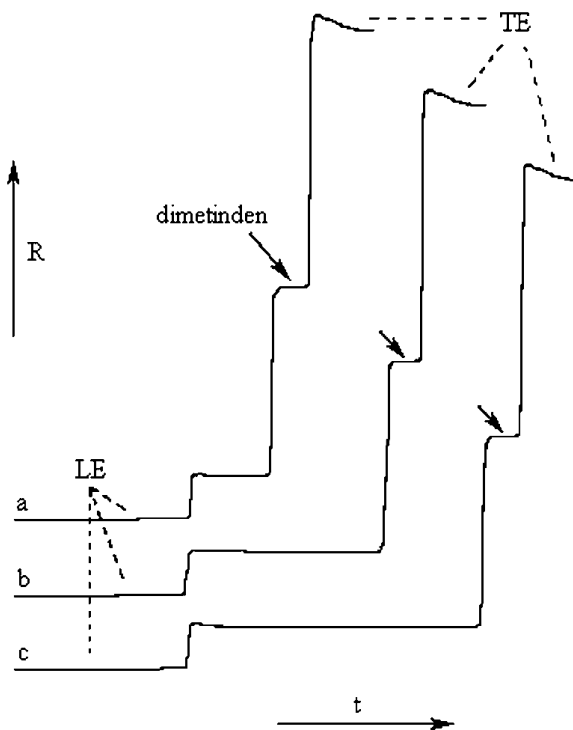
### Prístroje

Izotachoforetické merania boli uskutočnené na prístroji CS Isotachophoretic Analyser (Villa–Labeco, Spišská Nová Ves, SR) v jednokolónovom usporiadaní (dĺžka 90 mm, vnútorný priemer 800 μm) a vodivostnou detekciou. Zber dát a vyhodnocovanie výsledkov bolo realizované počítačom. ITP analýzy boli uskutočnené v kationickom režime s priamym injektovaním vzoriek, dávkaný objem 30 μl, hnací prúd 250 μA, teplota laboratórna, dĺžka analýzy 6 minút.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V práci boli sledované podmienky pre separáciu, identifikáciu a stanovenie dimetindenu v troch jeho liekových formách (Fenistil® kapsule, Fenistil® kvapky a Fenistil® gél) metódou kapilárnej izotachoforézy (ITP). Keďže ide o bázičné liečivo, merania boli robené v kationickom režime, pričom sa overovalo niekoľko elektrolytových systémov. Pre validáciu metódy a stanovenie dimetindenu v reálnych vzorkách boli vybrané dva elektrolytové systémy s rôznym zložením a rôznym pH.

Vlastná analýza bola robená najprv so štandardným roztokom dimetindenu s koncentráciou 100 mg/l a násled-



Obr. 2. Izotachoforeogramy vodných roztokov troch liekových foriem dimetindenu Fenistil® kapsule (a), Fenistil® kvapky (b) a Fenistil® gél (c) v elektrolytovom systéme č. 2. Koncentrácia dimetindenu 100 mg/l, dávkaný objem 30 μl, hnací prúd 250 μA, LE–vodiaci elektrolyt, TE–zakončujúci elektrolyt, R,t–rastúci odpor a čas

Tab. 1. Linearita ITP metódy pre stanovenie dimetindenu v elektrolytovom systéme č. 1 a č. 2

| Linearita<br>$y = a + bx$         | elktrolyt.<br>systém č. 1 | elktrolyt.<br>systém č. 2 |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| úsek na y osi $a$                 | -0,0751                   | -0,0817                   |
| smernica $b$                      | 0,1264                    | 0,1036                    |
| smerodajná odchýlka $s$<br>(mg/l) | 0,2539                    | 0,2749                    |
| korelačný koeficient $r$          | 0,9990                    | 0,9993                    |

za použitia iných roztokoch, ktorých zloženie však bolo rovnaké ako v predchádzajúcom prípade. Relatívna smerodajná odchýlka ( $s_r$ ) pre tieto stanovenia má hodnotu 1,15 % pre el. systém č.1 a 1,23 % pre el. systém č. 2. Merania boli robené na dvoch prístrojoch, líšiacich sa dĺžkami kapilár. Tolerancia hodnôt pH elektrolytových systémov bola  $\pm 0,8$  jednotky. Týmto bola zároveň overená robustnosť metódy.

