

Arh.farm. 2016;66: 147 – 160

Originalni naučni rad /Original scientific paper

Praćenje građenja kompleksa aktivne farmaceutske supstance i β -ciklodekstrina kao aditiva mobilne faze primenom masene spektrometrije

Andela Milenković, Dragana Miljić, Jelena Mitrović*, Ana Protić, Biljana Otašević

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za analitiku lekova,
Vojvode Stepe 450, 11 152 Beograd

*e-mail:mitrovic.jelena92@gmail.com

Kratak sadržaj

Poslednjih godina sve više se teži smanjenju upotrebe toksičnih rastvarača u hromatografskim metodama. U te svrhe često se upotrebljavaju beta-ciklodekstrini (β -CD) kao modulatori retencije supstanci. Povećavanjem njihove koncentracije u mobilnoj fazi uglavnom dolazi do smanjenja retencije analita i, posledično, do smanjenja udela organskog rastvarača u mobilnoj fazi. Cilj rada bio je ispitivanje načina formiranja inkluzionih kompleksa β -CD i odabranih lekova iz grupe sartana, sa posebnim osvrtom na uticaj pH vrednosti vodene faze, molarnog odnosa leka i β -CD i vrste organskog rastvarača na formiranje kompleksa. Primenom metode masene spektrometrije, na triplkvadрупolskom masenom analizatoru, vršena je karakterizacija formiranog kompleksa β -CD i leka pri različitom molarnom odnosu lek: β -CD (1:1, 1:2, 1:5 i 1:10) i pri pH vrednostima vodene faze 5, 7 i 9. Mobilna faza i rastvarač u kome su formirani kompleksi bila je smeša acetonitrila i vode, kao i smeša metanola i vode (50:50, V/V). Merenja intenziteta signala nagrađenih kompleksa nakon elektrosprej jonizacije vršena su u negativnom modu. Uočene su m/z vrednosti koje potiču od masa kompleksa leka i β -CD u odnosu 1:1 pri svim pH vrednostima vodene faze i nezavisno od vrste organskog rastvarača i udela β -CD. Uočeno je da intenzitet signala nastalog kompleksa raste jedino povećanjem udela β -CD.

Ključne reči: masena spektrometrija, inkluzioni kompleksi, beta-ciklodekstrin, sartani.

1. Uvod

U novije vreme sve više se teži ka primeni principa zelene hemije u analitici lekova, posebno u toku razvoja metoda tečne hromatografije. S obzirom da se u farmaciji hromatografske metode koriste kako tokom istraživanja i razvoja, tako i u rutinskim ispitivanjima i kontroli kvaliteta farmaceutskih proizvoda, potrebno je obratiti posebnu pažnju na karakteristike metode sa stanovišta bezbednosti analitičara i uticaja na životnu sredinu. U cilju smanjenja količine otpada koji potiče od upotrebljenih organskih rastvarača u farmaceutskoj industriji, intenzivno se razmatraju nova ekološki prihvatljivija rešenja. Najšire je prihvaćeno pravilo 3R (eng. *Reduce - Replace - Recycle*) koje podrazumeva razvoj hromatografskih metoda sa smanjenom upotrebom toksičnih rastvarača ili njihovom zamenom manje toksičnim rastvaračima, odnosno rastvaračima koji se mogu lako prerađivati (1-3).

U literaturi se pominje upotreba ciklodekstrina (CD) kao jedan od načina smanjenja količine organskih rastvarača u hromatografskoj analizi (4). U hromatografskim metodama CD se koriste za razdvajanje enantiomera i kao modifikatori mobilne faze u cilju smanjenja retencije supstanci uz istovremeno smanjenje udela organskog rastvarača. Primećeno je da što je veća količina CD u mobilnoj fazi manja je retencija analita i, posledično, smanjuje se udeo organskog rastvarača (5,6).

Ciklodekstini su oligosaharidi dobijeni enzimskom razgradnjom skroba i sadrže 6 (α -CD), 7 (β -CD) ili 8 (γ -CD) jedinica D-glukoze, povezanih α -1,4 glikozidnim vezama (7). Zahvaljujući svojoj strukturi β -CD sa mnogim supstancama mogu da grade nekovalentne inkluzione komplekse rastvorljive u vodi. Imaju oblik zarubljene kupe, pri čemu je spoljašnjost kupe hidrofилna, dok se u unutrašnjosti nalazi šupljina koja je relativno hidrofobna i prekrivena je glikozidnim etarskim mostovima i C-H grupama (4). Uži spoljašnji obod kupe je obložen primarnim alkoholnim grupama, a širi obod je obložen sekundarnim alkoholnim grupama. Prilikom stvaranja kompleksa sa β -CD manje polarni deo molekule „gosta” se uvlači u šupljinu, dok su polarnije grupe u kontaktu sa polarnim rastvaračem (8). Tako, fenil grupe molekule „gosta” kao hidrofobne lako se uklapaju u šupljinu β -CD, a amino, alkoholne, fenolne i karbonilne grupe omogućavaju interakcije sa hidrofилnim grupama na spoljašnjoj površini β -CD formiranjem vodoničnih veza, omogućavajući na taj način dodatnu stabilizaciju nagrađenog kompleksa (9). Uklapanje molekula u šupljinu β -CD, odnosno komplementarnost između njihovih veličina, određuje stabilnost kompleksa i selektivnost procesa kompleksiranja (10,11). β -CD i molekul „gost” mogu da formiraju komplekse u različitim odnosima (9).

