

## МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ЦЕСТОДОЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ

І. Д. ЮСЬКІВ<sup>1</sup>, А. В. ЛИСИЦЯ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Львівська національна академія ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького

<sup>2</sup>Інститут епізоотології УААН

*Наведено дані про хімічну сумісність ряду органічних і неорганічних препаратів (ніклозамід, празиквантел, сірка, натрію сульфат) та їх сумішей методом часопротитної плазмове-десорбційної мас-спектрометрії (ПДМС). Виявлено інтенсивні піки квазімолекулярних іонів антигельмінтиків у комплексних препаратах ніклозамід+сірка та ніклозамід+натрію сульфат у співвідношенні 1:5, а також празиквантел+сірка в співвідношеннях 1:5 і 1:10. Це дозволяє використати дані композиції інгредієнтів у препаратах для хіміопротифілактики цестодозів.*

**Ключові слова:** МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ (МС), КВАЗІМОЛЕКУЛЯРНІ ІОНИ (КМІ), НІКЛОЗАМІД, ПРАЗИКВАНТЕЛ, СІРКА, НАТРІЮ СУЛЬФАТ, ХІМІЧНА СУМІСНІСТЬ.

На фармацевтичному ринку наявні цестодоцидні препарати 2-го покоління – ніклозамід(фенасал) і 3-го покоління - празиквантел, котрі характеризуються високою ефективністю дегельмінтизації і доброю переносимістю [1]. Проте, розробники протипаразитарних засобів все частіше йдуть шляхом створення комплексних препаратів, що дозволяє ефективно протидіяти розвитку лікоопірних популяцій паразитів, зменшити дозу активно-діючої речовини і відповідно знизити токсичний вплив на тварин [2]. Створення комплексних препаратів на основі синтетичних органічних сполук у поєднанні з неорганічними хімічними сполуками дають можливість розширити арсенал антигельмінтиків. Мінеральні препарати мають перевагу перед продуктами органічного синтезу: вони не накопичуються в ґрунті, у тканинах тварин і рослин, не піддаються в організмі тварин хімічним перетворенням з утворенням отруйних дериватів.

Метою даної роботи було порівняльне дослідження органічних препаратів – ніклозамід і празиквантел та неорганічних – сірки і натрію сульфату методом часопротитної плазмове-десорбційної мас-спектрометрії для визначення фармацевтичної взаємодії.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на мас-спектрометрі біохімічному МСБХ-01 з іонізацією зразка уламками поділу ядер Cf-252 (ВАТ “SELMI”, Україна). Використовували прискорюючі напруги від +20кВ до -20кВ, обсяг накопичуваних даних розпаду Cf-252 (стартів) - 7 - 12 тисяч, ширина каналу детектування - 1 нс/канал, розчинені зразки в етанол-ацетоні (1:1) у кількості 80 мкл вносили серіями на несучий зразки диск. При створенні комплексних модельних схем *in vitro* для кожної серії експериментів попередньо знімали мас-спектри окремих інгредієнтів. Мас-спектри отримували за допомогою спеціальної комп'ютерної програми (МСБХ, версія 4.0/m) [3]. Ідентифікацію та оцінку цестодоцидних препаратів та їх сумішей, а також хімічну сумісність проводили за характером мас-спектрів, інтенсивністю та співвідношенням комплексу піків молекулярних (М), квазімолекулярних іонів (КМІ), типових аддуктів, асоціатів, похідних.

### Результати й обговорення

Фенадек (Phenadecum) являє собою суміш фенасалу-2 (ніклозамід) і декстрину в співвідношенні 1:1. Фенасал-2 – це 5,2'-дихлор-4'-саліциланлід з молекулярною масою  $M=327,07$  ( $C_{13}H_8N_2Cl_2O_4$ ), являє собою дрібнокристалічний порошок світло-сірого кольору, не піддається деструкції, полімеризації, окисненню на повітрі в контакт з декстрином, розчинний в ацетоні, бензолі, льодовій оцтовій кислоті при нагріванні. Декстрин – суміш продуктів часткового розщеплення гомополісахаридів, які складаються із глюкозних залишків. Він не піддається деструкції, полімеризації, окисненню при стандартних умовах зберігання. На мас-спектрах фенадеку в «-» іонах (рис. 1) чітко видно характерні іони ніклозаміду, зокрема:  $m/z$  326,0 - КМІ  $[M-H]^-$ , а  $m/z$  171,5 – характерний фрагмент молекули ніклозаміду.