Detekčný limit pre stanovenie dimetindenu dosiahol pri pracovných podmienkach, pri ktorých sa analyzovali

Tab. 2. Stanovenie dimetindenu v jednotlivých liekových formách v elektrolytovom systéme č. 1 a č. 2

| Lieková forma     | deklarovaný obsah | stanovený obsah $\pm s_r$ (%) |                       |
|-------------------|-------------------|-------------------------------|-----------------------|
|                   |                   | elktrolyt. systém č.1         | elktrolyt. systém č.2 |
| Fenistil® kapsule | 4 mg/l kapsulu    | 98,57 $\pm$ 2,42              | 98,87 $\pm$ 1,93      |
| Fenistil® kvapky  | 1 mg/l ml kvap.   | 100,13 $\pm$ 1,24             | 99,68 $\pm$ 0,91      |
| Fenistil® gél     | 1 mg/l g gélu     | 101,28 $\pm$ 1,77             | 101,89 $\pm$ 1,04     |

Tab. 3. Hodnoty výťažnosti ITP metódy zistené štandardným prídavkom dimetindenu do liekových foriem v elektrolytovom systéme č. 1 a č. 2

| Lieková forma     | pridané množstvo (mg/l) | stanovené množstvo (mg/l) $\pm s_r$ (%) | výťažnosť (%) |
|-------------------|-------------------------|---|---------------|
| Fenistil® kapsule | 50                      | 49,05 $\pm$ 1,82                        | 98,10         |
| Fenistil® kvapky  | 50                      | 49,54 $\pm$ 1,75                        | 99,08         |
| Fenistil® gél     | 50                      | 49,48 $\pm$ 1,53                        | 98,97         |

ne boli analyzované vodné roztoky troch jeho liekových foriem. Vzorky boli pripravené riedením zásobného roztoku (kapsule, gél) alebo priamo liekovej formy (kvapky) demineralizovanou vodou na koncentráciu 100 mg/l tesne pred analýzou. Na obrázku 2 sú uvedené reálne izotachforeogramy troch liekových foriem dimetindenu v elektrolytovom systéme č. 2. Z uvedených záznamov je zrejmé, že za daných pracovných podmienok neinterferujú žiadne iné zložky prítomné v analyzovaných vzorkách, čo potvrdzuje selektivitu stanovenia.

Pri voľbe koncentračných oblastí pre meranie kalibračných závislostí sa vychádzalo zo zloženia liekov. Linearita bola hodnotená na piatich rôznych koncentráciách v rozsahu kalibračných meraní 40 až 200 mg/l dimetindenu pre obidva elektrolytové systémy. Vyhodnotením kalibračných závislostí  $y = a + bx$  boli získané regresné rovnice, ktorých parametre sú uvedené v tabuľke 1. Hodnoty korelačných koeficientov sú blízke jednej, čo potvrdzuje dobrú linearitu kalibračných závislostí. Smerodajné odchýlky zodpovedajú presnosti metódy.

Presnosť izotachoretického stanovenia bola hodnotená na základe opakovaných stanovení ( $n=6$ ) roztoku štandardu, pričom vzorky boli analyzované v priebehu jedného dňa s použitím rovnakých pracovných roztokov. Relatívna smerodajná odchýlka ( $s_r$ ) týchto stanovení má hodnotu 1,28 % pre el. systém č. 1 a 1,61 % pre el. systém č. 2. Pre posúdenie reprodukovateľnosti boli pripravené a analyzované vzorky ( $n=6$ ) za rovnakých pracovných podmienok. Analýzu vykonával iný pracovník

reálne vzorky, má hodnotu 8 mg/l a za medzu stanovenia možno pokladať koncentráciu 16 mg/l. Pri analýzach reálnych vzoriek bolo použitie hydrodynamicky zatvoreného separačného systému (využívajú kapiláry s vnútornými priermi  $>300$  nm) výhodou, pretože takýmto spôsobom bolo možné zvýšiť separačnú kapacitu.

