

氢溴酸沃替西汀片溶出度测定方法学研究

华东东, 米楠, 臧可昕, 阎卉, 房思萌*

天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 目的 建立氢溴酸沃替西汀片的体外溶出度测定方法, 分析体外释放行为。方法 建立高效液相色谱法测定氢溴酸沃替西汀片溶出度的方法, 并考察方法的专属性、线性、精密度、准确性及滤膜干扰。Waters Symmetry C₁₈ 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℃。结果 在上述色谱条件下, 氢溴酸沃替西汀与其同分异构体分离良好。试验专属性、线性、精密度、准确性良好, 所使用滤膜对结果测定无干扰。结论 该方法准确、可靠、耐用性好, 可为氢溴酸沃替西汀片的质量控制提供参考依据。

关键词: 氢溴酸沃替西汀片; 溶出度; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 11-2011-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.11.014

Study on dissolution determination of Vortioxetine Hydrobromide Tablets

HUA Dongdong, MI Nan, ZANG Kexin, YAN Hui, FANG Simeng

Tianjin Pharmaceutical Research Institute Co., LTD, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To establish a method for determining the dissolution of Vortioxetine hydrobromide tablets and analyze the dissolution behavior *in vitro*. **Methods** To establish HPLC determination method for the dissolution of Vortioxetine hydrobromide tablets and verify the specificity, linearity, precision, accuracy, membrane filter interference. Chromatographic separation was achieved on an Octa Decyl Silyl column (Waters Symmetry® C₁₈, 150 mm × 4.6 mm ID, 5 μm particle); Mobile phase A: water - trifluoroacetic acid (1 000 : 0.5), mobile phase B: methyl alcohol - acetonitrile - water - trifluoroacetic acid (600:350:50:0.35). The flow rate was 1.0 mL / min and the detection wavelength was 254 nm, column temperature was 40℃. **Results** Under the chromatographic conditions, the resolution of Vortioxetine hydrobromide and structural isomer was great, the specificity, linearity, precision, accuracy of the method was good, the membrane filter didn't affect the results. **Conclusion** The method is accurate, reliable and durable, and can be used in the quality control of Vortioxetine hydrobromide tablets.

Key words: Vortioxetine Hydrobromide Tablets; dissolution; HPLC

氢溴酸沃替西汀 (Vortioxetine hydrobromide, 商品名 Trintellix) 是由 Lundbeck 和 Takeda 制药公司联合研发的强效五羟色胺再摄取抑制剂, 主要用于成人抑郁症 (MDD) 的治疗。2013 年 9 月 30 日美国食品药品监督管理局 (FDA) 正式批准该药上市。目前的临床研究证实它在抑郁症治疗上具有良好的有效性、安全性和耐受性^[1-2]。氢溴酸沃替西汀可抑制五羟色胺再摄取, 具有 5-HT_{1A} 受体激动剂、5-HT_{1B} 受体部分激动剂及 5-HT₃、5-HT₇、5-HT_{1D} 受体拮抗剂的作用。沃替西汀作用的多样性使其在几

个系统中的神经传递产生调节作用, 是目前第一个具备如此多种药效活性的抗抑郁药物。氢溴酸沃替西汀制剂为普通速释片剂, 可供使用的规格有 5、10、15、20 mg, 用作解决重度抑郁症患者的不同需求^[3]。

现行的各国药典均未收载氢溴酸沃替西汀原料及制剂的质量标准。目前国内外尚无氢溴酸沃替西汀片溶出度测定方法的相关文献和专利, 通过查阅参考原研公司 Trintellix 上市说明书、FDA 新药申请及氢溴酸沃替西汀化合物专利等^[4], 本文采用

收稿日期: 2018-06-22

第一作者: 华东东 (1990—), 男, 内蒙古人, 硕士, 从事药品工艺研究和质量控制工作。Tel: (022) 23006839 E-mail: huadd@tjpr.com