Празиквантел USP27 (Praziqvantelum) у хімічному плані являє собою – (R,S) -2-циклогексилкарбоніл - 1,2,3,6,7,11 В-гексагідро-4 Н-піразино [2,1-а] ізохінолін-4-ОН, молекулярною масою  $M=312,40$  ( $C_{19}H_{24}N_2O_2$ ). Це білий дрібнокристалічний порошок, розчинний у хлороформі та етанолі. Як основний компонент празиквантел використовують у цілому ряді антигельмінтних препаратів різних лікарських форм (розчини, таблетки, пасти). На мас-спектрі празиквантелу в «+» іонах (рис. 2) пік  $m/z$  313,2 належить КМІ  $[M+H]^+$ .

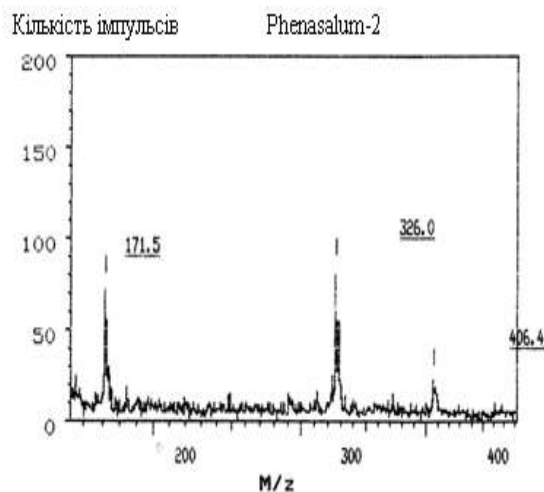


Рис. 1. Мас-спектр ПДМС фенадеку в «-» іонах

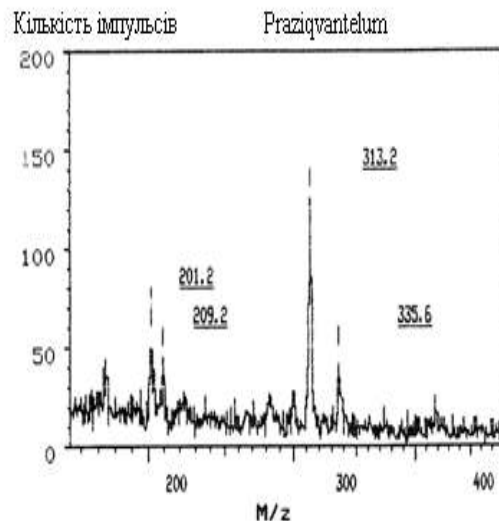


Рис. 2. Мас-спектр ПДМС празиквантелу в «+» іонах

Сірка очищена (Sulfus depuratum) марки 15-3 – дрібний порошок лимонно-жовтого кольору,  $M=32,06$ . Сірку використовують для поліпшення обміну речовин, прискорення росту, як проносний засіб, а також як антидот при отруєнні препаратами важких металів. На мас-спектрі (рис. 3) видні характерні КМІ сірки в «+» іонах  $m/z$  55,2 належить КМІ  $[M+Na^+]^+$ , а  $m/z$  97,6 -  $[3M+H]^+$ .

Натрію сульфат безводний (Natrii sulfas siccum, ДСТ 4166-76, чда) - безколірні, прозорі кристали, гірко-солоного смаку, молекулярною масою 142,04. У ветеринарній медицині його використовують для дегельмінтизації, при відгодівлі тварин і птиці, як антидот при отруєнні різними речовинами. На мас-спектрі (рис. 4) в «-» іонах пік  $m/z$  119,0 - КМІ  $[M-Na^+]$  - характерний аніон натрію сульфату ( $NaSO_4^-$ );  $m/z$  229,0 -  $[2M-2O-Na^+]$ ;  $m/z$  245,0 -  $[2M-O-Na^+]$ ;  $m/z$  261,0 -  $[2M-Na^+]$ . Порівнюючи мас-спектри неорганічних препаратів сірки очищеної і натрію сульфату (рис. 3 і 4) слід відзначити, що характерні піки іонів даних сполук чітко ідентифікуються.

