

Sulfametoksazol - Trimetoprim İçeren Tabletlerde Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini Çalışması

Okan ATAY*, M. Tevfik ORBEY**

Özet: Bu çalışmada bakterisit amaçla kullanılan sulfametoksazol (SM)-trimetoprim (TM) içeren tabletlerin Vierordt yöntemine göre spektrofotometrik miktar tayininin yapılması amaçlanmıştır. Önerilen yöntemde SM ve TM'nin 256 ve 288 nm'deki A_1^1 (% 1,1 cm) katsayıları kullanılarak $a = \alpha_2/\alpha_1$ ve $b = \beta_2/\beta_1$ değerleri bulunmuştur. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan sentetik karışımların anılan dalga boylarında ölçülen toplam absorbanans değeri oranları kullanılmış, yapılan çalışmanın SM için 1-15 mcg/ml, TM için 2-10 mcg/ml konsantrasyon aralığında duyarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Uygulanan yöntemin bağıl standart sapması SM ve TM için sıra ile % 0.61 ve % 0.86 bulunmuştur.

Önerilen yöntem daha önce aynı kombinasyondaki ilaçlara uygulayarak yayınladığımız absorbanans oranı yöntemi ve İngiliz farmakopesi 1988 (BP. 1988) yöntemi ile karşılaştırılmış tekrarlanabilirlik ve duyarlılık açısından uygun sonuçlar elde edilmiştir. Ticari tabletlerin üretiminde kullanılan yardımcı maddelerin önerilen yöntemi etkilemediği gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre geliştirilen bu yöntemin SM ve TM içeren tabletlerin rutin kantitatif analizlerinde kullanılması önerilmektedir.

Geliş tarihi : 26.4.1993

Kabul tarihi : 20.7.1993

Anahtar sözcükler : Sulfametoksazol - Trimetoprim, Vierordt Metodu, Spektrofotometri.

Quantitative Determination of Sulphamethoxazole-Trimethoprim Containing Tablets By Spectrophotometric Method

Summary: The objective of this study was to perform quantitative analysis of sulphamethoxazol (SM) - trimethoprim (TM) containing tablets utilized for bactericidal purposes by Vierordt spectrophotometric method. In this study, A_1^1 (% 1,1 cm) values at 256 and 288 nm for SM and TM were determined and the values of $a = \alpha_2/\alpha_1$ and $b = \beta_2/\beta_1$ were found by using A_1^1 values. From the total absorption value ratios at the defined wavelengths of synthetic mixtures prepared at different concentrations, sensitive and reproducible results for SM and TM were obtained at the concentrations of 1-15 and 2-10 mcg/ml respectively. The relative standart deviation for the method by this study were found to be 0.61 % and 0.86 % for SM and TM respectively.

The proposed method was compared with the absorbance ratio method, which was published by the authors, and BP 1988 method. The reproducibility and sensitivity of the results obtained were satisfactory and the excipients of the commercial tablets did not interfere the method. The applied method can be used for routine quantitative analysis of tablets containing SM and TM.

Keywords : Sulphamethoxazole - Trimethoprim, Vierordt Method, Spectrophotometry.

Giriş

SM (sulfametoksazol) ve TM (trimetoprim) içeren tabletler ülkemizde bakterisit amaçla kullanılan ilaçların başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün temel ilaçlar listesinde kemoterapötik ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. SM

ve TM içeren ilaçlar bakteri yaşamı için gerekli olan DNA sentezinde iki önemli enzimi farklı kademelerde inhibe ederek bakterisit etki gösterirler. Ülkemizde değişik farmasötik biçimde ve dozda SM + TM içeren çok sayıda preparat mevcuttur.

Yapılan literatür incelenmesinde, SM ve TM'yi tek başına veya kombine biçimde içeren preparatlara uygulanan veya etken maddelerin farklı biyolojik sıvılarda kantitatif olarak saptanmasına olanak

(*) G. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya ABD.

