

洛伐他汀有关物质 HPLC 分析方法的优化

李涛^{1 2 3} 胡昌勤^{1*} 毕开顺²

(1. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050; 2. 河南省安阳市食品药品检验所, 安阳 455000; 3. 沈阳药科大学, 沈阳 110016)

摘要 目的: 按质量源于设计(Q_bD)的理念, 采用实验设计的方法, 优化洛伐他汀有关物质的 HPLC 分析方法。方法: 对洛伐他汀原料进行 HPLC 色谱系统的筛选与优化。用析因设计筛选色谱柱系统。采用中心组合设计, 优化梯度洗脱时间、流速和柱温。最优色谱条件为: C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.01% 磷酸溶液(65:35)为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 梯度洗脱时间为 40 min, 检测波长为 238 nm, 柱温为 30 ℃。结果: 洛伐他汀色谱保留时间约为 10 min, 与其有关物质分离良好; 最低检测限为 0.25 ng。结论: 确立的色谱条件, 集目前各国药典测定洛伐他汀有关物质分析方法的优势为一体, 测定结果准确, 操作方便, 可有效地控制药品质量。

关键词: 实验设计; 洛伐他汀; 优化; 有关物质; 高效液相色谱; Q_bD

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)09-1707-08

Optimization of RP-HPLC method for determination of related substances of lovastatin

LI Tao^{1 2 3}, HU Chang-qin^{1*}, BI Kai-shun²

(1. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China;

2. Anyang Institute for Food and Drug Control, Anyang 455000, China;

3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract Objective: Derived from Q_bD (quality by design) and its experimental design, an HPLC method was optimized for the determination of lovastatin. **Method:** Initially, a full factorial design was used in order to screen chromatographic column system, followed by the optimization of gradient elution time, column temperature and of mobile phase with the aid of central composite design. The separation was achieved by using a reversed phase chromatographic column (C₁₈, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with gradient eluent composed of acetonitrile-0.01% phosphoric acid (65:35) at a wavelength of 238 nm. The gradient elution time was 40 min, column temperature was set at 30 ℃ and flow rate of mobile phase was 1.0 mL · min⁻¹. **Results:** The retention time of lovastatin was about 10 minutes. The resolution with its related compounds was good. The limit of detection was 0.25 ng. **Conclusion:** The developed method highlights the advantages of different analytical methods of lovastatin from pharmacopeias, found to be sensitive, accurate and convenient, being able to control the drug quality efficiently.

Key words: statistically designed experiments; lovastatin; optimization; related substance; HPLC; Q_bD

洛伐他汀(lovastatin)为羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂, 经微生物发酵制取。目前各国药典均采用 RP-HPLC 梯度洗脱法控制洛伐他汀中的有关物质; USP 和 EP/BP 采用 C₈ 色谱系统^[1,2]; 中国药典^[3] 采用 C₁₈ 色谱系统。

对化学药品中杂质的控制是目前药品质量控制的热点。按照质量源于设计 (quality by design,

Q_bD) 的指导思想^[4], 采用实验设计 (statistically designed experiments) 的方法建立有效的杂质质控方法, 不仅可以保证对药品中可能存在的各种潜在杂质的有效控制, 且可以保证分析方法的耐用性^[4,5]。

本文尝试采用 Q_bD 的理念, 以实验设计的方法来优化洛伐他汀有关物质分析方法, 首先确定 HPLC 系统, 再利用响应面法优化色谱条件^[5]。所

* 通讯作者 Tel: (010) 67095308; E-mail: hucq@nicpbp.org.cn

建立的质控方法能有效地控制洛伐他汀的有关物质。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; Waters 2695 型高效液相色谱仪, METTLER AE240 型电子天平; Design Expert Version 8.0.2 软件(美国 Stat-Ease, Inc.)。

乙腈为色谱纯; 磷酸为国产分析纯; 水为超纯水。

洛伐他汀对照品(100600-200502)由中国药品生物制品检定所提供; 洛伐他汀原料由浙江海正药业有限公司和重庆大新药业有限公司提供。

2 溶液的制备

2.1 供试品溶液 精密称取样品约 20 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 对照溶液 精密量取上述供试品溶液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 降解溶液 取洛伐他汀约 0.1 g, 置 100 mL 量瓶中, 加乙腈适量溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得储备液。取储备液 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得未降解溶液; 取未降解溶液置 4500 lx 光照强度下, 放置 8 h, 即得光降解溶液; 取未降解溶液在 60 °C 水浴加热 6 h, 放冷至室温, 即得热降解溶液; 取储备液 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加 30% 双氧水 2 mL, 放置 6 h 后, 加入乙腈至刻度, 摇匀, 即得氧化降解溶液; 取储备液 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加 0.1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液 0.1 mL, 20 min 后加 0.1 mol · L⁻¹ 盐酸 0.1 mL 中和, 加乙腈至刻度, 摇匀, 即得碱降解溶液; 取储备液 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加 0.1 mol · L⁻¹ 盐酸 0.1 mL, 50 min 后加 0.1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液 0.1 mL 中和, 加乙腈至刻度, 摇匀, 即得酸降解溶液。

