

Sulfametoksazol-Trimetoprim İçeren Tabletlerin Çözünme Hızı Deneylerinde Spektrofotometrik Yöntemlerin Uygulanması

Okan ATAY*, Füsün ACARTÜRK**, Nevin ÇELEBİ**

Özet : Çözünme testleri iyi imalat tekniklerinde kullanılan rutin kalite kontrol işlemleridir. Çözünme hızı verileri ilaçların biyoyararlılığının değerlendirilmesinde de yararlanılan önemli parametrelerden biridir.

Bu çalışmanın amacı Sulfametoksazol (SM) ve Trimetoprim (TM) içeren ticari tabletlerin çözünme deneylerinde, SM ve TM'in herhangi bir ayırma işlemi yapılmaksızın iki farklı spektrofotometrik yöntemle (absorbans oranları ve Vierordt) kantitatif tayinidir. Absorbans oranları yönteminde 0.1 N NaOH'li ortamda SM ve TM için sıra ile 256 ve 288 nm'deki absorbans değerlerinden yararlanılmış, isosbestik nokta olarak 278.8 nm seçilmiştir. SM ve TM için bulunan regresyon eşitliklerinde sıra ile 256/278.8 ve 288/278.8 nm'deki absorbans oranları kullanılmıştır. Vierordt yönteminde ise 0.1 N NaOH'de SM ve TM'nin sıra ile 256 ve 288 nm'de saptanan A_1^1 (%1,1 cm) değerleri kullanılmış, bulunan $a = \alpha_2/\alpha_1$ ve $b = \beta_2/\beta_1$ değerlerinden yararlanılmıştır. Ticari tabletlerin çözünme hızı deneyleri USP XXII'deki palet yöntemine göre 0.1 N HCl'de 75 devir/dak'da 37 ± 0.5 °C'de yapılmıştır.

Çözünme verilerinin kinetik değerlendirilmesi bu amaç için yazılmış bir bilgisayar programı (DISSOL) kullanılarak yapılmıştır.

Bu yöntemlerle elde edilen sonuçlar birbirine paraleldir ve USP XXII'de verilen limitlere uymaktadır.

SM ve TM içeren ticari tabletlerin çözünme hızı tayininde her iki yöntemin de rutin olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Geliş tarihi : 8.1.1993

Kabul tarihi : 12.5.1993

Anahtar sözcükler : Sulfametoksazol, Trimetoprim, Absorbans oranı, Vierordt Yöntemi, Çözünme Hızı

Application of Spectrophotometric Methods in the Dissolution Test of Sulphamethoxazole and Trimethoprim Tablets.

Summary : Dissolution test is a regular quality control procedure in good manufacturing practices. Dissolution data is also an important parameter for evaluation of bioavailability of drugs.

The aim of this study was quantitative determination of Sulphamethoxazole (SM) and Trimethoprim (TM) from commercial tablets containing SM and TM by two different spectrophotometric methods (Absorbance ratio and Vierordt) without any separation process in dissolution tests.

In absorbance ratio method, the absorbances at the wavelengths 256 and 288 nm for SM and TM in 0.1 N NaOH, respectively have been obtained and 278.8 nm was chosen as isosbestic point. Regression equations of SM and TM are calculated by using the absorbance ratio at 256 and 278.8 nm for SM and the absorbance ratio at 288 and 278.8 nm for TM.

Absorbances and A_1^1 (%1,1 cm) values for SM and TM have been obtained at 256 and 288 nm'in 0.1 N NaOH, respectively by application of Vierordt method. $a = \alpha_2/\alpha_1$, and $b = \beta_2/\beta_1$ values were calculated and these values were used for evaluation of data. Dissolution tests of commercial tablets were carried out according to USP XXII paddle method in 0.1 N HCl at 75 rpm at 37 ± 0.5 °C.

The dissolution data were assessed for the kinetic of release and dissolution by employing a program (DISSOL) written for this purpose.

The results obtained by these methods were correlated with each other and also met the tolerance limits of the USP XXII.

It was concluded that both methods can be used in routine analysis of SM and TM in dissolution tests of commercial tablets.

Keywords : Sulphamethoxazole, Trimethoprim, Absorbance ratio, Vierordt Method, Dissolution rate.

(*) G.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 06330 Etiler-Ankara.