(**) G.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya ABD, 06330-Ankara.

sağlayan değişik yöntemlere rastlanmıştır. Bunlardan ince tabaka kromatografisi (İTK) ve dansitometrik tayin^{1,2}, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)³⁻⁶, kolorimetri^{7,8}, spektrofotometri⁹⁻¹², türev spektrofotometrisi^{13,14}, susuz ortamda titrasyon¹⁵, amperometrik titrasyon¹¹ literatürde rastlanan yöntemlerdir. Önerilen Vierordt yöntemi ile parasetamol-metakarbamol¹⁶ parasetamol-klorzoksazon¹⁷, parasetamol-mefanoksazon¹⁸ içerikli ilaçların kantitatif tayinleri yapılmıştır. SM ve TM içeren kombine preparatlar USP XXII ve BP 1988 farmakopelerinde monografi olarak yer almaktadır. USP XXII'de bu bileşiklerin miktar tayini için önerilen yöntem yüksek basınçlı sıvı kromatografisidir. BP 1988'de ise SM için 0.1 M NaNO₂ ile yapılan amperometrik yöntem, TM için spektrofotometrik yöntem yer almaktadır.

Bu çalışmada ise SM + TM kombinasyonu içeren tabletlere Vierordt yöntemi uygulanmıştır. Bunun için her iki etken maddenin değişik konsantrasyonlarda 0.1 N NaOH içinde hazırlanan standart çözeltilerinin 256 ve 288 nm'deki absorbsans değerleri ölçülmüş ve bu değerlerden yararlanılarak SM ve TM'nin 256 ve 288 nm'deki A₁¹ (% 1,1 cm) değerleri bulunmuştur. Bulunan değerlerin oranları (a,b) değerleri ve standart karışımların 256 ve 288 nm'deki toplam absorbsans değerleri Vierordt tarafından geliştirilen formüllere uygulanarak etken maddelerin kantitatif olarak saptanması gerçekleştirilmiştir. Önerilen yöntemin üstünlüğü etken maddeleri herhangi bir ayırma işlemine tabi tutmaksızın, buldukları ortamda aynı anda miktar tayinine imkan vermesidir.

Materyel ve Yöntem:

Spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-160A Model kaydedicili cihazla yapılmıştır. Kullanılan tüm çözücüler Merck A.G. markalı olup, spektroskopik kalitededir. Sentetik karışımlarda kullanılan SM ve TM Roche A.Ş. İstanbul'dan; farklı seri numaralı tablet örnekleri ise Ankara'da serbest eczanelerden sağlanmıştır.

Yöntem

TM ve SM'nin 0.1 N Sodyum Hidrositteki A₁¹ değerlerinin saptanması.

Stok Çözeltiler

Stok çözelti (S ₁)	ml/100 µg SM içeren metanollü çözelti
Stok çözelti (S ₂)	ml/1000 µg SM içeren metanollü çözelti
Stok çözelti (T)	ml/1000 µg TM içeren metanollü çözelti

S₁ stok çözeltilerden sıra ile 2, 3, 4, 5, 6 ve 10 ml alınır. Balon jode 0.1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır. Her bir çözeltinin 0.1 N NaOH'e karşı 256 nm'deki absorbsans değerleri ölçülür.

S₂ stok çözeltilerinden sıra ile 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ml alınır. Balon jode 0.1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır. Her bir çözeltinin 0.1 N NaOH'e karşı 288 nm'deki absorbsans değerleri ölçülür.

T stok çözeltilerinden sıra ile 1, 2, 3, 4, 5, 6 ml alınır. Balon jode 0.1 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır. Her bir çözeltinin 0.1 n NaOH'e karşı 288 nm'deki absorbsans değerleri ölçülür.

TM ve SM için bulunan A₁¹ değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Bulunan A₁¹ değerleri SM ve TM için 256 ve 288 nm'de ölçülen absorbsanslardan yararlanılarak bulunmuştur.