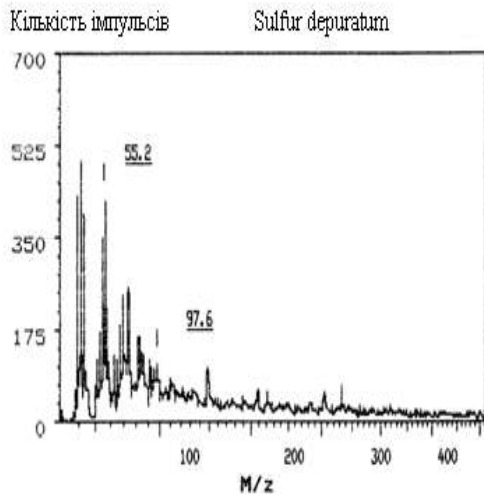


Рис. 3. Мас-спектр ПДМС сірки очищеної в «+» іонах

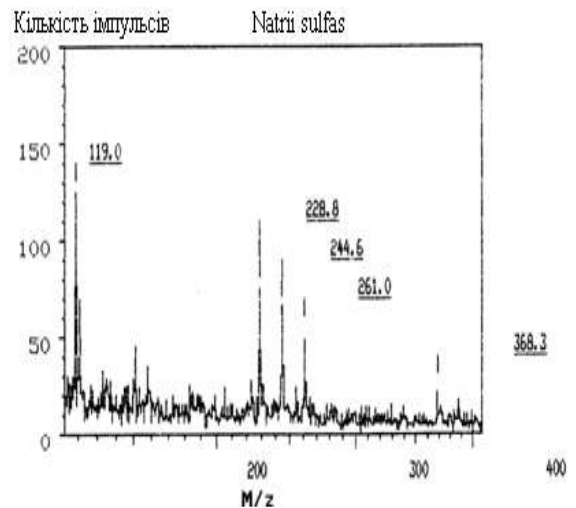


Рис. 4. Мас-спектр ПДМС натрію сульфат в «-» іонах

Знято мас-спектри сумішей фенадеку та сірки очищеної в “-” іонах у співвідношеннях 1:5 і 1:10 (рис. 5 і 6). На мас-спектрі (рис. 5) чітко видно типові іони:  $m/z$  326,0 – КМІ фенадеку (ніклозаміду)  $[M-H]^-$  і  $m/z$  171,6 – характерний фрагмент молекули ніклозаміду. Інтенсивність піків іонів в умовних одиницях значно вища у суміші фенадек+сірка у співвідношенні 1:5, ніж у чистій субстанції фенадеку (рис. 1). У суміші ці речовини добре зберігаються. На мас-спектрі (рис. 6) також видно піки  $m/z$  326,0 – КМІ фенадеку (ніклозаміду)  $[M-H]^-$  і  $m/z$  171,7 – характерний фрагмент молекули ніклозаміду, але вони дещо меншої інтенсивності, ніж у чистій субстанції фенадеку (рис. 1), а також у композиції фенадек+сірка у співвідношенні 1:5 (рис. 5).

На мас-спектрі суміші фенадеку та натрію сульфату в співвідношенні 1:5 (рис. 7) відзначають в “-” іонах пік  $m/z$  326,4 належить КМІ фенадеку (ніклозаміду)  $[M-H]^-$  і  $m/z$  171,0 характерний фрагмент молекули ніклозаміду. Інтенсивність характерних піків спектра досліджуваної композиції вищі, порівняно до чистої субстанції фенадеку. Разом з тим, на мас-спектрі суміші фенадеку та натрію сульфату в співвідношенні 1:10 (рис. 8), порівняно до чистої субстанції фенадеку в “-” іонах (рис. 1), інтенсивність піків квазімолекулярних іонів діючої речовини фенадеку і натрію сульфату виражені меншою мірою. Так, на мас-спектрі в “-” іонах (рис. 8)  $m/z$  324,7 – належить КМІ фенадеку (ніклозаміду)  $[M-H]^-$ , а  $m/z$  171,0,  $m/z$  260,9,  $m/z$  244,7,  $m/z$  229,0 – фрагментам молекули ніклозаміду. Ці дані свідчать про часткове руйнування молекули діючої речовини ніклозаміду, інтенсивність якого залежить від часу експозиції речовин у суміші.