Validovaná metóda bola použitá na stanovenie dimetindenu v troch liekových formách (kapsule, kvapky, gél), pričom výsledky jednotlivých stanovení sú uvedené v tabuľke 2. Správnosť metódy je vyjadrená ako výťažnosť (%), ktorá bola hodnotená kompletnou analýzou šiestich modelových vzoriek metódou štandardného prídavku (50 %). Výsledky analýz uvádza tabuľka 3. Keďže hodnoty výťažnosti boli blízke 100 %, môžeme metódu považovať za správnu.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že nami navrhnutá metodika je jednoduchá, rýchla, presná, selektívna a poskytuje reprodukovateľné výsledky. V porovnaní s titračným stanovením alebo s neselektívnym spektrofotometrickým stanovením predstavuje zjednodušenie ako aj zvýšenie selektivity stanovenia. V porovnaní s HPLC stanovením je ITP metóda komerčne menej náročná a v prípade sériových analýz aj ekologickejšia. Vypracovaná metodika je použiteľná i na stanovenie dimetindenu v iných liekových formách.

Práca je súčasťou výskumného programu podporovaného v rámci grantových úloh č. 1/1196/04 a č. 1/2310/05 grantovou agentúrou MŠ SR VEGA.

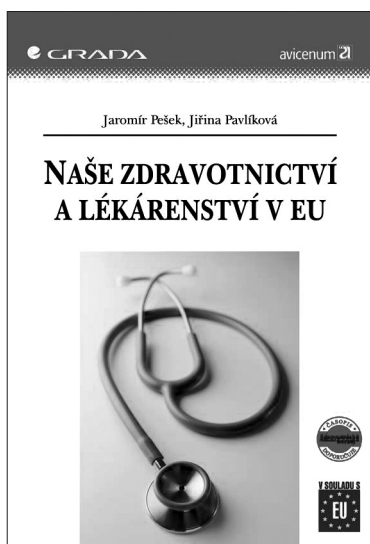
## LITERATÚRA

1. **Vávrová, H.:** Remedia, 2001; 11, 47-54.
2. **Heuermann, M., Blaschke, G.:** Pharmazie, 1993; 48, 74-75.
3. **Heuermann, M., Blaschke, G.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 1994; 12, 753-760.
4. **Rudolf, J., Blaschke, G.:** Enantiomer, 1999; 4, 317-323.
5. **Chankvetadze, B., Schulte, G., Bergenthal, D., Blaschke, G.:** J. Chromatogr., 1998; 798, 315-323.
6. **Chankvetadze, B., Pintore, G., Burjanadze, N. et al.:** J. Chromatogr., 2000; 875, 455-469.
7. **Matsunaga, H., Tanimoto, T., Haginaka, J.:** J. Sep. Sci., 2002; 25, 1175-1182.
8. **Chollet, D. F., Bibas, P., Anderegg, G. et al.:** J. Chromatogr. B, 1998; 707, 334-337.
9. **Chollet, D., Künstner, P., Wermeille, M.:** J. Chromatogr., 1993; 629, 89-93.
10. **Prien, D., Blaschke, G.:** J. Chromatogr. B, 1997; 688, 309-318.
11. **Radler, S., Blaschke, G.:** J. Chromatogr. B, 1991; 567, 229-239.
12. **Prien, D., Rehn, D., Blaschke, G.:** Arzneimittel-Forsch, 1997; 47, 653-658.
13. **Kauert, G., Herrle, I., Wermeille, M.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 1993; 617, 318-323.
14. **Elragehy, N. A., Badawy, A. M., Elkhateeb, S. Z.:** Anal. Lett., 1995; 28, 2363-2378.
15. **European Pharmacopoeia, 4th edition.** Strassbourg, Council of Europe, 2002, s.1056.

Došlo 24. 2. 2005.

Přijato ke zveřejnění 15. 6. 2005.

PharmDr. Peter Kubačák  
 Odbojárov 10, 832 32 Bratislava  
 e-mail: kubacak@fpharm.uniba.sk



## NAŠE ZDRAVOTNICTVÍ A LÉKÁRENSTVÍ V EU

Jaromír Pešek, Jiřina Pavlíková

Příručka je určena pro subjekty působící v oblasti zdravotnictví v období po vstupu ČR do EU. Najdete zde základní informace o EU, přehled vybraných právních předpisů, informace výrobcům, dovozcům, distributorům, a prodejcům zdravotnických prostředků.

Vydala Grada Publishing v roce 2005. ISBN 80-247-1392-6, kat. číslo 3000, A5, brož. vazba, 152 stran, cena 195 Kč.

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz