

DEKSKETOPROFEN TROMETAMOL VE DİKLOFENAK SODYUM'UN FARMASÖTİK ÖRNEKLERDE DAD
DEDEKTÖRLÜ HPLC İLE EŞZAMANLI TAYİNİ
SIMULTANEOUS ANALYSIS OF DEKSKETOPROFEN TROMETAMOL AND DICLOFENAC SODIUM IN
PHARMACEUTICAL SAMPLES USING HPLC METHOD WITH DIODE-ARRAY DETECTOR

İbrahim AYDIN¹, İbrahim NARİN¹

¹ Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya A.D., Kayseri

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, nonsteroidal antiinflamatuar ilaç grubunda yer alan, kombinasyon olarak kullanılan deksketoprofen trometamol (DKP) ve diklofenak sodyum'un (DIC) farmasötik örneklerde eş zamanlı analizi için bir yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirmektir. Ayırmalar hareketli faz olarak asetonitril: 0.025 M ile pH 3.0 fosfat tamponu (70:30 h/h) karışımı kullanılarak Inertsil C18 ters faz kolon sisteminde yapılmıştır. Akış hızı 0.7 mL/dk'dır. Çalışmalar 260 nm dalga boyunda yapılmıştır. Geliştirilen yeni metod kullanılarak farmasötik preparatlarda DKP ve DIC tayinleri yapılmıştır. Farmasötik örnekler herhangi bir ön ayırma basamağına tabi tutulmadan HPLC'de analiz edilmiştir. HPLC yöntemiyle elde edilen analiz sonuçlarının farmasötik örneklerde DKP ve DIC'in kantitatif analizleri için doğru, kesin, duyarlı, seçici ve sağlam ve tutarlı olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Deksketoprofen Trometamol, Diklofenak Sodyum, HPLC, Farmasötik Örnek

GİRİŞ

Ağrı, muhtemel bir doku hasarına karşı vücudumuzun uyarımını sağlamak için sinyaller üreten sinir sisteminin hayati fonksiyonlarından. Ağrı, gerçek ya da potansiyel doku hasarıyla ilişkili hoş olmayan duyu ve hissi bir deneyimdir. "Var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş gitmeyen duyu ve duygusal deneyim" de denebilir. "Ağrı bir korunma sistemi" olarak tarif edilmektedir. Nosisepsiyon ise vücudun bir bölgesinde bir doku hasarında bunun özelleşmiş sinir uçları (nosiseptör) ile santral sinir sistemine götürülmesi, algılanması ve buna karşı fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine denir. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olup kişiye ve koşullara göre değişen bir duyu kullanım şeklidir. Tüm nosiseptör vasıtalı uyarımlar ağrı oluşturur, ancak tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz. Ağrı genellikle doku zedelenmesi sonucu gelişen nonseseptif bir duyudur. Akut ağrıya neden olan

ABSTRACT

The aim of this study is to develop a high pressure liquid chromatography (HPLC) method for simultaneous analysis of dexketoprofen trometamol (DKP) and diclofenac sodium (DIC) which can be used as a combined formulation of in nonsteroidal anti-inflammatory drug group in pharmaceutical samples. Separation was performed on Inertsil C18 reverse phase column system using a mobile phase consisting of acetonitrile and pH 3.0 0.025 M phosphate buffer (70:30 v/v). Flow rate was 0.7 mL/min and determinations of DIC and DKP was performed at 260 nm by using DAD detector. DKP and DIC in pharmaceutical preparation were determined by the developed HPLC method. Pharmaceutical samples were analyzed by HPLC without using preliminary separation step. The obtained results by the procedure of HPLC were accurate, precise, sensitive, selective and robust for quantitation analysis of DKP and DIC in pharmaceutical samples.

