Farmacie 2/05 22.2.2005 13:52 Stránka 86
proLékaře.cz | 1.9.2025

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LIV – Číslo 2 – BŘEZEN 2005

VYUŽITIE KAPILÁRNEJ IZOTACHOFORÉZY NA STANOVENIE FENIRAMÍNU V GRANULOVANÝCH PRÁŠKOCH

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

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

SÚHRN

Využitie kapilárnej izotachoforézy na stanovenie feniramínu v granulovaných práškoch

Feniramín bol stanovovaný v granulovaných práškoch metódou kapilárnej izotachoforézy. Bolo preskúšaných niekoľko elektrolytových systémov s rôznym zložením a rôznym pH. Pre validáciu metódy a stanovenie feniramínu 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 granulovaného prášku s obsahom feniramínu v demineralizovanej vode a následnom nariedení demineralizovanou vodou na požadovanú koncentráciu.

K ľ ú č o v é s l o v á: izotachoforéza – feniramín – liek –granulované prášky – validácia

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 86–89

SUMMARY

Use of Capillary Isotachophoresis for the Determination o Pheniramine in Granulated Powders

The method of capillary isotachophoresis was used to assay pheniramine in granulated powders. Several electrolyte systems of different composition and different pH were tested. Two electrolyte systems were selected for the validation of the method and pheniramine determination in real samples. Precision, accuracy, linearity, robustness, and selectivity of the ITP method for both electrolyte systems were evaluated. The pre-treatment of samples prior to analysis consisted in dissolving pheniramine-containing granulated powder in demineralized water and subsequent diluting with demineralized water to required concentration.

K e y w o r d s: isotachophoresis – pheniramine – drug – granulated powders – validation

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 86–89 *Má*

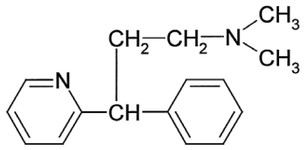
Úvod

Granulované prášky FERVEX® s obsahom feniramínu, paracetamolu a kyseliny askorbovej sú indikované pri liečbe príznakov prechladnutia, alergickej (sennej) nádchy, chrípkových ochorení a zápaloch nosovej sliznice a hrtana. Antipyretikum a analgetikum paracetamol v prípravku znižuje horúčku a bolesti hlavy a svalov; antihistaminikum feniramín zmierňuje zápal nosovej sliznice, nádchu, slzenie a svrbenie očných spojiviek; kyselina askorbová dodáva potrebné množstvo vitamínu C, ktorého spotreba je pri horúčke a chorobách z prechladnutia zvýšená.

Feniramín (obr. 1) patrí medzi H_1–antihistaminiká 1. generácie a podľa chemickej štruktúry sa zaraďuje do skupiny alkylamínov. Terapeutické dávky pre dospelých sú 20–40 mg feniramínu trikrát denne. Väčšinou je súčasťou multikomponentných liekov, užívaných proti prejavom alergických reakcií, ako dekongestívum [1].

V literatúre je veľmi malý počet prác zaoberajúcich sa stanovením feniramínu. Kapilárna zónová elektroforéza (CZE) bola použitá na stanovenie jeho enantiomérov v tabletách [2] a pri určovaní enantiomérnej čistoty dexchlórfeniramín maleinátu [3]. Kombinácia GC a MS bola použitá na stanovenie loratadínu a feniramínu v ľudskom sére [4] a HPLC na stanovenie piatich antihistaminík vrátane feniramínu v liekoch [5]. Slovenský liekopis [6] aj Európsky liekopis [7] predpisuje pre stanovenie feniramínu acidimetrickú titráciu kyselinou chloristou v bezvodnom prostredí za poteciometrickej indikácie ekvivalenčného bodu.

proLékaře.cz | 1.9.2025



Obr. 1. Vzorec feniramínu

Cieľom práce bolo vypracovanie podmienok pre separáciu, identifikáciu a kvantifikáciu feniramínu v granulovaných práškoch FERVEX® metódou kapilárnej izotachoforézy (ITP) v jednej analýze, ako aj zhodnotenie validačných parametrov použitej metodiky.