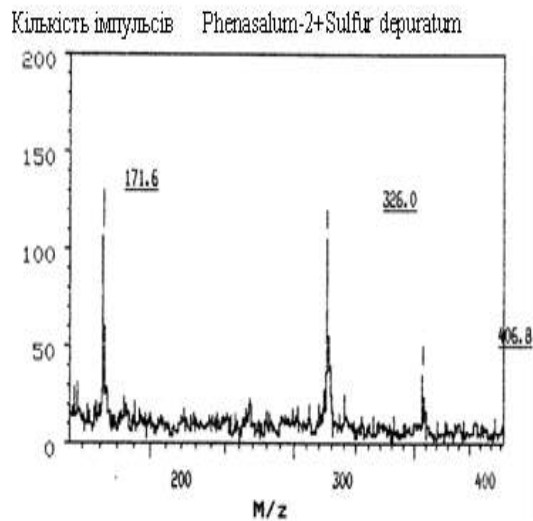


Рис. 5. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та сірки 1:5 в « $\rightarrow$ » іонах

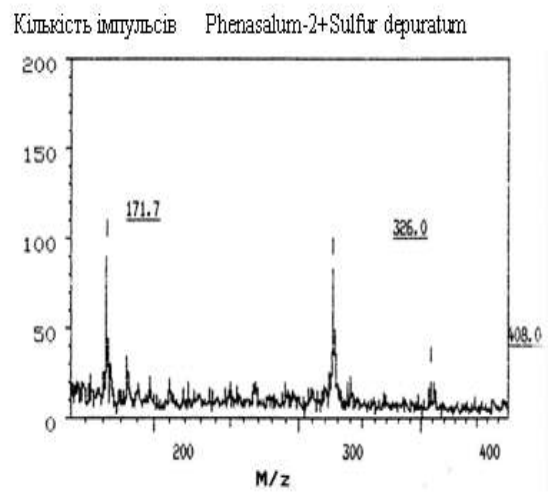


Рис. 6. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та сірки 1:10 в « $\leftarrow$ » іонах

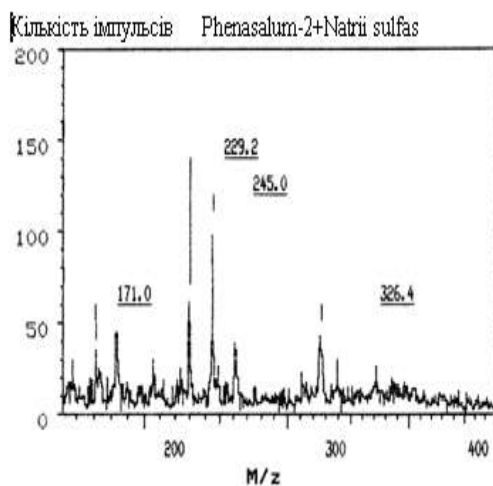


Рис. 7. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та натрію сульфату 1:5 в « $\rightarrow$ » іонах

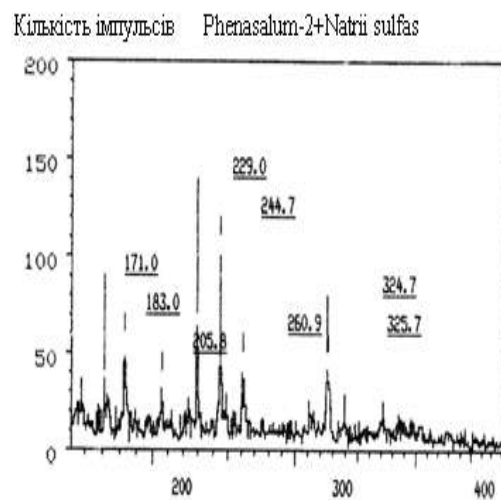


Рис. 8. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та натрію сульфату 1:10 в « $\leftarrow$ » іонах

Аналіз мас-спектрів у « $\leftarrow$ » іонах сумішей празиквантелу та сірки очищеної у співвідношеннях 1:5 і 1:10 (рис. 9 і 10) дозволяє припустити, що сірка підсилює антигельмінтну дію празиквантелу, особливо у співвідношенні 1:5. Так, на мас-спектрах модельних сумішей празиквантелу та сірки наявні характерні піки празиквантелу  $m/z$  313,0, що належить КМІ  $[M+H]^+$ .

Мас-спектри сумішей празиквантелу та натрію сульфату в співвідношеннях 1:5 і 1:10 (рис. 11 і 12), порівняно до чистої субстанції празиквантелу (рис. 2) в « $\leftarrow$ » іонах показали, що піки празиквантелу стали зменшуватись внаслідок руйнування активно-діючої речовини. Інтенсивність КМІ празиквантелу зменшилась, але не змінились КМІ  $[M+Na]^+$  натрію сульфату. Ймовірно, що празиквантел під дією натрію сульфату частково руйнується, що вказує на недоцільність змішування цих речовин у модельних сумішах. Зі збільшенням концентрації натрію сульфату, відбувається лише збільшення інтенсивності піків уламків

молекули празиквантелу (рис. 11, 12) пік  $m/z$  165,4 в «+» іонах - належить КМІ натрію сульфату  $[M+Na]^+$ .

