

Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

ПРИРОДНИЧО-ГЕОГРАФІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ХІМІЇ ТА ФАРМАЦІЇ

## **Магістерська робота**

на тему:

### **«ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ СОЛЮБІЛІЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ ДОБАВКАМИ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ»**

**Виконала:**

студентка другого (магістерського) рівня,  
групи мХК - 21

Освітньо-професійної програми «Хімія,  
медична та фармацевтична хімія»

зі спеціальності **102 Хімія**

**Бандуріна Дар`я Юрїївна**

**Наукові керівники:**

к. х. н., доцент

**Москаленко О. В.**

старший наук. співробітник,  
відділу модифікації полімерів ІХВС

НАН України, к. х. н.

**Кобріна Л.В.**

**Рецензенти:**

д. фарм. н., професор кафедри хімії та фармації

**Демченко А.М.**

завідувач відділу модифікації полімерів

ІХВС НАН України д. х. н., професор

**Рябов С.В.**

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	3
РОЗДІЛ I ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Загальна характеристика циклодекстринів .....	8
1.2. Комплекси включення на основі циклодекстринів .....	11
1.2.1. Методи одержання комплексів включення.....	16
1.2.2. Методи дослідження комплексів включення .....	21
1.3. Комплекси включення на основі циклодекстрину з лікарськими препаратами.....	23
РОЗДІЛ II ВИХІДНІ РЕАГЕНТИ, МЕТОДИ ПРИГОТУВАННЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСІВ ВКЛЮЧЕННЯ.....	30
2.1. Вихідні реагенти .....	30
2.2. Синтез карбоксиметильованого $\beta$ -циклодекстрину (КМ- $\beta$ -ЦД).....	31
2.3. Проведення процесу солюбілізації ЛП.....	33
2.4 Методи дослідження.....	34
РОЗДІЛ III ФОРМУВАННЯ КОМПЛЕКСІВ ВКЛЮЧЕННЯ НА ОСНОВІ ЦИКЛОДЕКСТРИНІВ.....	36
3.1 Дослідження комплексу включення(солюбілізації) біфоназолу .....	36
3.2 Дослідження комплексу включення (солюбілізації) клотримазолу ....	44
3.3 Дослідження комплексу включення(солюбілізації) феноксатііну .....	51
ВИСНОВКИ.....	57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	58

## ВСТУП

Однією з основних фармацевтичних характеристик, що визначає біоеквівалентність препарату, вважається розчинність лікарської речовини [1]. Розчинність є важливим показником у створенні лікарської форми з ефективною дозою лікарського засобу, кінетику вивільнення його з лікарської форми, швидкість і повноту всмоктування. Особливо гостро стоїть проблема препаратів, які створені на основі лікарських засобів, що мають низьку розчинність [2].

В даний час розроблені і використовуються різні шляхи підвищення розчинності лікарських речовин: використання спеціальних допоміжних речовин - промоторів всмоктування, солюбілізація тощо[3]. До числа таких методів відноситься також включення лікарських засобів у комплекс із циклодекстринами.

Циклодекстрини (ЦД) були відомі вже понад сто років тому, але окремий напрямок досліджень пов'язаний з цими природними макроциклічними сполуками сформувався у другій половині ХХ-го сторіччя. З цього часу розвиток хімії циклодекстринів відбувався досить повільно, однак за останні два десятиліття інтерес до вивчення цих олігомерів глюкози зростає дуже інтенсивно. Це обумовлено в першу чергу тим, що циклодекстрини дозволяють збільшити розчинність і біодоступність малорозчинних лікарських речовин завдяки утворення комплексів включення, так званому типу „гість-хазяїн” з різними органічними сполуками, які за розміром та формою комплементарні внутрішній порожнині циклодекстринів.

Перспективи застосування комплексів включення у фармації, в основному, пов'язані зі зміною біофармацевтичних і фізичних властивостей лікарських речовин. При комплексоутворенні відбувається маскування неприємного запаху і смаку, зміна агрегатного стану, підвищення розчинності у воді ліпофільних речовин, біодоступності та фармакологічної активності, спостерігається пролонгування терапевтичної дії і ослаблення небажаних побічних ефектів лікарських речовин. У комплексі включення підвищується

стійкість речовин до впливу факторів навколишнього середовища: температури, світла, окисників [4].

Так, наприклад включення у комплекс валідолу призводить до усунення специфічного запаху препарату, підвищується його стабільність. Для екстрактів женьшеню та цибулі шляхом комплексоутворення коригується запах і смак [2].  $\beta$  - циклодекстрин і його похідні в комплексі включення інгібують процес фотохімічного розкладу нітрогліцерину і ретинолу ацетату [3].

Циклодекстрини також використовуються у різних галузях індустрії, включаючи харчову, агрохімічну, для побутової і аналітичної хімії та охорони навколишнього середовища як специфічні сорбенти, каталітичні системи, сенсори, агенти, які підвищують фото- та термостабільність нестійких речовин, для інкапсулювання фунгіцидів та гербіцидів, зменшуючи, таким чином, їх токсичність та вплив на організм людини.

**Актуальність теми.** Перспективним напрямком досліджень в хімії високомолекулярних сполук є розробка та створення комплексів включення з використанням природних сполук, зокрема циклодекстринів. Циклодекстрини (ЦД) – це циклічні, невідновлювані олігосахариди (продукти ферментативного гідролізу крохмалю), які складаються із залишків D-глюкози, молекули яких мають конусоподібну форму. ЦД можуть містити від шести до тринадцяти глюкозних фрагментів, з'єднаних  $\alpha$ -1,4- глюкозидними зв'язками, але найбільш вживаними на практиці є  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -ЦД (6, 7, 8 глюкозних фрагментів відповідно). ЦД мають унікальні властивості, пов'язані з їх здатністю утворювати у водному середовищі комплекси включення типу „гість – хазяїн” з різноманітними органічними сполуками. У медичній практиці застосування протигрибкових засобів речовини підгрупи імідазолів класу азолів, а також антибактеріальних засобів знаходять широке застосування. Однак, дуже мала розчинність у воді знижує їх біологічну доступність. Тому створення комплексів включення лікарських препаратів з циклодекстринами є актуальним, оскільки дозволяє отримати нові лікарські форми з підвищеною

біодоступністю. Зв'язок циклодекстрину з лікарськими речовинами відбувається за рахунок гідрофобної взаємодії, ван-дер-ваальсових сил та утворення водневих зв'язків. Таким чином, створення нових комплексів включення на основі циклодекстринів є цікавими об'єктами для дослідження і представляють практичний інтерес як допоміжні речовини, котрі маскують неприємний запах і смак, змінюють агрегатний стан, а головне підвищують розчинність у воді, збільшують біодоступність та фармакологічну активність різних лікарських речовин.

**Метою роботи:** є дослідження ряду комплексів включення на основі  $\beta$ -ЦД та його похідних із різними лікарськими препаратами імідазольного ряду і бензо-1,4-оксатієну та дослідження їх фізико-хімічних властивостей.

**Завдання дослідження:**

1. Провести аналіз інформаційних джерел стосовно циклодекстринів, їх похідних та застосування їх у медицині;
2. Здійснити аналіз наукової літератури стосовно одержання та застосування комплексів включення на основі лікарських препаратів, що виявляють антигрибкові та антибактеріальні властивості;
3. Одержати і дослідити ряд комплексів включення на основі  $\beta$ -ЦД та його похідних із різними лікарськими препаратами;
4. Визначити характеристики та константи стійкості одержаних комплексів включення;
5. На основі отриманих результатів розробити рекомендації щодо подальшого застосування одержаних речовин.

**Об'єкт дослідження:** комплекси включення на основі лікарських препаратів (ЛП): біфоназолу, клотримазолу, феноксатіїну з  $\beta$ -циклодекстрином ( $\beta$ -ЦД) та його похідними.

**Предмет дослідження:** процес формування комплексів включення на основі  $\beta$ -ЦД і його похідних та біологічно-активних сполук.

**Методи дослідження:** теоретичний аналіз наукових літературних джерел, синтез, узагальнення і конкретизація наукових фактів. Дослідження

будови комплексів включення використовуючи методи УФ-спектроскопія, ІЧ-спектроскопія, DSC-диференційно сканувальна калориметрія, піролітична мас-спектрометрія, рентгенографічні дослідження методом широко кутового розсіювання рентгенівських променів.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Одержані нові комплекси включення  $\beta$ -ЦД та його похідних із різними лікарськими препаратами, що виявляють антигрибкові та антибактеріальні властивості. За допомогою методів ІЧ- і УФ-спектроскопії та піролітичної мас-спектрометрії досліджено процеси солюбілізації Біфоназолу, Клотримазолу, Фенаксатііну з різними похідними  $\beta$ -циклодекстрину. Структури одержаних комплексів включення досліджено методом ширококутового розсіювання рентгенівських променів та обчислено константи стійкості досліджуваних комплексів. Доведено, що дослідження комплексів включення з протигрибковими та антибактеріальними лікарськими препаратами є вельми актуальним.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані нові комплекси включення на основі циклодекстринів і біологічно-активних речовин мають перспективу, прикладний інтерес для спрямованого пошуку і підбору нових фармакологічних препаратів у галузі фармацевтики.

**Особистий внесок дослідника:** магістрантом виконана експериментальна частина роботи. Обговорення результатів дослідження, вдосконалення структури роботи, формулювання висновків проводились разом з керівником.

**Апробація результатів дослідження:** здійснювалась у доповіді на щорічній VI Міжнародній заочній науково-практичній конференції молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії» (Ніжин, 24 квітня 2019 р.) та International Scientific Conference «*Chemical Technology and Engineering – 2*» (Львів 2019 р.).

**Публікація результатів магістерської роботи.** За матеріалами магістерської роботи опубліковано 3 статті у фахових наукових виданнях:

1. Дослідження комплексів включення карбоксиметильованого  $\beta$ -циклодекстрину з Біфоназолом. *Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії*: матер. VI Міжнар. заоч. наук.-практ. конф. молодих учених: Ніжин, 2019. С. 90–94.
2. Дослідження комплексу включення карбоксиметильованого  $\beta$ -циклодекстрину з феноксатііном. *Полімерний журнал*. Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України: Київ. № 4. 2019. С. 173–178.
3. SOLUBILIZATION OF BIFONAZOLE IN THE PRESENCE OF CARBOXYMETHYLATED- $\beta$ -CYCLODEXTRIN 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference «*Chemical Technology and Engineering – 2*» Ukraine, Lviv, June 24–28th, 2019 P. 198–200.

**Структура і обсяг магістерської роботи.** Робота викладена на 67 сторінках і включає вступ, три розділи, висновки та список опрацьованої літератури.

Перший розділ присвячений літературному огляду, стосовно загальної характеристики циклодекстринів їх методів дослідження та одержання. У другому розділі висвітлено вихідні реагенти, методи приготування та дослідження комплексів включення. У третьому розділі йде мова про дослідження комплексу включення(солюбілізації) біфоназолу, клотримазолу та феноксатііну. Матеріали магістерської роботи ілюстровані 26 рисунками та 5 таблицями.

## РОЗДІЛ І

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Загальна характеристика циклодекстринів

Циклодекстрини (ЦД) – це молекули природного походження, циклічні олігомери  $\alpha$ -D-глюкози, які утворюються внаслідок дії ферментів на крохмаль. Циклодекстрини вперше були відкриті Вілльєром М. в 1891 р [5]. Французький вчений виявив в продуктах деградації крохмалю специфічні декстрини, стійкі до кислотного гідролізу, як і целюлоза, і не володіють редуруючими властивостями. Звідси і з'явилася їх перша назва - «целлюлозіни». На початку ХХ ст. великий внесок у їх вивчення зробив Шардінгер Ф. При дії ензиму *Bacillus macerans* амілази на крохмаль, було виділено дві сполуки в кристалічній формі. Вони одержали назви  $\alpha$ - декстрин і  $\beta$ -декстрин (пізніше  $\alpha$ - і  $\beta$ -циклодекстрини) [4]. Ф. Шардінгер сформулював перше визначення для цього класу сполук: циклічні, невідновлювані олігосахариди, які складаються із залишків D-глюкози. У 1935 році Крамер і Фрейденберг виявили і вивчили  $\gamma$ -циклодекстрин [5]. Однак вершини наукового інтересу вони досягли на початку 80 - х рр. минулого століття. Було виділено в чистому вигляді і охарактеризовано  $\delta$ -,  $\varepsilon$ -,  $\zeta$ -,  $\eta$ -,  $\theta$  циклодекстрини, утворені 9, 10, 11, 12 і 13 глюкозними фрагментами. ЦД можуть містити від шести до тринадцяти глюкозних фрагментів:  $\alpha$ -ЦД (циклогексаамілоза або цикломальтогексоза) має шість,  $\beta$ -ЦД (циклогептаамілоза або цикломальтогептоза) містить сім та  $\gamma$ -ЦД (циклооктаамілоза, цикломальтооктоза) – вісім глюкозних фрагментів, відповідно. ЦД з кількістю меншою ніж шість глюкозних залишків не можуть існувати через стеричні ускладнення [6].

Так, у роботі [7] запропоновано одержання циклодекстринів з крохмалю чи його похідних дією ензиму циклодекстринглікозилтрансферази (ЦГТ). Цей ензим продукує невідновлювальні циклічні декстрини з крохмалю, амілози та інших полісахаридів шляхом каталізу стадій трансглікозилювання.

---

Основні властивості ЦД наведені нижче в табл. 1.1:



Таблиця 1.1.

## Загальна характеристика циклодекстринів

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
Кількість глюкозних одиниць	6	7	8	9
Мол. маса	972	1135	1297	1459
Радіус центральної порожнини, Å	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3	10.3-11.2
Розчинність у воді при 25° С, г/100 мл	14.5	1.85	23.2	8.19
Максимальний вміст води в гідраті, моль/моль ЦД	6,1	12,3	15,5	–

У твердому сухому стані молекули циклодекстринів мають вигляд білого кристалічного порошку. Для більшості їх не встановлено чіткої температурної точки плавлення. У найбільш вивчених  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -циклодекстринів відомі значення температури плавлення, які знаходяться в діапазоні 240-265 ° С [6]. Встановлено [7], що при дотриманні температури понад 200°С ці сполуки втрачають стабільність і піддаються термічній деструкції. ЦД належать до групи водорозчинних з'єднань, але не мають високу розчинність при 100 °С. Це обумовлено внутрішніми молекулярними водневими зв'язками в кристалічній ґратці. Найнижчу розчинність, серед всіх природних циклодекстринів, має  $\beta$ -циклодекстрин. Це призводить до стійкості його клатратів на повітрі. Така стійкість виникає внаслідок меншої швидкості утворення рідкої фази водного розчину циклодекстрину в результаті адсорбції парів води. Це призводить до того, що у  $\beta$ -циклодекстрину має найбільший термін зберігання клатратів, в порівнянні з  $\alpha$ - і  $\gamma$ -циклодекстринами. Циклодекстрини нерозчинні в більшості органічних розчинників, але здатні розчинятися у деяких полярних апротонних розчинниках [6].

D-глюкопіранозні фрагменти у ЦД з'єднані  $\alpha$ -1,4 - глюкозидними зв'язками. В результаті такого способу зв'язку утворюється конусоподібна

форма молекули, яка має одне кільце побудоване з  $n$  первинних гідроксильних груп, інше кільце побудоване з  $2n$  вторинних ОН-груп, а внутрішня порожнина містить ряд СН-груп (С-3 карбони), етерні атоми кисню та ряд СН-груп у положенні С-5 [8]. Структура кристалів циклодекстринів стабілізована міжмолекулярними водневими зв'язками. Циклодекстрини є кільцевими молекулами, але завдяки відсутності вільного обертання на рівні зв'язків між глюкопіранозними фрагментами вони мають форми не циліндра, а усіченого конуса. На верхньому вінці (більш широкому) якого розташовані вторинні гідроксильні групи, а на нижньому (вузькому) – первинні (в деяких випадках така форма може значно відхилитися від ідеальної симетрії).

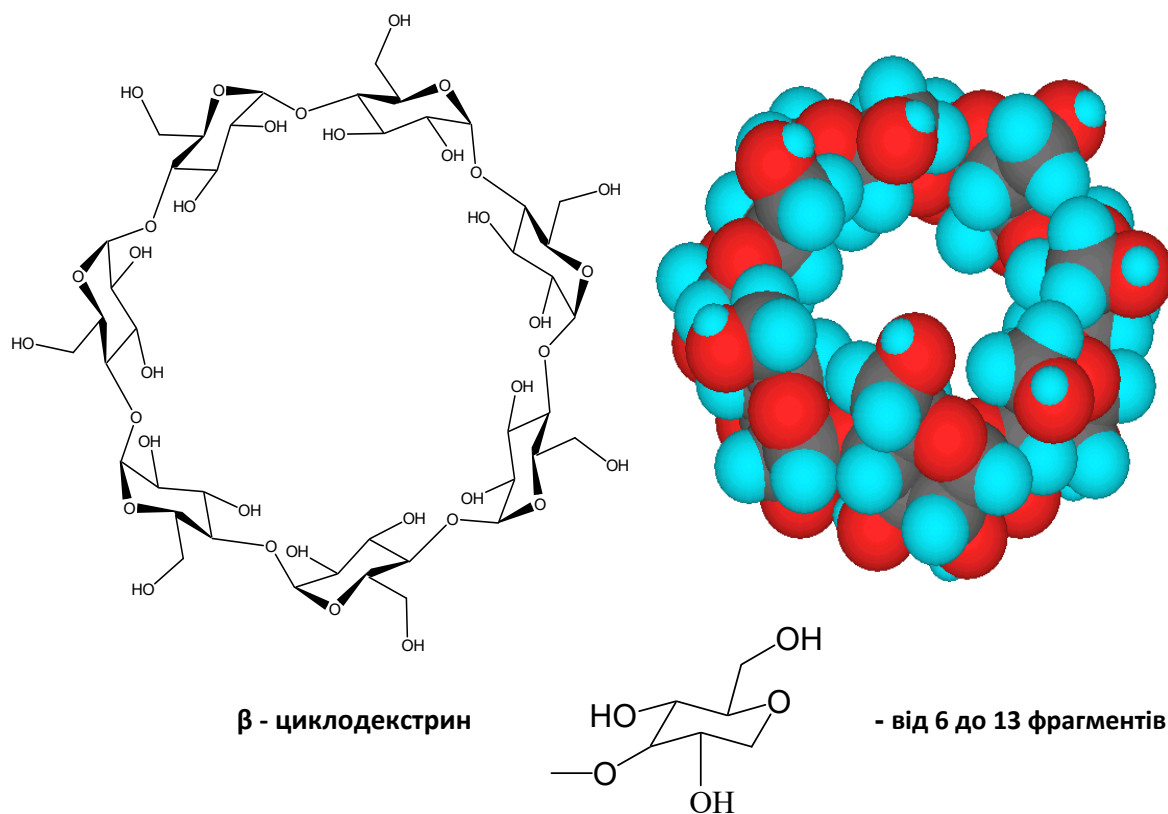


Рис.1.1 Схематичне та об'ємне зображення молекули β-циклодекстрину.