Tablo 1. SM ve TM'nin 0.1 N NaOH'de 256 ve 288 nm'deki A₁¹ değerleri

α ₁	α ₂	β ₁	β ₂	a	b	m
671	117	98	250	0.174	2.55	A ₂ /A ₁

α₁ = SM'un 0.1 N NaOH'de 256 nm'deki A₁¹ değeri

α₂ = SM'un 0.1 N NaOH'de 288 nm'deki A₁¹ değeri

β₁ = TM'in 0.1 N NaOH'de 256 nm'deki A₁¹ değeri

β₂ = TM'in 0.1 N NaOH'de 288 nm'deki A₁¹ değeri

A₁ = 256 nm'de ölçülen toplam absorbsans değeri

A₂ = 288 nm'de ölçülen toplam absorbsans değeri

a = α₂/α₁

b = β₂/β₁

Standart Karışımların Hazırlanması:

S₁ Çözeltisi: Mililitrede 5 mg SM içeren metanolik çözeltiden 2 ml alınır. 100 ml'ye 0.1 N NaOH ile tamamlanır. Bu çözelti ml'de 100 µg SM içerir.

S₂ Çözeltisi: Mililitrede 5 mg TM içeren metanolik çözeltiden 2 ml alınır. 100 ml'ye 0.1 NaOH ile tamamlanır. Bu çözelti ml'de 100 µg TM içerir.

S_s ve S_T çözeltilerinden değişik hacimlerde çözeltiler alınır. 100 ml'ye 0.1 N NaOH ile tamamlanır. Böylece farklı konsantrasyonlarda SM ve TM içeren standart karışımlar elde edilir (Tablo 2). Bunların 256 ve 288 nm'deki toplam absorbans değerleri saptanır. Diğer yapılan bir çalışmada SM veya TM'den birinin konsantrasyonu sabit tutulur, diğer etken madde konsantrasyonu değiştirilir (Tablo 3).

Tablo 2. SM ve TM'nin farklı konsantrasyonlardaki sentetik karışımlarının analiz sonuçları

Sentetik Karışım µg/ml		Bulunan Değerler µg/ml	
SM	TM	SM	TM
10	2	10.10	1.96
8	4	7.98	3.92
6	6	5.97	5.96
4	8	4.04	8.02
2	10	2.00	10.10

Tablo 3. SM ve TM'nin farklı konsantrasyonlardaki sentetik karışımlarının analiz sonuçları ve bulunan istatistik değerleri.

Sentetik Karışım µg/ml		Bulunan Değerler µg/ml	
SM	TM	SM	TM
10	2	9.94	1.98
10	4	10.1	3.95
10	6	9.96	5.88
10	8	10.1	7.98
10	10	9.92	10.1
10	10	10.1	9.96
8	10	7.95	9.95
6	10	6.15	10.0
4	10	3.98	10.1
2	10	1.97	9.93

x	St. sapma	% Bağıl St. sapma	Güvenirlilik sınırı p = 0.05
SM	9.99	0.06	0.61
TM	10.0	0.1	0.86

Numunelerin Hazırlanması:

20 tablet tartılır. Toz edilerek homojen bir karışım elde edilir. 150 mg civarında tablet tozu duyarlı olarak tartılır. Tartılan toz bir behere aktarılır. 50 ml metanol konur ve 15 dakika mekanik karıştırıcıda tutulur. Süzülür, süzüntü 100 ml'ye metanol ile tamamlanır. Bu çözeltilerden belirli hacimlerde alınıp 0.1 N NaOH ile gerekli dilüsyonlar yapılır. Tablet örneklerindeki uygun konsantrasyon aralığı tabletin içeriğine bağlı olarak değişebilir.

En uygun konsantrasyon aralığı SM için 2.5 - 16 mcg/ml TM için 0.5 - 3.2 mcg/ml olarak bulunmuştur.

