

托伐普坦的晶型研究

吕丽娟^{1,2}, 陈 华², 鲁靖睿^{1*}, 韩建萍²

1. 天津农学院 基础科学系, 天津 300384

2. 天津泰普药品科技发展有限公司, 天津 300193

摘要: **目的** 研究低钠血症治疗药物托伐普坦的晶型特征。**方法** 采用蒸发结晶、溶剂结晶、研磨转晶等方法对托伐普坦进行晶型制备筛选; 采用粉末 X 射线衍射分析 (PXRD)、差示扫描量热分析 (DSC)、红外光谱分析 (IR)、热重-差热分析 (TG-DTA) 以及单晶 X 射线衍射分析 (SXRD) 技术对制备得到的托伐普坦晶型样品进行表征; 采用研磨、加热、加压和混悬方法对无水晶型进行转晶行为研究; 此外, 还对各种晶型进行了溶解性质研究。**结果** 通过上述制备方法获得了托伐普坦的 4 种晶型状态 I、II、III 和 IV 型。其中 I 型为无水晶型, II 型为溶剂化物, III 型为半水合物, IV 型为无定型。I、IV 型在特定的条件下可以相互转化。**结论** 采用 PXRD、DSC 和 TG-DTA 技术可实现 4 种晶型的直观、快速、准确鉴别。I~IV 型托伐普坦的理化性质及稳定性存在明显差异, 其中 IV 型为热力学不稳定晶型, 溶解性最好, 而 I 型最稳定。

关键词: 托伐普坦; 晶型; 表征; 溶解性

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)06-0832-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.06.005

Polymorphs of tolvaptan

LÜ Li-juan^{1,2}, CHEN Hua², LU Jing-rui¹, HAN Jian-ping²

1. Department of Basic Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

2. Tianjin Taipu Pharmaceutical Science & Technology Development Co., Ltd., Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the polymorphic characteristics of tolvaptan for the treatment of hyponatremia. **Methods** Polymorph screening of the compound was carried out in this study. Polymorphs of tolvaptan were prepared by evaporative crystallization, antisolvent crystallization and other polymorph transformation methods such as grinding, and were characterized by powder X ray diffraction (PXRD), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectrometry (IR), thermogravimetric analysis coupled with differential thermal analysis (TG-DTA) and single crystal X ray diffraction analysis (SXRD). Grinding, heating, pressurizing and suspension methods were selected for studying polymorph transformation behavior of type I, and the dissolution properties of different polymorphs were also studied. **Results** It was found that tolvaptan obtained by the above methods existed four kinds of polymorphic state types I-IV. Among which, type I was anhydrous, type II was solvate, type III was semi-hydrate and type IV was amorphous. Types I and IV could be transformed into each other under certain conditions. **Conclusion** This study indicates that PXRD, DSC and TG-DTA could be used to identify the four kinds of tolvaptan polymorphs intuitively, rapidly and accurately. There are obvious differences in physicochemical properties and stability of different polymorphs, wherein type IV is thermodynamically unstable polymorph with best solubility, while type I is the most stable one.

Key words: tolvaptan; polymorph; characterization; solubility

托伐普坦 (tolvaptan, 商品名 Samsca), 化学名为 (±)-(4-(7-氯-2,3,4,5-四氢-5-羟基-1-苯并氮杂草-1-羰基)-3-甲基苯基)-2-甲基苯甲酰胺, 分子式为

$C_{26}H_{25}ClN_2O_3$, 相对分子质量为 448.94。托伐普坦是一种新型的非肽类选择性抗利尿激素 V2 受体拮抗剂, 由日本大冢制药公司开发, 2009 年 5 月 19