3 HPLC 分析方法的建立

采用 USP 方法^[1]对所收集的洛伐他汀原料中的杂质情况进行分析, 选择杂质数目较多的一批洛伐他汀原料进行 HPLC 色谱系统的筛选与优化。

3.1 析因设计筛选色谱系统

各国药典以及文献均采用了乙腈作为洛伐他汀分析中的强溶剂^[1~3, 6~8]。预实验发现采用乙腈作为流动相中的强溶剂分离效果较理想, 故不再对流动相中的强溶剂进行筛选。USP 和 EP/BP 采用 C₈ 色谱系统分析洛伐他汀中的有关物质^[1, 2], 而中国药典则采用 C₁₈ 色谱系统^[3], 为此采用析因设计中的正交设计首先筛选色谱系统。

析因设计中, 响应指标(*Y*) 与因素(*X*) 的关系为:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

式中 *n* 是因素数目, β_0 、 β_i 、 β_{ij} 为每个因素和交互作用系数。经预实验, 确定了 4 因素 2 水平的析因设计方案(表 1), 通过 2⁴ = 16 次试验确定最优色谱系统; 采用随机法安排析因实验(表 2), 每个实验重复 3 次; 方差(ANOVA)分析验证因素的显著性; 分别选择(1) 杂质峰 A 与杂质峰 B 的分离度(*R*_{sab}); (2) 杂质峰 D 与主成分峰的分离度(*R*_{sd}); (3) 杂质峰 E 与杂质峰 F 的分离度(*R*_{sef}); (4) 杂质峰的数目(*N*_{imp}) 为响应指标; 必要时进行响应转变。

表 1 析因设计(4 因素 2 水平) 实验方案

Tab 1 Factors examined in the screening phase (2⁴)

因素 (independent factors)	水平(levels)	
	level(-1)	level(+1)
<i>X</i> ₁ = 固定相(type of stationary phase)	C ₈	C ₁₈
<i>X</i> ₂ = 梯度洗脱时间(gradient elution time) / min	20	40
<i>X</i> ₃ = 柱温(column temperature) / °C	25	40
<i>X</i> ₄ = 流速(flow rate) / mL · min ⁻¹	1.0	1.5

表 2 析因设计(4 因素 2 水平) 的实验安排

Tab 2 Experimental domain of a 2⁴ full factorial design

运行顺序(run)	<i>X</i> ₁	<i>X</i> ₂	<i>X</i> ₃	<i>X</i> ₄
1	C ₈	20	25	1.0
2	C ₈	40	25	1.0
3	C ₈	40	40	1.0
4	C ₁₈	20	25	1.0
5	C ₈	40	40	1.5
6	C ₈	20	40	1.0
7	C ₁₈	40	25	1.5
8	C ₁₈	20	25	1.5
9	C ₁₈	40	40	1.5
10	C ₁₈	40	40	1.0
11	C ₁₈	20	40	1.5
12	C ₈	20	40	1.5
13	C ₁₈	20	40	1.0
14	C ₈	20	25	1.5
15	C ₁₈	40	25	1.0
16	C ₈	40	25	1.5

3.2 中心组合设计优化色谱条件

在析因设计筛选的基础上, 采用中心组合设计

(central composition design ,CCD) 进一步优化色谱条件。CCD 设计响应指标(Y) 与因素(X) 之间的关系可表示为:

$$Y=f(X_1, X_2, X_3, \dots) \quad (2)$$

式中 $X_1, X_2, X_3, \dots$ 代表不同的因素。设 $f(X)$ 为多项式, 则

$$Y=b_0+b_iX_i+b_{ij}X_iX_j+b_{ijk}X_iX_jX_k\cdots \quad (3)$$

通常式(3) 可以表示为二项式, 即

$$Y=b_0+b_iX_i+b_{ij}X_iX_j\cdots \quad (4)$$

HPLC 系统中流速(A)、柱温(B) 和梯度洗脱时间(C) 3 个独立因素和响应指标关系的二次方程可表示为:

$$Y=\beta_0+\beta_1A+\beta_2B+\beta_3C+\beta_{12}AB+\beta_{13}AC+\beta_{23}BC+\beta_{11}A^2+\beta_{22}B^2+\beta_{33}C^2 \quad (5)$$

