

## Development and Validation of a Reversed-Phase UHPLC-PDA Method for Determination of Chlorhexidine in Meth(Acrylic) Nanocapsules

Maria D. da R. GASPAR <sup>1</sup>, Amanda MARTINEZ LYRA <sup>1</sup>,  
Guilherme dos A. CAMARGO <sup>1</sup>, Jessica MENDES NADAL <sup>1</sup>,  
Ana P. TEITELBAUM <sup>2</sup>, Fábio A. dos SANTOS <sup>2</sup> & Paulo V. FARAGO <sup>2</sup> \*

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmaceutical Sciences,  
State University of Ponta Grossa, Brazil

<sup>2</sup> Postgraduate Program in Dentistry, Department of Dentistry,  
State University of Ponta Grossa, Brazil

**SUMMARY.** The aim of the study was to develop a method for quantification of chlorhexidine base (CHX) in nanoformulations, which is essential for the official approval of novel controlled release systems. For the first time, a simple, sensitive and rapid ultra high-performance liquid chromatography (UHPLC) method was developed and validated, which was also applied for determination of CHX in meth(acrylic) nanocapsules. Chromatographic conditions consisted of a RP C8 analytical column (75 × 4.60 mm, 2.5 μm) using a acetonitrile:water acidified with acetic acid to pH 3.0 with 1.5% triethylamine (34:66 v/v) as mobile phase at a flow rate of 1.000 mL/min with UV detection at 258 nm. Validation was performed in terms of specificity, linearity, limit of quantification, limit of detection, accuracy, precision, and robustness and provided suitable results regarding all these parameters. The calibration curve was linear in the concentration range of 5.0–40.0 μg/mL with a correlation coefficient > 0.999. Precision (intraday and interday) was demonstrated by a relative standard deviation lower than 2.0%. Accuracy was confirmed by the recovery test of CHX from polymeric nanocapsules (96.68 to 100.36%).

**RESUMEN.** El objetivo del estudio fue desarrollar un método para la cuantificación de la base de clorhexidina (CHX) en nanoformulaciones, que es esencial para la aprobación oficial de nuevos sistemas de liberación controlada. Por primera vez se desarrolló y validó un método simple, sensible y rápido de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC), que también se aplicó para la determinación de CHX en nanocápsulas de met(acrílico). Las condiciones cromatográficas consistieron en una columna analítica RP C8 (75 × 4.60 mm, 2.5 μm) usando acetonitrilo:agua acidificada con ácido acético a pH 3.0 con 1,5% de trietilamina (34:66 v / v) como fase móvil, a una velocidad de flujo de 1,000 mL/min con detección UV a 258 nm. La validación se realizó en términos de especificidad, linealidad, límite de cuantificación, límite de detección, seguridad, precisión y robustez, y proporcionó resultados adecuados con respecto a todos estos parámetros. La curva de calibración fue lineal en el rango de concentración de 5,0-40,0 μg/mL con un coeficiente de correlación > 0,999. La precisión (intradía e interdiaria) se demostró mediante una desviación estándar relativa inferior al 2,0%. La precisión se confirmó mediante la prueba de recuperación de CHX de nanocápsulas poliméricas (96,68 a 100,36%).

**KEY WORDS:** antiseptic agents, controlled release, Eudragit® RS 100, pharmaceutical analysis.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: pvfFarago@gmail.com