

# Inkluzijski kompleksi ciklodekstrina

---

**Banović, Helena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:925124>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Helena Banović

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **INKLUZIJSKI KOMPLEKSI CIKLODEKSTRINA**

## **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za opću i anorgansku kemiju

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš–Sermek

Zagreb, 2018.



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

6. srpnja 2018.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

21. rujna 2018.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš-Sermek

Potpis:



# Sadržaj

<b>§ SAŽETAK.....</b>	<b>VII</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Supramolekulska kemija.....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Ciklodekstrini .....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Otkriće ciklodekstrina .....	3
2.1.2. Dobivanje ciklodekstrina .....	3
2.1.3. Struktura ciklodekstrina.....	4
2.1.4. Svojstva ciklodekstrina.....	6
<b>2.2. Inkluzijski kompleksi.....</b>	<b>8</b>
2.2.1. Stvaranje inkluzijskih kompleksa .....	8
2.2.1.1. Inkluzijski kompleks piroksama i $\beta$ -ciklodekstrina.....	11
2.2.2. Reakcija kompleksiranja.....	13
<b>2.3. Priprava inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina u čvrstom stanju.....</b>	<b>14</b>
2.3.1. Metoda gnječenja.....	14
2.3.2. Koprecipitacija.....	14
2.3.3. Sušenje raspršivanjem.....	15
<b>2.4. Karakterizacija inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina.....</b>	<b>15</b>
2.4.1. Termogravimetrijska analiza .....	15
2.4.2. Diferencijalna pretražna kalorimetrija.....	17
2.4.2.1. Inkluzijski kompleks atenolola i $\beta$ -ciklodekstrina.....	17
2.4.2.2. Inkluzijski kompleks željezova(II) fumarata i $\beta$ -ciklodekstrina.....	20
2.4.3. Analiza fazne topljivosti .....	22
2.4.3.1. Inkluzijski kompleks etorikoksiba i $\beta$ -ciklodekstrina.....	23
2.4.4. Fluorescentna spektroskopija .....	24
2.4.4.1. Inkluzijski kompleks kumarina i $\beta$ -ciklodekstrina .....	24
2.4.5. UV-VIS spektroskopija.....	26
<b>2.5. Primjena ciklodekstrina .....</b>	<b>27</b>
<b>§ 3. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>31</b>



## § Sažetak

Inkluzijski kompleksi su supramolekulski kompleksi tipa domaćin-gost u kojima je u šupljinu molekule domaćina smještena molekula gosta bez djelovanja kovalentnih interakcija. Kao molekule domaćini često se upotrebljavaju prstenasti spojevi ciklodekstrini, koji će biti pomnije opisani u ovom završnom radu.

Ciklodekstrine je otkrio austrijski znanstvenik Franz Schardinger početkom 20. stoljeća. Kao početna supstanca u dobivanju ciklodekstrina koristi se škrob, katalitičkom hidrolizom kojega se dobivaju dekstrini. Primarni produkt razgradnje dekstrina, linearni oligosaharid, podliježe intramolekularnoj ciklizaciji, pri čemu kao krajnji produkt nastaju ciklodekstrini. Prstenastu strukturu ciklodekstrina međusobno zatvaraju glukopiranozne jedinice, čiji je broj ovisan o vrsti ciklodekstrina, te najčešće iznosi 6, 7 ili 8. Glukopiranozne jedinice se nalaze u konformaciji stolice i međusobno su povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. Te su jedinice postavljene simetrično obzirom na imaginarnu os koja prolazi kroz središte ciklodekstrinskog prstena. Najstabilnija konfiguracija ciklodekstrina je ona oblika krnjeg stošca. Unutrašnjost stošca je omeđena C-C, C-H i C-O-C vezama te je stoga hidrofobna, dok je vanjski obod hidrofilan zbog hidroksilnih skupina  $\alpha$ -D-glukopiranoze. Zahvaljujući takvoj građi molekule ciklodekstrina imaju sposobnost stvaranja inkluzijskih kompleksa s hidrofobnim, pretežno organskim molekulama, pri čemu dolazi do promjene fizikalno-kemijskih svojstava molekule gosta. Prilikom tvorbe inkluzijskih kompleksa dolazi do uspostave različitih nekovalentnih interakcija između molekule gosta i domaćina ciklodekstrina, od kojih su ključne hidrofobne interakcije. Od stabilizirajućih, nekovalentnih interakcija ističu se van der Waalsove i dipol-dipol interakcije, te vodikove veze. Za stvaranje inkluzijskih kompleksa koriste se metoda gnječenja, koprecipitacije i sušenja raspršivanjem. Nastanak inkluzijskih kompleksa može biti potvrđen različitim metodama, kao što su termogravimetrija, diferencijalna termalna analiza, spektroskopija, analiza fazne topljivosti i mnoge druge.