式中 β_i 代表不同的回归系数。

分别选择主成分与相邻杂质峰的分度(R_{sp}) , 分离的杂质峰数目(N_{imp}) , 以及最后洗脱杂质的容量因子(k_{end}) 为响应指标, 运用 Design Expert Version 8.0.2 软件, 对 HPLC 系统的流速(A)、柱温(B)、梯度洗脱时间(C) 进行优化。

3.3 色谱条件 色谱柱: Venusil ASB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 或 Phenomenex Gemini C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: A 为乙腈, B 为 0.01% 磷酸溶液, 线性梯度洗脱(表 3); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 238 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

表 3 线性梯度洗脱表

Tab 3 The linear elution process

时间 (time) /min	流动相 A (mobile phase A) /%	流动相 B (mobile phase B) /%
0→5	65	35
5→5.1	65→70	35→30
5.1→12	70	30
12→12.1	70→80	30→20
12.1→25	80→95	20→5
25→34	95	5
34→36	95→65	5→35
36→40	65	35

4 结果与讨论

4.1 析因设计筛选色谱系统

采用 ANOVA 对 4 因素 2 水平析因设计的实验结果进行分析(表 4), 当任何一个独立因素 $p < 0.05$ 时, 该因素具有显著性影响。分析结果显示色谱柱类型(X_1) 对所有响应指标具有显著性影响, 尤其是对杂质峰的分度影响最大; 柱温(X_3) 和流速(X_4) 对 R_{sab} 有显著影响; 流速(X_4) 对 R_{sef} 有显著影响; 流动相的梯度洗脱时间(X_2) 对 N_{imp} 有显著影响。两水平交互作用($X_1X_2, X_1X_3, X_1X_4, X_2X_3, X_2X_4, X_3X_4$) 结果显示, 各因素之间具有一定的交互作用, 各种情况下 R^2 都大于 0.9。

表 4 ANOVA 分析 4 因素 2 水平析因实验结果*

Tab 4 ANOVA results for 2⁴ full FD*

因素 (factors)	R_{sab}		R_{sd}		R_{sef}		N_{imp}	
	F	P	F	P	F	P	F	P
X_1	104.5	0.002	223.2	<0.0001	641.9	<0.0001	15.75	0.0054
X_2	0.055	—	12.04	0.0052	6.47	0.051	43.75	0.0003
X_3	47.96	0.0010	—	—	3.64	0.1147	1.75	0.2275
X_4	35.79	0.0019	0.087	0.7731	60.48	0.0006	1.75	0.2275
X_1X_2	2.219×10^{-3}	—	—	—	12.40	0.0169	7.00	0.0331
X_1X_3	39.26	0.0015	—	—	2.392×10^{-3}	—	—	—
X_1X_4	3.730	—	6.390	0.0281	46.22	0.0010	7.00	0.0331
X_2X_3	19.19	0.0071	—	—	1.27	—	7.00	0.0331
X_2X_4	13.85	0.0137	—	—	2.30	—	28.00	0.0011
X_3X_4	24.47	0.0043	—	—	5.06	—	—	—
R^2	0.9830		0.9565		0.9936		0.9412	

* $p > 0.05$ 的无意义交互作用被剔除(A 5% level of significance was desired , insignificant interaction effects were excluded)

实验结果显示: 采用 C_{18} 色谱柱时, 各个杂质峰之间、主峰与杂质峰之间的分离度增大, 杂质的分离数目增多, 因此选择 C_{18} 色谱系统进一步进行优化。

4.2 中心组合设计优化色谱条件

采用 CCD 对 C_{18} 色谱系统中的梯度洗脱时间,

柱温和流速进行优化。实验数据(表 5) 经方差分析, 并通过反向消除作用删除无显著相关的项目后, 可清楚显示: 因素 C (梯度洗脱时间) 和因素 A (流速) 对 N_{imp} 、 R_{sp} 和 k_{end} 均具有显著的影响; 因素 A 、 C 的交互作用对指标 R_{sp} 也有显著性影响。诸响应指标(Y) 与实验因素的拟合方程列于表 6。

表 5 ANOVA 分析中心组合设计实验结果*

Tab 5 ANOVA results for CCD*

因素 (factors)	R_{sp}		N_{imp}		k_{end}	
	F	P	F	P	F	P
A	15.51	0.0011	24.52	<0.0001	216.21	<0.0001
B	1.38	0.2555	0.84	0.3703	0.45	0.5120
C	45.44	<0.0001	113.50	<0.0001	12.96	0.0022
AB	1.09	—	—	—	—	—
AC	10.79	0.0044	—	—	—	—
BC	0.21	—	—	—	—	—
A^2	64.55	<0.0001	—	—	51.08	<0.0001
B^2	0.33	—	—	—	6.04	0.0250
R^2	0.8912		0.8632		0.9444	

