

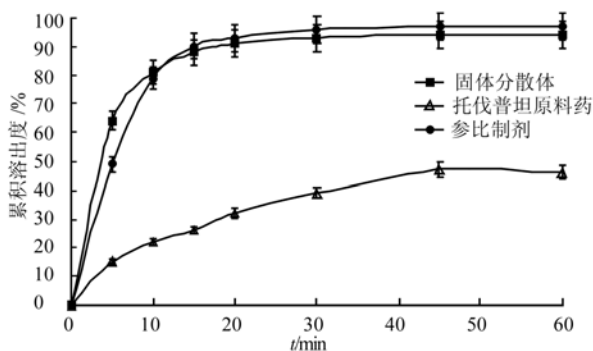


图 4 托伐普坦原料药、固体分散体及参比制剂的累积溶出度($n=6$)

Fig 4 Cumulative dissolution of tolvaptan, solid dispersion and reference preparation($n=6$)

4 讨论

托伐普坦溶解度小, 溶出速率低, 前期实验中曾尝试将原料药微粉化但无明显效果, 因此考虑采用固体分散体技术提高溶出速率。PVP K_{29/32} 为高分子聚合物, 具有对热稳定, 易溶于水和多种有机溶剂, 对许多药物较强的抑晶作用的特性, 是制备固体分散体较为理想的辅料。故本研究以 PVP K_{29/32} 为载体, 采用溶剂蒸发法制备托伐普坦固体分散体, 显著提高了托伐普坦的溶出性能。

DSC 是对固体分散体物相鉴别最常用的分析手段之一^[9]。但是这种方法也存在着一定的缺陷, 如在考察物理混合物中药物的晶型结构时, 常出现假阳性的现象, 即 DSC 图谱结果显示物理混合物中药物以无定形形式存在^[10]。这是因为 DSC 分析过程是一个程序升温过程, 温度的升高会对样品产生一定的影响。而 XRPD 的分析过程则对样

品结构无破坏, 结果更为准确。因此在本实验过程中, 采用两种手段综合分析, 证明物理混合物中托伐普坦未发生晶型转变。

REFERENCES

- [1] CÁRDENAS A, GINÈS P, MAROTTA P, et al. Tolvaptan, an oral vasopressin antagonist, in the treatment of hyponatremia in cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2012, 56(3): 571-578.
- [2] SCHRIER R W, GROSS P, GHEORGHIAD E M, et al. Tolvaptan, a selective oral vasopressin V₂-receptor antagonist, for hyponatremia [J]. *New Eng J Med*, 2006, 355(20): 2099-2112.
- [3] HUANG Z H. Tolvaptan: a novel agent for hyponatremia in patients with heart failure [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem*(中国新药与临床杂志), 2011, 30(05): 321-324.
- [4] LV C, GUO C B, SUI N, et al. Pharmacology and clinical evaluation of anti-hyponatremia drug tolvaptan [J]. *Chin New Drugs J*(中国新药杂志), 2010, 19(10): 819-822.
- [5] SHINSUKE N, KAI S, TADASHI M. Pharmaceutical solid preparation and production method thereof: China, 200880021079 [P]. 2010-03-31.
- [6] SHINSUKE N, HIROBUMI D, MUTSUMI I. Solid preparation composition: Japan, 11-21241 [P]. 1999-01-26.
- [7] YASUHIRO T, KAORU A, YASUAKI M, et al. Method of manufacturing benzoazepin compound or its salt: China, 200680032190 [P]. 2011-09-14.
- [8] LIU Y, CHANG J, HAN M H, et al. Preparation and *in vitro* release evaluation of isoniazid solid dispersion [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(2): 142-145.
- [9] WANG M R, WANG L Z, LIN J Y, et al. Studies on preparation of candesartan solid dispersion and its dissolution and stability [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(7): 654-658.
- [10] LI H, TANG X. Investigation of hot melt extrusion technology in preparation of solid dispersion of bifendate [J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2008, 25(7): 515-518.