Zbog specifične prstenaste strukture i mogućnosti stvaranja inkluzijskih kompleksa ciklodekstrini imaju veliku primjenu u prehrambenoj, kozmetičkoj, tekstilnoj i farmaceutskoj industriji. Najveću primjenu u industriji ima  $\beta$ -ciklodekstrin zbog jednostavne pripreme i dostupnosti. Upotreba ciklodekstrina u kemijskoj katalizi zaokružuje širok spektar njihove uporabe.





## § 1. UVOD

### 1.1. Supramolekulska kemija

Supramolekulska kemija je grana kemije koja se bavi proučavanjem molekulskih kompleksa dobivenih udruživanjem dviju ili više kemijskih vrsta kroz različite međumolekulske interakcije. Od posebnog interesa za supramolekularnu kemiju su inkluzijski kompleksi, njihova struktura i primjena.

Inkluzijski kompleksi su supramolekulski kompleksi tipa „domaćin-gost” u kojima je u šupljinu molekule domaćina inkludirana molekula gosta, bez učešća kovalentnih interakcija. Uključivanje molekule gosta u šupljinu domaćina proizlazi kao rezultat uzajamnih hidrofobnih i ostalih nekovalentnih interakcija kao što su primjerice vodikove veze i van der Waalove interakcije. Ulaskom u šupljinu domaćina molekula gosta se modificira što dovodi do promjene njezinih fizikalnih i kemijskih svojstava. Pri tome veličina i oblik šupljine domaćina ostaju nepromijenjeni ili dolazi do minimalnih promjena koje ne utječu na stabilnost nastalog kompleksa. Sposobnost pojedine vrste da tvori inkluzijske komplekse ovisi o njezinoj strukturi. Molekule domaćina mogu biti makromolekule s već postojećom šupljinom kao što su primjerice ciklodekstrini ili manje organske molekule koje mogu tvoriti intermolekulske vodikove veze pri čemu dolazi do stvaranja šupljine. Mogućnost molekule domaćina da stvori inkluzijski kompleks s molekulom gosta uveliko ovisi o promjeru šupljine, no osim efekta veličine šupljine domaćina na tvorbu inkluzijskih kompleksa utječe i niz drugih efekata kao što su temperatura, pH-vrijednost, te sama metoda pripreme.

Kao ključne nekovalentne interakcije u supramolekulskoj kemiji, pa tako i u nastanku inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina s molekulom gosta, ističu se vodikove veze, opće formule  $D-H \cdots A$ .<sup>1</sup> Veza toga tipa uspostavlja se između proton donorske skupine  $D-H$ , pri čemu je  $D$  atom visoke elektronegativnosti, i proton akceptorske skupine  $A$  koja sadrži slobodni elektronski par. Za definiranje vodikove veze ključne su veličine duljina veze  $D-H$ ,  $H \cdots A$  i  $D \cdots A$  i kut  $D-H \cdots A$ . Vodikove veze se dijele na jake, srednje jake i slabe. Različite vrste vodikovih veza okarakterizirane su različitim energijama, kutevima i duljinama. Za jaku vodikovu vezu vrijedi da se udaljenost  $D \cdots A$  kreće od 2,2 Å do 2,5 Å, a za slabu vodikovu vezu ta se udaljenost kreće od 3,2 Å do 4,0 Å, iako može doći do odstupanja od navedenih

vrijednosti. Vodikove veze mogu biti stvorene unutar jedne molekule, takozvane intramolekulske vodikove veze ili mogu biti intermolekulske, za koje je karakteristično da se proton donorska i proton akceptorska skupina ne nalaze na istoj molekuli. Za nastanak intramolekulske vodikove veze važno je da se proton donorska i proton akceptorska skupina nalaze u odgovarajućoj orijentaciji te da je udaljenost  $H \cdots A$  u rasponu od 1,4 Å do 3,2 Å.<sup>2</sup> Vodikove veze su jače od, također prisutnih, van der Waalsovih interakcija koje se opisuju Lennard-Jonesovim potencijalom.