收稿日期: 2012-09-10

作者简介: 吕丽娟 (1982—), 女, 内蒙古呼伦贝尔人, 讲师, 博士, 主要从事药物分析及药物晶型研究。

Tel: 13821536691 E-mail: lv_lijuan@aliyun.com。

*2013 届生物制药专业毕业生

日经美国 FDA 批准上市的新药, 用于治疗由充血性心衰、肝硬化以及抗利尿激素分泌异常综合征导致的低钠血症^[1], 结构式见图 1。

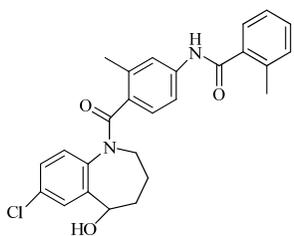


图 1 托伐普坦的结构

Fig. 1 Structure of tolvaptan

托伐普坦是一种典型的具有多晶型现象的固体药物, 因而受到药学研究者的广泛关注。已有文献报道了托伐普坦存在的无水晶型、无定型以及半水合物的制备方法^[2-5], 但未见全面具体的晶型制备工艺优化、表征、稳定性及理化性质方面的报道。本实验对托伐普坦进行了系统的晶型研究, 包括晶型制备、晶型表征、转晶行为以及溶解性质研究, 希望以此更为充分的了解该药物的晶型特征, 进而为其药品的质量研究与控制提供更为科学的理论依据。

1 仪器与试剂

Saturn 724 CCD 面探测仪、D/max—2550 粉末 X 射线衍射仪 (Rigaku 公司); DSC1 差示扫描量热仪 (瑞士梅特勒); M 5000 熔点仪 (Kruess 公司); Nicolet IS 5 傅里叶变换红外光谱仪 (Thermo 公司); Laborota 4000 旋转蒸发仪 (Heidolph 公司); Pulverisette 6 研磨机 (Fritsch 公司); CPA 324 S 电子天平 (Sartorius 公司); LRH—150B 生化培养箱 (广东省医疗器械厂); DZF—6020 真空干燥箱 (上海一恒科技有限公司); SHB—III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)。

托伐普坦 (I 型, 质量分数大于 99%) 由天津泰普药品科技发展有限公司提供。水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 所用溶剂的选择

考察托伐普坦在常用溶剂中的溶解性, 为下一步晶型筛选提供合适的溶剂条件。

称取研细的 I 型托伐普坦样品 100 mg, 15 份, 分别置于 (25 ± 2) °C 的苯甲醇、二甲基亚砜 (DMSO)、甲醇、乙醇、醋酸乙酯、丙酮、丁酮、*N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、二氯甲烷、三氯甲烷、

四氢呋喃 (THF)、乙醚、乙腈、吡啶和水中, 每隔 5 min 强力振摇 30 s; 观察 30 min 内的溶解情况, 如无目视可见的溶质颗粒或液滴时, 即视为完全溶解。结果发现, I 型托伐普坦在苯甲醇中易溶, 在 DMSO 中溶解, 在甲醇、乙醇、醋酸乙酯中略溶, 在丙酮、丁酮、DMF、二氯甲烷、三氯甲烷、THF、乙醚、乙腈、吡啶中微溶, 在水中几乎不溶。

2.2 晶型的制备

方法 A: 将 I 型托伐普坦溶解于适量溶剂中, 室温避光放置至晶体析出。方法 B: 将 I 型托伐普坦溶解于适量溶剂中, 通过减压蒸馏使溶剂迅速蒸发至晶体析出。方法 C: 将 I 型托伐普坦溶解于亲水性有机溶剂中, 在搅拌下将所得上述溶液滴入水中至晶体析出, 离心。通过上述制备方法获得了托伐普坦的 4 种晶型状态 I ~ IV 型, 其中 I 型为无水晶型, II 型为溶剂化物, III 型为半水合物, IV 型为无定型。见表 1。

表 1 托伐普坦晶型制备结果

Table 1 Preparation results of tolvaptan polymorphs

序号	方法	溶剂	晶型
1	A	丙酮: 水 (3: 1)	II
2	A	甲醇: 水 (3: 1)	I (单晶)
3	B	丙酮	I
4	B	甲醇	IV
5	B	乙醇	IV
6	B	THF	IV
7	B	二氯甲烷	IV
8	C	丙酮、水	III
9	C	乙醇、水	III
10	C	丁酮、水	III
11	C	乙醇、丙酮、水	III