Таким чином, зовнішня поверхня молекули ЦД, завдяки наявності гідроксильних груп полярна (гідрофільна), тоді як внутрішня порожнина, навпаки, має гідрофобний характер [8].

За хімічними властивостями ЦД подібні до звичайних цукрів. Вони утворюють прості та складні етери, повільно піддаються кислотному гідролізу і окисненню перйодатами. Каталізують деякі реакції, наприклад, гідроліз

естерів фенолів. Їх комплекси з йодом утворюють яскраво забарвлені кристали. ЦД кристалізуються з води у вигляді гідратів різного складу:  $\alpha$ -ЦД зазвичай утворює гексагідрат  $\alpha$ -ЦД $\cdot$ 6H<sub>2</sub>O, який існує у двох кристалічних формах I та II, а третю форму -  $\alpha$ -ЦД $\cdot$ 7.57H<sub>2</sub>O можна одержати з водного розчину BaCl<sub>2</sub>;  $\beta$ -ЦД існує як ундекагідрат ( $\beta$ -ЦД $\cdot$ 11H<sub>2</sub>O) і як додекагідрат ( $\beta$ -ЦД $\cdot$ 12H<sub>2</sub>O). Однак, ці співвідношення в деякій мірі наближені, оскільки точний склад гідратів залежить від відносної вологості оточуючого середовища, напр., інколи  $\gamma$ -ЦД описують як октагідрат, але він кристалізується з 7-18 молекулами води [1 - 8].

## 1.2. Комплекси включення на основі циклодекстринів

Циклодекстрини мають здатність утворювати комплекси з різними газоподібними, рідкими і сухими речовинами типу молекулярних комплексів – клатратів [9]. Клатрати утворюються при включенні молекул, званих «гостями», в порожнині кристалічної решітки або в молекулярні порожнини речовини, яку називають «хазяїном». КВ утворюються в тих випадках, коли внутрішня порожнина молекули «хазяїна» є достатньо великою і має форму комплементарну до молекули - „гостя” [10]. Комплекси включення, які є у порожнині кристалічної ґратки називають ґратковими або решітковими. На відміну від ґраткових (решіткових), молекулярні комплекси включення можуть існувати у рідкій фазі, зокрема в розчинах, наприклад комплекси циклодекстринів та амілози. Отже, просторова геометрія молекул циклодекстринів дозволяє різним сполукам розміщуватися у внутрішній гідрофобній порожнині з утворенням молекулярного комплексу включення типу гість-господар [1].

Утворення водорозчинних КВ відбувається за такою схемою: спочатку циклодекстрин включає певну органічну молекулу (нерозчинну у воді) у свою неполярну порожнину, яка фіксується там за рахунок нековалентних взаємодій - водневого зв'язку, сил Ван-дер-Ваальса, електростатичної взаємодії та гідрофобного ефекту, в той же час, зовнішня (гідрофільна) область ЦД, яка містить гідроксильні групи взаємодіє з молекулами води, що дає змогу

солюбілізувати одержані комплекси і таким чином покращити розчинність, стабільність речовини при зберіганні, біологічну сумісність різних органічних сполук, біологічно-активних речовин та ліків. Тому, створенню різноманітних КВ, в першу чергу, з використанням лікарських засобів і вивченню їх фізико-хімічних властивостей та біологічної сумісності приділяється велика увага [11 - 14].

вільний ЦД + вільний гість  $\leftrightarrow$  ЦД-гість (комплекс включення) [10].

Авторами [15] досліджено здатність молекул речовини «гостя» вбудовуватися в порожнину олігосахаридів і утворювати комплекс включення залежать не тільки від полярності, і розміру цих молекул, але також і від фізико-хімічних властивостей молекул циклодекстринів. Температурна залежність розчинності циклодекстрину може змінюватися в результаті процесу комплексоутворення з молекулою речовини «гостя». Комплекси включення можуть мати більшу розчинність у воді, ніж інтактні циклодекстрини, за умови, що молекули речовини «гостя» добре розчинні у воді. І, навпаки, при утворенні комплексів включення з гідрофобними молекулами речовини «гостя», розчинність циклодекстринів у воді може зменшуватися. Незважаючи на зниження розчинності молекул циклодекстринів (молекул «матриці»), розчинність гідрофобної сполуки у водних системах у складі комплексу включення, може збільшуватися [12].

У роботах [15 -17] основними циклодекстринами для утворення КВ є  $\alpha$  -,  $\beta$  - і  $\gamma$  - циклодекстрини і їх похідні, що включають метильні (Me -), гідроксиетильні (HE -), гідроксипропільні (HP -), сульфобутильні (SBE -) та інші групи. Залежно від структури і розміру молекули- «гості» можуть формувати КВ з різними ЦД. Для молекул з аліфатичними ланцюгами краще підходять  $\alpha$ -CD (рис.1.2), тоді як для молекул з фенільними групами -  $\beta$ -CD (рис. 1.3) або  $\gamma$ -CD (рис. 1.4).

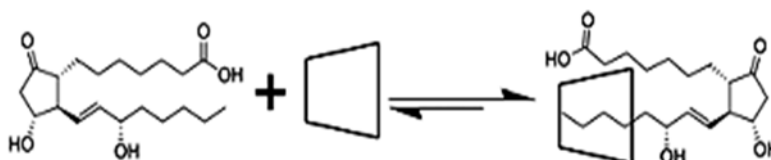


Рис.1.2 Формування комплексу включення  
 $\alpha$ -ЦД-простагландин Е1 [15]

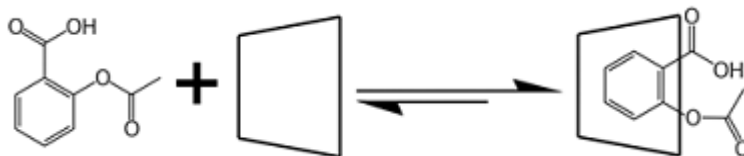


Рис. 1.3 Формування комплексу включення  $\beta$ -ЦД-аспірин [16]

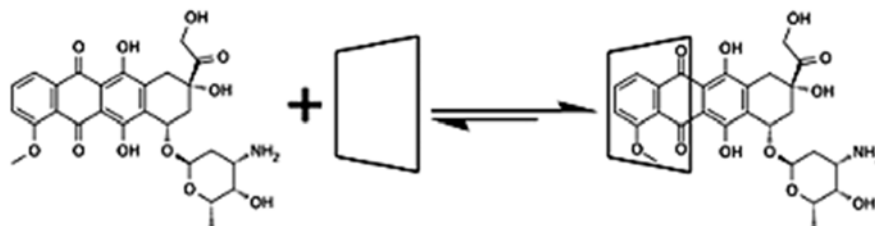


Рис. 1.4 Формування комплексу включення  $\gamma$ -ЦД-доксорубіцин [17]

До прикладу у дослідженнях [18 -19]  $\beta$ -ЦД, має обмежену розчинність у воді, що звужує можливість його використання. Для значного підвищення розчинності  $\beta$ -ЦД синтезували його похідні, в яких гідроксили були заміщені певними функціональними групами, в результаті чого отримані такі сполуки як гідроксипропіл- $\beta$ -ЦД та сульфобутиловий естер  $\beta$ -ЦД, відповідно. Вони мають високу розчинність у воді, а КВ на їх основі ефективно стабілізують молекули «гостей» і захищають їх від окиснення, дії видимого та УФ-світла, термічного впливу. Це також дає змогу зменшити леткість інкапсульованих органічних сполук.

В роботі [20] досліджено первинну структуру ЦД (ковалентна зв'язуюча модель, covalent bonding pattern), яка по суті циклом циклів, що надає молекулі певної жорсткості. В середині молекули рух обмежується циклічною системою зв'язків, внаслідок чого зменшується кількість конформаційних перетворень, але реальну молекулу можна уявити гнучкою і податливою - циклодекстрини можна представити сферами з довільно окресленими границями електронної густини, яка безперервно перерозподіляється, тобто молекула ЦД здатна «притосовувати» свою порожнину до просторового і електронного характеру гостя.

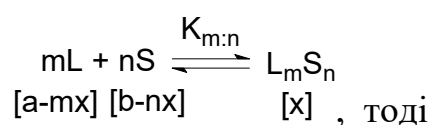
Автори статті [17] стверджують, що циклодекстрини утворюють КВ у різних стехіометричних співвідношеннях з молекулами-„гостями”, але найбільш вживане співвідношення для ЦД комплексів становить, як правило, 1:1. Відомі й інші співвідношення, такі як 1:2, 2:1, 2:2, використовувалися також і трьохкомпонентні системи (в багатьох випадках це комплекси типу 1:1:1) які склалися з ЦД, гостя, і спирту, який, очевидно, виконує функцію «просторового регулятора» оптимізуючи входження гостя до циклодекстринової порожнини. Такий же ефект спостерігали дослідники у роботах [21 - 22] при включенні пірену,  $\alpha$ -нафтилокси-оцтової кислоти, акрідину, флуорену, аценафтену. Нітрили і аміни також можуть слугувати як «наповнюючий» компонент порожнини [17].

У роботі [20] описан комплекс пірен : ПАР :  $\beta$ -ЦД складу 1:1:1, також цікаві дані опубліковані у [21], де автор вивчав комплекс 2-метоксинафтален: *o*-диціанобензол:  $\beta$ -ЦД з більш незвичайною стехіометрією - 1:1:2. Автори [22] досліджували комбінацію сполук: 1-пірен бутират (pyrene butyrate) : *n*-гексансульфонат :  $\gamma$ -ЦД = 1:1:2, а у роботі [23] розробили потрійний комплекс, що складався з одного «гостя» (4-нітрофеніл-октанат) та двох різних циклодекстринів -  $\beta$ -ЦД та  $\gamma$ -ЦД.

Формування та розформування комплексу включення регулюється константою  $K$ , і як зазначають автори робіт [26 - 27] вона може мати різні назви: константа афінності, що характеризує міцність зв'язування молекули «гостя» в порожнині ЦД; константа стабільності, що виражає стабільність комплексу в недисоційованій формі; константа асоціативності або константа зв'язування. Найвище значення  $K$  залежить від розміру порожнини ЦД і розміру молекули «гостя» (або його фрагмента).

Вимірювання константи стабільності  $K_s$  або рівноваги (дисоціації  $K_d$ ) комплексу гість – циклодекстрин є важливим, оскільки це показник зміни в фізико-хімічних властивостях сполуки при її включенні. Більшість методів по визначенню значень цих констант базуються на змінах у фізико-хімічних властивостей гостьової молекули, зокрема ліків, з циклодекстрином, з

наступним аналізом концентраційних залежностей [26]. Для того щоб одержати значення констант можна використати наступні характеристики: стабільність сполуки в розчині, її реакційна здатність, фазова розчинність, хімічні зсуви ЯМР, а також рН – метричні методи, титрування, оптичні методи. Для визначення констант рівноваги можна використати деякі зміни у властивостях і «гостя» і «хазяїна», однак властивості гостя в більшості випадків оцінити простіше. Константу стабільності або рівноваги можна виразити як  $K_{m:n}$ , де  $m:n$  – стехіометричне співвідношення комплексу. Можна записати таке співвідношення [27]:



$$K_{m:n} = \frac{[x]}{[a-mx]^m [b-nx]^n}$$

$$K_d = \frac{[a-mx]^m [b-nx]^n}{[x]} = \frac{1}{K_c} = \frac{1}{K_{m:n}} \text{ ,}$$

де  $K_{m:n}$  – константа рівноваги,  $K_d$  – константа дисоціації,  $K_c$  – константа стабільності.

Значення константи залежить не тільки від розміру порожнини ЦД і молекули «гостя», а й від щільності стискання «гостьової» молекули всередині порожнини ЦД; взаємна комплементарність підвищує міцність комплексу включення [29]. Залежно від своїх розмірів молекула «гість» може входити в порожнину ЦД з вузького або широкого боку (рис. 1.5).

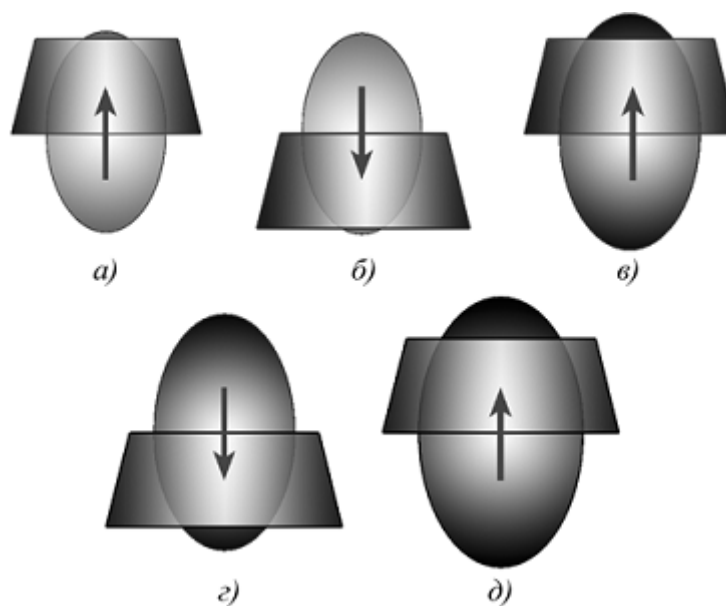


Рис. 1.5 Вплив розмірів молекули- «гостя» і розмірів порожнини ЦД на формування комплексу включення: а -  $\alpha$ -ЦД- «гість»; б -  $\beta$ -ЦД- «гість» з вузькою боку; в -  $\beta$ -ЦД- «гість» з широкої сторони; г -  $\gamma$ -ЦД- «гість» з вузькою боку; д -  $\gamma$ -ЦД- «гість» з широкої сторони

В роботах [30, 31] встановлено, що в розчині з ЦД молекули- «гості» можуть утворювати комплекси шляхом взаємодії молекул ЦД один з одним. Сформовані у водному розчині скупчення ЦД розчиняють препарати всередині своєї макроструктури, не будучи при цьому комплексом включення.

### 1.2.1. Методи одержання комплексів включення (КВ)

Метод синтезу КВ між ЦД і «гостем» має великий вплив на властивості кінцевого продукту: в'язкість, розчинність і стабільність комплексу. Вибір ЦД в фармакології, як правило, залежить від способу призначення препарату, факту його реєстрації в фармакопеї та вартості. Сам метод приготування повинен бути адаптований до масштабів синтезу (лабораторний або індустріальний) і необхідним параметрам [28]. Отже, методи одержання комплексів включення мають ряд особливостей залежно від типу молекули „гостя” та похідного циклодекстрина. Для кожної такої пари необхідно підбирати свої специфічні умови, але загалом, КВ одержують такими шляхами:



*Метод розтирання.* Авторами роботи [32] за допомогою цього методу запропоновано розтирати на початку гостьовий компонент з ЦД і невеликими кількостями води (або розчинами етанолу) для досягнення густого однорідного стану, після чого проводити пасивне або стимульоване висушування. Результатом методу є досягнення аморфного стану, при якому, однак, можливо збереження невикористаних кристалів ЦД і «гостя» [30]. У статті [33] описано приготування комплексу між міконазолом (MCZ) і метил-бета-циклодекстрину (M $\beta$ CD). Еквімолярні кількості MCZ і M $\beta$ CD розчиняли в етанолі і дистильованій воді, відповідно, і змішували. Суміш перемішували в орбітальному шейкері протягом 24 год. Остаточний прозорий розчин сушили розпилювачем у лабораторії LabPlant SD-05 при наступних умовах: температура на вході 150 °С, температура на виході 77 °С, швидкість потоку розчину 400 мл / год, швидкість потоку повітря 40–50 м<sup>3</sup> / год і тиск повітря при розпиленні 1,5 бар [32].

*Метод одночасного випаровування.* Розроблений метод [34] дозволяє на початку проводити змішування водних розчинів ЦД і «Гостя», по тривалості досягає декількох годин. Шляхом подальшого нагрівання розчин доводять до випаровування, яке може бути прискорене під вакуумом в роторному випаровувачі. Подальше висушування дозволяє отримати кристалічний продукт, структура якого залежить як від природи компонентів, так і ретельності висушування [35, 36]. Наприклад, у роботі [33] описано формування комплексу включення між міконазолом (MCZ) і похідними бета-циклодекстрину, 2-гідроксипропіл-бета-циклодекстрином (HP $\beta$ CD). Еквімолярні кількості MCZ і циклодекстрину (1: 1 молярне співвідношення) розчиняли в етанолі і гідроалкогольному розчині (1: 4 етанол-вода), відповідно змішували і перемішували протягом 24 год, поки не було отримано прозорий розчин. Потім розчинники упарюють у вакуумній печі при 50° С з використанням Laborota, 40001 (Heidolph), доки не було отримано повну сушку, перевірену постійною вагою.

*Методи розпилювального і сублімаційного сушіння.* Особливістю даного методу у роботі [35], що розчини спершу збовтують протягом 1 - 2 діб. Потім при висушуванні вони переходять в аморфний стан. Наприклад, утворення комплексу включення між омепразолом (OME), бензimidазольним похідним і метил-бета-циклодекстрином (MbetaCD). Еквімолярні кількості MbCD і OME розчиняють у водно-спиртовому розчині (2: 1 об. / об.) при  $\text{pH} = 10 \pm 0,5$  відповідно. Отриманий розчин перемішують протягом 24 - 48 год. До повного розчинення. Розчин висушують розпиленням в LabPlant SD-05, за наступними умовами: температура на вході  $102\text{ }^{\circ}\text{C}$ , температура виходу  $60\text{-}65\text{ }^{\circ}\text{C}$ , витрата розчину  $400\text{ мл / год}$ , швидкість потоку повітря  $40\text{-}50\text{ м}^3 / \text{год}$  і тиск повітря при розпилюванні  $1,0 - 1,1\text{ бар}$  [37]. Продукти, одержані за допомогою розпилювальної сушки, мають вигляд маленьких бульбашок, тоді як при сублімації вони стають більш аморфними або набувають форму кристалічних частинок [35]. Сублімаційне сушіння підвищує також розчинність КВ [36].

