

ELABORAREA UNEI METODE DE ANALITIC SPECTROFOTOMETRICE PENTRU DETERMINAREA CANTITATIVA A TINIDAZOLULUI DIN COMPRIMATE

A SPECTROPHOTOMETRICAL ANALYTIC METHOD ELABORATION FOR TINIDAZOLE'S QUANTITY DETERMINATION FROM TABLETS

Dan Dragoș, Zoltan Szabadai

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara, Facultatea de Farmacie

Cuvinte cheie: tinidazol, agent antiparazitic, spectrofotometrie vizibil, HPLC
Key words: tinidazole, antiparazitic agent, visible spectrophotometrie, HPLC

Rezumat

Inconvenientul principal al determinării cantitative a Tinidazolului din forme farmaceutice constă în prezența unor ingrediente cu indentitate deseori necunoscută. În vederea depășirii complicațiilor metodelor bazate pe separări selective, s-a elaborat și testat o metodă spectrofotometrică de determinare cantitativă. Prin derivatizarea convenabilă a analitului se obține o bază Schiff spectrofotometrabilă în domeniul vizibil, în care interferența ingredientilor este neglijabilă. Liniaritatea răspunsului analitic a fost verificată în domeniul de concentrații 2 – 14 mg/l Tinidazol în soluție metanolică. Metoda prezintă o reproductibilitate bună: într-o serie de 8 repetări deviația standard în jurul mediei este 0,38 % din valoarea medie.

Abstract

The main inconvenience of analytical determination of Tinidazole in pharmaceutical formulations consists in presence of ingredients, frequently with unknown identity. In order to overcome the complications of methods based on selective separations, a spectrophotometrical method for Tinidazole assay was performed and tested. By appropriate derivatization of the analyte, a photometrically estimable Schiff base is obtained, with absorption in the visible region where the interference of ingredients is negligible. The linearity of analytic signal was checked out in methanol solution in the 2 – 14 mg/l concentration domain. The method exhibit a good reproducibility: in a 8-fold repetition the main standard deviation is 0.38 % of the average of individual values.

Introducere

Tinidazolul [1-(2-etisulfoniletil)-2-metil-5-nitroimidazol este un agent antiparazitar de regula condiționat sub formă de comprimate filmate de obicei cu un continut declarat de 500 mg (6, 8).

Pentru determinarea cantitativa a acestei substante active din forme farmaceutice au fost recomandate in literatura de specialitate, numeroase metode:

- cromatografia lichida de presiune inalta (HPLC),
- titrimetrie efectuată în mediu de acid acetic glacial cu acid percloric drept reactant de titrare,
- spectrofotometrie de absorție in domeniul spectral UV.

Metoda HPLC are avantajul unei specificitati avansate dar implica operatii relativ laborioase si in acelasi timp prezinta dezavantajul unei exactitati mai modeste (2, 3).

Spectrofotometria UV, pe langa avantajul unei executii simple, prezinta

cateva neajunsuri printre care cel mai important este interferenta ingredientilor.

Metodele titrimetrice recomandate se bazeaza de regula pe urmarirea potentiometrica a procesului de titrare.

In acest caz insa este greu de realizat un electrod potrivit care sa nu dea drept raspuns analitic, un potential electric mixt. (4, 7)

In lucrare este descrisa elaborarea si testarea unei metode spectrofotometrice, efectuata in domeniul spectral vizibil, bazata pe formarea unui produs colorat.

Metoda prezinta avantajul executiei simple si rapide, caracteristic metodelor spectrofotometrice si o precizie sporita in comparatie cu metoda spectrofotometrica in UV (1, 5)

Reactia de culoare valorifica prezenta unei grupari nitro in molecula tinidazolului; in consecinta interferenta ingredientilor este practic inlaturata.

Reactia de culoare propriu zisa consta in obtinerea unei baze Schiff prin cuplarea produsului de reducere a tinidazolului cu 1,2-naftochinon-4-sulfonat de sodiu in mediu alcalin (Figura 1)

