

• 实验研究 •

氢溴酸沃替西汀中有关物质的结构表征和测定

房思萌, 米楠, 华东东, 臧可昕*

天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 建立氢溴酸沃替西汀及其片剂中有关物质的高效液相色谱 (HPLC) 测定方法。方法 Waters Symmetry® C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05%三氟乙酸水溶液-[甲醇-乙腈-水-三氟乙酸 (60:35:5:0.035)], 梯度洗脱; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量: 10 μL; 波长: 254 nm。采用红外光谱、质谱、核磁对 4 个主要杂质进行了结构确证, 并阐述了各杂质的产生途径。**结果** 氢溴酸沃替西汀和杂质 A~G 在测定质量浓度范围内线性关系良好, r 均大于 0.999 4; 氢溴酸沃替西汀和杂质 A、B、C、E、F、G 的定量限浓度均为 0.2 μg/mL, 最小检出限浓度均为 0.02 μg/mL; 杂质 D 的定量限浓度为 0.8 μg/mL, 最小检出限浓度为 0.08 μg/mL。平均回收率为 100.4%, RSD 值为 1.06%。氢溴酸沃替西汀中主杂质的质量分数为 0~0.01%。**结论** 该方法快速、简便、准确, 为氢溴酸沃替西汀及其片剂的质量标准的制定提供了重要依据。

关键词: 氢溴酸沃替西汀; 有关物质; 高效液相色谱法; 结构确证

中图分类号: R927 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2018)09-2159-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.09.001

Structural characterization and determination of vortioxetine hydrobromide and its related substance

FANG Si-meng, MI Nan, HUA Dong-dong, ZANG Ke-xin

Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of vortioxetine hydrobromide and its related substance. **Methods** Separation was carried out on Waters Symmetry® C₁₈ column (250 mm × 4.6 μm, 5 μm). The mobile phase consisted of 0.05% aqueous solution of trifluoroacetic acid - [methyl - acetonitrile - water - trifluoroacetic acid (60:35:5:0.035)] with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min, temperature of column was set at 40 °C, and volume of injection was 10 μL. The detection wavelengths were set at 254 nm. The structures of four process-related impurities formed during the synthesis were characterized and confirmed by IR, MS, and NMR spectroscopy analyses. The probable formation mechanisms of the impurities identified were proposed. **Results** The linear relations of vortioxetine hydrobromide and impurities A — G in the range of mass concentration was good with perfect precision with r all more than 0.999 4. Quantitative limiting concentration of vortioxetine hydrobromide and impurities A, B, C, E, F, and G were 0.2 μg/mL, and minimum detection limit concentration were 0.02 μg/mL. Quantitative limiting concentration of impurity D was 0.8 μg/mL, and minimum detection limit concentration was 0.08 μg/mL. The average recovery rates were 100.4%, and RSD was 1.06%. The content of main impurity in vortioxetine hydrobromide was 0 — 0.01%. **Conclusion** The method is rapid, convenient, and with precision and accuracy, and provides reference and basis to develop and improve vortioxetine quality standard.

Key words: vortioxetine; related substance; HPLC; structure confirmation

沃替西汀是一种用于治疗成人重度抑郁症的非典型性抗抑郁药。其原研片剂于 2013 年 9 月 FDA 获准上市^[1]。沃替西汀是一种可作用于多靶点的抗抑郁药, 其为 5-HT_{1D}、5-HT₃、5-HT₇ 受体抑制剂,

收稿日期: 2018-08-16

作者简介: 房思萌 (1987—), 女, 吉林人, 助理研究员, 硕士, 从事药品质量控制工作。Tel: (022)23006839 E-mail: fangsm@tjpr.com

*通信作者 臧可昕 Tel: (022)23006839 E-mail: zangkx@tjpr.com

通过抑制 5-HT 再摄取增强 5-HT_{1A}、5-HT_{1B} 受体活性^[2-4]。与其他一线抗抑郁药不同,该药的作用机制为 5-羟色胺再摄取抑制的同时也作用于其他 5-羟色胺受体^[5]。

