

COMPLEXUL DE INCLUZIUNE AL TRIMETAZIDINEI CU β -CYCLODEXTRINA

ADRIANA CHIȘ¹, IRINA KACSÓ², GHEORGHE BORODI², IOAN BRATU²

¹Industriile Polipharma S.R.L., Sibiu

²Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare a Tehnologiilor Moleculare și Izotopice, Cluj-Napoca

Rezumat

Compusul de incluziune format între trimetazidină (TMZ) și β -ciclodextrina (β -CD) a fost preparat prin diferite metode și evidențiat prin spectroscopie FTIR, difracție de raze X și SEM. Stoichiometria de 1:1 a complexului de incluziune trimetazidina- β -ciclodextrina a fost stabilită prin spectroscopie UV-VIS, la fel ca și constanta sa de stabilitate ca având valoarea de 113 M^{-1} . Arhitectura compusului de incluziune a fost determinată prin mecanică moleculară: molecula de trimetazidină intră prin partea largă a cavității ciclodextrinei cu inelul piperazinic.

Cuvinte cheie: complecși de incluziune, ciclodextrine, spectroscopie moleculară, difracție de raze X.

TRIMETAZIDINE INCLUSION COMPLEX WITH β -CYCLODEXTRIN

Abstract

Inclusion compound of trimetazidine and β -cyclodextrin were prepared by different methods and evidenced by FTIR, X-ray diffraction and SEM. The 1:1 stoichiometry of the trimetazidine- β -cyclodextrin inclusion compound was established by UV-VIS spectroscopy as well as the stability constant with a 113 M^{-1} value. The architecture of the inclusion compound was determined by molecular mechanics: trimetazidine molecule enters the larger side of the cyclodextrin cavity with the piperazine ring.

Keywords: inclusion compounds, cyclodextrins, molecular spectroscopy, X-ray diffraction.

Introducere

Diclorhidratul de trimetazidină, derivat de 1 - (2,3,4 – trimetoxibenzil) piperazina, este utilizat în tratamentul curent și profilactic, de lungă durată al crizelor de angină pectorală și în tratamentul scăderilor de acuitate vizuală și al tulburărilor de câmp vizual de cauză vasculară și hipertensiune arterială esențială. Practic este lipsită de efecte secundare, oferind o complianță remarcabilă în tratamentul asociativ, fără a avea efecte hemodinamice [1-3]. Incluziunea în cavitatea β -CD este de așteptat să prezinte o absorbție mai prelungită determinând concentrații eficiente timp îndelungat.

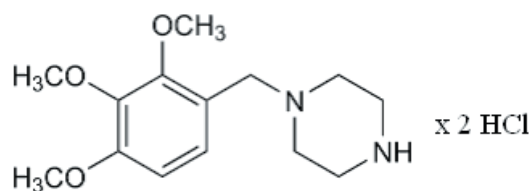


Fig. 1. Formula moleculară a trimetazidinei.

Diclorhidratul de trimetazidină: $F_M = C_{14}H_{22}N_2O_3 \times 2HCl$; $M = 339,186 \text{ g/mol}$.

Materiale și metode

0.0495 g β -ciclodextrină ($4,3 \times 10^{-5}$ moli) au fost solubilizate în 3,5 mL apă bidistilată obținându-se o soluție 12.3 mM. La această soluție a fost adăugat 0.0148 g diclorhidratul de trimetazidină ($4,3 \times 10^{-5}$ moli) și amestecul obținut s-a agitat timp de 24 ore. Soluția a fost înghețată la

temperaturi de -45°C iar eliminarea solventului s-a făcut prin liofilizare (produsul *fd*) într-un liofilizator de tip Alpha 1-2 LD timp de 24 h.

Un amestec fizic (*pm*) de TMZ și β -CD (1:1 raport molar) s-a obținut printr-o amestecare blândă a acestui amestec într-un mojar de agat. Compusul de incluziune obținut prin frământare (*kn*) s-a obținut astfel: s-a folosit apă distilată ca agent de umectare. TMZ și β -CD au fost amestecate în raport molar 1:1 și apoi au fost mojarate într-un mojar de agat. Agentul de umectare a fost adăugat la amestec și a fost frământat timp de cel puțin o oră. Pasta astfel obținută a fost uscată la 38°C . Compusul de incluziune obținut prin coprecipitare (*co*): amestecarea TMZ și β -CD (soluție apoasă 5mM) în raport molar 1:1, agitarea timp de câteva zile, urmată de o evaporare și uscare la 38°C .

Spectrele FTIR au fost obținute cu un spectrometru JASCO 6100 FTIR în domeniul spectral $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ cu o rezoluție de 2 cm^{-1} , prin utilizarea tehnicii pastilării în KBr.