*通信作者: 房思萌, 助理研究员。Tel: (022) 23006839 E-mail: fangsm@tjpr.com

高效液相色谱法建立了测定氢溴酸沃替西汀片溶出度的方法,并进行了方法学验证,对3批自制片及1批原研片进行了溶出度测定。该研究为氢溴酸沃替西汀溶出度一致性评价研究奠定了基础,为其片剂的质量控制提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters e2695-2998 高效液相色谱仪配备 PDA 检测器,Empower 色谱工作站,超声波清洗仪(宁波新芝生物科技股份有限公司,SB-5200D),ZRS-8G 天大天发智能溶出仪(天津市天大天发有限公司)。

氢溴酸沃替西汀对照品(天津药物研究院提供,批号 VTXT14050601);氢溴酸沃替西汀同分异构体杂质:杂质 D 对照品、杂质 M 对照品(天津药物研究院提供);氢溴酸沃替西汀自制片剂(规格 5mg,批号:15042701-5、15042702-5、15042703-5,天津药物研究院提供);甲醇、乙腈、三氟乙酸均为色谱纯;盐酸(天津市光复精细化工研究所,分析纯);溶出介质用水为蒸馏水,HPLC 用水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

溶媒(甲醇-水-三氟乙酸=60:40:0.05):取甲醇 600 mL,屈臣氏蒸馏水 400 mL,三氟乙酸 0.5 mL,混匀备用。

溶出介质(0.1 mol/L 盐酸溶液):取盐酸 9.0 mL,加水适量使成 1 L,摇匀。

氢溴酸沃替西汀对照溶液:取氢溴酸沃替西汀对照品 17.65 mg,置 50 mL 量瓶中,加溶媒适量,超声 10 min 使溶解,放至室温,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,作为氢溴酸沃替西汀对照贮备液。准确移取对照贮备液 1.0 mL,置 50 mL 量瓶中,加溶出介质稀释至刻度,摇匀,作为 5 mg 规格片剂对照溶液。

混合辅料:取处方比例混合辅料 15.8 mg,至

100 mL 量瓶中,加溶出介质至刻度,超声 10 min,离心取上清液。

杂质 D(沃替西汀同分异构体):精密称取沃替西汀同分异构体杂质 D 对照品 10 mg 置 25 mL 量瓶中,加溶媒适量,超声使溶解,放置室温,加溶媒稀释至刻度,摇匀,为沃替西汀同分异构体杂质 D 对照品贮备液。

杂质 M(沃替西汀同分异构体):精密称取沃替西汀同分异构体杂质 M 对照品 10 mg 置 25 mL 量瓶中,加溶媒适量,超声使溶解,放置室温,加溶媒稀释至刻度,摇匀,为沃替西汀同分异构体杂质 M 对照品贮备液。

系统适用性溶液(沃+D+M):分别准确移取氢溴酸沃替西汀对照品贮备液 1.0 mL、杂质 D 贮备液 1.0 mL、杂质 M 贮备液 1.0 mL 置同一 10 mL 量瓶中,加溶媒稀释至刻度,摇匀,作为系统适用性溶液。

2.2 HPLC 色谱条件

Waters Symmetry C₁₈ 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℃。

2.3 专属性

分别取流动相、溶媒、溶出介质、混合辅料、氢溴酸沃替西汀对照溶液、杂质 D、杂质 M 及系统适用性溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,结果见表 1。

结果表明流动相、溶媒、溶出介质、混合辅料不干扰主成分氢溴酸沃替西汀的测定,在该色谱条件下,系统适用性溶液中的杂质 D 和杂质 M 能够与主成分达到有效分离。

表 1 氢溴酸沃替西汀片溶出度测定方法学专属性结果

Table 1 Specificity results of Vortioxetine hydrobromide tablets resolution method