2.3 晶型的表征

2.3.1 单晶 X 射线衍射分析 (PXRD) 将制备方法 A 获得的托伐普坦单晶体 0.22 mm × 0.18 mm × 0.16 mm 进行单晶 X 射线衍射分析, 采用 Saturn 724 CCD 面探测仪收集衍射强度数据, Mo K α 辐射, 人工多层膜聚焦镜单色器, 准直管直径 0.30 mm, 管压 50 kV, 管流 24 mA。用直接法 (Shelxs 97) 解析晶体结构, 使用最小二乘法修正结构参数和判别原子种类, 使用几何计算法获得全部氢原子位置。将单晶数据文件导入 Mercury 程序拟合粉末 X 射线

衍射图谱,并与实测粉末 X 射线衍射图谱进行比对。

经分析,通过制备方法 A 获得的单晶体属于单斜晶系,空间群为 $P2_1/n$,晶胞参数: $a=0.764\ 90(10)\text{ nm}$, $b=3.790\ 3(6)\text{ nm}$, $c=0.842\ 20(13)\text{ nm}$, $\alpha=90.00^\circ$, $\beta=108.038(4)^\circ$, $\gamma=90.00^\circ$,晶胞体积 $V=2.321\ 7(6)\text{ nm}^3$,晶胞内分子数 $Z=4$,晶体密度为 1.284 mg/m^3 。晶态下分子排列属第二类空间群,故化合物不具有旋光活性。单晶结构分析结果表明:分子内不存在氢键联系;分子间存在氢键联系: $O_1\dots O_2(x-1, y, z): 0.276\ 9\text{ nm}$; $N_2\dots O_3(x+1/2, -y+1/2, z+1/2): 0.286\ 7\text{ nm}$ 。晶态下分子以氢键作用及范德华力维系其在空间的稳定排列。晶胞堆积图见图 2。

2.3.2 粉末 X 射线衍射分析 (PXRD) Cu K α 辐射,石墨单色器,管压 40 kV,管流 150 mA, 2θ 扫描范围 $3\sim 40^\circ$,扫描速率 $8^\circ/\text{min}$,步长 0.02° ,发散狭缝 1° ,接收狭缝 0.15 mm,散射狭缝 1° 。经 Mercury 程序拟合的 2.3.1 项下所述单晶的 PXRD 理论图谱见图 3。I~IV 型托伐普坦的 PXRD 实验图谱见图 4。该单晶 PXRD 理论图谱与 I 型托伐普坦 PXRD 实验图谱完全一致,表明该单晶为 I 型。