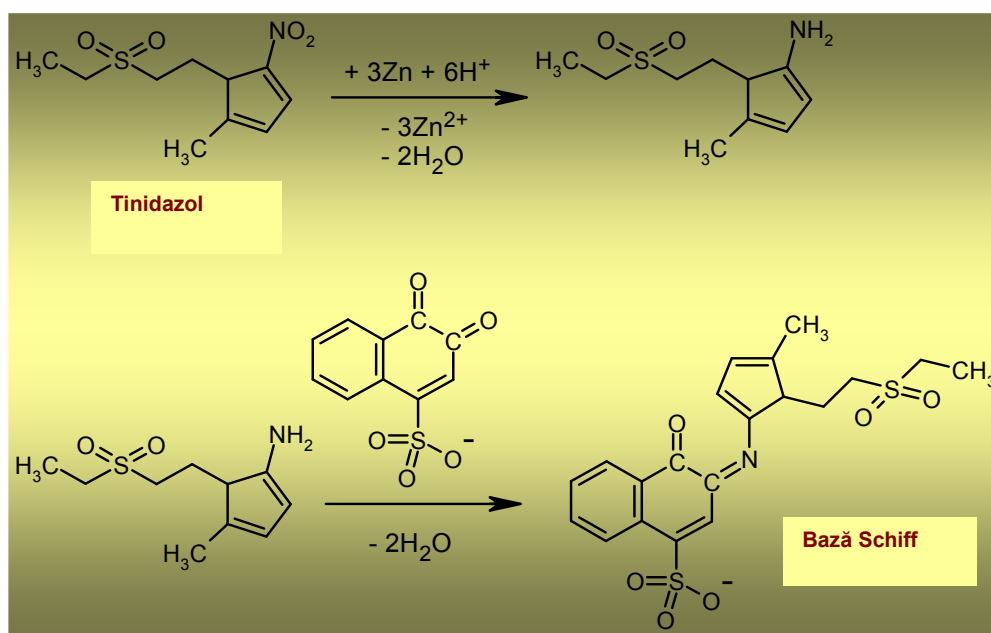


Fig. 1 Reacția de culoare cu formarea bazei Schiff

MATERIAL SI METODĂ

Material

Tinidazolul, substanța etalon a provenit de la firma "Merck".

Pulberea de zinc, folosită pentru reacția de reducere, a provenit de la firma "Carlo Erba".

Comprimatele de Tinizol^(Zentiva), au avut conținutul declarat de 500 mg,

Reactivul 1,2-naftochinon-4-sulfonat de Na, utilizat în reacția de cuplare, este produsul firmei "Merck".

Pentru prepararea soluțiilor etalon și pentru fazele de început ale analizei s-a utilizat metanol absolut, produs al firmei "Chimopar".

Metoda

Spectrele de absorbție au fost înregistrate cu un spectrofotometru cu traseu optic dublu, operativ în domeniul spectral 190-900 nm, model UV-300, produs al firmei "Spectronic Unicam".

Pentru calibrarea metodei spectrofotometrice s-a cântărit la balanța analitică semimicro, cantitatea de 140,0 mg tinidazol. După transvazarea cantitativă într-un balon cotate de 100 ml și dizolvarea completă în metanol absolut, conținutul balonului cotate a fost completat până la semn. Concentrația realizată a fost 1400 mg/l. Volumul de 1 ml din această soluție s-a diluat la volumul final de 100 ml cu metanol absolut obținând o soluție cu

concentrația de 14 mg/l. Din această soluție stoc a fost realizată o serie de 7 soluții etalon cu concentrații cuprinse între 2 mg/l și 14 mg/l conform schemei din Schema 1.

În vederea determinării cantitative a tinidazolului din comprimate filmate s-a cântărit pe balanța analitică fiecare comprimat analizat (M_1 mg).

Comprimatul analizat s-a triturat în mojar de agat și s-a transferat în balon cotate de 100 ml o cantitate cântărită (M_2 mg) din materialul pulverulent ($M_2 < M_1$).

După dizolvare în metanol conținutul balonului cotate a fost completat până la semn. Soluția obținută a fost filtrată prin membrana filtrantă de unică folosință cu diametrul porilor de 0,22 micrometri.

2 ml de filtrant s-a diluat la volumul final de 25 ml urmând ca o cota parte din soluția obținută să fie diluată din nou la volumul final de 25 ml. Substanța activă din ultima soluție a fost supusă unei reacții de reducere cu pulbere de zinc în mediu acid.

După filtrare (în vederea îndepărtării particulelor de zinc nereactionate) soluția a fost alcalinizată.

Pentru prepararea produsului colorat s-a adăugat, într-un exces moderat, reactivul 1,2-naftochinon-4-sulfonat de Na.

După în repaus de 10 minute s-a citit absorbanta soluției la lungimea de undă 510 nm într-o cuva cu grosimea de 1 cm, soluția de referință fiind o "proba oarbă" (fără tinidazol) (Schema 3).

REZULTATE SI DISCUTII

In figura 2 sunt prezentate spectrele de absorbție în domeniul vizibil 420-600 nm ale produsilor de reacție obținuți cu ajutorul soluției etalon.

