

【 评价方法学 】

阿托伐他汀钙的溶解度测定及差异分析

李 杨

河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450008

摘要: **目的** 比较阿托伐他汀钙原料的国内仿制品与进口产品在溶解度方面的区别, 并分析其原因。 **方法** 以进口阿托伐他汀钙为原料, 通过国内的重结晶的方法, 重新制备了两种晶型的阿托伐他汀钙, 测定其不同 pH 溶剂中的溶解度, 并与进口产品、国产产品进行比较。通过 X 衍射实验和热重分析实验对这四种阿托伐他汀钙进行了固相表征。 **结果** 结果表明进口阿托伐他汀钙所含有的一分子结晶水, 是其晶型略不同于国产原料的原因, 也是其溶解度良好的原因。 **结论** 国内的重结晶工艺是造成国产阿托伐他汀钙在溶解度方面有别于进口产品的主要因素。

关键词: 阿托伐他汀钙; 溶解度; 晶型

中图分类号: R927.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2018)02-0239-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.02.012

Determination and Difference Analysis of Solubility of Atorvastatin Calcium

LI Yang

Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450008, China

Abstract: Objective To find the differences of the solubilities of atorvastatin calcium between the imported and the domestic, and analyse the reason. **Methods** In this paper, two kinds of different crystalline of atorvastatin calcium were prepared from imported atorvastatin calcium by domestic recrystallization. The solubilities of the above mentioned products were measured with different pH values, and to compare their solubilities with the imported and the domestic. These four kinds of atorvastatin calcium were further characterized by powder X-ray diffractometry and thermogravimetric analysis. **Results** The results show that the imported contained one isolated site water in its crystal lattice and this was why it had stronger solubility and different crystal form from the domestic. **Conclusion** This study proved that the recrystallization was a major cause for the different solubility between the domestic and the imported.

Key words: atorvastatin calcium; solubility; crystal form

阿托伐他汀钙 (atorvastatin calcium), 商品名为立普妥 (Lipitor), 是目前最为常用的一种调血脂药物, 属于 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的选择性和竞争性抑制剂, 主要通过抑制肝脏内的还原酶和胆固醇的合成降低血液中胆固醇和脂蛋白水平^[1]。其化学名为: 7-[2-(4-氟苯基)-3-苯基-4-(苯胺基甲酰基)-5-(2-丙基)吡咯-1-基]-3,5-二羟基庚酸钙。其结构式见图 1。

该药物晶型种类较为复杂, 到目前为止, 学术界发现其存在的晶型多达 70 多种^[2], 其中既有晶格中分子排列发生改变而产生的真正的多晶型, 也有因为水分子或者其他溶剂分子进入晶格内部而产生

的假多晶型^[3]。该药的原研企业——美国 HR 公司生产的原料药均为 I 晶型, 也是目前公认的药用最佳晶型, 而无定形阿托伐他汀钙虽然吸收较好^[4], 但由于暴露在空气中容易氧化, 不适合大生产中的过滤和干燥环节, 因此生产制剂时首选 I 晶型。晶型不同, 物质的溶解度与溶解速率就会不同, 进而将会影响到药物的制剂工艺、生物利用度以及安全性。本研究发现国产阿托伐他汀钙原料在不同 pH 溶液中的溶解度与 HR 公司产品存在差别, 因此决定从晶型的角度切入, 通过 X 射线粉末衍射 (XRD) 以及热分析方法, 探讨其原因。由于国产原料药在工艺的最后一步为重结晶, 而重结晶是影响晶型的

