

Simultaneous Determination of Doxycycline Hyclate and Fusidic Acid by RP-HPLC in Bulk and Microemulsion Formulation

Muhammad IRFAN ¹, Mohsin ALI ², Razia NOREEN ³, Nosheen ASLAM ³, Muhammad IRFAN ¹, Um-e-AMIN ⁴, Haroon Khalid SYED ^{1*}, Ikram Ullah KHAN ¹, Pervaiz A. SHAH ⁵, Muhammad Shahid IQBAL ⁶, Maheen JAMIL ⁷ & Sajid ASGHAR ^{* 1}

¹ Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Government College University, Faisalabad, 38000, Pakistan

² Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Government College University, Faisalabad, 38000, Pakistan

³ Department of Biochemistry, Government College University, Faisalabad, Faisalabad, Pakistan

⁴ Rawalpindi Medical University, 46000, Rawalpindi, Pakistan

⁵ University College of Pharmacy, University of the Punjab, Lahore, 54590, Pakistan

⁶ Department of Clinical Pharmacy, College of Pharmacy, Prince Sattam bin Abdulaziz University, Al-kharj, 11942, Saudi Arabia

⁷ University of Health sciences, Lahore, 54600, Pakistan

SUMMARY. For separation and simultaneous quantification of more than one analyte in pharmaceutical dosage forms required sensitive and reproducible chromatography based analytical methods. A method for simultaneous quantification of doxycycline hyclate (DH) and fusidic acid (FA) using high performance liquid chromatography was developed. The mobile phase was combination of acetonitrile, 0.010 M oxalic acid and methanol (34:36:30 %v/v) in isocratic mode with C8 analytical column (4.6 mm, 150 mm, 3.5 μ m). The developed method was validated against ICH guidelines for establishing the linearity, LOD, LOQ, accuracy and precision along with system suitability testing. Percentage recovery of DH was found to be 101.66% and 102.66% for FA respectively in microemulsion formulation. The calibration range was 125 to 1500 μ g/mL with a co-efficient correlation ($r^2 > 0.999$). Intermediate precision was found to be 1.18% and 1.05% and accuracy in term of % recovery was between 95%-105% for DH and FA, respectively. An accurate and precise method was successfully developed and validated for reliable simultaneous quantification of DH and FA and may be implemented for routine analysis of both DH and FA in topical formulation. DH and FA had undergone through stress degradation studies by continuous exposure with acid, alkali, hydrogen peroxide (oxidative), heat and U.V. light degradation studies.

RESUMEN. Para la separación y cuantificación simultánea de más de un analito en formas de dosificación farmacéuticas se requieren métodos analíticos cromatográficos sensibles y reproducibles. Se desarrolló un método para la cuantificación simultánea de hiclato de doxiciclina (DH) y ácido fusídico (FA) mediante cromatografía líquida de alta resolución. La fase móvil fue una combinación de acetonitrilo, ácido oxálico 0,010 M y metanol (34:36:30 %v/v) en modo isocrático con columna analítica C8 (4,6 mm, 150 mm, 3,5 μ m). El método desarrollado fue validado contra las pautas de ICH para establecer la linealidad, LOD, LOQ, exactitud y precisión junto con las pruebas de idoneidad del sistema. Se encontró que el porcentaje de recuperación de DH era 101,66 % y 102,66 % para FA, respectivamente, en la formulación de microemulsión. El rango de calibración fue de 125 a 1500 μ g/mL con un coeficiente de correlación ($r^2 > 0.999$). Se encontró que la precisión intermedia era de 1,18 % y 1,05 % y la precisión en términos de % de recuperación estaba entre 95 % y 105 % para DH y FA, respectivamente. Se desarrolló y validó con éxito un método exacto y preciso para la cuantificación simultánea confiable de DH y FA y puede implementarse para el análisis de rutina tanto de DH como de FA en formulación tópica. DH y FA habían sido sometidos a estudios de degradación por estrés por exposición continua con ácido, álcali, peróxido de hidrógeno (oxidante), calor, U.V y estudios de degradación de la luz.

KEYWORDS: doxycycline hyclate, fusidic acid, HPLC, micro-emulsion, precision, validation.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: haroonkhalid80@gmail.com, syedharoonkhalid@gcuf.edu.pk (H.K. Syed); sajidasghar@gcuf.edu.pk, sajuhappa@gmail.com (S. Asghar).