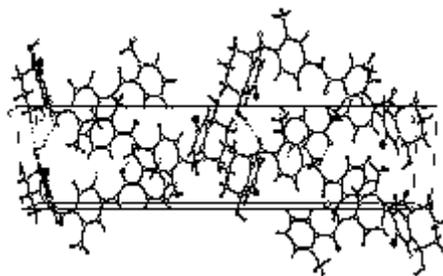


图 2 分子晶胞堆积图

Fig. 2 Molecular lattice packing diagram

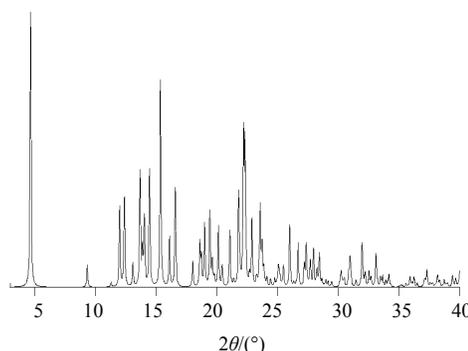


图 3 I 型托伐普坦 PXRD 理论图谱

Fig. 3 PXRD theoretical pattern of type I of tolvaptan

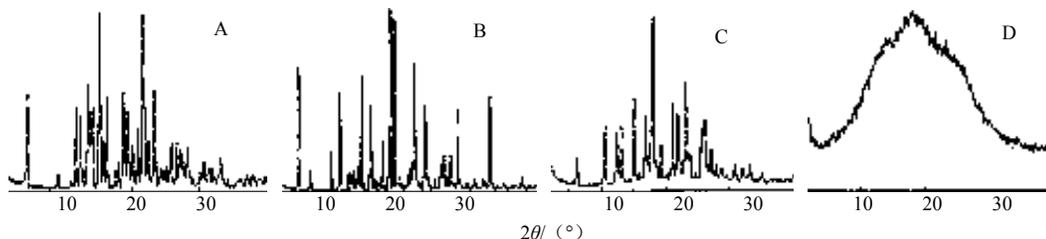


图 4 I 型 (A)、II 型 (B)、III 型 (C)、IV 型 (D) 托伐普坦 PXRD 实验图谱

Fig. 4 PXRD experimental pattern of types I (A), II (B), III (C), and IV (D) of tolvaptan

通过对比不同晶型托伐普坦的粉末 X 射线衍射图谱发现,不同晶型的特征衍射峰位置与强度存在显著差异,I 型特征峰 $2\theta(^\circ)$ 为 4.58、9.22、11.70、12.32、13.50、13.92、14.28、15.30、15.84、16.40、18.58、19.24、20.88、21.60、22.44、23.36; II 型特征峰 $2\theta(^\circ)$ 为 4.62、6.32、9.26、10.50、13.92、15.24、16.92、18.04、18.62、21.82、23.32、28.12、32.94; III 型特征峰 $2\theta(^\circ)$ 为 6.32、10.50、12.24、12.66、13.30、15.22、16.90、18.04、19.18、21.04、22.00、23.22、26.10; 而 IV 型在 18.70° 处呈现弥散状单峰,为典型的无定型特征。研磨样品, I 型特征峰逐渐消失,呈现向 IV 型转化的趋势。

2.3.3 差示扫描量热分析 (DSC) Al_2O_3 坩埚,

升温范围为室温 $\sim 300^\circ\text{C}$,升温速率为 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 。

在室温 $\sim 300^\circ\text{C}$, I 型托伐普坦的 DSC 曲线中仅存在 1 个峰值为 228.55°C 的尖锐吸热峰,为熔融所致。II 型存在 3 个吸热峰,分别为峰值为 150°C 左右的宽峰、 217.13°C 的尖峰和 229.68°C 的尖峰。III 型存在 3 个吸热峰,分别为峰值为 117.98°C 的宽峰、 153.98°C 的宽峰和 215.86°C 的小峰。见图 5。用其他图谱验证了 IV 型是非晶态的, DSC 图谱无峰,所以未提供其 DSC 图谱。

2.3.4 红外光谱分析 (IR) KBr 压片。I~IV 型托伐普坦的红外光谱仅在局部波数存在细微差别,但很难通过红外光谱分析实现 4 种晶型的准确、快速鉴别。见图 6。

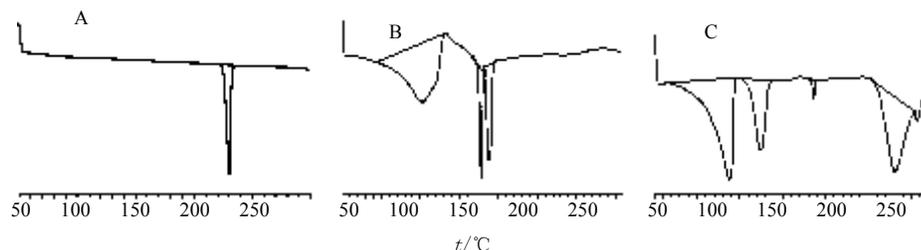


图 5 I 型 (A)、II 型 (B)、III 型 (C) 托伐普坦 DSC 图谱
Fig. 5 DSC curves of types I (A), II (B), and III (C) of tolvaptan

