

FABAD Farm. Bil. Der.
17, 11 - 16, 1992

FABAD J. Pharm. Sci.
17, 11 - 16, 1992

KATATER KAYDIRICI JELLERDE YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ İLE LİDOKAİN VE KLORHEKZİDİN TAYİNİ

Ecz. Pınar BULUT (*)
Ecz. Mürüvvet NİĞDELİOĞLU (*)

Özet: Bu çalışmada katater kaydırıcı olarak kullanılan preparatların analizi için HPLC yöntemi önerilmiştir. Önerilen yöntemle bu preparatlarda esas olarak bulunan lidokain ve klorheksidinle beraber, klorheksidinin bozunma ürünü olan p-kloroanilin ve ayrıca koruyucu olarak kullanılabilen metil ve propilparaben analizi mümkündür. Tayinde RP - 8 kolon ile oda sıcaklığında çalışılmış, mobil faz olarak 3.2 g/L o-fosforik asit ($d = 1.71$) ihtiva eden $M KH_2PO_4$, su ve asetonitril karışımı (100:600:300) kullanılmıştır. Akış hızı 1.5 ml/ dakika olarak ayarlanmış, absorbans ölçümleri 254 nm'de yapılmıştır. Geri kazanım çalışmasında lidokain ve klorheksidin % 99.8, metil paraben % 99.5, propil paraben % 98.8 bulunmuş olup, standard sapmaları küçüktür. Yöntem 2 preparat üzerinde uygulanmış ve olumlu sonuç alınmıştır.

THE DETERMINATION OF LIDOCAINE AND CHLORHEXIDINE IN CATHETER LUBRICANT GELS BY HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Summary: In this study, a HPLC method is described for the quantitative analysis of catheter lubricant gels containing essentially lidocaine and chlorhexidine. Also methylparaben and propylparaben which are preservatives in these preparations were analysed by the proposed method. The assay was carried out on RP- 8 column at ambient temperature using $M KH_2PO_4$ solution containing 3.2 g/L o-phosphoric acid ($d=1.71$), water and acetonitril mixture (100:600:300) as mobile phase, with UV detection at 254 nm. The elution was performed at the flow rate of 1.5 ml/min. Additionally p-chloroanilin which is decomposition product of chlorhexidine was separated. The recoveries of lidocaine, chlorhexidine, methylparaben and propylparaben in prepared synthetic gel were found 99.8 %, 99.8 %, 99.5 % and 98.8% respectively, with good standard deviations. The method was applied to the commercial preparations and satisfactory results were obtained.

Key words : Catheter Lubricant, Lidocaine, Chlorhexidine, Methylparaben, Propylparaben, p - Chloroanilin

Başvuru Tarihi : 27.3.1991

Kabul Tarihi : 7.2.1992

(*) Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, İlaç ve Kozmetik Araştırma Müdürlüğü - Ankara.

GİRİŞ

Katater kaydırıcı preparatlar genellikle uretranın kataterizasyonunda ve endoskopide kullanılır. Jel formunda hazırlanan bu preparatlarda etken madde olarak lokal anestezi amaçla lidokain, antiseptik amaçla klorhekzidin bulunur. BP 1988 ve USP XXII'de katater kaydırıcı preparatlar için monograflar verilmiştir (1,2). BP 1988'de verilen monografta, preparatın % 2 lidokain HCl ve % 0.25 klorhekzidin glukonat çözeltisi (BP'ye göre % 20 m/v) içereceği, jel formunda olacağı ve otoklavda sterilize edileceği belirtilmiştir (1). USP XXII'deki formül ise sadece lidokain içermektedir (2). Her iki farmakopede söz konusu monograflarda lidokain tayini için titrimetrik yöntem verilmiş, klorhekzidin tayini için BP 1988'de HPLC yöntemi önerilmiştir (1). Klorhekzidin çözeltilerinin otoklavlanması sonucunda ise toksik bir madde olan p-kloroanilin ortaya çıktığı bildirilmektedir (3,4). Lite-

ratürde hem klorhekzidin, hem de klorhekzidin bozunma ürünü olan p - kloroanilin analizi için HPLC yöntemleri bulunmaktadır (5,6). BP 1988'de; lidokain ve klorhekzidin jel monografisinde p - kloroanilin için herhangi bir limit verilmesine rağmen, klorhekzidin çözeltisine ait monografide p-kloroanilin sınırı 500 ppm'dir (% 0.05) (1).

GEREÇ VE YÖNTEM

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi : Shimadzu LC-6 A

- Absorbans dedektörü : SPD - 6AV

- İntegratör : Shimadzu C - R3A

Miktar tayini için standart olarak kullanılan lidokain HCl, klorhekzidin glukonat ve HCl, metil ve propilparaben farmasötik kalitede, diğer maddeler analitik saflıktadır.