目前氢溴酸沃替西汀及其片剂尚未被各国药典收录,通过查阅相关文献报道,对氢溴酸沃替西汀及其片剂的杂质检测的液相方法报道较少。其中在药物代谢检测研究方面,Kall 等^[6]报道了氢溴酸沃替西汀体外定量检测方法和体内代谢物检测方法,采用 C₈-固相萃取法提取血浆中的氢溴酸沃替西汀,通过离子交换色谱 HPLC-MS/MS 方法进行测定。同样,Gu 等^[7]研究了 UPLC-MS/MS 法定量测定大鼠血浆中的氢溴酸沃替西汀。Liu 等^[8]研究了反向色谱法测定具有稳定性指示作用的氢溴酸沃替西汀相关杂质检测和杂质结构确证。各个文献报道的氢溴酸沃替西汀的合成路线都比较相似^[9-11],但是 3 种起始原料的分子结构和加入顺序的不同使成品的工艺杂质和降解杂质相差巨大。杂质的来源包括未反应完的起始原料、成品衍生物、中间体和降解杂质。本研究定向合成了氢溴酸沃替西汀及其 7 个潜在杂质,阐述氢溴酸沃替西汀合成过程中或降解可能产生杂质的途径,对其中 4 个重要杂质进行了结构确证,建立 HPLC 法有效分离氢溴酸沃替西汀中的相关杂质,并进行定量测定。

1 仪器与试药

Water e2695-2998 高效液相色谱仪;安捷伦 1260 液相-Thermo Fisher LCQ Advantage Max 离子阱液质联用仪;Bruker AV400 核磁共振仪(瑞士);Thermo Scientific Nicolet iS5 傅里叶红外光谱仪;SB-5200D 超声波清洗仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

氢溴酸沃替西汀(自制,产品批号 161024、161028,质量分数>99.9%);氢溴酸沃替西汀片(自制,规格 5 mg/片,产品批号 2017071101;规格 10 mg/片,产品批号 2017071102;规格 15 mg/片,产品批号 2017071103;规格 20 mg/片,产品批号 2017071104);氢溴酸沃替西汀杂质 A、B、C、D、E、F、G 均为自制对照品;2,4-二甲基碘苯、2-溴苯硫酚和哌嗪均购于上海阿拉丁试剂公司;所有杂质对照品质量分数均>99%,起始原料质量分数均>98%。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

Waters Symmetry® C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,

5 μm);流动相:0.05%三氟乙酸水溶液(A)-甲醇-乙腈-水-三氟乙酸(60:35:5:0.035,B),梯度洗脱:0~40 min,60%→0%A,40~43 min,0%A,43~45 min,0%→60%A;体积流量:1.0 mL/min;柱温:40 ℃;检测进样量:10 μL;波长:254 nm。

离子化模式 ESI,离子检测模式:全扫描,分析模式:正离子模式,采集范围: m/z 100~1 000,毛细管温度:190 ℃,喷雾电压:4.5 kV,雾化压力: 1.6×10^5 Pa,鞘气流量:35 L/min,辅助气体流量:20 L/min。

2.2 氢溴酸沃替西汀中有关物质的来源

氢溴酸沃替西汀合成的起始原料为 2,4-二甲基碘苯、2-溴苯硫酚和哌嗪。2,4-二甲基碘苯有两个同分异构体 2,6-二甲基碘苯和 3,5-二甲基碘苯,购买的 2,4-二甲基碘苯可能含有这两种同分异构体,如果 2,4-二甲基碘苯中含有 2,6-二甲基碘苯,通过相同的合成路线可产生杂质 A;同样,2,4-二甲基碘苯中如含有 3,5-二甲基碘苯,通过相同的合成路线可产生杂质 B,杂质 A 和杂质 B 同为氢溴酸沃替西汀的同分异构体;2-溴苯硫酚可能含有杂质苯硫酚,与 2,4-二甲基碘苯反应时会生成杂质 C。2,4-二甲基碘苯如果只与哌嗪反应,会生成杂质 D;2,4-二甲基碘苯如果与过量的 2-溴苯硫酚和哌嗪反应会生成杂质 E,只与适量 2-溴苯硫酚反应会生成杂质 F,与哌嗪进一步反应会生成氢溴酸沃替西汀,高温条件氧化生成杂质 G;氢溴酸沃替西汀及其有关物质的来源见图 1。