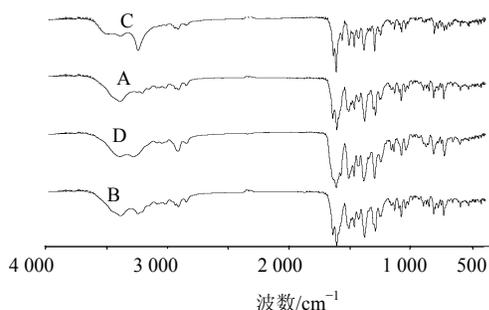


图 6 I 型 (A)、II 型 (B)、III 型 (C)、IV 型 (D) 托伐普坦 IR 光谱
Fig. 6 IR spectra of types I (A), II (B), III (C), and IV (D) of tolvaptan

2.3.5 热重 - 差热分析 (TG-DTA) Al_2O_3 坩埚, 升温范围为室温~400 °C, 升温速率为 10 °C/min。在室温~400 °C, 各样品 DTA 曲线同 DSC 曲线热力学行为表现均一致, 结合 TG 曲线分析, 各样品在约 280 °C 时均有失重现象, 表明已逐渐分解, 见图 7。

I 型托伐普坦的 DTA 曲线中存在 2 个吸热峰, 峰值为 229 °C 的峰为熔融所致, 峰值为 310 °C 的峰为分解所致。II 型存在 4 个吸热峰, 峰值分别为 155、218、230 和 312 °C。III 型存在 4 个吸热峰, 峰值分别为 95、155、218 和 312 °C, 结合 TG 曲线在 95 °C 左右存在失重现象, 失重率为 1.9%, 判断为其失水

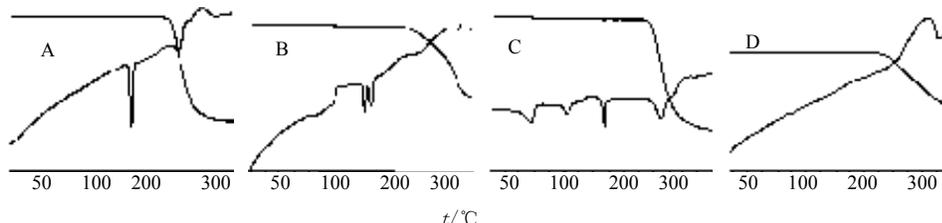


图 7 I 型 (A)、II 型 (B)、III 型 (C)、IV 型 (D) 托伐普坦 TG-DTA 图谱
Fig. 7 TG-DTA curves of types I (A), II (B), III (C), and IV (D) of tolvaptan

所致, 在 155 °C 可能发生转晶, 218 °C 为熔融所致, 而 312 °C 为分解所致。利用失重率 1.9% 进行计算可知, III 型样品含有 0.5 个分子的结晶水。IV 型除分解外无其他明显热力学行为。

2.3.6 熔点分析 (MP) 按照《中国药典》2010 年版附录 VIC 熔点测定法^[6]测定。结果: I 型 226.2~227.3 °C, II 型 227.2~228.1 °C, III 型 153.8~155.4 °C, IV 型 150.7~179.1 °C。

2.4 转晶试验

2.4.1 研磨转晶试验 取一定量 I 型托伐普坦, 置于研磨机中, 设定转速为 400 r/min, 每研磨 15 min 后暂停 2 min。研磨 8 h, 于不同时间取样与未经研磨的样品对照进行 PXRD 分析, 考察晶型变化情况。

经 PXRD 分析, 经研磨 I 型托伐普坦逐渐向 IV 型转变, 如果研磨时间足够长, 则 I 型可完全转化为 IV 型。见图 8。另外, DSC、TG-DTA 分析亦证实了这一转晶过程。见图 9、10。研磨样品的 DSC 曲线中存在 1 个峰值为 167.46 °C 的放热峰和 1 个 222.11 °C 的吸热峰, 峰值为 167.46 °C 的峰可能由于转晶所致。研磨样品的 TG-DTA 曲线中存在 2 个吸热峰, 峰值分别为 226、308 °C, 存在 1 个放热峰, 峰值为 169 °C, 样品在 169 °C 时可能发生转晶, 226 °C 时熔融, 308 °C 时分解。