Yöntem iki ticari preparat üzerinde uygulanmış olup, preparatların erken ve koruyucu madde miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Ticari preparatlarda etken ve koruyucu madde miktarları

Kod	Lidokain HCl	Klorhekzidin	Metil paraben	Propil paraben
Jel - NS	2 g/100 g	Glukonat, % 20 264 mg/100 g	60 mg/100g	25 mg/100 g
Jel - CT	2 g/100 g	HCl tuzu 50 mg/100 g	-	-

- HPLC Yöntemi :

Kolon : LiChrosorb RP - 8 (10 µm)

Mobil Faz : 3.2 g/L o - fosforik asit ihtiva eden M KH₂ PO₄ çözeltisi : Su : Asetonitril (100 : 600 : 300)

Akış Hızı : 1.5 ml /dak

Enjeksiyon : 20 µl

Dalga Boyu : 254 nm

Standart çözeltiler mobil faz içinde aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

Standart Lidokain HCl çözeltisi : 2 mg/ml

Standart Klorhekzidin glukonat veya HCl çözeltisi : 0.05 mg/ml

Standart Metilparaben çözeltisi : 0.06 mg/ml

Standart Propilparaben çözeltisi ; 0.025 mg/ml

Stok p-kloroanilin çözeltisi : % 0.1 m/v, suda.

Numune : 5 g Jel - NS veya Jel - CT mobil fazla çözülerek 50 ml'ye tamamlanmıştır.

BULGULAR

1) Yöntemin uygulanması sonucunda Jel - NS, Jel - CT ve p-kloroanilin ilave edilmiş Jel -NS'e ilişkin kromatogramlar Şekil 3'de görülmektedir. 1.5 ml/dak akış hızında tutulma süreleri yaklaşık olarak sırasıyla lidokain için 2.6, metilparaben için 3.9, klorhekzidin için 8.3 ve propilparaben için 9.6 dakika bulunmuştur. p - kloroanilin ise metilparaben ile çakışmamış, oldukça iyi ayrılmıştır (tutulma süresi 4.8 dakika).

2) Lidokain ve klorhekzidin için konsantrasyona göre pik alanı değişimi incelenmiş ve lidokain için 1-4 mg/ml, klorhekzidin için 0.025-0.1 mg/ml arasında doğrusal bir ilişki bulunduğu görülmüştür (Şekil 1,2). p - kloroanilin tayininin yapılabilmesi için p - kloroanilin hassasiyet alt sınırı, 1 µg/ml konsantrasyondaki çözeltiden 20 µl enjekte edildiği gözönüne alınarak yaklaşık 0,02 µg olarak hesaplanmıştır.

3) Yöntemin geri kazanım tayini ile validasyonu için Tablo 2'de verilen konsantrasyonlarda etken ve koruyucu maddeler ile propilen glikol ve hidroksi etil selüloz yardımcı maddeleri içeren jel hazırlanmış ve hazırlanan jel önerilen yöntemle analiz edilerek geri kazanım hesaplanmıştır (Tablo 2).

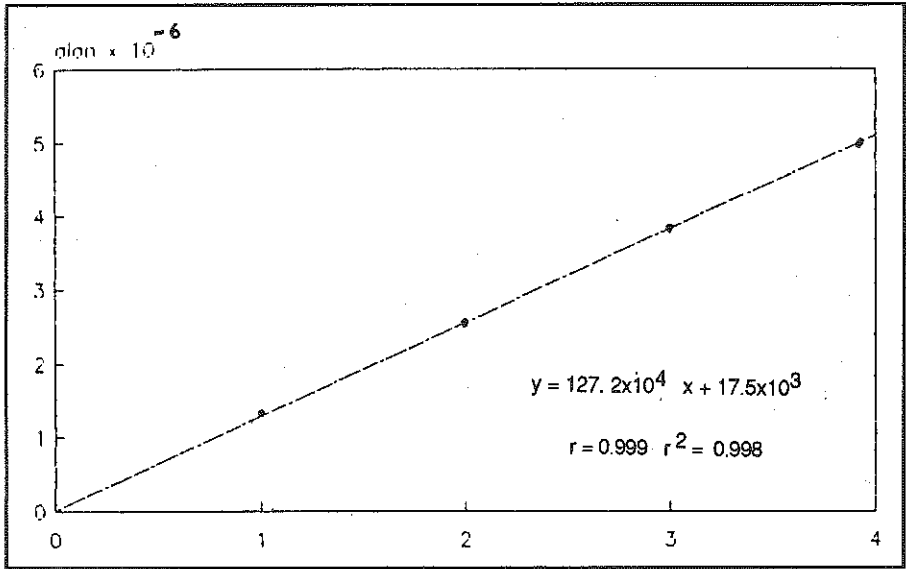
Tablo 2. Hazırlanan preparatın geri kazanım sonuçları (n = 10 enjeksiyon)