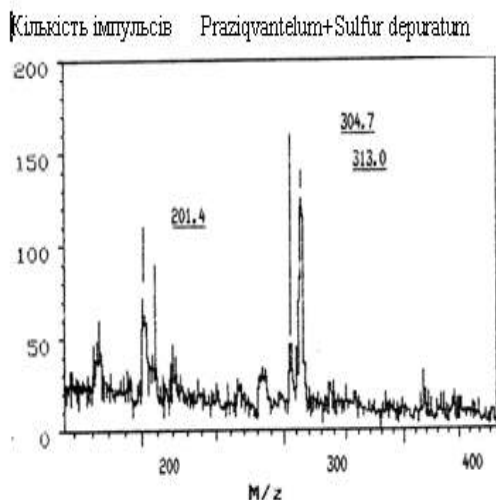


Рис. 9. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та сірки 1:5 в «+» іонах

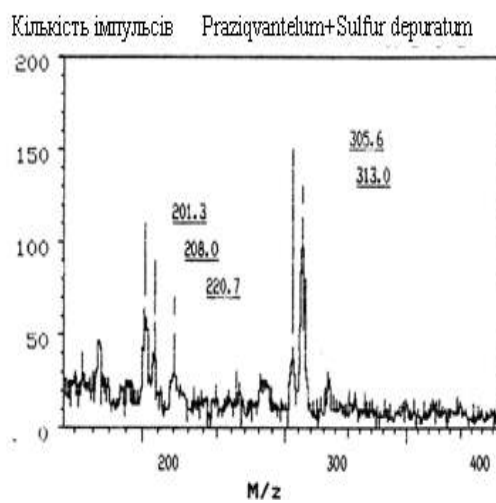


Рис. 10. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та сірки 1:10 в «+» іонах

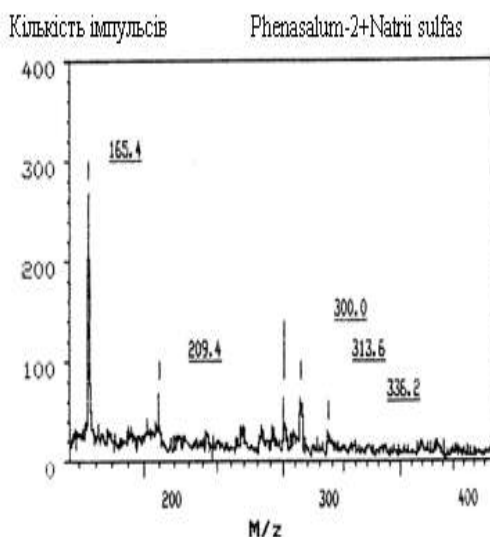


Рис. 11. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та натрію сульфату 1:5 в «+» іонах

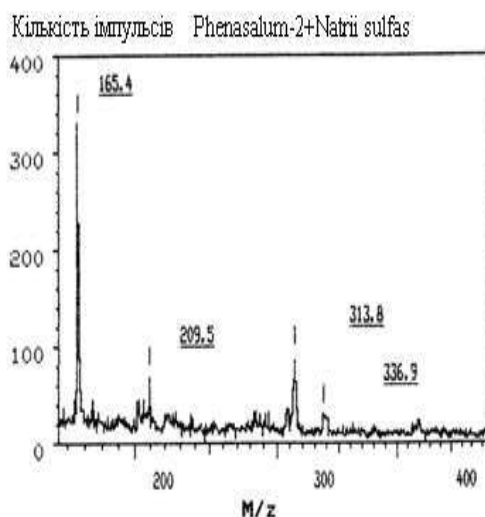


Рис. 12. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та натрію сульфату 1:10 в «+» іонах

Основні піки на мас-спектрах фенадеку і модельної суміші фенадек+сірка та фенадек+натрію сульфат у співвідношенні 1:5, а також на мас-спектрах празиквантелу і модельної суміші празиквантел+сірка у співвідношеннях 1:5 і 1:10 збереглися і дещо збільшилось співвідношення їх інтенсивності порівняно до чистих субстанцій.