2.4.2 加热转晶试验 为便于选择储存、干燥、灭菌等条件, 设计如下试验条件考察 I 型托伐普坦对温度的敏感性, 见表 2。经 PXRD 分析, 在上述高

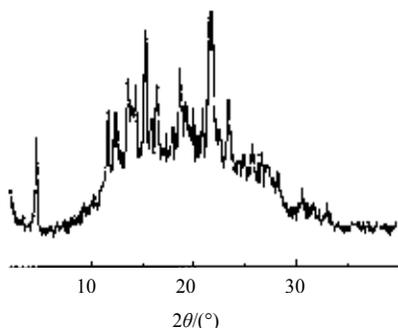


图 8 I 型托伐普坦研磨 2 h 的 PXRD 实验图谱

Fig. 8 PXRD experimental pattern of type I tolvaptan after 2 h for grinding crystal

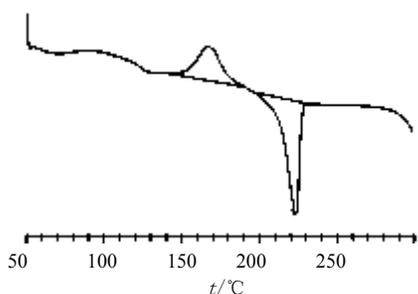


图 9 I 型托伐普坦研磨 2 h 的 DSC 图谱

Fig. 9 DSC curves of type I tolvaptan after 2 h for grinding crystal

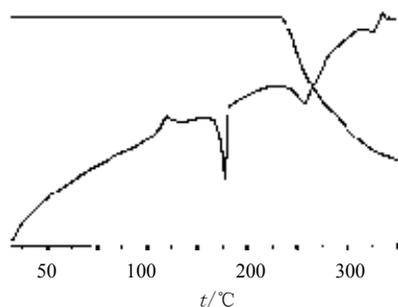


图 10 I 型托伐普坦研磨 2 h TG-DTA 图谱

Fig. 10 TG-DTA curves of type I tolvaptan after 2 h for grinding crystal

温条件下，未使 I 型托伐普坦发生晶型转变。

2.4.3 加压转晶试验 取一定量 I 型托伐普坦，用单片压片机直接压片，用硬度仪测定硬度为 3.5 kg 压力，压碎成粉，取之与未经压片的样品对照进行 PXRD 分析，考察晶型变化情况。经 PXRD 分析，在上述压力条件下，未使 I 型托伐普坦发生晶型转变。

表 2 高温转晶条件

Table 2 Conditions of polymorph transformation by heating

序号	温度/°C	保持时间/h	降至室温所需时间
1	120	2	2 min
2	120	2	1 h
3	140	2	2 min
4	140	2	1 h
5	150	2	2 min
6	150	2	3 h
7	180	2	2 min
8	180	2	3 h

2.4.4 混悬转晶试验 取一定量 I 型托伐普坦混悬至于水中，放置 3 周，取之干燥后与未经处理的样品对照进行 PXRD 分析，考察晶型变化情况。经 PXRD 分析，在上述混悬条件下，未使 I 型托伐普坦发生晶型转变。

2.5 溶解性质研究

对制备所得的各种托伐普坦晶型样品进行溶解性研究，选用水、甲醇、乙醇、丙酮、丁酮、DMF、DMSO、醋酸乙酯、苯甲醇、二氯甲烷、三氯甲烷、THF、乙醚、乙腈、吡啶制备其饱和溶液。精密称取托伐普坦对照品 10 mg，置 50 mL 量瓶中，加流动相超声溶解并稀释至刻度，摇匀。精密量取 0.5 mL 置 100 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，得质量浓度为 1 μg/mL 的对照溶液；取不同晶型在不同溶剂中所得饱和溶液的续滤液，以流动相定量稀释后作为供试溶液；取对照品溶液和供试溶液各 10 μL 分别注入液相色谱仪，记录峰面积。按外标法计算供试溶液中托伐普坦的浓度。

