

УДК 615. 322. 074.

## МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРЕПАРАТА ФЛУОКСЕТИНА ГИДОХЛОРИДА В КАПСУЛАХ

© 2004 г. А.И.Тюляев, Н.П.Садчикова, А.П.Зуев

Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова  
ОАО “Химфармкомбинат “Акрихин”

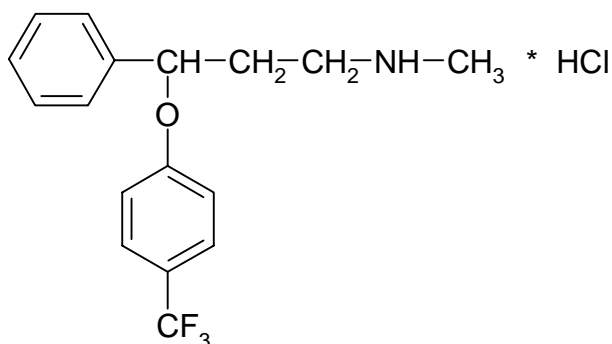
В работе приведены результаты исследований по нормированию качества капсул профлузака по показателям “Посторонние примеси” и “Количественное определение”.

Для оценки качества препарата использованы два хроматографических метода: ТСХ и ВЭЖХ. Содержание посторонних примесей выявляется с помощью метода ТСХ. Суммарное содержание примесей (не более 4-х) ограничено 1 %.

Количественное содержание профлузака предложено определять методом ВЭЖХ.

Апробация методики на опытно-промышленных образцах профлузака позволила получить правильные результаты.

В последние годы во всём мире наблюдается рост депрессивных заболеваний [1]. Одним из эффективных и безопасных антидепрессантов является лекарственное вещество флуоксетина гидрохлорид (ФГХ) [2]: (±)-N-метил-γ-[4-(трифторметил)фенокси]-бензолпропанамина гидрохлорид



На ОАО “Химфармкомбинат “Акрихин” разработана технология получения капсул ФГХ с оригинальным фармацевтическим составом [3], торговое название – профлузак, в дальнейшем – препарат.

Нами проведены исследования по разработке методов контроля качества и стандартизации препарата, в том числе на опытно-промышленных сериях.

При разработке методов контроля и стандартизации учтены современные требования к качеству отечественных препаратов [4], в том числе в лекарственной форме “Капсулы” [5-7].

Для контроля качества профлузака используются следующие показатели: описание, подлинность, определение средней массы содержимого капсул, распадаемость, растворение, посторонние примеси, однородность дозирования, потеря в массе при вы-

сушивании, микробиологическая чистота и количественное определение.

В данной статье представлены материалы по разработке теста “Посторонние примеси” и “Количественное определение”.

Для определения посторонних примесей в капсулах ФГХ применён метод хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ). В качестве сорбента использовали пластинки Кизельгель 60 F<sub>254</sub> фирмы Merck. Для выбора оптимального варианта методики были изучены различные системы растворителей: спирт метиловый – аммиака раствор концентрированный (90:10), спирт этиловый 95 % – кислота уксусная ледяная (5:1); были проверены различные проявители (пары йода, спиртовой раствор нингидрина).

Раствор стандартного образца (СО) флуоксетина гидрохлорида в хлороформе наносили в количестве 200 мкг, 10 мкг, 0,5 мкг.

Установлено, что в парах йода пятна флуоксетина гидрохлорида и возможных примесей обнаруживались на пластине с низкой чувствительностью. Поэтому было целесообразным проявлять пятна опрыскиванием раствором нингидрина в смеси спирт 95 % – кислота уксусная ледяная (5:1) с последующим нагреванием пластинки при температуре от 100 до 105 °С в течение 5 мин.

