

УДК 678.6:615.03:543.51

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТОДОМ ПІРОЛІТИЧНОЇ МАС-СПЕКТРОМЕТРІЇ КОМПЛЕКСІВ ВКЛЮЧЕННЯ МІЖ ДІЮЧОЮ РЕЧОВИНОЮ ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ “НІМОДИПІН” ТА β -ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

С.В.Рябов, В.В.Бойко, В.І.Бортницький, Т.В.Дмитрієва, В.В.Осташко, Ю.Ю.Керча

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України
02160, м. Київ, Харківське шосе, 48. E-mail: S.Riabov@ihvs.nas.gov.ua

Ключові слова: діюча речовина лікарського препарату “Німодипін”; β -циклодекстрин; (2-гідрокси)пропіл- β -циклодекстрин; комплекси включення; піролітична мас-спектрометрія

Методом піролітичної мас-спектрометрії досліджені одержані комплекси включення між діючою речовиною лікарського препарату “Німодипін” (ДР “Німодипін”) і β -циклодекстрином (β -ЦД) та (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД (2-ГП- β -ЦД). Зроблено висновок, що більш міцні фізичні зв'язки утворюються в комплексі включення між ДР “Німодипіну” та β -ЦД, ніж у комплексі включення на основі 2-ГП- β -ЦД.

THERMAL MASS-SPECTROMETRY INVESTIGATION OF THE INCLUSION COMPLEXES BETWEEN THE ACTIVE SUBSTANCE OF “NIMODIPINE” AND β -CYCLODEX-TRINS

S.V.Ryabov, V.V.Boyko, V.I.Bortnitsky, T.V.Dmitrieva, V.V.Ostashko, Yu.Yu.Kercha

Thermal mass-spectrometry has been employed to investigate a process of thermal destruction of the inclusion complexes based on the active substance of “nimodipine” and β -cyclodextrin and (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin. Much stronger physical bonds have been shown to be formed in the inclusion complex between the active substance of “nimodipine” and β -cyclodextrin compared with that based on the (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ПИРОЛИТИЧЕСКОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ КОМПЛЕКСОВ ВКЛЮЧЕНИЯ МЕЖДУ ДЕЙСТВУЮЩИМ ВЕЩЕСТВОМ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА “НИМОДИПИН” И β -ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

С.В.Рябов, В.В.Бойко, В.И.Бортницкий, Т.В.Дмитриева, В.В.Осташко, Ю.Ю.Керча

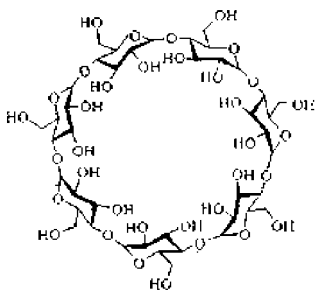
Методом піролітичної мас-спектрометрії досліджені отримані комплекси включення між діючою речовиною лікарського препарату “Німодипін” (ДВ “Німодипін”) і β -циклодекстрином (β -ЦД), а також (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД. Сделан вывод, что более прочные физические связи образуются в комплексе включения между ДВ “Нимодипина” и β -ЦД, чем в комплексе на основе 2-ГП- β -ЦД.

Лікарський препарат “Німодипін” (або “Німотоп”) відноситься до групи антагоністів іонів кальцію і має властивості, характерні для цих препаратів. Специфічною властивістю німодипіну є здатність знижувати опір резистентних судин (артеріол) мозку та покращувати кровопостачання цього органу, зменшувати гіпоксичні явища. В зв'язку з цим “Німодипін” знайшов використання як профілактичний та лікувальний засіб при ішемічних порушеннях мозкового кровообігу [1].

Активною діючою речовиною препарату “Німодипін” є 2,6-диметил-4(3-нітрофеніл)-1,4-дигідро-3,5-піридинкарбонової кислоти метоксietил-1-овий-ізопропіловий дієтер. Одним з головних недоліків цієї речовини і “Німодипіну” в цілому є те, що вони практично нерозчинні у воді, що суттєво ускладнює розробку фармацевтичних препаратів. Крім того, після орального введення біо-

логічна засвоюваність у людському організмі даного препарату становить в середньому всього 13%. Одним з можливих способів подолання цих недоліків є включення (інкапсулювання) діючої речовини німодипіну у макроцикл циклодекстрину (ЦД) і створення так званих систем з контролем виходом ліків (“drug release systems”). У фармацевтичній галузі ЦД переважно знайшли застосування як комплексоутворюючі агенти, що покращують розчинність у воді погано розчинних лікарських препаратів і при цьому підвищують їх біологічну доступність і стабільність [2-6].