收稿日期: 2012-08-16

Box-Behnken 效应面法优化盐酸左氧氟沙星胃漂浮缓释片处方

王晓丹, 刘克, 李芊葵, 张吉梅, 郭丰广, 郝吉福* (山东泰山医学院药学院, 山东 泰安 271016)

摘要: 目的 探讨 Box-Behnken 效应面法在优化盐酸左氧氟沙星胃漂浮缓释片处方过程中的应用。方法 以盐酸左氧氟沙星为模型药物, 采用湿法制粒压片法制备左氧氟沙星胃漂浮缓释片剂。利用 Box-Behnken 实验设计, 考察 3 种缓释材料 HPMC K4M、卡泊姆 CP934P 及海藻酸钠(SA)对不同时间点释药性能和漂浮片漂浮性能的影响, 通过二项式方程拟合建立因素与响应值之间的数学关系以优化处方, 对体外释药数据进行方程拟合, 探讨其释药机理。结果 优化后的最佳处方为 HPMC K4M 30%、卡泊姆 CP934P 12.3%、SA 28.6%, 优化处方的实测值与预测值之间的偏差较小; 药物的释药机制为骨架溶蚀与药物扩散双重作用。结论 Box-Behnken 效应面法优化法建立的模型可以用于盐酸左氧氟沙星缓释片处方的优化。

作者简介: 王晓丹, 女, 硕士, 实验师 Tel: (0538)6229751 E-mail: xdwang@tsmc.edu.cn
Tel: (0538)6229751 E-mail: haojifu@163.com

*通信作者: 郝吉福, 男, 博士, 副教授

关键词: 左氧氟沙星; Box-Behnken 设计; 胃漂浮缓释片; 效应面法

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0406-06

Optimized Formulation of Levofloxacin Gastric Floating Tablet by Box-Behnken Design

WANG Xiaodan, LIU Ke, LI Qiankui, ZHANG Jimei, GUO Fengguang, HAO Jifu* (Pharmacy Department of Taishan Medical University, Taian 271016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the potential of utilization Box-Behnken design/response surface methodology in the optimization of levofloxacin gastric floating drug delivery system(GFDDS). **METHODS** Levofloxacin was selected as model drug and tablets were prepared by conventional wet granulation method. The influence of three different sustained-release matrixes such as HPMC K4M, Carbopol 934P and sodium alginate (SA) on the drug released characteristic at varied times and floating capability was performed by establishing second-order equation which was used to estimate the relationship between the independent and the dependent variables. The possibly optimal formulation was predicted by Box-Behnken design. The drug released mechanism of the tablet were studied by model-fitted of drug released with different equations. **RESULTS** Optimized formulation of famotidine gastric floating tablets was selected as 30% HPMC K4M, 12.3% Carbopol 934P and 28.6% SA. Bias between the observed and predicted values were little. A non-Fickian mechanism was found to be predominant, which indicated that water diffusion as well as polymer rearrangement played an essential role in drug release. **CONCLUSION** The quadratic mathematical model developed by Box-Behnken design could be used to optimize formulation of levofloxacin gastric floating tablets.

KEY WORDS: levofloxacin; Box-Behnken design; gastric floating tablet; response surface methodology

盐酸左氧氟沙星(levofloxacin)为浓度依赖型的第3代氟喹诺酮类药物^[1],具有抗菌谱广、抗菌作用强的特点;口服后吸收迅速,组织分布广,生物利用度高,作用持久,临床广泛用于呼吸系统、胃肠道、泌尿道、口腔科及妇科等领域的感染症状。目前市场上常以注射剂、片剂和胶囊剂等形式给药。将其制成缓释制剂的目的是在不降低疗效的前提下减少给药次数,使血药浓度更为平稳,提高患者顺应性^[2-3]。国外已有氟喹诺酮类缓释制剂相关品种如盐酸环丙沙星和氧氟沙星缓释片上市。

Box-Behnken 实验(BBD)是属于响应曲面法(response surface methodology, RSM)中的一种设计方法,通过多元二次方程来拟合因素和效应值之间的函数关系,对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,以解决多变量问题的一种统计方法。BBD 具有所需的试验次数相对较少、效率更高,且所有的影响因素不会同时处于高水平,所有的试验点都落在安全操作区域内等优点^[4]。近年来已经被许多国外药学工作者用于制剂处方的优化^[5-6]。本实验以羟丙基甲基纤维素(HPMC)、卡泊姆(Carbomer)、海藻酸钠(SA)为缓释骨架材料,以盐酸左氧氟沙星为模型药物,通过 BBD 设计、利用数学模型拟合方式对盐酸左氧氟沙星胃漂浮缓释片处方进行优化,研制日服1次的缓释片剂。