* $p > 0.05$ 的无意义交互作用被剔除(A 5% level of significance was desired, insignificant interaction effects were excluded)

表 6 中心组合设计中方差分析得到的响应模型和统计参数*

Tab 6 Response models and statistical parameters obtained from ANOVA for CCD*

响应指标 (response)	拟合方程 (regression model)	方程 p 值 (model p -value)	RSD/%	准确度 (adequate precision)
R_{sp}	$4.79 + 0.24A + 0.073B + 0.33C + 0.091AB - 0.24C + 0.028BC - 0.53A^2 - 0.038B^2$	<0.0001	5.57	16.612
N_{imp}	$6.81 + 0.48A + 0.088B + 0.81C$	<0.0001	5.68	19.580
k_{end}	$4.92 - 0.85A + 0.038B + 0.16C + 0.022AB - 0.024AC - 0.072BC - 0.46A^2 - 0.15B^2$	<0.0001	5.06	20.078

* 正号表示正相关, 而负号表示负相关(A positive sign in the models showed a synergistic effect, whilst a negative sign indicated antagonistic effect)

建立扰动图(perturbation plots) 进一步说明不同因素对不同响应指标的影响(图 1), 图中的曲线斜率表示因素对响应指标的灵敏度。在梯度洗脱时间分别为 30 min 和 40 min 条件下, 因素 A (流速) 对 R_{sp} (图 1-a)、 N_{imp} (图 1-b) 和 k_{end} (图 1-c) 的影响均明显大于因素 B (柱温); 提示柱温的影响可以忽略。

利用 Design Expert Version 8.0.2 软件建立各种因素对不同响应指标的响应面(response surfaces), 进一步揭示因素间的相互作用。图 2 - A_1 、 A_2 显示: 随因素 A (流速) 的增大 R_{sp} 曲面逐渐增大至顶点然后下降, 但因素 B (柱温) 对 R_{sp} 曲面几乎无影响; 图 2 - B_1 、 B_2 显示: 流速和柱温的升高均有利于分离出

更多的杂质, 但流速是影响 N_{imp} 曲面变化的主要因素; 图 2 - C_1 、 C_2 显示: k_{end} 随流速的增大而减小, 但受柱温的影响较缓和。各响应曲面的曲率变化均较小, 提示因素 A 和因素 B 均基本为独立地对诸响应指标起作用。

以色谱峰之间的分离度、色谱峰质量(拖尾因子等) 和洗脱时间为优化指标, 采用等高线重叠图(contour overlay plots) 法[保持因素 C (梯度洗脱时间) 不变, 将所有因素 A (流速) 和因素 B (温度) 与所选择的不同响应指标的等高线图重叠]对流速和柱温进行总体优化。在实验设计范围内, 最优的色谱条件为: 梯度洗脱时间 40 min, 流速 $1.05 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 30°C (图 3)。

