

# Determinación por HPLC indicativa de la estabilidad del racecadotril en forma de dosificación farmacéutica y como sustancia farmacológica al por mayor

*Stability indicating HPLC determination of racecadotril in bulk drug and pharmaceutical dosage form*

LAKSHMANA-PRABU S\*, TARUNVEER S, ALEX J, DINESH KUMAR C, SRINIVASAN KK

Manipal College of Pharmaceutical Sciences, Manipal – 576 104, India

\*Autor de contacto: Tel.: +91-9844616412. Dirección de correo electrónico: slaxmanvel@yahoo.com

## RESUMEN

Se desarrolló y validó un nuevo método de cromatografía líquida de alto rendimiento, sencillo, rápido, reproducible e indicativo de la estabilidad, para el análisis del racecadotril en formulaciones farmacéuticas y como sustancia farmacológica al por mayor. La separación HPLC se realizó en una columna BDS -Hypersil C<sub>18</sub> (250 mm X 4,6 mm, i.d. 5 µm de tamaño de partícula) utilizando una fase móvil formada por una mezcla de 20 mM de tampón fosfato (pH 3.5) y acetonitrilo en una proporción 40:60 y con una velocidad de flujo de 1 ml/min., con detección a 230 nm. Los datos del análisis de regresión lineal de las gráficas de calibración presentaron una buena relación lineal con un coeficiente de correlación de 0,999 respecto al área de pico en el rango de concentración entre 5 µg/ml y 15 µg/ml. Se validó la precisión, exactitud, precisión, recuperación y robustez del método. Los límites de detección y determinación observados fueron de 50 y 100 ng/ml respectivamente. El racecadotril se sometió a hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina y degradación oxidativa. El fármaco se degrada en condiciones ácidas, básicas y de oxidación. El análisis estadístico demuestra que el método es repetible, selectivo y preciso para la estimación de racecadotril. El método desarrollado y propuesto de HPLC se puede aplicar a la identificación y estimación del racecadotril en forma de dosificación oral sólida comercial y como sustancia farmacológica al por mayor.

PALABRAS CLAVE: Racecadotril. HPLC. Validación. Indicativo de estabilidad. Degradación. Forma de dosificación sólida.

## ABSTRACT

*A new simple, rapid, reproducible and stability indicating high performance liquid chromatographic method for the analysis of racecadotril in bulk drugs and from pharmaceutical formulation was developed and validated. The HPLC separation was achieved on a BDS -Hypersil C<sub>18</sub> column (250mm X 4.6mm, i.d. 5µm particle size) using a mobile phase consisting of a mixture of 20 mM phosphate buffer (pH 3.5) and acetonitrile in the ratio of (40:60) at a flow rate of 1 ml/min with detection at 230 nm. The linear regression analysis data for the calibration plots showed good linear relationship with the correlation coefficient of 0.999 with respect to peak area in the concentration range between 5 µg/ml and 15 µg/ml. The method was validated for precision, accuracy, recovery and robustness. The limit of detection and limit of quantitation were found to be 50 and 100 ng/ml respectively. Racecadotril was subjected to acid hydrolysis, alkali hydrolysis and oxidative degradation. The drug undergoes degradation under acidic, basic and oxidation conditions. Statistical analysis proves that the method is repeatable, selective and accurate for the estimation of racecadotril. The proposed developed HPLC method can be applied for identification and estimation of racecadotril in bulk drugs and marketed oral solid dosage forms.*

KEYWORDS: Racecadotril. HPLC. Validation. Stability indicating. Degradation. Solid dosage form.

Fecha de recepción: 07-05-2008

Fecha aceptación: 04-06-2008

## INTRODUCCIÓN

El racecadotril, químicamente [2-{2(acetilo sulfanilmetilo) - 3-fenil-propanol} éster de ácido aminoacético de bencilo]<sup>1</sup> (RAC), un derivado lipofílico del tiorfano, se convierte rápidamente en tiorfano, que interactúa específicamente con el sitio activo de la encefalinasa para producir un potente bloqueo de la enzima que impide la inactivación de los péptidos de opiáceos endógenos (encefalinas) liberados por las neuronas submucosales y mesentéricas. La encefalinasa abunda en el tracto gastrointestinal y es responsable de más del 85% de la hidrólisis de las encefalinas metionina y leucina, por lo que es un blanco potencial nuevo para el tratamiento de la diarrea acuosa aguda de etiología bacteriana y vírica<sup>2,3</sup>. Mediante la inhibición de la encefalinasa, este fármaco refuerza la actividad fisiológica de las encefalinas endógenas y, por tanto, presenta actividad intestinal antisecretora.