(**) G.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dah, 06330 Etiler-Ankara.

Giriş

SM-TM içeren tabletler ülkemizde bakterisid amaçla en fazla tüketilen ilaçların arasında yer almaktadır.

Tablet dozaj şekillerinde bulunan etken madde veya maddelerin kabul edilir limitler içinde çözünmesi, ilacın biyoyararlılığını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Bu nedenle 1980'den sonra yayınlanan farmakopelerde çözünme hızı yöntemi ve limitleri yer almaya başlamıştır. USP XXII'de SM-TM içeren tablet için çözünme hızı limitleri verilmiştir. Farmakopede önerilen yöntem yüksek basınçlı sıvı kromatografisidir.

Bu çalışmada ise SM-TM içeren tabletlerin miktar tayini için uyguladığımız iki farklı spektroskopik yöntemin^{1,2} bu tabletlerin çözünme hızı tayininde kullanılma olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan literatür incelemesinde SM ve TM'nin tek başına veya kombine biçimindeki preparatlarının rutin analizleri ve bunların biyolojik sıvılarda saptanması amacı ile susuz ortamda titrasyon^{4,5}, kolorimetri^{6,7} spektrofotometri^{8,9}, türev spektrofotometresi^{10,11} yüksek basınçlı sıvı kromatografisi¹²⁻¹⁵ yöntemlerine rastlanmıştır. Ancak SM-TM içeren tabletlerin çözünme hızı tayin yöntemi olarak USP XXII'de verilen HPLC dışında önerilen başka bir yöntem bulunmamaktadır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmalarda Shimadzu 160-A tipi (kaydedicili) spektrofotometre, Aymes marka 6'lı USP XXII'ye uygun çözünme hızı tayin cihazı kullanılmıştır.

Sentetik karışımların hazırlanmasında kullanılan SM ve TM Roche ilaçları A.Ş.'den sağlanmıştır.

Farklı seri numaralı piyasa örnekleri Ankara'daki değişik eczanelerden sağlanmıştır. Kullanılan örneklerin ticari isimleri yerine kod isimleri kullanılmıştır. Bunlardan BR, KIE, SW, TA kodlu olanları 400 mg SM + 80 mg TM; BFR, KFIE, SFW, TFA ise 800 mg SM + 160 mg TM içermektedir.

Absorbans Oranları Yöntemi

SM ve TM'nin 0.1 N NaOH'deki maksimum absorbans verdiği dalga boyları sıra ile 256 ve 288 nm'dir. Etken maddelerin aynı konsantrasyondaki çözeltilerinin üst üste çekilen spektrumları 278.8 nm (isosbestik nokta) da kesişmektedir. Bu dalga boyunda her iki etken maddenin absorbansları aynı olmaktadır. Etken maddelerin 0.1 N NaOH de farklı konsantrasyonda hazırlanan sentetik karışımlarının 256, 288 ve 278.8 nm ölçülen absorbans değerlerinden yararlanılarak, SM ve TM için ayrı ayrı regresyon denklemleri oluşturulmuştur.

Bu çalışmalarda x değerleri olarak TM için $TM/(TM+SM)$, SM için $SM/(TM+SM)$ konsantrasyon oranları, y değerleri olarak TM için $Abs_{288}/Abs_{278.8}$, SM için $Abs_{256}/Abs_{278.8}$ absorbans oranları kullanılmıştır.

Bulunan denklemlerin eğim ve kesişim değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. SM-TM için Absorbans Oranları Yöntemi Kullanılarak Bulunan Eğim ve Kesişim Değerleri

$y = ax + b$	SM	TM
Eğim (a)	2.46	0.611
Kesişim (b)	0.497	0.525
r^2	0.999	0.999

Piyasa örneklerinde SM ve TM konsantrasyonunu bulmak için (mcg/ml) aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$c = \frac{Q - b}{a} \times \frac{A_{iso}}{a_{iso}} \times 10^3$$

Burada Q değeri, SM için $Abs_{256}/Abs_{278.8}$, TM için $Abs_{288}/Abs_{278.8}$ absorbans oranıdır.

a = Her iki etken madde için saptanan eğim değerleri

b = Her iki etken madde için saptanan kesişim değerleri

A_{iso} = İsosbestik noktada saptanan absorbans değeri

a_{iso} = İsosbestik noktada saptanan absorptivite değeri

(a_{iso} bu çalışmada 22.5 olarak bulunmuştur.)

