

Meloxicám ciklodextrinokkal való kölcsönhatásának vizsgálata fizikai-kémiai módszerekkel

Fülöp Ibolya¹, Gyéresi Árpád², Ludányi Krisztina³, Croitoru Mircea Dumitru¹

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, ¹Toxicológia, Biofarmácia és Farmakokinetika Tanszék, ²Gyógyszerészeti Kémiai Tanszék, ³Semmelweis Egyetem, Gyógyszerterhelés Tanszék, Budapest

Analiza fizico-chimică a interacțiunilor între ciclodextrine și meloxicam

Meloxicamul este un reprezentant al grupei antiinflamatoarelor nesteroidiene; inhibă selectiv enzima ciclooxigenază-2. Substanța are o grupare enolică cu caracter acid și este practic insolubilă în apă. Scopul lucrării noastre este îmbunătățirea hidrosolubilității meloxicamului cu ajutorul ciclodextrinelor, respectiv analiza fizico-chimică a produșilor cu caracter de complex, rezultați prin asocierea lor. Am preparat amestecuri mecanice în raporturi molare de 1:1 și 1:2 cu conținut de meloxicam și β -ciclodextrină (β -CD), respectiv hidroxi-propil- β -ciclodextrină (HP- β CD). Am analizat produșii obținuți prin spectrofotometrie în ultraviolet, cromatografie pe strat subțire, respectiv calorimetrie de scanare diferențială. Pe baza izotermelor de solubilitate putem constata o creștere a solubilității meloxicamului în prezența ciclodextrinelor studiate. Rezultatele obținute, în urma analizelor, demonstrează formarea unor complecși de incluziune.

Cuvinte cheie: meloxicam, ciclodextrine, complex de incluziune

Physicochemical characterisation of the interaction between meloxicam and cyclodextrins

Meloxicam is a non-steroidal anti-inflammatory drug, which selectively inhibits the cyclo-oxygenase-2-enzyme. It contains an acidic enol group and it is practically insoluble in water. The aim of our study is to enhance meloxicam water solubility using cyclodextrins, as well as a physicochemical characterisation of the complex-like products that result by associating them. We made physical mixtures containing meloxicam in 1:1 and 1:2 molar ratio with β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β CD). We analysed these mixtures with UV spectrophotometry, thin-layer chromatography and differential scanning calorimetry. The phase solubility diagrams indicate the water solubility enhancement of meloxicam in the presence of cyclodextrins. The methods used for by the evaluation of these products indicate a complete formation of the complex.

Keywords: meloxicam, cyclodextrins, inclusion complex

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (3): 199-202

www.orvtudert.ro

A meloxicám a ciklooxigenáz-2-enzim szelektív gátlói közé tartozó nem szteroid gyulladáscsökkentő. A vegyület savas jellegű enolos csoportot tartalmaz, vízben gyakorlatilag oldhatatlan [9].

A ciklodextrinek hat, hét vagy nyolc alfa-D-glükopiranoz-egységből álló ciklikus, nem redukáló oligoszacharidok. A glükopiranoz egységek számától függően a három alapvegyület alfa-, béta-, illetve gamma-ciklodextrin néven ismert. Léteznek ezektől eltérő gyűrűtagszámú – kisebb jelentőségű – ciklodextrinek, illetve kémiai módosított ciklodextrin-származékok is, közülük az egyik legismertebb a hidroxi-propil- β -ciclodextrin. A ciklodextrinek henger alakú, belső üreggel rendelkező molekulák. A henger peremén található a glükózegységek hidroxilcsoportjai, a henger belső felületét pedig hidrogénatomok és glikozidos kötésű oxigénatomok alkotják. Ezen szerkezeti elrendeződés következményeként a henger belseje apoláros, a pereme és külső felülete pedig poláros tulajdonságú. A poláris felületi sajátságok miatt a ciklodextrinek vízben oldódnak. Asszociációs típusú, úgynevezett zárványkomplexeke képezhetnek a különböző szerkezetű ionokkal, gyökökkel vagy molekulákkal. A „gazdamolekula” magába zárja teljes egészében vagy részben, fizikai erővel, azaz kovalens kötés nélkül a „vendégmolekulát.” Megfelelő körülmények között a zárványkomplex könnyen disszociálhat, és ekkor a vendégmolekula visszanyeri eredeti fizikai-kémiai sajátságait. Ezáltal a ciklodextrinek felhasználhatók az oldékonyság növelésére, stabilizálásra, szagtalanításra, a biológiai hasznosíthatóság növelésére, formulázásra, kellemetlen ízek és irritáló hatások csökkentésére [4,5].