*Метод герметичного нагрівання.* Дослідники [38 -39], вказують, що при даному методі гостьовий компонент і ЦД поміщаються в скляну посудину з дуже низькою кількістю води. Після герметизації посудину ставлять у термостат на 2 - 3 год при температурі  $100\text{-}150\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Таким методом було добуто новий комплекс саліцилової кислоти (SA) з гамма-циклодекстрином (гамма-CD) [36]. Досліджено вплив вмісту води в гамма-ЦД на формування комплексу за допомогою SA методом герметичного нагрівання. Кількісне визначення SA показало, що ущільнені нагріті зразки SA і гамма-CD з низьким вмістом води ( $0,8\text{-}5,4\%$ ) утворюють комплекс SA / гамма-CD = 2: 1, а зразки з високим вмістом води ( $8,5\text{-}11,5\%$ ) утворюється SA / гамма-CD = 4: 1 комплекс. Фізичні суміші готували змішування SA з безводним g-CD при різних молярних співвідношеннях з використанням вихрового потоку змішувач протягом 3 хв. Кожну суміш (200 мг) герметизували в 2,0 мл скляні ампули і нагрівають при  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 3 год. у печі газового хроматографа GC-12A (Shimadzu, Кіото, Японія) для одержання герметично нагрітого зразка

(SH). Незважаючи на те, що у одержаного КВ можуть частково спостерігатися кристали, його розчинність значно підвищується [36,40].

*Метод надвисокочастотного (НВЧ) опромінення.* Застосування НВЧ-опромінення збільшує у водному розчині частоту коливання молекул ЦД і «гостя», тим самим прискорюючи утворення КВ [41]. Для приготування комплексу суміш гостьової молекули і ЦД з мінімальною кількістю розчинника піддається НВЧ-опроміненню, як правило, протягом 90с при температурі 60 ° С (150 Вт) [42]. Також використовується більш тривалий час – 5–10 хв при 500–750 Вт [43]. Одержані таким способом продукти показують практично незмінний рідинний стан і високу стабільність в зовнішніх умовах.

*Метод застосування надкритичного вуглекислого газу (НК-СО<sub>2</sub>).* Надкритичними (НК) називають рідини, які використовуються при температурі і тиску, що перевищують їх критичні значення. Ці рідини мають подібні з газами коефіцієнти в'язкості і дифузності, що сприяють масообміну. При цьому їх щільність еквівалентна щільності рідких розчинів вказують автори розробки метода [44]. Розчинення об'єктів в НК-рідинах призводить до підвищення коефіцієнта дифузії, що сприяє формуванню КВ. Вуглекислий газ широко поширений завдяки своїй безпеці, дешевизні, негорючості і придатності при відносно м'якій обробці (НК-параметри: 73,8 бар; 31,1 ° С) [43]. Синтез КВ заснований на тому, що під тиском фізична суміш «гостя» і ЦД піддається обробці НК-СО<sub>2</sub>. При розгерметизації, тривалість якої може досягати 30 хв, гомогенізований продукт стає в'язким з частковою кристалізацією [44].

*Співосадження.* При застосуванні у роботі [41] даного методу до β-ЦД, розчиненому у водно - етанольному розчині по краплям додавали циперметрин (сурперметрин), розчинений в етанолі. Розчин перемішували при підвищеній температурі, потім охолоджували і поміщали у холодильник. Утворений через деякий час осад відфільтровували на скляному фільтрі, сушили у вакуумному ексикаторі над Р<sub>2</sub>О<sub>5</sub> до постійної маси [41]. Для приготування іншого комплексу АГТН-β-ЦД (АГТН це 7-ацетил-1,1,3,4,4,6-

гекса-метил-1,2,3,4-тетрагідронафтален (naphthalene) брали певну кількість  $\beta$ -ЦД, розчиненого у системі спирт: вода (1:3) при нагріванні. До розчину додавали спиртовий розчин АГТН до досягнення потрібного мольного співвідношення компонентів. Утворену суміш перемішували протягом 24 год. Потім осад, комплексу включення, що утворився відфільтровували, промивали і сушили у вакуумі [45].

*Суспензійний метод.* Даний метод передбачає [28] спочатку підготовку водної суспензії з  $\beta$ -ЦД (0.89 м моль в 9 мл води %) при інтенсивному перемішуванні. Органічну сполуку, циперметрин розчиняли окремо і додавали по краплях при перемішуванні до циклодекстринової суспензії. Перемішування проводили ще протягом 2 годин і суспензію поміщали до холодильника. Після цього, твердий продукт відфільтровували і сушили у вакуумі до постійної маси.

*Метод формування пасти.* За цим методом дослідники [43] готують, КВ  $\beta$ -циклодекстрину з омепразолом (omeprazole). Спочатку  $\beta$ -ЦД обробляли водним лужним розчином (рН=10±0.1) до утворення пасти (вміст ЦД приблизно 30% від загальної маси). Потім до неї невеличкими порціями додавали омепразол і перемішували протягом 45 хв. Пасту витримували при кімнатній температурі 48 годин у захищеному від світла місці. Також за цим методом одержували комплекс сертаконазолу (sertaconazole) з гідроксипропіл- $\beta$ -ЦД (ГП- $\beta$ -ЦД): до суміші вихідних сполук поступово, при перемішуванні додавали метанол-фосфатний буфер до досягнення співвідношення тверда фаза : рідина = 70:30 (мас. %). Одержану пасту формували протягом 45 хв. і потім сушили при 40°C два дні [18].

*Ліофілізовані бінарні продукти (Lyophilized binary products).* Використання методу дозволяє певну кількість ЦД розчиняти у лужному розчині (рН=10±0.1). Після цього до розчину додавали при перемішуванні, омепразол (стехіометричне співвідношення 1:1). Перемішування суспензії проводилось протягом 24-28 год. В результаті, розчини занурювали у баню з етанолом (ethanol bath). Далі одержані розчини заморожували, зануривши їх в

баню з етанолом при температурі  $50^{\circ}\text{C}$  (Shell Freezer, Labconco, Freezone model 79490). Потім заморожені розчини ліофілізували в морозильній сушці (freeze-dryer) (Lyph-lock 6 apparatus, Labconco) протягом 72 годин [18].

*«Плавлення» в розчині.* Даний метод передбачає готувати водний розчин  $\beta$ -ЦД при  $90^{\circ}\text{C}$  (що було на  $10^{\circ}\text{C}$  вище точки плавлення вибраної сполуки, яка використовувалася). Твердий субстрат додавали безпосередньо до цього розчину при перемішуванні. Перемішування при  $90^{\circ}\text{C}$  продовжували ще протягом 3 годин, потім розчин охолоджували до кімнатної температури і поміщали у холодильник. Осад, що випав, відфільтровували і сушили у вакуумі до постійної маси [28].

### 1.2.2. Методи дослідження комплексів включення

Для підтвердження результатів синтезу КВ застосовуються різні фізичні дослідження. При цьому використовується не один, а кілька підтверджуючих один одного методів.

*Рентгенографічні методи.* Для комплексів типу „гість – хазяїн” перші кристалографічні дослідження проводились на прикладі  $\alpha$ -ЦД з ароматичними сполуками, зокрема із заміщеними бензолами. Розміри порожнини  $\alpha$ -ЦД дозволяють фенольному кільцю повністю розміститися в неї, і таким чином, наприклад, 1,4-заміщений бензол (або монозаміщений) інкапсулюється і утворює КВ [46]. Типова комплексна структура  $\alpha$ -ЦД із заміщеним бензолом зображена на рис. 1.6 (літери N і P означають неполярний і полярний замісники, відповідно) [1].

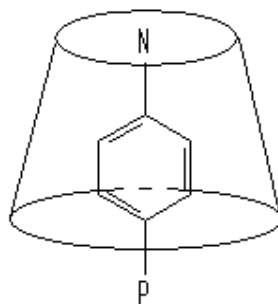


Рис. 1.6. Структура  $\alpha$ -ЦД із заміщеним бензолом.

У випадку ароматичних сполук неполярні фрагменти розміщуються досить глибоко у середині макроциклу, а полярні групи розташовуються біля

вторинних гідроксильних груп або навіть випинаються з порожнини. Напрямок включення відбувається переважно від ширшого кільця порожнини [33].

Аліфатичні сполуки при включенні направлені, таким чином, що гідрофобна частина молекули огорнута порожниною ЦД, а полярні її групи взаємодіють з кільцевими гідроксилами циклодекстрина, а ті групи молекули, яких розташовані ззовні і виступають з порожнини, взаємодіють з сусідніми циклодекстринами [1].

Гостьові молекули, які істотно менші за порожнину молекули „хазяїна”, теж утворюють КВ і, у деяких випадках, вільний об’єм заповнюється молекулами води. До таких систем належать комплекси  $\alpha$ -ЦД з метанолом, пропанолом, пропанальсульфонатом і т.д. На відміну від  $\alpha$ -ЦД,  $\gamma$ -ЦД має достатньо велику порожнину і може включати до себе 12-краун-4, і навіть більш складні комплекси з 12-краун-4 з літєвим або калієвим іонами, орієнтовані голова-до-голови, хвіст-до-хвоста, голова-до-хвоста [47].

*ЯМР.* Авторами роботи [48] було досліджено різниці  $^1\text{H}$  хімічних зсувів ЦД Н (3) і Н (5) в присутності численних субстратів, і зроблено висновок, що відбувається їх включення у порожнину ЦД. Внесок у дослідження ЦД зробили також вимірювання кореляційного і релаксаційного часів та ядерного ефекту Оверхаузера. Був зроблений висновок, що сигнал Н (3) зсувається лише при невеликому проникненні субстрату в порожнину, тоді як зсув Н (5) відбувається при значному проникненні „гостя” у порожнину. Серед субстратів, які вивчалися методом ЯМР спектроскопії дослідниками [47] були дуже різнопланові структури: ароматичні, зокрема нітрофеноли, азобарвники, карбоксилати, ефедрин, ментоли, тощо. Цей метод дозволяє розрізнити навіть енантіомери, які утворюють КВ. Для вивчення таких комплексів застосовували як  $^1\text{H}$  так і  $^{13}\text{C}$  ЯМР.

*УФ-спектроскопія.* В основі цього методу [45] лежить те, що ЦД не виявляють значного УФ поглинання, а розчин ЦД – гість, має підвищення

абсорбції внаслідок відхилення електронів хромофора гостьової молекули при її включенні в ЦД.

*ІЧ-спектроскопія.* Сам метод, а також ІЧ-спектроскопія з перетворенням Фур'є (ФС) часто використовуються для оцінки формування КВ [50,51].

Фізична суміш «гостя» і ЦД призводить до накладання один на одного їх спектрів без будь-яких змін. При формуванні КВ відбуваються значні зміни зв'язків, характерних для гостьової молекули. Зокрема, зсув карбонільних зв'язків на більш високі частоти разом з розширенням і зниженням їх інтенсивності може бути віднесено до розриву водневих зв'язків, пов'язаних з кристалічними молекулами [50].

*Мас-спектрометрія з іонізацією електророзпиленням (МС-ІЕР).* Метод МС-ІЕР заснований [50] на вилученні з розчину іонів та заряджених комплексів, що формуються в результаті взаємодії молекул досліджуваної речовини з розчинником, в якому знаходяться інші йонні сполуки. Застосування МС-ІЕР у вивченні КВ є дуже значущим методом для дослідження енергозалежних та термолабільних молекул. МС-ІЕР може свідчити про комплексоутворення і стехіометрію на основі молекулярної ваги всіх розпилюючих речовин [52,53].

### 1.3. Комплекси включення на основі циклодекстрину з лікарськими препаратами

Однією з найбільш важливих і швидко прогресуючих галузей застосування циклодекстринів і їх похідних є розробка адресних систем доставки ліків в організм та збільшення розчинності лікарського препарату. Про перспективи цього порівняно нового напрямку в медицині та фармакології свідчать статті про опис та підготовку включення твердого тіла в комплекс, характеристика комплексів включення та їх фізико-хімічних властивостей, методи синтезу та дослідження [3,4].

Одним із перспективних напрямків досліджень у цьому аспекті є розробка комплексів включення циклодекстринів та їх похідних із засобом,

який має інсектицидні, антибактеріальні, антигельмінтні властивості - фенаксатіном (ФКТ) та протигрибковими препаратами. Дуже поширеними є грибкові захворювання (мікози). Лікарські засоби, що випускаються вітчизняною фармацевтичною промисловістю для лікування зазначених захворювань проявляють однонаправленість терапевтичної дії, низьку біодоступність та погану розчинність, що обумовлює пошук та розробку нових комбінованих препаратів з вищими показниками. Існує ціла низка робіт про взаємодію синтетичних протигрибкових препаратів, що відносяться до підгрупи тріазолів класу азолів [7,8].

У дослідженні [54] розглянуто виготовлення комплексів включення між міконазолом (MCZ) і двома похідними бета-циклодекстрину: метил-бета-циклодекстрину (M $\beta$ CD) і 2-гідроксипропіл-бета-циклодекстрином (HP $\beta$ CD) у водній фазі. CD з M $\beta$ CD в твердому стані готували різними методами, а саме замішуванням, коевапорацією (COE), розпилювальною сушки (SD) і ліофілізацією(LPh). Фізико-хімічні властивості цих комплексів досліджувалися за допомогою диференціальної скануючої калориметрії, інфрачервоної спектроскопії перетворення Фур'є, скануючої електронної мікроскопії та методами рентгенівської дифракції. Діаграми фазової розчинності з M $\beta$ CD і HP $\beta$ CD були класифіковані як A<sub>p</sub> тип, що вказує на утворення 1:1 і 1:2 стехіометричних комплексів включення.

Авторами [55] досліджено протигрибкові препарати, що використовується для лікування орофарингеального кандидозу, який є першим симптомом ВІЛ-інфекції. Ефективність і біодоступність цих препаратів були обмежені їх поганою розчинністю у воді і швидкістю розчинення. Запропановано вивчення впливу різних методів приготування (наприклад, замішування, коевапорації, герметичного нагрівання та твердої техніки включення з використанням надкритичного носія для діоксиду вуглецю (SC CO<sub>2</sub>-включення)) для отримання твердих комплексів включення між  $\beta$ -циклодекстрином і трьома протигрибковими препаратами (ітраконазол, еконазол і флуконазол). Фізико-хімічні властивості різних продуктів



характеризувалися диференціальною скануючою калориметрією (ДСК), інфрачервоною спектроскопією з перетворенням Фур'є (FTIR) і порошковою рентгенівською дифрактометрією (PXRD). Аналіз результатів [55] свідчить про можливість формування комплексу між  $\beta$ -циклодекстрином і трьома протигрибковими засобами і вказали, що на формування включення впливає техніка приготування. Також у дослідження встановлено, що метод SC CO<sub>2</sub> - включення виявився ефективним методом отримання твердофазних комплексів включення між  $\beta$ -циклодекстрином і протигрибковими препаратами, уникаючи використання органічних розчинників.

В роботі [56] проводились дослідження на підтвердження формування комплексів включення між біфоназолом (BFZ) і різними похідними циклодекстрину (CD). Так, у даній статті BFZ, імідазольне протигрибкове похідне, є дуже гідрофобною сполукою. Це є основним недоліком у технології одержання фармацевтичних композицій місцевого застосування з оптимальною біодоступністю. Бінарні системи між BFZ і CDs були приготовані в двох молярних співвідношеннях методами фізичного змішування. Фізико-хімічні властивості цих комплексів вивчалися методами диференціальної скануючої калориметрії (ДСК), інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є (FTIR) та методів спектроскопії ядерного магнітного резонансу (ЯМР). Результати показали сприятливу молекулярну взаємодію між компонентами в твердому стані і у розчині [55]. Титрування 1М ЯМР-CD і молекулярне моделювання показали, що найбільш стійкий комплекс був одержаний при використанні  $\gamma$ -CD. Стехіометрія комплексів включення залежить від розміру порожнини CD. Комплекси BFZ: CD мають  $\alpha$ - та  $\beta$ - CD мають стехіометрію 1: 1, тоді як комплекси  $\gamma$ -CD, BFZ: CD мають стехіометрію 2: 1; комплекси BFZ:  $\gamma$ -CD демонстрували дуже високі константи стабільності [56].

Аналогічні синтези представлені в роботі [57] бінарні системи між біфоназолом та  $\beta$ -циклодекстрином були приготовані у двох (BIF:  $\beta$ -CD) молярних співвідношеннях - за фізико-сумішним і замішеним методом.

Мікроскопія на гарячій стадії (HSM), диференційна скануюча калориметрія (DSC), рентгенівська дифрактометрія та Фур'є-трансформована інфрачервона спектроскопія (FT-IR) використовувалися для характеристики взаємодій твердого тіла між біфоназолом та  $\beta$ -циклодекстрином ( $\beta$ -CD) у їх бінарних системах [23]. Аналіз HSM і аналіз DSC підтримують гіпотезу формування комплексів часткового включення між BIF і  $\beta$ -CD. Молекулярне співвідношення продуктів становило 2: 1, 1: 1 BIF:  $\beta$ -CD [57].

У роботах [58] досліджено, що FLZ входить в порожнину тору  $\beta$ -CD з більш широкого кінця. Досліджували за методами ЯМР та молекулярного моделювання. Стехіометрія 1: 1 комплексу FLZ:  $\beta$ -CD визначалася методом безперервної зміни, а загальна константа асоціації була визначена методом Скотта. Константа асоціації була визначена рівною 68,7 M<sup>-1</sup>, яка відповідає ефективності комплексоутворення FLZ: $\beta$ -CD. Захист протонних порожнин  $\beta$ -CD і дегідрування ароматичних протонів FLZ в різних експериментах <sup>1</sup>H-ЯМР показують комплексоутворення між  $\beta$ -CD і FLZ. Були проведені дослідження молекулярного моделювання додатково інтерпретовані дані ЯМР [59]. Авторами робіт [58, 59] встановлено, що найкращий закріплений комплекс з точки зору вільної енергії зв'язку підтримує модель, запропонована в ЯМР-експериментах, і спостерігалось, що м-дифторфенільне кільце FLZ входить в порожнину тору  $\beta$ -CD з більш широкого кінця.

Актуальним напрямком дослідження нових комплексів включення на основі ЦД з препаратами діюча речовина, яких є клотримазол, є вивчення констант стійкості та фізико-хімічних характеристик отриманих систем, механізмів вивільнення молекули-«гостя» з порожнини ЦД. Лімітуючим використанням клотримазола є його слабка розчинність у воді, яка знижує біодоступність [60,61].

У роботі [60] розроблено комплекс клотримазолу з бета-циклодекстрином, котрий показав підвищену розчинність і велику біодоступність на кривих. Сполука включення клотримазолу з бета-циклодекстрином готували методом розпилювальної сушки і

характеризували фазовою розчинністю, диференціальною скануючою калориметрією і розчиненням. Встановлено, що розчинність клотримазолу лінійно зростала як функція концентрації бета-циклодекстрину, що призвело до діаграми фазової розчинності типу A (L), яка виявила утворення сполуки включення в молярному співвідношенні 1: 2 [62]. Швидкість розчинення клотримазолу в комплексі включення значно збільшилася порівняно з порошком клотримазолу у фосфатному буферному розчині з рН 7,4. Таким чином, пероральна біодоступність клотримазолу може бути помітно поліпшена шляхом комплексоутворення [60].