1 仪器与试剂

RCZ-8A 型智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂); S-54 紫外可见分光光度计(上海棱光仪器厂); ZP-10 旋转压片机(上海信源药机厂); HPMC K4M(上海 Colorcon); SA(天津市德恩化学试剂有限公司,药用级); Carbomer 934P(美国诺誉公司); 盐酸左氧氟沙星对照品(中国药品生物制品检定所,批号 10305-001,纯度:98.6%); 盐酸左氧氟沙星原料药(浙江医药股份有限公司,批号:1004003)。

2 方法

2.1 盐酸左氧氟沙星胃漂浮缓释片的制备

采用湿法制粒压片法,原料药及辅料过 100 目筛,等量递增法混合均匀。加入适量异丙醇做润湿剂,过 20 目筛制颗粒,40℃干燥,整粒,将干燥颗粒加入润滑剂聚乙二醇 4000(PEG4000)和硬脂酸镁后混合均匀,用旋转式压片机压片。每片含主药 400 mg,硬度控制在 60~70 N。

2.2 漂浮性能测定

片剂从开始投入释放介质中到持续漂浮在介质表面而不下沉的时间记为漂浮滞后时间(floating lag time, FLT)^[7]。取每批盐酸左氧氟沙星胃漂浮片各 10 片依次投入盛有 150 mL 人工胃液的烧杯中,烧杯中人工胃液维持(37±0.5)℃恒温,观察并记录每片药片的 FLT。

2.3 标准曲线的制备

精密称取盐酸左氧氟沙星对照品 0.020 7 g, 加入人工胃液后配制成浓度分别为 10.35, 8.28, 4.14, 2.07, 1.035 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 在 200~400 nm 内进行紫外扫描, 结果表明在 295 nm 处有最大吸收, 而相应的辅料在此波长下无干扰。按中国药典 2010 年版二部附录ⅣA 紫外可见分光光度法, 于 295 nm 处测定吸收度(A), 以 A 对浓度(C)进行线性回归, 得回归方程 $A=60.692C+0.0009$, $r=0.9998$ 。结果表明药物浓度在 1.035~10.35 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.4 释放度测定

采用中国药典 2010 年版二部附录 X C 第一法转篮法有关规定进行溶出度的测定。转速为 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度为 $(37\pm0.5)^{\circ}\text{C}$, 释放介质为 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 稀盐酸 900 mL, 在 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 h 取样 5 mL (立刻补充同温度同体积介质), 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 滤液于 295 nm 波长处测定吸收度。根据标准曲线计算不同时间 t 的累积释放量 Q 。

2.5 盐酸左氧氟沙星缓释片实验设计^[8]

采用单因素考察法对方中各影响因素的作用进行了初步考察, 其中 HPMC 的用量、Carbomer 用量及 SA 的用量是影响片剂释放的主要因素。根据初步考察结果, 采用 HPMC K4M 用量(X_1)、Carbomer 934P 用量(X_2)及 SA 用量(X_3)作为考察因素, 其范围为: X_1 : 10%~30%; X_2 : 5%~15%; X_3 : 15%~35%。根据 Box-Behnken 实验设计的原理, 每个因素设置低、中、高 3 水平, 编码分别为-1、0、1。以缓释片的漂浮性能(Y_{FLT})、累积释放 20%($t_{20\%}$)、50%($t_{50\%}$)及 80%($t_{80\%}$)所用时间作为考察指标。采用 Design Expert 设计软件安排实验, 实验安排因素及水平见表 1, 具体实验方案见表 2。

