

М. А. Галкина, О. М. Галкин, К. А. Кочетков

**КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ
ВЕНЛАФАКСИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ КАЧЕСТВА**

Институт элементоорганических соединений имени А. Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

Изучена кристаллизация фармацевтической субстанции венлафаксина. Чистота перекристаллизованного продукта установлена методами элементного анализа, ДСК, ВЭЖХ, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Ключевые слова: венлафаксин, кристаллизация фармацевтической субстанции, дифференциальная сканирующая калориметрия, ВЭЖХ, ИК-, ЯМР-спектроскопия.

Изучению качества кристаллических субстанций в настоящее время уделяется большое внимание [1 – 3]. Лекарственное вещество — венлафаксин гидрохлорид (I) (Venlafaxine Hydrochloride), $[(\pm)N,N\text{-диметил-N-[2-(4-оксифенил)-2-циклогексил]этиламин гидрохлорид, } C_{17}H_{27}NO_2 \cdot HCl]$ — антидепрессант нового поколения [4], сильный ингибитор обратного нейтрального захвата серотонина и норадреналина, слабый ингибитор обратного захвата дофамина. Венлафаксин, а также его энантиомерные формы, метаболиты, генетические примеси, аналоги, таблетированная форма всесторонне изучены [5 – 17] с точки зрения условий синтеза, кристаллической структуры, полиморфизма, биологической активности, фармацевтического анализа. Вместе с тем в связи с большим количеством полиморфных форм [6 – 8] необходим максимально полный анализ фармацевтической субстанции с привлечением как химических, так и физических методов. Задачей настоящего исследования было изучение ка-

чества кристаллической субстанции и ее повышение путем кристаллизации.

Экспериментальная часть

Аналитический паспорт импортируемой из Китая субстанции характеризует ее чистоту содержанием (I) (99,72 масс.%) и суммарным содержанием примесей ($< 0,2$ масс.%), которое, однако, оказывается сильно заниженным и на практике не воспроизводится. Так, результаты С,Н,N-анализа, полученные для данной субстанции, следующие. Найдено, %: С 63,82; Н 9,13; N 4,23; Cl 11,71. $C_{17}H_{27}NO_2 \cdot HCl$. Вычислено, %: С 65,05; Н 8,99; N 4,44; Cl 11,30. Согласно паспорту половина указанного количества примесей может принадлежать $(\pm)N,N\text{-диметил-N-[2-(4-метоксифенил)-2-циклогексил]этиламину}$ (примесь II). Вместе с тем в паспорте задекларированы и неспецифические примеси ($< 0,01$ масс.%).

С,Н,N-анализ веществ проводили на автоматическом CHN-микроанализаторе “Carlo Erba” EA1108 CHNS-O. Спектр ЯМР 1H регистрировали на приборе “Bruker Avance 300” (300 МГц) в $CDCl_3$ при 30 °С. ИК-спектры сняты на приборе UR-20 в KBr.

Условия анализа субстанции и выделенных продуктов методом ВЭЖХ: колонка SUPELCO SILTM LC-18-S, Cartridge 250 × 4,6 мм, 5 мкм; $CH_3CN:K_2SO_4$ (рН 5,1) = 3:7 (об.%) при расходе 700 мкл/мин, объем пробы 40 мкл; УФ-детектирование ($\lambda = 254$ нм); программное обеспечение МультиХром 1.5 × Server 2003.

Анализ методом дифференциальной сканирующей калориметрии проводили на приборах NETZSCH DSK 204F1 (США) и STA 449C (США), на которых при многократном повторе анализа может быть определена относительная чистота 2 партий веществ до 99,98 масс.% и в то же время возможно определение разницы в содержании примесей до $5 \cdot 10^{-3}$. Условия анализа субстанции следующие: атмосфера азота, Al-тигель, интервал температуры 30 – 350 °С, скорость нагрева 10 К/мин.

Анализ размера кристаллических частиц осуществляли методом микрофотографии. Пробоподготовка для получения микрофотографий проводилась сле-

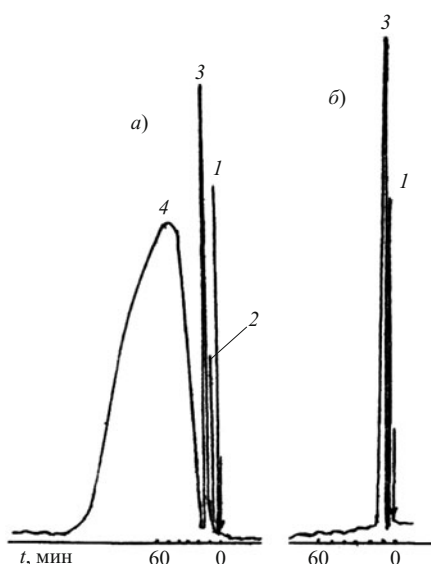


Рис. 1. Хроматограмма субстанции венлафаксина: а) исходного вещества; б) перекристаллизованного вещества, 1 – $C_{17}H_{27}NO_2 \cdot HCl$, 2 – II, 3 – I, 4 – суммарные примеси.