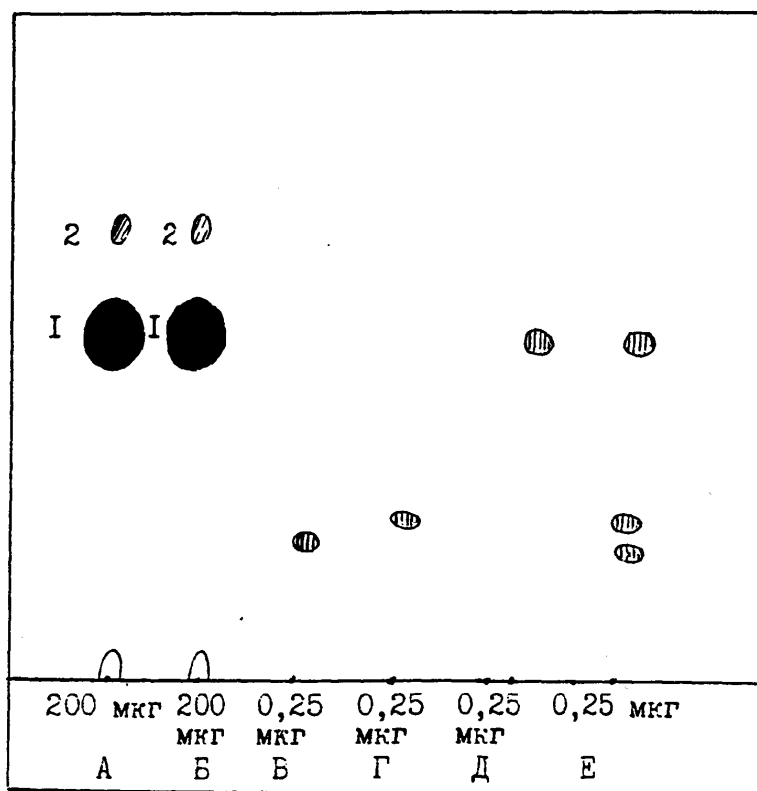
На хроматограммах всех испытуемых образцов препарата, помимо фиолетово-красных на розовом фоне пятен флуоксетина гидрохлорида с R<sub>f</sub> ~ 0,5, светло-розовые пятна примеси с R<sub>f</sub> ~ 0,7, содержащейся в следовых количествах и след от нанесённой пробы раствора препарата в виде едва заметного светло-розового пятна, тянущегося от линии старта с R<sub>f</sub> = 0,04..

Известно, что наиболее вероятными технологическими примесями в субстанции флуоксетина гидрохлорида могут быть следующие вещества:  $\pm$  1-фенил-3-метиламин-1-пропанол – “метаминол” (примесь I); 1-фенил-3-метиламинопропан – “метамин” (примесь II); и 1-фенил-1-[(3-трифторметил)фенокси]-3-метиламинопропан (примесь III), представляющая собой побочный продукт синтеза – изофлуоксетин. При нанесении на пластинку указанных веществ в качестве свидетелей и хроматографировании в вышеописанных условиях мы установили, что примеси I, II и III разделяются в предложенной системе растворителей и обнаруживаются на пластинке в виде тёмно-розовых пятен с  $R_f=0,2$ ,  $R_f=0,3$  и  $R_f=0,5$ , соответственно, с достаточно высокой чувствительностью. Чувствительность обнаружения каждой примеси на пластинках Кизельгель 60 F<sub>254</sub> фирмы Мерк составляет около 0,25 мкг в пробе. Чувствительность обнаружения флуоксетина гидрохлорида также равна 0,25 мкг, что позволяет использовать ФГХ в качестве свидетеля для оценки содержания посторонних примесей. Необходимо

отметить, что примесь III, являющуюся изофлуоксетином, нам не удалось отделить от флуоксетина гидрохлорида при испытании методом ТСХ (эти вещества имеют одинаковые значения  $R_f$ ). Ранее нами установлено, что содержание этой примеси в субстанции и в капсулах не превышает 0,02 %. С учётом представленных выше результатов исследований, определение посторонних примесей в содержимом капсул профлузак методом ТСХ считаем вполне оправданным.

В исследуемой лекарственной форме ФГХ, проанализированной параллельно с субстанцией, примеси I, II не выявлены. При сравнительном анализе содержимого капсул и субстанции на хроматограмме обоих объектов исследования обнаружена неидентифицированная примесь с  $R_f=0,7$  в тех же следовых количествах, что и в субстанции; в обоих случаях на хроматограммах наблюдается едва заметное пятно с  $R_f=0,4$ , которое не подлежит оценке. Результаты хроматографических исследований представлены на рис. 1 и 2.

