

IZOTACHOFRETICKÉ STANOVENIE DESLORATADÍNU V TABLETÁCH A SIRUPE

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

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

SÚHRN

Izotachoforetické stanovenie desloratadínu v tabletách a sirupe

Desloratadín bol stanovovaný v dvoch liekových formách (tablety, sirup) metódou kapilárnej izotachofórey. Bolo preskúšaných niekoľko elektrolytových systémov s rôznym zložením a rôznym pH. Pre validáciu metódy a stanovenie desloratadínu v reálnych vzorkách 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 desloratadínu 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 izotachofóreza – desloratadín – tablety – sirup – validácia

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 266–269

SUMMARY

Isotachophoretic Determination of Desloratadine in Tablets and Syrup

Desloratadine was determined in two dosage forms (tablets and syrup) with the use of the method of capillary isotachopheresis. Several electrolyte systems of varying composition and varying pH were tested. Two electrolyte systems were selected for the validation of the method and determination of desloratadine in real samples. In both electrolyte systems, the precision, correctness, linearity, robustness, and selectivity of the ITP method were evaluated. The pre-treatment of the sample prior to analysis consisted in dissolving and diluting the pertinent desloratadine-containing dosage form with demineralized water to the required concentration. This pre-treated sample was fed directly to the apparatus.

K e y w o r d s: capillary isotachopheresis – desloratadine – tablets – syrup - validation

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 266–269

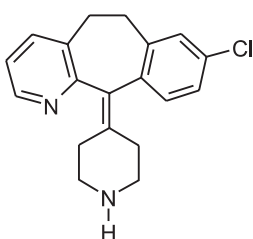
Má

Úvod

Desloratadín [(8-chloro-6,11-dihydro-11-(4-piperidinylidén)-5H-benzo-[5,6] cyklohepta[1,2-b]pyridín] (obr. 1) je tricyklické H_1 -antihistaminikum druhej generácie s vysokou špecificitou k H_1 -receptorom a s imunomodulačným účinkom, pričom nemá centrálné tlmivé ani kardiovaskulárne účinky. Je aktívnym metabolitom loratadínu s dlhším biologickým polčasom eliminácie, čo umožňuje jeho dávkovanie jedenkrát denne. Po perorálnom podaní selektívne blokuje periférne histamínové H_1 -receptory, pretože neprestupuje do centrálného nervového systému. Desloratadín inhibuje degranuláciu žírnych buniek a znižuje koncentráciu prozápalových interleukínov IL-3, IL-6, TNF- α a GM-CSF. Je indikovaný u pacientov so sezónnou alergickou rinitídou a s chronickou idiopatickou urtikáriou ¹⁾.

Stanovením desloratadínu v rôznych maticiacich sa zaoberalo niekoľko publikovaných prác. Z elektromigračných metód sa na jeho stanovenie (ako nečistoty) využila len kapilárna zónová elektroforéza (CZE) pri analýze substancie loratadínu ²⁾. Najviac publikovaných prác sa týkalo metód HPLC ³⁻⁷⁾ a LC/MS/MS ⁸⁻¹²⁾, ktoré boli využité pri stanovení desloratadínu v plazme alebo liekových formách. Iné publikované metódy využité pri jeho stanovení boli GC v ľudskej plazme ¹³⁾ a spektrofotometria v tabletách ¹⁴⁾. Monografia desloratadínu nie je zatiaľ uvedená ani v Slovenskom ani v Európskom liekopise.

Cieľom práce bolo vypracovanie podmienok pre separáciu, identifikáciu a kvantifikáciu desloratadínu v dvoch jeho liekových formách (Aerius obalované tablety a Aerius sirup) metódou kapilárnej izotachofórey (ITP) v jednej analýze, ako aj zhodnotenie validačných parametrov použitej metodiky.



Obr. 1. Vzorec desloratadínu

POKUSNA ČASŤ

Chemikálie a roztoky

Elektrolytové systémy pre ITP analýzu mali nasledujúce zloženie:

Systém č. 1

Vodiaci elektrolyt: $1 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ 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⁻¹ kyselina glutámová.

Systém č. 2

Vodiaci elektrolyt: $1 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ 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⁻¹ β-alanín.

