

УЛУЧШЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ ТРИТЕРПЕНОИДОВ КОРЫ БЕРЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ

Маяр Ю.Н.

Научный руководитель: д-р хим. наук, проф. СФУ Кузнецова С.А.

Институт химии и химической технологии СО РАН

Сибирский Федеральный университет

Бетулин (3 β ,28-дигидрокси-20(29)-лупен) – пентациклический тритерпеновый спирт, получаемый из коры березы, широко исследуется в последнее время благодаря фармакологической активности противовоспалительного, противовирусного, противоопухолевого действия. Производные бетулина, диацетат (ДАБ) и дипропионат (ДПБ), также являются ценными биологически активными веществами с широким спектром фармакологической активности. [1-2]

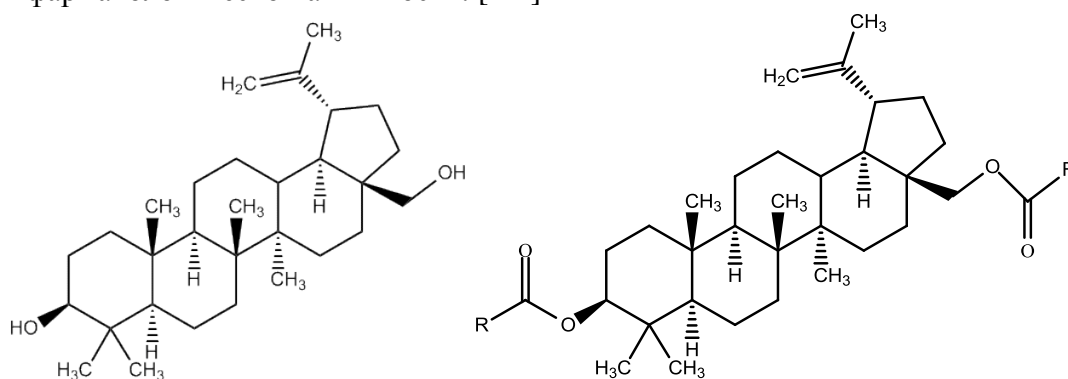


Рисунок 1. – Бетулин (а); сложные эфиры бетулина: R=CH₃-диацетат (б); R=CH₂-CH₃-дипропионат (в)

Однако одним из основных препятствий для их использования является нерастворимость в воде и физиологических растворах и плохая растворимость в органических растворителях. Одним из способов увеличения растворимости лекарственных веществ с целью повышения их биодоступности является механическая активация препаратов в присутствии вспомогательных веществ – носителей [3]. Механическая активация лекарственных веществ приводит к их диспергированию и разупорядочению кристаллической структуры вплоть до полной аморфизации, что способствует увеличению скорости растворения и растворимости субстанций. Добавление при этом полимерного носителя может стабилизировать разупорядоченное состояние лекарственного вещества посредством плакирования частиц и/или взаимодействия компонентов с образованием водородных или иных связей [4]. В качестве вспомогательных веществ чаще всего используют водорастворимые синтетические или природные полимеры или олигомеры, в частности арабиногалактан, поливинилпирролидон и др. [5-6].

Целью нашей работы являлась разработка методов улучшения растворимости бетулина, его диацетата и дипропионата с использованием механохимической активации с полимерными носителями.

Экспериментальная часть.

Бетулин, диацетат и дипропионат бетулина были получены в нашем институте по новым оригинальным методикам [7-9].

В качестве носителей использовали известные водорастворимые синтетические полимеры аэросил, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон и природный полимер арабиногалактан, который был получен в ИХХТ СО РАН по оригинальной методике[10].

Композиты получали механохимической обработкой бетулина и его производных с водорастворимыми полимерами в ударно-шаровой мельнице SPEX-8000. Время обработки варьировалось от 5 до 30 минут при нагрузке на мелющие тела 8-10g и отношении массы композиции к массе мелющих тел 1:30.

Растворение композитов изучали с использованием тестера растворимости 705 DS (Varian). Композиты растворяли в воде в течение 24 ч при температуре 37,5°C. Отобранные пробы центрифугировали в течение 15 мин при 8000 об/мин и отфильтровывали. Фильтрат выпаривали и растворяли в этиловом спирте. Концентрацию бетулина, ДАБ и ДПБ в спиртовом растворе определяли на жидкостном хроматографе Милихром А-02 (ЭкоНова, Россия). В качестве стандарта использовали спиртовые растворы бетулина, его диацетата и дипропионата.

ИК-спектры регистрировали методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в диапазоне частот 4000-600 см⁻¹ на Фурье ИК-спектрометре Digilab Excalibur 3100 (Varian) без прессования образцов.

Результаты и обсуждение.

При механической активации исходного бетулина, ДАБ и ДПБ, как показало исследование методом ВЭЖХ, химических изменений не происходит. Вместе с тем, результатом механической обработки является сильное разупорядочение кристаллической структуры исследуемых веществ.