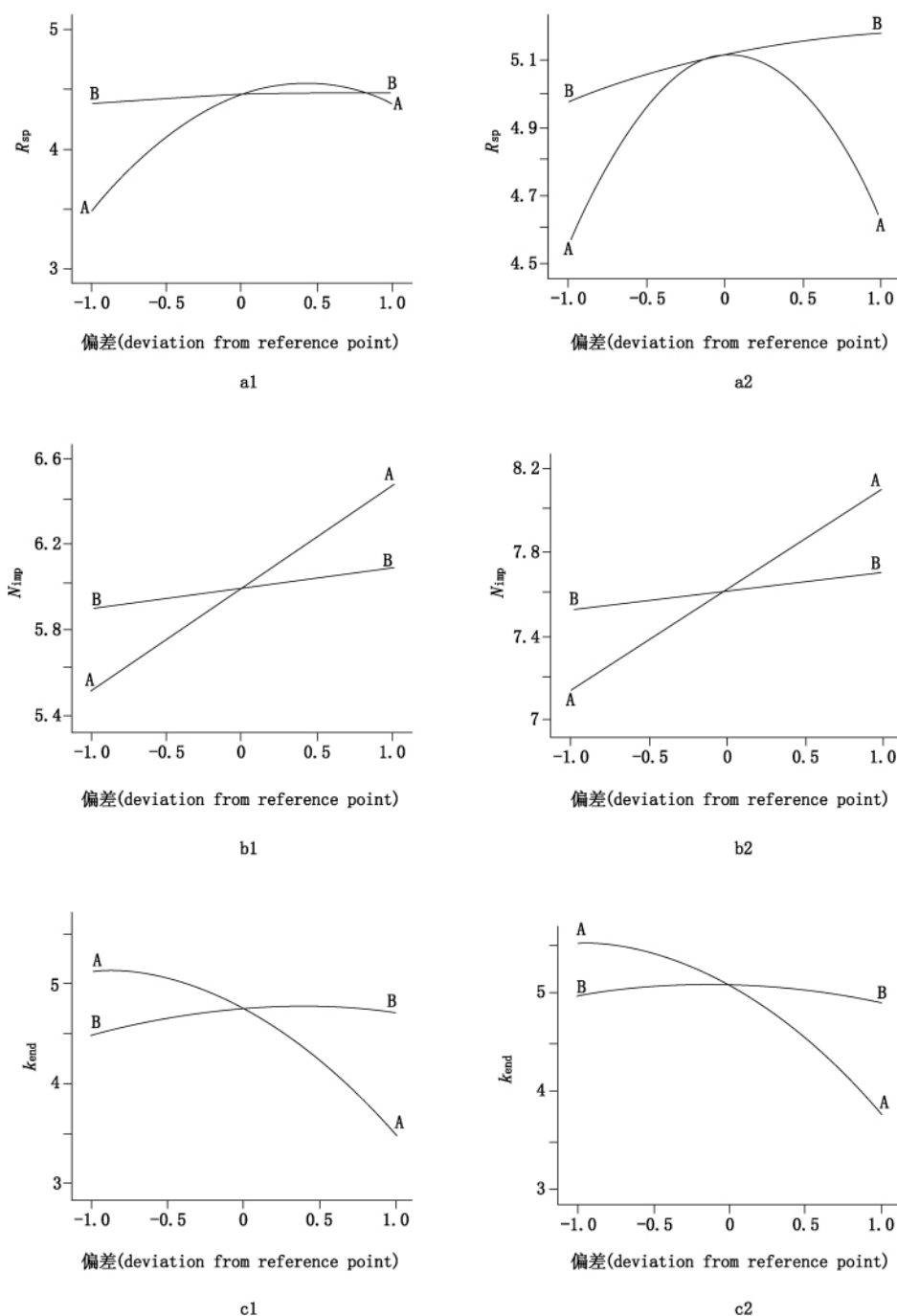


图1 不同实验参数对响应指标影响的扰动图

Fig 1 Perturbation plots showing the effect of the examined factors on the responses

A. 流速(flow rate) B. 柱温(temperature of the column)

a. R_{sp} b. N_{imp} c. k_{end}

1. 30 min 2. 40 min

采用 Derringer 方程^[9] 确定最优色谱条件:

$$D = [d_1^{p_1} \times d_2^{p_2} \times \cdots \times d_n^{p_n}]^{1/n} \quad (6)$$

式(6)中 p_i 为相应指标的权重; n 为响应指标数目 d_i 为每一响应指标的优化方程(desirability

function)。本研究中权重值取 1 ,Derringer 方程的 D 在 0 ~ 1 之间。 D 值越接近 1 说明所确定的最优条件越接近全局最优条件^[9]。以全局最优为目标得到的响应面见图4 ,从中推断出的最优色谱条件