2.3 结构鉴定

氢溴酸沃替西汀:ESI-MS m/z : 298.1。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.22 (d, 8H), 8.96 (s, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.95 (dt, 1H), 6.42 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.32 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.21 (s, 3H)。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 48.02, 43.39, 147.75, 133.29, 125.98, 125.04, 125.79, 120.23, 126.80, 139.19, 141.54, 135.61, 128.00, 20.67, 20.03。

杂质 A: IR (cm⁻¹): 3 051.9, 2 941.3, 2 907.4, 2 831.56, 2 784.2, 2 751.1, 1 577.9, 1 468.9, 1 395.3, 1 375.3, 1 232.3, 763.5, 730.5。ESI-MS m/z : 298.1。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.26 (d, 8H), 9.44 (s, 1H), 7.09 (m, 2H), 6.92 (t, 1H), 6.20 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.31 (m, 3H), 2.30 (s, 6H)。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 48.06, 43.30,

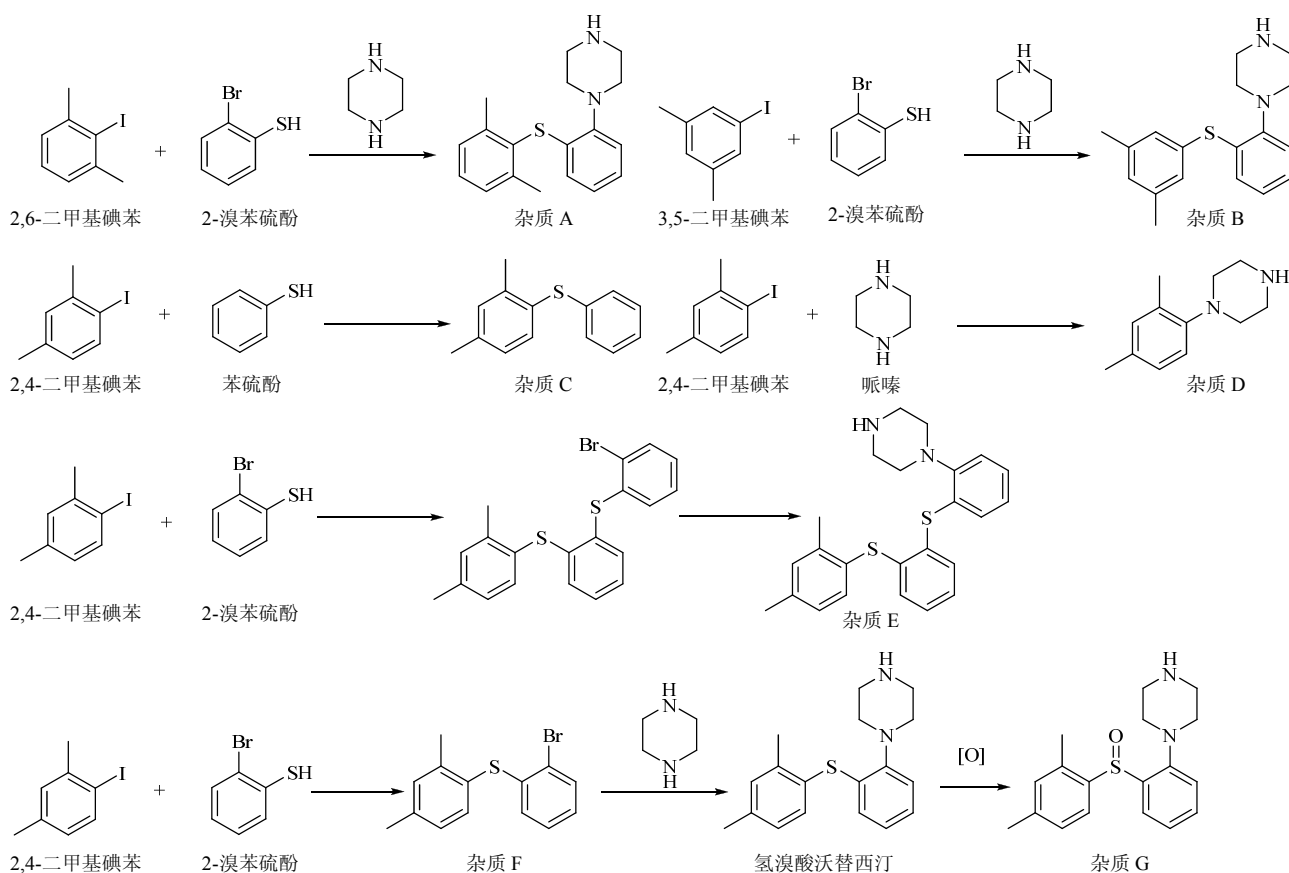


图1 氢溴酸沃替西汀及其有关物质的来源

Fig. 1 Source of vertisidine hydrobromide and its related substance

147.68, 132.95, 125.48, 123.65, 125.15, 120.23, 129.60, 143.41, 128.64, 129.26, 128.64, 21.23。

杂质B: ESI-MS m/z : 298.1。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.17 (d, 8H), 9.34 (s, 1H), 7.18 (m, 2H), 7.04 (dt, 1H), 6.20 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.08 (d, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 48.04, 43.11, 148.59, 132.98, 126.84, 124.95, 128.39, 120.31, 129.92, 130.72, 138.92, 131.86, 130.72, 20.65。