Roztoky vodiacich a zakončujúcich elektrolytov boli získané z Chemického ústavu PRIF UK v Bratislave. Desloratadín dodala MP Biomedicals, Inc., USA, Aeries obalované tablety (obsah desloratadínu 5 mg v 1 tablete) a Aeries sirup (obsah desloratadínu 0,5 mg v 1 ml sirupu) boli od výrobcu Schering-Plough Labo N.V., Heist-op-den-Berg, Belgicko. 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

Desať filmom obalených tabliet s obsahom desloratadínu bolo zvážených a následne homogenizovaných. Množstvo zmesi zodpovedajúce 5 mg desloratadínu bolo suspendované v 50 ml demineralizovanej vody a umiestnené do ultrazvukového kúpeľa na 10 minút. 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).

Sirup s obsahom desloratadínu bol riedený priamo pred analýzou na požadovanú koncentráciu (100 mg/l) a dávkaný 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, teplo laboratórna, dĺžka analýzy 6 minút.

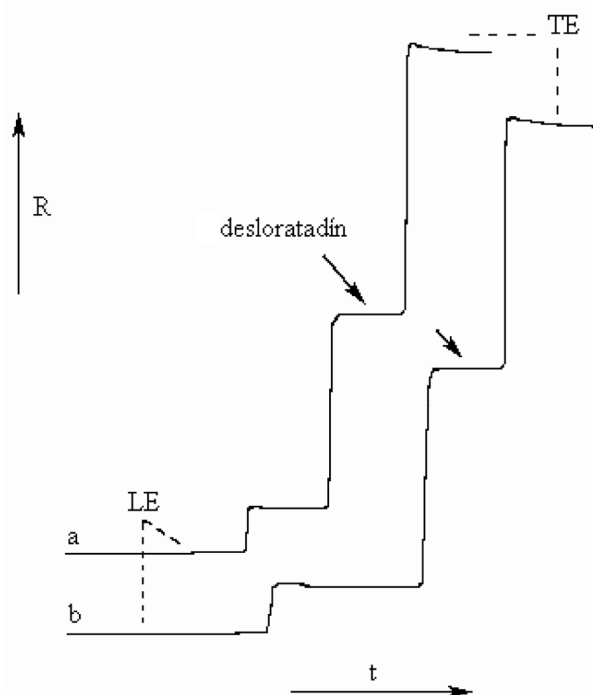
Tab. 1. Linearita ITP metódy pre stanovenie desloratadínu v elektrolytovom systéme č. 1 a č. 2

Linearita $y = a + bx$	elktrolyt. systém č. 1	elktrolyt. systém č. 2
úsek na y osi a	0,2475	0,2918
smernica b	0,1594	0,1472
smerodajná odchýlka s (mg/l)	0,2749	0,2528
korelačný koeficient r	0,9993	0,9995

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Práca sa zaoberá sledovaním podmienok pre separáciu, identifikáciu a stanovenie desloratadínu v dvoch jeho liekových formách (Aeries obalované tablety a Aeries sirup) metódou kapilárnej izotachofórey (ITP). Pretože ide o základné liečivo, merania boli robené v kationickom režime separácie, pričom sa overovalo niekoľko elektrolytových systémov. Pre validáciu metódy a stanovenie desloratadínu v reálnych vzorkách boli vybrané dva elektrolytové systémy s rôznym zložením a rôznym pH.

Linearita bola hodnotená na piatich rôznych koncentráciách v rozsahu kalibračných meraní 40 až 200 mg/l desloratadínu pre obidva elektrolytové systémy. Vyhodnotením



Obr. 2. Izotachoforeogramy vodných roztokov dvoch liekových foriem desloratadínu: Aeries obalované tablety (a) a Aeries sirup (b) v elektrolytovom systéme č. 2

Koncentrácia desloratadínu 100 mg/l, dávkaný objem 30 μl, hnací prúd 250 μA, LE – vodiaci elektrolyt, TE – zakončujúci elektrolyt, R, t – rastúci odpor a čas.