Авторами [61] розглянуто комплекс включення Клотримазолу (КТ) з ЦД. Комплекс КТ-CD готували методом співосадження. Для оцінки формування комплексу і розуміння стереохімії між КТ і СД було виконано різні методики характеристикації, такі як диференціальна скануюча калориметрія (DSC), інфрачервона (ІЧ) і рентгенівська спектроскопія, скануюча електронна мікроскопія і (ЯМР) спектроскопія. Авторами [63] проводилось молекулярне моделювання за допомогою комплекту Шредінгера та програми Гаусса 09 для розуміння структурних конформацій комплексу. Крива фазової розчинності слідувала A<sub>L</sub>-типу, що вказує на формування комплексу 1:1. Дослідження молекулярного стикування підтвердили дані, отримані за допомогою ЯМР та ІЧ-досліджень. Зміни ентальпії підтвердили, що комплексоутворення було екзотермічним і ентальпічно сприятливим явищем. Комплекси КТ-CD формулювали у гелі і оцінювали на вивільнення і протигрибкову активність. Комплекс КТ-CD показав кращу фунгістатичну активність щодо різних видів *Candida*, ніж некомплексні КТ [61].

Що стосується феноксатііну, слід зазначити, що він та його похідні привертають увагу широкого кола дослідників. Вивчались інсектицидні, антибактеріальні, антигельмінтні властивості ФКТ та його похідних [64-66]. Опубліковано роботи, присвячені дослідженню ФКТ та його похідних як потенційних біологічних маркерів [67,68]. До того ж деякі властивості цих сполук чутливі до зміни полярності середовища, тому дослідники викорис-

товують систему циклодекстрин–феноксатіін як модель для вивчення взаємодії протеїн–ліганд. Авторами [69,71] було отримано комплекси включення на основі  $\beta$ -циклодекстрину та його похідних: метил- $\beta$ -ЦД, 2-гідроксипропіл- $\beta$ -ЦД та незаміщеним  $\beta$ -циклодекстрином з феноксатііном. Одержані КВ були проаналізовані методами ІЧ- та УФ-спектроскопії, мас-спектрометрії.

Наявним доказом існування комплексу включення феноксатііну з  $\beta$ -ЦД є дані ДСК [65]. Досліджений  $\beta$ -циклодекстрин характеризується температурою дегідратації при 130° С. Температура плавлення феноксатііну становить 50-52° С, а як свідчать автори, механічна суміш  $\beta$ -ЦД і феноксатііну має два чітко виражені піки, відповідно при 52° і 130°С. Температурні криві утворених комплексів включення у мольному співвідношенні феноксатіін:  $\beta$ -циклодекстрин = 1:1 та 1:2 характеризуються малим піком в області 52°С і невеликим піком – 160°С.

Також методом піролітичної мас-спектрометрії [52] для комплексів включення  $\beta$ -ЦД – феноксатіін вивчалась температурна залежність зміни інтенсивності виділення летких продуктів термодеструкції досліджуваних об'єктів, склад йонних фрагментів, що утворюються при терморозкладанні зразків при різних температурах. На термограмі у роботі [66] видно, що починаючи з 75°С до 100°С, спостерігається стрімке підвищення загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції даної речовини, досягаючи при температурі 90°С максимального показника  $J=464$  ум.од. На термограмі комплексу включення  $\beta$ -ЦД – феноксатіін (1:1), мас-спектрі при температурах 265°С-270°С відбувається максимальне виділення газоподібних компонентів з загальним йонним струмом  $J=440$  ум.од.

В той же час повністю відсутні леткі компоненти, що належать до ФКТ. Такі результати можуть свідчити про значні відмінності в структурі КВ  $\beta$ -ЦД – феноксатіін (1:1) у порівнянні з вихідним  $\beta$ -ЦД. Всі ці експерименти свідчать про те, що дослідження комплексів включення з ФКТ та його похідними є вельми актуальним [67].

В роботах [68,69] наведено результати досліджень комплексів включення між препаратами підгрупи тріазолів класу азолів, бензо-1,4-оксатієну та циклодекстринами та їх похідними, оскільки структура та поліфункціональний характер циклодекстрину відкривають численні можливості для одержання різних систем. Створення цих систем забезпечує стабільність препаратів, поліпшення їх фармакокінетичних і фармакодинамічних властивостей, збільшує їх розчинність, а також адресну доставку в потрібні органи. Без сумніву зростає і практичне застосування цих матеріалів, яке вимагає ширших експериментальних даних.

Противірибкові лікарські препарати в комплексах включення з молекулами ЦД або їх хімічними похідними набувають нові корисні властивості, не властиві вихідним сполукам, що підсилює їх лікувальний ефект. Зміни можуть бути настільки вираженими, що нові препаративні форми навіть не можуть бути віднесені до дженериків [71].

Більшість робіт [69,71] присвячено взаємодії препарату з похідними  $\beta$ -циклодекстрину - метил-бета-циклодекстрину ( $M\beta CD$ ) та 2-гідроксипропіл-бета-циклодекстрином ( $HP\beta CD$ ). У свою чергу, кількість робіт, в яких приділена увага взаємодії препарату з карбоксиметильований  $\beta$ -циклодекстрин ( $KM-\beta$ -ЦД) дуже мало. Дослідження у цьому напрямку є перспективними, оскільки є основою для покращення фізико – хімічних властивостей противірибкових та антибактеріальних лікарських препаратів.

## РОЗДІЛ II

### ВИХІДНІ РЕАГЕНТИ, МЕТОДИ ПРИГОТУВАННЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСІВ ВКЛЮЧЕННЯ

#### 2.1. Вихідні реагенти

$\beta$ -циклодекстрин ( $T_{\text{розкладу}} \sim 290-300^\circ\text{C}$ ), метильований  $\beta$ -циклодекстрин (ступінь заміщення 12), 2-гідроксипропіл- $\beta$ -циклодекстрин (ступінь заміщення 3) фірми Cyclolab R&D Lab. Ltd., використовували без попередньої очистки.

Ізопропіловий спирт  $T_{\text{пл.}} = -98,5^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{кип.}} = 82,4^\circ\text{C}$

Гідроксид натрію (NaOH)  $T_{\text{пл.}} = -323^\circ\text{C}$ ,  $T_{\text{кип.}} = 1388^\circ\text{C}$

Біфоназол (RS)-1-[phenyl(4-phenylphenyl)methyl]-1H-imidazole) – препарат синтетичного походження, виробник (Вітал Лабораторіз Приват Лімітед, Індія).  $T_{\text{пл.}} = 142-143^\circ\text{C}$  Розчинність в воді при pH 6: <0,1 мг/100 мл. Проявляє фунгіцидну дію відносно дерматофітів, дріжджових, пліснявих та інших видів грибів [70]. Використовували без попередньої очистки.

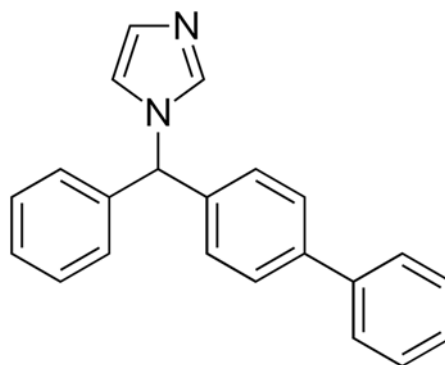


Рис. 2.1 Структурна формула біфоназолу

Клотримазол (1-[(2-chlorophenyl)(diphenyl)methyl]-1H-imidazole) – синтетичний протигрибковий препарат, (Vaishali Pharmaceuticals, Індія).  $T_{\text{пл.}} = 147-149^\circ\text{C}$ . Препарат має як фунгіцидні, так і фунгістатичні властивості, механізм дії речовини полягає в пошкодженні клітинних мембран грибків, пригніченні процесів клітинного дихання, порушенні синтезу та трансформації грибків [70]. Використовували без попередньої очистки.

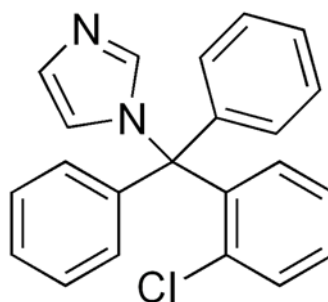


Рис. 2.2 Структурна формула клотримазолу

Феноксатіїн (97%) – біла кристалічна речовина з сильним характерним запахом, фірма «Aldrich», ММ 200,26. Температура плавлення 60–61 °С, температура кипіння 182 °С [70]. Використовували без попередньої очистки.

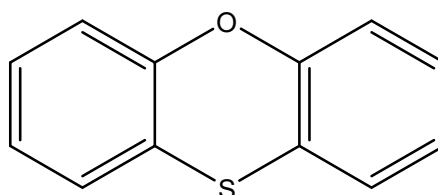


Рис. 2.3 Структурна формула феноксатіїну

## 2.2. Синтез карбоксиметильованого β-циклодекстрину (КМ-β-ЦД)

У скляний реактор ємністю 100 мл наливали 18 г дистильованої води, засипали 2 г NaOH та перемішували до повного розчинення лугу. Додавали β-ЦД в кількості 8 г і перемішували 20 хв до повного його розчинення. До лужного розчину β-ЦД додавали 12,9 г (або 5,8 г у перерахунку на сухий продукт») 45% розчину натрієвої солі монохлор оцтової кислоти та перемішували ще 20 хв. Одержаний розчин витримували 2 год при 80 °С. Після охолодження, додавали 4,8 г 36% розчину HCl і виливали в 200 мл ізопропілового спирту. Утворений осад сушили при 50 °С до сталої ваги. Одержаний продукт переносили на фільтр і промивали 3 рази по 100 мл сумішшю вода:спирт в об'ємному співвідношенні 1:5 [72].

Мольне співвідношення взятих компонентів становило β-ЦД:НХОК:NaOH:HCl = 1:8:8:8.

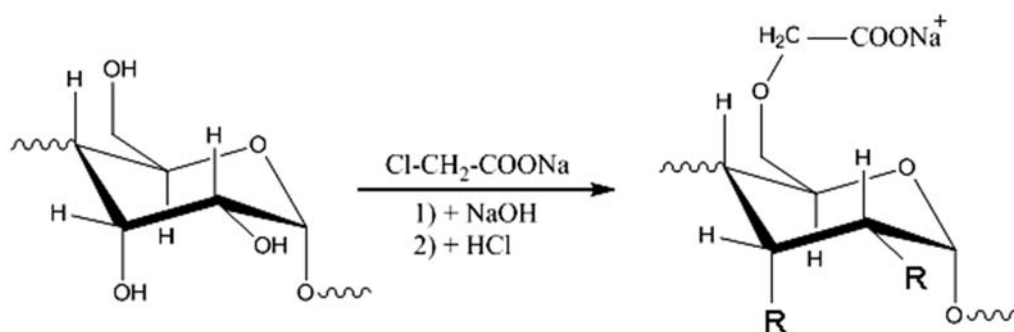


Рис.2.4 Схема синтезу карбоксиметильованого  $\beta$ -ЦД

Ступінь заміщення в перерахунку на 1 ангідроглюкозну ланку (СЗ на  $1_{\text{АГЛ}}$ ) одержаних зразків визначали за допомогою рН-метричного титрування.

В конічні колби ємністю 25 мл поміщали наважки синтезованих зразків в кількості від 100 мг до 200 мг, які розчиняли у 10 мл води. Титрували розчином 0,1N NaOH до рН 10. Потім титрували холосту пробу (з аналогічною наважкою вихідного  $\beta$ -ЦД). За результатами титрування визначаємо СЗ ОН-груп у досліджуваних зразках за трьома вимірюваннями.

СЗ зразків обчислювали за формулами 1.1 та 1.2 [72]:

$$\text{СЗ на } 1_{\text{АГЛ}} = 162 / (MЗ - M_{\text{CH}_2\text{-COOH}}), \quad (1.1)$$

$$MЗ = 1000 \cdot m \cdot W / (V_{\text{NaOH}} - V_{\text{х.х.}}) \cdot N_{\text{NaOH}}, \quad (1.2)$$

де  $MЗ$  – еквівалентна молекулярна маса зразка (на одну  $\text{COOH}$ -групу);

$W$  – масова частка сухих речовин ( $W = 0,88$ );

$M_{\text{CH}_2\text{-COOH}} = 58$ ;

$m$  – маса зразка, мг.

$V_{\text{NaOH}}$  – об'єм 0,1 N розчину NaOH, використаного для титрування наважки зразка, мл;

$V_{\text{х.х.}}$  – об'єм 0,1 N розчину NaOH, використаного для холостого ходу, мл;

$N_{\text{NaOH}} = 0,1$ .

Таблиця 2.1

Зразок	Полісахарид	Мольне співвідношення реагентів		Ступінь заміщення, СЗ на $1_{\text{АГЛ}}$
		НХОК	NaOH	
КМ- $\beta$ -ЦД-2	$\beta$ -ЦД	8	8	0,3



### 2.3. Проведення процесу солюбілізації ЛП

Солюбілізація являє собою колоїдні розчинення різних речовин у міцелах солюбілізатора. Сам процес солюбілізації полягає в утворенні комплексів включення. Як солюбілізатор нами використано похідні  $\beta$ -циклодекстрин. Солюбілізаторами є антибактеріальні та протигрибкові лікарські препарати [73]. Для досліджень обираємо 2 зразки, перший використовували, як порівняльний зразок механічної суміші досліджуваного ЛП з КМ- $\beta$ -ЦД, або ж з іншим похідним  $\beta$ -циклодекстрину, а другий одержували з водного розчину  $\beta$ -ЦД або з його похідними та ЛП.

Дослідження процесу солюбілізації проводиться за допомогою фазової розчинності, методика якої, розроблена авторами у роботі [74, 76]. Аналіз фазової розчинності полягає у визначенні впливу солюбілізатора, наприклад, ЦД на сполуку, що солюбілізується. Надлишок субстрату зважують окремо і додають до розчинів постійного об'єму, які містять різні концентрації ЦД (як правило концентрація ЦД складає від 1 до 10% ваг.). Розчини перемішують при постійній температурі до встановлення рівноваги, потім нерозчинна частина субстрату видаляється, а фільтрат (розчин) аналізується для визначення концентрації субстрату. На основі одержаних результатів будують діаграму: молярні концентрації субстрату відкладають по осі Y, а концентрації циклодекстрину по осі X.

Діаграми фазової розчинності у роботі [73] поділяють на діаграми А- та В-типу: А- тип кривої означає утворення розчинного комплексу включення, В- тип свідчить про утворення комплексів включення з поганою розчинністю. В<sub>s</sub>- тип характеризує обмежену розчинність, а В<sub>l</sub>- тип – нерозчинні комплекси. А-крива має декілька підвидів: А<sub>L</sub>- тип - залежність лінійного підвищення розчинності сполуки від концентрації циклодекстрину, А<sub>p</sub>- крива позитивно відхилена ізотерма, А<sub>N</sub>- негативно відхилена ізотерма. Нижче наведена схематична діаграма залежності концентрації солюбілізатора від концентрації циклодекстрина (Рис. 2.5).

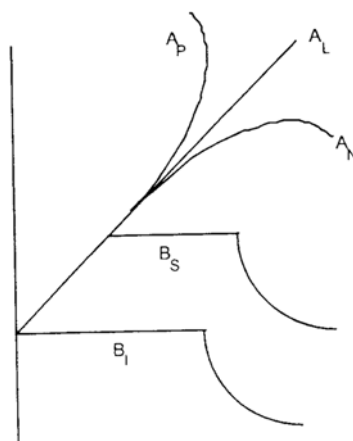


Рис. 2.5 Діаграма фазової розчинності для комплексів циклодекстринів.

Такий підхід дозволяє не тільки якісно, але й кількісно оцінити комплекси, а константу стійкості визначають за такою формулою [73,76]:

$$K = \frac{\operatorname{tg} \alpha}{S(1 - \operatorname{tg} \alpha)},$$

де  $K$  - константа стійкості комплексу,  $S$ - початкова концентрація солюбілізатора,  $\operatorname{tg} \alpha$  – кут нахилу прямої.

#### 2.4 Методи дослідження

*Фотометричні дослідження та УФ-спектри* здійснювались на спектрофотометрі UV-2401 PC ( Shimadzu) в діапазоні 190- 1100 нм у вигляді розчинів. Роздільна здатність  $\pm 0,1$  нм; точність довжини хвилі  $\pm 0,3$  нм; відтворюваність в межах  $\pm 0,1$  нм. Фотометрична точність  $\pm 0,004$  абс.од. в діапазоні 0,5-1,0. Відтворюваність в межах 0,2%.

*ІЧ-спектроскопія.* ІЧ-спектри знімали на приладі з Фур'є-перетворенням Bruker Tensor-37 (Німеччина) з діапазоном частот 4000 – 400 $\text{см}^{-1}$  і роздільністю 4  $\text{см}^{-1}$ . Зразки досліджували у вигляді дисків, спресованих з KBr. Точність хвильового числа 0,01  $\text{см}^{-1}$ , фотометрична точність 0,1%.

*Рентгенографічні дослідження* здійснювали методом ширококутового розсіювання рентгені променів (WAXS method). Дослідження проводили в  $\text{CuK}\alpha$ - випромінюванні, монохроматизованому Ni-фільтром, по методу Дебая–Шерера (на проходження первинного пучка випромінювання через зразок) з потужністю 30 кВт/ 40 мА.

*Мас-спектрометрія.* Досліджування зразків проводили на мас-спектрометрі МХ-1321, який забезпечує визначення компонентів газових сумішей в діапазоні масових чисел 1 – 4000. Перед проведенням досліджень зразки вакуумували впродовж 30 хв. при температурі 25°C безпосередньо у вічку мас-спектрометра. Відкачування піролітичної ячейки, підключеної до аналізатора спектрометра, проводили до тиску  $1,33 \cdot 10^{-4}$  Па через вакуумний вентиль та джерело йонів мас-спектрометра. Всі з'єднувальні комунікації, включаючи вакуумний вентиль, обігрівались до температури, яка запобігає конденсації на них продуктів піролізу. Зразки нагрівались до 400°C з програмованою швидкістю нагрівання  $(6 \pm 1)^\circ\text{C}/\text{хв}$ . Точність визначення температури зразка  $\pm 1^\circ\text{C}$ . Обробку мас-спектрів летких продуктів термодеструкції об'єктів дослідження проводили за спеціально розробленою комп'ютерною програмою, яка дозволяє реєструвати інтенсивність кожного газоподібного компонента по інтегральній площі під відповідними піками. Вивчалась температурна залежність зміни інтенсивності виділення летких продуктів термодеструкції.