分析表明，托伐普坦属于难溶性化合物。不同晶型之间的溶解行为差异较大，不同晶型在相同溶剂中的溶解性呈现明显规律，表现为 IV 型溶解性最好，其次是 III 型，最后是 II 型、I 型。

3 讨论

本研究获得了托伐普坦的 4 种晶型存在状态 I、II、III 和 IV 型。其中 I 型为无水晶型，II 型为溶剂化物，III 型为半水合物，IV 型为无定型。采用相同溶剂在不同结晶条件下可能获得化合物的不同晶型，如丙酮，在独立使用时，采用蒸发结晶中减压蒸馏使溶剂迅速蒸发的方法可获得 I 型托伐普坦；当与水组成二元混合溶剂，采用蒸发结晶中缓慢晶体生长的方式可获得 II 型托伐普坦；当以水作为反溶剂，采用溶析结

晶的方法则可获得Ⅲ型托伐普坦。

由于单晶培养存在一定难度,使得 SXRD 技术在晶型鉴别应用中存在一定的局限性;IR 技术在托伐普坦晶型表征上不具有特征性;MP 技术在托伐普坦晶型表征上亦未表现出很强的特征性,特别是当采用目视法测定溶剂化物及水合物时存在脱水、脱溶剂的现象,易对测定结果带来干扰;而 PXRD、DSC 和 TG-DTA 技术则可反映出托伐普坦不同晶型之间的显著差异,因此,可作为直观、快速、准确鉴别托伐普坦不同晶型的有效手段。

固体化学药物的晶型转变有时是人们希望的,而有时则不是。针对转晶现象的不同需求,采取有效措施对不同晶型物质进行积极的控制,研究和掌握药物多晶型的各种影响因素,对于固体制剂的处方开发、新药剂型确定、生产制备工艺优化、药品质量控制、最佳临床疗效发挥等均有着极为重要的研究意义。结果表明,研磨可使 I 型托伐普坦向 IV 型转变,而在压力、高温及混悬转晶条件下,均未使 I 型托伐普坦发生晶型转变。结合 SXRD、热分析及 MP 分析结果,可以判断 I 型托伐普坦具有较好的晶型稳定性。

溶解性研究结果表明,托伐普坦属于难溶性化

合物。不同晶型之间的溶解行为差异较大,IV 型溶解性最好,其次是Ⅲ型,最后是 II 型、I 型。其原因在于:无定型态与液态一样具有近程有序而远程无序的结构特征,具有更大的表面自由能,因而其溶解度也较晶态明显增大。此外,由于无定型态属于热力学不稳定状态,理论上容易释放熵,转变为稳定的晶态,所以,若采用无定型态作为原料药则需控制适当的制备和储存条件,避免其发生不必要的晶型转变。

参考文献

- [1] Ghali J K, Hamad B, Yasothan U, *et al.* Tolvaptan [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(8): 611-612.
- [2] 孙学伟, 顾 群, 徐春霞, 等. 托伐普坦晶体或无定形物及其制备方法 [P]. 中国: 102020609A, 2011-04-20.
- [3] 陈 滔, 张村子, 韩建萍, 等. 一种托伐普坦晶体及其药物组合物 [P]. 中国: 102558051A, 2012-07-11.
- [4] 韩建萍, 张村子, 陈 滔, 等. 托伐普坦水合物及其药物组合物 [P]. 中国: 102558052A, 2012-07-11.
- [5] 吕丽娟, 赵 健, 陈 华, 等. 托伐普坦的结构确证和晶型探讨 [J]. *现代药物与临床*, 2012, 27(3): 192-195.
- [6] 中国药典 [S]. 二部. 2010: 附录 40-41.