

## 氢溴酸沃替西汀油水分配系数研究及其片剂的一致性评价

房思萌, 苏慕君, 曲绪楷, 臧可昕\*

天津药物研究院有限公司, 天津 300193

**摘要:** 目的 测定氢溴酸沃替西汀油水分配系数并对其片剂进行一致性评价。方法 模拟体内环境配制不同 pH 的缓冲液(或水溶液), 以正辛醇-缓冲液(或水溶液)为分散系统, 摇瓶法作为测定方法, 采用高效液相色谱法进行测定。通过氢溴酸沃替西汀分配平衡后在油相(正辛醇)和水相的浓度比, 计算氢溴酸沃替西汀的油水分配系数, 并对比测定氢溴酸沃替西汀片剂(自制片、原研片)中氢溴酸沃替西汀的油水分配系数。结果 在正辛醇-缓冲液(或水溶液)体系中, pH=1.0 时氢溴酸沃替西汀的油水分配系数为 2.20; pH=4.5 时为 2.18; pH=6.8 时为 0.823; 在水中时为 0.657。结论 采用摇瓶-高效液相色谱法能够准确测定氢溴酸沃替西汀的油水分配系数, 为预测体内吸收过程提供依据。并且氢溴酸沃替西汀自制片和原研片中氢溴酸沃替西汀油水分配系数结果一致。

**关键词:** 氢溴酸沃替西汀; 油水分配系数; 高效液相色谱法; 一致性评价

**中图分类号:** R943 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2016)01-0034-04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.01.005

## Determination of oil-water partition coefficient of Vortioxetine hydrobromide and consistency evaluation of its tablets

FANG Si-meng, SU Mu-jun, QU Xu-kai, ZANG Ke-xin

Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To determine the oil-water partition coefficient of Vortioxetine hydrobromide. **Methods** A shake flask-HPLC method was applied to determining the oil-water partition coefficient of Vortioxetine hydrobromide in *n*-octanol-buffer (aqueous solution) systems with different pH values. **Results** The  $LgP$  of Vortioxetine hydrobromide under pH 1.0 was 2.20, under pH 4.5 was 2.18, under pH 6.8 was 0.823, and under neutral water was 0.657. **Conclusion** The shake flask-HPLC method can be used to determine the oil-water partition coefficient of Vortioxetine hydrobromide, and help to predict the *in vivo* process. The  $LgP$  of Vortioxetine hydrobromide self-prepared tablets and Brintellix was consistency.

**Key words:** Vortioxetine hydrobromide; oil-water partition coefficient; HPLC; consistency evaluation

氢溴酸沃替西汀(Vortioxetine hydrobromide, Brintellix)是2013年9月30日美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗重度抑郁症成人患者的新药,制剂为普通速释片剂,可供使用的规格有5、10、15、20 mg,可解决重度抑郁症患者的不同需求。氢溴酸沃替西汀是5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>7</sub>、5-HT<sub>1D</sub>受体拮抗剂、5-HT<sub>1B</sub>受体部分激动剂、5-HT<sub>1A</sub>受体激动剂、5-HT转运体抑制剂,通过调节5-HT起到抗抑郁作用<sup>[1]</sup>。油水分配系数是用于表示化合物亲脂性和透过生物膜能力的重要参数,正辛醇-缓冲液分配系数在预测药物定量结构-吸收上具有重要意义。作为新型抗抑郁药,测定该药的油水分配系数

对其体外溶出行为和体内吸收过程有重要意义。目前国内外尚无氢溴酸沃替西汀油水分配系数测定方法的文献和专利。

本文参考相关文献<sup>[2-5]</sup>,以正辛醇-缓冲液(或水溶液)作为分散系统,采用摇瓶-高效液相色谱法测定了氢溴酸沃替西汀的油水分配系数。根据人体胃肠道不同部位体液pH环境的不同,研究了氢溴酸沃替西汀在不同pH值缓冲体系中的油水分配系数。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Waters e2695-2998 高效液相色谱仪,配备Empower 色谱工作站;XW-80A 型旋涡混合器(上