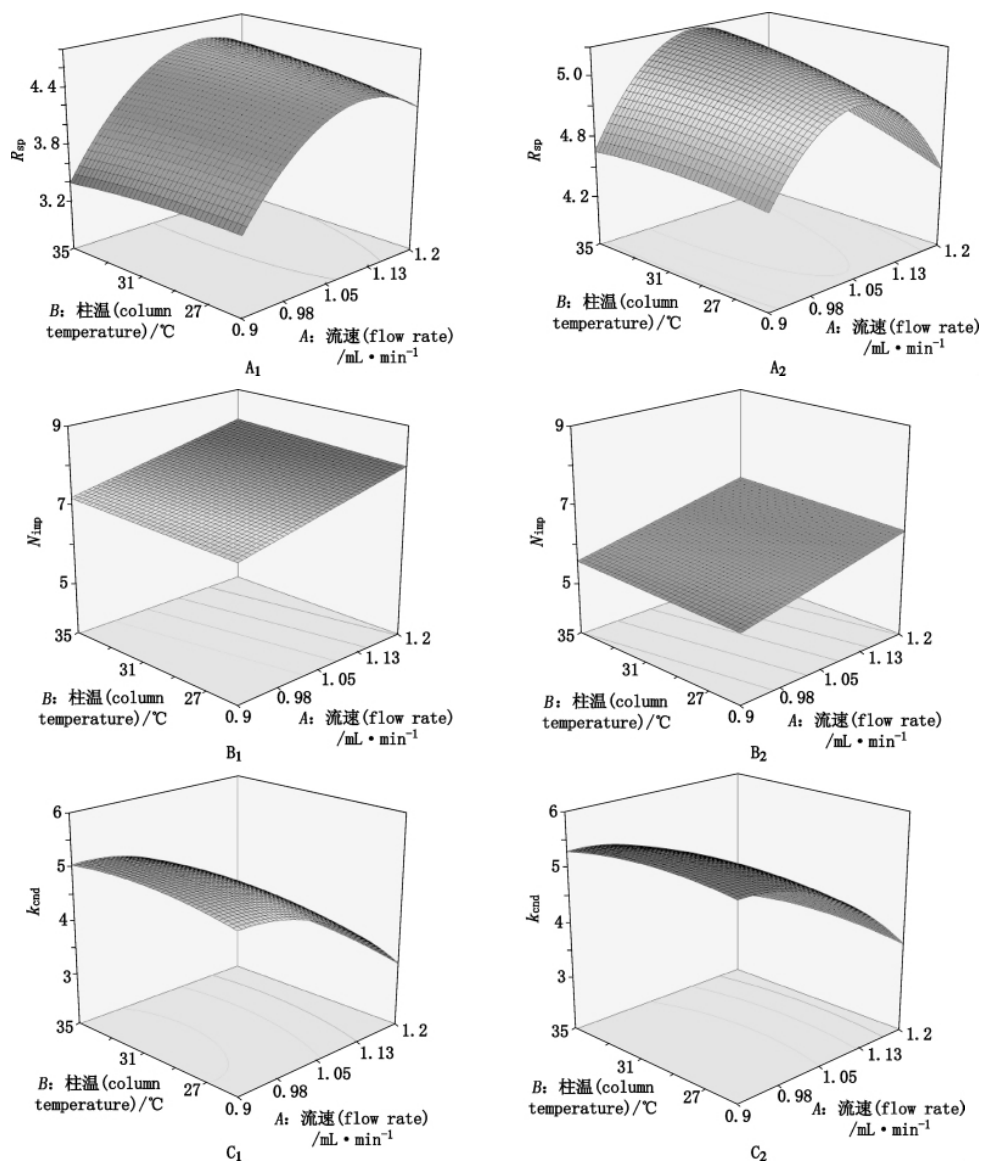


图2 与流速和柱温相关的响应面

Fig 2 Response surfaces related to flow rate (mL · min⁻¹), and column temperature (°C)A. R_{sp} B. N_{imp} C. k_{end}

1. 30 min 2. 40 min

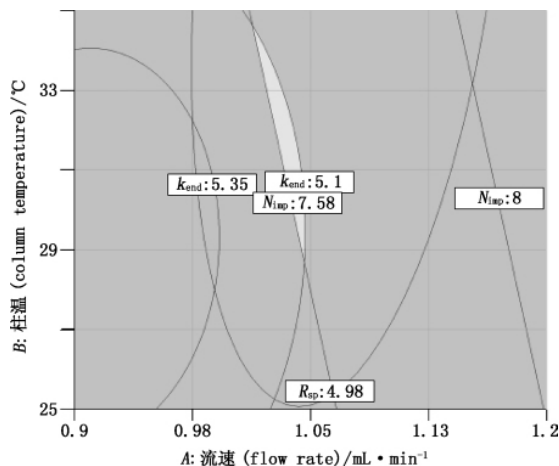


图3 流速和柱温与所选择的响应指标的等高线重叠图

Fig 3 Overlay contour plot of the investigated responses for the mobile phase flow rate and column temperature

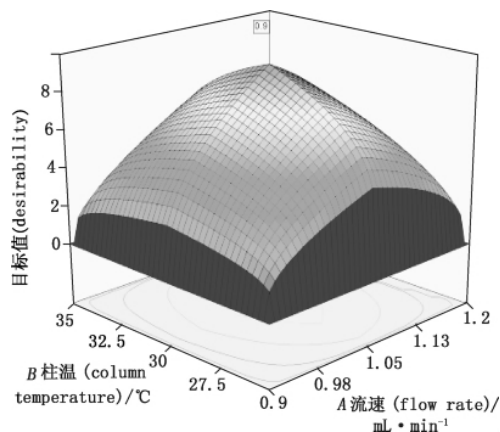


图4 目标响应面

Fig 4 Response surface obtained for desirability function

洗脱时间为 40 min (The gradient elution time was kept in 40 min)

与等高线重叠图得到的结果相同,即适合的梯度洗脱时间是 40 min,流速为 $1.05 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为 30°C 。