La RAC aún no figura oficialmente en ninguna farmacopea. Se han publicado diversos métodos analíticos para la determinación del metabolito RAC en plasma humano mediante cromatografía líquida/espectrometría de masas en cascada<sup>4</sup>, estudios estructurales de racecadotril y de sus impurezas de proceso mediante NMR y espectroscopia de masas<sup>5</sup>. Por tanto, se consideró de interés el desarrollo de un método sencillo, específico y preciso para la estimación del RAC como sustancia farmacológica al por mayor y también en formulaciones comerciales de dosificación sólida (cápsulas Zedott).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Instrumental y condiciones cromatográficas*

El análisis HPLC cuantitativo se realizó en un cromatógrafo líquido de alto rendimiento con doble pistón reciprocante con dos bombas LC-10AT VP de Shimadzu Corp., Japón (Shimadzu Class LC-10A VP), un detector de UV/Vis de longitud de onda fija programable (SPD-10A VP) y un BDS Hypersil RP-C18 (250 mm X 4,6 mm i.d., tamaño de partícula 5 µm) como fase estacionaria. El sistema HPLC estaba equipado con el software serie Class LC-10AT, Versión 5.03 (Shimadzu). Se estableció una longitud de onda de 230 nm en el detector de rayos ultravioletas.

## INTRODUCTION

Racecadotril chemically [2-{2(acetyl sulfanilmethyl) - 3-phenyl-propanoyl} amino acetic acid benzyl ester]<sup>1</sup> (RAC) a lipophilic derivative of thiorphan is rapidly converted to thiorphan which interacts specifically with the active site of enkephalinase to produce potent blockage of the enzyme preventing inactivation of endogenous opioid peptides (enkephalins) released by submucosal and mesenteric neurons. Enkephalinase is abundant in the gastrointestinal tract and accounts for over 85% hydrolysis of methionine and leucine enkephalins providing a potentially novel target for the treatment of acute watery diarrhea of bacterial and viral aetiology<sup>2,3</sup>. Through inhibition of enkephalinase this drug reinforces the physiological activity of endogenous enkephalins and therefore shows intestinal antisecretory activity.

As RAC is not yet official in any Pharmacopoeia. Several analytical methods for determination of RAC metabolite in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry<sup>4</sup>, structural studies of racecadotril and its process impurities by NMR and mass spectroscopy<sup>5</sup> have been reported. Therefore it was thought of interest to develop simple, specific and accurate method for the estimation of RAC in bulk and also in marketed oral solid dosage formulation (Zedott capsules).

## MATERIALS AND METHODS

### *Instruments and chromatographic conditions*

Quantitative HPLC analysis was performed on a high performance liquid chromatograph which consists of reciprocating dual piston with two LC-10AT VP pumps from Shimadzu Corp., Japan (Shimadzu Class LC-10A VP), a programmable fixed wavelength UV/Vis detector (SPD-10A VP), supporting BDS Hypersil RP-C18 (250 mm X 4.6 mm i.d., particle size 5µm) as stationary phase. The HPLC system was equipped with the software, Class LC-10AT series, Version 5.03 (Shimadzu). The ultra violet detector was set at a wavelength of 230 nm. The mobile phase was composed of 20 mM phosphate buffer (pH 3.5) and acetonitrile (40:60, v/v). The flow rate was 1 ml/min.

La fase móvil estaba formada por tampón fosfato 20 mM (pH 3.5) y acetonitrilo (40:60, v/v). La velocidad de flujo fue de 1 ml/min.

#### *Fármacos y sustancias químicas*

El racecadotril fue una muestra gratuita proporcionada por Dr. Reddy's Laboratories Ltd., Hyderabad, India. El acetonitrilo utilizado era de grado HPLC (Ranbaxy Fine Chemicals Limited, SAS Nagar, India). El ácido clorhídrico, el peróxido de hidrógeno y el agua de grado HPLC se adquirieron a Qualigens chemicals, Mumbai, India. El potasio dihidrógeno fosfato y el hidróxido sódico se adquirieron a SD Fine Chemicals, Mumbai, India.