Vizsgálataink célja a meloxicám oldékonyságának növelése ciklodextrinek segítségével, valamint e társítás során

képződő komplex jellegű termékek tanulmányozása fizikai-kémiai módszerekkel [1,2,6].

Célkitűzés, anyag és módszer

Fizikai keverékeket készítettünk 1:1 és 1:2 molarányban (FK 1:1, FK 1:2) meloxicám (MX) és β -ciclodextrin (β -CD), illetve hidroxi-propil- β -ciclodextrin (HP- β -CD) tartalommal. Ezeket a termékeket oldékonysági izoterma vizsgálatokkal, UV-spektrofotometriás (Shimadzu UV-1601 PC), vékonyréteg-kromatográfiás (szilikagél GF254 10 x 20 cm-es lemez, Merck, Németország) és differenciális pásztázó kalorimetriás (SEICO EXTAR 6000, Japán) módszerekkel vizsgáltuk.

A felhasznált anyagok:

- meloxicám (Sigma-Aldrich Ltd.),
- β -ciclodextrin, hidroxi-propil- β -ciclodextrin (Cyclolab Ltd., Magyarország).

Az oldószerek (metanol, etil-acetát, ammónia) analitikai minőségűek voltak.

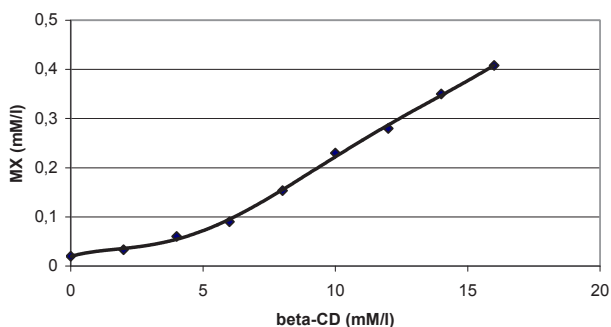
Eredmények

1. Oldékonysági izotermák

Ha egy rosszul oldódó potenciális vendégmolekula vizes szuszpenziójához növekvő mennyiségű ciklodextrint adunk, akkor a néhány napig tartó rázással elért egyensúlyi állapotban a vendégmolekula oldékonysága oly mértékben növekszik, amelyet az oldékonysági izoterma-típus határoz meg [8]. A meloxicám és a β -CD esetében a Higuchi-Connors féle osztályozás szerinti A_L típusú izotermát figyelhetünk meg, ami azt jelenti, hogy az oldékonyság lineárisan



növekszik, 1:1 molarányú komplex képződése mellett (1. ábra).

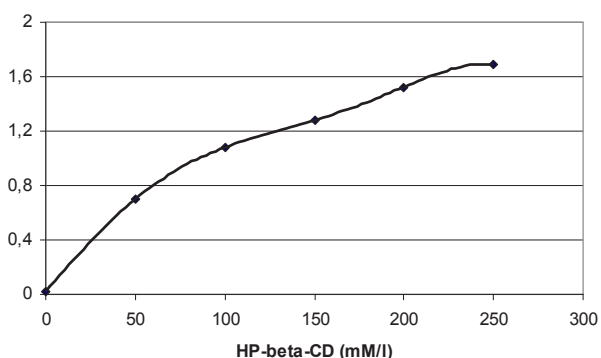


1. ábra. Oldékonysági izoterma β -CD jelenlétében

A komplex stabilitási állandójának ($K_{1:1}$) értékét az 1:1 molarányú komplexekre a kezdeti lineáris szakasz tengelymetszetéből és irántangenséből számítjuk ki, az 1. számú képlet szerint.

$$K_{1:1} = \frac{tg\alpha}{S_0(1 - tg\alpha)} \quad (1)$$

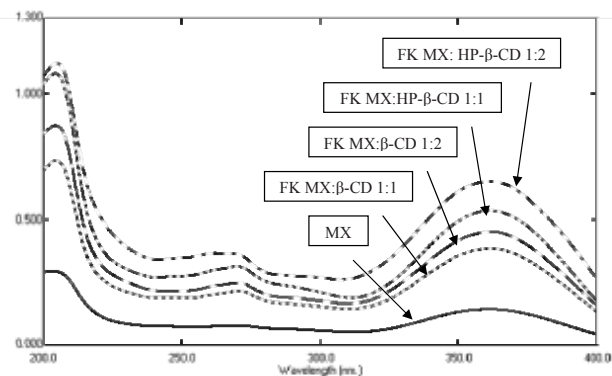
A β -CD esetében a $K_{1:1}$ értéke $150 M^{-1}$, amely az optimálisnak mondható 100 és $1000 M^{-1}$ értékek közé illeszkedik. A 100-nál kisebb értékek túl gyenge, az 1000-nél nagyobbak túl erős kötődést jelentenek. A HP- β -CD jelenlétében a $K_{1:1}$ $689 M^{-1}$, ez esetben is A_L típusú izotermát figyelhetünk meg (2. ábra).