Vierordt Yöntemi

Bu yöntemde SM ve TM'nin 0.1 N NaOH içinde 256 ve 288 nm'de A_1^i değerleri saptanmıştır. Bulunan değerler Tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. SM-TM için Vierordt Yöntemi Kullanılarak Bulunan Değerler

α_1	α_2	β_1	β_2	a	b	m
671	117	98	250	0.174	2.55	A_2/A_1

α_1 : SM'in 0,1 N NaOH içerisinde 256 nm'deki A_1^i değeri

α_2 : SM'in 0,1 N NaOH içerisinde 288 nm'deki A_1^i değeri

β_1 : TM'in 0,1 N NaOH içerisinde 256 nm'deki A_1^i değeri

β_2 : TM'in 0,1 N NaOH içerisinde 288 nm'deki A_1^i değeri

A_1 : 256 nm de ölçülen toplam absorbens değeri

A_2 : 288 nm de ölçülen toplam absorbens değeri

a = α_2/α_1 b = β_2/β_1 dir.

Piyasa örneklerinde SM ve TM konsantrasyonları için aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır. (konsantrasyonlar mg/100 ml cinsinden verilmiştir.)

$$\text{SM için } c = \frac{A_1}{\alpha_1 \times 10^{-3}} \cdot \frac{b-m}{b-a}$$

$$\text{TM için } c = \frac{A_2}{\beta_2 \times 10^{-3}} \cdot \frac{b(m-a)}{m(b-a)}$$

Çözünme Hızının Tayini :

Tablet içeriğinde bulunan SM ve TM'in çözünme hızları USP XXII'de önerilen palet yöntemine göre yapılmıştır. Çözünme ortamı olarak 900 ml 0.1 N HCl (pH= 1.2) kullanılmıştır. Palet hızı 75 devir/dak. olup, ortam sıcaklığı 37 ± 0.5 °C'ye ayarlanmıştır.

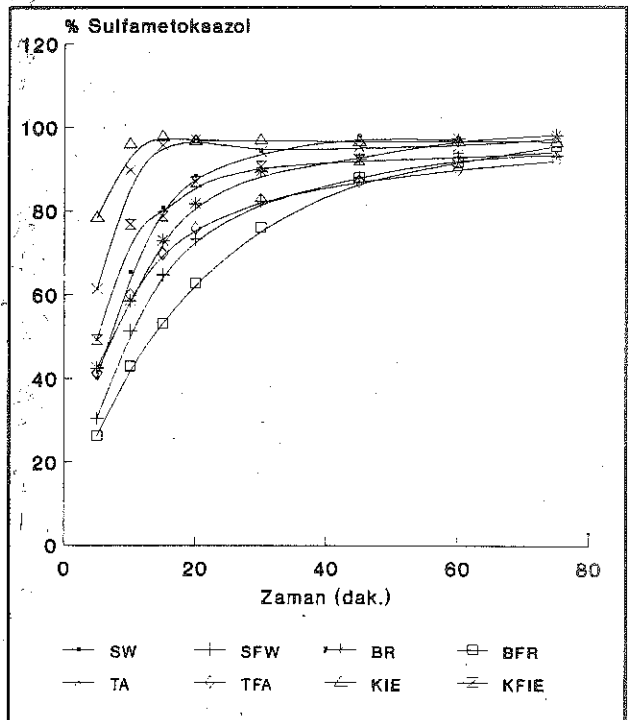
Çözünme ortamından belirli zaman aralıklarında 5 ml örnek alınıp kantitatif süzgeç kağıdından (Whatman 42) süzülmüştür. Ortamdan alınan miktar kadar taze çözelti ortama tekrar ilave edilerek uygulanan spektrofotometrik yöntemle 256, 288 ve 278.8 nm'deki absorbensleri ölçülmüştür. Bulunan absorbens değerleri veya oranları önerilen denklemlerde yerine konularak belli zaman aralıklarında ortamda çözünen etken maddelerin

miktarı saptanmıştır. Bulunan değerlerden çözünen etken maddenin yüzde miktarına geçilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalaması alınarak verilmiştir.