Keywords: Dexketoprofen Trometamol, Diclofenac Sodium, HPLC, Pharmaceutical Sample

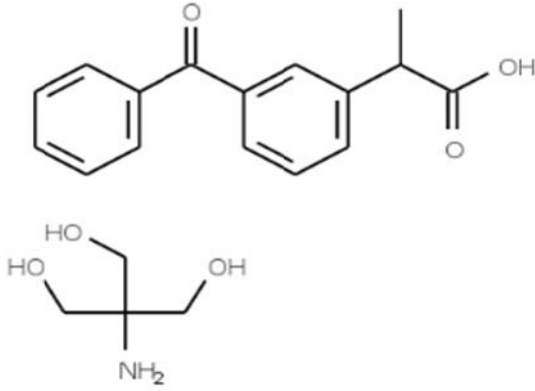
durum ile ağrı arasındaki zaman, yer ve şiddet bakımından yakın bir ilişki olduğu varsayılmaktadır. Kronik süreç izleyen ağrılar (kanser veya romatizmal) da nonseseptif niteliktedir (1).

Klinik çalışmalarda hastaların ağrılarının dindirilmesi için post-operatif farklı ilaç kombinasyonları pratikte kullanılmaktadır. Ağrı kesici ilaçların, klinikte kombine olarak kullanılma ihtiyaçları durumunda; kombine ticari preparatlarının üretilmemesi halinde bileşenlerinin kimyasal kararlılığı ve geçimliliği hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle ilaçların eşzamanlı tayinleri ile ilgili çalışmalar da sınırlıdır.

Molekül ağırlığı 375.46 g/mol, kapalı formülü $C_{16}H_{14}O_3.C_4H_{11}NO_3$ olan deksketoprofen trometamol (DKP) beyaz kristal yapıda olup suda ve alkolde çözünür. Şekil 1'de Deksketoprofen Trometamol'un

Corresponding Author: Prof. Dr. İbrahim NARİN
Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı Kayseri 38090
Tel: 0352 207 66 66
Fax: 0352 437 91 69
e-mail: narin@erciyes.edu.tr

Makale Geliş Tarihi : 17.03.2016
Makale Kabul Tarihi: 17.03.2017

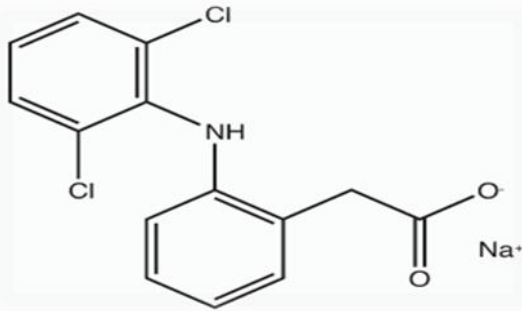


Şekil 1. Deksketoprofen Trometamolün molekül yapısı (4)

molekül yapısı verilmiştir. Erime noktası 105°C'tır. Beyaz kristaller veya toz halindedir. Pratik olarak eterde çözünürlüğü yoktur (2, 3).

Deksketoprofen trometamol steroid olmayan antiinflatuvar ilaç grubuna dahil analjezik, antiinflatuvar ve antipiretik etkili yeni bir ilaçtır. Kas ve iskelet sistemi ağrıları, diş ağrısı, postoperatif ağrı gibi hafif ve orta şiddetteki ağrıların semptomatik tedavisinde yaygın kullanılır. Ketesse, Arvelas, Elektra, Rastel, Dexmol, Dexofen, Dexalgin, Dexiren, Grot, Ketavel, Leodex, Metadem, Sepremil, Sertofen, Dex-Forte, Dexfull, Dexpro, Rastel ve Redagon Deksketoprofen trometamol'ü etken madde olarak içeren değişik dozaj formlarındaki ticari müstahzarlardır (4,5).

