

INTISARI

Glibenklamid merupakan obat antidiabetes golongan sulfonilurea generasi kedua yang digunakan sebagai pilihan terapi oral untuk diabetes tipe 2 dan telah banyak di buat obat *copy*nya. Suatu obat *copy* akan mendapatkan izin edar apabila terjamin efikasi, keamanan dan mutu obat tersebut setara dengan produk inovatornya. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode analisis glibenklamid dalam *spiked* plasma secara HPLC menggunakan standar internal natrium diklofenak (Nadik).

Analisis HPLC dilakukan secara isokratik pada kolom fase terbalik Luna Phenomenex[®] C18 (250 x 4,60 mm, 5 μ m) dengan kombinasi fase gerak optimal asetonitril dan larutan 0,01 M Na₂HPO₄, yang diatur pHnya $7 \pm 0,1$ menggunakan asam fosfat 85% (34:66 v/v) yang di pompa pada kecepatan alir 1 mL/menit. Analit dideteksi menggunakan detektor UV pada panjang gelombang 229 nm. Validasi metode analisis penetapan kadar glibenklamid dalam *spiked* plasma sesuai dengan acuan dari *European Medicines Agency* (EMA).

Hasil metode analisis menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan selektif ($R_s > 2$), akurat (*Recovery* 90,17 – 113,36 % serta 80,78 – 119,16 % untuk LLOQ dengan persyaratan 85-115% serta 80-120% untuk LLOQ), presisi (CV kadar terhitung 1,9 – 11,06 % serta 2,81- 13,22 % untuk LLOQ dengan persyaratan <15% serta <20% untuk LLOQ). Kurva kalibrasi untuk GLB terbukti linear ($r = 0,9986$) sesuai persyaratan $>0,99$ pada rentang 30-1000 ng/mL. Hasil uji stabilitas analit GLB pada perlakuan preparasi setelah 4 jam, 24 jam dan *freeze and thaw* dapat dikatakan stabil (*Recovery* 88,05 – 100,21 % dengan persyaratan 85-115%), stabilitas larutan GLB dikatakan stabil namun untuk Nadik kurang stabil (persen luas puncak GLB dan Nadik berturut-turut 1,07 dan 3,68 % dengan persyaratan < 2%), sehingga larutan stok Nadik sebaiknya selalu dibuat baru. Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa metode dapat diterapkan dalam pengujian Bioavailabilitas-Bioekivalensi (BA/BE) obat glibenklamid menggunakan instrumen HPLC.

Kata kunci: Antidiabetes, BA/BE, HPLC, glibenklamid, *spiked* plasma

ABSTRACT

Glibenclamide is a second generation sulfonilurea antidiabetic drug used as an oral therapy option for type 2 diabetes and has been widely used as drug copy. A copy of drug will be granted marketing authorization if its efficacy, safety, and quality can be assured bioequivalent to those of the innovator product. This research was conducted to develop and validate glibenclamide analysis methods in plasma spiked HPLC using an internal standard of natrium diclofenac (Nadik).

The HPLC analysis was carried out isocratic elution on the reverse phase column of Luna Phenomenex[®] C18 (250 x 4.60 mm, 5 μ m) with a combination of optimum mobile phase of acetonitrile and 0.01 M Na₂HPO₄ solution, which was pH 7 \pm 0,1 using phosphoric acid 85% (34:66 v / v) pumped at a flow rate of 1 mL/min. Analyte was detected using UV detector at 229 nm. Validation of glibenclamide level assay analysis methods in spiked plasma in accordance with reference from the European Medicines Agency (EMA).

The results of the analysis method show that the method developed selectively ($R_s > 2$), accurate (Recovery 90,17 - 113,36% and 80,78 - 119,16% for LLOQ with requirement 85-115% and 80-120% for LLOQ), precision (CV counts 1.9 - 11.06% and 2.81 - 13.22% for LLOQ with requirements $<15\%$ and $<20\%$ for LLOQ). The calibration curve for GLB proved linear ($r = 0.9986$) under requirements > 0.99 in the 30-1000 ng / mL range. The results of GLB analytic stability test on the preparation treatment after 4 hours, 24 hours and freeze and thaw can be said to be stable (Recovery 88.05 - 100.21% with requirement 85-115%), the stability of GLB solvent was said to be stable but for Nadik less stable (percent of peak GLB and Nadik respectively 1.07 and 3.68% with requirement $<2\%$), so that solvent Nadik stock should always be made new. Based on the result of the research, it could be concluded that the method could be used in Bioavailability/Bioequivalence (BA/BE) testing of glibenclamide drug using HPLC instrument.

Keywords : Antidiabetic, BA/BE, HPLC, Glibenclamide, *spiked* plasma