Через 20 днів витримки активно-діючих речовин у розчині, нами були одержані відмінні мас-спектри. Мас-спектр празиквантелу в «+» іонах (рис. 14) показав, що він зруйнувався, а спектр фенадеку (ніклозаміду) в «-» іонах (рис. 13) характеризується малопомітними піками:  $m/z$  326,9, що належить КМІ  $[M-H]^-$  і  $m/z$  171,0, котрий належить характерному фрагменту молекули ніклозаміду.

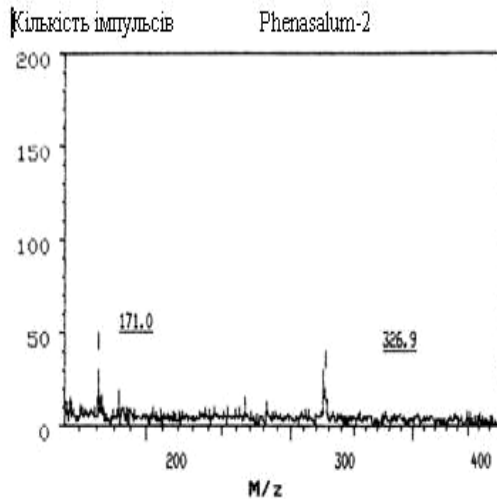


Рис.13. Мас-спектр ПДМС фенадеку в «-» іонах через 20 днів

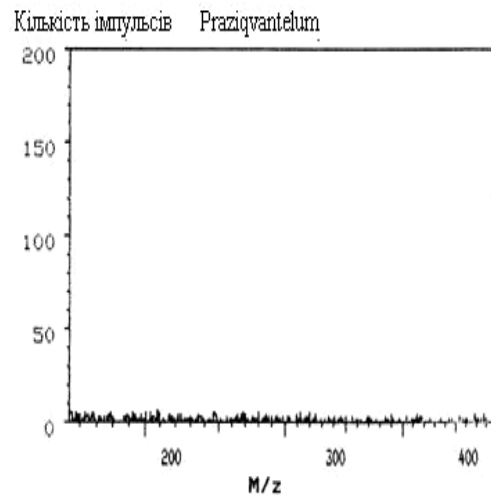


Рис. 14. Мас-спектр ПДМС празиквантелу в «+» іонах через 20 днів

Суміші фенадеку та сірки через 20 днів витримки в розчині у співвідношеннях 1:5 і 1:10 в «-» іонах (рис. 15 і 16) на мас-спектрах показали, що активно-діюча речовина (ніклозамід) майже повністю зруйнувалась.

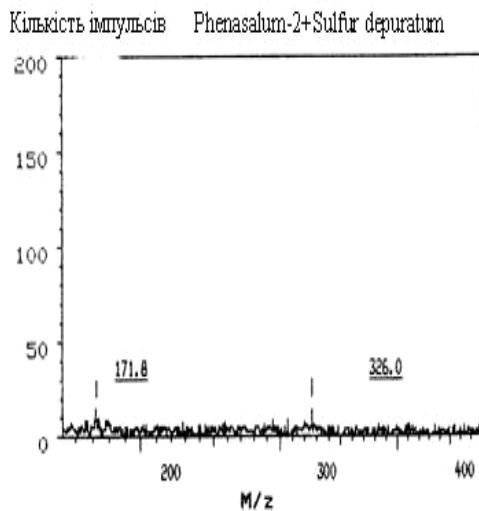


Рис. 15. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та сірки 1:5 в «-» іонах через 20 днів

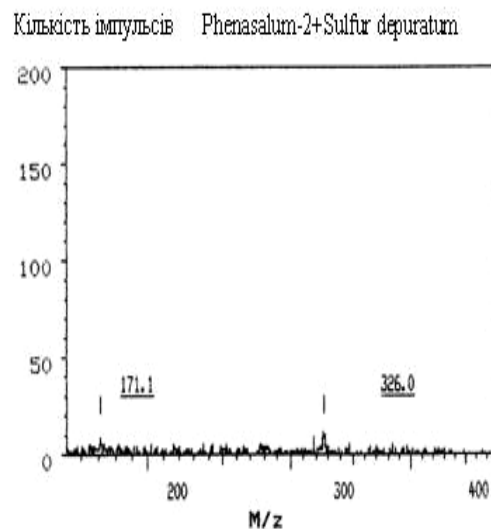


Рис. 16. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та сірки 1:10 в «-» іонах через 20 днів

Мас-спектри фенадеку та натрію сульфату через 20 днів у співвідношенні 1:10 (рис. 18) показали, що діюча речовина (ніклозамід) майже повністю зруйнована, а в співвідношенні 1:5 – спектр містить характерні піки фенадеку (ніклозаміду):  $m/z$  326,0 належить КМІ  $[M-H]^-$ , а  $m/z$  171,4 - належить КМІ  $[M-H]^-$  (рис. 17), порівняно до чистої субстанції фенадеку через 20 днів (рис. 13).