2. ábra. Oldékonysági izoterma HP- β -CD jelenlétében

2. Spektrofotometriás vizsgálatok

A fizikai keverékek vizes oldatainak spektrumát vizsgálva az abszorbancia növekedés igazolja a β -CD-el 1:1 és 1:2 molarányban készített keverékek oldékonyságának a növekedését a tiszta meloxicáméhoz képest. Ugyanez figyelhető meg a HP- β -CD esetében is (3. ábra). Legnagyobb az oldékonyság növekedése – 4,5×-ös – a HP- β -CD-el, 1:2 molarányban készített termék esetén.



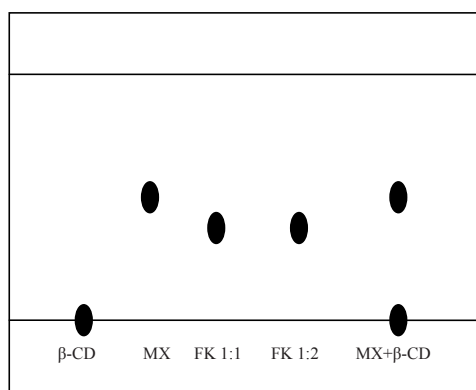
3. ábra. A meloxicám és a CD-ekkel készített FK-k UV spektruma (vizes oldatok)

3. Vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatok

A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatok választ adhatnak arra, hogy képződik-e zárványkomplex a meloxicám vendégmolekula és a tanulmányozott ciklodextrin gazdamolekula között, fizikai keverékek esetén. Állófázisként fluoreszkáló indikátort tartalmazó szilikagél lemezt (GF254), mozgófázisként etil-acetát – metanol és ammónia elegyét (17:3:0,35) használtuk [3,7]. A meloxicám 0,1%-os dimetil-formamid oldatát, a keverékek és a ciklodextrinek 0,5%-os vizes oldatát vizsgáltuk. A lemezre felvitt oldat mennyisége 80 μ l volt.

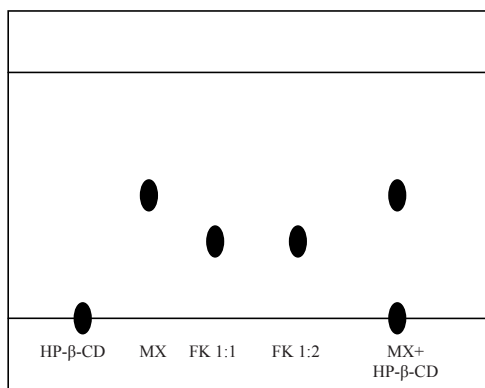
A lemezt kifejlesztés után UV fényben, 254 nm hullámhosszon vizsgálva látható a meloxicám foltja, 6 cm-re a felcseppentés helyétől, illetve a fizikai keverékek esetén 1-1 folt 4,8 cm-re. 0,05 %-os alkoholos jód-oldattal lepermetezve a lemezt a β -CD sárgás-barnára színeződő foltja az alapvonalon található – mert ilyen körülmények között nem vándorol –, a meloxicám és a fizikai keverékek foltja barnára színeződik. Az „in situ” keverékekben két foltot figyelhetünk meg, a β -CD és a meloxicám szintjén, amely azt bizonyítja, hogy az oldatokat egymásra cseppentve nem képződik komplex. A fizikai keverékek esetén, a meloxicámétól és ciklodextrinétől különböző retenciós faktorú (R_f) foltok, zárványkomplex képződésére utalnak (4. ábra).