Циклодекстрини — це циклічні олігосахариди, які утворюються під дією ферменту амілази з мікроорганізму *Bacillus macerans* на крохмаль і складаються із D-глюкопіранозних фрагментів, зв'язаних між собою α -(1,4)-глюкозидними зв'язками. Структуру β -циклодекстрину — одного з

Рис. 1. Структурна формула β -циклодекстрину.

Таблиця 1

Температура розкладання (Т), загальний іонний струм (J) та кількість іонних фрагментів (К), при піролізі ДР "Німодипіну", β -циклодекстрину, (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД та зразків 1 та 2

Об'єкт дослідження	Т, °С	J, ум.од.	К, од.
ДР "Німодипіну"	350	71	5
	390	111	8
	400	27	1
β -ЦД	250	130	69
	255	450	*
	260	270	86
	350	10	*
Зразок 1 (β -ЦД + ДР "Німодипіну")	262	410	*
	265	390	18
	400	24	4
(2-гідрокси)пропіл- β -ЦД	260	206	22
	273	394	*
	280	334	34
	400	33	4
Зразок 2 (2-ГП- β -ЦД + ДР "Німодипіну")	260	436	19
	262	448	*
	270	352	15
	390	42	3

*Мас-спектр при даній температурі не знімали.

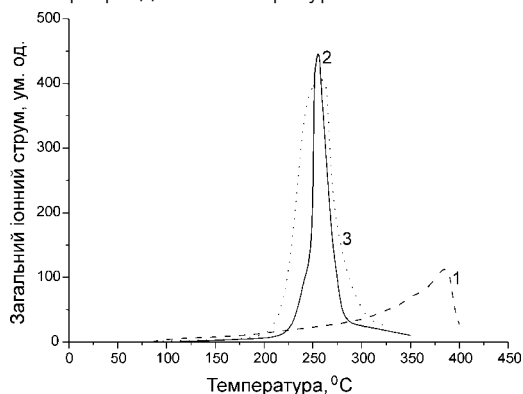


Рис. 2. Температурна залежність загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції: 1 - ДР "Німодипіну"; 2 - β -ЦД; 3 - зразок 1 (β -ЦД : ДР "Німодипіну" = 2:1).

найбільш вживаних з ряду ЦД, який містить 7 глюкопіранозних кілець, подано нижче (рис. 1).

Просторова конфігурація циклодекстринів нагадує тороїдальне тіло з діаметром внутрішньої порожнини від 0,57 нм (для α -ЦД) до 0,95 нм (γ -ЦД). При цьому зовнішній вінець циклодекстринів, на якому розташовані гідроксильні групи, є гідрофільним, і завдяки цьому ці олігосахариди розчинні у воді. Внутрішня гідрофобна порожнина β -ЦД має діаметр 0,78 нм, що є оптимальним для утворення стійких комплексів включення типу "гість-хазяїн" з різними органічними молекулами (чи їх фрагментами), які комплементарні за розміром порожнині β -ЦД [7].

Метою даної роботи було дослідження синтезованих нами комплексів включення між діючою речовиною лікарського препарату "Німодипін" (ДР "Німодипіну") і β -ЦД та (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД методом піролітичної мас-спектрометрії (ПМС), який дозволяє оцінювати особливості молекулярної будови складних органічних об'єктів за складом продуктів їх деструкції під дією високих температур [8, 9]. Вивчалась температурна залежність зміни інтенсивності виділення летких продуктів (загальний іонний струм) термодеструкції досліджуваних об'єктів, склад іонних фрагментів, що утворюються при терморозкладанні зразків при різних температурах. Інтенсивність виділення окремих летких продуктів (іонних фрагментів) відображали в умовних одиницях.