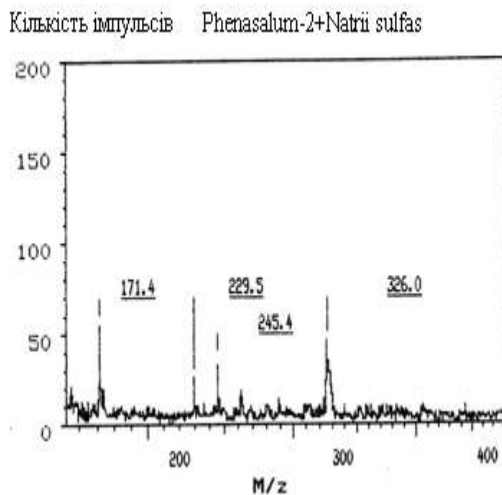


Рис. 17. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та натрію сульфату 1:5 в « $\langle\langle-\rangle\rangle$ » іонах через 20 днів

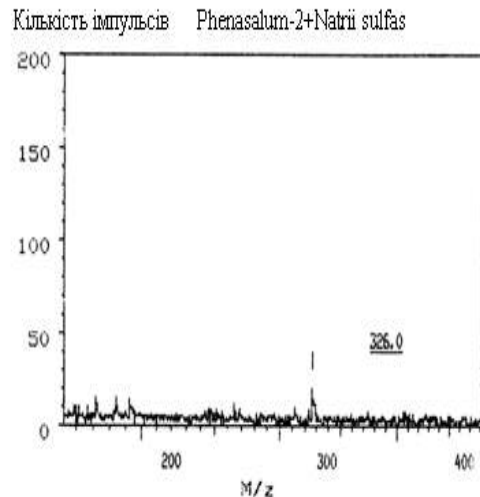


Рис. 18. Мас-спектр ПДМС суміші фенадеку та натрію сульфату 1:10 в « $\langle\langle-\rangle\rangle$ » іонах через 20 днів

Показники суміші празиквантелу та сірки через 20 днів у співвідношеннях 1:5 і 1:10 в (рис. 19 і 20) на мас-спектрах вищі КМІ, порівняно до мас-спектру чистої субстанції празиквантелу через 20 днів (рис. 14). У модельних дослідних композиціях (рис. 19, 20) мас-спектри празиквантелу в « $\langle\langle+\rangle\rangle$ » іонах містять характерний пік  $m/z$  313,0, що належить КМІ празиквантелу  $[M+H^+]^+$ .

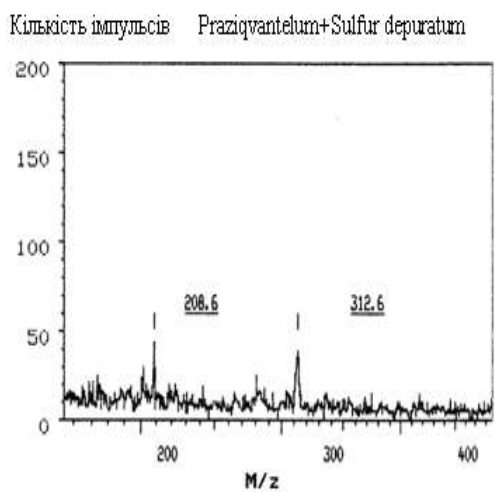


Рис. 19. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та сірки 1:5 в « $\langle\langle+\rangle\rangle$ » іонах через 20 днів

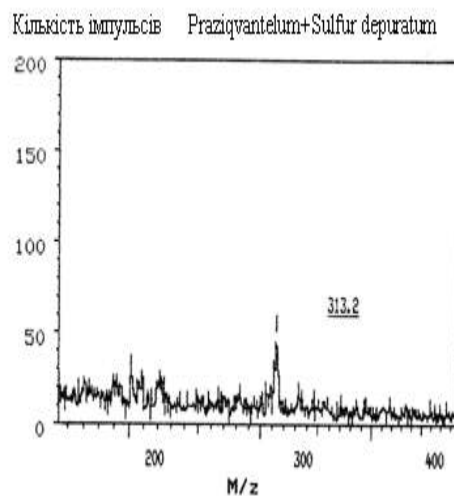


Рис. 20. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та сірки 1:10 в « $\langle\langle+\rangle\rangle$ » іонах через 20 днів

Мас-спектри суміші празиквантелу та натрію сульфату в « $\langle\langle+\rangle\rangle$ » іонах у співвідношеннях 1:5 і 1:10 через 20 днів (рис. 21 і 22) показали, що активно-діючі речовини практично повністю зруйнувалися.