表 1 Box-Behnken 试验因素水平及编码

Tab 1 Level and code of variables chosen for Box-Behnken design

因 素	水平		
	低(-1)	中(0)	高(+1)
X_1 : HPMC K4M 用量	10%	20%	30%
X_2 : Carbomer 934P 用量	5%	10%	15%
X_3 : SA 用量	15%	25%	35%
响应值	限定条件		
Y_1 : 漂浮滞后时间(FLT)	最小值		
Y_2 : 药物累积释放 20%所用时间($t_{20\%}$)	1~2 h		
Y_3 : 药物累积释放 50%所用时间($t_{50\%}$)	4~6 h		
Y_4 : 药物累积释放 80%所用时间($t_{80\%}$)	≥ 8 h		

2.6 模型拟合、处方优化和预测

以 HPMC、Carbomer 和 SA 用量为因变量, 药物起漂时间, 释放 20%, 50%, 80%所需时间及扩散系数 n 为自变量, 分别进行线性模型($Y=A_0+A_1X_1+A_2X_2+A_3X_3$), 二次交互项模型($Y=A_0+A_1X_1+A_2X_2+A_3X_3+A_4X_1X_2+A_5X_2X_3+A_6X_1X_3$)和二次多项式模型 $Y=A_0+A_1X_1+A_2X_2+A_3X_3+A_4X_1X_2+A_5X_2X_3+A_6X_1X_3+A_7X_1^2+A_8X_2^2+A_9X_3^2$ 回归, 并以拟合优度(r^2)和置信度(P)作为模型判定标准, 模型拟合结果见表 3。

由拟合所得到的模型绘制 X_1 、 X_2 和 X_3 对各评价指标的效应面图, 从各指标的效应面图可反映各因变量对响应值的影响趋势, 根据表 1 中各因变量的限定条件, 得出优化处方。

2.7 释药机理探讨

按照优化处方制备左氧氟沙星缓释片, 进行体外释放度测定, 采用零级、一级、Higuchi、Hixon-Crowell 和 Peppas 方程对时间与累积释药数据进行拟合, 根据各拟合程度相关系数和释药参数推测其释药机理^[9]。

3 结果

3.1 模型拟合

按照 Box-Behnken 设计的处方制备缓释片, 药物累积释放 20%, 50%, 80%时的时间与漂浮片漂浮滞后时间测定结果见表 2。各因素与响应值之间的三维效应曲面图见图 1。

表 2 Box-Behnken 实验设计处方及响应值结果表

Tab 2 Formulation and dissolution characteristics (response data) of batches in the Box-Behnken design

编号	X_1	X_2	X_3	$t_{20\%}/\text{h}$	$t_{50\%}/\text{h}$	$t_{80\%}/\text{h}$	FLT/s
F1	-1	-1	0	0.135 3	1.752 6	5.198 2	1.0
F2	1	-1	0	1.178 1	5.161 6	15.475 5	279.0
F3	-1	1	0	0.870 5	3.464 2	10.520 6	3 504.2
F4	1	1	0	0.830 3	3.173 5	8.597	310.3
F5	-1	0	-1	0.820 8	3.642 4	11.025 3	1.0
F6	1	0	-1	0.640 4	2.734 2	8.756 5	255.2
F7	-1	0	1	0.426 9	4.634 1	7.337 3	927.4
F8	1	0	1	1.262 4	5.039 1	14.098 2	538.8
F9	0	-1	-1	0.861 8	3.758 6	11.230 6	1.0
F10	0	1	-1	0.739 1	3.499 3	7.768 7	1 681.5
F11	0	-1	1	1.015 0	4.383 3	10.95	60.5
F12	0	1	1	1.060 2	4.146 2	8.424 5	2 466.3
F13	0	0	0	0.814 1	3.047 4	7.401 2	875.0
F14	0	0	0	0.975 3	4.543 4	10.003 5	930.0
F15	0	0	0	1.108 9	4.736 3	9.974 1	844.4
F16	0	0	0	0.664 5	3.200 2	7.167 4	127.3
F17	0	0	0	0.998 6	4.055 7	11.493 7	1 326.7