Niz različitih fizičko-hemijskih metoda se pominje u literaturi za ispitivanje formiranja kompleksa i karakteristika kompleksa malih molekula sa β -CD. Neke od tih

metoda su: NMR, konduktometrijska titracija, spektrofotometrijske i fluorometrijske tehnike (12). Međutim, sve navedene metode mogu dovesti do pogrešnih zaključaka te je za analizu formiranih kompleksa primenjena masena spektroskopija (MS) (9). Prednost MS u odnosu na druge analitičke metode je pre svega u većoj osetljivosti i jednostavnosti, kao i mogućnosti utvrđivanja stehiometrije, budući da daje podatke o molekulskoj masi. MS elektrosprej jonizacija (ESI-MS) spada u relativno meke tehnike jonizacije, zbog čega ne dovodi do raskidanja slabih nekovalentnih veza u kompleksima koji nastaju između leka i β -CD (13,14).

Cilj ovog rada bio je ispitivanje formiranja kompleksa β -CD i leka iz grupe sartana (losartan, valsartan, eprosartan, irbesartan, telmisartan i olmesartan) i njihove stabilnosti na različitim pH vrednostima mobilne faze, pri različitim odnosima leka i β -CD i različitom sastavu mobilne faze.

2. Eksperimentalni deo

Standardi losartana, valsartana, eprosartan-mesilata, irbesartana, telmisartana i olmesartana su dobijeni od Sigma-e (Taufkirchen, Nemačka). Acetonitril HPLC čistoće i metanol HPLC čistoće su nabavljeni od Sigma Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen Nemačka). Prečišćena voda, koja je korišćena za pripremu mobilne faze, dobijena je iz Simplicity 185 sistema za prečišćavanje, Millipore (Billerica, MA, USA). Sirćetna kiselina i amonijum-hidroksid, koji su korišćeni za podešavanje pH vrednosti vodene faze, nabavljeni su od Sigma Aldrich (Taufkirchen, Nemačka). pH vodene faze je podešen pomoću PH M210 standardnog pH-metra (Radiometer Analytical SAS, Francuska) opremljenog staklenom elektrodom. Pre upotrebe, mobilna faza je filtrirana kroz najlonski membranski filter veličine pora 0,45 μ m (Agilent Technologies, Santa Clara, USA).

Osnovni rastvori odabranih sartana pravljani su u koncentraciji od 20 μ g mL⁻¹ u smeši acetonitrila i vode (50:50, *V/V*) i u smeši metanola i vode (50:50, *V/V*). Osnovni rastvor β -CD napravljen je u koncentraciji 2,5 mmol L⁻¹ u vodi.

Pipetirane su određene zapremine osnovnih rastvora odabranih sartana i β -CD tako da molarni odnos lek: β -CD bude 1:1, 1:2, 1:5 i 1:10, a da pritom koncentracija odabranog sartana u dobijenom rastvoru bude 10 μ g mL⁻¹. Kao rastvarač korišćena je smeša acetonitril:voda (50:50, *V/V*) za prvi set ispitivanja, odnosno smeša metanol:voda (50:50, *V/V*) za drugi set ispitivanja. Kako bi se sprečila kontaminacija između merenja, kapilara i špric za injektovanje ispirani su acetonitrilom.

Mobilna faza se sastojala od acetonitrila-vodene faze pH 5 (50:50, *V/V*), acetonitrila-vodene faze pH 7 (50:50, *V/V*), acetonitrila-vodene faze pH 9 (50:50, *V/V*), metanola-vodene faze pH 5 (50:50, *V/V*), metanola-vodene faze pH 7 (50:50, *V/V*), metanola-vodene faze pH 9 (50:50, *V/V*).

MS analiza je vršena korišćenjem Thermo Scientific TSQ Quantum Access Max (Thermo Fisher Scientific Inc.) trostrukog kvadrupolskog masenog analizatora. Podešavanje masenog spektrometra, odnosno optimizacija negativnog moda ESI izvora, izvedena je rastvorima standarda odabranih lekova i β -CD pri koncentracijama od $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Oba standardna rastvora su unošena u sistem direktno pomoću špric pumpe pri protoku od $3 \mu\text{L min}^{-1}$ pri definisanim sastavima mobilne faze. MS analiza je vršena primenom elektrosprej jonizacije u negativnom modu (-ESI) pri naponu raspršivanja od 4000 V, temperaturi isparavanja od 325°C , pritisku gasa od 40 psi i temperaturi kapilare od 211°C . Kao kolizioni gas korišćen je argon. Pozitivan mod nije bio korišćen jer kompleksi β -CD i lekova nisu bili detektovani. Kompleksi su bili detektovani jedino u negativnom modu zbog čega je on korišćen za dalja ispitivanja. Opseg skeniranja vrednosti m/z odnosa je podešen na 100-3000 m/z , mada iznad vrednosti m/z odnosa 2000 ni u jednom slučaju nije bilo izraženih pikova, te je zaključeno da se grade samo inkluzioni kompleksi lek: β -CD u odnosu 1:1, a ne i u odnosu 2:1 ili 1:2.