杂质F: ESI-MS m/z : 406.1。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.21 (d, 8H), 8.81 (s, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.68 (d, 1H), 6.63 (d, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.08 (d, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.18 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 48.12, 43.45, 148.56, 127.40, 125.12, 126.57, 126.35, 131.84, 129.04, 141.38, 129.71, 120.54, 127.00, 135.24, 126.79, 139.48, 131.66, 142.51, 135.38,

128.11, 20.66, 19.85。

杂质G: IR (cm^{-1}): 3 272.5, 2 946.5, 2 894.3, 1 600.3, 1 586.7, 1 586.7, 1 470.7, 1 048.3, 1 231.0, 766.2。 ESI-MS m/z : 314.1。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.22 (s, 2H), 2.96 (s, 2H), 9.24 (br-s, 1H), 2.70 (s, 2H), 3.09 (s, 2H), 7.39 (d, 1H), 7.16 (d, 2H), 7.30 (d, 1H), 7.53 (m, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.09 (d, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.26 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 53.70, 45.43, 151.31, 131.17, 125.47, 140.66, 125.24, 122.30, 126.05, 140.02, 132.02, 141.44, 136.25, 127.41, 21.09, 18.95。

2.4 系统适用性试验

氢溴酸沃替西汀样品溶液质量浓度为 0.4 mg/mL, 配制样品的溶媒为起始比例的流动相, 系统适用性溶液为含 1% 混合杂质 (杂质 A、B、C、D、E、F、G、起始原料 2,4-二甲基碘苯和 2-溴苯硫酚) 的氢溴酸沃替西汀溶液。

取流动相、溶媒及系统适用性溶液各 10 μL ，注入液相色谱仪，记录色谱图。流动相、溶媒色谱图中的背景峰保留时间小于 3 min，不干扰氢溴酸沃替西汀及其杂质的测定。系统适用性溶液色谱图见图 2，从图中可以看出，出峰顺序依次为杂质 G、杂质 D、杂质 A、氢溴酸沃替西汀、杂质 B、2-溴苯硫酚、杂质 E、2,4-二甲基碘苯、杂质 C、杂质 F，其中相邻最近的氢溴酸沃替西汀与杂质 B 的分离度大于 1.5，符合《中国药典》2015 年版的要求^[12]，分离良好。结果表明，在选定的液相色谱条件下，流动相峰、溶媒峰不干扰主成分测定，氢溴酸沃替西汀峰、7 个杂质峰、2 个起始原料峰均有明确归属，相互之间分离度良好，所有色谱峰的 USP 理论塔板数均大于 19 000，对称因子在 1.01~1.70，见图 2。

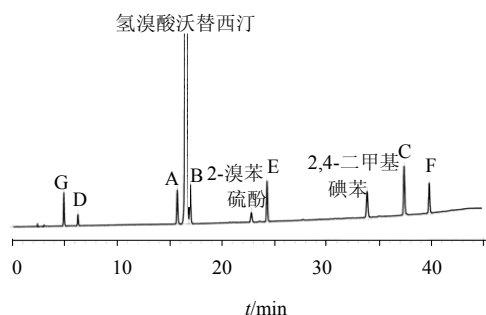


图 2 系统适用性试验色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of system suitability solution

