



Quality-By-Design Based HPLC Method Development and Validation for Separation of Levosulpiride from Dosage Forms and Pharmacokinetic in Humans

Rukhshanda HABIB^{1,2,3}, Muhammad AKHLAQ^{1*}, Gul SHAHNAZ³,
Asif NAWAZ¹, Asma NAVEED⁴, Aisha SIDDIQUA⁵ & Junaid ASGHAR¹

¹ Faculty of Pharmacy, Gomal University, D. I. Khan, Pakistan

² Department of Pharmacology, University of Oxford, Mansfield Rd, Oxford OX1 3QT, United Kingdom

³ Department of Pharmacy, Quaid-I-Azam University, Islamabad, Pakistan

⁴ Jawad Institute of Nursing and Allied Health Sciences, D.I.Khan, Pakistan

⁵ Gomal Center of Biochemistry & Biotechnology, Gomal University, D.I.Khan

SUMMARY. A novel quality by design-based high performance liquid chromatographic method was developed for levosulpiride. There was no specific method for levosulpiride in United States Pharmacopeia. So, for the first time Quality by Design approach was implemented by Box- Behnken Design. Method specifications include; buffer (low molarity): acetonitrile (50:50), column c18, pH 7 and flow rate 0.6 mL/min. Use of low molarity buffer increases the column life, 3.8 min fast retention time as compared with previously reported methods. A highly statistical significant model was obtained by employing Box- Behnken Design with p value < 0.05. Chromatographic conditions selected within the Method Operable Design Region (MODR). Limit of detection in buffer/acetonitrile was 0.036 $\mu\text{g/mL}$, and the limit of quantification was 0.11 $\mu\text{g/mL}$, however, limit of quantification in plasma was 18.57 ng/mL. The method was employed successfully for assessment of levosulpiride in various pharmaceutical formulations. Additionally, the developed method was used for pharmacokinetic studies of four different dosage forms of levosulpiride in human volunteers. The developed method is rapid, robust and sensitive and successfully employed for detection of levosulpiride in human plasma.

RESUMEN. Se desarrolló un método cromatográfico de líquidos de alto rendimiento de calidad novedosa por diseño para la levosulpirida. No existía un método específico para la levosulpirida en la Farmacopea de los Estados Unidos. Por lo tanto, mediante Box-Behnken Design se implementó por primera vez el enfoque de Calidad por Diseño. Las especificaciones del método incluyen; tampón (baja molaridad): acetonitrilo (50:50), columna c18, pH 7 y caudal 0,6 mL/min. El uso de tampón de baja molaridad aumenta la vida útil de la columna, un tiempo de retención rápido de 3,8 min en comparación con los métodos informados anteriormente. Se obtuvo un modelo altamente estadísticamente significativo empleando el diseño de Box-Behnken con un valor de $p < 0.05$. Las condiciones cromatográficas fueron seleccionadas dentro de la región de diseño operable del método (MODR). El límite de detección en tampón/acetonitrilo fue de 0,036 $\mu\text{g/mL}$ y el límite de cuantificación fue de 0,11 $\mu\text{g/mL}$, sin embargo, el límite de cuantificación en plasma fue de 18,57 ng/mL. El método se empleó con éxito para evaluar la levosulpirida en varias formulaciones farmacéuticas. Además, el método desarrollado se utilizó para estudios farmacocinéticos de cuatro formas de dosificación diferentes de levosulpirida en voluntarios humanos. El método es rápido, robusto y sensible y se empleó con éxito para la detección de levosulpirida en plasma humano.

KEY WORDS: Box-Behnken Design (BBD), dosage forms analysis, HPLC, levosulpiride (LS), pharmacokinetic studies.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mails: akhlaqhayat@hotmail.com; dr.akhlaq@gu.edu.pk