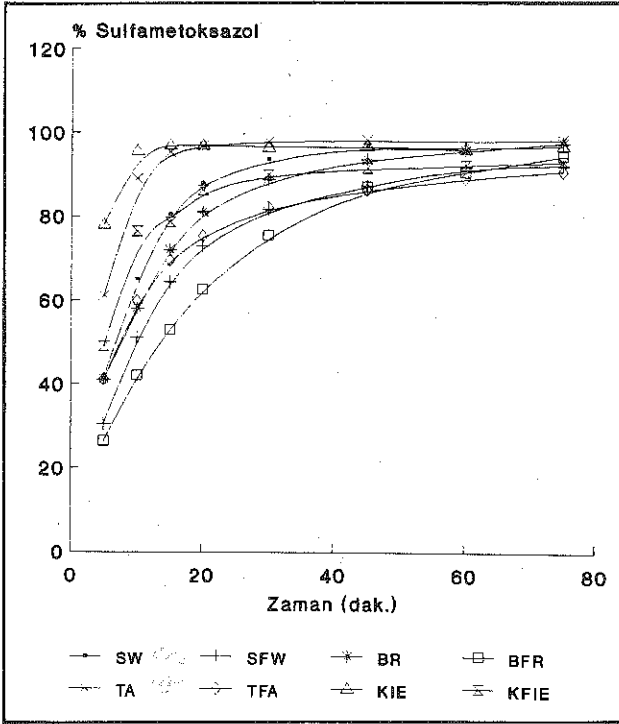
Çözünen madde miktarının yüzde değerleri zamana karşı grafiğe geçirilmiş ve sonuçların kinetik değerlendirilmesi bu amaç için yazılmış bir bilgisayar programı yardımı¹⁶ ile yapılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

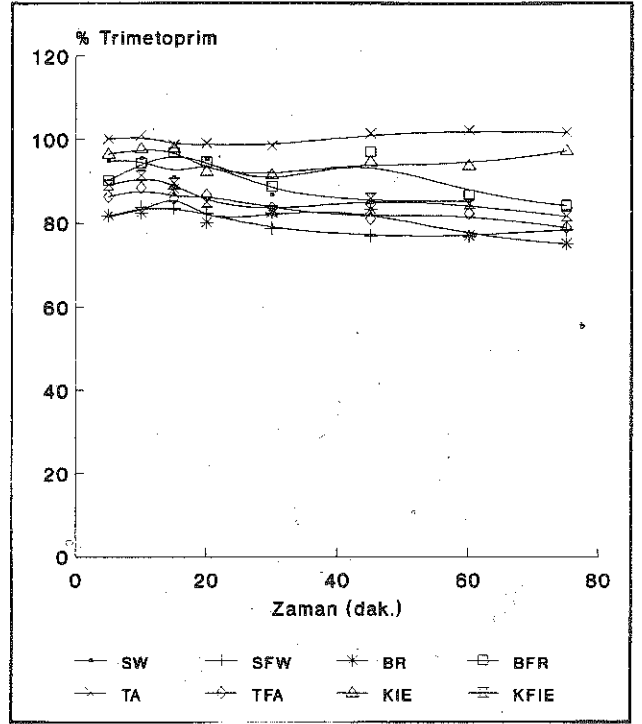
USP XXII, SM-TM içeren tabletler için verdiği monografide etken maddelerin 60 dakikada en az % 70'nin çözünmesini şart koşturmaktadır. Analize alınan tüm piyasa örneklerinin çözünme hızı limitleri bu koşullara uygun bulunmuştur. Etken maddelerin çözünme hızı profilleri Şekil 1-4'de gösterilmiştir. Çözünme hızı profillerinin incelenmesinden KIE ve TA kodlu örneklerin içerdiği SM'nin ilk 20 dak. içerisinde % 100'nün çözüldüğü ve eğrinin, 20 dak.'dan sonra asimtotik bir şekil aldığı görülmüştür. TM içinde benzer sonuçlar sap-