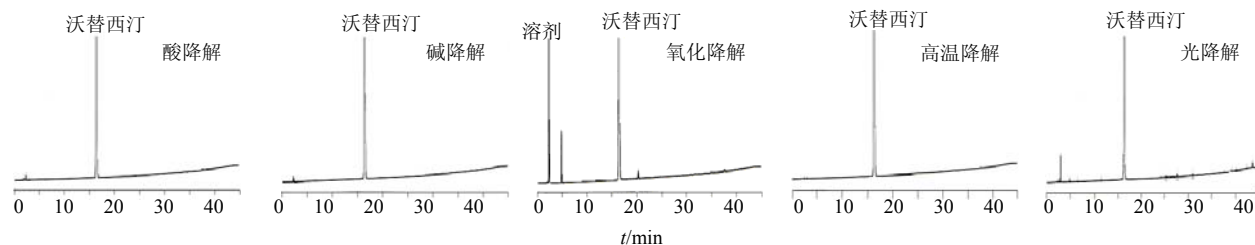


图 3 降解试验色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of degradation

0.08、0.02、0.01 $\mu\text{g/mL}$ 系列溶液，考察信噪比为 10 时的浓度为定量限。氢溴酸沃替西汀、杂质 A、B、C、E、F、G 的定量限浓度均为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ，杂质 D 的定量限浓度为 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，起始原料 2,4-二甲基碘苯、2-溴苯硫酚的定量限浓度分别为 0.02、0.25 $\mu\text{g/mL}$ 。杂质定量限浓度的样品连续进样 6 次，RSD 值在 10% 以内；信噪比为 3 时的浓度为最小检出限。氢溴酸沃替西汀、杂质 A、B、C、E、F、G

2.5 专属性试验

(1) 酸降解和碱降解：分别称取氢溴酸沃替西汀 10 mg 置 25 mL 量瓶中，分别加入 2 mL 1 mol/L HCl 和 2 mL 1 mol/L NaOH，置 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加热 8 h，取出放至室温，用流动相稀释至刻度。(2) 氧化降解：称取氢溴酸沃替西汀 10 mg 置 25 mL 量瓶中，加入 0.5 mL 30% H_2O_2 ，置 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加热 20 min。(3) 固态高温降解：称取氢溴酸沃替西汀置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 8 h，取出放冷，加入流动相溶解，配制样品溶液浓度为 0.4 mg/mL。(4) 白光光照和紫外光照降解：分别称取 10 mg 氢溴酸沃替西汀置 25 mL 透明量瓶中，分别置 (4 500 $\pm$ 500) lx 光照灯箱和 25 W 紫外灯箱中强光照射 48 h，取出，加入流动相溶解，配制样品溶液浓度 0.4 mg/mL。不同降解条件均需同法配制不含主成分的空白对照溶液，以扣除背景干扰。强制降解溶液在二极管阵列检测器条件下，主峰及杂质峰纯度较好。见图 3。

2.6 线性关系考察

分别取氢溴酸沃替西汀和杂质 A、B、C、D、E、F、G、2,4-二甲基碘苯、2-溴苯硫酚各 10 mg，加流动相溶解配制混合溶液，质量浓度为 0.4 mg/mL。依次稀释成质量浓度分别为 8、4、2、1、0.5、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 溶液，依次注入液相色谱仪，记录色谱图，见表 1。

2.7 定量限和检出限

以 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 溶液为贮备液，分别稀释至 0.1、

的定量限浓度均为 0.02 $\mu\text{g/mL}$ ，杂质 D 的定量限浓度为 0.08 $\mu\text{g/mL}$ ，起始原料 2,4-二甲基碘苯、2-溴苯硫酚的定量限浓度分别为 0.01、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.8 溶液稳定性

氢溴酸沃替西汀原料药样品溶液、系统适用性溶液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下分别放置 1、2、4、8、24、48、93 h 测定各成分峰面积，各成分峰面积 RSD 值均在 1.0% 以内，符合规定，表明氢溴酸沃替西汀原料药