项目	杂质 D/min	氢溴酸沃替西汀/min	杂质 M/min
流动相	—	—	—
溶媒	—	—	—
溶出介质 0.1mol/L 盐酸	—	—	—
混合辅料	—	—	—
氢溴酸沃替西汀对照品	—	12.6	—
杂质 D	11.0	—	—
杂质 M	—	—	13.4
系统适用性溶液	10.9	12.6	13.3

2.4 线性和范围

分别精密移取氢溴酸沃替西汀对照贮备液 1.5、1.0、0.5、0.2、0.1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加溶出介质溶解依次稀释成氢溴酸沃替西汀浓度为 11.77、7.06、3.53、1.412、0.706 $\mu\text{g/mL}$ 系列溶液, 依次注入液相色谱仪, 记录色谱图。以对照品的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 相应峰面积为纵坐标进行线性回归。回归方程为: $Y=18\,907X+1\,291.9$, $r=0.999\,8$ 。结果表明在 0.706~11.77 $\mu\text{g/mL}$, 氢溴酸沃替西汀浓度与峰面积线性关系良好。

2.5 精密性

照“2.1”项下方法, 配制 7.06 $\mu\text{g/mL}$ 的氢溴酸沃替西汀对照溶液, 平行测定 6 次, 测定峰面积的 RSD 为 0.62% ($n=6$), 表明仪器的精密性良好。

2.6 准确性

精密称取氢溴酸沃替西汀对照品适量, 置量瓶中, 按处方量加入混合辅料, 分别用溶出介质溶解, 稀释, 配制成浓度为 8.472、7.06、4.236 $\mu\text{g/mL}$ 的样品, 每个浓度平行操作 3 份, 过滤, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算回收率, 结果表明平均回收率为 99.58%, RSD 为 0.81% ($n=9$)。

2.7 滤膜干扰

取 3 片 5 mg 规格氢溴酸沃替西汀片, 照氢溴酸沃替西汀溶出度方法进行试验, 于 30 min 时, 分别取两份 6 mL 溶出液, 一份离心取上清液, 另一份经 0.45 μm 尼龙有机膜过滤, 分别取初滤液 2 mL、续滤液 2~4 mL、续滤液 4~6 mL、续滤液 6~8 mL 进行测定, 记录峰面积。结果表明离心方法和初滤液 2 mL、续滤液 2~4 mL、续滤液 4~6 mL、续滤液 6~8 mL 计算得到的溶出度在 92%~94%, 结果无明显差别, 证明试验所用滤膜无干扰。

2.8 溶液稳定性

照“2.1”项下方法, 配制浓度为 7.06 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 贮存于 10℃ 条件中, 分别于 0、0.5、1、2、5、30 h 进样测定, 记录色谱图。其峰面积 RSD 为 1.00% ($n=6$), 表明对照品溶液至少在 30 h 内稳定。

2.9 耐用性

HPLC 系统参数变化包括流动相比比例 $\pm 2\%$, 体积流量 $\pm 0.1\text{ mL/min}$, 柱温 $\pm 2^\circ\text{C}$, 检测波长 $\pm 2\text{ nm}$, 三氟乙酸 $\pm 20\%$ 。考察 HPLC 系统参数微调对系统适用性溶液中氢溴酸沃替西汀与其同分异构体的分离度及氢溴酸沃替西汀含量测定结果的影响。结果表明各微调条件下分离度符合要求, 氢溴酸沃替西汀含量测定结果的 RSD 值均小于 1.0%, 符合规定, 表明系统参数耐用性良好。

2.10 溶出度的测定

2.10.1 溶出度方法 取本品, 照溶出度测定法(《中国药典》2015 年版四部 0931 溶出度第二法^[5])测定, 以 0.1 mol/L 盐酸 900 mL 为溶出介质, 转速为 50 r/min, 依法操作, 经 15 min 取样液滤过, 取续滤液作为供试品溶液。对照溶液照“2.1”项下方法配制。照“2.2”所述色谱条件测定, 记录色谱图, 按氢溴酸沃替西汀峰面积计算每片的溶出量, 限度为标示量的 85%, 应符合规定。