Radi utvrđivanja načina vezivanja leka za molekul β -CD, što bi bilo od velike koristi u daljem razvoju hromatografske metode, urađena je *Docking* analiza pomoću programa Auto Dock v4.2.6 (15), The Scripps Research Institute, CA, U.S.A. Strukture ispitivanih sartana kao liganada dobijene su primenom Chem Office v7.0. Ultra software package i optimizovane primenom semi-empirijskog modela MOPAC/AM1 do konformera sa minimalnim sadržajem energije. Svaki doking eksperiment sastojao se od 50 doking ranova sa maksimalnim brojem energetskih iteracija od 10 000. Za ostale parametre, koje koristi program, zadržane su osnovne vrednosti. Istraživanje je sprovedeno u mreži koja se sastojala od 40 linija u mreži (za x, y i z osu) sa razmakom od 0,375 između linija u okviru mreže. Centriranje je izvršeno u odnosu na mesto vezivanja liganada, u ovom slučaju β -CD.

3. Rezultati i diskusija

Podešavanje parametara masenog spektrometra vršeno je rastvorima standarda odabranih sartana i β -CD. Pri tome su uočene sledeće vrednosti m/z odnosa molekulskih jona: 421 za losartan, 434 za valsartan, 422 za eprosartan, 427 za irbesartan, 515 za telmisartan, 557 za olmesartan, i 1133 za β -CD. Radi potvrde strukture β -CD rađena je njegova fragmentacija i dobijeni su fragmenti sledećih vrednosti m/z odnosa: 1013, 851, 681 i 527.

3.1. Analiza kompleksa lek- β -CD

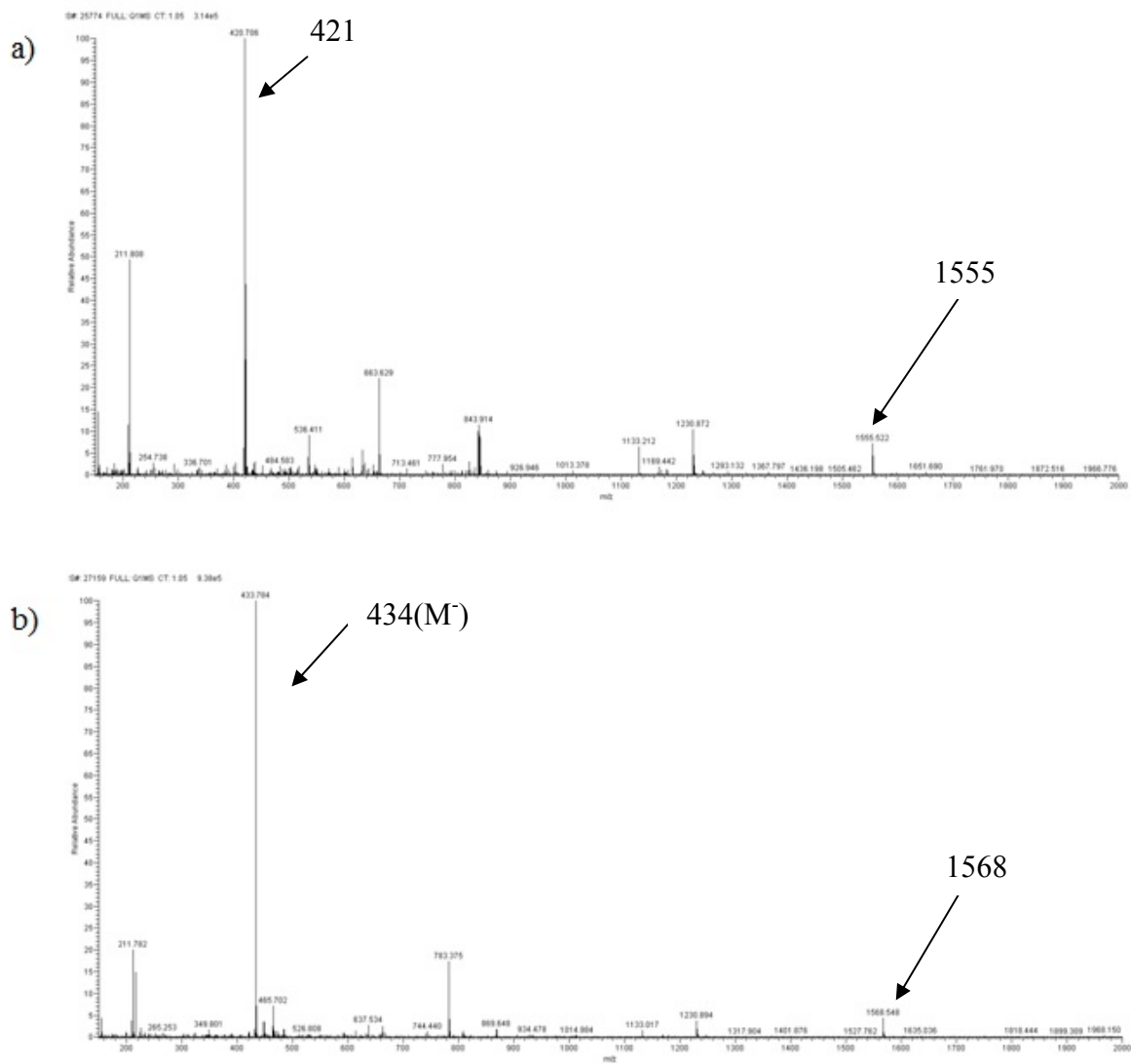
U cilju ispitivanja formiranja inkluzionih kompleksa leka i β -CD, kao i ispitivanja u kom odnosu lek - β -CD formiraju kompleks, kroz MS su propuštani rastvori u kojima su lek i β -CD bili u molarnom odnosu 1:1, 1:2, 1:5 i 1:10 pri pH vrednostima mobilne faze 5, 7 i 9. Potvrda formiranja inkluzionih kompleksa bila je vrednost m/z odnosa koja