POKUSNÁ ČASŤ

Chemikálie a roztoky

Elektrolytové systémy pre ITP analýzu mali nasledujúce zloženie:

Systém č.1

Vodiaci elektrolyt: 1.10^{-2} mol.l^{-1} octan draselný a kyselina octová ako protiión do výslednej hodnoty pH 4,0 a 0,1% m-hydroxyetylcelulóza ako aditívum.

Zakončujúci elektrolyt: 5.10^{-3} mol.l^{-1} β–alanín.

Systém č.2

Vodiaci elektrolyt: 1.10^{-2} mol.l^{-1} octan sodný a kyselina octová ako protiión do výslednej hodnoty pH 4,9 a 0,2% m-hydroxyetylcelulóza ako aditívum.

Zakončujúci elektrolyt: 1.10^{-2} mol.l^{-1} β–alanín.

Roztoky vodiacich a zakončujúcich elektrolytov boli získané z Chemického ústavu PRIF UK v Bratislave. Feniramín maleinát dodala MP Biomedicals, Inc., USA a granulované prášky FERVEX® boli od výrobcu Laboratoires UPSA, Francúzsko (obsah feniramínu 25 mg v 1 prášku). 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

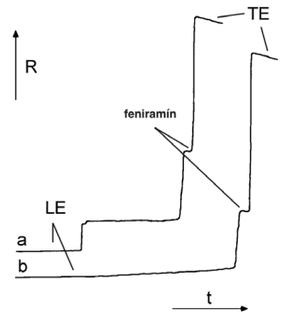
Obsah desiatich granulovaných práškov s obsahom feniramínu bol zvážený a následne homogenizovaný. Množstvo prášku zodpovedajúce 25 mg feniramínu bolo rozpustené v 100 ml demineralizovanej vody. Z tohto roztoku sa pred analýzou pripravili merané vzorky riedením demineralizovanou vodou v pomere 1:20.

Prístroje

Izotachoforetické merania boli uskutočnené na prístroji CS Isotachophoretic Analyser (Villa–Labeco, Spišská Nová Ves, SR) v jednokolónovom usporiadaní (dĺžka 160 mm, vnútorný priemer 300 µm) a vodivostnou detekciou. Zber dát a vyhodnocovanie výsledkov bolo realizované počítačom. ITP analýzy boli uskutočnené v kationickom režime s priamym injektovaním vzoriek, dávkovaný objem 30 µl, hnací prúd 50 µA, teplota laboratórna, dĺžka analýzy 15 minút.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V práci boli sledované podmienky na ITP separáciu, identifikáciu a stanovenie feniramínu v granulovaných práškoch FERVEX®. Keďže ide o bázické liečivo, merania boli robené v kationickom režime, pričom sa overovalo niekoľko elektrolytových systémov. Pre validáciu metódy a stanovenie feniramínu v reálnych vzorkách boli vybrané dva elektrolytové systémy. V obidvoch elektrolytových systémoch bolo stanovenie feniramínu v granulátoch uľahčené tým, že ostatné zložky prípravku (paracetamol a kyselina askorbová) za daných podmienok ako katióny nemigrovali.



Obr. 2. Izotachoforeogram vodného roztoku granulovaného prášku FERVEX® v elektrolytovom systéme č. 1 (a) a v elektrolytovom systéme č. 2 (b)
Koncentrácia feniramínu 0,012 mg/ml, dávkovaný objem 30 µl, hnací prúd 50 µA, LE – vodiaci elektrolyt, TE – zakončujúci elektrolyt, R,t – rastúci odpor a čas

Vlastná analýza bola robená najprv so štandardným roztokom feniramínu s koncentráciou 0,010 mg/ml a následne bol analyzovaný vodný roztok granulovaného prášku. Vzorky boli pripravené riedením zásobného roztoku demineralizovanou vodou v pomere 1:20 tesne pred analýzou. Na obrázku 2 sú uvedené reálne izotachoforeogramy granulátov v obidvoch elektrolytových systémoch. Z uvedených záznamov je zrejmé, že za daných pracovných podmienok neinterferujú žiadne iné zložky prítomné v analyzovaných granulátoch, čo potvrdzuje selektivitu stanovenia.