由于流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 与 $1.05 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 对分离的影响不大,考虑到色谱的一般习惯,确定最终的色谱条件为:流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 30°C ,梯度洗脱时间 40 min。以此条件分析洛伐他汀的色谱图见图 5,洛伐他汀色谱图中色谱峰的诸参数值列于表 7。

以预测误差 (PE) 为指标评价模型的预测性:

$$\text{PE} = \frac{\text{实测值} - \text{预测值}}{\text{预测值}} \times 100 \quad (7)$$

所选择的响应指标 R_{sp} 、 N_{imp} 和 k_{end} 的 PE 值分别为 -5.24 , -0.52 , -3.65 ,即实测值和预测值之间良好相关,提示所建立的优化模型预测性良好。

表 7 采用优化的色谱条件分析得到的洛伐他汀及其有关物质的色谱特征参数

Tab 7 Chromatographic characteristics for the analysis of lovastatin and impurities in the selected conditions

化合物 (compound)	保留时间 (retention time) /min	峰面积 (peak area)	分离度 (resolution)	理论板数 (theoretical plates)	容量因子 (capacity factor)
洛伐他汀(lovastatin)	10.14	14674719	3.17	17182	1.38
杂质(impurity) 1	4.26	4082	—	5503	0.00
2	5.78	12330	6.40	8953	0.36
3	6.36	9383	2.34	9987	0.49
4	8.54	13964	8.40	16679	1.00
5	9.21	7718	2.48	17950	1.16
6	11.73	6253	5.34	27945	1.75
7	16.35	4236	14.52	33650	2.84
8	28.22	10322	38.63	191748	5.62

5 方法验证

5.1 专属性 洛伐他汀降解溶液在优化的色谱条件下,诸降解杂质均能得到有效分离。光照降解液中的 2 号、3 号杂质峰为最难分离杂质对(图 6-A)。此时辛伐他汀峰与洛伐他汀峰之间的分离度为 8.1(图 6-B),故以辛伐他汀峰与洛伐他汀峰之间的分离度不小于 8,理论板数按辛伐他汀峰计算不低于 2000 作为系统适用性实验。

5.2 最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ) 洛伐他汀的 LOD($S/N=3$)为 0.25 ng (图 7);LOQ($S/N=10$)约为 0.8 ng 。

5.3 重复性 取洛伐他汀供试品溶液($0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)连续进样测定,峰面积的 RSD($n=6$)为 0.87% ;取洛伐他汀原料 1 批,平行测定的 RSD($n=6$)为 1.6% 。

5.4 溶液的稳定性 取洛伐他汀供试品溶液,在室温条件下,分别于制备后 0、2、4、6、8、10 h 进样测定,其主峰峰面积的 RSD($n=6$)为 0.88% ,提示所配溶液可在 10 h 内使用。

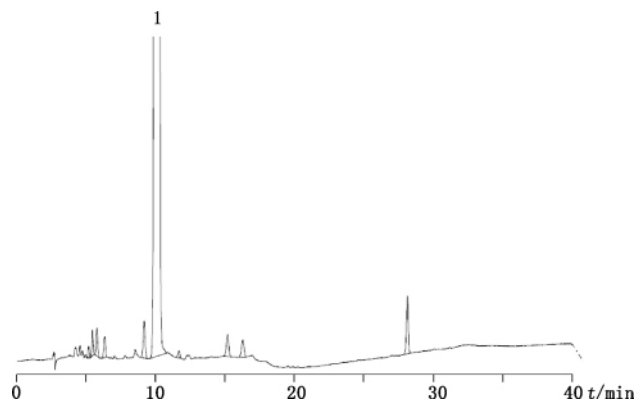


图 5 优化色谱条件下洛伐他汀有关物质分析色谱图

Fig 5 HPLC chromatogram of optimal conditions for the separation lovastatin and its impurities

1. 洛伐他汀(lovastatin)