Molekül ağırlığı 318.13, kapalı formülü C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂, sistematik adı, Sodyum 2-[2-(2,6-diklorofenil)aminofenil]etanoik asit olan diklofenak sodyum (DIC) beyazdan açık sarıya değişen renkte, kristalize bir tozdur. Erime noktası 275°C'tır. Suda az çözünür; alkolde çözünür (6, 7). Şekil 2'de Diklofenak sodyumun molekül şekli verilmiştir. Diklofenak sodyum, değişik farmasötik



Şekil 2. Diklofenak Sodyumun molekül yapısı (9)

dozaj şekillerinde pazarlanan nonsteroidal antiinflatuvar bir ilaçtır. Diklofenak sodyumun normal ve gecikmeli salıveren tablet formları vardır. Diğer NSAII'lere benzer şekilde diklofenak da analjezik ve antipiretik etki gösterir. Potasyum tuzu olan diklofenak potasyumun normal salıveren tablet veya draje formları

ağrı ve dismenore tedavisinde endikedir (8, 9). Yaptığımız kaynak araştırmalarında efervesan tablet olarak birlikte kullanılması amacıyla patenti alınmış olan (10) ve pratikte post-operatif olarak kullanılan tek başlarına analizleri için farklı metotları mevcut olan (11-20) DKP ve DIC'in farmasötik örneklerde eş zamanlı analizi ile ilgili herhangi bir çalışmanın yapılmamış olduğu görülmektedir. Literatürdeki bu boşluk göz önünde bulundurularak, DKP ve DIC'in farmasötik preparatlarda eş zamanlı analizi için yöntem geliştirilmesi planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Diklofenak Sodyum ve Deksketoprofen Trometamol standartları Neutec (İstanbul, Türkiye) ve DEVA (İstanbul, Türkiye) ilaç firmalarından temin edilmiştir. Ayrıca hareketli fazın hazırlanmasında kullanılan HPLC safliktaki asetonitril (ACN) ve metanol Merck'ten (Darmstadt, Almanya) sağlanmıştır. Tampon hazırlamada kullanılan NaH₂PO₄.H₂O ve H₃PO₄ Sigma'dan alınmıştır. Standart stok çözeltiler ve hareketli fazda kullanılan deiyonize su Millipore Elix 5 ters osmoz prensibiyle çalışan saf su cihazında elde edilmiştir.

Kromatografik ayırmalarda UV-DAD Dedektörlü Agilent 1200 HPLC cihazı ve HP CHEMSTATION programı kullanılmıştır. HPLC cihazında pistonlu pompa, degazer, UV-DAD Dedektör ve oto örnekleyici cihaz ile bütünleşik olarak yer almaktadır. Oto örnekleyicide vial olarak Agilent marka 1,5 mL'lik plastik kapaklı siyah renkli cam vial kitleri kullanılmıştır. Tartımlar Ohaus Explorer Pro marka terazi (0,1 mg duyarlılıkta) ile yapılmıştır. pH ölçümleri İmolab WTW series pH 720 pH metre ile yapılmıştır. Isıtma işlemlerinde Heidolph MR 3001 model magnetik ısıtıcı kullanılmıştır. Çözme işlemlerinde Bandelin Sonorex ultrasonik su banyosu kullanılmıştır. Electrothermal IA9100 model erime noktası tayin cihazı ile etkin maddelerin erime noktaları kontrol edilmiştir. Küçük hacimli çözelti ve çözücülerin transferinde Nichipet marka otomatik pipetler (10-100 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL) kullanılmıştır.