#### *Preparación del estándar*

Se pesaron con exactitud 50 mg de RAC, se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo (grado HPLC) en un matraz volumétrico limpio de 100 ml y se diluyeron hasta la marca con acetonitrilo (500 µg/ml).

#### *Curva de calibración del racecadotril*

Se diluyeron distintos volúmenes de soluciones madre con fase móvil (5, 7, 9, 10, 11, 13 y 15 µg/ml) para obtener las concentraciones deseadas. Cada solución se analizó por triplicado. Los valores de área pico se trazaron según las concentraciones correspondientes para obtener la curva de calibración.

#### *Precisión*

Para la determinación de la precisión y la exactitud intradía e interdía del ensayo, se analizaron muestras que contenían RAC (5, 10 y 15 µg/ml) seis veces en un día (intradía) y en tres días consecutivos. La precisión se calculó como un coeficiente de variación intradía y interdía [% C.V. = (D.E./media) × 100].

#### *Drug and chemicals*

Racecadotril was obtained as a gift sample from Dr. Reddy's Laboratories Ltd., Hyderabad, India. Acetonitrile used was of HPLC grade (Ranbaxy Fine Chemicals Limited, SAS Nagar, India). Hydrochloric acid, hydrogen peroxide and HPLC grade water were procured from Qualigens chemicals, Mumbai, India. Potassium dihydrogen phosphate and Sodium hydroxide were obtained from SD Fine Chemicals, Mumbai, India.

#### *Preparation of standard*

About 50 mg of RAC was weighed accurately and dissolved in 50 ml of acetonitrile (HPLC grade) in a clean 100 ml volumetric flask and diluted up to the mark with acetonitrile (500 µg/ml).

#### *Calibration curve of racecadotril*

Different volumes of stock solutions were suitably diluted with mobile phase (5, 7, 9, 10, 11, 13 and 15 µg/ml) to get the desired concentrations. Each solution was analyzed in triplicate. The peak area values were plotted against the corresponding concentrations to obtain the linear calibration curve.

#### *Precision*

For the determination of intra-day and inter-day accuracy and precision of the assay, samples containing RAC (5, 10 and 15 µg/ml) were analyzed for six times in a day (intraday) and three consecutive days. Precision was calculated as inter and intraday coefficient of variation [% C.V. = S.D/mean) X 100].

#### *Robustness of the method*

By introducing small changes in the variations of pH of the mobile phase (± 0.1), mobile phase composition (± 2.0%), wavelength of detection (± 5.0 nm), flow rate (± 10.0 % of absolute value) were studied.

### *Robustez del método*

Introduciendo pequeños cambios en las variaciones de pH de la fase móvil ( $\pm 0.1$ ), se estudiaron la composición de la fase móvil ( $\pm 2.0\%$ ), la longitud de onda de detección ( $\pm 5.0$  nm) y la velocidad de flujo ( $\pm 10.0$  % del valor absoluto).

### *Sensibilidad*

La sensibilidad del método se determinó en relación a LOD, LOQ. El valor de LOD se calculó como 3 veces el nivel de ruido, y el de LOQ como 10 veces el nivel de ruido.

### *Estudios de recuperación*

Se añadió el RAC a las muestras analizadas y las mezclas se analizaron mediante el método propuesto. En cada nivel de la cantidad se realizaron seis determinaciones. Esto se hizo para comprobar la recuperación de fármaco en los distintos niveles de la formulación.

### *Análisis de la formulación farmacéutica*

Para determinar la concentración de RAC en cápsulas (según la etiqueta: 100 mg por cápsula), se pesó el contenido de 20 cápsulas, se determinó su peso medio y se molió muy fino. Se pesó el equivalente en polvo a 100 mg de racecadotril. El fármaco del polvo se extrajo con acetonitrilo. Para asegurar la completa extracción del fármaco, se sonicaron durante 30 min. y se completó el volumen hasta 100 ml. La solución resultante se dejó reposar durante aproximadamente una hora y el sobrenadante se diluyó adecuadamente hasta obtener la concentración deseada ( $10 \mu\text{g/ml}$ ). El análisis se repitió por triplicado. Se estudió la posibilidad de interferencia del excipiente en el análisis.