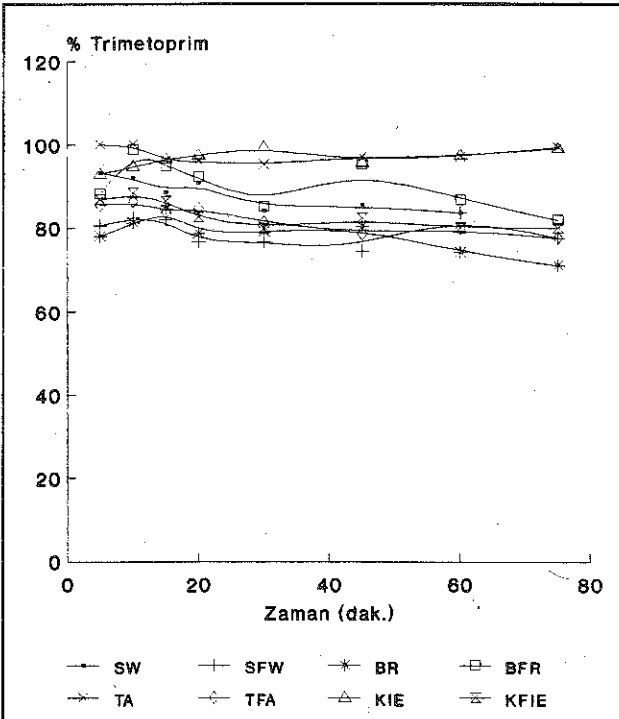
Şekil 1. Sulfametoksazol'un Ticari Preparatlardan Çözünme Profilleri (Absorbans Oranları Yöntemine Göre Hesaplanan Verilerden)



Şekil 2. Sulfametoksazol'un Ticari Preparatlardan Çözünme Profilleri (Vierordt Yöntemine Göre Hesaplanan Verilerden)



Şekil 4. Trimetoprim'in Ticari Preparatlardan Çözünme Profilleri (Vierordt Yöntemine Göre Hesaplanan Verilerden)



Şekil 3. Trimetoprim'in Ticari Preparatlardan Çözünme Profilleri (Absorbans Oranları Yöntemine Göre Hesaplanan Verilerden)

tanmıştır. TM'de 20 dak.'dan sonra saptanan değerlerde bir düşme gözlenmiştir. Bunun TM'e ait polimorfik bir özelliğe bağlı olabileceği düşünülmüştür¹⁷.

Çözünme hızı verilerinin kinetik açıdan değerlendirilmesi Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

Çözünme hızı verilerinin incelenmesinde determinasyon katsayısı ve ağırlıklı sapma kareleri toplamına göre en iyi uyumun RRSBW kinetiği olduğu bulunmuştur. Bu kinetik için $T_{\%63.2}$ değerleri (etken maddelerin % 63.2'sinin açığa çıktığı süre) karşılaştırıldığında, TA ve KIE kodlu tabletlerin $T_{\%63.2}$ değerleri bir dak. iken diğer tabletler için 6.6-21 dak. arasında değişmektedir. Bu sonuç TA ve KIE kodlu tabletlerin hemen dağılmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü elde edilen çözünme profilleri kinetik modellerin hiçbirine uymamaktadır.

Tabletlerin çözünme hızı profillerinde görülen farklılıklar tabletlerin formülasyon değişiklik-

Tablo 3. Ticari Tabletlerde SM'in Çözünme Hızı Verilerinin Kinetik Değerlendirilmesi(*)1

Tablet Kodları

Kinetik		SW	SFW	BR	BFR	TA	TFA	KIE	KFIE
Modifiye Hixson Crowell	a	0.610	0.598	0.546	0.703	0.258	0.445	0.135	0.365
	b	0.0131	0.00718	0.00882	0.00780	0.00487	4.58	0.00150	0.00481
	r ²	0.925	0.959	0.979	0.995	0.588	0.960	0.429	0.855
1. derece	ASKT	0.331	0.0737	0.0356	0.0145	5.03	0.0338	0.182	0.109
	k ₁	3.51	2.01	2.93	2.38	1.26	1.59	0.630	1.54
	r ²	0.856	0.944	0.978	0.994	0.378	0.926	0.144	0.782
Sıfır derece	ASKT	0.467	0.498	0.401	0.0787	3.24	1.03	5.03	1.83
	k ₀	200	364	162	441	60.8	282	26.6	208
	r ²	0.614	0.739	0.726	0.855	0.276	0.727	0.183	0.532
Hixson Crowell	ASKT	1.19	0.917	1.32	0.547	2.95	2.82	4.04	2.02
	K	4.25	3.47	3.31	3.40	3.57	3.37	3.72	3.84
	r ²	0.798	0.890	0.921	0.967	0.344	0.869	0.163	0.702
RRSBW	ASKT	3.27	0.607	0.954	0.224	75.4	0.867	-0.00137	1.77
	T	9.32	16	11	20	1	12.4	1	6.52
	Ş.F.	0.818	0.739	0.736	0.859	0.311	0.558	0.349	0.481
	r ²	0.953	0.979	0.992	0.999	0.604	0.978	0.419	0.889
Q → √t	ASKT	0.0649	0.026	0.0128	0.00252	0.281	0.0156	0.177	0.0713
	K'	4013	10804	3137	9831	3714	11089	3891	12915
	r ²	0.758	0.864	0.852	0.948	0.393	0.852	0.287	0.672
	ASKT	-0.102	-1.09	-0.0979	-0.0893	0.227	-0.814	0.566	-0.0669