Результати та їх обговорення

Як видно з рис. 2 (крива 1), виділення летких продуктів у процесі піролізу ДР "Німодипіну" поступово збільшується, досягаючи максимуму при 390°C, а потім різко зменшується до 400°C. При температурі максимуму утворюється 8 газоподібних компонентів із загальним іонним струмом виділення — 111 ум.од. (табл. 1).

Температурний інтервал розкладання β -ЦД (рис. 2, крива 2) знаходиться в межах 225-280°C з максимумом загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції ($J=450$ ум.од.) при 255°C.

В той же час зразок 1 (β -ЦД : ДР "Німодипіну" = 2:1) у порівнянні з β -ЦД має більш широкий інтервал виділення летких компонентів (210-300°C) (рис. 2, крива 3), але при цьому спостерігається незначне (на 7°C) зміщення максимуму термодеструкції в бік більш високих температур і зменшення на 40 ум.од. загального іонного струму утворення іонних фрагментів (табл. 1). Водночас, як видно з табл. 1, кількість газоподібних продуктів, що виділяються при терморозкладанні зразка 1, майже в 5 разів менша, ніж при піролізі β -ЦД. Одержані результати свідчать про структурні відмінності зразка 1 у порівнянні з β -ЦД.

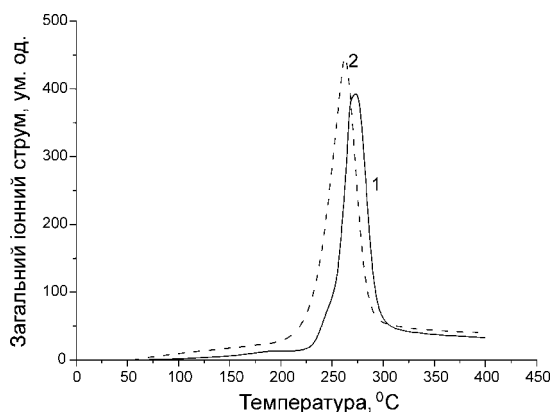


Рис. 3. Температурна залежність загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції: 1 - 2-ГП- β -ЦД; 2 - зразок 2 (2-ГП- β -ЦД : ДР "Німодипіну" = 2:1).

Якісний склад продуктів термодеструкції ДР "Німодипіну", β -ЦД, зразка 1 та їх інтенсивність виділення наведені в табл. 2. Як видно з даної таблиці, в мас-спектрі ДР "Німодипіну", знятому при 390°C, з найбільшою інтенсивністю виділяється вода ($m/z=18$). Характерними для мас-спектра цієї речовини є також леткі компоненти з $m/z=39, 41, 42, 44, 196$ та 254.

У мас-спектрі β -ЦД, знятому при температурі 260°C, найбільш інтенсивними є іонні фрагменти з невисокими значеннями масових чисел (від 15 до 73). Найбільшу інтенсивність має вода ($m/z=18$), другим за інтенсивністю є леткий продукт з $m/z=60$, який, виходячи зі структурної побудови β -ЦД, може бути ідентифікований як оксіоцтовий альдегід. У цілому слід відмітити, що якісний склад іонних фрагментів, що реєструються в мас-спектрі β -ЦД, абсолютно ідентичний мас-спектрам інших полісахаридів (крохмалю, декстрини), досліджених нами раніше [10, 11]. Для всіх цих сполук характерною є наявність у мас-спектрах однакового іонного фрагменту з максимальним масовим числом $m/z=144$. Виходячи з отриманих результатів, можна припустити, що під впливом підвищеної температури в умовах вакууму відбувається розрив глюкопіранозних кілець, з яких побудовані як крохмаль і декстрин, так і циклодекстрини.