Banda de absorbție cu un maxim pronunțat la 510nm se pretează la determinări cantitative (ingredientii prezenți în comprimat au absorbție nesemnificativă la această lungime de undă).

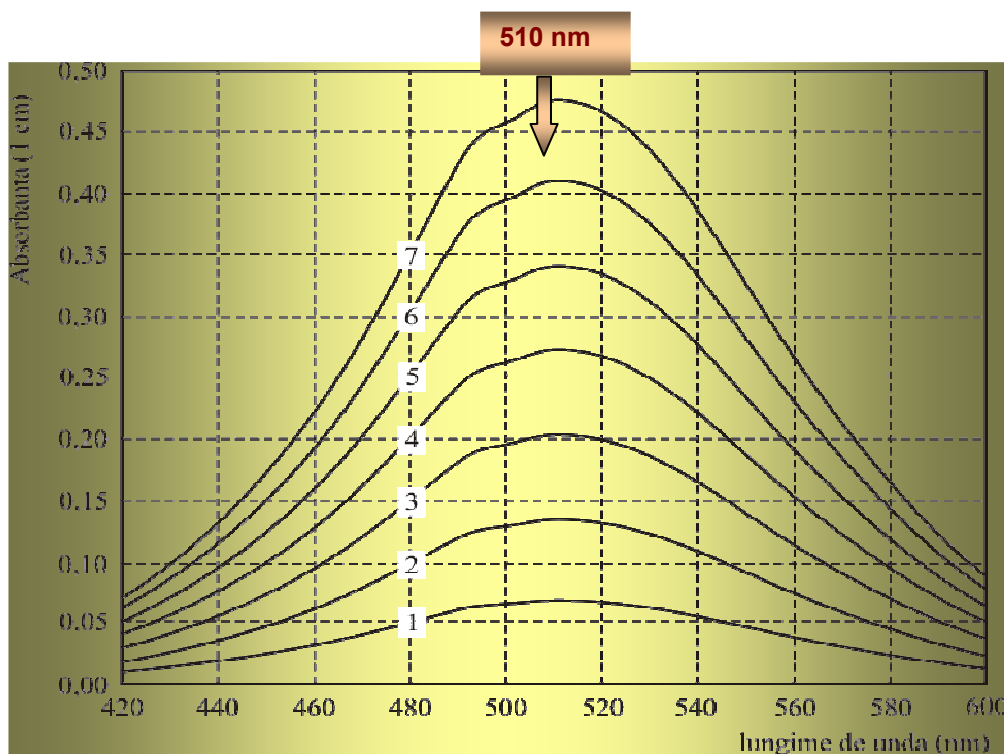


Fig. 2 Spectrele de absorbție ale bazei Schiff obținute cu soluții etalon

Tabelul 1 relevă valorile de absorbanta asociate cu concentrațiile soluțiilor etalon.

Dreapta de etalonare este prezentată în figura 5 și demonstrează convingător respectarea relației Lambert - Beer în domeniul de concentrații considerat.

Tabel 1

Valorile de absorbanta asociate cu concentrațiile soluțiilor etalon

Nr. spectru	Conc. Tinidazol (mg/l)	Absorbanta (510 nm ; 1 cm)
1	2,0	0,068
2	4,0	0,135
3	6,0	0,204
4	8,0	0,272
5	10,0	0,341
6	12,0	0,410
7	14,0	0,476

Tabelul 2 conține rezultatele obținute la analiza a 8 comprimate provenite din două ambalaje ale aceluiași lot.

Tabel 2

Rezultatele analizelor

Nr. crt.	M_1/M_2	A (510 nm; 1 cm)	C (mg/l)	m (mg/comprimat)
1	1,82	0,302	8,856	503,7
2	1,77	0,308	9,044	500,2
3	1,54	0,350	10,294	495,4
4	1,66	0,330	9,696	503,0
5	1,73	0,316	9,296	502,6
6	1,88	0,288	8,464	497,3
7	1,86	0,292	8,568	498,8
8	1,61	0,338	9,952	500,7
Medie (mg/comprimat)				500,21
Deviația standard (mg/comprimat)				2,91

Cantitatea de tinidazol într-un comprimat (m mg) se calculează din valorile de absorbanta măsurate și din raportul maselor cântărite (M_1/M_2) cu ajutorul relației din figura 3.

Media valorilor (500,21 mg/comprimat) este foarte apropiată de valoarea declarată de producător (500 mg / comprimat) iar

deviatia standard a valorilor individuale in jurul mediei (2,91 mg/comprimat) nu depaseste 0,6 % din valoarea medie. Corelarea buna a valorilor experimentale cu

cea declarata precum si gruparea stransa a valorilor individuale in jurul mediei demonstreaza fiabilitatea metodei analitice elaborate.