*ДСК* проводили на приладі TA Instruments DSC Q2000 у вигляді порошку. Діапазон робочих температур від -90 до 450°C; швидкість лінійного нагрівання від 0,1 до 100 °C/хв; точність температури 0,005 °C, теплового потоку 0,5 кал; атмосфера повітря та інертного газу.

### РОЗДІЛ III

## ФОРМУВАННЯ КОМПЛЕКСІВ ВКЛЮЧЕННЯ НА ОСНОВІ ЦИКЛОДЕКСТРИНІВ

### 3.1 Дослідження комплексу включення(солюбілізації) біфоназолу

Біфоназол містить імідазольний цикл ( $pK_a$  9.30), а завдяки ароматичним кільцям БФН є ліпофільною речовиною ( $\log P$  4.77), яка майже не розчиняється у воді – його розчинність 0,7 мкг/мл при 25°C [77].

Дослідження процесу солюбілізації БФН у присутності КМ- $\beta$ -ЦД у порівнянні з іншими похідними ЦД, такими як (2-гідроксипропіл)- $\beta$ -циклодекстрин (ГП- $\beta$ -ЦД), метил- $\beta$ -циклодекстрин ( $\beta$ -ЦД-Мет), а також похідного крохмалю – карбоксиметилкрохмалю (КМ-КР) проводили з використанням методу УФ-спектроскопії.

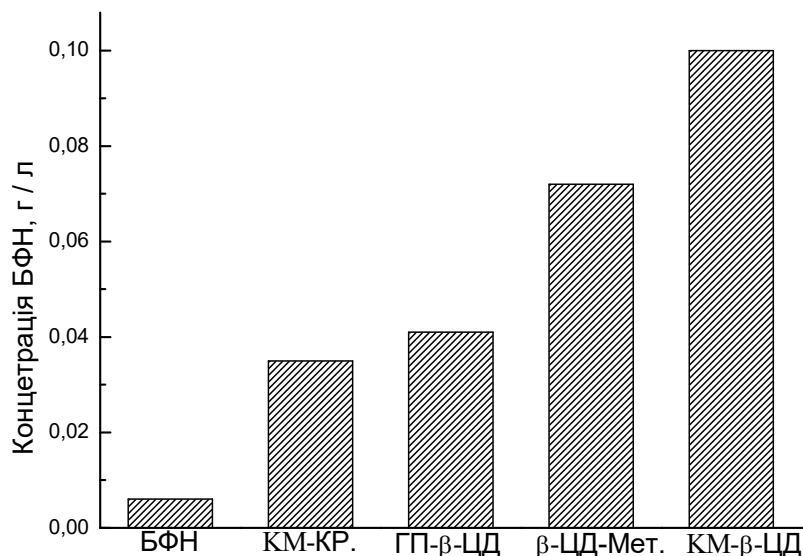


Рис. 3.1.1 Солюбілізація БФН

Виходячи з одержаних даних застосування похідних  $\beta$ -ЦД та КМ-КР приводить до поліпшення солюбілізації (розчинності) БФН майже в 6-12 разів (рис. 3.1.1). Найкраще розчинення препарату спостерігається при використанні КМ- $\beta$ -ЦД, при цьому розчинність БФН збільшується більш ніж у 50 разів.

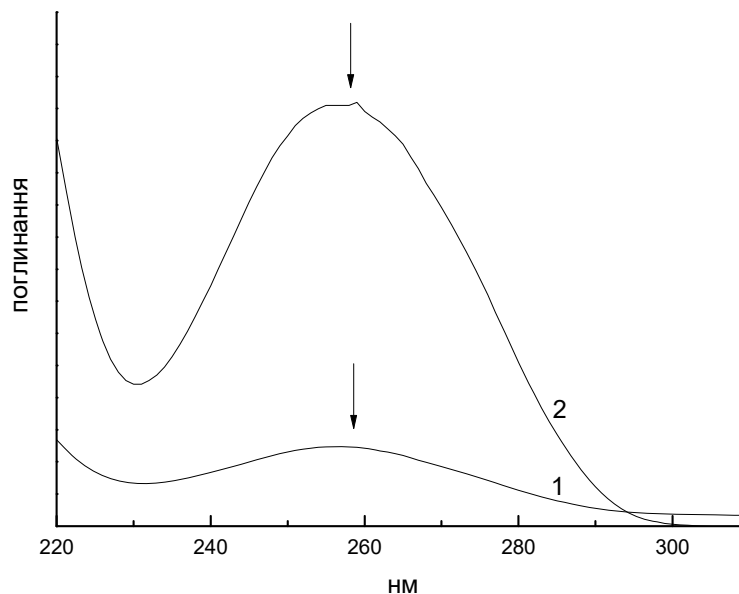


Рис. 3.1.2 Розчинність біфеназолу (БФН) у присутності КМ- $\beta$ -ЦД: 1 - чистий БФН, 2 – БФН з КМ- $\beta$ -ЦД

Фазову розчинність БФН у присутності КМ- $\beta$ -ЦД визначали методом Хігучі і Коннора [73]. В колбах готували 0,5, 1,0 та 2,0%-ні водні розчини КМ- $\beta$ -ЦД і додавали в кожену колбу триразовий надлишок твердого БФН (0,18 г або 0,0009 моль). Колби струщували за кімнатної температури протягом доби, осад, що залишився, відфільтровували. Після чого вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 254 нм і розраховували концентрацію БФН у розчині з рівняння побудованої калібрувальної прямої.

На основі даних УФ-спектроскопії була побудована крива залежності концентрації БФН від концентрації КМ- $\beta$ -ЦД у розчині.

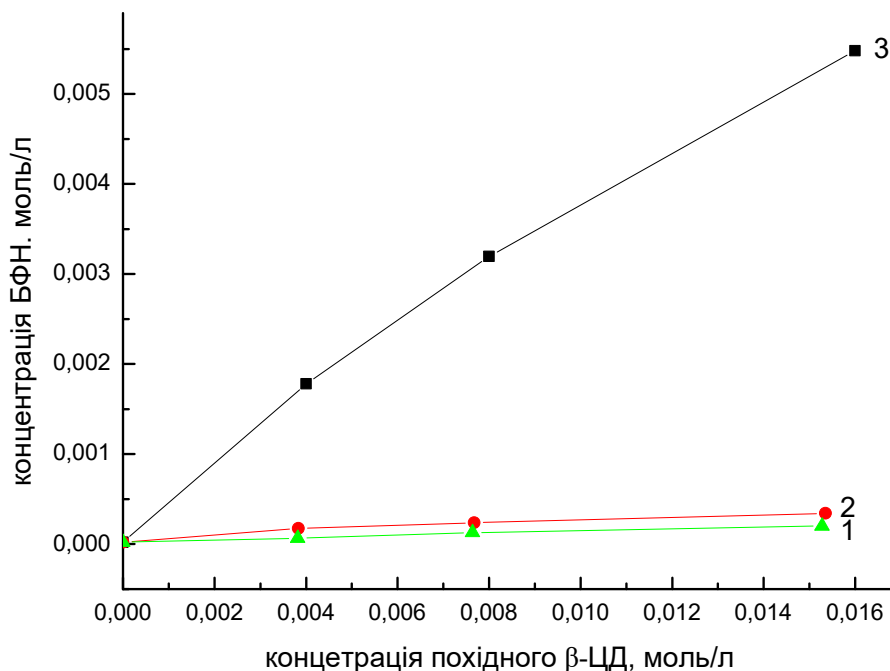


Рис .3.1.3 Розчинність бифоназолу (БФН) у присутності різних похідних β-ЦД: 1 – гідроксипропил-, 2 – метил-, 3 – карбоксиметил-β-ЦД

Обчислено константу стійкості досліджуваного комплексу за

формулою 
$$K = \frac{tg\alpha}{S(1-tg\alpha)},$$

де  $K$  – константа стійкості комплексу,  $S$  – початкова концентрація солюбілізату, визначена фотометрично для феноксатіїну,  $tg\alpha$  – кут нахилу прямої.

Встановлено, що константа стійкості комплексу КМ-β-ЦД з БФН становить  $K = 21 \text{ M}^{-1}$ . Для порівняня для метил- β-ЦД  $K=4,3 \text{ M}^{-1}$ , а для гідроксипропіл  $K=3,4 \text{ M}^{-1}$ .

Структуру одержаних комплексів включення КМ-β-ЦД і БФН досліджували методом ширококутового розсіювання рентгенівських променів (рис. 3.1.4) [78].

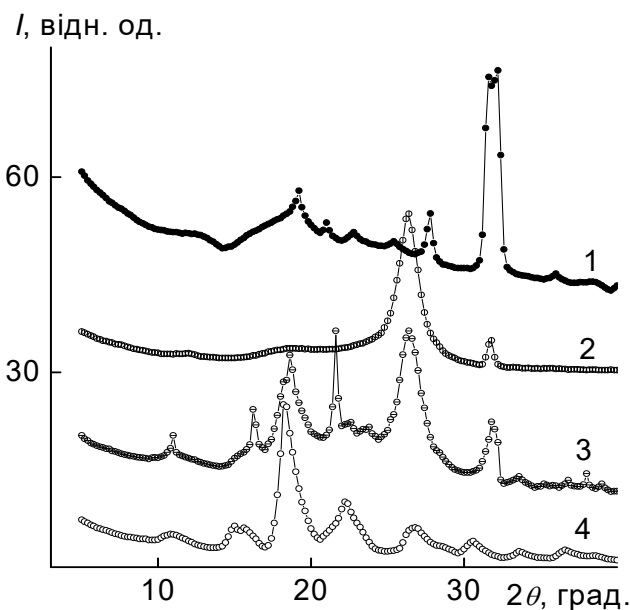


Рис. 3.1.4 Ширококутові рентгенівські дифрактограми зразків вихідного КМ-β-ЦД (1), комплексу включення КМ-β-ЦД – БФН (2), механічної суміші КМ-β-ЦД – БФН (3), БФН (4).

При проведенні аналізу рентгенівських дифрактограм зразків (рис. 3.1.4) виявлено, що вони мають аморфно-кристалічну структуру із високим (>50%) відносним рівнем кристалічності структури ( $X_{кр}$ ):

$$X_{кр} = Q_{кр} (Q_{кр} + Q_{ам})^{-1} \times 100,$$

де  $Q_{кр}$  – площа дифракційних максимумів, що характеризують кристалічну структуру зразків, а  $(Q_{кр} + Q_{ам})$  – площа всієї дифрактограми (після вирахування фонового розсіяння рентгенівських променів) в єдиному для всіх зразків інтервалі кутів розсіяння рентгенівських променів (від  $14,2^\circ$  до  $39,2^\circ$ ). Результати визначення величини  $X_{кр}$  представлені в табл. 3.1. Слід відмітити, що Біфоназол має низьку молекулярну масу (310,4), і відповідно його величина  $X_{кр}=100\%$ .

Величина відносного рівня кристалічності зразків наведена нижче в табл. 3.1:

Таблиця 3.1

Зразки	$X_{кр}, \%$
КМ- $\beta$ -ЦД	75,3
Комплекс КМ- $\beta$ -ЦД : БФН	68,7
Мех. суміш КМ- $\beta$ -ЦД : БФН	77,8
БФН	100,0

При порівнянні рентгенівських дифрактограм комплексу включення та його аналога – механічної суміші виявлено, що механічна суміш має значно вищий рівень кристалічності, про що свідчить прояв на її рентгенівській дифрактограмі значної кількості синглетних дифракційних максимумів дискретного типу на фоні уявного аморфного гало із кутовим положенням ( $2\theta_m$ ) близько  $23^\circ$ . Однак інтенсивний мультиплетний дифракційний максимум при  $2\theta_m=26,3^\circ$  видно як на дифрактограмі комплексу включення, так і на дифрактограмі механічній суміші (рис. 3.2, криві 2 і 3 відповідно). Цей максимум, ймовірно, є наслідком існування інтенсивних міжмолекулярних взаємодій за участю карбоксильних груп КМ- $\beta$ -ЦД і полярних груп в молекулах БФН. На дифрактограмах комплексу включення і механічної суміші присутній також синглетний дифракційний максимум при  $2\theta_m=31,8^\circ$ , який співпадає (за кутовим положенням) із центром дублетного максимуму на дифрактограмі карбоксиметильованого  $\beta$ -ЦД (рис. 3.1.4, криві 1-3).

Аналіз результатів досліджень дозволив зробити припущення, що КМ- $\beta$ -ЦД має подвійний ефект при сольобілізації БФН. Цьому сприяє наявність гідрофобної порожнини у циклодекстрині та функціональні замісники (карбоксиметильні групи), які, вірогідно, беруть участь у протонуванні молекули Біфоназолу.

Аналіз результатів термогравіметричного аналізу для вихідних БФН і КМ- $\beta$ -CD, механічної суміші і комплексу дає змогу зробити висновок про утворення комплексу включення типу «гість-хозяїн». Відомо, що  $\beta$ -ЦД можна



розглядати як кристалогідрат, де частина молекул води міститься у внутрішній порожнині  $\beta$ -ЦД, а інша частина – в просторі між макроциклами. Втрата ваги вихідного  $\beta$ -ЦД при  $T = 70^\circ\text{C}$  пов'язана з виділенням води і становить близько 13 мас.%. При утворенні комплексу включення частина молекул води в порожнині  $\beta$ -ЦД заміщується молекулами-«гостями», тому для комплексу втрата ваги становить лише 5 мас.%, тоді як для механічної суміші – 10 мас.% (табл. 3.2). Виходячи з того, що температура початку розкладання для комплексу включення ( $285^\circ\text{C}$ ) і суміші відрізняється ( $255^\circ\text{C}$ ), комплекс включення утворюється, ймовірно, завдяки проникненню кільця імідазолу в порожнину  $\beta$ -ЦД. Тоді як для суміші менша енергія взаємодії між КМ- $\beta$ -CD та БФН зумовлює і як наслідок нижчу температуру початку розкладання (приблизно на  $30^\circ\text{C}$ ).

Таблиця 3.2

Результати термогравіметричного аналізу об'єктів дослідження наведено в табл. 3.2

Зразок	Втрата ваги, $^\circ\text{C}$			Виділення води, мас.%
	Початок	Максимум	Закінчення	
КМ- $\beta$ -ЦД	283	312	335	13
БФН	235	280	287	–
Комплекс (1:1)	285	309	330	5
Суміш (1:1)	255	288	364	10

При аналізі ДСК-термограм виявилось, що існує різниця в термічній поведінці зразків БФН, БФН-КМ- $\beta$ -ЦД(фізичної суміші) та відповідного комплексу включення на їх основі. Як показано на рис.3.1.5, БФН демонструє характерний ендотермічний пік плавлення при  $150,3^\circ\text{C}$ , який відповідає температурі плавлення БФН. Вихідний КМ- $\beta$ -CD демонструє широкий ендотермічний пік в діапазоні від  $22,09$  до  $143,94^\circ\text{C}$  з максимумом при  $64,75^\circ\text{C}$ , який вказує на втрату адсорбованої води. На термограми фізичної суміші фіксуються ендотермічні піки, що можна віднести до БФН ( $151,6^\circ\text{C}$ ) та

КМ- $\beta$ -ЦД (72, 26°C). Тоді як на термограмі комплексу БФН-КМ- $\beta$ -ЦД 1: 1 фіксується лише один ендотермічний пік при 64,75°C, що вказує на інтенсивну взаємодію між компонентами комплексу. Відсутність характерного піку БФН на термограмі є доказом включення препарату в гідрофобну порожнину ЦД.

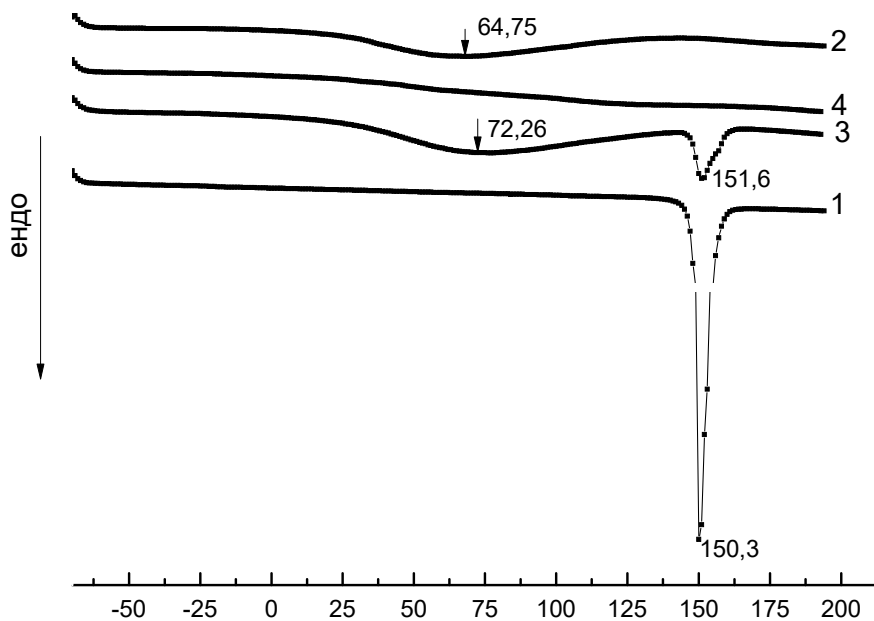


Рис. 3.1.5 Термограми нагрівання ДСК БФН (1), комплексу включення  $\beta$ -ЦД--КМ- $\beta$ -ЦД (2), механічної суміші (3), вихідного КМ- $\beta$ -ЦД (4).

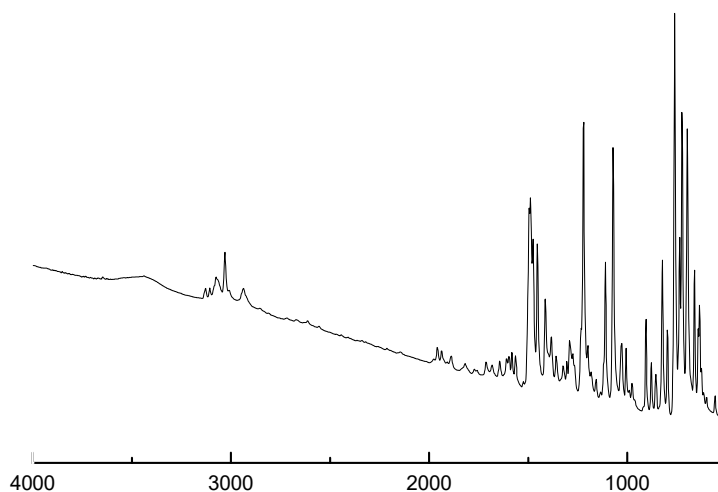


Рис. 3.1.6 ІЧ-спектр вихідного БФН

На рис. 3.1.6 наведений ІЧ-спектр БФН, для якого характерні багаточисельні смуги поглинання в області  $1600\text{--}500\text{ см}^{-1}$ . Найбільш інтенсивні смуги у спектрі БФН обумовлені імідазольним кільцем ( $1000\text{--}650\text{ см}^{-1}$ ,  $1680\text{--}1640\text{ см}^{-1}$ ) та взаємозв'язок між аліфатичним С та N у циклі імідазолу ( $\nu\text{C-N}$ ), а також смуги поглинання ароматичних циклів ( $1600\text{--}1585\text{ см}^{-1}$ ). Серед характерних смуг  $2850\text{--}3000\text{ см}^{-1}$  -  $\nu\text{C-H}$  зв'язків імідазольного кільця та трьох ароматичних кілець (рис. 3.1.7).