Методом последовательного разбавления установ-



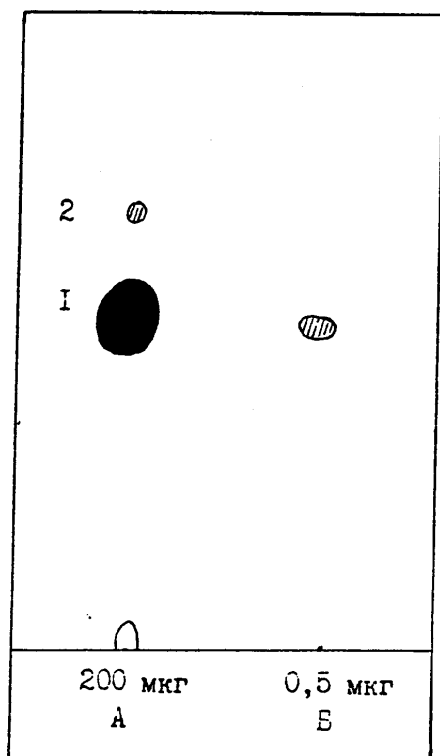
**Рис. 1.** Хроматограммы содержимого капсул профлузак в сравнении с хроматограммой субстанции флуоксетина гидрохлорида и посторонних примесей.

А. Хроматограмма субстанции ФГХ (200 мкг); 1. Флуоксетина гидрохлорид с  $R_f=0,5$ ; 2. неидентифицированная примесь с  $R_f=0,7$ ; Б. Хроматограмма содержимого капсул профлузак (200 мкг ФГХ)

См. пункт А, подпункты 1 и 2

В. Примесь I – “метаминол”;  $R_f=0,2$ ; Г. Примесь II – “метамин”;  $R_f=0,3$ ; Д. Примесь III – “изофлуоксетин”;  $R_f=0,5$   
 Е. Хроматограмма искусственной смеси примесей I, II и III.

**Испытание на посторонние примеси**



**Рис. 2.** Хроматограммы содержимого капсул профлузак.  
 А. Хроматограмма содержимого капсул профлузак  
 1. Флуоксетина гидрохлорид -200 мкг.  
 2. Неидентифицированная примесь.  
 Б. Свидетель флуоксетина гидрохлорид – 0,5 мкг.

лено, что содержание каждой примеси в препарате не более 0,25%. Суммарное содержание всех четырех примесей возможно нормировать на уровне не более 1%.

В методике определения доброкачественности препарата не предусматривается нанесение шкалы свидетеля для оценки суммарного содержания посторонних примесей и нанесение пятна свидетеля, соответствующего суммарному содержанию (не более 1%), так как при условии ограничения каждой из примесей (не более 0,25%) оценка конкретного содержания каждой из обнаруженных примесей для нахождения суммы не имеет практического значения (рис. 2). Как показали исследования доброкачественности капсул профлузак, ни в одной из опытно-промышленных партий препарата не было выявлено присутствия примесей. Пятно 2 (рис. 1,2) по интенсивности окраски и размеру не превышает пятно свидетеля ФГХ (Б).

На хроматограмме содержимого капсул профлузак и субстанции ФГХ допускается пятно с  $R_f \sim 0,04$  от нанесённой пробы препарата. Кроме того, в данной методике ограничение суммарного содержания посторонних примесей (не более 1%) адекватно

существующему ранее критерию по ограничению количества пятен посторонних примесей (в нашем случае – не более четырёх пятен).

Известно, что количественное определение зарубежной субстанции флуоксетина гидрохлорида анализируют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) – важнейшим современным методом фармакопейного анализа субстанций и лекарственных средств [8].

Проведённые нами исследования по анализу методом ВЭЖХ капсул профлузак позволили выбрать оптимальные условия хроматографирования, обеспечивающие высокую точность определения содержания флуоксетина.

В качестве подвижной фазы (ПФ) целесообразно использовать смесь ацетонитрила с водным раствором триэтиламина (рН 6,0) в соотношении 35:65. Эта подвижная фаза обладает достаточно высокой элюирующей способностью, время удерживания флуоксетина гидрохлорида  $t_r$  составляет около 6 мин. Невысокая вязкость, обусловленная присутствием триэтиламина, способствует уменьшению “хвоста” пика флуоксетина гидрохлорида.

Для анализа использовали колонку из нержавеющей стали размером 15×0,39 см, заполненную сорбентом октилсилан типа “Nova-Pak C<sub>8</sub>” с размером частиц 4 мкм, позволяющую получить пик флуоксетина гидрохлорида с фактором симметрии не более 2,0 при расчёте на 10% высоты пика флуоксетина гидрохлорида; скорость потока ПФ – 1,0 мл/мин; спектрофотометрический детектор с рабочей длиной волны 227 нм; объём вводимой пробы – 20 мкл.

Последовательно хроматографировали испытуемый раствор и 0,011% раствор рабочего стандартного образца (PCO) флуоксетина гидрохлорида в подвижной фазе. На рис. 3 представлен пик флуоксетина гидрохлорида.

