



Doctoral Thesis

Entwicklung und Evaluation dünnschichtchromatographischer und flüssigchromatographischer Analysemethoden zur Bestimmung der Patienten-Compliance in Plasma und Spontanurin am Beispiel einiger β -Rezeptorenblocker

Author(s):

Renz, Irene Silvia

Publication Date:

1991

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000604593> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 9508

**Entwicklung und Evaluation dünnschichtchromatographischer
und flüssigchromatographischer Analysemethoden zur
Bestimmung der Patienten-Compliance in Plasma und
Spontanurin am Beispiel einiger β -Rezeptorenblocker**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels einer
DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
IRENE SILVIA RENZ
eidg. dipl. Apothekerin
geboren am 14. Februar 1961
von Basel BS und Therwil BL

Angenommen auf Antrag von:
Prof. Dr. X. Perlia, Referent
Prof. Dr. W. Vetter, Korreferent
Dr. W. Pletscher, Korreferent

Zürich 1991

1. Kurzfassung

Mit dem Ziel der Bestimmung der Patienten-Compliance in der Praxis als auch in klinischen Studien wurden in der vorliegenden Arbeit qualitative und quantitative Analysemethoden für den Nachweis bzw. die Bestimmung von einigen β -Rezeptorenblockern im Plasma und in Spontanurin entwickelt. Die Zuverlässigkeit der Methoden wie auch ihre Gültigkeit zur Compliancebestimmung wurde mittels Probanden- und Patientenversuchen evaluiert sowie anhand pharmakokinetischer und statistischer Berechnungen diskutiert.

Zum Nachweis der β -Rezeptorenblocker Atenolol, Metoprolol, Oxprenolol und Pindolol sowie des Diuretikums Chortalidon in Spontanurin wurde eine möglichst einfache Methode verwendet, die die Extraktion der Arzneistoffe mittels Ethylacetat, die anschließende dünnschichtchromatographische Trennung des eingeeengten Extraktes und die Detektion mittels Sprühreagenzien umfasste. Die Nachweisgrenzen bei diesem Verfahren betragen 200 ng/ml Urin für Metoprolol, Oxprenolol und Pindolol und 2 μ g/ml für Atenolol und Chlortalidon. Die Methode wurde am Beispiel von Metoprolol mittels einer quantitativen Bestimmung überprüft. Ein Versuch mit Probanden zeigte, dass die erwähnten Arzneistoffe nach einmaliger Dosis mindestens zwischen 2 - 10 h nach ihrer Einnahme im Spontanurin nachweisbar sind. Bei der Hälfte der Probanden/innen konnte der Arzneistoff auch nach 30 h noch nachgewiesen werden.

Für die Arzneistoffe Metoprolol und Bupranolol wurden quantitative Reversed-phase LC-Methoden mit internem Standard entwickelt. Metoprolol wurde ohne Extraktionsschritt nach Verdünnen (Urin) bzw. Abtrennen der Eiweisse (Plasma) fluorimetrisch bestimmt. Der Gehalt an Bupranolol wurde nach Fest-Phasen-Extraktion (1-ml- C_{18} -Wegwerfsäulen) mit UV-Spektrophotometrie gemessen. Die linearen Bereiche waren für Metoprolol im Plasma 5 - 500 ng/ml, im Urin 10 - 1000 ng/ml und für Bupranolol im Urin 1 - 200 ng/ml.

Die erarbeiteten Methoden gelangten ferner in einer klinischen Studie (23 Patienten) zum Einsatz, die den Vergleich der antihypertensiven Wirksamkeit von Bupranolol-TTS und einer oralen Standardmedikation (Metoprolol-Kapseln) zum Inhalt hatte. In 80% der Proben konnte der betreffende Arzneistoff nachgewiesen werden. Bei 3 Patienten konnte der Arzneistoff in keiner Probe festgestellt werden. Zwischen der Konzentration im Plasma und derjenigen im Urin entsprechender Proben konnte sowohl für Metoprolol als auch für Bupranolol ein linearer Zusammenhang festgestellt werden. Es konnte jedoch keine signifikante Beziehung zwischen der Arzneistoffkonzentration im Plasma und im Urin mit den kardiovaskulären Effekten und den Nebenwirkungen aufgezeigt werden

(quantitativ wie qualitativ). Alle Patienten/innen hatten im Verlauf der Untersuchung mindestens einmal eine Hautreaktion auf das Pflaster, wobei Unterschiede zwischen dem Placebo-Pflaster und dem Wirkstoff-Pflaster nur beim Symptom Hautrötung festgestellt werden konnte. Das Bupranolol-TTS verursachte signifikant mehr Hautrötungen. Wenig Übereinstimmung zeigte sich zwischen der Befragung der Patienten/innen nach Ihrer Compliance mit dem qualitativen Resultat der Arzneistoffbestimmung. Die Befragung nach der Akzeptanz der Arzneiform des Pflasters ergab andere Resultate als frühere Untersuchungen. Das Pflaster wird zwar von den Patienten/innen gut beurteilt, als Wunschmedikation für die Zukunft wurde jedoch deutlich häufiger - wenn auch statistisch nicht signifikant - die Kapsel genannt. Interessant ist, dass zwischen der Compliance nach Aussage der Patienten/innen und der Akzeptanz gegenüber der Arzneiform ein Zusammenhang zu bestehen scheint. 11 von 12 Patienten/innen wünschten sich für die Zukunft diejenige Arzneiform, die sie während der Untersuchung weniger (Häufigkeit und Anzahl) vergessen haben.