(*) Absorbans oranları yönteminden elde edilen veriler

(1) a: Çözünme eğrisinin şekli ile ilgili parametre; b: Çözünme hızı sabiti ile ilgili parametre; k₁: birinci derece salım hızı sabiti; k₀: Sıfırıncı derece salım hızı sabiti; K: Sink koşullarda Hixson-Crowell eşitliğinden hesaplanan, çözünme hızı sabiti; T: İlacın % 63.2'sinin çözünmesi için geçen süre (dak); Ş.F: Şekil faktörü; K': Higuchi eşitliğinden hesaplanan çözünme hızı sabiti, r²: Determinasyon katsayısı, ASKT: Ağırlıklı sapma kareleri toplamı.

Tablo 4. Ticari Tabletlerin SM'in Çözünme Hız Verilerinin Kinetik Değerlendirilmesi^(*)

Kinetik		Tablet Kodları							
		SW	SFW	BR	BFR	TA	TFA	KIE	KFIE
Modifiye Hixson Crowell	a	0.578	0.589	0.551	0.693	0.323	0.438	0.145	0.359
	b	0.0119	0.00685	0.00866	0.00746	0.00906	0.00429	0.00185	0.00448
	r ²	0.924	0.956	0.976	0.994	0.735	0.957	0.495	0.852
1. derece	ASKT	0.232	0.0755	0.0443	0.0168	0.290	0.0353	0.161	0.107
	k ₁	3.14	1.91	2.74	2.25	2.14	1.51	0.808	1.47
	r ²	0.845	0.936	0.973	0.991	0.622	0.916	0.246	0.774
Sıfır derece	ASKT	0.593	0.541	0.466	0.105	2.25	1.07	4.57	1.88
	k ₀	194	359	164	437	70.8	278	29.2	207
	r ²	0.619	0.737	0.718	0.854	0.334	0.723	0.214	0.531
Hixson Crowell	ASKT	1.22	0.888	1.30	0.529	3.20	1.75	3.89	1.83
	K	4.11	3.40	3.25	3.32	3.94	3.31	3.73	3.77
	r ²	0.786	0.882	0.906	0.962	0.511	0.860	0.233	0.695
RRSBW	ASKT	2.02	0.618	0.900	0.237	1.20	0.873	-61.3	1.73
	T	9.17	16.3	11.3	20.5	1	12.6	1	6.61
	Ş.F.	0.767	0.724	0.732	0.842	0.354	0.547	0.347	0.471
	r ²	0.949	0.976	0.992	0.999	0.792	0.975	0.503	0.886
Q → √t	ASKT	0.0657	0.0289	0.0102	0.0304	0.313	0.0173	0.150	0.0709
	K'	3971	10664	3106	9686	3842	10936	3889	12770
	r ²	0.762	0.862	0.847	0.947	0.468	0.849	0.322	0.672
	ASKT	-0.135	44.5	-0.154	-0.0119	0.399	-1.24	0.555	-0.0979

(*) (Vierordt yönteminden elde edilen veriler)

(I) (Parametreler için Tablo 1'e bakınız)

lerinden kaynaklanmaktadır. Bilindiği gibi kullanılan yardımcı maddeler de etken maddelerin çözünme hızını ve dolayısı ile emilimini etkilemektedir.

Sonuç olarak uygulanan iki farklı spektrofotometrik yöntemin SM-TM içeren tabletlerin çözünme

hızı tayinlerinde kullanılacakları ve önerilen yöntemlerin kolay uygulanır, güvenilir ve tekrarlanabilir özellikte oldukları gösterilmiştir.