表 3 响应值不同模型拟合结果表

Tab 3 Results of model summary statistics analysis for responses

模 型	Y ₁ (FLT)		Y ₂ (t _{20%})		Y ₃ (t _{50%})		Y ₄ (t _{80%})	
	校正 r ²	P	校正 r ²	P	校正 r ²	P	校正 r ²	P
线性模型	0.505 6	0.650 0	0.184 2	0.136 4	0.106 6	0.229 3	0.091 8	0.251 5
二次交互模型	0.704 8	0.043 5	0.661 3	0.007 7	0.316 2	0.136 3	0.296 8	0.143 5
二次多项式模型	0.728 9	0.348 4	0.684 5	0.363 7	0.201 2	0.681 8	0.157 4	0.726 2

从表 3 结果来看, 对各影响因素和响应值进行数学模型拟合, 从方程的相关系数和 P 值结果来看, 各因素模型拟合的结果为二项交互模型, 各方程如下:

$$Y_1 = 831.15 - 381.29X_1 + 952.6X_2 + 256.79X_3 - 867.98X_1X_2 - 160.7X_1X_3 + 181.32X_2X_3 (R^2 = 0.8155, P = 0.0032)$$

$$Y_2 = 0.85 + 0.21X_1 + 0.039X_2 + 0.088X_3 - 0.27X_1X_2 + 0.25X_1X_3 + 0.042X_2X_3 (R^2 = 0.7883, P = 0.0061)$$

$$Y_3 = 3.82 + 0.33X_1 - 0.097X_2 + 0.57X_3 - 0.92X_1X_2 + 0.33X_1X_3 + 0.005X_2X_3 (R^2 = 0.5726, P = 0.1252)$$

$$Y_4 = 9.73 + 1.61X_1 - 0.94X_2 + 0.25X_3 - 3.05X_1X_2 + 2.26X_1X_3 + 0.23X_2X_3 (R^2 = 0.8013, P = 0.0045)$$

在上述方程中, 各因素前的符号为正值时, 表示该因素对响应值呈正相关影响, 并且数值越大, 影响程度越大; 反之表明该因素对响应值的影响为负相关。在对药物体外释放性能的影响中, FLT 和累积释放不同量所需要时间 $t_{20\%}$ 及 $t_{80\%}$ 三者的 P 值均 < 0.05 , 具有统计学意义, 表明拟合情况良好, 回归方程的代表性较好, 能准确地预测实际情况。而 $t_{50\%}$ 的 $P = 0.1252 > 0.05$, 不具有统计学意义。