Pri voľbe koncentračných oblastí pre meranie kalibračných závislostí sa vychádzalo zo zloženia lieku. Linearita bola hodnotená na piatich rôznych koncentráciách v rozsahu kalibračných meraní 0,010 až 0,050 mg/ml feniramínu 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.

Výsledky stanovenia feniramínu sú uvedené v tabuľke 1. Presnosť izotachoforetického stanovenia bola hodnotená na základe opakovaných stanovení roztokov štandardov ako aj granulovaných práškov riedených demineralizovanou vodou v potrebnom pomere. Výsledná koncentrácia feniramínu v roztoku granulovaného prášku po zriedení bola 0,012 mg/ml.

V tabuľke 2 sú uvedené výsledky stanovení feniramínu v jednotlivých granulovnaých práškoch spolu s relatívnymi smerodajnými odchýlkami. Zistený obsah fenilamínu je v rozsahu 95,23–103,15 % priemerného obsahu, takže uvedený prípravok spĺňa požiadavku Slovenského liekopisu 1 na obsahovú rovnorodosť jednodávkových liekov

proLékaře.cz | 1.9.2025

Tab. 1. Linearita, opakovateľnosť, reprodukovateľnosť, správnosť a rozmedzie presnosti ITP metódy stanovenia feniramínu v granulovaných práškoch 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*	0,5512	0,5581
smernica *b*	477,12	485,46
smerodajná odchýlka *s* (mg/ml)	0,2676	0,2749
korelačný koeficient *r*	0,99956	0,99903
Opakovateľnosť		
elktrolyt.	elktrolyt. systém č. 1	systém č.2
priem. hodnota obsahu (mg)	24,2700	24,890
interval spoľahlivosti $L_{1,2}$(mg)	24,1517–24,3883	24,7635–25,0165
smerodajná odchýlka *s* (mg)	0,1681	0,1796
relat. smer. odchýlka s_R (%)	0,6927	0,7216
Reprodukovateľnosť		
	elktrolyt. systém č.1	elktrolyt. systém č.2
priem. hodnota obsahu (mg)	24,3600	25,0900
interval spoľahlivosti $L_{1,2}$ (mg)	24,2396–24,4804	24,9609–25,2191
smerodajná odchýlka *s* (mg)	0,1709	0,1832
relat. smer. odchýlka s_R (%)	0,7015	0,7302
Správnosť		
	elktrolyt. systém č.1	elktrolyt. systém č.2
priem. hodnota výťažnosti(%)	99,4400	100,2700
interval spoľahlivosti $L_{1,2}$ (%)	97,92–100,9600	98,50–102,0400
smerodajná odchýlka *s* (%)	2,1543	2,5187
relat. smer. odchýlka s_R (%)	2,1664	2,5120
Rozmedzie presnosti (Studentov t–test)		
kritická hodnota pre $\alpha = 0,05$ pre stupeň voľnosti 10 je $t_K = 2,228$		
	elktrolyt. systém č.1	elktrolyt. systém č.2
hodnota t_0	0,7628	0,8153

(z desiatich náhodne vybraných jednotiek nesmie byť viac ako jeden jednotlivý obsah mimo rozpätia 85–115 % priemerného obsahu a žiadny nesmie byť mimo rozpätia 75–125 % priemerného obsahu).