Diklofenak Sodyum ve Deksketoprofen Trometamol'ün eş zamanlı kantitatif analizi için HPLC'de sabit faz kolonu olarak Inertsil (150x4,6 mm, 5 µm partikül çaplı) C18 ters faz kolonu, hareketli faz olarak asetonitril ve pH'sı 3.0'a ayarlanmış 0.025 M fosfat tampon karışımı (70:30 h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 0.7 mL/dk ve analiz süresi 8 dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 25 µL'dir. Ölçümler 260 nm dalga boyunda alınmıştır. Analizler öncesi kolondan hareketli faz geçirilerek kolonun şartlanması sağlanmıştır. Bunun için gürültünün en aza indiği zemin değeri elde edilinceye kadar hareketli faz geçirilmiş ve daha sonra analizlere başlanmıştır. Çalışma sonrasında kolon 30 dk deiyonize su metanol karışımının (1:1, h/h) geçirilmesi ile temizlenmiştir. Kolonun yıkama aşamasında akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmıştır.

Neutec ve Deva ilaç firmalarından temin edilen DKP ve DIC standartlarının bozunup bozunmadığı erime noktası tayini yapılarak kontrol edilmiştir.

DKP ve DIC'in sulu ortam ortamda analizlerinden kromatografik şartlar altında Agilent 1200 HPLC cihazının yazılımı olan CHEMSTATION® programı yardımıyla alınarak elde edilen pik alanları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Microsoft Excel® programında pik alan

ortalama değerleri (X_{ort}), standart sapmaları (ss) ve % bağıl standart sapma ($ss / X_{ort} \times 100$) (BSS) değerleri hesaplanarak kalibrasyon doğruları çizilmiştir.

Geliştirilen HPLC yöntemi, piyasada mevcut olan Ketesse (25 mg Deksketoprofen Trometamol) ve Dikloron'un (25 mg Diklofenak Sodyum) tayinine uygulanmıştır. Her bir farmasötik preparattan 10 adet tablet tartılıp, ortalama ağırlığı saptanmış ve porselen havanda ince toz haline getirilmiştir. 25 mg DKP ve DIC'e eşdeğer miktarda tablet tozu 0,1 mg duyarlılıkta hassas terazi ile tartılıp 1000 mL'lik bir balon jojeye aktarılmıştır. Üzerine 50 mL deiyonize su eklenerek 30 dakika mekanik karıştırıcıda çalkalanmıştır. Deiyonize su ile son hacme tamamlandıktan sonra mavi bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Süzöntünün ilk 25 mL'si atılmış; geri kalan kısım lineer dinamik aralığın içinde kalacak şekilde seyreltilerek HPLC'de DKP ve DIC için geliştirilen kromatografik şartlarda analiz edilmiştir. Ayrıca bu örneğe 6.25, 12.50 ve 25.00 mg/L eşdeğer olacak şekilde DKP ve DIC eklenerek geri kazanma değerleri hesaplanmıştır ($n=6$).

BULGULAR

Erimе noktası tayin cihazı ile yapılan ölçümlerde; DKP'nin erime noktası 104°C; DIC'in erime noktası 278°C olarak ölçülmüştür. Literatürde erime noktaları değerleri sırasıyla DKP için 104°C - 106°C ve DIC için 275°C - 277°C aralıklarında verilmiştir (5, 6).