odgovara zbiru masa β -CD i odgovarajućeg molekuskog jona leka (losartan – β -CD 1555; valsartan – β -CD 1568; eprosartan – β -CD 1558; irbesartan – β -CD 1562; telmisartan – β -CD 1647 i olmesartan – β -CD 1692) (Slika 1, 2 i 3). Poznato je da se u MS spektru mogu uočiti ne samo mase koje odgovaraju kompleksu leka i β -CD, već i elektrostatičkim aduktima koji se formiraju tokom procesa elektrosprej jonizacije (14). Ostali signali polimera u prikazanim MS spektrima potiču od nečistoća i nagrađenih adukt jona, što je potvrđeno analizom standardnih rastvora. Važno je pomenuti da su kompleksi formirani već pri odnosu lek - β -CD 1:1, a stabilnost njihovog signala se povećava sa povećanjem udela β -CD u rastvoru, tako da se najbolje uočavaju kompleksi pri analizi rastvora u kojima je odnos lek: β -CD 1:10.

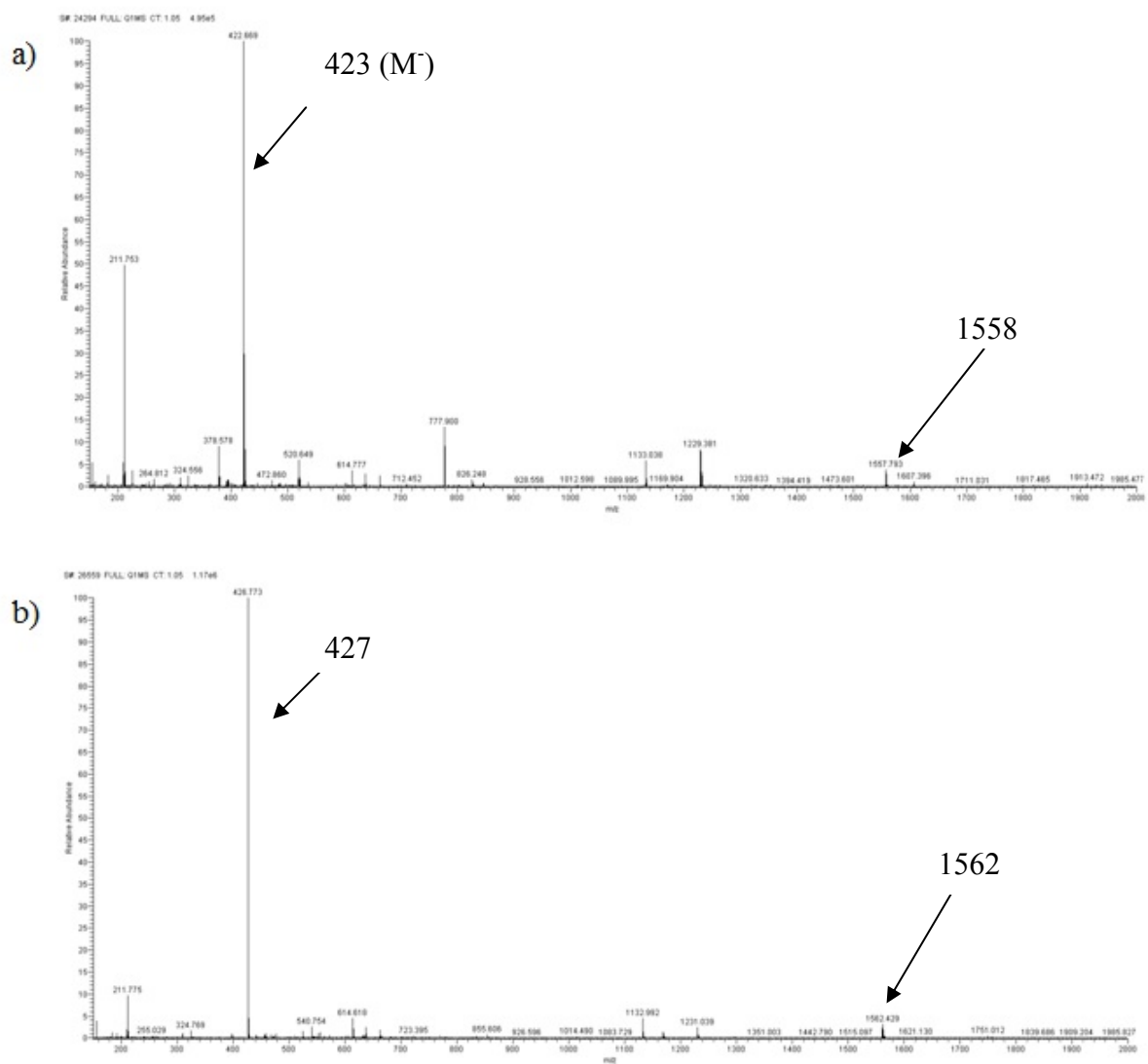
Promena pH vrednosti mobilne faze nema značajniji uticaj na intenzitet signala kompleksa verovatno zbog toga što su lekovi u rastvorima na pomenutim pH vrednostima u anjonskom ili molekuskom obliku koji se potom jonizuje u jonskom izvoru. Kompleksi i sam β -CD se bolje vide kada se kroz sistem ne propušta mobilna faza, a stajanjem rastvora tokom 24h nije došlo do promene signala.

Slični eksperimenti su rađeni u smeši metanol:voda kao mobilnoj fazi pri pH 5, ali se dobijaju isti signali kao korišćenjem smeše acetonitril:voda, s tim što je primećen veći broj adukt jona. Konstantovano je i da se kompleksi bolje uočavaju uz propuštanje ove mobilne faze kroz sistem.