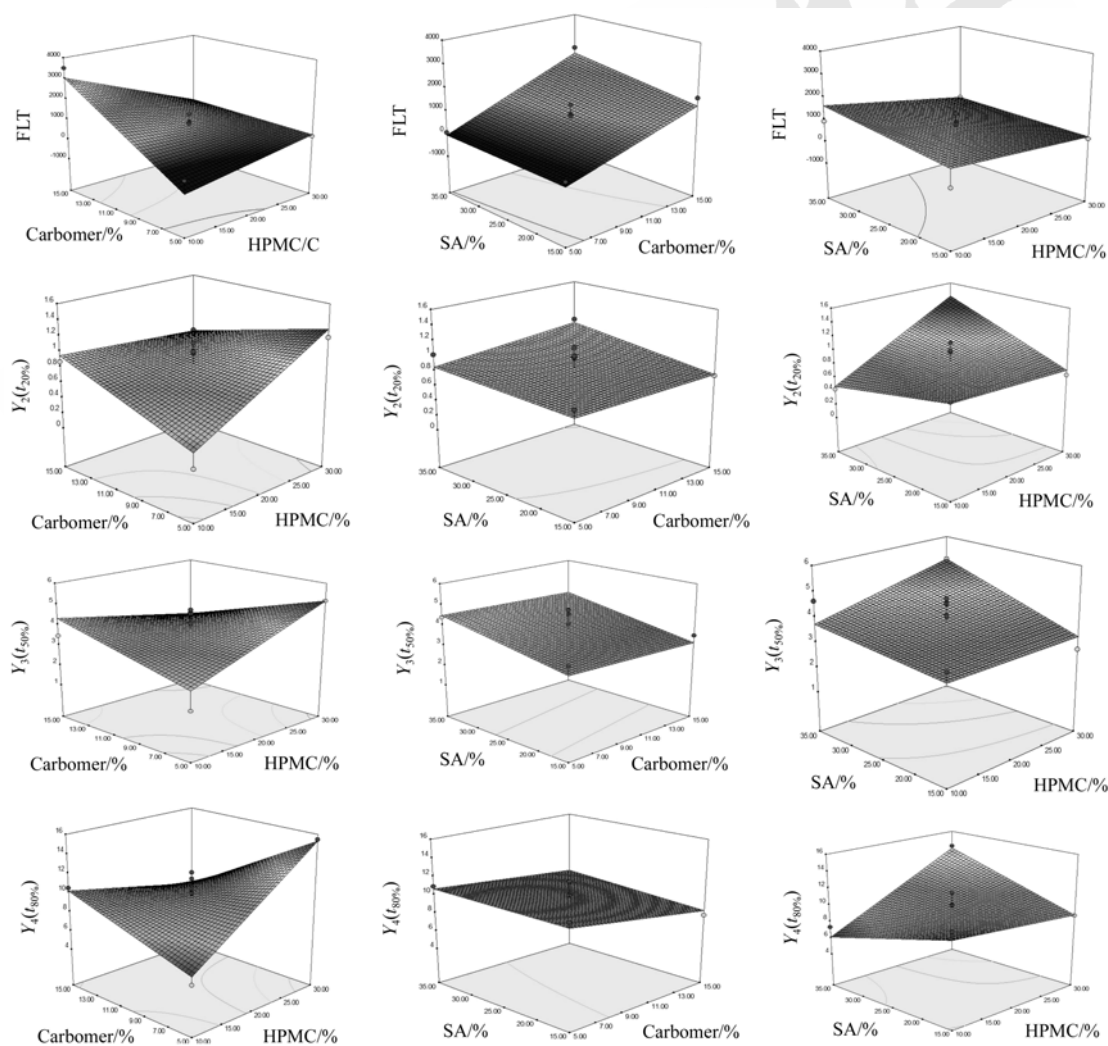


图 1 各因素对响应值影响的三维效应曲面图

Fig 1 Response surface plot for the effect of different factors

3.2 处方优化及验证

本研究的目标是设计胃内漂浮缓释制剂, 希望其能在胃内持续漂浮, 因此设计 FLT 越短越好, 即 $Y_1(\text{FLT})$ 限定为有最小值, 同时要求制剂缓慢释放药物以避免突释现象, 为此设定 $1\text{ h} \leq Y_2(t_{20\%}) \leq 2\text{ h}$, $4\text{ h} \leq Y_3(t_{50\%}) \leq 6\text{ h}$, $Y_4(t_{80\%}) \geq 8\text{ h}$ 以满足缓释制剂的要求, 由 Design Expert 软件, 按照上述限定条件得出优化处方。所选择的优化处方的 3 种缓释材料分别为 HPMC 30%、CP934 P 12.3%、SA 28.6%。

按照优化后处方制备片剂(批号: 20110512), 其中盐酸左氧氟沙星为 200 g, HPMC K4M 为 37.5 g, CP934P 15.385 g, SA 为 35.75 g, 润滑剂总量为 3.25 g, 余量用乳糖调节总重为 325 g, 按“2.1”项下片剂制备方法共制成 500 片, 片重为 0.65 g。将优化的片剂进行体外释放实验, 体外释药数据见表 4。

表 4 优化处方评价指标的预测值和实测值

Tab 4 Predicted and observed values of the optimized formulation

评价指标	预测值/h	实测值/h
$t_{20\%}$	1.07	1.12
$t_{50\%}$	4.00	4.06
$t_{80\%}$	10.43	10.85

由表 4 可知, $Y_2(t_{20\%})$ 、 $Y_3(t_{50\%})$ 、 $Y_4(t_{80\%})$ 的预测值和实验值比较接近, 实验结果达到预期目标。所制备片剂的漂浮时间在人工胃液中均能持续 16 h 以上。但从 FLT 来看预测值为 398.7 s, 而实测值达到 425.6 s 与预测值偏差较大。