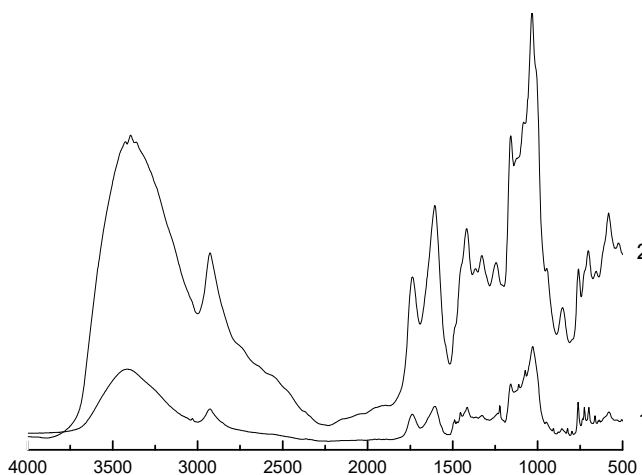


Рис.3.1.7 ІЧ-спектр 1 – механічної суміші БФН і КМ- $\beta$ -ЦД, 2 – комплекс вклюдення

На ІЧ-спектрі суміші добре фіксуються як смуги поглинання БФН, так і смуги поглинання КМ- $\beta$ -ЦД зокрема широка смуга поглинання, що відноситься до глюкопіранозного кільця в області 1200-1000  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 3.1.7 крива 1). Для ІЧ-спектру комплексу зафіксовано зникнення характерних смуг поглинання БФН в області 1000–650  $\text{cm}^{-1}$  (рис.3.1.7 крива 2). Зникнення характерних частот кільця імідазолу з спектрів поглинання комплексу вказує на те, що воно увійшло в порожнину КМ- $\beta$ -CD.

### 3.2 Дослідження комплексу включення (солюбілізації) клотримазолу

Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 262 нм і розраховували концентрацію клотримазолу у розчині.

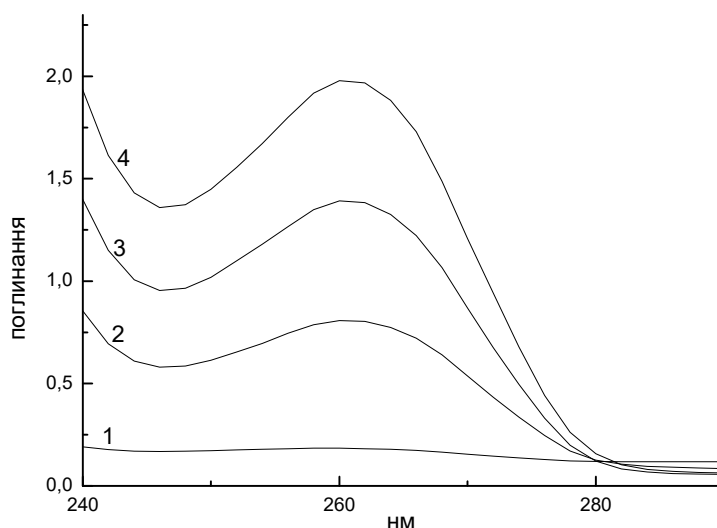


Рис 3.2.1 Розчинність Клотримазолу (КЛ) у присутності КМ- $\beta$ -ЦД різної концентрації: 1 - чистий КЛ, 2 – КЛ з 0,5% КМ- $\beta$ -ЦД, 3 – КЛ з 1% КМ- $\beta$ -ЦД, 4 – КЛ з 2% КМ- $\beta$ -ЦД

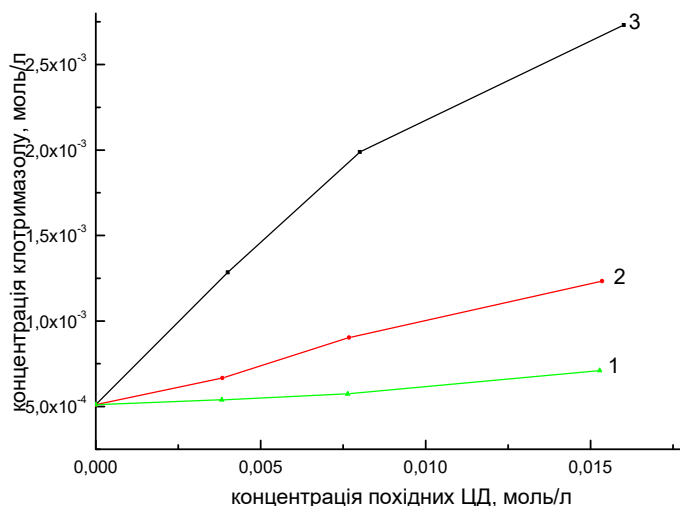


Рис. 3.2.2 Розчинність Клотримазолу (КЛ) у присутності різних похідних  $\beta$ -ЦД: 1 – гідроксипропил-, 2 – метил-, 3 – Карбоксиметил- $\beta$ -ЦД

Встановлено, що константа стійкості комплексу КМ- $\beta$ -ЦД з КЛ становить  $K = 4,4 \text{ M}^{-1}$ . Для порівняння для метил-  $\beta$ -ЦД  $K=1,43 \text{ M}^{-1}$ , а для 2-гідроксипропіл  $\beta$ -ЦД  $K=0,25 \text{ M}^{-1}$ .

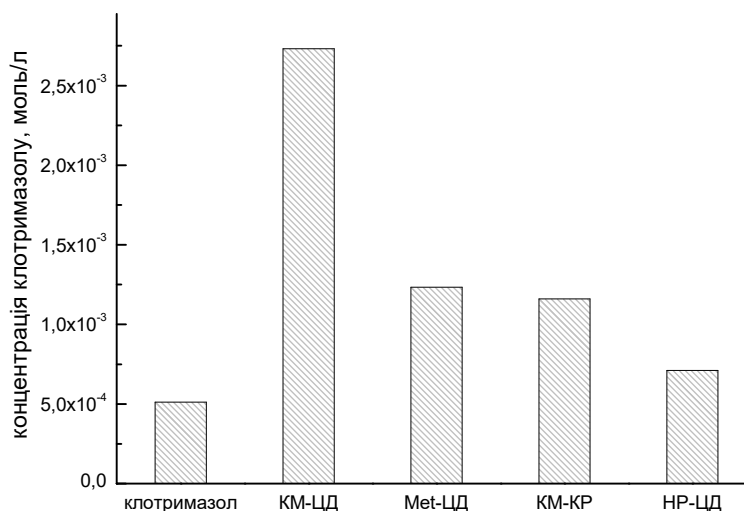


Рис. 3.10 Солюбілізація КЛ

Дослідження ПМС проводилися на мас-спектрометрі МХ-1321, який забезпечує визначення компонентів газових сумішей в діапазоні масових чисел 1 – 4000. Маса зразків становила 0,2 мг. Дослідження проводилися у відповідності з методикою, описаною у роботі [79]. Обробку мас-спектрів летких продуктів термодеструкції об'єктів дослідження проводили за

допомогою комп'ютерної програми, яка дозволяє реєструвати інтенсивність кожного газоподібного продукту по інтегральній площі під відповідним піком. Вивчалась температурна залежність зміни інтенсивності виділення летких продуктів термодеструкції досліджуваних об'єктів (загальний іонний струм ( $J$ )), склад іонних фрагментів, що утворюються при терморозкладанні зразків. Інтенсивність ( $I$ ) виділення окремих летких продуктів (іонних фрагментів) відображали в умовних одиницях. Одержані мас-спектри продуктів деструкції порівнювали з мас-спектрами каталогів [80,81].

На рис.3.2.3 наведено термограми об'єктів дослідження, які одержані методом піролітичної мас-спектрометрії.

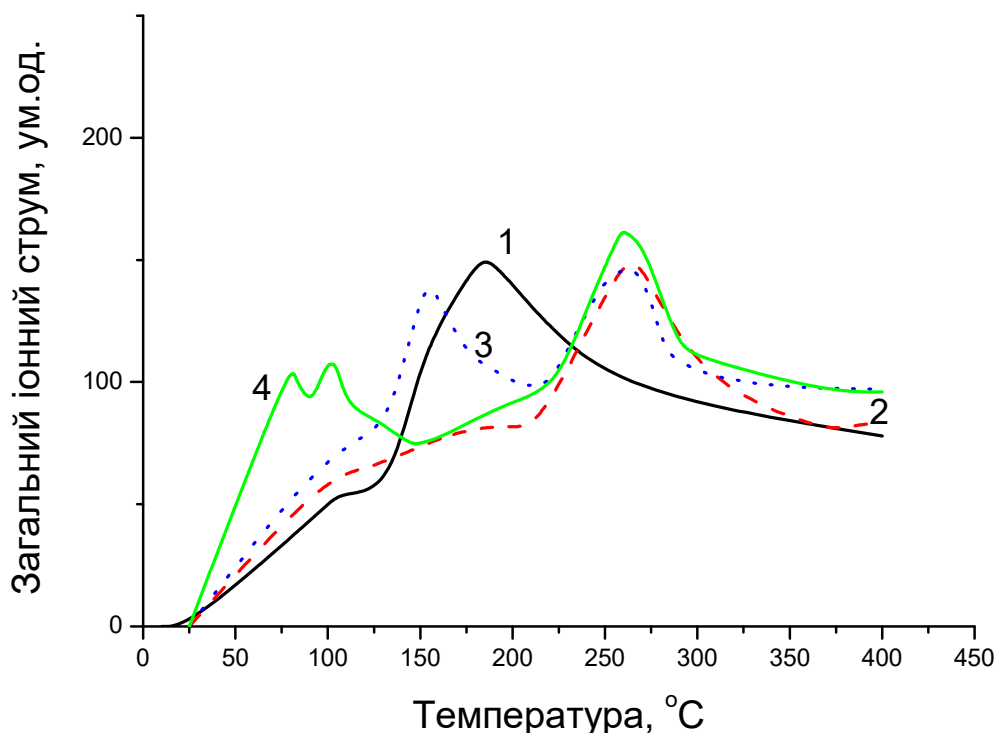


Рис.3.2.3 Температурна залежність загального йонного струму виділення летких продуктів термодеструкції: клотримазолу (1) ; карбоксиметил- $\beta$ -ЦД (2); механічної суміші карбоксиметил - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1) (3); комплексу карбоксиметил - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1) (4).

Як видно з даного рисунку, максимальне виділення летких компонентів при піролізі клотримазолу (крива 1) спостерігається при 190 °С.

При даній температурі утворюється 77 іонних фрагментів з загальним іонним струмом 148 ум.од. (табл.3.3).

Таблиця 3.3

Об'єкт дослідження	T, °C	J, ум. од.	K, од.
КМ- $\beta$ -ЦД	260	150	27
Клотримазол	190	148	77
Суміш КМ- $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1)	160	134	85
	260	146	66
Комплекс КМ - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1)	100	108	57
	260	162	70

Таблиця 3.3. Температура розкладання ( $T$ ), загальний іонний струм ( $J$ ) та кількість іонних фрагментів ( $K$ ) при піролізі КМ -  $\beta$ -циклодекстрину, клотримазолу, суміші КМ- $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1) та комплексу КМ - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1)

Максимальне виділення летких компонентів при піролізі КМ- $\beta$ -ЦД (крива 2) спостерігається при 260°C з утворенням 27 іонних фрагментів і загальним іонним струмом 150 ум.од. (табл.3.3).

Термограма механічної суміші карбоксиметил - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1) відрізняється наявністю 2-х піків розкладання: перший в інтервалі температур 125– 200 °C з максимумом при 160°C ( $J=134$  ум.од) и другий в діапазоні температур 225-300°C з максимумом при 260°C ( $J=146$  ум.од) (рис. 3.2.3, крива 3).

На термограмі комплексу карбоксиметил - $\beta$ -ЦД з клотримазолом (1:1) (рис 3.2.3, крива 4) також спостерігається два інтервала термодеструкції : перший в інтервалі температур 80– 100 °C з максимумом при 100°C ( $J=108$  ум.од), а другий в діапазоні 225-300°C з максимумом при 260°C ( $J=162$  ум.од).

Слід відмітити, що другий пік термодеструкції як механічної суміші, так і комплексу карбоксиметил  $\beta$ -ЦД з клотримазолом повністю знаходяться в межах терморозкладання карбоксиметил  $\beta$ -ЦД. В той же час перша стадія термодеструкції механічної суміші лежить в температурних межах, близьких до вихідного клотримазолу, а в комплексі виділення летких компонентів починається на 100 °С раніше. Це свідчить про відмінність в структурній організації механічної суміші та комплексу карбоксиметил  $\beta$ -ЦД з клотримазолом.

При проведенні аналізу рентгенівських дифрактограм вихідних зразків КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазола (рис. 3.2.4 , криві 1,2) виявлено, що КМ- $\beta$ -ЦД має аморфно-кристалічну структуру, тоді як клотримазол – лише кристалічну структуру, оскільки ця сполука є низькомолекулярною. На аморфно-кристалічну структуру КМ- $\beta$ -ЦД вказує прояв (на фоні асиметричного аморфного гало із кутовим положенням ( $2\theta_m$ ) його вершини  $\sim 23,4^\circ$ ) трьох дискретних дифракційних максимумів із кутовим положенням при  $2\theta_m=18,0^\circ$ ,  $23,1^\circ$  і  $27,6^\circ$ . Звертає на себе увагу також прояв на дифрактограмі зразка КМ- $\beta$ -ЦД малоінтенсивного дифракційного максимуму у вигляді «плеча» при  $2\theta_m\sim 6,7^\circ$ , який характеризує існування у об'ємі КМ- $\beta$ -ЦД шаруватої структури, яка обумовлена прищепленими фрагментами  $-\text{CH}_2-\text{COOH}$  до макроциклів  $\beta$ -ЦД.



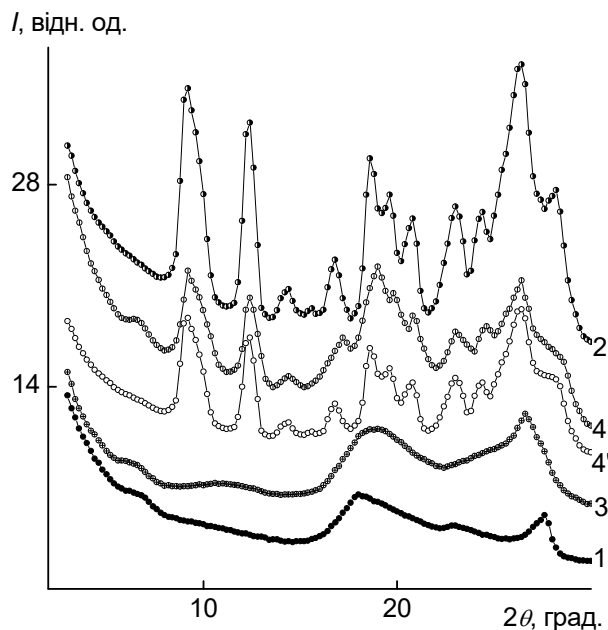


Рис. 3.2.4 Рентгенівські дифрактограми КМ- $\beta$ -ЦД (1), клотримазола (2), їх комплексу-включення (3) і механічної суміші (4,4').

4 і 4' – експериментальна і розрахункова дифрактограми

На кристалічну структуру клотримазола вказує прояв на його рентгенівській дифрактограмі значної кількості синглетних і мультиплетних дифракційних максимумів дискретного типу, серед яких найбільш інтенсивними є мультиплетний та синглетний дифракційні максимуми при  $2\theta_m=9,2^\circ$  і  $12,4^\circ$ , а також мультиплетний максимум при  $2\theta_m=26,6^\circ$ .

Оцінку відносного рівня кристалічності ( $X_{кр}$ ) зразка КМ- $\beta$ -ЦД проводили у відповідності зі співвідношенням:

$$X_{кр} = Q_{кр} (Q_{кр} + Q_{ам})^{-1} \times 100,$$

де  $Q_{кр}$  і  $Q_{ам}$  – площа дискретних дифракційних максимумів, що характеризують кристалічну структуру КМ- $\beta$ -ЦД та уявного аморфного гало в інтервалі кутів розсіяння ( $2\theta$ ) від  $15,0^\circ$  до  $30,0^\circ$ , який включає основну дифракційну картину. Проведена оцінка виявила, що рівень кристалічності зразка КМ- $\beta$ -ЦД становить 36%.

При проведенні аналізу рентгенівської дифрактограми зразка комплексу-включення на основі КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазолу (рис.3.2.4, крива 3)

виявлено, що його структура є аморфно-кристалічною, при цьому має місце прояв найбільш інтенсивних дифракційних максимумів дискретного типу, які мають прояв на дифрактограмі зразка клотримазола, а також малоінтенсивного максимуму у вигляді «плеча», що характеризує наявність шаруватої структури у об'ємі КМ- $\beta$ -ЦД. Тобто комплекс-включення має свою аморфно-кристалічну структуру, але в незначній мірі мають відображення також певні особливості структури його складових (КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазолу). Зокрема, на рентгенівській дифрактограмі комплексу-включення має прояв дискретний дифракційний максимум при  $2\theta_m=26,6^\circ$  (тобто із кутовим положенням одного із найбільш інтенсивних дискретних дифракційних максимумів на дифрактограмі клотримазола) на фоні асиметричного аморфного гало із вершиною при  $2\theta_m\approx 18,8^\circ$ . Крім цього, перші два інтенсивні дискретні дифракційні максимуми на дифрактограмі клотримазола на дифрактограмі комплексу-включення відображені у вигляді малоінтенсивного мультиплетного дифракційного максимуму при  $2\theta_m\sim 11,0^\circ$  (рис.3.2.4, криві 2,3). Слід також відмітити, що на дифрактограмі комплексу-включення має прояв і малоінтенсивний дифракційний максимум у формі «плеча», який дещо зміщений в область менших кутів розсіювання ( $2\theta_m\approx 6,3^\circ$ ), порівняно з його положенням на дифрактограмі КМ- $\beta$ -ЦД (рис.3.2.4 криві 1,3).