Hasonlóan értékelhetőek a HP- β -CD-el képzett fizikai



4. ábra. A β -CD-es termék vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálata (R_f MX=0,38, R_f FK 1:1=0,30, R_f FK 1:2=0,30)

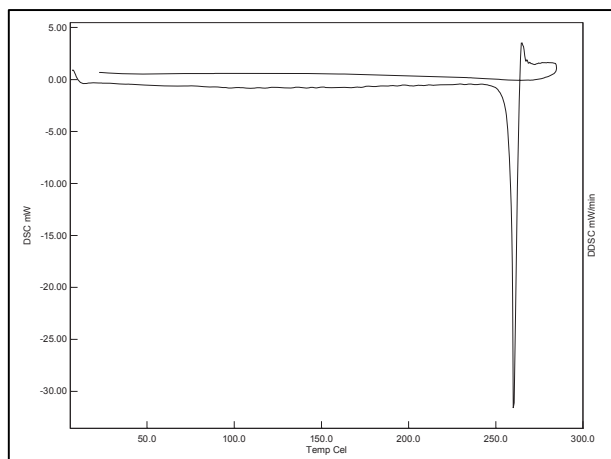
keverékek is (5. ábra). Ebben az esetben is a fizikai keverékek foltjának Rf értéke különbözik a meloxikám és a HP-β-CD Rf értékétől.



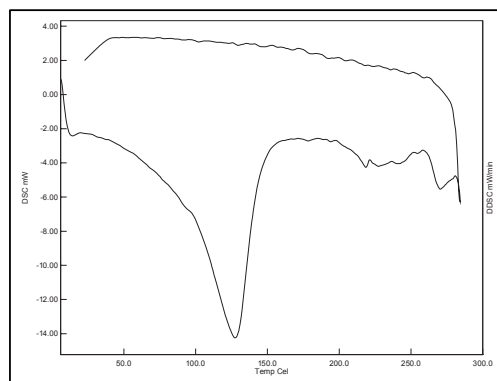
5. ábra. A HP-β-CD-es termék vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálata (Rf_{MX}=0,43, Rf_{FK 1:1}=0,33, Rf_{FK 1:2}=0,33)

4. Differenciális pásztázó kalorimetriás vizsgálatok

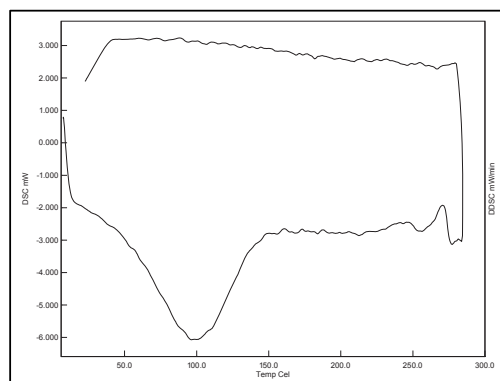
A differenciális pásztázó kalorimetriás vizsgálatok során a bemért anyagmennyiség minden esetben 10 mg volt. A meloxikám esetében egy éles endoterm csúcsot figyelhetünk meg 262 °C-nál, amely az anyag olvadáspontját jelzi (6.a. ábra). A β-CD esetében a 40 és 150 °C közötti szélesebb endoterm csúcs vízvesztésre utal (6.b. ábra). Az 1:1 molarányú fizikai keverék DSC görbáját, összevetve a meloxikám DSC görbéjével, megfigyelhetjük hogy a keverékben már nem jelenik meg a meloxikám endoterm csúcsa, ugyanígy az 1:2 molarányú keverékben sem (6. d., 6. e. ábra). A HP-β-CD esetében, a β-CD-hez hasonlóan, széles endoterm csúcs jelzi a vízvesztést (6. c. ábra). A HP-β-CD-el képzett keverékekben szintén eltűnik a meloxikám éles endoterm csúcsa, mind az 1:1, mind az 1:2 molarányú keverékekben (6. f., 6. g. ábra), ez egyértelműen zárvárkomplex képződésére utal mind a négy esetben.



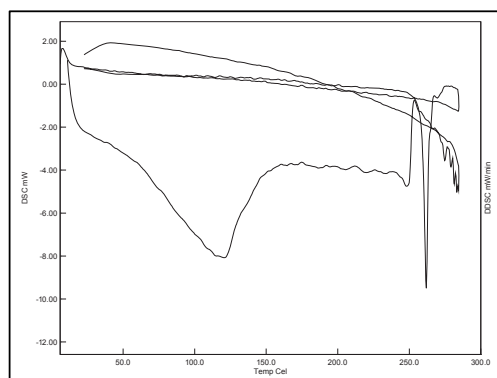
6.a. ábra. A meloxikám differenciális pásztázó kalorimetriás (DSC) görbéje