Kao još jednu značajnu činjenicu treba istaći da su u MS spektru pored kompleksa pri svim pomenutim uslovima, prisutni i signali koji potiču od slobodnog leka i β -CD, pri čemu se intenzitet signala samog β -CD povećava povećanjem njegove količine u rastvoru.

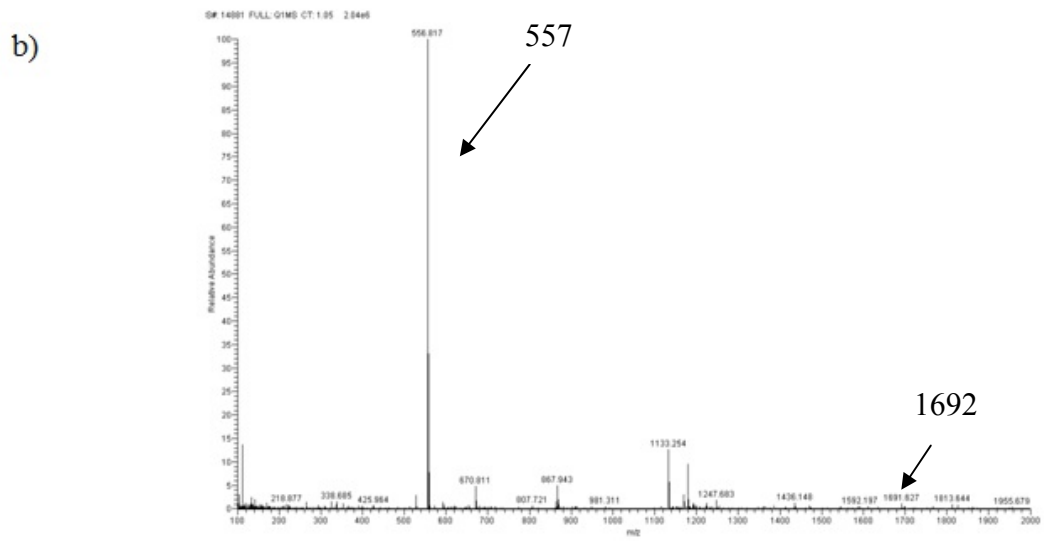
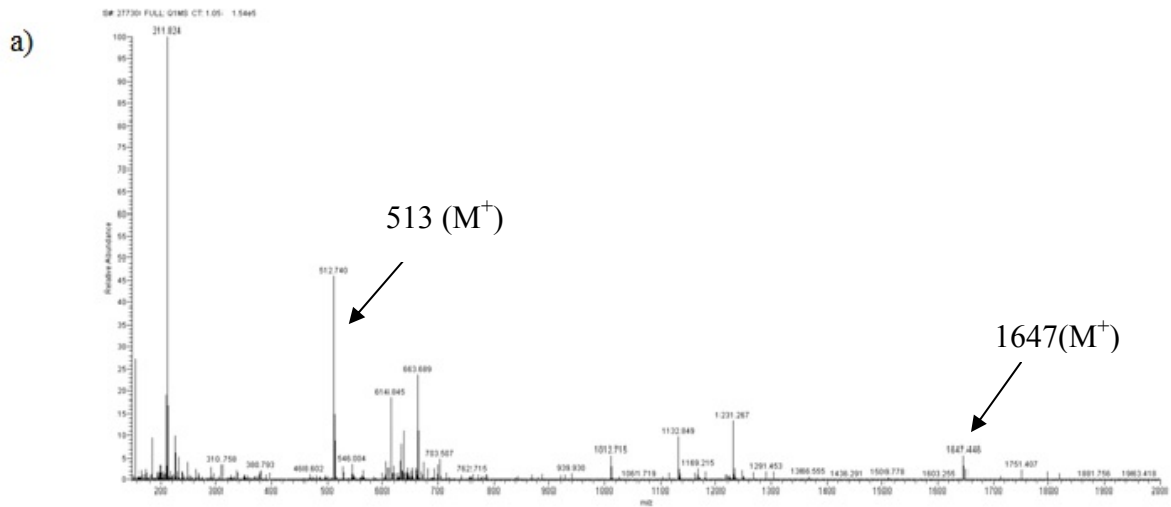


Slika 1. MS spektri rastvora leka i β -CD u odnosu 1:10 na pH 5: a) losartan; b) valsartan
Figure 1. The MS spectra of the drug solution and β -CD in ratio of 1:10 at pH 5
a) losartan; b) valsartan



Slika 2: MS spektri rastvora leka i β -CD u odnosu 1:10 na pH 5: a) eprosartan; b) irbesartan

Figure 2: The MS spectra of the drug solution and β -CD in ratio of 1:10 at a pH 5: a) eprosartan; b) irbesartan



Slika 3: MS spektri rastvora leka i β -CD u odnosu 1:10 na pH 5: a) telmisartan; b) olmesartan.

Figure 3: The MS spectra of the drug solution and β -CD in ratio of 1:10 at pH 5: a) telmisartan; b) olmesartan.