У мас-спектрі зразка 1, знятому при 265°C, найбільш інтенсивним іонним фрагментом також є вода ($m/z=18$). Іншими інтенсивними леткими продуктами є такі, що характерні для мас-спектра β -ЦД, а саме іонні фрагменти з $m/z=31, 43, 29, 44, 28, 60$. При цьому слід відмітити, що у порівнянні з β -ЦД зазначені іонні фрагменти виділяються зі значно меншою інтенсивністю, не дивлячись на те, що для отримання зразка 1 β -ЦД береться у 2-кратному мольному надлишку до ДР "Німодипіну". Особливо зменшується інтенсивність летких компонентів з $m/z=60$ (в 4 рази) та $m/z=73$ (у 5,5 рази). Ще у більшому ступені знижується інтенсивність іонних фрагментів, характерних для мас-спектра ДР "Німодипіну", а саме: в 15 разів нижча інтенсивність продукту з $m/z=41$, у 10 разів —

для продукту з $m/z=42$, а компоненти з $m/z=196$ та 254 взагалі в мас-спектрі зразка 1 відсутні як при температурі 265°C, так і при температурі 400°C. Такий склад іонних фрагментів у мас-спектрі зразка 1, а також дані, наведені в табл. 1, можуть свідчити про міцні фізичні зв'язки між функціональними групами β -ЦД та ДР "Німодипіну", вочевидь, внаслідок утворення комплексу включення між даними сполуками.

Відомо, що гідроксипропілпохідні β -ЦД мають більшу розчинність у воді, ніж вихідний β -ЦД [2]. У зв'язку з цим було досліджено можливість одержання комплексу включення між ДР "Німодипіну" та (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД (2-ГП- β -ЦД), в якому гідроксильні групи на верхньому та нижньому вінцях макроциклу заміщені відповідно на (2-гідрокси)пропільні групи (ступінь заміщення ~ 3).

На рис. 3 наведені термограми 2-ГП- β -ЦД та зразка 2 (2-ГП- β -ЦД : ДР "Німодипіну" = 2:1), з яких видно, що температурний діапазон розкладання 2-ГП- β -ЦД (рис. 3, крива 1) знаходиться в межах 225-300°C. Максимум загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції даної сполуки спостерігається при 273°C і дорівнює 394 ум.од., при цьому кількість іонних фрагментів, що утворюються при піролізі 2-ГП- β -ЦД, більш ніж у 2,5 рази менша у порівнянні з β -ЦД (табл. 1), але при цьому перелік найбільш інтенсивних летких компонентів, що зареєстровані у мас-спектрі 2-ГП- β -ЦД в температурному діапазоні максимальної деструкції, майже такий же, як і в мас-спектрі β -ЦД (табл. 2). Слід відзначити, що інтенсивність виділення легкого продукту з $m/z=60$ та $m/z=73$ при піролізі 2-ГП- β -ЦД зменшується у 4,96 та 3,85 рази, відповідно, внаслідок заміни гідроксильних груп на (2-гідрокси)пропільні групи. Такі результати можуть служити підтвердженням того, що при термодеструкції циклодекстринів відбувається розрив їх глюкопіранозних кілець. У той же час індивідуальна інтенсивність виділення інших летких продуктів при термодеструкції 2-ГП- β -ЦД у $\sim 1,5$ -2,0 рази вища, ніж у β -ЦД (табл. 2), що можна ймовірно пояснити послабленням водневих та внутрішньомолекулярних зв'язків у молекулі 2-ГП- β -ЦД у порівнянні з β -ЦД.

У порівнянні з 2-ГП- β -ЦД для зразка 2 температура максимуму терморозкладання зсувається на 10°C у бік зменшення температур з одночасним підвищенням на 54 ум.од. показника загального іонного струму виділення летких продуктів (рис. 3, крива 2). Але при цьому кількість газоподібних продуктів, що утворюються при максимальному терморозкладанні зразка 2, майже вдвічі менша, ніж для 2-ГП- β -ЦД (табл. 1). Індивідуальна інтенсивність однакових іонних фрагментів для зразка 2 у порівнянні з 2-ГП- β -ЦД, в основному, зменшується (табл. 2), а леткі продукти з $m/z=196$ та 254, як і у випадку із зразком 1, відсутні як при температурі 260°C, так і при 400°C. Одержані