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Ciklodekstrini

#### 2.1.1. Otkriće ciklodekstrina

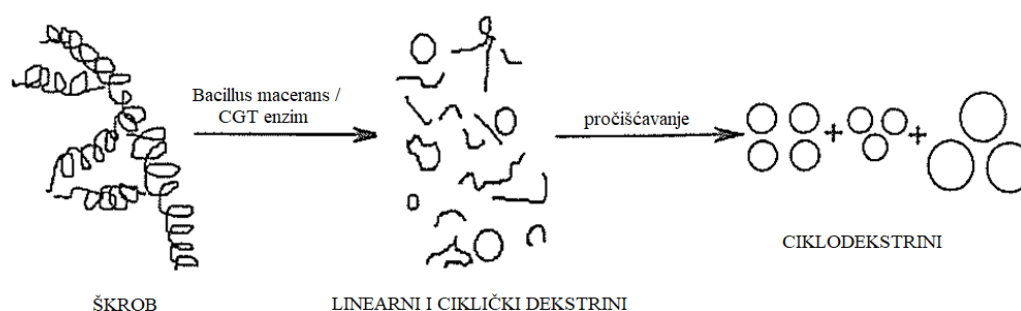
Austrijski znanstvenik Franz Schardinger (1853. –1920.) je 1904. godine uspješno izolirao novu skupinu organizama imena *Bacillus macerans* koji su bili sposobni proizvesti organske spojeve aceton i etanol iz šećera, te iz škroba raznih biljaka. Riječ je o diazotrofnim, gram varijabilnim bakterijama. Schardinger je 1911. godine pokazao da ista skupina organizama djelovanjem na škrob proizvodi veliku količinu kristalnog produkta čija struktura tada nije bila poznata. Schardinger je dobivenim kristalnim produktima dodijelio nazive kristalizirani dekstrin  $\alpha$  i kristalizirani dekstrin  $\beta$ . Struktura Schardingerovih dekstrina je određena tek 1942. godine rendgenskom strukturnom analizom. Iz tako određenih molekulskih struktura bilo je vidljivo da je riječ o molekulama toroidalnog oblika s već postojećom šupljinom, koje odgovaraju današnjim ciklodekstrinima.<sup>3</sup>

#### 2.1.2. Dobivanje ciklodekstrina

Kao početna supstanca u dobivanju ciklodekstrina koristi se škrob. Škrob je homopolisaharid u biljaka koji služi kao energetska rezerva. Građen je od dvije vrste glukoznih polimera: amiloze i amilopektina. Amiloza je linearan polisaharid koji je izgrađen od molekula glukoze povezanih  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. Amilopektin sadrži razgranate lance. U amilopektinu molekule glukoze u lancu se povezuju  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama, a grane, koje se javljaju nakon svakih 24-30 molekula glukoze, povezuju se s osnovnim lancem  $\alpha$ -1,6-glikozidnim vezama.<sup>1</sup>

Hidrolitičkom razgradnjom škroba kataliziranom različitim enzimima dobivaju se dekstrini. Razgradnju dekstrina katalizira bakterijski enzim ciklodekstrin glukoziltransferaza. Primarni produkt razgradnje dekstrina, linearni oligosaharid, podliježe intramolekularnoj ciklizaciji, u odsustvu vode, pri čemu nastaju ciklodekstrini (slika 1).

Ciklodekstrin glukoziltransferaze su selektivni enzimi i stoga se međusobno mogu razlikovati s obzirom na specifičnost prema određenoj vrsti ciklodekstrina. Općenito se djelovanjem te vrste enzima na škrob dobiva se smjesa s podjednakim udjelom  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  ciklodekstrina. Izolacija samo jedne od navedenih vrsta ciklodekstrina može se postići kontrolom parametara poput temperature i pH-vrijednosti reakcijske smjese, te dodatkom određenih organskih supstanci koje će simulirati nastanak pojedinog derivata ciklodekstrina. Primjerice, dodatkom toluena u reakcijsku smjesu pospješuje se nastanak  $\beta$ -ciklodekstrina, dok dodatkom dekana, alkana s deset ugljikovih atoma, nastaje  $\alpha$ -ciklodekstrin.<sup>4</sup>



Slika 1. Shematski prikaz dobivanja ciklodekstrina iz škroba. Slika preuzeta iz reference br.5.