Vzorky boli analyzované v priebehu jedného dňa s použitím rovnakých pracovných roztokov. Pre posúdenie reprodukovateľnosti boli pripravené a analyzované vzorky za rovnakých pracovných podmienok. Analýzu vykonával iný pracovník, za použitia iných roztokoch, ktorých zloženie však bolo rovnaké ako v predchádzajúcom prípade. Merania boli robené na dvoch prístrojoch, líšiacich sa dĺžkami kapilár. Tolerancia hodnôt pH elektrolytových systémov bola ±0,9 jednotky. Týmto bola zároveň overená robustnosť metódy.

Správnosť metódy je vyjadrená ako výťažnosť (%), ktorá je daná pomerom stanovenej a vypočítanej koncentrácie. Obsah feniramínu v granuláte bol hodnotený kompletnou analýzou desiatich modelových vzoriek metódou štandardného prídavku (50 %). Výsledky analýz uvádza tabuľka 1. Keďže hodnoty výťažnosti boli blízke 100 %, môžeme metódu považovať za správnu.

Detekčný limit pre stanovenie feniramínu dosiahnutý za pracovných podmienok, pri ktorých sa analyzovali reálne vzorky, má hodnotu 0,001 mg/ml a za medzu stanovenia možno pokladať koncentráciu 0,002 mg/ml. Pri analýzach reálnych vzoriek bolo použitie hydrodynamicky zatvoreného separačného systému (využívajú kapiláry s vnútornými priemermi >300 nm) výhodou, pretože takýmto spôsobom bolo možné zvýšiť separačnú kapacitu.

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 feniramínu v iných liekových formách.

Práca je súčasťou výskumného programu podporovaného v rámci grantovej úlohy č. 1/1196/04 grantovou agentúrou MŠ SR VEGA.

LITERATÚRA

1. **Delgado, J. N., Remers, W. A.:** Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1998, s. 660.

Tab. 2. Stanovenie feniramínu v jednotlivých granulovaných práškoch (obsahová rovnorodosť) v elektrolytovom systéme č. 1

Granul. prášok č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
stanovené množstvo (mg)	24,56	23,81	24,90	25,58	24,32	25,17	25,79	24,39	25,48	24,63
hmotnostné percento (%)	98,25	95,23	99,58	102,31	97,26	100,69	103,15	97,54	101,92	98,51
relat. smer. odchýlka (%)	0,63	0,69	0,65	0,74	0,71	0,68	0,71	0,72	0,67	0,66

Farmacie 2/05 22.2.2005 13:55 Stránka 89
proLékaře.cz | 1.9.2025

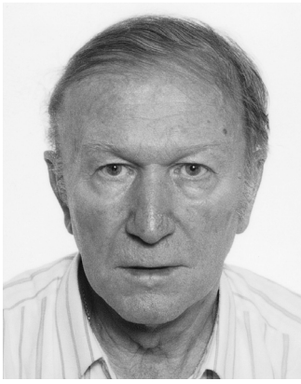
2. **Jin, L. J., Li, S. F. Y.:** J. Chromatogr. B, 1998; 708, 257-266.
3. **Eeckhaut, A. V., Detaevernier, M. R., Michotte, Y.:** J. Chromatogr., 2002; 958, 291-297.
4. **Martens, J.:** J. Chromatogr. B, 1995; 673, 183-188.
5. **Holeman, J. A., Danielson, N. D.:** J. Chromatogr., 1994; 679, 277-284.
6. Slovenský liekopis, 1. vydanie, zväzok V. Bratislava, Herba, 2002, s. 3347.
7. European Pharmacopoeia, 4th edition. Strassbourg, Council of Europe, 2002, s. 1733.

Došlo 1. 4. 2004.
Přijato ke zveřejnění 8. 5. 2004.

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

ZPRÁVY

Životní jubileum doc. RNDr. Jiřího Portycha, CSc.