Metodele de caracterizare fizico-chimică a suprafeței compușilor de incluziune obținuți prin diferite metode de sinteză, implică tehnici de analiză specifice, foarte precise și sensibile. Astfel, pot fi amintite microscopia electronică prin transmisie (TEM) și de baleiaj (SEM), tehnici utilizate atât în cercetările fundamentale cât și în industrie.

Fiecare tehnică folosită oferă informații diferite și adesea complementare. Alegerea adecvată a unei tehnici este determinată de mai mulți factori și este dificil de a stabili reguli pentru astfel de alegeri. Când sunt cerute imagini de înaltă rezoluție, tridimensionale, ale suprafeței analizate, cele mai potrivite tehnici sunt TEM și SEM.

Aspectele morfologice care pot fi observate direct prin SEM sunt: rugozitatea și neuniformitatea suprafeței; prezența unor goluri în interior și la suprafață; fenomenul de fracturare; asamblarea unităților structurale.

Măsurătorile de difracție de raze X au fost efectuate cu un difractometru de tip Bruker D8 Advance în intervalul unghiular $2\theta = 2\text{--}50^{\circ}$ folosind radiația $\text{Cu K}\alpha_1$. Pentru a crește rezoluția s-a folosit un monocromator pentru a elimina radiația $\text{K}\alpha_2$.

Spectrele de absorbție UV-VIS au fost înregistrate cu un spectrometru V-550 JASCO UV/VIS echipat cu celule cu ferestre de cuarț de strat optic de 1.0 cm. Soluțiile investigate de TMZ la concentrație constantă de $5 \times 10^{-5}\text{ M}$ și concentrații crescătoare de β -CD ($0.5\text{--}7 \times 10^{-3}\text{ M}$) au fost preparate într-o soluție tampon borat cu $\text{pH}=9$. Soluțiile astfel obținute au fost amestecate la temperatura camerei timp de 24 ore pentru echilibrare.

Rezultate și discuții

Spectroscopia FTIR

Spectrele FTIR ale compușilor de incluziune obținuți prin diferite metode de preparare sunt prezentate în fig. 2 și 3.

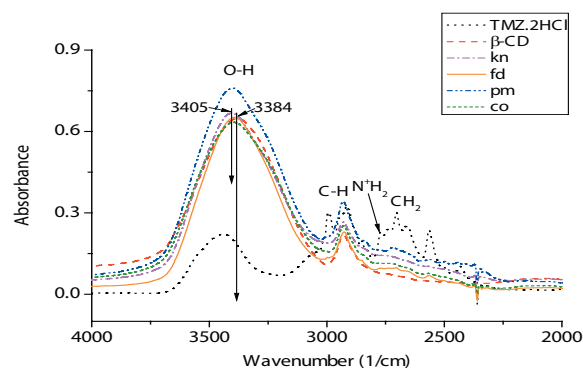


Fig. 2. Spectrele FTIR ale TMZ, β -CD și ale compușilor de incluziune obținuți prin diferite metode de preparare, domeniul spectral $4000\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$.

În cazul TMZ sunt prezentate în aceste figuri atribuirile frecvențelor de vibrație IR. Bazat pe aceste atribuiri [4], se poate stabili dacă compusul de incluziune este sau nu format și care parte a moleculei de TMZ este implicată în acest proces. Frecvența de vibrație a grupării OH din ciclodextrină, centrată pe 3384 cm^{-1} (vezi fig. 2) este deplasată spre frecvențe mai mari în complexul de incluziune (3405 cm^{-1}) ceea ce arată o rupere a legăturilor de hidrogen în urma complexării. Datorită faptului că vibrațiile care implică atomii de azot sunt modificate, vezi fig. 3, rezultă cu mare probabilitate că inelul piperazinic este inclus în cavitatea ciclodextrinei.

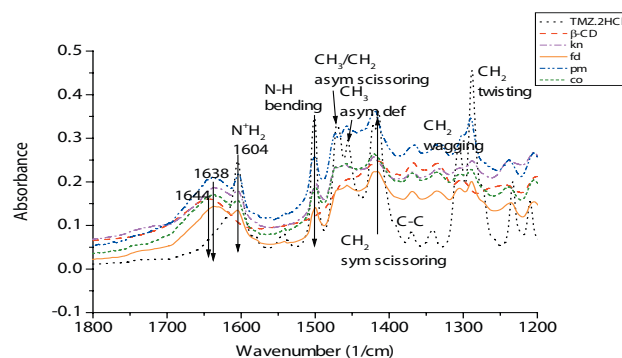
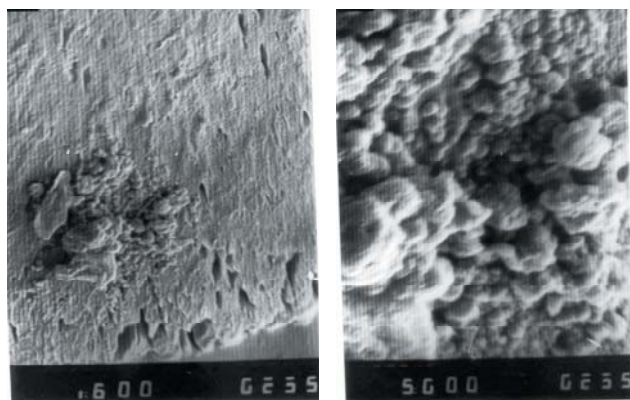