	Lidokain HCl	Klorhekzidin Glukonat, %20	Metil Paraben	Propil Paraben
Konan mg/50 g	1000	131	29.8	12.6
Bulunan, % x ±SH	99.8 ± 0.3	99.8 ± 0.4	99.5 ± 0.4	98.8 ± 0.5
S. Sapma	0.97	1.18	1.22	1.68

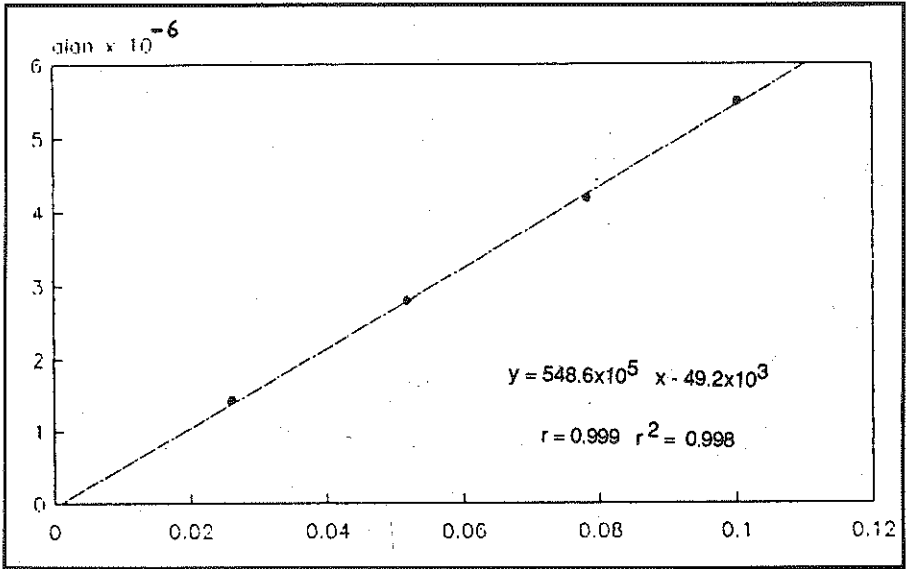
4) Jel - NS ve Jel - CT üzerinde belirtilen HPLC yöntemi ile yapılan analizlerin sonuçları Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ticari preparatların analiz sonuçları (n=2)

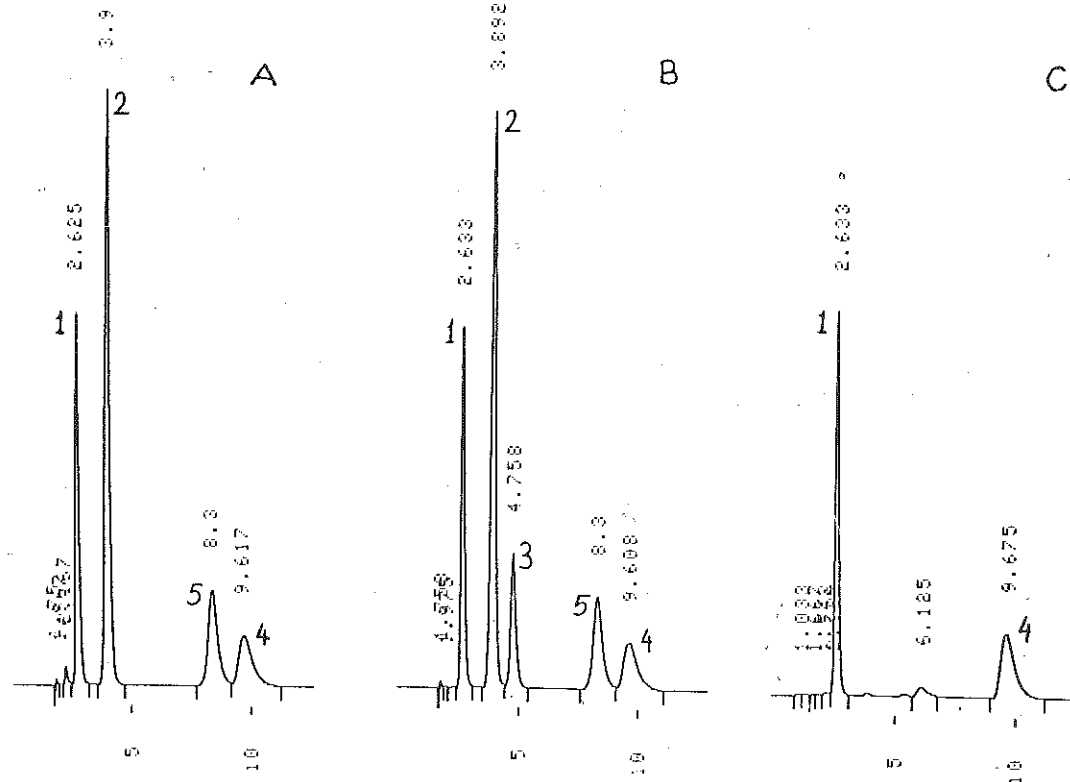
Kod	Lidokain HCl	Klorhekzidin	Metil Paraben	Propil Paraben
Jel - NS 6 ml	% 101.0	% 105.8	% 116.2	% 97.1
Jel - NS 11 ml	% 99.5	% 106.7	% 115.1	% 95.7
Jel - CT	% 101.9	% 84.1	-	-