收稿日期: 2017-07-03

第一作者: 李 杨 (1983—), 男, 博士, 主管药师, 从事药品质量控制与手性药物拆分。E-mail: lyang611@163.com

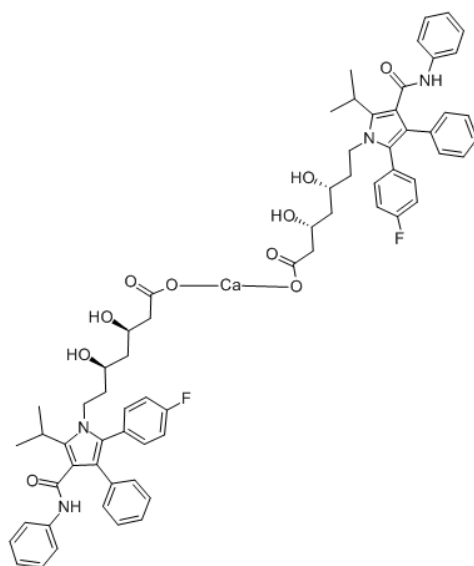


图 1 阿托伐他汀钙

Fig. 1 Aatorvastain calcium

重要步骤,因此,本实验又模拟重结晶工序对 HR 公司的阿托伐他汀钙进行了重结晶,与重结晶前的原料进行了对比,以期为国产药仿制质量的提高提供一定的理论帮助。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)、TGA500 型热重分析仪(美国 Waters 公司)、XRD7000 型 X 射线粉末衍射仪(日本岛津公司)。两个厂家的阿托伐他汀钙原料(美国 HR 公司,含量 99.9%,批号 GTC-03-0133,该原料以下简称 HR;中国 TF 公司,含量 99.8%,批号 160705,该原料以下简称 TF);阿托伐他汀钙对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100590-201303);盐酸、醋酸钠、冰醋酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠、枸橼酸(分析纯,均来自天津市化学试剂三厂);四氢呋喃、乙腈(色谱纯,均来自美国默克公司)。

1.2 重结晶

由于阿托伐他汀钙原料药的晶型控制属于 HR 公司的保密范畴,因此国产原料(TF 公司)对粗品提纯的重结晶方法,属于我国自行设计的,为了考察重结晶方法对晶型的影响,本文仿照国内重结晶的程序:取阿托伐他汀钙原料 HR 适量,溶于 20 mL 甲醇中,搅拌使溶解,然后加入 40 mL 的纯化水,边加边搅拌,并升温至 55℃,继续搅拌 1 h,立即冷却,析晶,即得重结晶样品 CJ1。其后为了考察

甲醇与水的比例对晶型的影响,按照上法同法操作,只是将甲醇与纯化水的用量均调整为 30 mL,得重结晶样品 CJ2。

1.3 多种 pH 溶液的配制

pH1.0:量取盐酸 9.0 mL,用水稀释至 1 000 mL,摇匀,即得。

pH4.5:取醋酸钠 2.99 g,加冰醋酸 1.68 g(或 1.60 mL),用水溶解并稀释至 1 000 mL,即得。

pH5.0:取醋酸钠 4.34 g,加冰醋酸 1.09 g(或 1.04 mL),用水溶解并稀释至 1 000 mL,摇匀,用 2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 5.0,即得。

pH6.0:取磷酸二氢钾 6.8 g,氢氧化钠 0.224 g,用水溶解并稀释至 1 000 mL,摇匀,即得。

pH6.8:取磷酸二氢钾 6.8 g,氢氧化钠 0.896 g,用水溶解并稀释至 1 000 mL,摇匀,即得。

pH8.0:取磷酸二氢钾 6.8 g,氢氧化钠 1.844 g,用水溶解并稀释至 1 000 mL,摇匀,即得。

水(pH6.0):纯化水脱气,即得。

1.4 溶解度的测定

1.4.1 色谱条件 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-四氢呋喃-0.05 mol/L 枸橼酸溶液(用氨水调节 pH 值至 4.0)(30:20:50);体积流量 1 mL/min;检测波长 244 nm;柱温 25℃。

1.4.2 标准曲线的制备 精密称取阿托伐他汀钙对照品 100 mg,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并

稀释至刻度, 得到 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。采用逐级稀释法配置成不同浓度的对照品溶液, 按照“1.4.1”项下色谱条件测定。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程。

1.4.3 阿托伐他汀钙溶解度的考察 在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 的情况下, 取上述 pH 值的溶液各约 3 mL, 分别置于试管中。取 HR 分别加入上述试管中, 同时超声振荡使溶解, 直至无法溶解形成沉淀后, 停止加入, 放置 24 h, 即得 HR 在各种 pH 值下的饱和溶液。TF、CJ1、CJ2 同法操作, 即得各自的饱和溶液。取上述饱和溶液, 过滤, 续滤液照“1.4.1”项下色谱条件测定, 得峰面积, 代入“1.4.2”项下的回归方程, 得到准确浓度, 进而计算溶解度。

1.5 热重分析实验

氮气体积流量 40 mL/min, 升温速率 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, 控温范围 25~850 $^{\circ}\text{C}$ 。分别对 HR、TF 以及重结晶的产品 CJ1 和 CJ2 进行测试。

1.6 X 射线粉末衍射实验

考虑到国产原料 (TF 公司) 与进口原料 (HR 公司) 在溶解度方面的差异, 本文对上述两种原料及 HR 公司原料的重结晶产品 CJ1 和 CJ2 进行了 X 射线粉末衍射分析, 实验条件如下: 射线源为 Cu K α 辐射石墨单色器, 扫描范围 3 $^{\circ}$ ~45 $^{\circ}$ (2θ), 步长为 0.02 $^{\circ}$, 速率为 3 $^{\circ}/\text{min}$, 电源设置为 40 kV, 40 mA。