收稿日期: 2015-08-16

作者简介: 房思萌(1987—),女,吉林长春人,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

海沪西分析仪器厂); TGL-16C 离心机(上海安亭科学仪器厂); pHs-25 型酸度计(上海伟业仪器厂)。

## 1.2 试药

氢溴酸沃替西汀(天津药物研究院有限公司提供,批号 VTXT141024); 氢溴酸沃替西汀自制片剂(规格: 5、10、15、20 mg, 天津药物研究院有限公司提供); 氢溴酸沃替西汀原研片剂 Brintellix(规格: 5、10、15、20 mg, H.LUNDBECK A/S 公司); 盐酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠、无水醋酸钠、正辛醇(天津市光复精细化工研究所,分析纯); 水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

pH 1.0 的盐酸溶液: 取适量浓盐酸加水稀释至 pH 为  $1.0 \pm 0.05$ , 经测定 pH 为 1.02。pH 4.5 的醋酸盐缓冲液: 取醋酸钠适量, 加水溶解, 用冰醋酸调节 pH 至  $4.5 \pm 0.05$ , 经测定 pH 为 4.47。pH 6.8 的磷酸盐缓冲液: 取适量磷酸二氢钾, 加水溶解, 用氢氧化钠饱和溶液调节 pH 至  $6.8 \pm 0.05$ , 经测定 pH 为 6.80。分别将不同 pH 值缓冲液、水与正辛醇互相饱和, 备用。

氢溴酸沃替西汀正辛醇贮备液: 分别精密称取氢溴酸沃替西汀 10 mg 置 25 mL 量瓶中, 分别加入上述的水相饱和的正辛醇溶解并定容至刻度, 得质量浓度为 0.4 mg/mL 氢溴酸沃替西汀正辛醇溶液。

氢溴酸沃替西汀甲醇贮备液: 精密称取氢溴酸沃替西汀 10 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度。

氢溴酸沃替西汀片剂贮备液: 精密称取氢溴酸沃替西汀片剂研细粉适量(相当于主药氢溴酸沃替西汀 10 mg)置 25 mL 量瓶中, 加水相饱和的正辛醇适量, 超声 10 min, 放冷定容至刻度, 离心取上清液备用。

### 2.2 最大吸收波长的确定

精密移取 5 mL 氢溴酸沃替西汀甲醇贮备液, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 在 200~400 nm 波长进行扫描, 在 226~254 nm 处吸收峰平缓, 选择苯环特征检测波长 254 nm 作为高效液相色谱法检测波长。

### 2.3 色谱条件

Waters SymmetryC<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以水-三氟乙酸混合溶液(1 000:0.5)为流动相 A, 甲醇-乙腈-水-三氟乙酸混合溶液(600:

350:50:0.35)为流动相 B, 流动相 A 与流动相 B 比例为 45:55, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温 40 °C。

### 2.4 标准曲线的绘制

精密量取氢溴酸沃替西汀甲醇贮备液, 用甲醇稀释配制成质量浓度为 0.40、2.00、10.00、20.00、40.00、100.0 μg/mL 的系列标准溶液, 按上述色谱条件测定, 以质量浓度对峰面积进行线性回归, 氢溴酸沃替西汀的线性回归方程为:  $Y = 18\,153X + 3\,424.3$ ,  $r = 0.999\,8$ , 线性关系良好。

### 2.5 涡旋时间和平衡时间考察

取 0.4 mg/mL 氢溴酸沃替西汀贮备液 3 mL, 加入 pH 4.5 醋酸盐缓冲液 3 mL, 分别涡旋 5、10、20 min, 平行 3 份, 放入气浴恒温振荡器中,  $37 \pm 2$  °C 下振摇 72 h, 11 000 r/min 离心 7 min。取下层水相溶液, 进样 10 μL, 注入液相, 记录峰面积, 按标准曲线方程计算氢溴酸沃替西汀在水相中的浓度( $C_w$ ), 油相浓度( $C_o$ ) = 初始浓度( $C$ ) -  $C_w$ ; 油水分配系数( $P$ ) =  $C_o/C_w$ 。结果见表 1。

表 1 涡旋时间对油水分配的影响

Table 1 Effect of swirl time on oil-water partition

| 涡旋时间/min | $C_w/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $C_o/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $P(C_o/C_w)$ | $\lg P$ |
|----------|--|--|--------------|---------|
| 0        | 0                                      | 404.0                                  | —            | —       |
| 5        | 2.263                                  | 401.7                                  | 177.5        | 2.25    |
| 10       | 2.667                                  | 401.3                                  | 150.5        | 2.18    |
| 20       | 2.499                                  | 401.5                                  | 160.7        | 2.21    |

取 0.4 mg/mL 氢溴酸沃替西汀贮备液 3 mL, 加入 pH 4.5 醋酸盐缓冲液 3 mL, 涡旋 10 min, 放入气浴恒温振荡器中,  $37 \pm 2$  °C 下分别振摇 24、48、72 h, 平行 3 份, 11 000 r/min 离心 7 min。测定下层水相浓度, 计算油水分配系数, 结果见表 2。根据实验结果, 涡旋时间选择 10 min, 在恒温振荡器中平衡时间为 72 h。