表 1 氢溴酸沃替西汀及其有关物质的线性关系

Table 1 Linearities of vertisidine hydrobromide and its related substance

化合物名称	线性方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
氢溴酸沃替西汀	$Y=18\,244X-390.4$	1.000 0	0.20~8.00
杂质 A	$Y=19\,553X-488.3$	0.999 9	0.20~8.08
杂质 B	$Y=23\,774X-182.2$	1.000 0	0.21~8.20
杂质 C	$Y=31\,204X-5\,622.5$	0.999 8	0.26~8.44
杂质 D	$Y=4\,905X-223.2$	0.999 9	0.81~8.12
杂质 E	$Y=23\,541X-902.5$	0.999 9	0.20~8.09
杂质 F	$Y=22\,920X-2\,067.7$	0.999 4	0.21~8.41
杂质 G	$Y=13\,786X-42.6$	1.000 0	0.20~8.12
2,4-二甲基碘苯	$Y=215.9X+1.53$	0.999 6	0.02~1.00
2-溴苯硫酚	$Y=25\,405X-5\,229.3$	0.999 9	0.25~10.2

样品溶液和系统适用性溶液 4 ℃放置 93 h 内稳定。

2.9 精密度试验

分别取氢溴酸沃替西汀原料药和氢溴酸沃替西汀片剂（产品批号 2017071101、2017071102、2017071103、2017071104）样品适量，平行配制 6 份供试品溶液，浓度为 0.4 mg/mL，进样 10 μL ，测定主成分和杂质峰面积，结果主峰峰面积 RSD 值分别为原料药 0、0.02%、0.01%、0.01%、0.02%，原料药样品溶液中未检出杂质，片剂样品中仅检出杂质 G，杂质 G 的峰面积 RSD 值分别为 0.54%、0.28%、0.38%、0.44%，均符合要求，表明该法精密度良好。

2.10 回收率试验

氢溴酸沃替西汀的主要降解杂质为杂质 G，称取氢溴酸沃替西汀原料 10 mg 9 份分别置 10 mL 量瓶中，配制杂质 G 贮备液 200 $\mu\text{g/mL}$ ，移取杂质 G 贮备液 20、200、300 μL 各 3 份分别加入氢溴酸沃替西汀原料中，加流动相溶解并稀释至刻度。可分别配制 0.4、4、6 $\mu\text{g/mL}$ 3 个浓度的样品溶液各 3 份，进行测定，计算回收率。结果显示杂质 G 的平均回收率为 100.4%，RSD 值为 1.06%。

2.11 耐用性试验

HPLC 系统参数变化包括流动相比比例 $\pm 5\%$ ；体积流量 $\pm 0.1\text{ mL/min}$ ；柱温 $\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ ；三氟乙酸比例 $\pm 2\%$ 。考察 HPLC 系统参数微调对氢溴酸沃替西汀及系统适用性溶液中各杂质与氢溴酸沃替西汀的相对保留时间和分离度的变化。结果各杂质对氢溴酸沃替西汀的相对保留时间的 RSD 值均小于 10%，分离度均大于 1.5，氢溴酸沃替西汀样品溶液和氢溴酸沃替西汀片剂样品溶液中杂质的 RSD 值均小于 10%，

符合规定，表明系统参数耐用性良好。

2.12 样品测定

氢溴酸沃替西汀溶液：称取氢溴酸沃替西汀 10 mg 置 25 mL 量瓶，加流动相溶解并稀释至刻度。

氢溴酸沃替西汀片溶液：取 20 片研细，称取适量片粉（相当于氢溴酸沃替西汀 4 mg）置 10 mL 量瓶中，加适量流动相超声溶解，放冷至室温，加流动相至刻度，摇匀，离心，取上清液进样。

供试品溶液的色谱图中如有与杂质 G 保留时间相同的杂质，按外标法以峰面积计算不得超过 0.1%，其他单一杂质峰面积不得大于 1%沃替西汀峰峰面积的 0.1 倍（0.1%），各杂质峰面积的和不得大于 1%沃替西汀峰峰面积的 0.5 倍（0.5%）。小于 1%沃替西汀峰峰面积的 0.05 倍（0.05%）的杂质峰可忽略不计。已知杂质中仅有杂质 G 检出，其他均为未知杂质。见表 2。