2 结果

2.1 溶解度测定结果

按照“1.4.1”项下的方法计算回归方程为 $Y=38.444X-35.048$ ($r=0.9997$), 线性范围 0~936 $\mu\text{g/mL}$ 。

溶解度的结果见表 1 和图 2。在模拟胃液的 pH1.0 的溶液中, TF、重结晶产品 CJ1 的溶解度要远小于 HR。随着 pH 值的逐渐增大, 国产药物与进口药物的溶解度差距逐渐减小, 当 pH 值达到 6.0 时 (模拟肠液), 双方的溶解度才基本相当。而 CJ2 的溶解度则与 HR 公司的十分相似。

2.2 热重分析结果

热重分析曲线见图 3。测试后发现, TF 与 CJ1 的热重曲线一致, 从热分析的角度也佐证了本文仿照国内重结晶工艺的路线是成功的。HR 有 3 个明显的失水台阶, 从 55 $^{\circ}\text{C}$ 到 78 $^{\circ}\text{C}$ 失水 1.29%; 从 103 $^{\circ}\text{C}$ 到 118 $^{\circ}\text{C}$ 失水 1.17%; 从 130 $^{\circ}\text{C}$ 到 141 $^{\circ}\text{C}$ 失水 1.32%; 总失水量为 3.78%。TF 的第一个失水台阶与前者相

表 1 阿托伐他汀钙在不同溶液中的平衡溶解度

Table 1 Equilibrium solubility of atorvastatin calcium in different solutions

pH 值	平衡溶解度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
	HR 公司	TF 公司	CJ1	CJ2
1.0	14.43	0.26	0.14	2.39
4.5	44.18	17.30	15.31	55.04
5.0	94.73	33.71	38.06	130.94
6.0	148.25	123.08	131.80	151.62
6.8	219.12	250.80	262.34	224.69
8.0	404.49	546.69	496.30	401.49
水	138.69	118.81	138.21	151.05

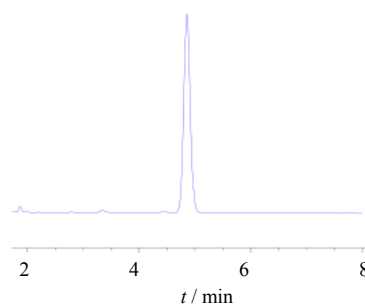
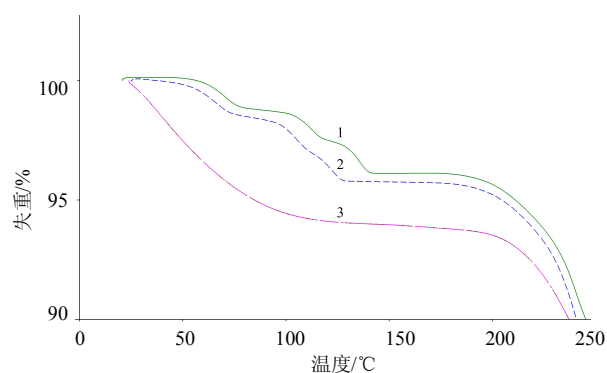


图 2 典型色谱图

Fig. 2 Typical chromatogram



1-HR; 2-TF 和 CJ1; 3-CJ2

图 3 阿托伐他汀钙热重分析

Fig. 3 Thermogravimetric analysis of atorvastatin calcium

似, 但其后的失水过程不似前者有明显的台阶 (前者的二、三台阶在 TF 中合为了一个台阶), 且开始失水时的温度也均有降低: 从 55 $^{\circ}\text{C}$ 到 72 $^{\circ}\text{C}$ 失水 1.30%; 从 93 $^{\circ}\text{C}$ 到 128 $^{\circ}\text{C}$ 失水 2.67%; 总失水量为 3.97%。而重结晶产物 CJ2 只有一个失水台阶, 从开始升温到 125 $^{\circ}\text{C}$ 总失水量为 5.51%。

2.3 X 射线粉末衍射实验结果

该实验结果见图 4。HR 公司的原料严格符合阿

托伐他汀钙 I 晶型的专利^[5]；TF 公司的原料与 CJ1 的晶型完全相同，也再次证明了本研究仿照国内的重结晶工艺是成功的。但 TF 与 HR 晶型略有不同，主要表现为前者在 22° (2θ) 附近是没有锐峰的，而 HR 公司的原料在 22° (2θ) 有明显的锐峰存在；重结晶产品 CJ2 的衍射图则证明其晶型为无定型结构。