### *Estudios de degradación forzada del racecadotril*

Se preparó una muestra de degradación introduciendo 100 mg de RAC en un matraz volumétrico

### *Sensitivity*

The sensitivity of the method was determined with respect to LOD, LOQ. The LOD was calculated as 3 times the noise level and LOQ was calculated as 10 times the noise level.

### *Recovery studies*

The analyzed samples were spiked with the standard RAC and the mixtures were analyzed by the proposed method. At each level of the amount, six determinations were performed. This was done to check the recovery of the drug at different levels in the formulation.

### *Analysis of pharmaceutical formulation*

To determine the concentration of RAC in capsules (labelled claim: 100 mg per capsule), the contents of 20 capsules were weighed, their mean weight determined and they were finely powdered. The powder equivalent to 100 mg of racecadotril was weighed. The drug from the powder was extracted with acetonitrile. To ensure complete extraction of the drug, it was sonicated for 30 min and volume was made up to 100 ml. The resulting solution was allowed to settle for about an hour and the supernatant was suitably diluted to give the desired concentration ( $10 \mu\text{g/ml}$ ). The analysis was repeated in triplicate. The possibility of excipient interference in the analysis was studied.

### *Forced degradation studies of racecadotril*

A degradation sample was prepared by taking 100 mg of RAC in a 100 ml volumetric flask followed by 50 ml of HPLC grade acetonitrile. Racecadotril was dissolved properly by shaking and sonicating the flask. The volume was adjusted to 100 ml with acetonitrile. 10 ml of the above solution was taken in three different 50 ml round bottomed flasks to perform degradation experiments. To the first flask, 10 ml of 0.01N HCl was added for acidic degradation. To the second flask, 10 ml of 0.01 N NaOH was added for basic degradation. To the third flask 10 ml of 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  was added for oxidative

de 100 ml y, a continuación, se añadieron 50 ml de acetonitrilo de grado HPLC. El racecadotril se disolvió adecuadamente agitando y sonicando el matraz. El volumen se completó hasta alcanzar 100 ml con acetonitrilo. Se extrajeron 10 ml de la solución anterior en tres matraces de fondo redondo de 50 ml para realizar los experimentos de degradación. Al primer matraz se le añadieron 10 ml de 0.01N HCl para degradación ácida. Al segundo matraz se le añadieron 10 ml de 0,01 N NaOH para degradación básica. Al tercer matraz se le añadieron 10 de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% para degradación oxidativa. Todos los matraces se sometieron a reflujo durante unas 3 horas. Después de completar los tratamientos de degradación, se dejaron enfriar las muestras a temperatura ambiente y se sometieron al tratamiento siguiente. Las muestras se neutralizaron adecuadamente y se ajustaron los volúmenes de los tres matraces a 50 ml con fase móvil. Las muestras se inyectaron y analizaron en comparación con las muestras de control (sin tratamiento de degradación).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

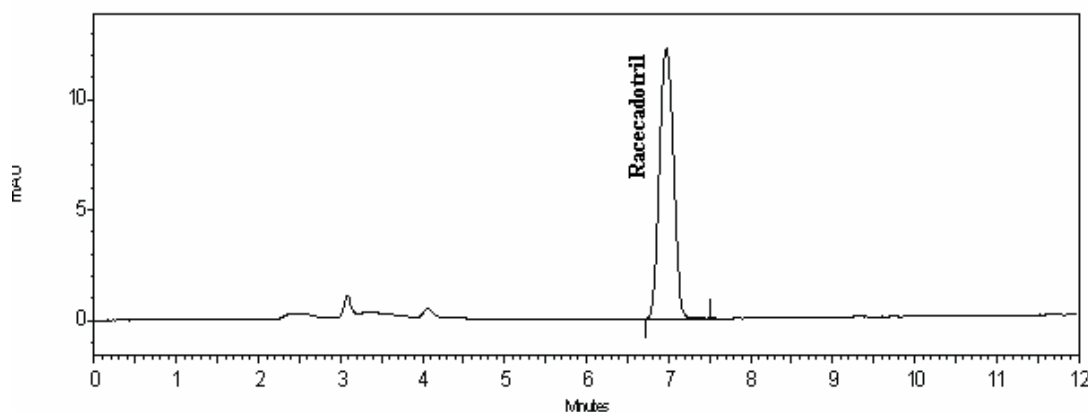
La fase móvil formada por 20 mM de tampón fosfato (pH 3.5) y acetonitrilo (40:60, v/v) presentó un pico agudo y bien resuelto de RAC con un tiempo de retención de 6,9 minutos, como se muestra en la Figura 1. Al cromatograma representativo se le aplicó una prueba de adecuación del sistema para comprobar diversos parámetros como la eficiencia de la columna y el residuo de pico. Las placas teóricas fueron de 11458,7 por metro y el residuo de pico 1,05.