表 2 平衡时间对油水分配的影响

Table 2 Effect of equilibration time on oil-water partition

| 平衡时间/h | $C_w/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $C_o/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $P(C_o/C_w)$ | $\lg P$ |
|--------|--|--|--------------|---------|
| 0      | 0.000                                  | 404.0                                  | —            | —       |
| 24     | 1.491                                  | 402.5                                  | 270.0        | 2.43    |
| 48     | 2.255                                  | 401.7                                  | 178.2        | 2.25    |
| 72     | 2.667                                  | 401.3                                  | 150.5        | 2.18    |

## 2.6 表观油水分配系数的测定

取 0.4 mg/mL 氢溴酸沃替西汀正辛醇贮备液 3 mL, 分别加入水、0.1 mol/L 盐酸和 pH 4.5 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 的磷酸盐缓冲液各 3 mL, 平行 3 份, 涡旋 10 min, 放入气浴恒温振荡器中, 37±2 °C 下振摇 72 h, 11 000 r/min 离心 7 min。取下层水相溶液, 进样 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 按标准曲线方程计算氢溴酸沃替西汀的油水分配系数, 结果见表 3。结果表明, 37 °C 下, 氢溴酸沃替西汀在上述水相中的表观油水分配系数从大到小顺序为: 0.1 mol/L 盐酸 > pH 4.5 醋酸盐缓冲液 > pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 > 水。

表 3 氢溴酸沃替西汀在不同水相-正辛醇体系中的油水分配系数

Table 3 The oil-water partition coefficient of Vortioxetine hydrobromide in *n*-octanol-buffer (aqueous solution) systems with different pH values.

| 水相             | $C_W/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $C_O/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $P(C_O/C_W)$ | LgP  |
|----------------|--|--|--------------|------|
| 水              | 72.86                                  | 331.1                                  | 4.544        | 0.66 |
| 0.1 mol/L 盐酸   | 2.506                                  | 401.5                                  | 160.2        | 2.20 |
| pH 4.5 醋酸盐缓冲液  | 2.667                                  | 401.3                                  | 150.5        | 2.18 |
| pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 | 52.84                                  | 351.2                                  | 6.645        | 0.82 |

## 2.7 缓冲盐浓度对油水分配的影响

配制浓度分别为 0.01、0.05、0.20 mol/L 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 不同浓度磷酸盐缓冲液与正辛醇相互饱和, 备用。取 0.4 mg/mL 氢溴酸沃替西汀正辛醇贮备液 3 mL, 分别加入不同浓度的磷酸盐缓冲液 3 mL, 平行 3 份, 涡旋 10 min, 11 000 r/min 离心 7 min, 取下层水相测定, 计算结果见表 4。由结果可知, 在相同 pH 不同浓度的磷酸盐缓冲液-正辛醇系统中, 氢溴酸沃替西汀的油水分配系数值不同, 磷酸盐浓度越大, 油水分配系数越小。

表 4 不同浓度磷酸盐对油水分配系数的影响

Table 4 Effect of phosphate buffer concentration on oil-water partition

| 浓度/(mol·L <sup>-1</sup> ) | $C_W/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $C_O/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $P(C_O/C_W)$ | LgP  |
|---------------------------|--|--|--------------|------|
| 0.01                      | 12.33                                  | 391.7                                  | 31.7         | 1.50 |
| 0.05                      | 30.70                                  | 373.3                                  | 12.2         | 1.09 |
| 0.20                      | 52.84                                  | 351.2                                  | 6.65         | 0.82 |

## 2.8 自制片与原研片中氢溴酸沃替西汀油水分配系数的一致性评价

氢溴酸沃替西汀自制片剂和原研片剂的处方

类一致, 为检测自制片与原研片中氢溴酸沃替西汀油水分配系数一致性, 设计如下试验, 对比测定自制片与原研片在不同水相中的油水分配系数, 结果见表 5。结果表明, 自制片与原研片在不同水相中的油水分配系数一致, 可推测自制片与原研片中氢溴酸沃替西汀的油水分配系数一致。