Таблиця 2

Вірогідний склад іонних фрагментів у мас-спектрах та інтенсивність їх виділення (I) при піролізі ДР “Німодипіну”, β -циклодекстрину, (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД та зразків 1 та 2

m/z	Іонний фрагмент	I·10 ³ , ум.од.				
		ДР “Німодипіну” 390°C	β -ЦД 260°C	Зразок 1 265°C	2-ГП- β -ЦД 280°C	Зразок 2 260°C
15	CH ₃ ⁺	-	182,5	96,0	227,3	169,8
16	CH ₄	-	313,4	-	-	-
17	OH ⁺ , NH ₃	-	-	171,4	195,8	216,0
18	H ₂ O	1000,0	1000,0	1000,00	1000,0	1000,0
27	C ₂ H ₃	-	126,5	44,7	125,7	108,4
28	CO, C ₂ H ₄	-	190,3	154,4	248,0	213,7
29	-C ₂ H ₅ , CHO	-	366,8	235,6	404,7	71,8
31	-CH ₂ OH	-	255,2	265,6	516,3	403,5
32	CH ₃ OH	-	40,0	56,6	179,1	133,0
39	C ₃ H ₃	109,9	-	7,7	-	45,2
41	C ₃ H ₅	364,1	-	36,4	160,1	113,5
42	C ₃ H ₆	148,5	130,3	48,8	265,6	182,9
43	C ₃ H ₇ , CH ₂ CHO	-	260,7	254,4	422,3	359,1
44	CO ₂ , CH ₃ CHO, CH ₂ CHOH	469,6	293,2	225,8	291,3	270,0
45	CH ₃ CHOH	-	126,0	58,4	499,3	558,1
57	C ₄ H ₉	-	256,9	70,6	86,2	43,7
59	CH ₂ =CH-O-CH-	-	-	-	112,6	53,5
60	C ₃ H ₇ OH O=CH-CH ₂ OH	-	459,7	114,5	92,7	14,9
73	HOCC ₂ CHOH	-	218,6	39,4	56,8	-
196	HOOC-C ₅ NH ₂ (CH ₃) ₂ -COOH	255,0	-	-	-	-
254	HOOC-C ₅ NH ₂ (CH ₃) ₂ COO-(CH ₂) ₂ OCH ₃	340,6	-	-	-	-

результати вказують на утворення сильних фізичних зв'язків між 2-ГП- β -ЦД та ДР “Німодипіну”.

Таким чином, аналізуючи результати ПМС, можна припустити, що зразок 1 та зразок 2 є комплексами включення між діючою речовиною лікарського препарату “Німодипін” і β -ЦД та (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД.

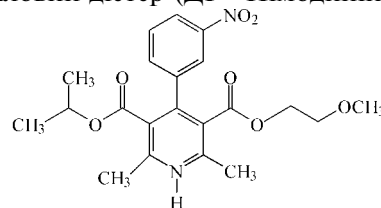
Якщо порівнювати результати ПМС для зразків 1 і 2, то слід зазначити, що їх термограми практично співпадають (рис. 2, крива 3 та рис. 3, крива 2) — майже на одному рівні для цих об'єктів є кількість зареєстрованих у мас-спектрі іонних фрагментів (табл. 1), однаковим є і вірогідний склад летких продуктів у мас-спектрах даних зразків (табл. 2), але індивідуальна інтенсивність виділення летких продуктів при термодеструкції зразка 2 вища, ніж у зразка 1, і відповідно на 38 ум.од. підвищується показник максимуму загального іонного струму виділення летких продуктів при термодеструкції зразка 2 у порівнянні зі зразком 1. Тобто комплекс включення між ДР “Німодипіну” та β -ЦД є більш міцним, ніж між ДР “Німодипіну” та 2-ГП- β -ЦД. А для створення систем з контрольованим виходом ліків (“drug

release systems”), очевидно, більш перспективним є комплекс між ДР “Німодипіну” та 2-ГП- β -ЦД.

Експериментальна частина

В якості об'єктів дослідження використовували:

- β -циклодекстрин (фірма FLUKA), ММ 1135, який перед проведенням експериментів перекристалізували з води та висушували у вакуумі при 100°C на протязі 12 год;
- (2-гідрокси)пропіл- β -ЦД (2-ГП- β -ЦД) — продукт фірми “CycloLab R&D Ltd”, (ступінь заміщення ~ 3);
- 2,6-диметил-4(3-нітрофеніл)-1,4-дигідро-3,5-піридинкарбонової кислоти метоксietил-1-овий-ізопропіловий дієтер (ДР “Німодипіну”).



Зразок 1: комплекс включення β -ЦД з ДР “Німодипіну” у мольному співвідношенні 2:1.