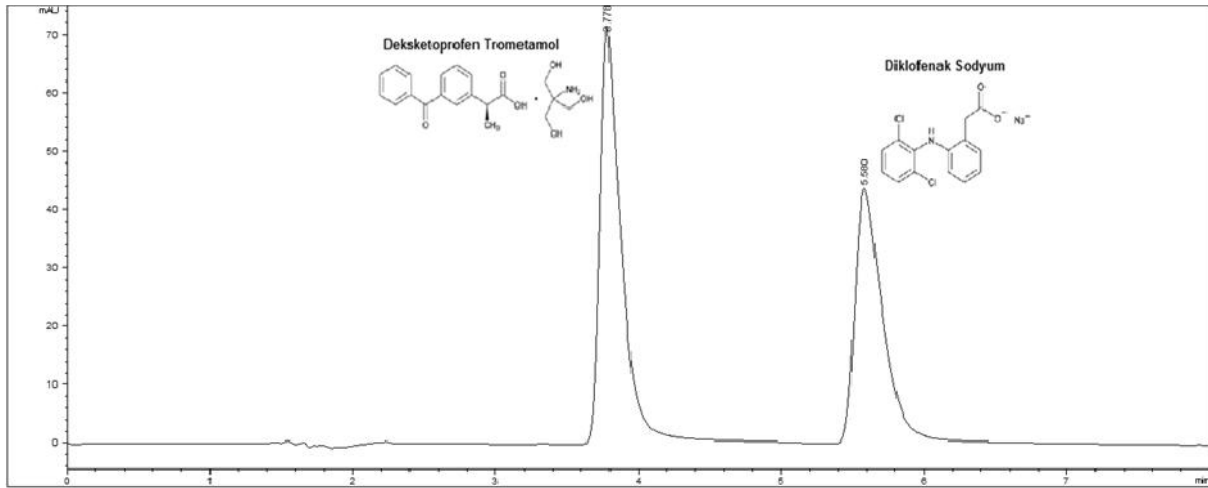
Şekil 3'te sulu ortamda Deksketoprofen Trometamol ve Diklofenak Sodyumun kromatogramı ve kromatogramın 3 boyutlu (alıkonma zamanı-UV spektrumu) görüntüsü verilmiştir.

Geliştirilen HPLC yöntem ile farmasötik örneklerde elde edilen sonuçlar Tablo I'de verilmiştir.

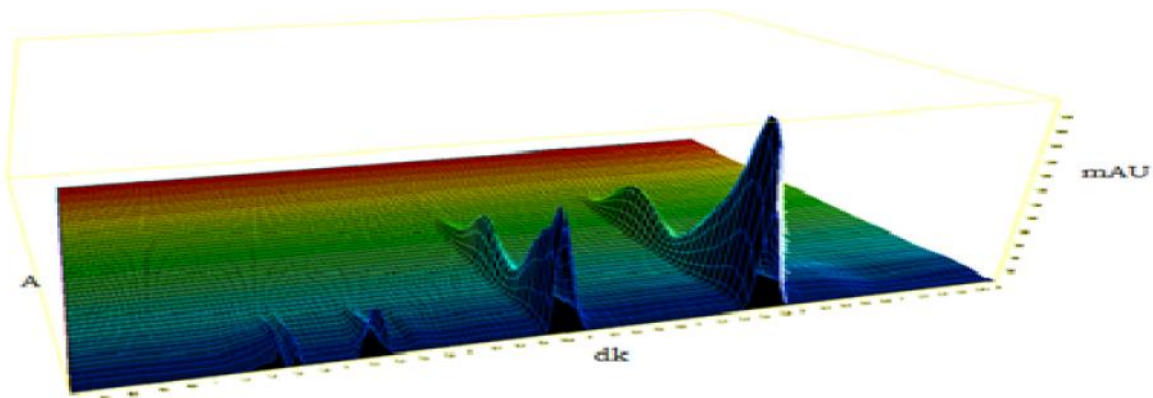
Şekil 4'de 25 mg eşdeğer DKP bulunan Ketesse tablete 6.25, 12.50 ve 25.00 mg/L DKP ve DIC eklenmiş çözeltilerin eş zamanlı kromatogramları görölmektedir.

DKP ve DIC'in temin edilen standartlarının erime noktası tayin cihazı ile yapılan ölçümlerinde elde edilen erime noktalarının etkin maddelerin literatürdeki erime noktaları ile uyumlu olduğu görölmüştür.