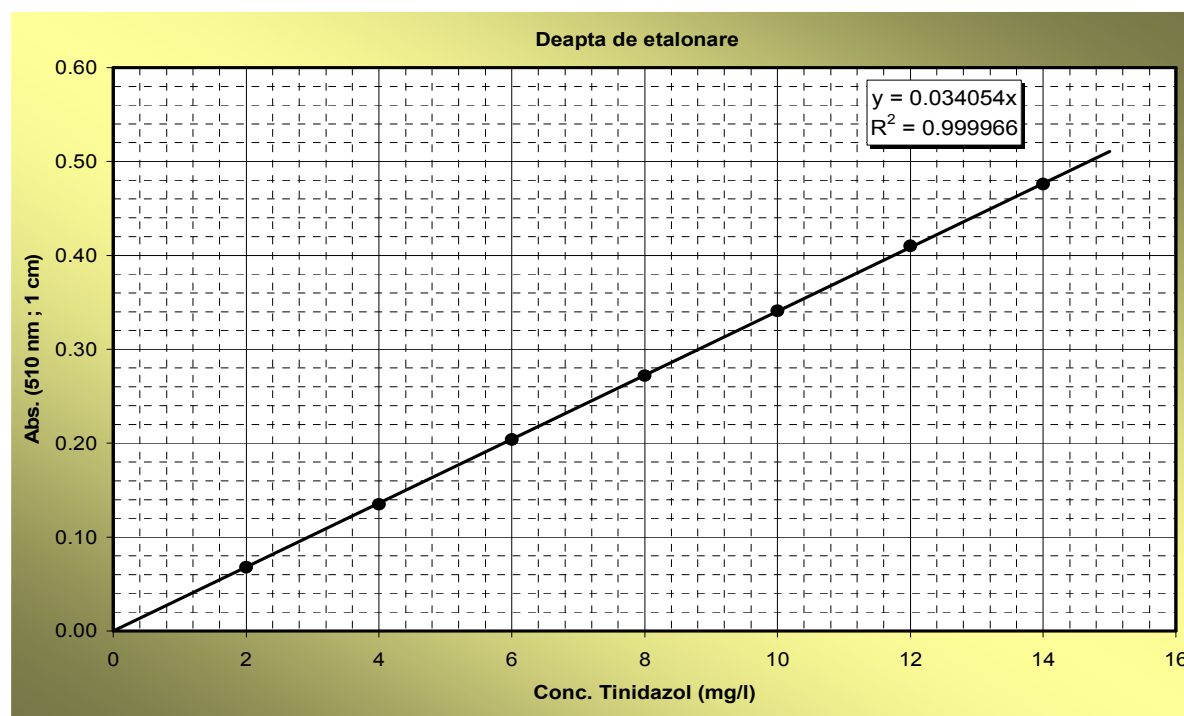


Fig. 3 Dreapta de etalonare

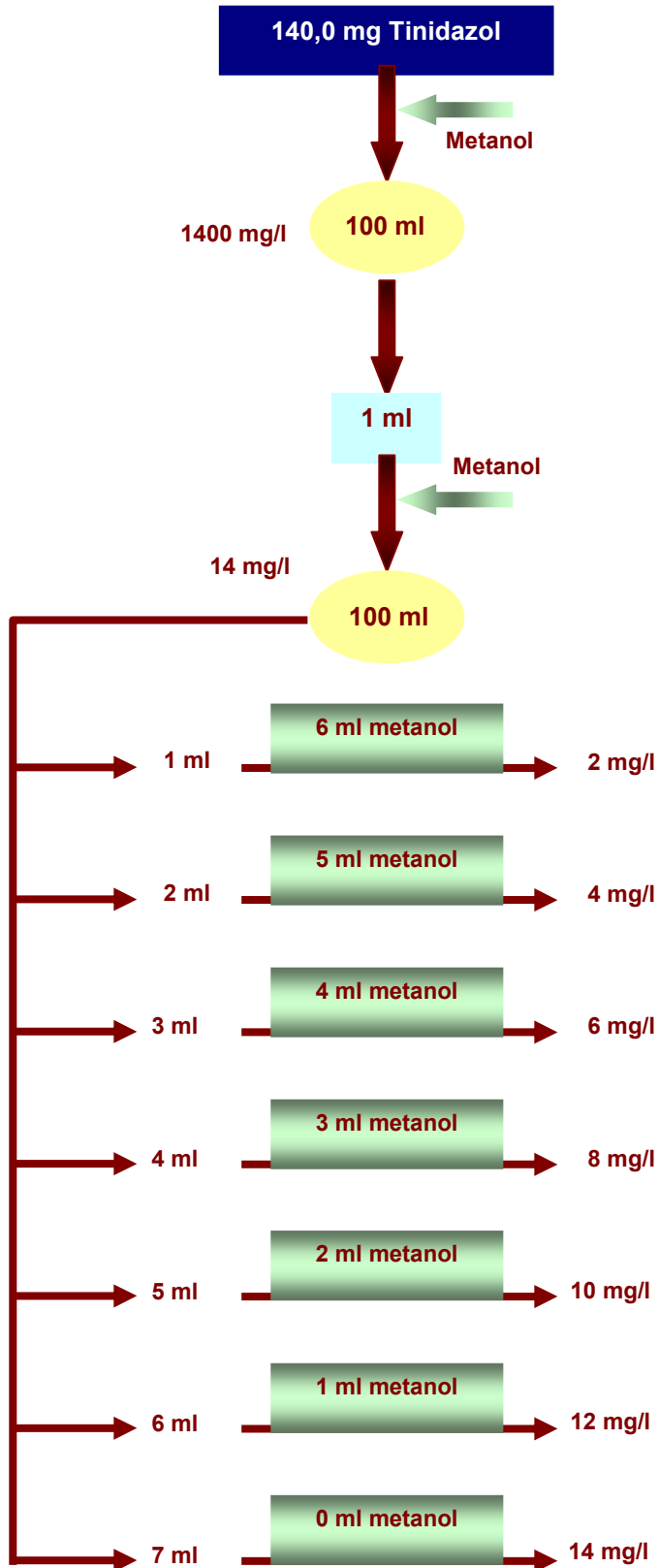
CONCLUZII

1. Metodele spectrofotometrice s-au dovedit a fi un factor de indicare a stabilitatii compusului.
2. Metoda spectrofotometrica cu o singura lungime de unda este potrivita pentru analizarea reactiilor care au loc intr-un interval de pH = 1-5, in timp ce metoda cu mai multe lungimi de unda poate fi utilizata pentru analizarea solutiilor hidrolizate de tinidazol la un pH = 6-12.
3. Aceasta metoda a oferit parametri de validare comparabili cu metoda HPTLC, dar ii lipsea rezultatul pozitiv.
4. Ambele tipuri de metode spectrofotometrice puteau fi utile scopurilor cinetice, cu toate ca cross-validarea a indicat faptul ca metodele determina rezultate diferite din punct de vedere statistic.

BIBLIOGRAFIE

1. M. V. BOMBALE, S. S. KAMAD AND S. R. DHANESHWAR (1997) Simultaneous spectrophotometric estimation of ciprofloxacin and tinidazole from a combined dosage form. *Indian J. Pharm. Sci.* 59 265-268.
2. M. H. GUERMOUCHE, D. HABEL, S. GUERMOUCHE (1999). Assay of tinidazole in human serum by high-performance thin-layer chromatography-Comparison with high-performance liquid chromatography. *J. AOAC Int.* 82 244-247.