V sobotu 2. dubna 2005 se dožívá významného životního jubilea – 70 let doc. RNDr. Jiří Portych, CSc., vedoucí katedry lékárenství Institutu postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví a předseda Lékopisné komise Ministerstva zdravotnictví České republiky.

Po promoci pracoval nejprve jako lékárník-asistent v ústavní lékárně Fakultní nemocnice na Karlově náměstí v Praze 2. Po zřízení katedry farmacie tehdejšího Ústavu pro doškolování lékařů přešel v roce 1961 na tuto katedru jako odborný asistent se zaměřením na kontrolu léčiv. Po rozdělení katedry farmacie na tři farmaceutické katedry pracoval jako odborný asistent katedry lékárenství a od roku 1990 tuto vede. Jako pracovník Institutu se doc. Jiří Portych, CSc. podílí stále na dalším vzdělávání farmaceutů, především v oblasti lékárenské péče. Významně přispěl k výchově řady specialistů a k inovaci systému dalšího vzdělávání farmaceutů u nás.

V letech 1991–1993 působil jako ředitel Státního ústavu pro kontrolu léčiv v Praze. Za jeho působení byl ústav rozšířen o kontrolu zdravotnických prostředků a bylo do něj začleněno 9 regionálních laboratoří pro kontrolu léčiv jako detašovaná oddělení kontroly léčiv.V rámci reorganizace ústavu bylo též vytvořeno lékopisné oddělení, které znamenalo další rozšíření lékopisné činnosti v České republice.

Odborný růst jubilanta začal již během studia farmacie zaměřením na kontrolu léčiv. V roce 1967 získal titul doktora přírodních věd na Farmaceutické fakultě Komenského univerzity v Bratislavě, v roce 1976 mu byla udělena hodnost kandidáta věd na téže celostátní fakultě. V roce 1988 byl z rozhodnutí vědecké rady Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové jmenován docentem pro obor farmaceutická chemie.

Od roku 1985 se doc. Jiří Portych, CSc. významně podílí na lékopisné činnosti. Nejprve jako člen chemické sekce Lékopisné komise Ministerstva zdravotnictví ČR, později jako její vedoucí a od roku 1991 jako předseda lékopisné komise. Z titulu této funkce působí v současné době též jako vedoucí národní delegace ČR u Evropské lékopisné komise (ELK) Rady Evropy ve Strasbourgu s cílem spolupráce ČR na tvorbě Evropského lékopisu (Ph. Eur.)

Problematika farmaceutické kontroly, práce pro lékopisnou komisi a činnost jubilanta v dalším vzdělávání farmaceutů, jakož i pedagogická práce na SZŠ a VZŠ formovaly jeho profil uznávaného odborníka a vědeckého pracovníka.

Doc. Jiří Portych, CSc. je autorem 57 původních vědeckých a odborných publikací a přehledných článků, 3 učebních textů a 2 monografií o kontrole léčiv. Monografie Základy farmaceutickej analýzy je velmi ceněna jako učebnice pro další vzdělávání i jako odborná příručka pro provozní kontrolu léčiv v lékárnách.

Uvedený přehled poskytuje jen stručnou informaci o pracovní a odborné činnosti jubilanta. Je třeba zvlášť ocenit jeho výjimečně lidský přístup v jednání, jeho charakterové vlastnosti, jako snaha pomoci druhým a to konkrétně a v čase potřeby, jeho společenský takt a osobní skromnost.

Svou pedagogickou činností jak v systému dalšího vzdělávání, tak ve výuce farmaceutických asistentů si doc. J. Portych, CSc. získal mnoho příznivců a přátel, obdivujících jeho pracovitost a pohodu, která jeho práci provází.

Při příležitosti významného životního jubilea chci jménem svým a svých kolegů poděkovat doc. J. Portychovi, CSc. za jeho práci ve prospěch farmacie a popřát mu do dalších let hlavně zdraví, spokojenost a neutuchající životní elán.

RNDr. Ludmila Krombholzová
katedra lékárenství IPVZ Praha