3.2. Docking analiza posmatranih kompleksa

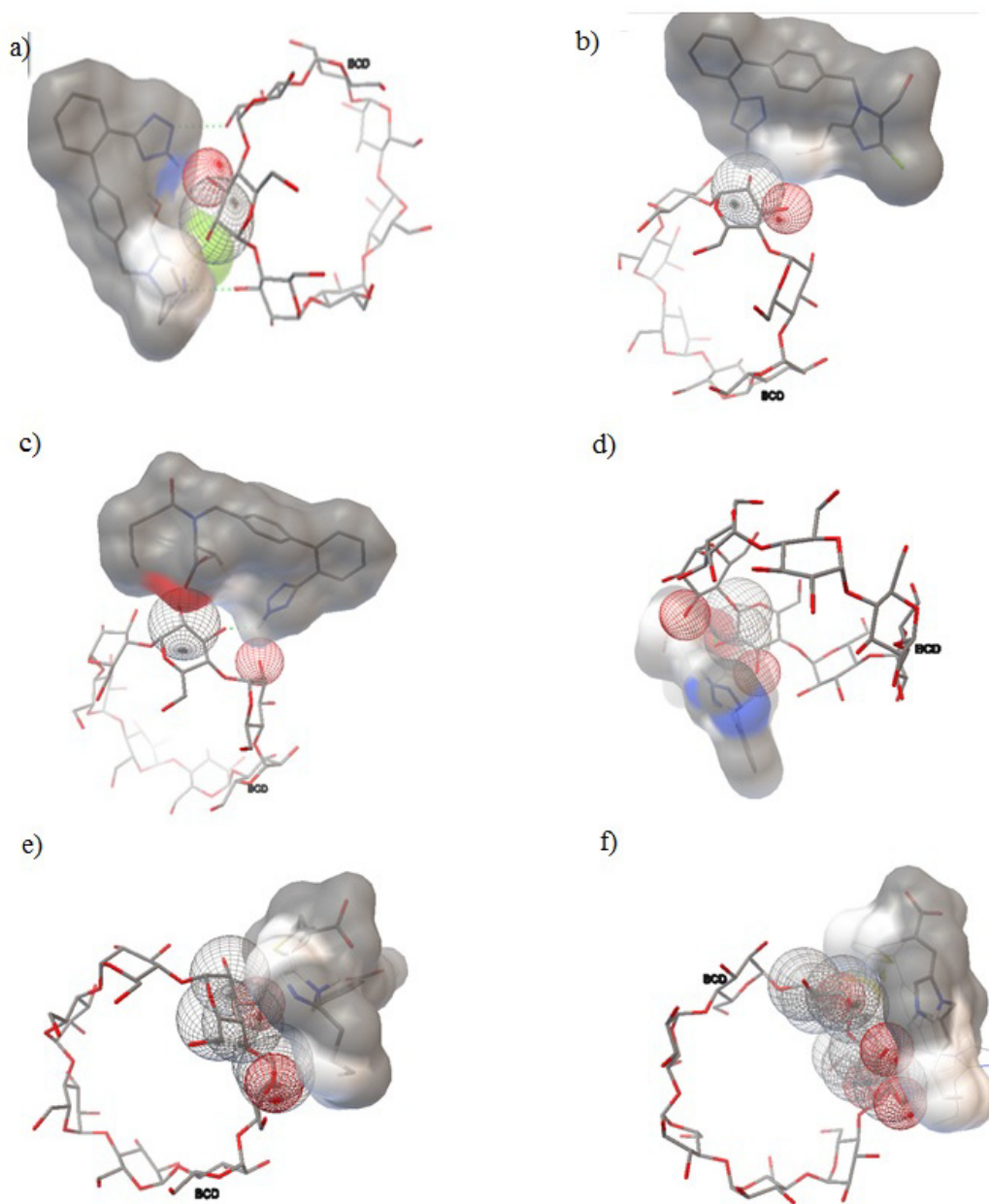
Nakon urađene *Docking* analize, primećeno je da svi lekovi, osim telmisartana koji je u obliku cviterjona, grade komplekse sa β -CD sa spoljašnje strane u odnosu 1:1 (Slika 4 i 5). Razlog za ovakvo vezivanje je verovatno prisustvo velikog broja funkcionalnih grupa koje mogu ostvarivati vodonične veze i elektrostatičke interakcije sa primarnim i sekundarnim hidroksilnim grupama β -CD. Dodatno, dianjonski oblik eprosartana je hidrofilan ($\log D$ -1,64) na pH 9 što već navodi na zaključak da će se vezati sa spoljašnje strane. Svi analizirani lekovi su ostvarivali veliki broj hidrofobnih i polarnih interakcija, sem losartana koji se najslabije vezao, a ovo zapažanje potvrđuje i visoka energija vezivanja koja je iznosila 1,05 (Tabela I). Telmisartan se na pH 5 nalazi u cviterjonskom obliku i veoma je lipofilan ($\log D$ 5,06) pa se jednim delom uvlači u šupljinu β -CD i formira inkluzioni kompleks (Slika 4). Kao što se vidi na Slici 4 u šupljini se nalazi fenil ostatak benzimidazola, a inkluzioni kompleks je dodatno stabilizovan polarnim interakcijama. Snažno vezivanje je potvrđeno i merenjem energije vezivanja koja je iznosila -4,92. Zanimljivo je da telmisartan u anjonskom obliku na pH>5 gradi kompleks sa spoljašnje strane verovatno zbog nedovoljne lipofilnosti ($\log D < 5$).

Prema energijama vezivanja se može zaključiti da su stabilniji oni kompleksi koji imaju nižu energiju vezivanja ili bolje rečeno potencijalno stabilniji jer su energije vezivanja izračunate u okviru greške koju pravi Autodock program. Prema energijama vezivanja može se zaključiti da se potencijalno stabilniji kompleksi formiraju kada su lekovi u anjonskom obliku, na pH>5, osim u slučaju telmisartana. Međutim, na osnovu rezultata dobijenih analizom na MS spektrometru pokazano je da pH vrednost mobilne faze nema uticaja na stabilnost formiranih kompleksa.