Die in der vorliegenden Arbeit erarbeiteten analytischen Methoden haben sich als zuverlässig und praktikabel erwiesen, ihre Aussagekraft bezüglich der Compliance ist jedoch limitiert. Gestützt auf die Probandenversuche und auf pharmakokinetische Berechnungen können mit diesen Verfahren lediglich Patienten/innen mit einer tiefen bis sehr tiefen Compliance erfasst werden. Patienten/innen, die eine falsche Dosierung anwenden oder die einzelne Dosen auslassen, können nicht entdeckt werden.

Arzneistoffbestimmungen im Plasma und im Urin erfassen die Compliance nur an einem bestimmten Zeitpunkt, geben aber keine Auskunft über das weitere Verhalten der Patienten/innen. Anhand eines sequentiellen Stichprobenplans wurde am Beispiel der ambulanten Hypertoniebehandlung diskutiert, dass erst nach der Analyse von 4 Proben, die alle ein negatives Resultat zeigten, die Aussage gemacht werden kann, der Patient oder die Patientin sei in ungenügender Weise compliant.

Summary

This thesis investigates the development of qualitative and quantitative methods to determine β -blockers in plasma and urine for the purpose of testing patient compliance. The validity of the methods was evaluated by analysing samples from healthy subjects and from patients after oral application of β -blockers and discussed in relation to pharmacokinetic and statistic parameters.

To determine the β -blockers atenolol, metoprolol, oxprenolol and pindolol and the diuretic chlortalidon in urine samples, a simple method was used involving an extraction of the agents with ethyl acetate, TLC separation of the concentrated extract and detection with staining reagents. The detection limits were 200 ng/ml for metoprolol, oxprenolol and pindolol and 2 μ g/ml for atenolol and chlortalidon. The method was verified by quantitative analysis of metoprolol samples. The experiment with healthy subjects showed that the drugs mentioned were detectable in urine at 2 - 10 h after ingestion of a small single dose. However in half of the subjects the drugs were detectable even after 30 h.

The quantitative determination of metoprolol and bupranolol was carried out with reversed phase LC using an internal standard. Metoprolol was determined directly in urine after dilution and in plasma after separation of proteins using fluorimetric detection. Bupranolol was measured after solid phase extraction (1-ml- C_{18} -columns) using UV detection. Linearity ranges in standard curves were found to be 5 - 500 ng/ml for metoprolol in plasma, 10 -1000 ng/ml in urine and 1 - 2000 ng/ml for bupranolol in urine.

The methods developed were used in a clinical trial (23 patients) testing the antihypertensive effect of bupranolol as a transdermal therapeutic system (TTS) compared to an oral administration of metoprolol in capsules. The respective drugs were detected in 80 percent of the samples. In 3 patients, the drugs were not detected in any of the samples. Concentrations of metoprolol and bupranolol in plasma and in respective urine samples showed a linear correlation. There was no significant correlation between drug concentration and cardiovascular effect or adverse drug reactions. All of the patients showed at least once dermal side effects at the application site during the test period. Differences between the groups were only significant in the amount of erythema. This symptom was more pronounced in bupranolol patients. Considerable discrepancy was found between patients statements about drug intake and the results of the plasma and urine determinations. The acceptance of the dosage form TTS was lower as reported by other studies. The patients gave a good overall judgement of the TTS, but most of them (statistically not significant) would prefer an oral dosage form. It is

interesting to note that there seemed to be a relationship between the compliance according to the patients' interview and the acceptance of the dosage forms. 11 out of 12 patients preferred that dosage form which they had forgotten to take less often during the study time.

The analytical methods developed showed good reliability and were easy to perform but they have limitations with regard to the evaluation of compliance. Based on the results of the experiments with healthy subjects the compliance tests can only be applied to patients with a very poor compliance. Patients who take wrong doses or who skip single doses can not be detected.

Determinations of a therapeutic agent in plasma or in urine take in account compliance only at the measured time, but are not indicative of compliance during the whole course of therapy. With the help of a sequential sampling plan, it could theoretically be shown that, in the case of antihypertensive therapy, only after analysing 4 samples with negative results, the statistical statement could be made that the patient is only poorly compliant.