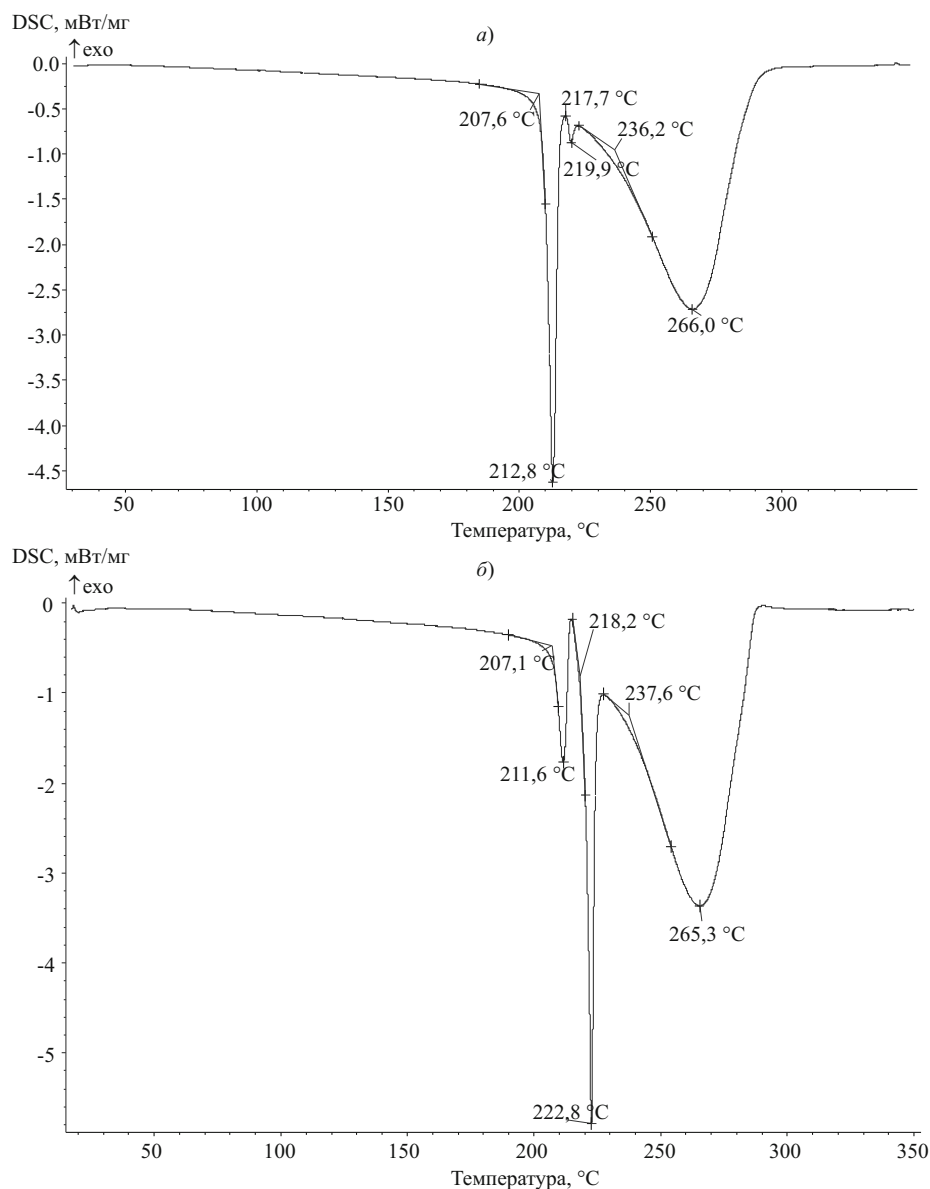


Рис. 2. Кривые ДСК субстанции венлафаксина: а) исходного вещества; б) перекристаллизованного вещества.

дующим образом. Небольшое количество порошка образца помещали в микроцентрифужную пробирку и добавляли к нему 50 мкл воды. Осадок суспендировали внесением пробирки в ультразвуковую ванну (22 кГц, 50 Вт) на 3 – 5 с. Каплю суспензии (10 мкл) наносили на предметное стекло и накрывали покровным стеклом. Полученные образцы фотографировали на микроскопе Leica DMLS с помощью цифровой камеры MDC 560.