Tabela I Energije vezivanja β -ciklodekstrina i leka.

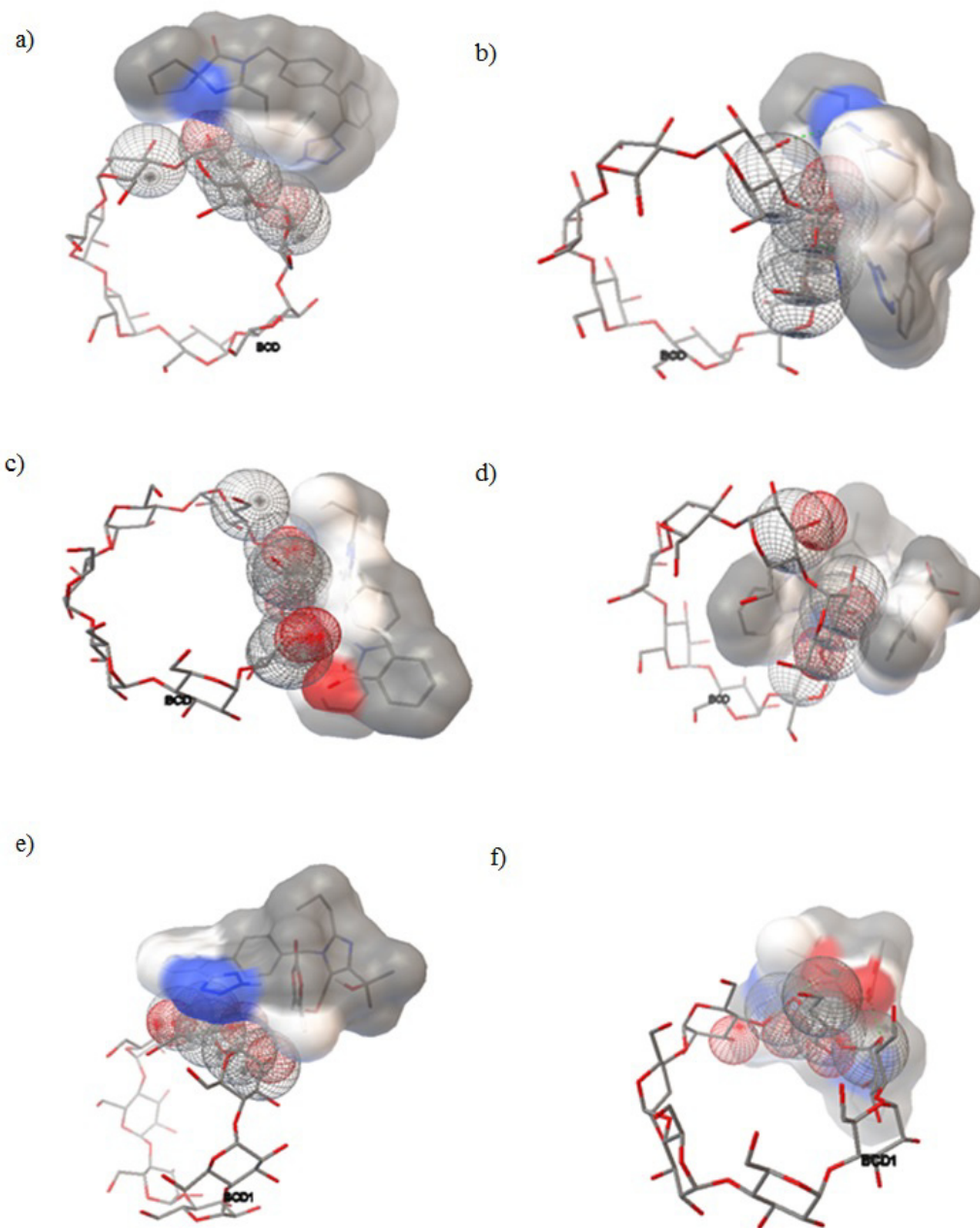
Table I The binding energy of β -cyclodextrin and drug.

Lek	Energija vezivanja (kcal/mol)
Eprosartan (cviterjonski oblik)	-0,03
Eprosartan (dianjonski oblik)	-0,73
Irbesartan (molekulski oblik)	-1,38
Irbesartan (anjonski oblik)	-2,87
Telmisartan (anjonski oblik)	-3,29
Telmisartan (cviterjonski oblik)	-4,92
Valsartan (anjonski oblik)	0,68
Valsartan (dianjonski oblik)	-0,44
Losartan (molekulski oblik)	-0,01
Losartan (anjonski oblik)	1,05
Olmesartan (molekulski oblik)	0,02
Olmesartan (anjonski oblik)	-2,04



Slika 4. Kompleksi β -ciklodekstrina i leka: a) losartan (molekulski oblik); b) losartan (anjonski oblik); c) valsartan (anjonski oblik); d) valsartan (dianjonski oblik); e) eprosartan (cviterjonski oblik); f) eprosartan (dianjonski oblik).

Figure 4. The complex between β -cyclodextrin and drug: a) losartan (molecular form); b) losartan (anionic form); c) valsartan (anionic form); d) vlasartan (dianionic form); e) eprosartan (zwitterionic form); f) eprosartan (dianionic form).