Ayrıca piyasada mevcut ticari tabletlere, daha önce tarafımızdan uygulanan absorbans oranları yöntemi ve BP 1988'de öngörülen farmakope yöntemi değiştirilerek uygulanmış böylece önerilen Vierordt yöntemi ile söz konusu iki yöntemin duyarlılık, tekrarlanabilirlik ve uygulanabilirlik açısından karşılaştırılması yapılmıştır.

BP 1988'de SM için verilen yöntem tarafımızdan modifiye edilerek tatbik edilmiş amperometrik yöntem yerine 0.1 M NaNO₂ ile nitritometrik titrasyon yapılmıştır. TM için farmakopede verilen yöntem aynen uygulanmıştır. Bulunan sonuçlar Tablo 4'de verilmiştir. Tablo 4'de verilen değerler yapılan üç çalışmanın ortalamasıdır.

Hesaplama:

SM ve TM'nin miktarları aşağıda verilen formüllerden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki sembollerin tanımı Tablo 1'de verilmiştir. Bulunan konsantrasyon değerleri 100 ml'de mg cinsinden bildirilmiştir.

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

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

Sonuç ve Tartışma

Yöntem SM + TM içeren tablet örneklerinin herhangi bir ayırma işlemi yapmaksızın kantitatif tayinlerinin yapılmasına olanak sağlamaktadır.

1988 İngiliz farmakopesindeki monografide etken maddeler için iki farklı yöntem (spektrofotometrik ve amperometrik) önerilmektedir. Bunlardan sadece TM'nin analizi için sekiz defa organik solvan ekstraksiyonu yapılmaktadır. Dolayısı ile önerilen yöntemin farmakope yöntemine nazaran uygulama kolaylığı ve analiz maliyeti açısından avantajı vardır. Ayrıca yöntemin gerek farmakope

Tablo 4. SM ve TM içeren piyasa örneklerinde bulunan analiz sonuçları ve istatistik değerleri.

Numane	Trimetoprim			Sulfametoksazol		
	Vierordt Yöntemi	Absorbans Oranı Yöntemi	BP 1988 Yöntemi	Vierordt Yöntemi	Absorbans Oranı Yöntemi	BP 1988 Yöntemi
Tablet - A TM 80mg SM 400mg	81.4	80.7	82.2	402	400	405
	80.7	80.3	81.5	400	404	400
	81.9	82.2	83.8	400	394	396
	81.2	82.4	84.5	405	398	406
	79.4	79.6	80.9	396	399	407
ORT. \bar{X}	80.8	81.0	82.6	401	399	403
St. Sapma	1.0	1.2	1.5	3	4	4
Bağıl St. Sapma	1.18	1.51	1.85	0.85	0.88	1.05
Güvenirlilik sınırı p = 0.05	80.8±1.01	81.0±1.3	82.6±1.6	401±4	399±4	403±4
Tablet - B TM 160mg SM 800mg	159	161	164	793	801	811
	161	161	163	804	808	796
	164	160	162	802	790	804
	163	164	166	800	811	814
	163	165	167	810	798	808
ORT. \bar{X}	162	162	163	802	802	803
St. Sapma	2	2	2	6	7	7
Bağıl St. Sapma	1.23	1.27	1.45	0.78	0.88	0.9
Güvenirlilik sınırı p = 0.05	162±2	162±2	163±2	802±7	802±7	803±8

yöntemi gerek absorbans oranı yöntemi ile yapılan karşılaştırılmalı çalışmalarında duyarlılık ve tekrarlanabilirlik açısından anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Önerilen yöntemin uygulanmasında dikkat edilecek en önemli husus etken maddelerin A_1^1 değerlerinin duyarlı bir biçimde saptanmasıdır. Bunun için her etken madde için en az beş farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinin 256 ve 288 nm'de saptanan A_1^1 değerlerinin ortalaması kullanılmalıdır. Çalışmada SM ve TM için bulunan yüzde bağıl standart sapma değerleri sıra ile yüzde 0.61 ve 0.86'dır. Tablet örneklerindeki çalışmalarda uygun konsantrasyon aralıkları SM ve TM için sıra ile 2.5 - 16 µg/ml ve 0.5-3.2 µg/ml olarak bulunmuştur. Tablet örneklerinde kullanılan yardımcı maddelerin yöntemi etkilemediği gözlenmiştir.