degradation. All the flasks were refluxed for about 3 hours. After completing the degradation treatments samples were allowed to cool to room temperature and treated as follows. The samples were appropriately neutralized and the volumes of all the three flasks were adjusted to 50 ml with mobile phase. Samples were injected and analyzed against control samples (lacking of degradation treatment).

## RESULT AND DISCUSSION

A mobile phase composed of 20 mM phosphate buffer (pH 3.5) and acetonitrile (40:60, v/v) gave a well resolved, sharp peak for RAC with a retention time of 6.9 minutes which is shown in Figure 1. A system suitability test was applied to representative chromatogram to check the various parameters such as column efficiency and peak tailing. Theoretical plates were found to be 11458.7 per meter and peak tailing was found to be 1.05.

**FIGURA 1.** Cromatograma de HPLC de racecadotril estándar.  
**FIGURE 1.** HPLC chromatogram of standard racecadotril.





### Curva de calibración

Se preparó un conjunto de siete soluciones de RAC a concentraciones entre 5 y 15  $\mu\text{g/ml}$ . Cada muestra se analizó por triplicado; la curva de calibración se construyó trazando el área de pico en relación a la concentración mediante análisis de regresión lineal. El coeficiente de correlación observado fue de 0,999, lo que indica una linealidad excelente. En el rango, las desviaciones estándar relativas porcentuales de las áreas de pico de las tres inyecciones replicadas fueron inferiores al 2,0%.

### Precisión

En la Tabla 1 se muestran los resultados de exactitud y precisión intradía del RAC. El resultado de la determinación de la precisión intradía calculada mediante el % DER de seis determinaciones en cada una de las concentraciones de las tres muestras estuvo entre 0,23% y 0,78%.

En la Tabla 1 se muestran los resultados de exactitud y precisión interdía del RAC. La precisión de la determinación de la precisión interdía calculada mediante el % DER de seis determinaciones en cada una de las concentraciones de las tres muestras en tres días consecutivos estuvo entre 0,35% y 0,66%.

### Calibration curve

A set of seven solutions of RAC at concentrations ranging from 5 to 15  $\mu\text{g/ml}$  were prepared. Each sample was analyzed in triplicate; calibration curve was constructed by plotting the peak area against concentration using linear regression analysis. The correlation coefficient was found to be 0.999, indicating an excellent linearity. At the range, the percent relative standard deviations of the peak areas of three replicate injections were found to be less than 2.0%.

### Precision

The result of intraday precision and accuracy for RAC is shown in Table 1. The Intraday precision was determined by calculating the % RSD for six determinations at each concentration of three samples and was found to be between 0.23 % and 0.78 %.

The result of inter-day precision and accuracy for RAC is shown in Table 1. The inter-day precision was determined by calculating the % RSD for six determinations at each concentration of three samples on three consecutive days and was found to be between 0.35 % and 0.66 %.