Механическая активация смесей бетулина с ПВП приводит к гомогенизации смесей в результате диспергирования компонентов и образованию композитов. Наблюдается разупорядочение кристаллической решетки бетулина вплоть до полной аморфизации при увеличении содержания полимера.

Результатом механической активации является получение стабильного твердого раствора бетулина в ПВП-матрице. Стабилизация комплекса происходит за счет образования водородных связей (по данным ИК-спектроскопии). В ИК спектрах смесей бетулина с ПВП после МА наблюдаются изменения в области валентных колебаний ОН-групп (3200 – 3500 см⁻¹), максимум полосы сдвинут в сторону низкочастотной области. Изменяется контур полосы в области 1020 см⁻¹, соответствующей ν(C-O) в молекуле бетулина.

Растворение полученных композитов бетулина с полимерами в воде показало значительное увеличение содержания бетулина в растворе по сравнению с исходным и МА бетулином (табл. 1), а также с физическими смесями бетулина с ПВП и ПЭГ.

Таблица 1. Концентрации бетулина при растворении смесей с полимерами, мг/мл

Состав и характеристика смеси	ПВП 360000	ПВП 12600	ПЭГ 4000
Физ. смесь бетулин : полимер (1:3)	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \cdot 10^{-3}$
МА смесь бетулин : полимер (1:3)	$11,8 \cdot 10^{-3}$	$23,2 \cdot 10^{-3}$	$6,4 \cdot 10^{-3}$
Физ. смесь бетулин : полимер (1:10)	$2,8 \cdot 10^{-3}$	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \cdot 10^{-3}$
МА смесь бетулин : полимер (1:10)	$49,7 \cdot 10^{-3}$	$29,1 \cdot 10^{-3}$	$12,1 \cdot 10^{-3}$

Повышение растворимости может быть связано как с аморфизацией бетулина, так и с солюбилизующим действием полимеров и образованием межмолекулярного комплекса бетулина с ПВП.

В то же время диацетат и дипропионат бетулина не образуют молекулярные комплексы с ПВП и ПЭГ, поэтому в этих системах не были получены стабильные композиты.

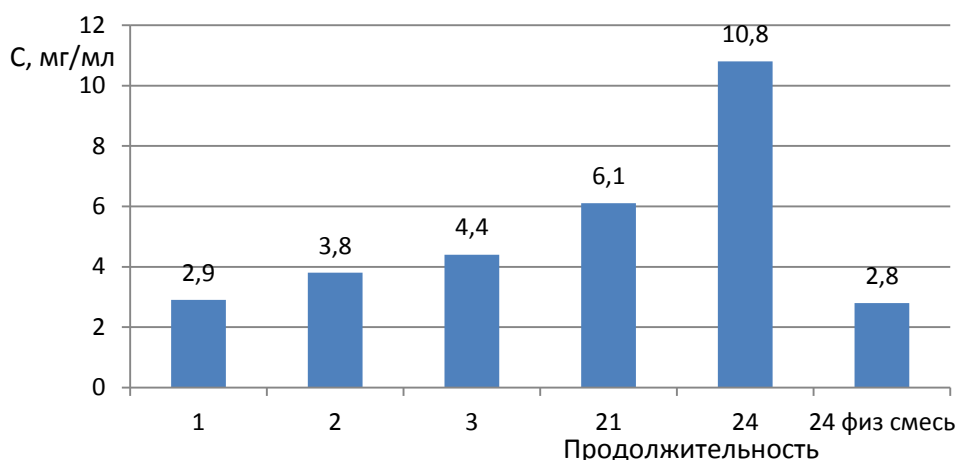


Рисунок 3 – содержание ДПБ в растворе при различной продолжительности растворения композита ДПБ-АГ (1:9)

Результатом механохимической обработки является разупорядочение кристаллической структуры ДАБ и ДПБ, что подтверждается физико-химическими исследованиями.

В ИК-спектрах смесей диацилов бетулина с АГ (рисунок 4) после механической активации наблюдаются изменения в области полосы поглощения $\nu(\text{O-H})$ (3200 – 3500 cm^{-1}). Изменяется контур полосы в области 1150 cm^{-1} , соответствующей $\nu(\text{C-O})$ в молекулах диацилов, и контур полосы в области 1720 cm^{-1} , соответствующей связи (C=O). Это свидетельствует о взаимодействии производных бетулина с АГ при механической активации с образованием водородных связей между ОН группами арабиногалактана и C=O группами ДАБ и ДПБ.