### 2.1.3. Struktura ciklodekstrina

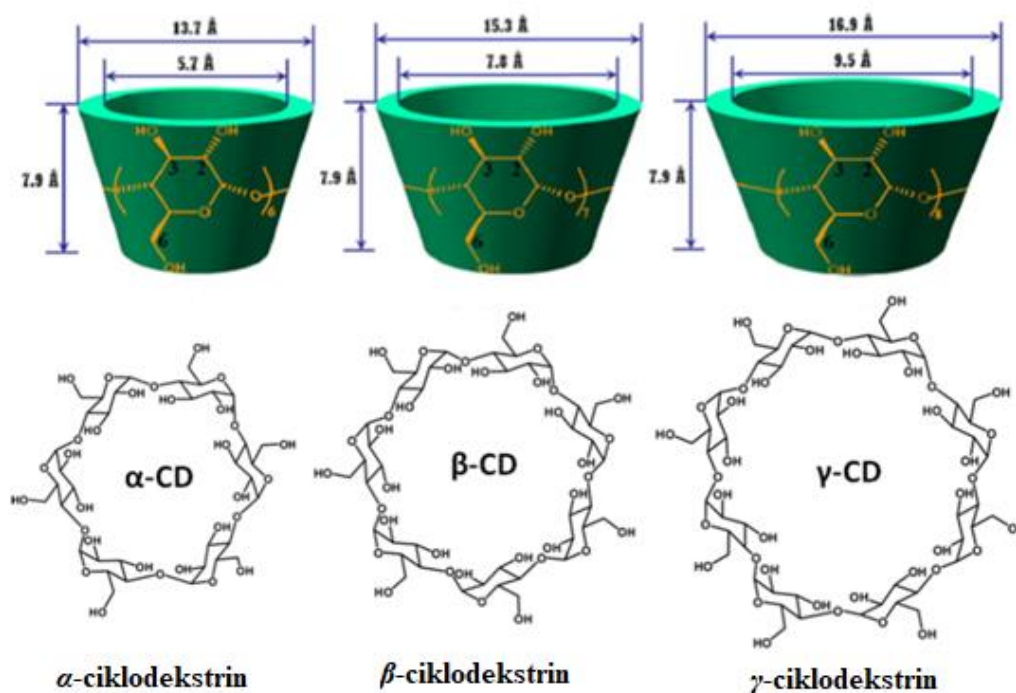
Ciklodekstrini su makrociklički spojevi iz skupine nereducirajućih oligosaharida. Dekstrin u imenu potječe od starijeg naziva za glukozu, gradivnu jedinicu ciklodekstrina, koji je bio dekstroza. Drugi korišteni nazivi za tu vrstu spojeva su cikloamiloze, ciklomaltoze i Schardingerovi dekstrini.<sup>1,3</sup>

Prstenastu strukturu ciklodekstrina međusobno zatvaraju glukopiranozne jedinice, čiji broj  $n$  varira ovisno o vrsti ciklodekstrina. S obzirom na broj glukopiranoznih jedinica najvažniji su  $\alpha$  ( $n=6$ ),  $\beta$  ( $n=7$ ) i  $\gamma$  ( $n=8$ )-ciklodekstrini, čije su molekulske strukture prikazane na slici 2. Ciklodekstrini s manje od 6 glukopiranoznih jedinica ne mogu biti stvoreni iz steričkih razloga, dok su ciklodekstrini s više od 8 glukopiranoznih jedinica teški za pročišćavanje i grade vrlo labilne komplekse, s malom vrijednošću konstante stabilnosti, te se stoga ne koriste kao molekule domaćini u stvaranju inkluzijskih kompleksa. Sukladno povećanju broja glukopiranoznih jedinica dolazi i do povećanja promjera ciklodekstrinskog prstena.

Glukopiranozne jedinice se nalaze u konformaciji stolice i međusobno su povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama (slika 3). Iz steričkih razloga slobodna rotacija oko te vrste veze nije moguća, stoga ciklodekstrini ne mogu tvoriti cilindrične strukture. Gradivne glukopiranozne jedinice postavljene su simetrično obzirom na imaginarnu os koja prolazi kroz središte ciklodekstrinskog prstena.

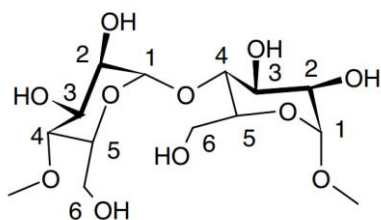
Najstabilnija konfiguracija ciklodekstrina je ona oblika krnjeg stošca koja je rezultat slobodne rotacije primarnih hidroksilnih skupina. Unutrašnjost stošca je omeđena C-C, C-H i C-O-C vezama te je iz toga razloga hidrofobna, dok je vanjski obod hidrofilan zahvaljujući hidroksilnim skupinama  $\alpha$ -D-glukopiranoze koje ga izgrađuju. Dimenzije hidrofobne unutrašnjosti i vanjskog, hidrofilnog oboda variraju ovisno o vrsti ciklodekstrina. Za  $\alpha$ -ciklodekstrin su najmanje, dok su za  $\gamma$ -ciklodekstrin najveće. Primarne (C6) hidroksilne skupine nalaze se na užem dijelu molekule, dok su sekundarne (C2 i C3) hidroksilne skupine smještene na nasuprotnom, širem dijelu molekule ciklodekstrina (slika 2). Između hidroksilnih skupina koje se nalaze na široj strani stošca stvaraju se jake intramolekulske vodikove veze, pri čemu se hidroksilna skupina na C3 atomu ponaša kao donor atoma vodika. S obzirom na jačinu intramolekulskih vodikovih veza ističe se  $\beta$ -ciklodekstrin, dok su u  $\gamma$ -ciklodekstrinu te veze najslabije što se odražava na visoku topljivost te vrste ciklodekstrina u vodi ili nekom od organskih otapala. Vodikove veze između hidroksilnih skupina na užem dijelu stošca nisu toliko značajne zbog njihove nestabilnosti u otapalima kao što je primjerice voda.