**TABLA 1.** Precisión intradía e interdía del método de HPLC.

**TABLE 1.** Intra and Inter-day precision of HPLC method.

Conc. real ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Actual conc.</i> ( $\mu\text{g/ml}$ )	Precisión intradía <i>Intra-day precision</i>			Precisión interdía <i>Inter-day precision</i>		
	Conc. observada ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Observed conc.</i> ( $\mu\text{g/ml}$ )	DE <i>S.D.</i>	DER % <i>% R.S.D.</i>	Conc. observada ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Observed conc.</i> ( $\mu\text{g/ml}$ )	DE <i>S.D.</i>	DER % <i>% R.S.D.</i>
	5	4,92	0,038	0,78	4,91	0,032
10	9,92	0,023	0,23	9,95	0,035	0,35
15	14,98	0,051	0,34	14,93	0,059	0,39

*Robustez del método*

Se calculó la desviación estándar de las áreas de pico en cada parámetro, como pequeños cambios en las variaciones de pH de la fase móvil ( $\pm 0,1$ ), composición de la fase móvil ( $\pm 2,0\%$ ), longitud de onda de detección ( $\pm 5,0$  nm), velocidad de flujo ( $\pm 10,0\%$  del valor absoluto). La DER porcentual fue inferior al 2 %. Los bajos valores de DER porcentual indican la robustez del método.

*Sensibilidad*

En las condiciones experimentales empleadas, la cantidad más pequeña de fármaco que pudo ser detectada fue de 50 ng/ml, y la cantidad más pequeña de fármaco que pudo ser cuantificada fue de 100 ng/ml.

*Exactitud*

Los resultados indicados en la Tabla 2 demuestran que el método desarrollado es preciso, y la recuperación media observada estuvo entre 98% y 102%. El resumen de los datos de validación se muestra en la Tabla 3.

*Robustness of the method*

Standard deviation of peak areas was calculated for each parameter such as small changes in the variations of pH of the mobile phase ( $\pm 0.1$ ), mobile phase composition ( $\pm 2.0 \%$ ), wavelength of detection ( $\pm 5.0$  nm), flow rate ( $\pm 10.0 \%$  of absolute value). The % R.S.D. was found to be less than 2 %. The low values of % R.S.D. indicated robustness of the method.

*Sensitivity*

Under the experimental conditions employed, the lowest amount of drug which could be detected was found to be 50 ng/ml and the lowest amount of drug which could be quantified was found to be 100 ng/ml.

*Accuracy*

The results listed in Table 2 showed the developed method is accurate and the mean recovery was found to be between 98 % and 102 %. Validation summary data is shown in Table 3.

**TABLA 2.** Estudios de recuperación.  
**TABLE 2.** Recovery studies.

Fármaco <i>Drug</i>	Nivel <i>Level</i>	Cant. de muestra tomada ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Amount of sample taken (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i>	Cant. de estándar añadido ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Amount of standard spiked (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i>	Cant. de estándar recuperado ( $\mu\text{g/ml}$ ) <i>Amount of standard recovered (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i>	Recuperación (%) <i>Recovery (%)</i>	DER % <i>% R.S.D.</i>
Racecadotril <i>Racecadotril</i>	I	10	5	4,97	99,37	1,356
	II	10	10	9,91	99,12	0,655
	III	10	15	14,90	99,31	0,553

**TABLA 3.** Resumen de los parámetros de validación.  
**TABLE 3.** Summary of validation parameters.

<b>Parámetro</b> <i>Parameter</i>	<b>Datos</b> <i>Data</i>
<b>Rango de linealidad</b> <i>Linearity range</i>	5-15 µg/ml
<b>Coefficiente de correlación</b> <i>Correlation coefficient</i>	<b>0,999</b>
<b>Límite de detección (ng/ml)</b> <i>Limit of detection (ng/ml)</i>	<b>50</b>
<b>Límite de cuantificación (ng/ml)</b> <i>Limit of quantitation (ng/ml)</i>	<b>100</b>
<b>Recuperación (n=6)</b> <i>Recovery (n=6)</i>	<b>99,30 ±0,119</b>
<b>Precisión (DER %)</b> <i>Precision (%RSD )</i>	
<b>Interdía (n=6)</b> <i>Inter-day (n=6)</i>	<b>0,47</b>
<b>Intradía (n=6)</b> <i>Intra-day (n=6)</i>	<b>0,45</b>
<b>Robustez</b> <i>Robustness</i>	Robusto <i>Robust</i>
<b>Especificidad</b> <i>Specificity</i>	Específico <i>Specific</i>

#### *Análisis de la formulación farmacéutica*

Se observó un único pico en el cromatograma de las muestras de RAC extraídas de cápsulas, lo que indica que no hay interferencias de los excipientes comunes presentes en la cápsula. El contenido de RAC medio observado fue de 99,37 %. Por tanto, se puede inferir que no se produjo degradación de RAC en las formulaciones analizadas mediante este método. El bajo valor de DER porcentual indica la adecuación de este método para el análisis rutinario del RAC en formas de dosificación farmacéutica.