Зразок 2: комплекс включення 2-ГП- β -ЦД з ДР “Німодипіну” у мольному співвідношенні 2:1.

Для приготування зразків 1 і 2 вихідні речовини (ЦД та ДР “Німодипіну”, відповідно) розчиняли окремо у водно-спиртових розчинах і потім змішували. Отримані розчини витримували протягом 20 год при 50°C, перемішуючи. Далі розчини випарювали і продукт сушили в сушильній шафі на протязі двох діб. У результаті одержали жовті порошкоподібні речовини.

Вихідні речовини та одержані зразки 1 та 2 досліджували методом піролітичної мас-спектрометрії. Вивчення складу летких продуктів та інтенсивності їх виділення при піролізі досліджуваних зразків проводили на мас-спектрометрі МХ-1321, який забезпечує визначення компонентів газових сумішей в діапазоні масових чисел 1-4000. Перед проведенням досліджень зразки вакуумували впродовж 30 хв при температурі 25°C безпосередньо у комірці мас-спектрометра. Відкачування піролі-

тичної комірки, підключеної до аналізатора спектрометра, проводили до тиску $1,33 \cdot 10^{-4}$ Па через вакуумний вентиль та джерело іонів мас-спектрометра. Для зменшення інерційності піролізу досліджуваних зразків проводили в тонкостінних ампулах з безперервною відкачкою летких субстанцій. Всі з'єднувальні комунікації, включаючи вакуумний вентиль, обігрівались до температури, яка запобігає конденсації на них продуктів піролізу. Зразки нагрівались від 25°C до 400°C з лінійно програмованою швидкістю нагрівання (6 ± 1) °C/хв. Точність визначення температури зразка — ± 1 °C.

Обробку мас-спектрів летких продуктів термодеструкції об'єктів дослідження проводили за спеціально розробленою комп'ютерною програмою, яка дозволяє реєструвати інтенсивність кожного газоподібного компонента по інтегральній площі під відповідними піками. Отримані мас-спектри продуктів деструкції порівнювали з мас-спектрами, наведеними у каталогах [12, 13].

Література

1. *Энциклопедический справочник медицины и здоровья*. — М.: Рус. энциклопед. товарищество, 2004. — 960 с.
2. Loftsson T. *Cyclodextrins in Pharmaceutical Formulations (A report prepared for Nordic Industrial Fund)*. — N-Y., 1998. — P. 35.
3. Loftsson T., Massom M. // *Int. J. Pharm.* — 2001. — Vol. 225. — P. 15-30.
4. Figueiras A., Ribeiro L., Veiga F.J.B. // *J. Incl. Phenom. Chem.* — 2007. — Vol. 57. — P. 173-177.
5. Lee P.S., Jan J.-Y., Song T.W. et al. // *Int. J. Pharm.* — 2006. — Vol. 316. — P. 29-35.
6. Белякова Л.А., Варварин А.М., Паляниця Б.Б. та ін. / Автореф. доп. Всеукр. конф. за міжнарод. участю “Хімія, фізика та технологія поверхні наноматеріалів”, 28-30 травня 2008 р. — К., 2008. — С. 112-113.
7. Connors A.K. // *Chem. Rev.* — 1997. — Vol. 97. — P. 1325-1357.
8. Терентьев П.Б. *Масс-спектрометрия в органической химии*. — М.: Высш. шк., 1979. — 250 с.
9. Хмельницкий Р.А., Лукашенко И.М., Бродский Е.С. *Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений*. — М.: Химия, 1980. — 280 с.
10. Бойко В.В., Рябов С.В., Дмитриева Т.В. и др. // *Вопр. химии и хим. технол.* — 2005. — №5. — С. 113-119.
11. Рябов С.В., Бойко В.В., Кобрина Л.В. и др. // *Высокомоле. соед. А*. — 2006. — Vol. 48, №8. — С. 1448-1461.
12. Гордон А., Форд Р. *Спутник химика / Пер. с англ.* — М.: Мир, 1976. — 541 с.
13. *Каталог сокращенных масс-спектров*. — Новосибирск: Наука, 1981. — 187 с.

Надійшла до редакції 12.11.2010 р.