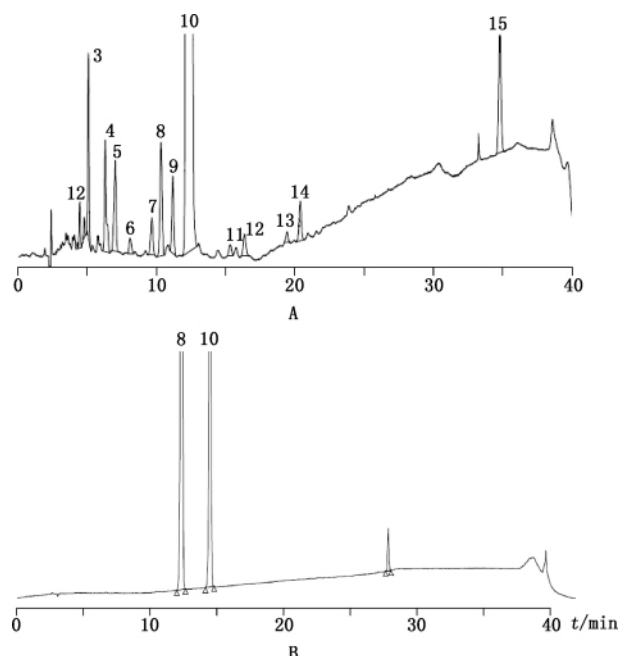


图 6 光照降解液杂质(A)及系统适用性实验(B)的图谱

Fig 6 HPLC chromatograms of destroy experiment by light(A) and system suitability test(B)

8. 洛伐他汀(lovastatin)

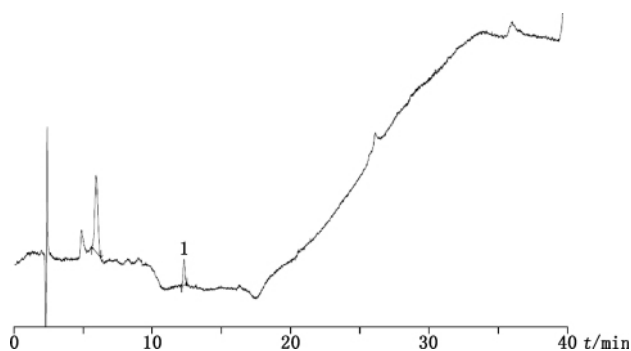


图7 洛伐他汀的最低检测限

Fig 7 HPLC chromatogram of LOD of lovastatin

1. 洛伐他汀(lovastatin)

6 样品测定

取2个厂家的6批洛伐他汀原料,分别测定其有关物质(表8),洛伐他汀原料含有杂质7~9个,其杂质总量约为0.5%;与2010年版中国药典方法的测定结果基本一致。

表8 洛伐他汀有关物质分析结果

Tab 8 Results of lovastatin

生产厂家 (factories)	批号 (Lot No.)	杂质数目 (impurity number)	杂质含量 (total amount of impurities) /%
1	A1090919	8	0.61
	A1090920	7	0.59
	A1090921	8	0.61
2	090909	9	0.53
	090910	9	0.52
	090911	9	0.50

7 结论

本文采用实验设计的方法,利用含杂质较多的洛伐他汀确定 HPLC 系统,优化色谱条件,建立了有

效控制洛伐他汀有关物质的分析方法。该方法集目前各国药典测定洛伐他汀有关物质分析方法的优势为一体,采用 C_{18} 色谱柱(中国药典的色谱柱),以乙腈-0.01% 磷酸溶液(65:35)为流动相(USP 和 EP/BP 的流动相体系),梯度洗脱。测定结果准确,操作方便,可有效地控制药品质量。

参考文献

- 1 USP32. 2009. 2815
- 2 EP. 6.0. 2008. 4686
- 3 ChP(中国药典). 2010. Vol II (二部): 614
- 4 Peter FG, Bernard AO. A quality by design approach to impurity method development for atomoxetine hydrochloride (LY139603). *Pharm Biomed Anal* 2008 46: 431
- 5 Panagiotis B, Feras IK, Emanouil G. Developing and optimizing a validated isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography separation of nimodipine and impurities in tablets using experimental design methodology. *Pharm Biomed Anal* 2009 49: 1192
- 6 Lucie Nováková, Soňa Amal Lopéz, Dagmar Solichová, et al. Comparison of UV and charged aerosol detection approach in pharmaceutical analysis of statins. *Talanta* 2009 78: 834
- 7 WANG Xue-jun(王学军), XU Zhen-liang(许振良), FENG Jian-li(冯建立), et al. RP-HPLC determination of simvastatin and its related substance lovastatin(反相高效液相色谱法测定辛伐他汀及其有关物质洛伐他汀的含量). *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学) 2007 24: 383
- 8 JIANG Jian-guo(姜建国), ZHANG Xi-ru(张西如), GAO Yan-xia(高燕霞), et al. RP-HPLC determination of the related substances of lovastatin(反相高效液相色谱法测定洛伐他汀有关物质). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志) 2009 29(11): 1956
- 9 Sivakumar T, Manavalan R, Muralidharan C, et al. Multi-criteria decision making approach and experimental design as chemometric tools to optimize HPLC separation of domperidone and pantoprazole. *Pharm Biomed Anal* 2007 43: 1842

(本文于2010年10月26日收到)

欢迎投稿

欢迎订阅

欢迎刊登广告