Bu nedenle bu yöntemlerin SM-TM içeren tabletlerin rutin çözünme hızı tayinlerinde kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Noyanalpan, N., Atay, O., "Trimetoprim ve Sulfa-metoksazol İçeren Tabletlerde Absorbans Oranı Yöntemi ile Spektrofotometrik Miktar Tayini", *FABAD Farm. Bil. Der.*, 15, 19-28, 1990.
2. Atay, O., Orbey, T. M., "Metokarbamol ve Parasetamol İçeren Tabletlerde Miktar Tayini Çalışmaları", *FABAD. Farm. Bil. Der.* 15, 223-230, 1990.
3. Yu, R., Wu, Q., Xu, H., "Nonaqueous Titration of Sulphadiazine, Sulphamethoxazole and Trimethoprim in Compound Preparations," *Nanjing Yaoxueyuan Xue bao* 16 (1), 52-56, 1985 *Anal. Abstr.*, 48, 10E76, 1986.
4. Datta, K., Das, S. K., "Thin Layer Chromatographic Method for Rapid Quantification and Identification of Trimethoprim and Sulphamethoxazole in Pharmaceutical Dosage Forms", *J. Liq Chromatogr.* 11, 3079-3088, 1988.
5. Schlobe, R., Thijssen, H. H. W., "Quantitative TLC of Trimethoprim and Tetroxyprim Using Fluorescence Densitometry", *J. Chromatogr.* 230, 212-215, 1982.
6. Sanyal, A. K., Laha, D., "Rapid Colorimetric Assay of Trimethoprim and Sulphamethoxazole in Pharmaceuticals", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66, 1447-1449, 1983.
7. Sadana, G. S., Parikh G.G., Karandikar M. M., Karandikar J. V., "Simple Colorimetric Determination of Sulfa Drugs", *Indian Drugs*, 25, 28-30, 1987.
8. Joshi H. N., Chandhari, G. N., "Tipnis, H. P., Spectrophotometric Determination of Sulphamethoxazole and Trimethoprim in Cotrimoxazole Tablets", *Indian Drugs*, 19, 446-450, 1982.
9. Sharma, S. C., Das, S., Talusar, S. K., "pH Induced Spectrophotometric Estimation of Sulphamethoxazole and Trimethoprim", *Indian Drugs* 22, 314-316, 1985.
10. Othman, S., "Multi-component Derivative Spectroscopic Analysis of Sulphamethoxazole and Trimethoprim", *Int. J. Pharm.* 63 173-176, 1990.
11. Korany, M. A., Wahbi, A. M., El Sayed, M. A., Mandour, S., "First-derivative Spectrophotometric Determination of Certain Drugs in two Component Mixtures", *Anal. Lett.* 17, 1373-1389, 1987.
12. Chen, G., Tu, Y. H., Allen L. V., "Determination of Trimethoprim in Rat Blood Plasma Prostate Gland and Seminal Vesicles by HPLC", *Int. J. Pharm* 46, 89-93, 1988.
13. Hung, C.-T., Perrier, D. G., "Determination of Trimethoprim and Sulphamethoxazole in Serum by Reverse-phase and Ion-pair HPLC", *J. Liq. Chromatogr* 8, 521-523, 1985.
14. United States Pharmacopeia XXII, Twinbrook Parkway Rockville Md 20852, 1990.
15. Astburg, C., Dixon, J. S. "Rapid Method for the Determination of Either Plasma Sulphapyridine or Sulphamethoxazole and Their Acethyl Metabolites Using HPLC", *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* 58, 223-227, 1987.
16. Agabeyoğlu, I. T., "Un Programme Dans la Langue Basique de Microcomputer Pour la Determination des Données de Dissolution", *XVII'eme Semaine Medical Balkanique*, İstanbul, 30 Aug.-4 Sept. 1984, Resumes, p-327.
17. Bettinetti G, P., Giordano, F., La Mannna A., Guiseppetti, G., "Trimethoprim Crystal Forms", *J. Pharm. Pharmacol*, 28, 87-88, 1976.

Bazıları büyük doğar; bazıları büyüklüğü kazanır,
bazılarına da büyüklük yakıştırılır.

Shakespeare