Zahvaljujući takvoj građi molekule ciklodekstrina imaju sposobnost stvaranja inkluzijskih kompleksa s hidrofobnim, pretežno organskim molekulama pri čemu dolazi do promjene fizikalno-kemijskih svojstava inkludirane molekule.<sup>1,4</sup>



Slika 2. Shematski prikaz i molekulska struktura  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ -ciklodekstrina.

Slika preuzeta iz reference br.7.



Slika 3. Prikaz  $\alpha$ -1,4-glikozidne veze između D-glukopiranoznih jedinica u konformaciji stolice. Slika preuzeta iz reference br.1.

#### 2.1.4. Svojstva ciklodekstrina

Ciklodekstrini pripadaju skupini biorazgradivih molekula. U čvrstom agregacijskom stanju nalaze se u obliku sitnih bijelih kristalića. Molekule ciklodekstrina mogu kristalizirati s različitim brojem molekula vode ovisno o uvjetima kristalizacije i broju gradivnih glukopiranoznih jedinica, odnosno o molekularnoj masi (Tablica 1). Gustoća ciklodekstrina

iznosi 1,42 – 1,45 g / mL, zavisno o količini vezane vode. Pri potpunoj dehidraciji ciklodekstrini prelaze u amorfnu formu. Tališta  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ -ciklodekstrina iznose između 240 °C i 265 °C. Relativno visoka tališta su posljedica stabilne kristalne strukture ciklodekstrina.<sup>6</sup>

Ciklodekstrini se otapaju u vodi i nekolicini organskih otapala.<sup>6</sup> Od organskih otapala u kojima su pojedine vrste ciklodekstrina topljive ističu se dimetilformamid, dimetil-sulfoksid, piridin, te etilen-glikol. Temperatura ima pozitivan učinak na topljivost ciklodekstrina. S povećanjem temperature dolazi i do značajnog povećanja topljivosti ciklodekstrina, no i dalje ostaje manja od topljivosti analognih linearnih dekstrina. Uzrok relativno slabe topljivosti ciklodekstrina, u usporedbi s linearnim analogima, je prilično velik broj intramolekulskih vodikovih veza između susjednih gradivnih glukopiranoznih jedinica čime je stvorena relativno stabilna kristalna struktura.<sup>4</sup>

Topljivost prirodnih ciklodekstrina je ovisna o vrsti i nije srazmjerna broju hidroksilnih skupina gradivnih jedinica  $\alpha$ -D-glukopiranoze, pa je tako topljivost  $\beta$ -ciklodekstrina znatno manja u usporedbi s topljivošću  $\alpha$  i  $\gamma$ -ciklodekstrina. Ispitivanja entalpije i entropije hidratacije pokazala su da je struktura od 7 glukopiranoznih jedinica ( $\beta$ -ciklodekstrin) najnestabilnija budući da ima najveću vrijednost entalpije i najmanju vrijednost entropije u odnosu na ciklodekstrinske analoge s manjim i većim brojem jedinica glukoze.<sup>1</sup> Jačina intramolekulskih vodikovih veza između sekundarnih hidroksilnih skupina, smještenih na široj strani stošca odgovorna je za relativno slabu topljivost  $\beta$ -ciklodekstrina u vodi jer u značajnoj mjeri onemogućuju interakcije s otapalom. Također, slaba topljivost  $\beta$ -ciklodekstrina u vodi može biti i posljedica neparanog broja donora i akceptora vodika potrebnih za nastanak nekovalentne, vodikove veze.<sup>1</sup> Topljivost te vrste ciklodekstrina u vodi moguće je povećati metilacijom sekundarnih hidroksilnih skupina uz odgovarajući katalizator. Metilacijom se kidaju jake intramolekulske vodikove veze čime se pospješuje topljivost nastalih derivata  $\beta$ -ciklodekstrina. U molekuli  $\alpha$ -ciklodekstrina iz steričkih razloga nastaje samo 5 od mogućih 6 vodikovih veza pa je stoga topljiviji od  $\beta$ -ciklodekstrina koji posjeduje 7 intramolekulskih vodikovih veza. Najtopljiviji od prirodnih ciklodekstrina je  $\gamma$ -ciklodekstrin (232 g / L, 25 °C). Razlog vrlo dobre topljivosti  $\gamma$ -ciklodekstrina u vodi leži u njegovoj neplanarnoj građi i manje rigidnoj strukturi zbog čega je u mogućnosti ostvariti veći broj vodikovih veza s molekulama otapala. Veliki volumen šupljine koju zatvaraju glukopiranozne jedinice  $\gamma$ -ciklodekstrina daje dodatnu fleksibilnost strukturi što se očituje u većoj topljivosti te vrste u odnosu na  $\alpha$  i  $\beta$ -ciklodekstrin.<sup>4</sup> Pregled opisanih svojstava pojedinih vrsta ciklodekstrina dan je u Tablici 1.



Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ -ciklodekstrina<sup>1,4</sup>

	$\alpha$ -ciklodekstrin	$\beta$ -ciklodekstrin	$\gamma$ -ciklodekstrin
BROJ GLUKOPIRANOZNIH JEDINICA	6	7	8
MOLARNA MASA (g/mol)	972	1135	1297
TOPLJIVOST U VODI (g / L, 25 °C)	145	18,5	232
KOLIČINA KRISTALNO VEZANE VODE (w / %)	10,2	13,2-14,5	8,13-17,7
VOLUMEN KAVEZA (Å <sup>3</sup> )	174	262	427

Od kemijskih svojstava ciklodekstrina kao najvažnija se ističe sposobnost stvaranja inkluzijskih kompleksa. Ciklodekstrini su podložni reakcijama supstitucije i slabe kisele hidrolize. Reakcije kisele hidrolize su vrlo spore zbog cikličke strukture ciklodekstrina koja je stabilna pod djelovanjem amilolitičkih enzima. Što se tiče reakcija supstitucije, one se u principu najlakše odvijaju na sekundarnoj hidroksilnoj skupini smještenoj na C2 atomu  $\alpha$ -D-glukopiranoze, no od velike mjere zavise se i od prirode upotrijebljenog reagensa pri supstituciji.<sup>6</sup> Supstitucijom hidroksilne skupine, primjerice metilnom skupinom, može se značajno povećati topljivost u odnosu na prirodni derivat ciklodekstrina jer dolazi do pucanja postojećih intramolekulskih vodikovih veza čime se smanjuje stabilnost vrste u otapalu.

Ciklodekstrini imaju povoljne biološke karakteristike od kojih je posebno istaknuta relativno niska toksičnost, pa se stoga koriste u farmakološkim pripravcima. Čisti preparati ciklodekstrina ne postaju štetni ni nakon dugotrajnog oralnog unošenja. Nakon peroralnog unosa lijeka koji kao aktivnu supstancu sadrži ciklodekstrin ista se dalje metabolizira u debelom crijevu u maltodekstrin, maltozu i glukozu koji se uključuju u metabolizam ugljikohidrata i u konačnici izlučuje u obliku ugljikovog dioksida i vode.<sup>4</sup>

## 2.2. Inkluzijski kompleksi

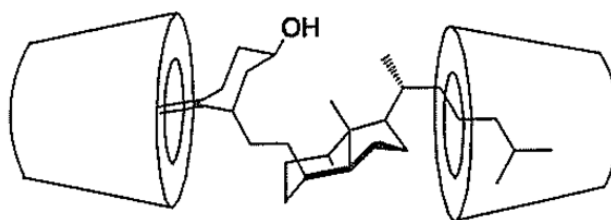
### 2.2.1. Stvaranje inkluzijskih kompleksa

Važno obilježje molekula ciklodekstrina je mogućnost tvorbe inkluzijskih, domaćin-gost kompleksa reakcijama molekulskog kompleksiranja pri čemu mogu djelovati kao slabe Lewisove baze ili Lewisove kiseline, ovisno o strukturi molekule gosta. Molekule ciklodekstrina odlikuju se lipofilnom unutrašnjošću s kojom osiguravaju odgovarajuću

mikrookolinu za smještaj nepolarnih vrsta i tvorbu inkluzijskih kompleksa. Unutrašnja šupljina molekula ciklodekstrina sadrži atome vodika te glikozidne atome kisika što joj daje djelomično hidrofoban karakter. Upravo zbog tog svojstva omogućeno je ciklodekstrinima stvaranje inkluzijskih kompleksa s raznim molekulama gosta.

Molekule gosta mogu biti u čvrstom, tekućem i plinovitom agregacijskom stanju ovisno o uvjetima kompleksiranja i mogu biti različitih vrsta. U ciklodekstrinsku šupljinu se mogu smjestiti razne molekule iz skupine aldehida, ketona, alifatskih ugljikovodika i amina, te različite aminokiseline, masne kiseline i aromatski spojevi. Kada se molekula gosta smjesti u šupljinu molekule domaćina podložna je nizu pozitivnih modifikacija od strane molekule domaćina pri čemu dolazi do promjene njezinih kemijskih, fizikalnih i bioloških svojstava. Primjerice molekula domaćina povećava njezinu topljivost ukoliko se radi o slabo topljivoj molekuli, stabilizira ju ukoliko je molekula podložna oksidaciji i raspadu pod utjecajem topline i UV-zračenja, sprječava enzimatsku razgradnju, te kontrolira sublimaciju. Ukoliko je riječ o lijeku kao gostu molekula domaćina će ublažiti njegov neugodan okus u ustima, te će pod njegovom kontrolom biti otpušten u organizam.<sup>3</sup>