Şekil 1 - Lidokain konsantrasyon - alan grafiği

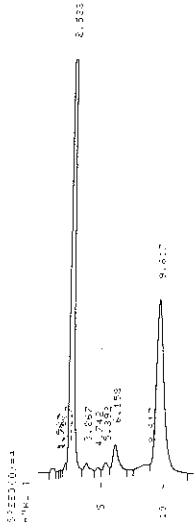


Şekil 2 - Klorhekzidin konsantrasyon - alan grafiği



Şekil 3 - HPLC Kromatogramlar A : Jel - NS (mobil fazda, % 10 m/v) B : 20 ml Jel - NS (% 10) + 1 ml p - kloroanilin (% 0.1) C : Jel - CT (mobil fazda, % 10 m/v)
 1 : Lidokain 2 : Metilparaben 3 : p - kloroanilin
 4 : Klorheksidin 5 : Propilparaben

5) Jel - CT için Şekil 3 te verilen kromatogramda p-kloroaniline ait çok küçük bir pik görünmüştür. Daha belirgin bir pik elde edilmesi için 5 g Jel - CT 5 ml mobil fazla ultrasonik banyoda karıştırılmış ve enjekte edilmiştir (Şekil 4). p - kloroanilin pikine ait alandan Jel - CT'in p-kloroanilin miktarı yaklaşık milyonda 4 kısım (4 ppm) olarak hesaplanmıştır. Preparattaki klorhekzidin miktarı (50 mg/100 g) gözönüne alındığında ise klorhekzidinin yaklaşık % 0.8 oranında bozunduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4 - p-kloroanilin tayini için alınan Jel - CT Kromatogramı (5 g Jel - CT + 5 ml mobil faz)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hazırlanan jel üzerinde yapılan geri kazanım çalışmasında etken ve koruyucu maddeler için geri kazanım yüksek (% 98.8 - 99.8) ve yöntemin standard sapmasının oldukça düşük (0.97-1.68) olduğu bulunmuştur. Bu verilere göre önerilen yöntem ile katater kaydırıcı ola-

rak kullanılan jel preparatlarda bulunan lidokain ve klorhekzidin miktar tayinlerini yapmak mümkündür. Ayrıca Jel - NS gibi koruyucu olarak metil ve propilparaben içeren preparatlara da yöntem aynı duyarlılıkla uygulanabilir. Ayrıca klorhekzidinin otoklavlanması sonucu oluşabilen p-kloroanilin belirlenen koşullarda ayrıldığı ve preparatta bulunan klorhekzidin yüksek miktarda bozduğunda p-kloroanilin miktarının tayin edilebileceği görülmüştür. Ancak bunun için numune miktarının oldukça artırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. British Pharmacopoeia 1988, V. II, pg. 692 "Lignocaine and Chlorhexidine Gel", London Her Majesty's Stationery Office, 1988.
2. USP XXII, pg. 769 "Lidocaine Hydrochloride Jelly", 1990.
3. Scott, A.I., Eccleston, E. "Investigations of the general toxic and hematological effects of para - chloraniline in several species", *Proc. Eur. Soc. Stud. Drug Toxicity*, 8,195, 1966.
4. Dolby, j., Gunnarsson, B., Kronberg, L., Wikner, H., "Stability of chlorhexidine when autoclaving", *Pharm Acta Helv.*, 47, 615, 1972.
5. Bailey, F., Brittain, P.N., Williamson, B.F., "Automated chromatographic determination of chlorhexidine in pharmaceutical formulations", *J. Chromatogr.*, 109, 305, 1975.
6. Richard, A., Elbaz, M., Andermann, G., "Determination of 4 - chloroaniline and chlorhexidine digluconate by ion - pair reversed - phase high performance liquid chromatography", *J. Chromatogr.*, 298, 356, 1984.