3. K. RAJNARAYANA, M.R. CHALUVADI, V.R. ALATI, S.R. MADA, G. JAYASAGAR, D.R. KRISHNA (2002). Validated HPLC method for the determination of tinidazole in human serum and its application in a clinical pharmacokinetic study. *Pharmazie* 57 535-537.
4. H. SALOMIES (1992). Determination of tinidazole in dosage forms by quantitative HPTLC. *J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* 5 291-293.
5. P. D. SETHI, P. K. CHATTERJE AND C. L. JAIN, (1988). Spectrophotometric assays of diloxanide furoate and tinidazole in combined dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 6 253-258.
6. J. H. SOLHAUG, T. BERGAN, O. LEINEBO, A. R. ROSSELAND, L. SPADA, F. VAAGENES (1984). The pharmacokinetics of one single preoperative dose of metronidazole or tinidazole. *Scand. J. Gastroenterol.*, Suppl. 90 89-96.
7. N. M. TENDOLKAR, B. S. DESAI, J. S. GAUDH AND V. M. SHINDE, Simultaneous determination of tinidazole and furazolidone in suspension by HPTLC and HPLC. *Anal. Lett.* 28 (1995) 1641-1653
8. B. A. WOOD, D. RYCROFT AND A. M. MONRO, (1973) The metabolism of tinidazole in the rat and dog. *Xenobiotica* 3 801-812.

Schema 1 Prepararea soluțiilor etalon



Schema. 2 Executarea analizei comprimatelor