Результаты и их обсуждение

В указанных выше условиях хроматографирования субстанции удерживание основного компонента (I) (10 мин), примеси (II) (3,3 мин) воспроизводились с точностью до 1 % (рис. 1, а) и совпадало с удерживанием, указанным в Eur. Ph., monograph 2119. Количественное определение (I) и (II) выполняли методом внутреннего стандарта, в качестве которого использо-

вали 20 мкг/мл раствор $C_6H_{11}CH_2NH_2$ [циклогексилметиламин, d_4^{20} 0,8700] NF Grade в ацетонитриле. Время его удерживания 2,8 мин. Правильность определения веществ подтверждена способом варьирования величины пробы. Метрологические характеристики приведены в таблице. Содержание (I) в субстанции оказалось равным 88,20 масс.%, а (II) — 0,92 масс.%. Относительное стандартное отклонение $S_N \leq 0,05$ ($n = 5$, $P = 0,95$). Другие примеси, присутствующие в субстанции, в условиях хроматографии элюировались широким пиком в интервале удерживания 13 – 53 мин (рис. 1, а). Исходя из площади пика, обусловленного этими примесями, предварительно оценили их суммарное количество, которое составило ~ 11 масс.%.

Для количественного определения этих примесей субстанцию перекристаллизовывали, изменив известную методику [18]. Для этого, оценив растворимость 1 г субстанции в разных растворителях по объему (мл), необходимому для ее растворения в серии проб-

ных кристаллизации, выбрали из них наиболее селективные, а также рациональную схему проведения кристаллизации. Взвешенное количество субстанции последовательно промывали 30 мл петролейного эфира (40 – 70 °С), 30 мл серного эфира, смесью (5:3) четыреххлористого углерода и серного эфира (30 мл) и 30 мл четыреххлористого углерода, получив промывные маточники, определили в них содержание примесей в условиях хроматографии. Суммарное содержание примесей составило 11,78 масс.%. Твердый остаток после промывания высушивали в вакууме с использованием водоструйного насоса и перекристаллизовывали из смеси этилацетата и метанола (4:1). В результате получили чистый продукт (I), содержащий 99,98 масс.% (рис. 1, б). Относительное стандартное отклонение $S_N \leq 0,05$ ($n = 5$, $P = 0,95$).

Как известно, при исследовании таких чистых (≥ 98 масс.%) веществ ценным методом является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) [19]. Сравнивая кривые (рис. 2) исходной (а) и перекристаллизованной (б) субстанции по положению, числу энергетических пиков, их температуре, площади и потери массы образца установлено, что кривые хорошо воспроизводятся на обоих приборах и результаты анализа согласуются с ранее опубликованными для одной из сольватных форм: 4-й [6 – 8]. На кривой ДСК (рис. 2, а) отсутствуют пики плавления и испарения примесей, т.е. все примеси, присутствующие в образцах более тугоплавкие, чем само соединение. Венлафаксин полностью разлагается и испаряется при 241 – 300 °С. Остаток после испарения — примесь в несколько % по массе, которая видна как коричневый осадок в тигле. На кривых ДСК обоих соединений наблюдаются 3 пика — 2 пика плавления кристаллических модификаций (~ 210 и 220 °С) и широкий пик разложения (минимум ~ 267 °С). Соотношение площадей пиков плавления различно, перекристаллизация приводит к явному увеличению количества высокоплавкой модификации.

Анализ размера частиц проведен методом микрофотографии. На рис. 3, б видно, что в результате перекристаллизации исходного соединения образуются четкие чистые моноклинные кристаллы средним размером 233 мкм, в то время как кристаллы исходной субстанции (рис. 3, а) неоднородны и мелкие со средним размером 27,3 мкм. Известно, что, кристаллы с низкой степенью симметрии (моноклинная, триклинная) [20] образуют устойчивые пересыщенные растворы, способность к образованию которых также существенно влияет на чистоту продукта. В этом случае увеличивается степень агрегации кристаллов, т.е. создаются благоприятные условия для захвата кристаллом примесей из маточного раствора [21]. В определенной степени устойчивость пересыщенных растворов снижается при высаливающим действием спирта, который связывает молекулы воды, снижает гидратацию [22] и тем самым ускоряет начало кристаллизации. Действительно, и в нашем случае при перекристаллизации субстанции (моноклинная структура со-