Önerilen yöntemin SM + TM içeren tabletlerin rutin miktar tayinlerinin dışında, bu tabletlerin çözünme hızı tayinlerinde de kullanılabilceği düşünülmüştür.

ve piyasada mevcut örnekler üzerinde yapılan çalışma ayrı bir makale haline getirilmiştir.

Kaynaklar

1. Datta, K., Das, S. K., "Thin Layer Chromatographic Method for Rapid Quantification and Identification of Trimethoprim and Sulphametoxazole in Pharmaceutical Dosage Forms." *J. Liq. Chromatogr.*, 11, 3079-88, 1988.
2. Schlobe, R., Thijssen, H. H. W., "Quantitative TLC of Trimethoprim and Tetroxyprim Using Fluorescence Densitometry" *J. Chromatogr.*, 230, 212-15, 1982.
3. 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.
4. Hung, C. T., Perrier, D. G., "Determination of Trimethoprim and Sulphametoxazol in Serum by Reverse-phase and Ion-pair HPLC" *J. Liq. Chromatogr.*, 8, 521-23, 1985.

5. United States Pharmacopeia XXII, Twinbrook Parkway Rockville Md., 20852, 1990.
6. Astburg, C., Dixon, J. S. "Rapid Method for the Determination of Either Plasma Sulphapyridine or Sulphamethoxazole and Their Acetyl Metabolites Using HPLC" *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 58, 223-27, 1987.
7. Sanyal, A. K., Laha, D., "Rapid Colorimetric Assay of Trimethoprim and Sulphamethoxazole in Pharmaceuticals" *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66, 1447-49, 1983.
8. Sadana, G. S., Parikh G. G., Karandikar M. M., Karandikar J. V., "Simple Colorimetric Determination of Sulfa Drugs" *Indian Drugs*, 25, 28-30, 1987.
9. Joshi H. N., Chandhari, G. N., Tipnis, H. P., "Spectrophotometric Determination of Sulphamethoxazole and Trimethoprim in Cotrimoxazole Tablets" *Indian Drugs*, 19, 446-50, 1982.
10. Sharma, S. C., Das, S., Talusar, S. K., "pH Induced Spectrophotometric Estimation of Sulphamethoxazole and Trimethoprim" *Indian Drugs*, 22, 314-16, 1985.
11. BP 1988. Printed in the United Kingdom for Her Majesty's Stationery Office. 1988.
12. Noyanalpan, N., Atay, O., "Trimetoprim ve Sulfametoksazol İçeren Tabletlerde Absorbans Oranı Yöntemi ile Spektrofotometrik Miktar Tayini" *FABAD Farm. Bil. Der.*, 15, 19-28, 1990.
13. Othman, S., "Multi-component Derivative Spectroscopic Analysis of Sulphamethoxazole and Trimethoprim" *Int. J. Pharm.*, 63 173-76, 1990.
14. 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, 1373-89, 1987.
15. 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.
16. Atay, O., Orbey, T. M., "Metokarbamol ve Parasetamol İçeren Tabletlerde Miktar Tayini Çalışmaları" *FABAD. Farm. Bil. Der.*, 15, 223-30, 1990.
17. Atay, O., Perçiner, H., "Spectrophotometric Determination of Chlorzoxazone and Paracetamol in Tablets Using Vierordt Method." *Doğa, Tr. J. Pharmacology*, 2, 139-144, 1992.
18. Atay, O., Yıldır, I., "Spectrophotometric Determination of Mefenoxalone and Paracetamol in Tablets Using Vierordt Method". *FABAD. J. Pharm. Sci.*, 17, 241-48, 1992.

İyi bir adam gördüğünüz zaman onu taklit etmeye çalışınız. Kötü bir adam gördüğünüz zaman onun kusurlarını kendinizde arayınız.

Konfiçyüs