表 5 自制片与原研片中氢溴酸沃替西汀油水分配系数  
Table 5 The LgP of Vortioxetine hydrobromide self-prepared tablets and Brintellix

| 样品           | LgP  |              |               |                |
|--------------|------|--------------|---------------|----------------|
|              | 水    | 0.1 mol/L 盐酸 | pH 4.5 醋酸盐缓冲液 | pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 |
| 自制片 5 mg 规格  | 0.24 | 2.13         | 2.04          | 0.31           |
| 原研片 5 mg 规格  | 0.29 | 2.10         | 2.05          | 0.40           |
| 自制片 10 mg 规格 | 0.25 | 2.11         | 2.04          | 0.32           |
| 原研片 10 mg 规格 | 0.28 | 2.11         | 2.04          | 0.39           |
| 自制片 15 mg 规格 | 0.25 | 2.12         | 2.05          | 0.31           |
| 原研片 15 mg 规格 | 0.28 | 2.11         | 2.03          | 0.40           |
| 自制片 20 mg 规格 | 0.26 | 2.11         | 2.09          | 0.34           |
| 原研片 20 mg 规格 | 0.28 | 2.11         | 2.10          | 0.38           |

## 3 讨论

药物的脂溶性是影响生物膜吸收的重要因素, 被广泛用于评价药物的吸收、通透性、分布容积、血浆蛋白结合、代谢和毒性<sup>[6]</sup>。油水分配系数的测定方法有摇瓶法、产生柱法和反相高效液相色谱法。产生柱法测定步骤较多, 达平衡时间过长, 而反相高效液相色谱法测定快速, 对化合物纯度要求不高, 可是要求参考物的油水分配系数测定值准确, 每次改变流动相组成时, 流动相冲洗整个体系直至色谱柱达到平衡, 消耗时间过长, 故而选用经典的摇瓶法来测定油水分配系数, 该法操作简便, 结果准确<sup>[7]</sup>。

测定药物的油/水相分配系数时, 可选择油、水相互溶解度比较小的有机溶剂, 在处方设计中多选择正辛醇, 其溶解度参数与生物膜的整体溶解度参数很接近, 正辛醇是常用于求分配系数时模拟生物膜的溶剂<sup>[8]</sup>, 但试验中发现超声功率较大时, 易使水饱和的正辛醇产生乳状液, 故应避免此现象影响分离测定的准确性。

油水分配系数的测定受盐离子浓度、pH 值、平衡时间、温度等因素影响, 不同条件下测定的油水分配系数值不同, 由此可以推测, 油水分配系数的测定在特定的条件下才有意义。体内胃肠道 pH 值在 1.2~6.8<sup>[9]</sup>, 本文选择了 pH 为 1.0 的盐酸溶液、

pH4.5 醋酸盐缓冲液、pH6.8 的磷酸盐缓冲液和水四种系统, 氢溴酸沃替西汀在水相 pH=1.0 时,  $\lg P$  为 2.20; pH=4.5 时,  $\lg P$  为 2.18; pH=6.8 时,  $\lg P$  为 0.823; 水中  $\lg P$  为 0.657, 均表现为亲油性, 根据 pH 分配理论, 药物吸收取决于解离状态及油水分配系数, 一定范围内, 油水分配系数越大吸收越好, 由此推测氢溴酸沃替西汀在胃内可能具有良好的吸收性和组织分布。

由于无法获得原研片的原料, 故通过测定自制片剂不同规格中氢溴酸沃替西汀与原研片剂进行对比, 可推测自制片与原研片中氢溴酸沃替西汀在不同正辛醇-缓冲液(水溶液)系统中的油水分配系数数值一致, 并为体外溶出一致性评价研究提供了理论和试验依据。

#### 参考文献

- [1] 任世言, 孙 钊, 张春华. 沃替西汀的合成 [J]. 药学研究, 2014, 33(4): 241-243.
- [2] 何艺兵, 赵元慧, 王连生, 等. 有机化合物正辛醇/水分配系数的测定 [J]. 环境化学, 1994, 13(3): 195-197.
- [3] 高丽萍, 蔡金花, 何辉辉, 等. HPLC 法测定川芎嗪的平衡溶解度和表观油水分配系数 [J]. 海峡药学, 2013, 25(6): 24-26.
- [4] 蔡文娟, 王伯涛, 王济奎, 等. HPLC 法测定维 A 酸的平衡溶解度及表观油水分配系数 [J]. 药品检验, 2012, 10(2): 99-101.
- [5] 史小玉, 张广彬, 魏赛丽, 等. HPLC-荧光法测定土大黄苷平衡溶解度和油水分配系数 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2013, 34(5): 682-685.
- [6] 米 楠, 苏慕君, 臧可昕. 阿齐沙坦油水分配系数的测定 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(6): 452-454.
- [7] 陆 彬. 药物新剂型和新技术 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 384.
- [8] 郭波红, 程 怡, 林绿萍. 等. 甘草次酸平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(3): 221-223.
- [9] 崔福德. 药剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社. 2011: 314.
- [10] Dressman J B, Amidon G L, Reppas C, *et al.* Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms [J]. *Pharm Res*, 1998, 15(1): 11-22.