Относительное стандартное отклонение площади пика флуоксетина гидрохлорида, рассчитанное по трём последовательным хроматограммам 0,011% раствора PCO флуоксетина гидрохлорида в подвижной фазе не превышало 2,0%.

Содержание препарата в одной капсуле в граммах (X) в пересчете на флуоксетин-основание вычисляют по формуле:

$$X = \frac{R_1 \cdot 50 \cdot 25 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot m}{a_1 \cdot 5 \cdot R_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 1,118} = \frac{R_1 \cdot a_0 \cdot m}{R_0 \cdot a_1 \cdot 1,118 \cdot 2}$$

где  $R_1$  – площадь пика флуоксетина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора;

$R_0$  – площадь пика флуоксетина гидрохлорида на хроматограмме раствора PCO флуоксетина гидрохлорида;

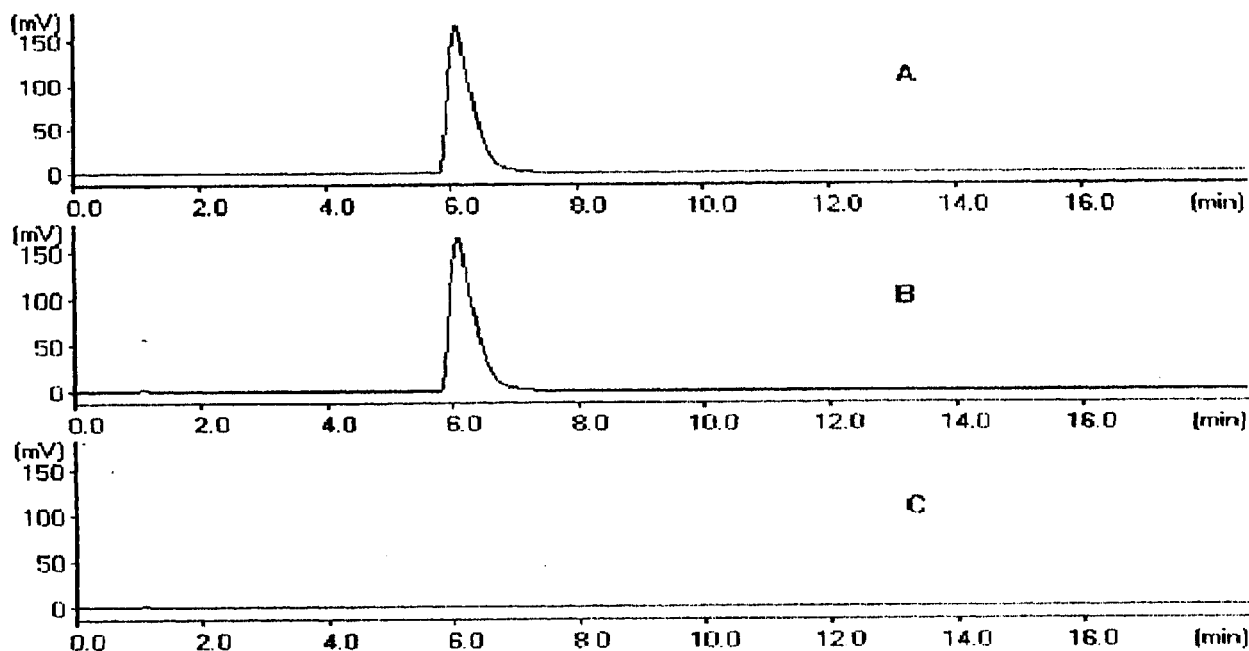


Рис. 3. Хроматограммы растворов: А – субстанция флуоксетина гидрохлорида, В – содержимого капсул профлузак и С – плацебо этих капсул.

$a_1$  – навеска содержимого капсул в граммах;  
 $a_0$  – навеска РСО флуоксетина гидрохлорида в граммах;  
 $m$  – средняя масса содержимого капсул в граммах;  
 1,118 – коэффициент пересчёта навески РСО флуоксетина гидрохлорида на флуоксетина основание.

Содержание  $C_{17}H_{18}F_3NO$  (флуоксетина основания) в одной капсуле должно быть от 0,0185 до 0,0215 г.

В таблице 1 приведены результаты количественного определения ФГХ в искусственных смесях для капсулирования, моделирующих состав капсул профлузак, с содержанием флуоксетина от 10% до 140% от номинальной величины.