2.10.2 溶出度测定 分别取 5 mg 规格自制制剂(批号为 15042701-5、15042702-5、15042703-5)及同规格原研制剂 Brintellix(2016 年 5 月原研公司将其更名为 Trintellix)6 片(批号 B20037), 按 2.8.1 项下的方法测定, 溶出度结果见表 2, 结果表明, 3 批自制制剂与原研制剂 15 min 取样, 溶出度均在 85% 以上, 符合规定。

3 讨论

参照普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则^[6], 溶出度测定方法选用中国药典(2015 年版四部)0931 溶出度第二法(桨法)。转速为 50 r/min, 15 min 取样时, 溶出度可达 90%, 故确定转速为 50 r/min。为建立氢溴酸沃替西汀溶出度方法, 参照氢溴酸沃替西汀油水分配系数^[7]的研究, 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, 氢溴酸沃替西汀作为新型抗抑郁药, 测定该药的油水分配系数对研究其体外溶出行为和体内吸收过程有重要意义, 根据研究结果氢溴酸沃

表 2 3 批自制制剂与 1 批原研制剂溶出度结果

Table 2 The resolution results of 3 batches generic drug and 1 batch innovator drug

批号	溶出度/%						均值/%	RSD/%
15042701-5	94	96	97	93	93	92	94	2.22
15042702-5	93	92	95	89	94	92	93	2.32
15042703-5	95	96	95	94	92	95	95	1.55
B20037	95	94	97	93	92	94	94	1.83

替西汀在4种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 > pH4.5 醋酸盐缓冲液 > pH6.8 的磷酸盐缓冲液 > 水, 另外根据氢溴酸沃替西汀药物代谢研究资料, 本品为胃溶速释制剂, 故氢溴酸沃替西汀溶出度方法中的溶出介质选择 0.1 mol/L 盐酸。按溶出度检查的一般要求, 溶出度介质的体积为 500~1 000 mL, 根据氢溴酸沃替西汀的溶解度及漏槽条件, 溶出介质的体积选用了 900 mL。

本文使用 HPLC 法对氢溴酸沃替西汀片进行溶出度测定, 并按照《中国药典》2015 年版四部 9101 药品质量标准分析方法验证指导原则^[8]对溶出度方法进行系统的方法学验证, 结果表明该法具有良好的重复性、高度的准确性。本文建立的 HPLC 法对氢溴酸沃替西汀片溶出度进行直接测定, 可在同一色谱条件下与含量同时进行测定, 准确简单, 省时省力。该研究为进一步研究氢溴酸沃替西汀溶出度一致性奠定了基础。

参考文献

- [1] GIBB A, DEEKS E D. Vortioxetine: first global approval [J]. *Drugs*, 2014, 74(1): 135-145.
- [2] 范宁, 杨甫德. 抗抑郁新药沃替西汀 [J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(16): 1847-1850.
- [3] Citrome L. Vortioxetine for major depressive disorder: a systematic review of the efficacy and safety profile for this newly approved antidepressant-what is the number needed to treat, number needed to harm and likelihood to be helped or harmed? [J]. *Int J Clin Pract*, 2014, 68(1): 60-82.
- [4] Lasse C K. A process for the manufacture of 1-[2-(2,4-dimethyl-phenylsulfanyl) - phenyl] - piperazine and pharmaceutically acceptable salts is disclosed that involves reacting compounds of formula II, III, IV under Pd catalysis and in presence of phosphine ligands to give Compound I [P]. WO 2013/102573 A1, 2013-07-11.
- [5] 中国药典 [S]. 四部. 2015: 通则 0931.
- [6] 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则 [S]. 2016.
- [7] 房思萌, 苏慕君, 曲绪楷, 等. 氢溴酸沃替西汀油水分配系数测定及其片剂的一致性评价 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(1): 34-37.
- [8] 中国药典 [S]. 四部. 2015: 通则 9101.