3.3 释药机制

对盐酸左氧氟沙星胃内漂浮片的体外释药数据拟合结果见表 5。

表 5 优化处方释药数据的模型拟合方程

Tab 5 Kinetic release equations of different model for optimized formulation

方程类型	表达式	相关系数
零级模型	$Q=0.074t+0.1618$	0.9770
一级模型	$\text{Log}(UQ)=-0.0751t-0.0194$	0.9973
Higuchi 模型	$Q=0.2969t^{1/2}-0.0869$	0.9991
Hixon-Crowell 模型	$(UQ)^{1/3}=-0.0426t+0.9649$	0.9955
Peppas 模型	$\log Q=0.6379\log t-0.6897$	0.9979

注: $Q-t$ 时刻药物累积释放百分率; $UQ-t$ 时刻药物尚未释放百分率 ($UQ=100-Q$)

Note: Q —the percentage of cumulate drug release at t time; UQ —the unreleased percentage of drug at t time ($UQ=100-Q$)

由表 5 可知, 缓释片释放度曲线用 Higuchi 方程拟合相关性显著。采用 Pepps 方程对释药数据进行拟合, 释药参数 $0.45 \leq n=0.6379 \leq 0.89$, 表明释药过程属于药物扩散和骨架溶蚀的协同作用, 以扩散机制为主。

4 讨论

从 3 种材料对 FLT 的影响因素来看, Carbomer 的含量为主要影响因素, 随 Carbomer 用量的增加, FLT 呈增大趋势, 这可能与该亲水凝胶材料的性质有关, 在人工胃液的酸性释放介质中, Carbomer 水化程度减慢, 体积膨胀较小而使片剂密度变化较小因而使起漂时间延长。但 HPMC 和 SA 对 FLT 的影响不大, 随两者含量的增加呈现较小的增大趋势, 可能与两者开始水化速度较慢, 但形成水凝胶后凝胶强度较小有关。

在对药物释放性能的影响过程中, 随 HPMC 和 Carbomer 用量的增加, $t_{20\%}$ 呈增加趋势, 与两者为亲水性较强的聚合物材料有关, 水化层厚度增加, 使药物的释放减慢, 随时间延长, 逐渐稠厚的凝胶层进一步阻碍药物的释放有关, 相应的 $t_{50\%}$ 、 $t_{80\%}$ 呈增加趋势, 但从三维趋势图及方差分析结果看, HPMC 为影响药物释放的主要因素。

研究表明^[10-11], 在处方优化过程中, 往往在最佳处方附近, 效应与因素之间的关系变得非常敏感, 实验条件的微小变化会造成指标的较大改变, 效应和因素在此区域内的关系一般表现为非线性; 而广泛使用的正交和均匀设计均基于线性模型, 只能表明某一因素的取值方向而无法求得极值, 预测的精确度不高。本实验通过 Box-Behnken 效应面法设计安排实验并对结果进行拟合分析, 建立了 HPMC 用量、卡泊姆用量及 SA 用量对左氧氟沙星胃漂浮缓释片的漂浮性能及在体外释药特征之间的数学方程模型, 描绘出效应面图; 通过分析得出各变量对响应值的影响趋势, 通过预期限定条件, 优化符合设计目标的处方。说明 Box-Behnken 效应面法设计可为药剂学处方筛选及制备工艺的优化提供基础, 在以后工作中尚需进一步考察其体内释药性能及进行体内外相关性的研究。

REFERENCES

- [1] CAI J Y, SUN S M, MENG Y C, et al. Determination of levofloxacin hydrochloride in microspheres by HPLC [J]. Chin