#### *Analysis of pharmaceutical formulation*

A single peak was observed in chromatogram of the RAC samples extracted from capsules, which indicates that there is no interference from the common excipients present in the capsule. The mean RAC content was found to 99.37 %. It may therefore be inferred that degradation of RAC had not occurred in the formulation that were analyzed by this method. The low % R.S.D. value indicted the suitability of this method for routine analysis of RAC in pharmaceutical dosage forms.

#### *Propiedad indicativa de la estabilidad*

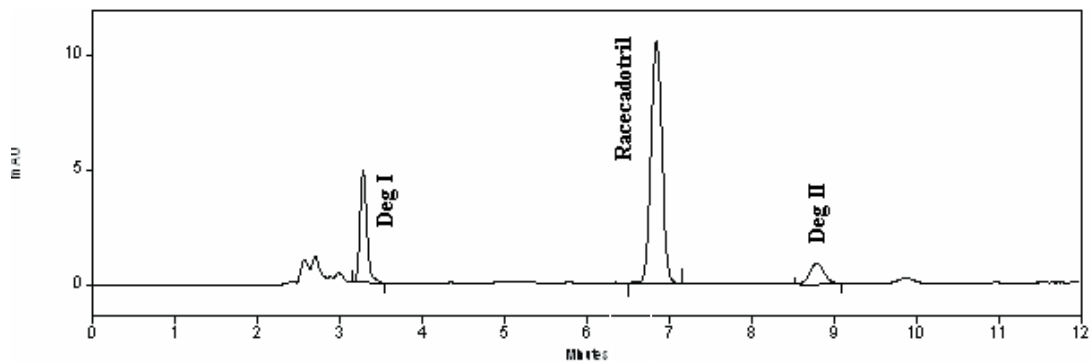
El cromatograma de las muestras degradadas con ácido, base y peróxido de hidrógeno presentó picos claramente separados de RAC puro, así como algunos picos adicionales a distintos valores de  $R_t$ . Los puntos de producto degradado se resolvieron bien a partir del pico de fármaco. Los cromatogramas se muestran en las Figuras 2, 3 y 4. Los datos de producto de degradación con sus valores de  $R_t$  se indican en la Tabla 4.

#### *Stability indicating property*

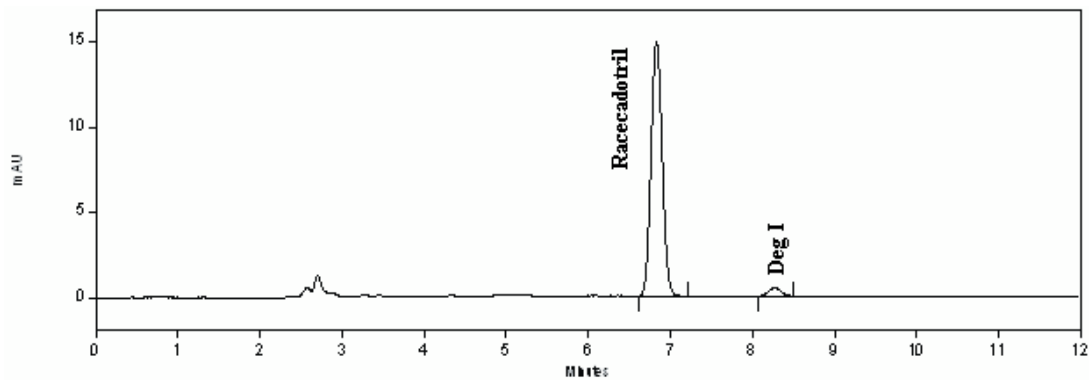
The chromatogram of samples degraded with acid, base and hydrogen peroxide showed well separated peaks of pure RAC as well as some additional peaks at different  $R_t$  values. The spots of degraded product were well resolved from the drug peak. The chromatograms are shown in Figure 2, 3 and 4. The number of degradation product with their  $R_t$  values listed in Table 4.