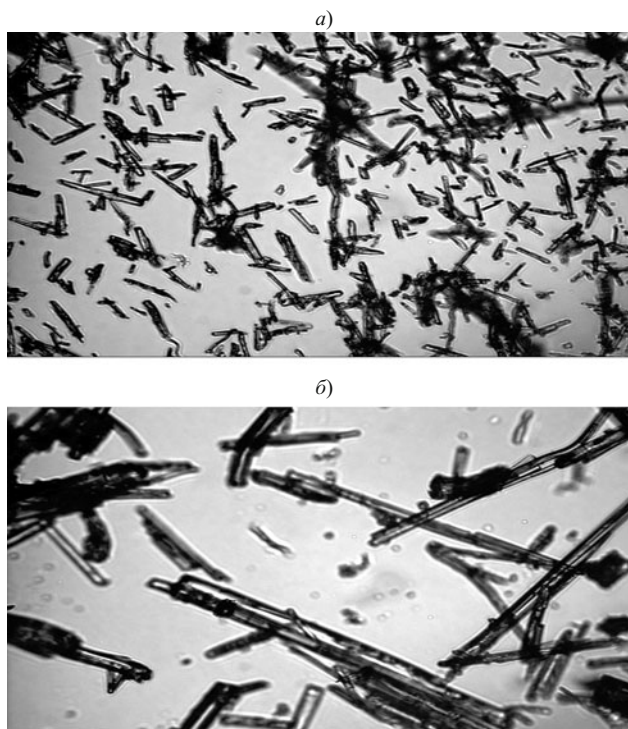


Рис. 3. Микрофотографии субстанции венлафаксина: а) исходного вещества, средний размер частиц, $l_{cp} = 27,3$ мкм; б) перекристаллизованного вещества, средний размер частиц, $l_{cp} = 233$ мкм.

гласно [23]) из смеси этилацетата и метанола образуется чистая сольватная форма (I), тогда как примеси согласно анализу ВЭЖХ остаются в растворе. Кроме того, перекристаллизация без возврата маточного раствора позволяет избежать загрязнения продукта, что и было осуществлено.

Таким образом, при перекристаллизации субстанции (I) из смеси этилацетата и метанола образуется одна из 6 известных форм — чистая сольватная форма 4 [6]. Чистота перекристаллизованной субстанции подтверждена и другими аналитическими методами. Проведено титриметрическое определение хлора [24], причем результаты согласуются с теоретическим содержанием элементов, $S_N \leq 0,05$ ($n = 5$, $P = 0,95$). Результаты элементного С, Н, N, Cl анализа: найдено, %, С 64,95; Н 9,04; N 4,33; Cl 11,35. $C_{17}H_{27}NO_2 \cdot HCl$. Вычислено, %: С 65,05; Н 8,99; N 4,44; Cl 11,30. ПМР спектр, δ , м.д.: 0,93 – 1,74 (м, 10Н, C_6H_{10}), 2,68 (с, 3Н, Me), 2,87 (с, 3Н, Me), 3,22 (шир. с, 1Н, NH), 3,51 (д, 2Н, CH_2), 3,85 (с, 3Н, Me), 4,10 (д, 1Н, CH), 6,92, 7,33

Относительное стандартное отклонение ОФ ВЭЖХ, % ($n = 3$, $P = 0,95$)

Компонент пробы	Предел обнаружения (C_{min}), мг/л	Диапазон определения содержания, мг/л	S_N
$C_6H_{11}CH_2NH_2$	0,01	$1 \cdot 10^{-2} - 3 \cdot 10^2$	0,020
I	0,03	$3 \cdot 10^{-1} - 2 \cdot 10^2$	0,050
II	0,05	$5 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^3$	0,024

(AA'BB', 4H, C₆H₄), 11,66 (с, 1H, OH)]. ИК-спектр, ν_{\max} см⁻¹: 1179 (ОМе), 1247 (N-C), 1514 (C=C(Ar)), 2582(H-Cl), 2936 (C-H(Ar)), 3349 (OH)].

Предложенный метод кристаллизации обеспечивает чистоту субстанции, что, в свою очередь, гарантирует качество лекарственного препарата – антидепрессанта венлафаксина, а также надежность и достоверность используемого метода фармацевтического контроля. Полученный чистый венлафаксин (I) был нами использован для энзиматического расщепления липазами на энантиомеры [25].