- J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(5): 437-440.
- [2] WU B. Advances in the clinical application study of levofloxacin [J]. Chin Pharm(中国药业), 2010, 19(3): 61-63.
- [3] PEI Z Q, YIN L F, ZHOU J P. Optimization of levofloxacin hydrochloride sustained release tablets by central composite design [J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 2007, 31(11): 508-512.
- [4] GUO J, HONG Z W, FANG X L. Optimization of epirubicin liposome formulation using Box-Behnken experimental design [J]. J Fudan Univ Med Sci(复旦学报: 医学版), 2007, 34(6): 816-820.
- [5] KIM M S, KIM J S, YOU Y H, et al. Development and optimization of a novel oral controlled delivery system for tamsulosin hydrochloride using response surface methodology [J]. Inter J Pharma, 2007, 341(1/2): 97-104.
- [6] KAMACHIA A, KHAN M A. Box-Behnken design for the optimization of formulation variables of indomethacin coprecipitates with polymer mixtures [J]. Inter J Pharm, 1996, 131(1): 9-17.
- [7] FERDOUS K, SHAIKHUL M R, ZIAUR R K, et al. Theophylline loaded gastro-retentive floating tablets based on hydrophilic polymers: preparation and *in vitro* evaluation [J]. Pak J Pharm Sci, 2009, 22(2): 155-161.
- [8] PRAJAPATI S T, PATEL L D, PATEL D M. Gastric floating matrix tablets: design and optimization using combination of polymers [J]. Acta Pharm, 2008, 58(2): 221-229.
- [9] MA W, YIN L F, ZHOU J P. Optimized formulation of diammonium glycyrrhizinate sustained-release tablet by Box-Behnken design [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2008, 39(10): 1486-1490.
- [10] XU B H, KE X, PING Q N. Optimization of compound hydrochlorothiazide clonidine hydrochloride sustained-release preparation by central composite design response surface methodology [J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 2008, 39(6): 505-509.
- [11] HAO J F, FANG X S, LI F. Optimized formulation of famotidine gastric floating tablet by Box-Behnken design [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2011, 31(13): 1096-1099.
- 收稿日期: 2012-08-22

HPLC-ELSD 分析硫酸异帕米星及其注射液

王建¹, 阮丹², 王知坚^{1*} (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004; 2.浙江工业大学, 杭州 310014)

摘要: 目的 建立 HPLC-ELSD 测定硫酸异帕米星及其注射液的有关物质、硫酸盐和含量的方法。方法 采用 Agilent SB-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 有关物质测定采用梯度洗脱法, 流动相 A 为 0.2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸溶液, 流动相 B 为甲醇。硫酸盐和含量测定采用等度洗脱法, 流动相为 0.2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸溶液, 流速为 0.8 mL·min⁻¹。Alltech 3300 ELSD 检测器, 漂移管温度为 50 ℃。结果 异帕米星与中间体、副产物完全分离。异帕米星、硫酸盐、庆大 GE-B、庆大霉素 B、3N-异帕米星在一定的浓度范围内呈较好的线性关系, 硫酸异帕米星注射液含量测定的平均回收率为 100.0% (RSD=0.8%, n=9), 有关物质测定庆大 GE-B、3N-异帕米星、庆大霉素 B 的回收率分别为 104.4%, 97.6%和 109.0%, 异帕米星、庆大 GE-B、庆大霉素 B、3N-异帕米星的检测限分别为 5.1, 4.5, 5.1 和 5.0 μg·mL⁻¹。结论 本方法简便、灵敏、重复性好, 可用于本品的质量控制。

关键词: 硫酸异帕米星; 有关物质; 硫酸异帕米星注射液; 梯度洗脱; 高效液相色谱-蒸发光散射检测法

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0411-06

Determination of Isepamicin Sulfate and its Injection by HPLC-ELSD

WANG Jian¹, RUAN Dan², WANG Zhijian^{1*} (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a new HPLC-ELSD method for the determination of isepamicin sulfate and its injection. **METHODS** The column was Agilent SB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm). The mobile phase for the determination of related substances consisted of 0.2 mmol·L⁻¹ trifluoroacetic acid (A) and methanol (B) with gradient program. The mobile phase for the determination of isepamicin and sulfate was 0.2 mol·L⁻¹ trifluoroacetic acid. The flow rate was 0.8 mL·min⁻¹. Detector used was an Alltech 3300 ELSD detector. The drift tube temperature was 50 ℃. **RESULTS** Good separation of isepamicin from main intermediates could be achieved. The standard curves of isepamicin, sulfate, HAPA-gentamine-B, 3N-isepamicin and

基金项目: 国家药典委员会国家药品标准提高研究项目[国药典化发(2010)84 号]

作者简介: 王建, 男, 博士, 主任药师, 博导 Tel: (0571)86459458 E-mail: wangjianhw2000@yahoo.com.cn *通信作者: 王知坚, 男, 副主任药师 Tel: (0571)86459427 E-mail: ksss888@126.com