Farmasötik örneklerin analizlerinde elde edilen sonuçlar incelendiğinde geri kazanma değerleri DKP için % 100.3 - 100.8; DIC için % 100.0 - 101.1 aralığında



(a)

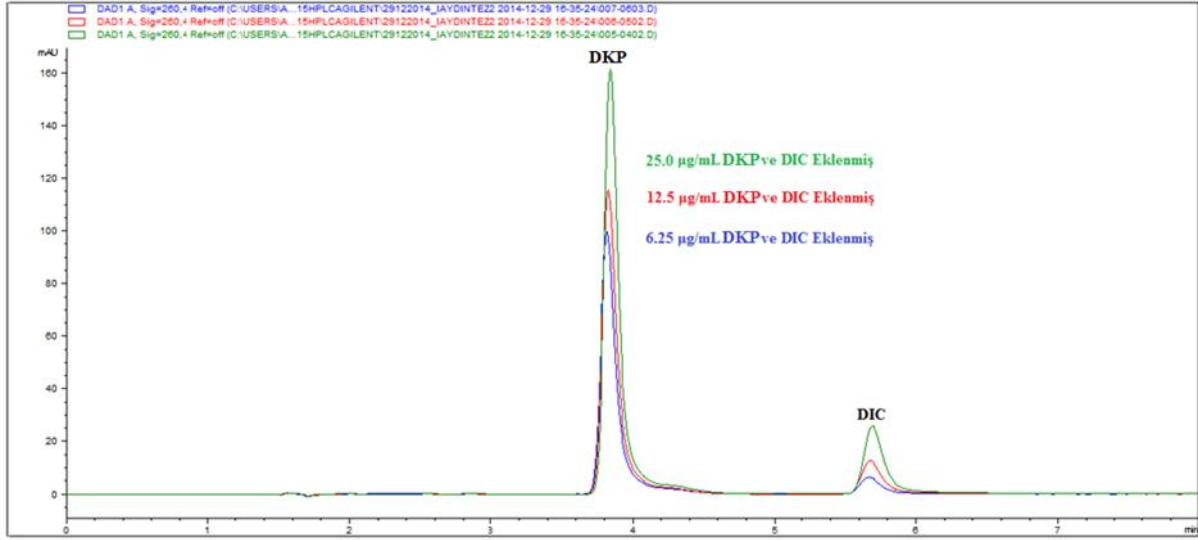


(b)

Şekil 3. Geliştirilen metotta sulu ortamda Deksketoprofen Trometamol ve Diklofenak Sodyumun eşzamanlı kromatogramı (a) ve kromatogramın 3 boyutlu görüntüsü (b).

Tablo I. Farmasötik Örneklerde Bulunan DKP ve DIC'in geri kazanma değerleri (n=6)

Eklenen DKP ($\mu\text{g/mL}$)	Bulunan ortalama DKP ($\mu\text{g/mL}$) \pm ss	DKP %Geri Kazanma	DKP % BSS	Eklenen DIC ($\mu\text{g/mL}$)	Bulunan ortalama DIC ($\mu\text{g/mL}$) \pm ss	DIC %Geri Kazanma	DIC %BSS
0.00	25.01 \pm 0.21	-	0.84	0.00	24.95 \pm 0.28	-	1.12
6.25	31.28 \pm 0.06	100.3	0.19	6.25	31.24 \pm 0.04	100.6	0.13
12.50	37.59 \pm 0.14	100.6	0.37	12.5	37.45 \pm 0.16	100.0	0.43
25.00	50.22 \pm 0.14	100.8	0.28	25.0	50.23 \pm 0.13	101.1	0.26