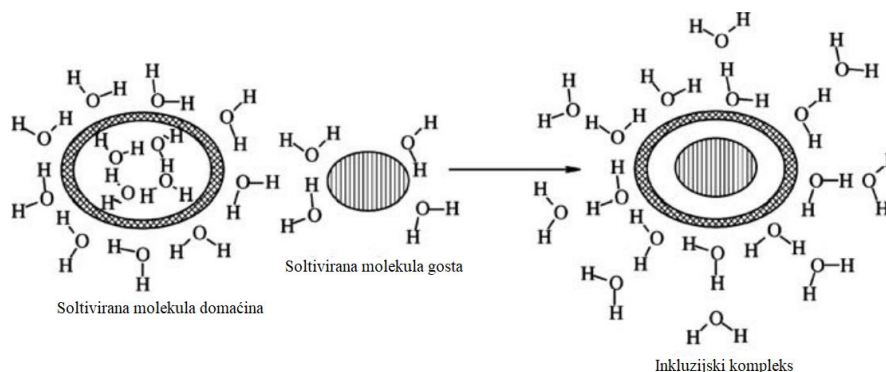
U stvaranju inkluzijskih kompleksa ključna su dva čimbenika, sterički i termodinamički.<sup>3</sup> Molekule gosta se smještaju u šupljinu ciklodekstrina sačinjenu od glukopiranoznih jedinica, te stoga moraju biti odgovarajućih veličina obzirom na promjer šupljine. Promjer ciklodekstrinske šupljine nije strogo definiran, već ovisi o vrsti ciklodekstrina. Veličina molekule gosta bi trebala biti manjih dimenzija od promjera ciklodekstrinskog prstena kako bi bio stvoren stabilan supramolekulski kompleks, no ukoliko molekula gosta po veličini bitno premašuje šupljinu ciklodekstrina vezivanje je moguće pod uvjetom da se samo određeni dio molekule gosta uključi u šupljinu. Najjednostavniji inkluzijski kompleksi nalaze se u stehiometrijskom omjeru 1:1, no mogući su i drugi odnosi u kompleksiranju, ovisno o veličini molekule gosta. Primjerice mogu nastati i inkluzijski kompleksi u omjeru 1:2. U kompleksima tog tipa molekula gosta se veže s dvije molekule ciklodekstrina. Primjer takvog kompleksa je kompleksiranje kolekalciferola i  $\beta$ -ciklodekstrina (slika 4).<sup>5</sup> Prilikom tvorbe tih vrsta kompleksa ne dolazi do nastanka kovalentnih veza, niti do kidanja istih u molekuli gosta i domaćina.



Slika 4. Shematski prikaz inkluzijskog kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina i kolekalciferola u stehiometrijskom odnosu 2:1. Slika preuzeta iz reference br.5.

Glavna pokretačka snaga pri tvorbi takvih kompleksa je izbacivanje visokoenergijskih molekula vode iz lipofilne unutrašnjosti ciklodekstrina što se postiže molekulama gosta prisutnim u otopini. Općenito, hidrofobne molekule imaju veći afinitet za ulazak u ciklodekstrinsku šupljinu kada se nalaze u vodenoj otopini. Nekovalentne, vodikove interakcije između molekula vode su puno jače od disperznih interakcija koje voda ostvaruje s molekulom gosta smještenom u šupljinu ciklodekstrina. Razlika u jačini tih interakcija u konačnici dovodi do izbacivanja visokoenergijskih molekula vode iz supramolekulskog kompleksa. Molekule vode su zamijenjene s hidrofobnom molekulom gosta prisutnom u otopini, tzv. hidrofobni efekt ili hidrofobna hidratacija (slika 5). Izbacivanjem molekula vode reduciraju se odbojne interakcije između hidrofobne molekule gosta i vodene okoline, te dolazi do povoljne agregacije nepolarnih molekula i smanjenja promjera ciklodekstrinskog prstena što u konačnici dovodi do stabilnije strukture niže energije.<sup>3</sup> Općenito, jačina hidrofobnih interakcija je rezultat smanjenog broja molekula vode koje moraju okruživati hidrofobni dio strukture, pa je sustav termodinamički stabilniji jer se povećava broj desolvatiranih molekula vode čime se dobiva na stupnjevima slobode što rezultira entropijski povoljnim procesom. Hidrofobni efekt je direktna posljedica drugog zakona termodinamike, odnosno povećanja entropije. Upravo to povećanje entropije omogućuje nastajanje inkluzijskih kompleksa. U stabilizaciji tako nastalog inkluzijskog kompleksa između molekule gosta i ciklodekstrina ključne su van der Waalsove i dipol-dipol interakcije, te vodikove veze pri stvaranju kojih dolazi do smanjenja napetosti ciklodekstrinskog prstena.<sup>1</sup>