Проведена оцінка рівня кристалічності комплексу-включення виявила, що  $X_{кр}\approx 17\%$ .

Із аналізу рентгенівської дифрактограми зразка механічної суміші КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазолу (рис.3.2.4, крива 4) виявлено, що він має лише кристалічну структуру, яка є аналогічною зі структурою клотримазолу, однак існує також і шарувата структура, характерна КМ- $\beta$ -ЦД. На це вказує прояв на рентгенівській дифрактограмі механічної суміші (КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазолу) усіх дифракційних максимумів, що присутні на дифрактограмі клотримазолу, із практично однаковим кутовим положенням та з незначною

відмінністю співвідношення їх інтенсивностей, а також проявом більш чіткого малоінтенсивного максимуму при  $2\theta_m \approx 6,5^\circ$ , притаманного КМ- $\beta$ -ЦД.

При співставленні рентгенівської дифрактограми механічної суміші (рис.3.2.4, крива 4) із дифрактограмою (рис.3.2.4, крива 4'), розрахованою у припущенні адитивних внесків її компонентів у дифракційну картину:

$$I_{add} = w_1 I_1 + w_2 I_2,$$

де  $w_1, w_2$  і  $I_1, I_2$  – масова частка та інтенсивність розсіяння рентгенівських променів КМ- $\beta$ -ЦД і клотримазолу ( $w_1 + w_2 = 1$ ), виявлено, що на розрахованій дифрактограмі відсутній малоінтенсивний дифракційний максимум у вигляді «плеча», а присутні лише дискретні дифракційні максимуми, що мають місце на дифрактограмі клотримазолу. Таким чином, проведені дослідження виявили, що аморфно-кристалічна структура комплексу-включення на основі має значну відмінність від структури механічної суміші, якій характерна структура вихідних зразків її компонентів.

### 3.3 Дослідження комплексу включення(солюбілізації) феноксатііну

Для дослідження комплексу включення КМ- $\beta$ -ЦД з феноксатііном (ФКТ) використовували 2 зразки, перший – механічна суміш КМ- $\beta$ -ЦД та ФКТ у співвідношенні 1:1. Для його приготування вихідні речовини ретельно розтирали в фарфоровій чашці протягом 30 хв. Суміш мала характерний запах ФКТ. Другий зразок, одержували з водного розчину КМ- $\beta$ -ЦД та ФКТ у співвідношенні 1:1. Для нього готували водні розчини вихідних речовин, змішували й витримували 20 год. при  $60^\circ\text{C}$ , періодично перемішуючи. Прозорий розчин випарювали і сушили в сушильній шафі дві доби. В результаті одержали білу речовину без запаху.

Далі досліджені об'єкти вивчали методами ІЧ- та УФ-спектроскопії, а також піролітичної мас-спектрометрії (ПМС). В ІЧ-спектрі феноксатііну для його характеристики обрано смуги поглинання з частотами  $752\text{ см}^{-1}$  (позаплощинне деформаційне коливання СН ароматичних кілець);  $1560, 1585, 1454\text{ см}^{-1}$  ( $\nu\text{ C}\cdots\text{C}$  ароматичних кілець) і дві сильні смуги поглинання з частотами  $1221$  і  $1261\text{ см}^{-1}$ , які відносяться до коливань груп С–О–С і С–S–С,

спряжених з ароматичним кільцем. Ці смуги поглинання не перекриваються зі смугами поглинання КМ- $\beta$ -ЦД. У спектрі зразка **1** (механічної суміші) і в спектрі зразка **2** (комплексу включення) присутні смуги поглинання як в області 1000–1200  $\text{cm}^{-1}$ , що характеризують коливання глікозидного містка і глікозидного кільця КМ- $\beta$ -ЦД, так і всі перелічені вище смуги поглинання, які характеризують коливання ФКТ. Спостерігається відмінність спектрів зразків **1** і **2**. У спектрі зразка **1** частоти смуг поглинання, які характеризують спряжену систему ФКТ, мають таке ж положення, як і в спектрі вихідного ФКТ. Натомість у зразку **2** смуги  $\nu \text{C} \cdots \text{C}$ , характерні для ФКТ, зсуваються до 1592, 1568, 1464  $\text{cm}^{-1}$ , а смуги  $\nu \text{C}-\text{O}-\text{C}$  і  $\nu \text{C}-\text{S}-\text{C}$  – до 1266 і 1225  $\text{cm}^{-1}$ . Ці відмінності, на нашу думку, пов'язані з таким розташуванням феноксатііну в порожнині КМ- $\beta$ -ЦД, яке сприяє утворенню водневих зв'язків груп ОН КМ- $\beta$ -ЦД з атомами кисню чи сірки ФКТ, що призводить водночас до зсуву смуги  $\nu$  ОН КМ- $\beta$ -ЦД від 3400 до 3368  $\text{cm}^{-1}$  у спектрі зразка **2**. Виходячи з даних ІЧ-спектроскопії, можна зробити висновок, що зразок **2** є комплексом включення КМ- $\beta$ -ЦД з ФКТ, і при його утворенні, крім гідрофобного середовища порожнини КМ- $\beta$ -ЦД, визначну роль відіграють водневі зв'язки між ОН-групами КМ- $\beta$ -ЦД та атомами кисню чи сірки феноксатііну.

На рис. 3.3.1 наведено термограми об'єктів дослідження, одержані методом піролітичної мас-спектрометрії. Як видно з даного рисунка, максимальне виділення летких компонентів при піролізі ФКТ (крива 1) спостерігається при 100  $^{\circ}\text{C}$ . У мас-спектрі ФКТ за цієї температури найбільш інтенсивними є іонні фрагменти з  $m/z = 200, 168, 171, 201, 202, 139, 172$ . Леткі з  $m/z = 200, 201$  та  $202$  відповідають молекулам феноксатііну (ММ 200) з одним (201) та двома (202) атомами водню. Леткий з  $m/z = 168$  можна ідентифікувати, виходячи з структури ФКТ, як дибензофуран, а продукти з  $m/z = 171$  та  $m/z = 172$ , можливо, відповідають іонним фрагментам  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{S}^-$  та  $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{S}^-$ .

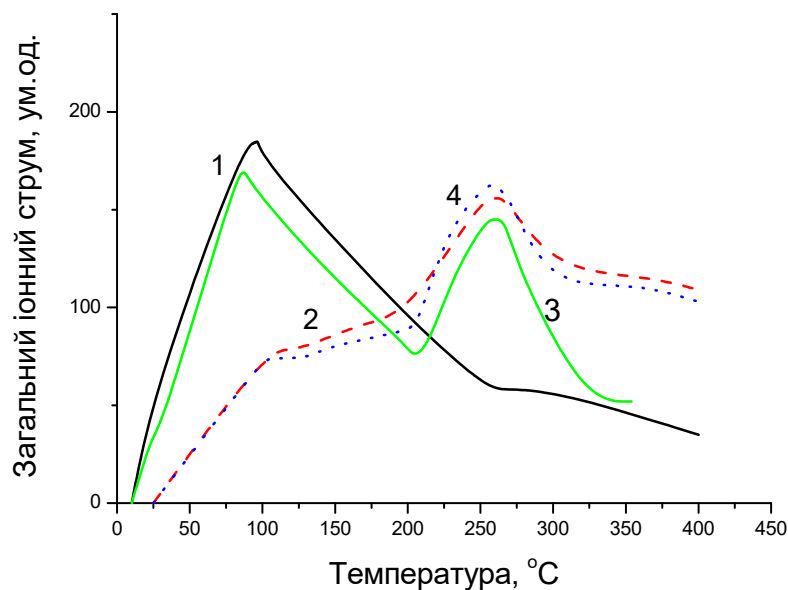


Рис. 3.3.1 Термограми ПМС феноксатіїну (1), карбоксиметил- $\beta$ -ЦД (2), зразка 1 (3) і зразка 2 (4)

Температурний інтервал розкладання КМ- $\beta$ -ЦД (рис.3.3.1, крива 2) лежить у межах 200–300°C з максимумом загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції ( $J = 156$  ум.од.) за температури 260 °C. Мас-спектр КМ- $\beta$ -ЦД за цієї температури складається з летких компонентів, характерних для  $\beta$ -ЦД та інших похідних [59,65], зокрема іонних фрагментів з  $m/z = 44$  ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ,  $\text{CH}_2\text{CHOH}$ ), 45 ( $\text{CH}_3\text{CHOH}$ ) і 60 ( $\text{O}=\text{CHCH}_2\text{OH}$ ) [82].

Термограма зразка 1 відрізняється наявністю двох піків розкладання: перший в інтервалі температур 25–200 °C з максимумом при 88 °C ( $J = 169$  ум.од) і другий у діапазоні температур 200–325 °C з максимумом при 260 °C ( $J = 145$  ум.од) (рис. 3.3.1, крива 3). Причому на першій стадії термодеструкції, яка близька до максимуму розкладання ФКТ (100 °C), мас-спектр зразка суміші ідентичний мас-спектру саме цієї речовини. При температурі другого максимуму (260 °C) у мас-спектрі реєструються іонні фрагменти, притаманні мас-спектру КМ- $\beta$ -ЦД, а також леткий компонент з  $m/z = 200$  (феноксатіїн). Вочевидь, при піролізі зразка 1 (механічної суміші) спостерігається терморозкладання двох окремих речовин. Водночас крива температурної

залежності загального іонного струму термодеструкції зразка **2** (рис. 3.3.1, крива 4) за своїм характером майже повторює термограму КМ- $\beta$ -ЦД (рис. 3.3.1, крива 2). Набір летких продуктів у мас-спектрі зразка **2** такий самий, як і в мас-спектрі КМ- $\beta$ -ЦД, а іонні фрагменти, характерні для ФКТ, а саме леткі з  $m/z = 200, 168, 171, 172, 201, 202$ , – відсутні. Це може свідчити про міцніші зв'язки між молекулами КМ- $\beta$ -ЦД і молекулами ФКТ, які не руйнуються під впливом високої температури. Таким чином, на відміну від зразка **1** зразок **2** є комплексом включення КМ- $\beta$ -ЦД з ФКТ, схематичне зображення якого наведено на рис. 3.3.2 Це опосередковано підтверджується і тим фактом, що зразок **2** не має характерного для ФКТ різкого запаху [72].

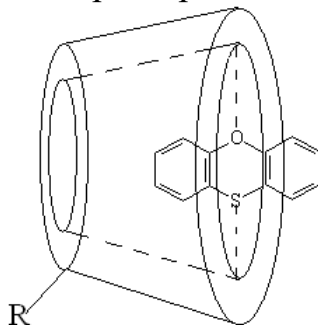


Рис. 3.3.2 Комплекс включення КМ- $\beta$ -ЦД з ФКТ

УФ-спектри вихідного ФКТ та ФКТ у 0,5, 1,0 та 2,0%-них водних розчинах КМ- $\beta$ -ЦД наведено на рис. 3.3.3. Зі спектрів, вихідний ФКТ майже не розчинний у воді (рис. 3.3.3, крива 1). При підвищенні концентрації КМ- $\beta$ -ЦД зростає інтенсивність УФ-поглинання (рис. 3.3.3, криві 2–4), що свідчить про збільшення концентрації феноксатіну в розчинах і підтверджує утворення комплексів включення КМ- $\beta$ -ЦД з ФКТ.

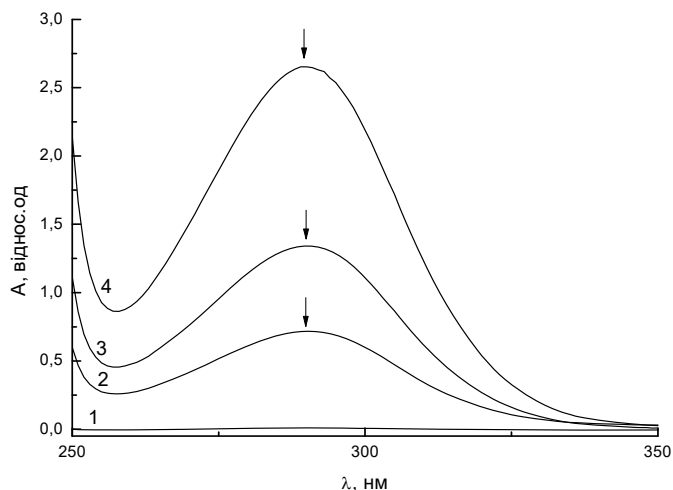


Рис. 3.3.3. УФ-спектри вихідного феноксатііну (1) та в 0,5 (2), 1 (3), 2%-них (4) водних розчинах карбоксиметил-β-циклодекстрину

Фазову розчинність визначали так, у колбах готували 0,5, 1,0 та 2,0%-ні водні розчини КМ-β-ЦД і додавали в кожен колбу триразовий надлишок твердого ФКТ (0,18 г або 0,0009 моль). Колби струшували за кімнатної температури протягом доби, осад, що залишився, відфільтровували. Після чого вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 292 нм і розраховували концентрацію ФКТ у розчині з рівняння побудована крива залежності концентрації ФКТ від концентрації КМ-β-ЦД у розчині.

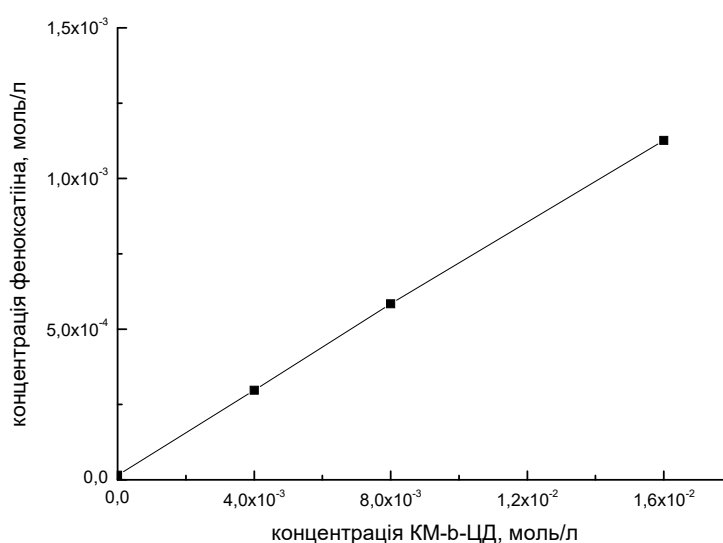


Рис. 3.3.4. Залежність концентрації феноксатііну від концентрації КМ-β-цикло-декстрину

Лінійна залежність розчинності ( $A_L-min$ ) вказує на стехіометричний склад комплексу феноксатіін : КМ- $\beta$ -ЦД, який становить 1:1 [62].

Обчислено константу стійкості досліджуваного комплексу за формулою

$$K = \frac{tg\alpha}{S(1-tg\alpha)},$$

де  $K$  – константа стійкості комплексу,  $S$  – початкова концентрація солюбілізату, визначена фотометрично для феноксатіїну,  $tg \alpha$  – кут нахилу прямої.

Встановлено, що константа стійкості комплексу КМ- $\beta$ -ЦД з ФКТ становить  $K = 3,8 \text{ M}^{-1}$ . Для порівняння: у комплексах із ФКТ і метил- $\beta$ -ЦД  $K = 2,22 \text{ M}^{-1}$ ; у комплексах із ФКТ і 2-гідроксипропіл- $\beta$ -ЦД  $K = 2,76 \text{ M}^{-1}$ . Тобто для підвищення солюбілізації ФКТ більш придатним є карбоксиметильований  $\beta$ -циклодекстрин, ніж 2-гідроксипропіл- $\beta$ -ЦД чи метил- $\beta$ -ЦД.



## ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що  $\beta$ -циклодекстрини та їх похідні широко застосовуються, як комплексоутворювачі для підвищення розчинності різних біологічно активних речовин, їх біодоступності та фармакологічної активності.
2. Основними методами одержання та застосування комплексів включення з лікарськими препаратами є методи одночасного випаровування, співосадження та формування пасти.
3. Одержано і досліджено ряд комплексів включення на основі  $\beta$ -циклодекстрину та його похідних із біфоназолом, клотримазолом та фенаксатіном. Встановлено, що одержані комплекси мають кращу розчинність, що у свою чергу призводить до підвищення біодоступності лікарських форм.
4. Розраховано константи стійкості одержаних комплексів включення на основі карбоксиметильованого  $\beta$ -циклодекстрину та встановлено, що вони є найбільш стійкими комплексами у порівнянні з комплексами включення з похідними  $\beta$ -циклодекстрину -метил-  $\beta$ -циклодекстрину та 2-гідроксипропіл- $\beta$  циклодекстрином.
5. Одержані нові комплекси включення на основі циклодекстринів і біфоназолу, клотримазолу та фенаксатіну є перспективними для пошуку та розробки нових протигрибкових та антибактеріальних препаратів з більш високими показниками, що характеризують біодоступність.
6. Матеріали роботи можуть бути використані на факультативних заняттях з дисциплін хімічного спрямування у різнорівневих освітніх медичних та фармацевтичних закладах.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Connors A. Kenneth. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution: *Chem. Rev.* 1997.Vol. 97. P.1325–1357.
2. Magnúsdóttir A., Másson M., Loftsson T. Cyclodextrins. *Phenom. Macrosc. Chem.* 2002.Vol.44. P. 213–218.
3. Астахова. А.В., Демина Н.Б. Современные технологии лекарственных форм: получение, исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор). *Химико-фармацевтический журнал.* 2004. №2. С.46–49.
4. Омельченко И.А., Ярных Т.Г., Борщевский Г.И., Борщевская М.И., Использование циклодекстринов в фармацевтической технологии. *Ліки України.* 2015. №1. С. 54–57.
5. Szejtli J. Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.* 2004. V. 76. P. 1825–1845
6. Варламов В.П. Ферментные системы и технологии получения циклодекстринов. *В мире науки.* 2006. № 11. С. 80–82.
7. Капустин М.А., Чубарова А.С., Головач Т.Н., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Курченко В.П. Методы получения наноконплексов биологически активных веществ с циклическими олигосахаридами, анализ их физико-химических свойств и использование в пищевом производстве. *Труды БГУ.* 2016. №11. С. 73–100.
8. Никитин Н.А. Циклодекстрины в офтальмотерапии. «Точка зрения. Восток – Запад». 2014. № 32. С. 41–45.
9. Kaneto Uekama. Design and Evaluation of Cyclodextrin-Based Drug Formulation. *Chem. Pharm. Bull.* 2004. Vol. 52. P. 900-915.
10. Никитин Н.А. Циклодекстрины и их комплексы включения в офтальмотерапии: нвуч. пос. Республики Башкортостан: “Радиотехника”, 2015. 152 с.
11. Gadkari B. Optimal hydrogels for fast and safe delivery of bioactive Compounds. *Biomedical Engineering.* December 2007. P. 118.