Tab. 2. Stanovenie desloratadínu v obidvoch 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
Aerius obalené tablety	5,0 mg/1 tabletu	99,14 $\pm$ 1,28	99,21 $\pm$ 1,32
Aerius sirup	0,5 mg/1 ml sirupu	100,85 $\pm$ 1,49	101,16 $\pm$ 0,61

Tab. 3. Hodnoty výťažnosti ITP metódy zistené štandardným prídavkom desloratadínu 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 (%)
Aerius obalené tablety	50	49,58 $\pm$ 0,73	99,17
Aerius sirup	50	49,46 $\pm$ 0,86	98,92

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 izotachoforetického stanovenia bola hodnotená na základe opakovaných stanovení ($n = 6$) roztoku štandardu s koncentráciou 100 mg/l, pričom vzorky boli analyzované v priebehu jedného dňa s použitím rovnakých pracovných roztokov. Relatívna smerodajná odchýlka (s_r) týchto stanovení má hodnotu 1,01 % pre el. systém č. 1 a 0,86 % pre el. systém č. 2. Pre posúdenie reprodukovateľnosti boli pripravené a analyzované vzorky ($n = 6$) za rovnakých pracovných podmienok. Analýzu vykonával iný pracovník, za použitia iných roztokoch, ktorých zloženie však bolo rovnaké ako v predchádzajúcom prípade. Relatívna smerodajná odchýlka (s_r) pre tieto stanovenia má hodnotu 1,12 % pre el. systém č. 1 a 0,92 % 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 desloratadínu dosiahnutý za pracovných podmienok, pri ktorých sa analyzovali reálne vzorky, má hodnotu 7 mg/l a za medzu stanovenia možno pokladať koncentráciu 13 mg/l. Pri analýzach reálnych vzoriek bolo použitie hydrodynamicky zatvoreného separačného systému (využívajú kapiláry s vnútornými priermi $>300\text{nm}$) výhodou, pretože takýmto spôsobom bolo možné zvýšiť separačnú kapacitu.

Validovaná metóda bola použitá na stanovenie desloratadínu v dvoch liekových formách (obaľované tablety a sirup), pričom výsledky jednotlivých stanovení sú uvedené v tabuľke 2. Vzorky boli pripravené riedením zásobného roztoku (tablety) alebo priamo liekovej formy (sirup) demineralizovanou vodou na koncentráciu 100 mg/l tesne pred analýzou. Na obrázku 2 sú uvedené reálne izotachforeogramy dvoch liekových foriem

desloratadínu 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.

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 vhodná na rutinné stanovenia desloratadínu v rôznych liekových formách. Celkový čas týchto ITP analýz je relatívne krátky, keďže jedna analýza trvá približne šesť minút. Metóda 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 desloratadínu v iných liekových formách alebo ako preseparačná a prekoncentračná technika pri on-line spojení metód ITP-CZE.

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

- Geha, R. S., Meltzer, E. O.: J. Allergy Clin. Immunol., 2001; 107, 751-762.
- Fernandez, H., Ruperez, F. J., Barbas, C.: J. Pharm. Biomed. Anal., 2003; 31, 499-506.
- Zhong, D., Blume, H.: Pharmazie, 1994; 49, 736 až 739.
- El Ragehy, N. A., Badawey, A. M., El Khateeb, S. Z.: J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 28, 1041-1053.
- Ruperez, F. J., Fernandez, H., Barbas, C.: J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 29, 35-41.
- Yin, O. Q. P., Shi, X. J., Chow, M. S. S.: J. Chromatogr. B, 2003; 796, 165-172.
- Liu, L. H., Qi, M. L., Wang, P., Li, H. Z.: J. Pharm. Biomed. Anal., 2004; 34, 1013-1019.
- Sutherland, F. C. W., de Jager, A. D., Badenhorst, D. et al.: J. Chromatogr. A, 2001; 914, 37-43.

9. **Yang, L. Y., Wu, N., Rudewicz, P. J.:** J. Chromatogr. A, 2001; 926, 43-55.
10. **Zhang, Y. F., Chen, X. Y., Zhong, D. F., Dong, Y. M.:** Acta Pharmacol. Sin., 2003; 24, 715-718.
11. **Yang, L. Y., Clement, R. P., Kantesaria, B. et al.:** J. Chromatogr. B, 2003; 792, 229-240.
12. **Weng, N. D., Addison, T., Schneider, T. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2003; 32, 609-617.
13. **Johnson, R., Christensen, J., Lin, C. C.:** J. Chromatogr. B, 1994; 657, 125-131.
14. **Patel, J. M., Talele, G. S., Fursule, R. A.:** Asian J. Chem., 2004; 16, 1220-1222.