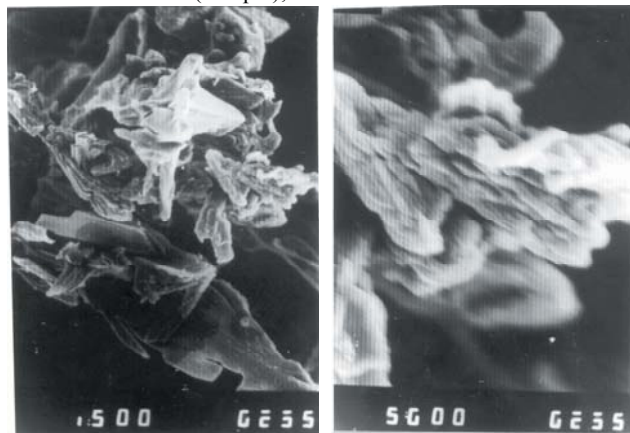
Fig. 3. Spectrele FTIR ale TMZ, β -CD și ale compușilor de incluziune obținuți prin diferite metode de preparare, domeniul spectral $1800\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$.

Caracterizare morfologică prin SEM

Medicamentul în stare neprelucrată prezintă o suprafață continuă cu rugozități sau mici discontinuități, în timp ce compusul de incluziune nu prezintă faze specifice fiecărui component în parte. Compusul de incluziune prezintă o suprafață netedă spre cristalină, cu cristale formate prin aderența celor mici la cele de dimensiuni mai mari.



A. Diclorhidrat de trimetazidină 1500 (stânga), Diclorhidrat de trimetazidină 5000 (dreapta);



B. Diclorhidrat de trimetazidină 1500/β-CD (stânga), Diclorhidrat de trimetazidină 5000/β-CD (dreapta);

Fig. 4. Microscopie electronică de suprafață (SEM):

A. Diclorhidrat de trimetazidină; B. Diclorhidrat de trimetazidină/β-CD obținut prin liofilizare.

Difracție de raze X

Rezultatele obținute prin difracție cu raze X confirmă și în acest caz structura cristalină a complexului de incluziune diclorhidrat de trimetazidină /β-CD (Figura 5). Difractograma specifică complexului este diferită de cea a diclorhidratului de trimetazidină și a β-CD ceea ce confirmă obținerea unui nou compus.

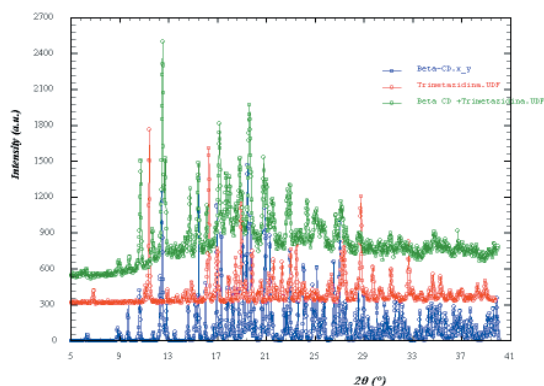
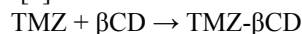


Fig. 5. Difractogramele de raze X ale TMZ, β-CD și ale compusului de incluziune obținut prin liofilizare.

Gradul de cristalinitate, determinat prin metoda prezentată în literatura de specialitate [5] a fost de ~ 60%.

Spectroscopie UV-VIS

Raportul stoichiometric între (β-CD) (gazda) și oaspete (TMZ) ar trebui să fie de 1:1, în acord cu ecuația reacției [6].



Se observă o deplasare hipsocromică a maximului de absorbție al substanței pure (271 nm), odată cu creșterea excesului de β-cyclodextrină (255 nm).

Această deplasare a maximului demonstrează formarea complexului de incluziune și poate fi utilizată pentru determinarea stochiometriei și a constantei de stabilitate a complexului de incluziune.