表 2 样品溶液中有关物质的测定结果

Table 2 Quantitative detection of related substance in sample solution

样品名称	产品批号	质量分数/%			
		主成分	杂质 G	其他	总杂质
氢溴酸沃替西汀原料	161024	100.00	0	0	0
氢溴酸沃替西汀片	161028	100.00	0	0	0
氢溴酸沃替西汀片	17031201	99.99	0.01	0	0.01
氢溴酸沃替西汀片	17031202	99.99	0.01	0	0.01
氢溴酸沃替西汀片	17031203	100.00	0	0	0.00
氢溴酸沃替西汀片	17031204	99.99	0.01	0	0.01

3 讨论

在 HPLC 法建立的过程中,按照专利报道的方法^[8],沃替西汀的峰拖尾严重,对称因子较大,考察在流动相中添加甲醇,如将乙腈全部更换为甲醇,不能将所有杂质都分开,而且梯度过程中柱压较大,故流动相中的乙腈需要保留,通过优化甲醇和乙腈的比例,使各个杂质均能分开且得到较好的沃替西汀的峰形。方法开发过程中,还考察了流动相中三氟乙酸的比例范围 0.03%~0.1%,发现三氟乙酸对于改善峰形具有重要作用,最优选的比例为流动相 A 为 0.05%。色谱柱选择方面,对比了 Waters、Agilent 和 Phenomenon 的 ODS-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),试验结果都可重现。

本文采用 HPLC 法分离了氢溴酸沃替西汀的相关杂质,并通过质谱、核磁共振、红外光谱对其进行了结构确证,简明阐述了各个杂质的降解途径和分子结构。按照 ICH 指导原则和中国药典分析方法验证指导原则对 HPLC 杂质检测方法进行了方法学验证,其专属性、线性、定量限、检出限、方法精密度、回收率、溶液稳定性、耐用性均符合规定。该法为氢溴酸沃替西汀有关物质检测和质量标准的建立提供了重要依据。

参考文献

- [1] Rajan K R, Devi P S, Vineela P, *et al.* A brief summary on vortioxetine [J]. *World J Pharm Res*, 2014, 6(3): 914-918.
- [2] Westrich L, Haddjeri N, Dkhissi-Benyahya O, *et al.* Involvement of 5-HT₇ receptors in vortioxetine's modulation of circadian rhythms and episodic memory in rodents [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 89: 382-390.
- [3] Alvarez E, Perez V, Artigas F. Pharmacology and clinical potential of vortioxetine in the treatment of major depressive disorder [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2014, 10: 1297-1307.
- [4] Baldwin D S, Hanumanthaiah V B. Vortioxetine in the treatment of major depressive disorder [J]. *Future Neurol*, 2015, 10(2): 79-89.
- [5] Connolly K R, Thase M E. Vortioxetine: a new treatment for major depressive disorder [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2016, 17(3): 421-431.
- [6] Kall M A, Rohde M, Jorgensen M. Quantitative determination of the antidepressant vortioxetine and its major human metabolite in plasma [J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(22): 2881-2894.
- [7] Gu E M, Huang C, Liang B, *et al.* An UPLC-MS/MS method for the quantitation of vortioxetine in rat plasma: application to a pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 997(4): 70-74.
- [8] Liu L, Cao N, Ma X, *et al.* Stability-indicating reversed-phase HPLC method development and characterization of impurities in vortioxetine utilizing LC-MS, IR and NMR [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 117: 325-332.
- [9] Christensen L L. Process for the manufacture of 1-[2-(2,4-dimethyl-phenylsulfanyl)-phenyl]-piperazine [P]. WO: 2013102573A1, 2015-09-15.
- [10] Jayachandra S, Jebaraj R, Chandupatla S, *et al.* Processes for the preparation of vortioxetine hydrobromide [P]. WO: 2016125191A2, 2017-10-25.
- [11] Klvana R, Radl S, Richter J. Method of preparing vortioxetine [P]. WO: 2016004908A1, 2016-01-14.
- [12] 中国药典 [S]. 四部. 2015: 374-378.