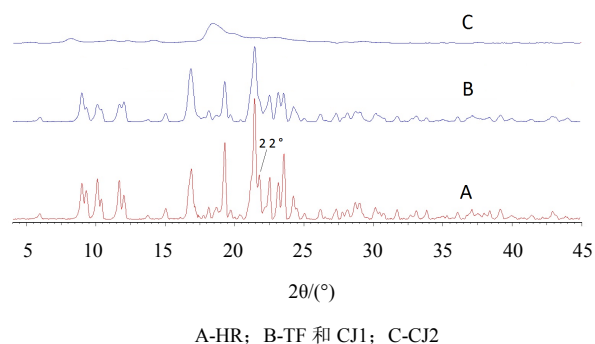


图 4 阿托伐他汀钙 X 射线粉末衍射结果

Fig. 4 Powder X-ray diffraction pattern of atorvastatin calcium

3 讨论

经过热重分析和 X 衍射实验可知，HR 公司的产品经过国内重结晶方法处理后的产物 CJ1，晶型变得和国内产品（TF 公司）一模一样，可见进口原料与国产原料的主要差别就在于重结晶这道工艺。由溶解度实验可知，CJ2 虽然溶解度与 HR 公司的原料极为相似，但通过 X 衍射实验证明其晶型是由于易氧化不适合大生产的无定形，因此暂不考虑其意义。在模拟胃液的 pH1.0 的溶液中，TF 公司的原料、重结晶产品 CJ1 的溶解度要远小于 HR 公司的产品，在模拟胃液中的溶解度小则在某种意义上意味着在胃部的吸收少，因此，这应是国产阿托伐他汀钙在疗效上逊于 HR 公司的一个重要原因，二者只有在 pH 值达到 6.0 时（模拟肠液）溶解度才大体相同。由于 HR 公司的产品为 I 晶型，既含有通道水，又含有结合水，其热重实验的失水过程见图 3 的曲线 1：前两个失水台阶为通道水，第三个失水台阶为结合水^[6]。通道水的存在不影响晶型，但结合水参与了晶型的构建，因此结合水的有无决定了晶型的异同。而热重曲线图中的 1 与 2 最明显得区

别就是 1 中的第三个失水台阶在 2 中几乎不存在。因此，可以判断，HR 公司的原料药与国产原料以及重结晶产品 CJ1 的区别就在于前者有参与构建晶型的结合水存在，晶型因此是有差别的。这点，在本文的 X 衍射图中可以得到佐证：A (HR)、B (CJ1 和 TF) 两图大体相同，但 22° (2θ) 处锐峰的有无决定了二者晶型仍有不同，这种不同应是结合水造成的，有结晶水的在 22° (2θ) 处有锐峰，是典型的 I 晶型（HR 公司），反之，则不是（CJ1 和 TF 公司）。

由本文研究可知，国产重结晶的方法对于阿托伐他汀钙的晶型形成至关重要。甲醇-水的比例影响很大，稍作变动即在晶型方面展示出极大的不同（CJ1 与 CJ2 的 X 衍射图差别极大），因此，对于提高国内阿托伐他汀钙的疗效来说，应将一分子结合水的有无作为衡量标准，在重结晶工艺上面深入研究。

参考文献

- [1] 姜远英. 临床药物治疗学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 220, 245.
- [2] Hu L N, Zhang Y, Gu J, et al. Determination of the content of impurity D in atorvastatin calcium with the correction factor [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2015, 32(12): 1476.
- [3] Yong S, Joachim U. New crystalline solvates of atorvastatin calcium [J]. Chem Eng Technol, 2010, 33(5), 839.
- [4] Kim M S, Jin S J, Kim J S, et al. Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 69(2): 454.
- [5] Briggs C, Harasawa K, Ichikawa S, et al. Crystalline [R-(R*,R*)]-2-(4-difluorophenyl)- β , α -dihydro-xy-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-[(phenylamino)carbonyl]-1H-pyrrole-1-heptanoic acid hemi calcium salt (Atorvastatin): US, 00-5969156 [P]. 1999-10-19.
- [6] 王悦伟, 张天巍, 柳泉, 等. 阿托伐他汀钙 I 和 II 晶型的制备和表征 [J]. 化学工业与工程, 2016, 33(4): 28.