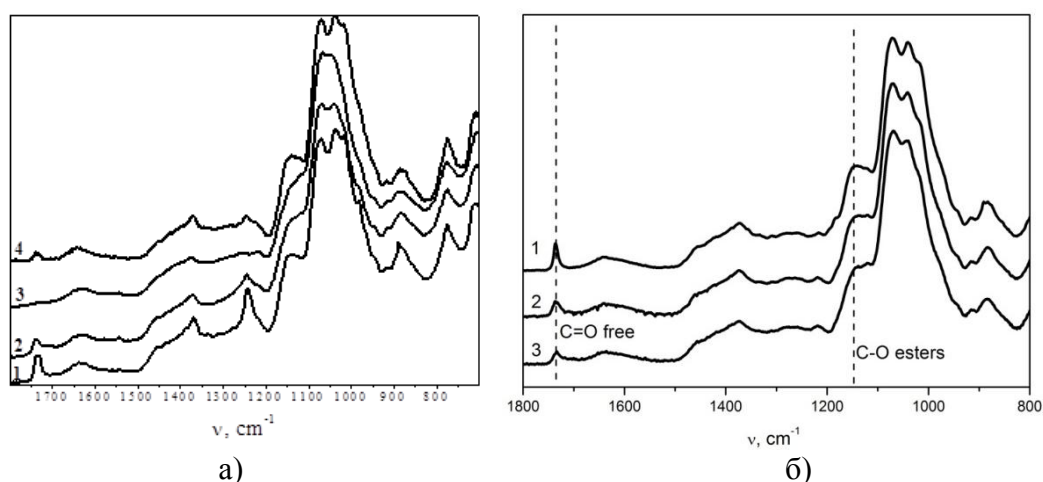


Рисунок 4 – ИК-спектры смесей а) ДАБ-АГ (1:9), б) ДПБ-АГ

В ИК-спектрах смесей диацилов бетулина с АГ после механической активации наблюдаются изменения в области полосы поглощения $\nu(\text{O-H})$ (3200 – 3500 cm^{-1}). Изменяется контур полосы в области 1150 cm^{-1} , соответствующей $\nu(\text{C-O})$ в молекулах

диацилов, и контур полосы в области 1720 см⁻¹, соответствующей связи (C=O). Это свидетельствует о взаимодействии производных бетулина с АГ при механической активации с образованием водородных связей между ОН группами арабиногалактана и C=O группами ДАБ и ДПБ.

Проведенное токсикологическое исследование полученных композитов на базе аккредитованного центра г. Красноярска показало, что композиты в дозе 4000 мг/кг не являются ядовитыми, что открывает перспективы для изучения их фармакологических свойств.

Выводы

Получены композиты бетулина и его диацилов с водорастворимыми полимерами. С помощью ИК-спектроскопии показано образование связей в композитах бетулин-ПВП, ДАБ-АГ, ДПБ-АГ, а также подтверждено разупорядочение кристаллической структуры исследуемых веществ после совместной механической активации.

Установлено, что растворимость полученных композитов повышается по сравнению с исходными веществами. Так, растворимость бетулина в смеси с полимерами по сравнению с исходным улучшилась в 20 раз, а для диацилов бетулина такое увеличение составило 3-5 раз.

Список литературы

1. Толстиков Г.А., Флехтер О. Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстиков А.Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность// Химия в инт. устойчивого развития. 2005. Т. 13, № 1. С. 1-30.
2. Василенко Ю.К., Семенченко В.Ф., Фролова Л.М. и др. Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы // Эксперим. и клин. фармакол. 1993. Т. 56. № 4. С. 53–55.
3. Shakhshneider T.P., Boldyrev V.V. Mechanochemical synthesis and mechanical activation of drugs. "Reactivity of Molecular Solids". Ed. E. Boldyreva, V. Boldyrev. John Wiley & Sons LTD. England. 1999. P. 271-312.
4. Дубинская А.М. Механохимия лекарственных веществ (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 1989. Т. 23, №6. С. 755-764.
5. Serajuddin A.T.M. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: Early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs // J. Pharm. Sci. 1999. V. 88, № 10. P. 1058 – 1066.
6. Yoshioka M., Hancock B.C., Zografí G. Inhibition of indomethacin crystallization in poly(vinylpyrrolidone) coprecipitates // J. Pharm. Sci. 1995. V. 84. P. 983 – 986.
7. Патент РФ № 2264411. Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Михайлов А.Г., Левданский В.А. Способ получения бетулина. Опубликовано 20.11.2005. Бюл. № 32.
8. Патент РФ № 2436791. Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Скворцова Г.П. Способ получения диацетата бетулинола. Опубликовано 20.12.2011. Бюл. № 35.
9. Патент РФ № 2469043. Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Маляр Ю.Н., Кузнецов Б.Н. Способ получения дипропионата бетулинола. Опубликовано 10.12.2012. Бюл. № 34.
10. Патент РФ № 2280040. Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Скворцова Г.П. Способ получения арабиногалактана. Опубликовано 20.07.2006. Бюл. № 20.