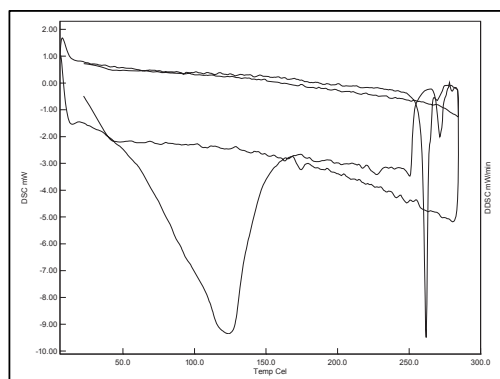
6.b. ábra. A β-CD DSC görbéje



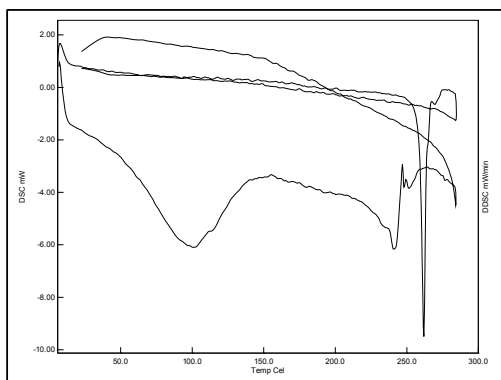
6.c. ábra. A HP-β-CD DSC görbéje



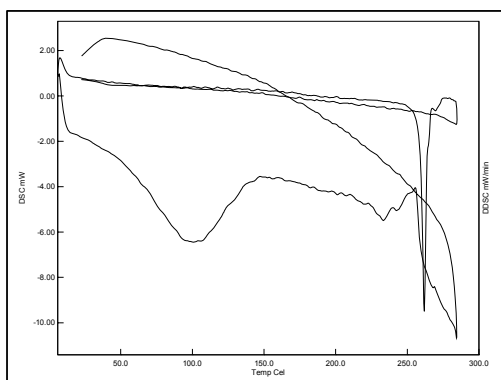
6.d. ábra. MX és FK MX:β-CD 1:1 DSC görbéje



6.e. ábra. MX és FK MX:β-CD 1:2 DSC görbéje



6.f. ábra. MX és FK MX:HP-β-CD 1:1 DSC görbéje



6.g. ábra. MX és FK MX:HP-β-CD 1:2 DSC görbéje

Megbeszélés, következtetések

Összegzésként elmondhatjuk, hogy a vizsgált ciklodextrinek alkalmasak a meloxicám oldékonyságának növelésére. Az oldékonyság legkedvezőbb az 1:2 molarányú HP-β-CD-el képzett fizikai keverékek esetén. A vékonyréteg-kromatográfias és differenciális pásztázó kalorimetriás vizsgálatok zárványkomplexek képződésére utalnak.

Irodalom

1. Baboota S., Agarwal S.P. – *Preparation and Characterisation of Meloxicam Hydroxy-Propyl β-Cyclodextrin Inclusion Complex*, Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2005, 51:219-224.
2. Emirhan N., Sedef K. – *Validated Determination of Meloxicam in Tablets by Using UV Spectrophotometry*, Hacettepe University, Journal of Faculty and Pharmacy, 2004, 24(1):13-24.
3. Gyéresi Á., Zsigmond Zs. – *Investigations on the Colour Reactions and Thin-Layer Chromatographic Separation of Five Cyclodextrin Derivates*, Proceedings of the 10th International Symposium on Instrumental Planar chromatography, Visegrád, 16-19 May, 1998, 133-144.
4. Loftsson T., Hreinsdottir D., Masson M. – *Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs*, Int. J. Pharmaceutics, 2005, 302:18-28.
5. Martin Del Valle E.M. – *Cyclodextrins and their uses: a review*, Process Biochem., 2004, 39:1033-1046.
6. Naidu N.B., Chowdary K.P.R., Murthy K.V.R. et al. – *Physicochemical characterization and dissolution properties of meloxicam-cyclodextrin binary systems*, J Pharm Biomed Anal, 2004, 35:75-86.
7. Şoica C., Gyéresi Á., Áigner Z. et al. – *Obţinerea și analiza complexilor de incluziune ai diureticelor sulfonamidice cu ciclodextrine*, Revista de Medicină și Farmacie, 2004, 50(2):196-200.
8. Szejtli J. – *Ciklodextrinek és zárványkomplexeik a biotechnológiában és vegyiparban*, Magyar Kémikusok Lapja, 1990, 45(3-4): 98-106.
9. *** *European Pharmacopoeia 6. Council of Europe*, Strasbourg, 2006.

Köszönetnyilvánítás

Az első szerző a vizsgálatok egy részét a CEEPUS program keretében a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézetében végezte, ezúton köszöni a lehetőséget és a segítségét Klebovich Imre egyetemi tanárnak, az Intézet igazgatójának és munkatársainak.