Данные по теоретическому и по экспериментально определённому содержанию флуоксетина (табл.

1) обрабатывали методом наименьших квадратов по уравнению линейной регрессии. Установлена чёткая линейная взаимосвязь экспериментально определённого  $y_{\text{экс}}$  и теоретического  $x_{\text{теор}}$  содержания флуоксетина в смесях для капсулирования:

$$y_{\text{экс}} = 0,982 \cdot x_{\text{теор}} + 1,26 \cdot 10^{-4}$$

Коэффициент корреляции  $r = 0,0000$ ,  $S_0^2 = 4,50 \cdot 10^{-8}$ ,  $b = 0,982$ ,  $\Delta b = 9,8 \cdot 10^{-3}$ ,  $a = 1,26 \cdot 10^{-4}$ ,  $\Delta a = 1,6 \cdot 10^{-4}$ , критерий Фишера  $F(95\%, 1,5-2) = 6,53$  меньше табличного значения 10,13 и, следовательно, коэффициент  $a$  статистически незначим. Эти результаты свидетельствуют о хорошей линейности детектирования флуоксетина.

Точность количественного определения флуоксетина оценивали методом наименьших квадратов на

Таблица 1

Результаты количественного определения флуоксетина методом ВЭЖХ в модельных смесях для капсулирования при варьировании содержания флуоксетина от до 140% относительно номинального значения

Содержание флуоксетина в 120 мг образца		$\Delta m$ , г	$\Delta m/m$ , %	Найдено, %
Взято $m$ , мг	Найдено, мг			
2	3	4	5	6
0,0276	0,0272	-0,0004	-1,4	98,6
0,0197	0,0195	-0,0002	-1,0	99,0
0,00985	0,00989	0,00004	0,4	100,4
0,00394	0,00399	0,00005	1,3	101,3
0,00197	0,00200	0,00003	1,5	101,5

**Таблица 2**  
**Результаты количественного определения содержания флуоксетина в капсулах профлузака методом ВЭЖХ**

Номер серии	Найдено флуоксетина в одной капсуле, г
10898	0,0210
20898	0,0192
30998	0,0197
41298	0,0196
51298	0,0199

основании данных табл. 1, колонка 6. Получили следующие метрологические характеристики количественного анализа флуоксетина:

$$\bar{X} = 100,2; S = 1,32; P = 95 \%; t(95,4) = 2,78; \Delta X = 3,7;$$

$$\Delta \bar{X} = 1,6; \epsilon = \Delta X \cdot 100 / = 3,7 \%; = \Delta \cdot 100 / = 1,6 \%.$$

Полученная относительная ошибка среднего результата количественного определения флуоксетина – 1,6%, существенно ниже допустимого интервала варьирования содержания флуоксетина в капсулах 7,5%. Следовательно, предлагаемая методика имеет достаточно высокую точность для определения содержания флуоксетина в капсулах.

Статистическую оценку воспроизводимости методики проводили по ГФ XI, вып. 1, 1987, с. 208. Для семи параллельных определений установлено, что относительная ошибка среднего результата  $\bar{\epsilon}$  со-

ставляет 0,4%. Это указывает на хорошую воспроизводимость методики.

В таблице 2 представлены результаты анализа 5 серий капсул профлузака методом ВЭЖХ. Данные свидетельствуют, что содержание флуоксетина в капсулах укладывается в нормативные требования.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность использования в анализе капсул профлузака метода ВЭЖХ для определения количественного содержания флуоксетина и подлинности препарата.

### ВЫВОДЫ

Разработаны методы контроля качества по тестам определения посторонних примесей и количественного содержания флуоксетина гидрохлорида в препарате капсулы профлузака, позволяющие стандартизовать препарат по данным показателям.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов С.В., Сыркин А.Л. и др., Ж. Психиатрия и психофармакотерапия, 2003, т. 5, №4, с. 171-173.
2. Энциклопедия лекарств, РЛС, 2003, вып. 10.
3. Патент РФ № 2174391, 2000 г.
4. Хабриев Р.У., Ягудина Р.И., Хим.-фарм. журнал, 2003, т. 37, № 8, с. 41-43.
5. Государственная Фармакопея СССР. 11 изд. М.-, 1987, 1990. Вып. 1, вып. 2.
6. Фармакопея США. 24-е изд.
7. Британская Фармакопея 2001.
8. Fedorova G.A., Baram G.I. et al. Chromatographia, 2001, v. 53, h.495-497.