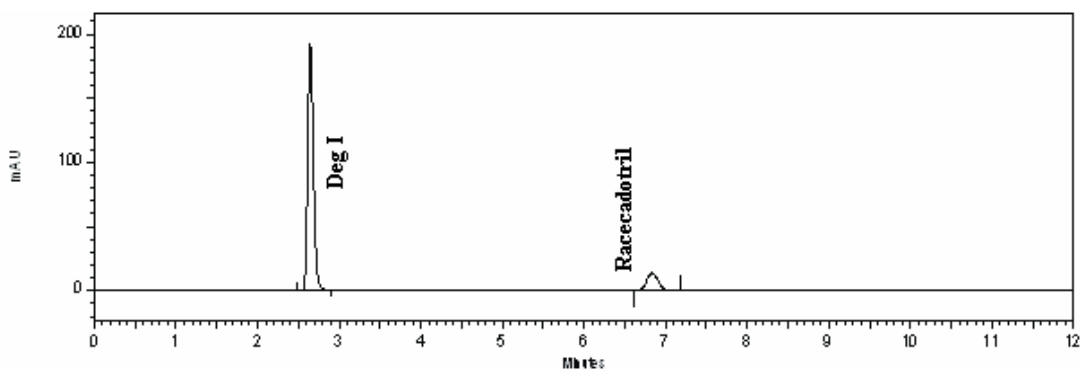
**FIGURA 2.** Cromatograma de HPLC de racecadotril con degradación básica.  
**FIGURE 2.** HPLC chromatogram of base degraded racecadotril.



**FIGURA 3.** Cromatograma de HPLC de racecadotril con degradación ácida.  
**FIGURE 3.** HPLC chromatogram of acid degraded racecadotril.



**FIGURA 4.** Cromatograma de HPLC de racecadotril con degradación oxidativa.  
**FIGURE 4.** HPLC chromatogram of oxidative degraded racecadotril.



**TABLA 4.** Degradación forzada del racecadotril.**TABLE 4.** Forced degradation of racecadotril.

Nº de serie <i>Serial Number</i>	Condición de exposición de la muestra <i>Sample exposure condition</i>	Nº de productos de degradación (valores de R <sub>i</sub> ) <i>Number of degradation products (R<sub>i</sub> values)</i>
1	0.01 N NaOH, 3 h, 50 °C	2 (3.3, 8.8)
2	0.01 N HCl, 3 h, 50 °C	1 (8.3)
3	3.0% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3 h, 50 °C	1 (2.7)

### CONCLUSIÓN

El método de HPLC propuesto es sencillo, específico, rápido, exacto y preciso para la determinación de RAC en su forma de dosificación sólida. Se observó que el método de HPLC desarrollado es adecuado para la determinación de RAC como sustancia farmacológica al por mayor y como formulación comercial de dosificación sólida, sin interferencia alguna de los excipientes. El análisis estadístico demuestra que el método es repetible y selectivo para el análisis de RAC. Este método propuesto se puede utilizar como herramienta de control de calidad para la estimación del RAC en formulaciones de dosificación sólida.

### CONCLUSION

The proposed HPLC method is simple, specific, rapid, accurate and precise for the determination of RAC in their solid dosage form. The developed HPLC method was found suitable for determination of RAC as bulk drug and in marketed solid dosage formulation without any interference from the excipients. Statistical analysis proves that the method is repeatable and selective for the analysis of RAC. This proposed method can be used as a quality control tool for the estimation of RAC in solid dosage formulation.

### BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Matheson AJ, Noble S. Racecadotril. *Drugs* 2000; 59: 829-835.
2. Cezard JP, Salazar-Lindo E. Racecadotril in acute diarrhea. *Indian Pediatr* 2005; 42: 502-503.
3. Schwartz JC. Racecadotril: a new approach to the treatment of diarrhoea. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 75-79.
4. Xu Y, Huang J, Liu F, Gao S, Guo Q. Quantitative analysis of racecadotril metabolite in human plasma using a liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr. B* 2007; 852: 101-107.
5. Reddy KM, Babu JM, Sudhakar P, Sharma MS, Reddy GS, Vyas K. Structural studies of racecadotril and its process impurities by NMR and mass spectroscopy. *Pharmazie* 2006; 61: 994-998.