Došlo 24. 3. 2005.

Přijato ke zveřejnění 15. 6. 2005.

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

NOVÉ KNIHY

Remko, M.: **Základy medicínskej a farmaceutickej chémie.** Slovak Academic Press, Bratislava, 2005, 391 s. ISBN 80-89104-64-9.

Prof. Ing. Milan Remko, DrSc., vysokoškolský učiteľ Katedry farmaceutickej chémie FaF UK v Bratislave po úspešnej monografii „Metódy výskumu a vývoja liečiv“ (SAP, Bratislava, 1999) a monografii „Molekulové modelovanie. Princípy a aplikácie“ (SAP, Bratislava, 2000) vytvoril logickú syntézu z týchto problematík, ktorá vyústila do napísania ďalšej úspešnej monografie „Základy medicínskej a farmaceutickej chémie“.

Rozsiahlu materiú poznatkov, ktoré tvoria vlastne teoretický základ farmaceutickej chémie v recenzovanom diele autor rozdelil do 10 komplexných kapitol.

V nich po úvodných definíciách a objasnení koncepcie tohoto vedeckého odboru, rámcovo zhodnocuje súčasný stav a perspektívy v najbližšej budúcnosti.

V ďalšej časti osobitnú pozornosť venuje vývoju liečiv na báze najnovších poznatkov, v ktorých diskutuje klady a zápory tej ktorej metódy.

Následne sa potom zaoberá miestami, kde liečivo účinkuje a analyzuje mechanizmu účinku liečiv s dôrazom na definovanie väzby liečiv na receptory, kanály, transportéry, enzýmy, synaptickú transmisu a nukleové kyseliny.

Pre potreby praktického využívania je veľmi dôležitá časť stratégie výskumu a vývoja liečiv, v ktorej sú objasňované klasické, ale hlavne moderné metódy projekcie liečiv a pokrok, ktorý v nich bol zaznamenaný s nástupom metód výpočtovej techniky a poznatkov molekulových vied.

V druhej polovici monografie sa M. Remko ďalej venuje objasňovaniu vzťahov medzi štruktúrou a aktivitou, úlohe, významu fyzikálno-chemických vlastností a parametrov liečiv a stručne ilustruje základy biotransformácie liečiv.

V záverečných kapitolách monografie sa venuje problémom s farmaceutickým a chemickým zložením liečiv, výrobou liečiv a liekov a problémom súčasného farmaceutického priemyslu.

Analýza obsahu, koncepcie a i výberu poznatkov, ktoré M. Remko do monografie zaradil, ukazuje, že sa mu podarilo zhrnúť najdôležitejšie poznatky z farmaceutickej chémie a jej teoretických aspektov. Týmto sa vytvorili základné predpoklady k úspešnému štúdiu jej systematickej časti, ktorú tvoria jednotlivé farmakologické skupiny súčasných známych liečiv.

Pozitívnym prínosom monografie je i skutočnosť, že obsahuje prehľad najdôležitejšej ďalšej monografickej a učebnicovej literatúry, ktorá bola vydaná za ostatné roky.

Na základe jej obsahu recenzovanú monografiu možno doporučiť všetkým tým, ktorý sa zaoberajú výskumom liečiv vo všetkých etapách procesu od projekcie liečiv až po jeho zavedenie do praxe.

Som presvedčený, že sa stane vyhľadávanou učebnou pomôckou študentov farmaceutických, ale i chemických a prírodovedeckých fakúlt pre jej široko spektrálne, všestranné zameranie a aktuálnosť popisovaných poznatkov. Okrem tohoto sa môže veľmi racionálne využiť v postgraduálnom štúdiu farmaceutov a chemikov.

Vydanie monografie M. Remka na základe komplexnej analýzy hodnotím ako významný edičný čin, ktorý obohacuje základnú farmaceutickú literatúru a dôležitý a potrebný titul. Pre svoje široké rozpätie môže slúžiť aj ako učebnica pre teoretické aspekty farmaceutickej chémie v pre a postgraduálnom štúdiu.

J. Čižmárik