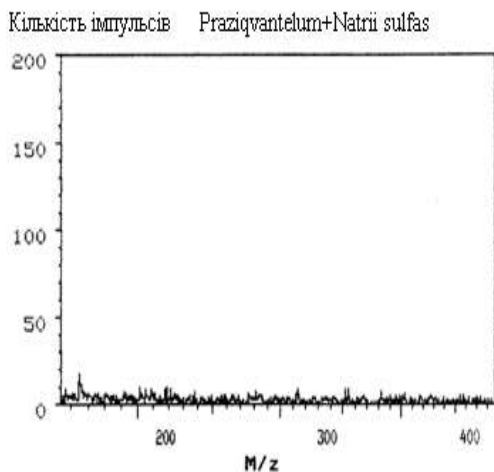


Рис. 21. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та натрію сульфату 1:5 в «+» іонах через 20 днів

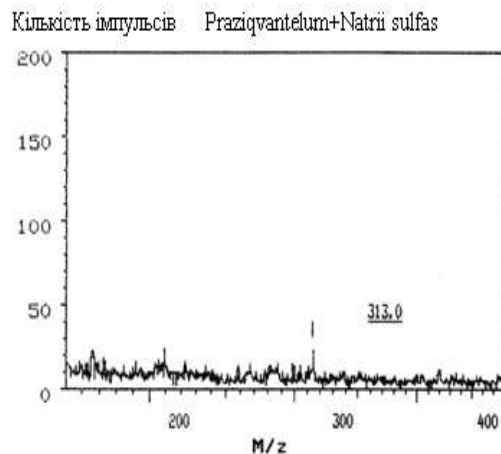


Рис. 22. Мас-спектр ПДМС суміші празиквантелу та натрію сульфату 1:10 в «+» іонах через 20 днів

### Висновки

В досліджах *in vitro* показано, що фармакологічно доцільно застосовувати антигельмінтні композиції: фенадек+сірка та фенадек+натрію сульфат у співвідношенні 1:5; празиквантел+сірка в співвідношеннях 1:5 і 1:10. Їх мас-спектри характеризуються більшою інтенсивністю та співвідношенням комплексу піків квазімолекулярних іонів і аддуктів, порівняно до чистих субстанцій органічних препаратів фенадеку (ніклозаміду) і празиквантелу. Випробування модельних композицій: фенадек + сірка (1:10); фенадек + натрію сульфат (1:10); празиквантел та натрію сульфат (1:5 і 1:10) себе не виправдовують через часткове руйнування молекул діючої речовини.

*I.D.Yuskiv, A.V.Lysytsya*

### MAS-SPECTROMETER ANALYSIS OF ANTICESTODOSITIC MEDICATIONS

#### S u m m a r y

The data about chemical complementarity of some organic and inorganic preparations (Niklozamidum, Praziquantelum, Sulfus depuratum, Natrii sulfas siccum ) and their mixtures by the method of time-of-flight plasma desorption mass spectrometry (TOF-PDMS) have been represented. The intensive picks of quasi molecular ions of antihelmintics in complex preparations Niklozamidum+sulfur and Niklozamidum+sodium sulfate in proportion 1:5, and also Praziquantelum+sulfur in proportion 1:5 and 1:10 have been shown. That enables the use of these compositions in preparation for chemo prophylactics of caestododes.

S.Z.Gzhytskyj National Academy of Veterinary Medicine in Lviv  
The Institute of Epizootology at the the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

1. Создание отечественных противопаразитарных препаратов. Лебедева М. Н., Михайлицын Ф. С., Сергиев В. П. и др. // Мед. паразитология.-М.-2001.-№12.- С.13-16.
2. Березовський А. В. Основні етапи розвитку виробництва антигельмінтних хімотерапевтичних речовин // Вестник зоології.- К.-2005.-№19.-С.41-48.
3. Мандигра М., Бялецький С., Лисиця А. Застосування мас-спектрометричного методу у ветеринарній фармакології й токсикології // Ветер. мед. України.- К.-2000.- №1.- С.34-35.