Slika 5. Kompleksi β -ciklodekstrina i leka: a) irbesartan (molekulski oblik); b) irbesartan (anjonski oblik); c) telmisartan (anjonski oblik); d) telmisartan (cviterjonski oblik); e) olmesartan (molekulski oblik); f) olmesartan (anjonski oblik).

Figure 5. The complex between β -cyclodextrin and drug: a) irbesartan (molecular form); b) irbesartan (anionic form); c) telmisartan (anionic form); d) telmisartan (zwitterionic form); e) olmesartan (molecular form); f) olmesartan (anionic form).

4. Zaključak

Kompleks leka i β -CD nastaje u odnosu 1:1 pri svim ispitivanim uslovima, nezavisno od pH vrednosti vodene faze i vrste organskog modifikatora mobilne faze. Intenzitet signala kompleksa zavisi od molarnog odnosa lek: β -CD i bio je najveći pri molarnom odnosu 1:10. *Docking* analizom pokazano je da se kompleksi najverovatnije stvaraju ostvarivanjem interakcija na spoljašnjoj strani β -CD, osim u slučaju cviterjonskog oblika telmisartana koji formira inkluzioni kompleks.

Zahvalnica

Ovaj rad predstavlja deo rezultata naučno-istraživačkog projekta broj 172033 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

Literatura:

1. Welch C, Wu N, Biba M, Hartman R, Brkovic T, Gong X, Helmy R, Schrafer W, Cuff J, Pirzada Z, Zhou L. Green analytical chromatography. *T Anal Chem.* 2010; 29: 667-680.
2. Armenta S, Garrigues S, de la Guardia M. Green Analytical Chemistry. *T Anal Chem.* 2008; 27 (6): 497- 511
3. Cielecka-Piontek J, Zalewski P, Jelinska A, Garbacki P. UHPLC: The Greening Face of Liquid Chromatography. *Chromatographia.* 2013; 76:1429-1437
4. Otašević B, Protić A, Golubović J, Zečević M. Primena koncepta razvoja ekološki prihvatljivih metoda tačne hromatografije u analitici lekova. *Arh.farm.* 2015; 65: 178-190.
5. Marks D. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of LY309887 (thenyl-5,10-dideazatetrahydrofolate) stereoisomers using β -cyclodextrin as a mobile phase additive. *J Chromatogr Sci.* 1997; 35: 201-205.
6. Chen D, Jing S, Chen Y, Hu Y. HPLC determination of sertraline in bulk drug, tablets and capsules using hydroxypropyl- β -cyclodextrinas mobile phase additive. *J. Pharm Biomed Anal.* 2004; 34: 239-245
7. Gabelica V, Galic N, De Pauw E. On the Specificity of Cyclodextrin Complexes Detected by Electrospray Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2002; 13: 946-953.
8. Rekharsky M V, Inoue Y. Complexation Thermodynamic of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* 1998; 98: 1875-1917.
9. Dotsikas Y, Loukas Y L. Efficient Determination and Evaluation of Model Cyclodextrin Complex Binding Constants by Electrospray Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2003; 14: 1123-1129.

10. Szejtli J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* 1998; 98: 1743-1753.
11. Connors K A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem Rev.* 1997; 97: 1325-1357.
12. Loukas Y L. Multiple Complex Formation of Fluorescent Compounds with Cyclodextrins: Efficient Determination and Evaluation of the Binding Constant with Improved Fluorometric Studies. *J Phys Chem.* 1997; B 101: 4863-4866.
13. Arakawa R, Yamaguchi T, Takahashi A, Fujimoto T, Kaneda T. Identification of Face-to-Face Inclusion Complex Formation of Cyclodextrin Bearing an Azobenzene Group by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2003; 14: 1116-1122.
14. Cunniff J B, Vouros P. False Positives and the Detection of Cyclodextrin Inclusion Complexes by Electrospray Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 1995; 6: 437-447.
15. Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* 1998, 19, 1639-1662.

Monitoring of complex forming of the active pharmaceutical substance and β -cyclodextrin as an additive of the mobile phase using mass spectrometry

Andela Milenković, Dragana Miljić, Jelena Mitrović*, Ana Protić, Biljana Otašević

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Drug Analysis, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

*e-mail:mitrovic.jelena92@gmail.com

Summary

In recent years, there is aim to reduce toxic solvents use in chromatographic techniques. Beta-cyclodextrins (β -CD) are commonly used for this purpose, as substance retention modulators. By increasing their concentration in the mobile phase, generally there is a decrease in analyte retention time, and consequently, a decrease in the organic solvent ratio in the mobile phase. The aim of this study was to investigate β -CD and selected sartans inclusion complexes formation. The emphasis was on the influence of the aqueous phase pH value, the drug- β -CD molar ratio and the organic solvent type on complex formation. The mass spectrometry investigation included characterization of the formed complex drug: β -CD at different molar ratios (1:1, 1:2, 1:5 and 1:10), and at different pH values of the aqueous phase (5, 7 and 9) using triple quadrupole mass analyzer. The mobile phase and solvent in which the complexes were formed consisted of acetonitrile and water mixture (50:50, v/v) and methanol and water mixture (50:50, v/v). Measurements of these complexes signal intensity after electrospray ionization in negative mode. Observed m/z values indicated formation of drug- β -CD in 1:1 ratio at all pH values of water phase and independently of organic solvent type and β -CD ratio. It was noted that formed complex signal intensity increased only by increasing β -CD ratio.

Keywords: mass spectrometry, inclusion complex, beta-cyclodextrins, sartans.