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы ОХНМ РАН № 09-ОХНМ “Биоорганическая медицинская химия” и Президиума РАН № П-5 “Фундаментальные науки — медицине”. Авторы выражают благодарность к.х.н. Г. Г. Ивановой (ИНЭОС РАН) за проведение хроматографического анализа, к.х.н. А. Л. Николаеву (МГУ им. М. В. Ломоносова) за анализ размера частиц методом микрофотографии, м.н.с. Харитоновой Е. П. (МГУ им. М. В. Ломоносова) за термический анализ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Н. Гильдеева, В. В. Чистяков, Е. Ю. Демченкова, *Хим.-фарм. журн.*, **44**(1), 43 – 45 (2010).
2. А. К. Мартусевич, О. Б. Жданова, *Фармация*, № 6, 15 – 17 (2006).
3. А. П. Мешковский, *Фарматека*, **1**(37), 17 – 24 (2000).
4. М. Д. Машковский, Н. И. Андреева, А. И. Полетаев, “*Фармакология антидепрессантов*”, Медицина, Москва (1983), сс. 145 – 157.
5. С. V. Kavitha, S. Lakshmi, and Basappa, et al., *J. Chem. Crystallogr.*, **35**(12), 957 – 963 (2005).
6. S. Roy, S. Aitipamula and A. Nangia, *Crystal Growth Design*, **5**(6), 2268 – 2276 (2005).
7. S. Roy, P. M. Bhatt, and A. Nangia, et al., *Crystal Growth Design*, **7**(3), 476 – 480 (2007).
8. J. Th. H van Eupen, W. W. J. Elffrink, R. Keltjeng, et al., *Crystal Growth Design*, **8**(1), 71 – 79 (2008).
9. R. Mandrioli, L. Mercolini, R. Celta, et al., *J. Chromatogr. B.*, **856**, 88 – 94 (2007).
10. W. Liu, Hua-lin Cai and Huan-de Li, *J. Chromatogr. B.*, **850**, 405 – 411 (2007).
11. S. Rudaz, J.-L. Venthey, and C. Desiderio, et al., *J. Chromatogr. B.*, **50**(5 / 6), 369 – 372 (1999).
12. L. Wen, W. Feng and Li Huan-de, *J. Chromatogr. B.*, **850**, 183 – 189 (2007).
13. J. Bhatt, A. Jangid, and G. Venkatesh, et al., *J. Chromatogr. B.*, **829**, 75 – 81 (2005).
14. B. Doherty and F. O' Donnell, *Talanta*, **72**, 755 – 761 (2007).
15. A. De Castro, M. Delm, and F. Fernandes, et al., *J. Chromatogr. A.*, **1160**, 3 – 12 (2007).
16. E. B. Asafu-Adjaye, P. J. Faustino, and M. A. Tawakkul, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **43**, 1854 – 1859 (2007).
17. S. L. Baldania, K. K. Bhatt, S. R. Menta, et al., *Indian J. Pharm. Sci.*, **70**(1), 124 – 128 (2008).
18. Н. Геронис, *Микро- и полумикрометоды органической химии*, ИЛ, Москва (1960), сс. 19 – 48.
19. У. Уэнландт, *Термические методы анализа*, Мир, Москва (1978), сс. 261 – 329.
20. Л. Н. Магусевич, *Кристаллизация из растворов в химической промышленности*, Химия, Москва (1968), с. 29.
21. Г. Л. Никитина, В. Н. Романенко, В. М. Тускевич, *Кристаллизация и фазовые переходы*, Изв. АН БССР, Минск (1962), с. 221 – 223.
22. Е. К. Коровкина, Т. А. Комарова, *Вестн. МГУ, сер. хим.*, **5**, 34 – 36, (1965).
23. Sivalakshmidēvi, K. Vyas, and S. Mahender, et al., *Acta Crystallographica*, E58, 1072 – 1074 (2002).
24. Е. А. Терентьева, М. В. Федорова, Н. Н. Смирнова и др., *Ж. аналит. химии*, **27**, 1598 – 1602 (1972).
25. К. А. Кочетков, М. А. Галкина, О. М. Галкин, *Mendeleev Commun.*, **20** (11), 314 – 315 (2010).

Поступила 26.04.10

CRYSTALLIZATION AND QUALITY EXAMINATION OF PHARMACEUTICAL AGENT VENLAFAXINE

M. A. Galkina, O. M. Galkin, and K. A. Kochetkov*

Nesmeyanov Institute of Organoelemental Compounds, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Crystallization of the pharmaceutical agent venlafaxine has been studied. Purity of the recrystallized product has been established by methods of elemental analysis, differential scanning calorimetry (DSC), HPLC, and IR and NMR spectroscopy.

Key words: Venlafaxine, crystallization of pharmaceutical substance, differential scanning calorimetry, HPLC, IR spectroscopy, NMR spectroscopy