12. Thorsteinn Loftsson. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005. Vol. 302 P. 18–28.
13. Shufang Nie, Xiaowen Fan, Ying Peng In Vitro and In Vivo Studies on the Complexes of Vinpocetine with Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Arch Pharm Res*. 2006. Vol. 30. No 8. P. 991–1001.
14. Haresh M. Patel, Bhanubhain Suhagia, Shailesh A. Shah Preparation and characterization of etoricoxib- $\beta$ -cyclodextrin complexes prepared by the kneading method. *Acta Pharm*. 2007. Vol. 57. P. 351–359.
15. Ramstad T., Hadden C.E., Martin G.E., Speaker S.M., Teagarden D.L., Thamann T.J. Determination by NMR of the binding constant for the molecular complex between alprostadil and alpha-cyclodextrin. Implications for a freeze-dried formulation. *Int. J. Pharm*. 2005. V. 296. № 1–2. P.55–63.
16. Loftsson T., Ólafsdóttir B.J., Fridriksdóttir H., Jónsdóttir S. Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics. *Eur. J. Pharm. Sci*. 1993. V. 1. № 2. P.95–101.
17. Husain N., Ndou T.T., De La Peña A.M., Warner I.M. Complexation of Doxorubicin with  $\beta$ - and  $\gamma$ -Cyclodextrins. *Appl. Spectrosc*. 1992. V. 46. № 4. P. 652–658.
18. Figueiras A., Ribeiro L., Torres-Labandeira J. J. Evaluation of host – guest complex formation between a benzimidazolic derivative and cyclodextrins by UV-VIS spectrophotometry and differential scanning calorimetry. *J. Incl. Phenom. Chem*. 2007. V.57. P.531–535.
19. Jordheim L P., Degobert G., Fessi H. Solubilization of a nucleotide analogue prodrug by hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Proceedings of the 12<sup>th</sup> International cyclodextrin symposium*: Montpellier, May 16–19. 2004. France. 2004. P. 291–294.
20. М.А. Аракелян, Л.А.Бобрицкая Применение циклодекстринов для оптимизации биофармацевтических свойств Зб. наук. праць співробіт. *НМАПО імені П. Л. Шупика* 2013. №22 (4). С. 218–223.

21. Комплекс включения элементной серы с циклодекстрином: пат. 2 321 598 Россия : МПК: RU 2142908 C1, 20.12.1999. SU 1269738 A3, 07.11.1986. SU 1357410 A1, 07.12.1987. RU 2051689 C1, 10.01.2000. заявл. 2007110778/04, 23.03.2007 ; опубл. 10.04.2008, Бюл. № 10.
22. Клатратные комплексы бета-циклодекстрина с 1-{ [6-бром-1-метил-5-метокси- 2-фенилтиометил -1-н-индол-3-ил ] карбонил }-4 бензилпиперазином, обладающие противовирусной активностью, их получение и применение: пат. 2009058 Россия : МПК: RU 2128664 C1, 10.04.1999. US 4524068 A, 18.01.1985. US 4727064 A, 23.02.1988. US 4956351A, 11.09.1990. заявл. 2010144371/04, 01.11.2010; опубл.20.04.2012, Бюл. № 11.
23. Már Másson, Birna Vigdís Sigurdardóttir, Kristján Matthíasson Investigation of Drug–Cyclodextrin Complexes by a Phase-Distribution Method: Some Theoretical and Practical Considerations. *Chem. Pharm. Bull.* 2005. V. 53. №8. P.958–964.
24. Hashimoto S, Thomas J.K.-J. Dynamics of radical pair reactions in micelles *Am. Chem.Soc.* 1985. V.107. P.46–55.
25. Hamai S. Application of micellar effects to the simultaneous kinetic determination of pyridoxal and pyridoxal-5'-phosphate *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1982. V.55. P.21–27.
26. Алексеев, С. О. Хімія комплексних сполук: навчальний посібник. К: ВПЦ «Київський університет», 2010. 159 с.
27. Hafrún Frikdriksdóttir, Anna M. Sigurkdardóttir, Haruhisa Ueda The effect of water-soluble polymers on drug- cyclodextrin complexation *International Journal of Pharmaceutics.* 1994. Vol. 110.Issue 2. P.169–177.
28. Orgovanyi J., Otta K. H., Pöppl L. Spectrophotometric and thermoanalytical study of cypermetrin cyclodextrin complexes. *Microchemical Journal.* 2005. Vol.79. P. 77–82.
29. Qi Q., Zimmermann W. Cyclodextrin glucanotransferase: from gene to application. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005. V. 66. P. 475–485.

30. Гатиатулин А.К. Твердофазное замещение «гостя» в безводных клатратах бета-циклодекстрина: дис. ...канд. хим. Наук: 02.00.04/ Казанский (Приволжский) федерал. ун-т. Казань, 2014. 141 с.
31. Zia V., Rajewski V., Stella V.J. Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: comparison of (SBE)7m- $\beta$ -CD to HP- $\beta$ -CD. *Pharm. Res.* 2001. V. 18. № 5. P. 667–673.
32. Inclusion complexes of fluconazole with  $\beta$ -cyclodextrin and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in aqueous solution: preparation, characterization and a structural insight /*Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* . April 2016. Vol. 84. № 4. P. 209–217
33. Ribeiro. A., Figueiras A., Santos D., Veiga F. Preparation and solid state characterization on inclusion complexes formed between miconazole and methyl- $\beta$ -cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech.* 2009. V. 9. №4. P. 1102–1109.
34. Loftsson T., Brewster M. E., Masson M. Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery. *Am. J. Drug Deliv.* 2004. V. 2. P. 261–275.
35. Figueiras A., Carvalho R.A., Ribeiro L., Torres-Labandeira J.J., Veiga F.J.B. Solid-state characterization and dissolution profiles of the inclusion complexes of omeprazole with native and chemically modified  $\beta$ -cyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2007. V. 67. № 2. P. 531–539.
36. Salústio P.J., Feio G., Figueirinhas J.L., Pinto J.F., Cabral Marques H.M. The influence of the preparation methods on the inclusion of model drugs in a  $\beta$ -cyclodextrin cavity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009. V. 71. № 2. P. 377–386.
37. Higashi K., Tozuka Y., Moribe K., Yamamoto K. Salicylic acid/ $\gamma$ -cyclodextrin 2:1 and 4:1 complex formation by sealed-heating method. *J. Pharm. Sci.* 2010. V. 99. № 10. P. 4192–4200.
38. R. Birudaraj, B. Berner, S. Shen, X. Li. Buccal permeation of buspirone: mechanistic studies on transport pathways. *J. Pharm. Sci.* 2005. V. 94. P. 70–78.

39. Клатратный комплекс  $\beta$ -циклодекстрина с производным 5-гидрокси-4-аминометил-1-циклогексил-3-алкоксикарбонилиндола, способ его получения (варианты), фармацевтическая композиция и лекарственное средство: пат. 2011112 Россия : МПК: A01D 41/02, A01D 41/04, A01D 45/02. заяв. 2011112073/04, 31.03.2011; опубл. 20.10.2012 Бюл. № 29
40. Zhao D.G., Liao K.I., Ma X.Y., Yan X.H. Study of the supramolecular inclusion of  $\beta$ -cyclodextrin with andrographolide. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 2002. V. 43. № 3–4. P. 259–264.
41. Nacsa Á., Ambrus R., Berkesi O. J. Szabó-Révész P., Aigner Z. Water-soluble loratadine inclusion complex: analytical control of the preparation by microwave irradiation. *Pharm. Biomed. Anal.* 2008. V. 48. № 3. P. 1020–1023.
42. Cirri M., Maestrelli F., Mennini N., Mura P. Physicalchemical characterization of binary and ternary systems of ketoprofen with cyclodextrins and phospholipids. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009. V. 50. № 5. P. 683–689.
43. Van Hees T., Piel G., Evrard B., Otte X., Thunus L., Delattre L. Application of supercritical carbon dioxide for the preparation of a piroxicam- $\beta$ -cyclodextrin inclusion compound. *Pharm. Res.* 1999. V. 16. № 12. P. 1864–1870.
44. Chittiteeranon P., Soontaros S., Pogsawasdi P. Preparation and characterization of inclusion complexes containing fixolide, a synthetic musk fragrance and cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Chem.* 2007. V. 57. P. 69–73.
45. Al-Marzouqi A.H., Elwy H.M., Shehadi I., Adem A. Physico chemical properties of antifungal drug–cyclodextrin complexes prepared by supercritical carbon dioxide and by conventional techniques. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009. V. 49 № 2. P. 227–233.
46. Manoj, M.N. Dinesh M.S., Parag V.J. The Cyclodextrins. *Journal of Current Pharmaceutical Research.* 2012. Vol. 10, № 1. P. 1–6.

47. Лузина О.А. Поляков Н.Э., Салахутдинов Н.Ф. Изучение комплексов включения некоторых терпеноидов с  $\beta$ -циклодекстрином методом ЯМР *Химия и технология растительных веществ*: материалы. II Всерос. конф., 24–27 июня. 2002 г. Казань: 2002. С.74–81.
48. Das, S.K. Cyclodextrins – the molecular container. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2013. Vol. 4, № 2. P.1694–1720.
49. Figueiras A., Ribeiro L., Torres-Labandeira J. J. Evaluation of host – guest complex formation between a benzimidazolic derivative and cyclodextrins by UV-VIS spectrophotometry and differential scanning calorimetry *J. Incl. Phenom. Chem.* 2007. V.57. P. 531–535.
50. Rodrigues-Perez A.I, Rodrigues-Tenreiro C., Alvarez-Lorenzo C. Sertaconazole-HP- $\beta$ CD-pluronic F127 solid inclusion complexes: characterization and effect on drug solubility. *J Incl Phenom Chem*. 2007. V.57. P.497–501.
51. Методы ионизации и разделения ионов в масс-спектрометрии/ Борисов Р.С., Заикин В.Г., Варламов А.В., Куликова Л.Н. М.: РУДН, 2011. 62 с.
52. Guernelli S., Lagana M.F., Mezzina E., Ferroni F., Siani G. Supramolecular complex formation: a study of the interactions between  $\beta$ -cyclodextrin and some different classes of organic compounds by ESI-MS, surface tension measurements, and UV/Vis and  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. *Eur. J. Org. Chem.* 2003. № 24. P. 4765–4776.
53. Ribeiro. A., Figueiras A., Santos D., Veiga F. Preparation and solid state characterization on inclusion complexes formed between miconazole and methyl- $\beta$ -cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech*. 2009. V. 9. №4. P.1102–1109.
54. Hajnal Kelemen, Angella Csillag, Gabriel Hancu, Blanka Székely-Szentmiklósi, Ibolya Fülöp, Erzsébet Varga, Lavinia Grama, Gábor Orgován Characterization of inclusion complexes between bifonazole and different cyclodextrins in solid and solution state. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 2017 Vol. 36. No. 1. P. 81–91.

55. Tranda Firescu , Arpád Gyéresi, Zoltán Szabadai , Mihály Kata , Zoltán Aigner Characterization of bifonazole- $\beta$ -cyclodextrin binary systems. *Eur. J. Org. Chem.* 2006. № 34. P. 45–50.
56. Inclusion complexes of fluconazole with  $\beta$ -cyclodextrin: physicochemical characterization and in vitro evaluation of its formulation// *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry.* August 2011. Vol. 70. Issue 3–4. P. 429–435.
57. Lagana M.F., Mezzina E., Ferroni F NMR and molecular modelling studies on the interaction of fluconazole with  $\beta$ -cyclodextrin. *Chemistry Central Journal.* December 2009. Vol.3. P. 123-128.
58. Prabagar B, Yoo BK, Woo JS, Kim JA, Rhee JD. Enhanced bioavailability of poorly water-soluble clotrimazole by inclusion with beta-cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Chem.* 2007. Vol.27. P. 223-228.
59. Noorullah Naqvi Mohammed, Pankaj Pandey, Nayaab S. Khan, Khaled M. Elokely, Haining Liu, Robert J. Doerksen and Michael Repka Clotrimazole–cyclodextrin-based approach for the management and treatment of Candidiasis – a formulation and chemistry-based evaluation. *Pharmaceutical Development and Technology.* 2015. Vol.17. P. 65-71.
60. Răduțiu A.C, Baciú I., Căproiu M. T., Drăghici C., Constantinescu T., Balaban A. T. 2-( $\alpha$ -Aryloxyacetyl)-phenoxathiin derivatives. synthesis and properties. *Revue Roumaine de Chimie.* 2006. Vol.51. № 7-8. P. 653–661.
61. Yashchenko V. S. , Pap A.A., Kalechits G. V. , Makey V. , Ol'khovik V. K. Synthesis of 10,10-Dioxo-10 $\lambda$ 6-Phenoxathiin Derivatives by Reaction of 4,4'-Oxydibenzoic Acid with Sulfur-Containing Electrophiles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* 2015. Vol. 50, № 10. P. 1471-1477.
62. Schneider H.-J., Hacket F., Rüdiger V. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes *Chem.Rev.* 1998. V.98. №5. P. 1755–1786.
63. Сейлеханов Т. М. , Пралиев К. Д., Искаков Т. К., Жаркинбеков Т. Н. , Сейлеханов О. Т. Циклодекстриновые комплексы включения биологически активных соединений, фармацевтических препаратов и



- лекарственных средств. *Химический журнал Казакстана*. 2001. №36 С. 243–269.
64. Lee S. Y., Adachi C., Yasuda T. High-Efficiency Blue Organic Light-Emitting Diodes Based on Thermally Activated Delayed Fluorescence from Phenoxaphosphine and Phenoxathiin Derivatives. *Advanced Materials*. 2016. Vol.23. P.4626–4631.
65. Oana M., Tintaru A., Gavriliu D., Maior O., Hillebrand M. Spectral Study and Molecular Modeling of the Inclusion Complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin with Some Phenoxathiin Derivatives. *Journal of Physical Chemistry*. 2002. Vol.106, № 2. P. 257–263.
66. Matei L., Nicolae A., Hillebrand M. Fluorimetric and molecular mechanics study of the inclusion complex of 2-quinoxaliny-phenoxathiin with  $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 2007. Vol. 57. P. 597–601.
67. Ostashko V.V. Laptiy S.V., Glyeva G. E., Riabov S.V. Inclusion complexes of  $\beta$ - cyclodextrin and its derivatives with phenoxathiin. “*Symposium Supramolecular Systems in Chemistry and Biology*”: V<sup>th</sup> International conferen, May 12-16, 2009. Kyiv: 2009. P. 160–168.
68. S.V. Riabov Ostashko V.V., Charnetskaya G.G., Glyeva G.E. Peculiarities of inclusion complexes of cyclodextrins and phenoxathiin. *12<sup>th</sup> International Seminar on Inclusion Compounds*, Stellenbosch, South Africa, April 4–9. 2009, P.47.
69. Рябов С.В. Бойко В.В., Бортницький В.І., Дмитрієва Т.В., Осташко В.В. Дослідження комплексів включення між  $\beta$ -циклодекстринами та феноксатііном методом піролітичної мас-спектрометрії. *Полім. журн.* 2010. Т. 32. №2. С. 105–110.
70. Нормативно-директивні документи МОЗ України URL: <http://mozdocs.kiev.ua> (дата звернення: 19.04.2019).

71. Демьянцева Е.Ю., Копнина Р.А. Солюбилизация в растворах поверхностно-активных веществ: учебно-методическое пособие. СПбГТУРП.СПб. 2015. 31 с.
72. Л.В. Кобріна, В.В.Бойко, С.В.Рябов, С.І.Сінельников, В.В.Бортницький, Д.Ю. Бандуріна, О.В. Москаленко Дослідження комплексу включення карбоксиметильованого  $\beta$ -циклодекстрину з феноксатіном. *Полімерний журнал*. Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України: Київ. № 4. 2019. С. 173–178
73. Higuchi T. Connors K. A. Phase-solubility techniques. *Adv. Anal.- Chem. Instrum.* 1965. Vol.4. P. 117–212.
74. Már Másson, Birna Vigdís Sigurdardóttir, Kristján Matthíasson Investigation of Drug–Cyclodextrin Complexes by a Phase-Distribution Method: Some Theoretical and Practical Considerations. *Chem. Pharm. Bull.* 2005. Vol.53. №8. P. 958–964.
75. Kelemen H., Csillag A., Hancu G., Székely-Szentmiklósi B., Fülöp I., Varga E., Grama L., Orgován G. Characterization of inclusion complexes between bifonazole and different cyclodextrins in solid and solution state. *J. Chem. Chem.* 2017. Vol.36 , no. 1. P. 81–95.
76. Riabov S.V., Boyko V.V., Bortnitskiy V.I., Dmitrieva T.V., Ostashko V.V., Babych I.V., Kercha Yu.Yu. Influence of substituent groups in  $\beta$ -Cyclodextrin on the stability of its the inclusion complexes with Phenoxatiin . *Repts of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2011. №5. P. 145–149.
77. С.В. Рябов, Л.В. Кобріна, С.І. Сінельников, В.І. Штомпель, Д.Ю. Бандуріна, О.В. Москаленко Дослідження комплексів включення карбоксиметильованого  $\beta$ - циклодекстрину з Біфоназолом. *Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії*: матер. VI Міжнар. заоч. наук.-практ. конф. молодих учених: Ніжин, 2019. С. 90 – 94.
78. Sergii Riabov, Larisa Kobrina, Sergii Sinelnikov, Daria Bandurina, Oleg Moskalenko SOLUBILIZATION OF BIFONAZOLE IN THE PRESENCE

- OF CARBOXYMETHYLATED- $\beta$ -CYCLODEXTRIN 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference «Chemical Technology and Engineering – 2» Ukraine, Lviv, June 24–28th, 2019 P. 198–200
79. Riabov S.V., Boyko V.V., Bortnitskiy V.I., Dmitrieva T.V., Kobrina L.V., Kercha Yu.Yu. Thermal mass-spectrometry investigation of the inclusion complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin silul-derivative with organic compounds in water. *Ukr. chem. journal.* 2009. Vol.75. № 11. P.58–62.
80. Hordon A., Ford R. *Sputnyk khymyky* [Companion of chemist]. Per. s anhl. Myr. Moskva, 1976. 541 p.
81. Katalog sokrashchennykh mass-spektrov [Short catalogue of mass spectra.]/ Sidel'nikov V.N., Gur'yanova L.V., Utkin V.A., Malakhov V.V., Kolchin A.M. Novosibirsk: Nauka, 1981.187 p.
82. Riabov S.V., Boyko V.V., Bortnitskiy V.I., Dmitrieva T.V., Ostashko V.V., Kercha Yu.Yu. Thermal mass-spectrometry investigation of the inclusion complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin with Phenoxatiin. *Polymer journal.* 2010. Vol. 32, № 2. P. 105–110.