**Şekil 4.** 25 mg eşdeğer DKP bulunan Ketese tablete farklı konsantrasyonlarda DKP ve DIC eklenmiş kromatogramları

olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlarda yüzde bağıl standart sapma değerlerinin DKP için % 0.8 - 0.9; DIC için % 0.13 - % 1.12 aralığında olduğu görülmüştür. Bu çalışma, DKP ve DIC'in farmasötik örneklerde eş zamanlı analizi için geliştirilen ilk ve tek yöntemdir. Yöntemin doğruluğu ve kesinliğinin yanı sıra kısa analiz süresi, kolay ve hızlı örnek hazırlama işlemi; önerilen yöntemin iyi olması önemli avantajlarından biridir.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp SÖ, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe Taş Kitapçılık Limited Şti., Ankara 2005; 1,8: 981.
2. Chandrasekharan NV, Dexketoprofen, xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference 2007; 1-4.
3. Jiménez-Martínez E., Gasco-García C., Arrieta-Blanco JJ et al. Study of the analgesic efficacy of Dexketoprofen Trometamol 25mg. vs. Ibuprofen 600mg. after their administration in patients subjected to oral surgery. Med. Oral 2004; 9: 138-148.
4. Dexketoprofen trometamol, Erişim:[http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB4854902.htm], Erişim Tarihi:20.03.2016
5. Guler S, Ertok I, Sahin NY, et al. Anaphylaxis after intravenous infusion of dexketoprofen trometamol. Turk J Emerg Med 2016; 16(3): 132-133.
6. Serri C, de Gennaro B, Quagliariello V, et al. Surface modified zeolite-based granulates for the sustained release of diclofenac sodium. Eur J Pharma Sci 2017; 99: 202-208.
7. Žilnik LF, Jazbinšek A, Hvala A, et al. Solubility of sodium diclofenac in different solvents. Fluid Phase Equilibria 2007; 261: 140-145.
8. Rx Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, Diklofenak, 2016.
9. Efosa NJ, Kleiner W, Kloas W, et al. Diclofenac can exhibit estrogenic modes of action in male *Xenopus laevis*, and affects the hypothalamus-pituitary-gonad axis and mating vocalizations. Chemosphere 2017; 173: 69-77.
10. Effervescent formulations comprising dexketoprofen, Patent Yayın No: WO 2013006146 A1, Patent Sahibi: Mahmut BİLGİÇ, Dosya Kabul Tarihi: 14 Mayıs 2015.
11. Arcelloni C, Lanzi R, Pedercini S, et al. High-performance liquid chromatographic determination of diclofenac in human plasma after solid-phase extraction. J Chromatogr B 2001; 763(1-2): 195-200.
12. Asfak V, Mrinalini D, Leena B, et al. Simultaneous determination of diclofenac sodium and rabeprazole sodium in bulk and pharmaceutical dosage form by LC. Chromatographia 2007; 66: 941-943.

13. Barbanoj MJ, Gich I, Artigas R. et al. Pharmacokinetics of dexketoprofen trometamol in healthy volunteers after and repeated oral doses. *J Clin Pharmacol* 1998; 38: 33-40.
14. Burke D. and Bannister J. Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management. *Acute Pain* 2003; 5: 57-62.
15. Dhaneshwar SR, Jagtap VN. Development and validation of RP-HPLC-PDA method for simultaneous determination of Dexketoprofen and thiocolchicoside in pharmaceutical dosage form. *J Pharm Res* 2013; 6: 604-608.
16. Salmeron-Garcia A, Lopez-Lopez E, Román E, et al. Development of an LC-DAD method for analysis of dexketoprofen, tramadol and haloperidol. Study of the Stability of mixtures used for patient-controlled analgesia. *Chromatographia* 2008; 68: 767-772.
17. Serrano-Rodríguez JM, Serrano JM, Rodríguez JM, et al. Pharmacokinetics of the individual enantiomer S-(+)-ketoprofen after intravenous and oral administration in dogs at two dose levels. *Res Vet Sci* 2013; 96: 523-525.
18. Sweetman BJ. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral). *Acute Pain* 2013; 4: 109-115.
19. Yilmaz B, Kaban S, Akcay BK, et al. Differential pulse voltammetric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations and human serum. *Braz J Pharm Sci* 2015; 51(2): 285-294.
20. Nasir F, Iqbal Z, Khan A, et al. Simultaneous determination of timolol maleate, rosuvastatin calcium and diclofenac sodium in pharmaceuticals and physiological fluids using HPLC-UV. *J Chromatogr B* 2011; 879(30): 3434-3443.