Ar trebui să se obțină o relație liniară între $1/dA$ ($dA = A_{IC} - A_{TMZ}$) și $1/[\beta\text{CD}]$ bazată pe ecuația Benesi-Hildebrand [7]:

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{\epsilon[G]_0 K[CD]} + \frac{1}{\epsilon[G]_0}$$

unde A este absorbanta soluțiilor de TMZ pentru fiecare concentrație a β-CD; $[G]_0$ este concentrația inițială a TMZ; K este constanta aparentă de formare a complexului; [CD] este concentrația β-CD, iar ε este absorbivitatea molară.

Rezultatul este prezentat în Fig. 6, adică se obține o bună linearitate, ceea ce arată că stochiometria complexului de incluziune gazdă (β-CD) – oaspete (TMZ) este de 1:1.

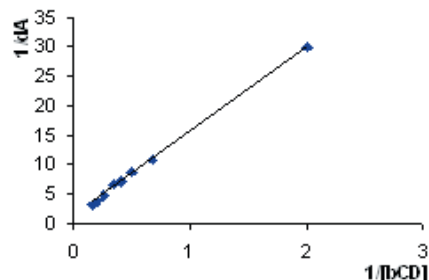


Fig. 6. Reprezentarea de tip Benesi-Hildebrand pentru sistemul TMZ-β-CD.

Din panta acestei reprezentări se obține valoarea constantei aparente de formare a acestui complex de incluziune ca fiind 113 M^{-1} .

Geometria compusului de incluziune

Pentru optimizarea geometriei compusului de incluziune s-a lucrat cu programul Hiperchem, apelându-se la metoda mecanicii moleculare pentru minimizarea energiei potențiale a ansamblului supramolecular.

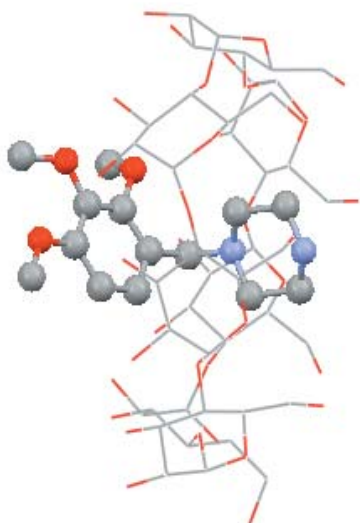


Fig. 7. Geometria compusului de incluziune TMZ-β-CD.

Rezultatul acestei modelări moleculare este prezentat în fig. 7. Rezultă că molecula de TMZ intră în cavitatea ciclodextrinei cu inelul piperazinic.

Concluzii

Datele de spectroscopie FTIR arată că, dintre toate metodele de preparare utilizate, procesul de liofilizare conduce la formarea unui compus de incluziune TMZ-β-CD.

Morfologia acestui compus este evidențiată prin datele SEM.

Datele de difracție de raze X confirmă formarea unui compus de incluziune TMZ-β-CD, al cărui grad de cristalinitate este în jurul valorii de 60%.

Prin spectroscopie UV-VIS s-a determinat raportul stoichiometric TMZ-β-CD de 1:1 în soluție apoasă, iar constanta de stabilitate a acestui complex de incluziune ca fiind de 113 M^{-1} .

Geometria compusului de incluziune, determinată folosind metodele de mecanica moleculară arată că TMZ intră în cavitatea ciclodextrinei cu inelul piperazinic.

Mulțumiri

Măsurătorile au fost finanțate în cadrul proiectelor PN 09-44 02 01/2009 și PN 09-44 02 05/2009.

Bibliografie

1. Veninder K. Sidhra, Gary D. Lopaschuk : Evolution of the metabolic approach to heart disease. – Heart.Metab.; 2010, 46:5 – 10
2. Pericle Di Napoli : The metabolic approach to improving prognosis in ischaemic heart disease. - Heart.Metab.; 2007, 36:27 – 31
3. Lee L., Horowitz J., Frenneaux M. : Metabolic manipulation in ischaemic heart disease, a nouvel approach to treatment. – Eur. Heart.; 2004, 25:634 – 41
4. A. Bright, T. S. Renuga Devi and S. Gunasekaran, Spectroscopical Vibrational Band Assignment And Qualitative Analysis Of Biomedical Compounds With Cardiovascular Activity, International Journal of ChemTech Research; 2010, Vol.2, No.1 :379 – 388
5. A. Olaru, Gh. Borodi, I. Kacsó, M. Vasilescu, I. Bratu, O. Cozar, Spectroscopic studies of the inclusion compound of Lisinopril in β-cyclodextrin Journal of optoelectronics and advanced materials - symposia, Vol. 2, No. 1, 2010, p. 1 – 5
6. H. Y. Wang, J. Han, X.G. Feng, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2007, 66, 578
7. H.A. Benesi, J.H. Hildebrand, J. Am. Chem. Soc., 1949, 71, 2703