U stvaranju inkluzijskih kompleksa i u različitim granama industrijskih djelatnosti najčešće se koristi  $\beta$ -ciklodekstrin zbog vrlo jednostavne pripreme i komercijalne prihvatljivosti.<sup>6</sup>



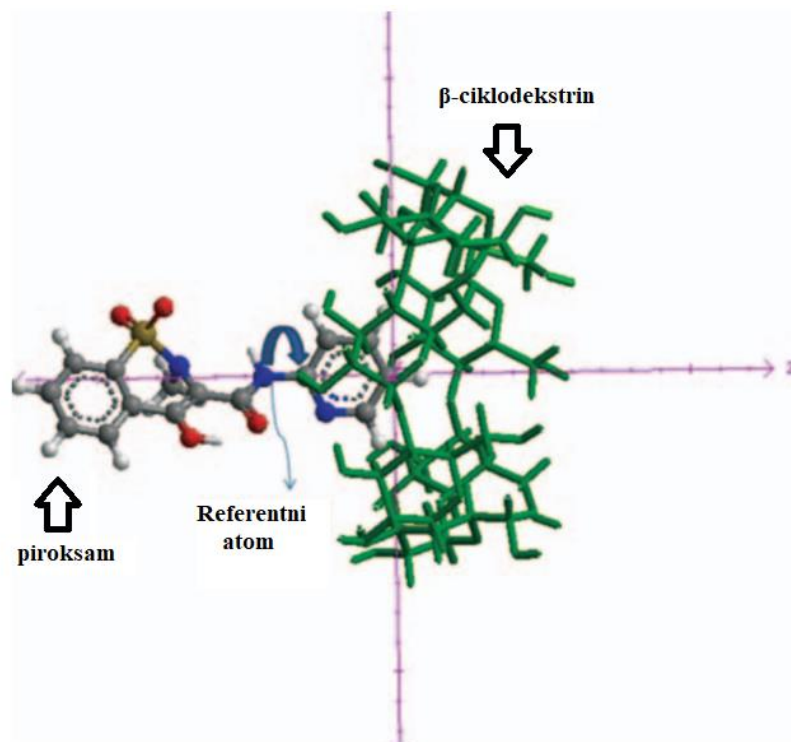
Slika 5. Shematski prikaz nastanka inkluzijskog kompleksa molekule domaćina s molekulom gosta u vodenoj otopini. Slika preuzeta iz reference br.1.

#### 2.2.1.1. Inkluzijski kompleks piroksama i $\beta$ -ciklodekstrina

Piroksam je nesteroidni protuupalni lijek sa snažnim antipiretičkim i analgetičkim djelovanjem. Lijek ima vrlo nisku topljivost u vodi, te u cilju uklanjanja te anomalije dolazi do njegovog smještanja u šupljinu  $\beta$ -ciklodekstrina. Nastali inkluzijski kompleks ima vrlo dobru topljivost u vodi i brzo se apsorbira u organizmu čime se povećava djelotvornost lijeka. Kao glavne pokretačke sile pri nastanku tog kompleksa ističu se vodikove veze i hidrofobne interakcije.

Piroksam ( $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ ) je vrlo dugačka molekula, te je stoga penetracija iste u ciklodekstrinsku šupljinu, iz steričkih razloga, ograničena. Računskim metodama je pokazano da u ciklodekstrinsku šupljinu u cjelosti ulazi samo piridinski prsten, dok aromatski prsten ostaje izvan ciklodekstrinske šupljine. Takva orijentacija molekule dovodi do nastanka velikog broja vodikovih veza čime se sustav dodatno stabilizira. Prilikom ulaska molekule gosta u šupljinu domaćina dolazi do postepene rotacije za  $20^\circ$  oko jednostruke N–C veze piroksama u svrhu stvaranja što stabilnijeg sustava.

Smještanje piroksama u ciklodekstrinsku šupljinu mora biti termodinamički povoljno, odnosno nastali sustav mora imati što je moguće nižu energiju. Radi bolje vizualizacije procesa nastanka inkluzijskog kompleksa može se upotrijebiti Kartezijev koordinatni sustav u čije se središte smješta centar molekule  $\beta$ -ciklodekstrina. Molekula  $\beta$ -ciklodekstrina proteže se uzduž xy osi, a središte molekule je ujedno i ishodište Kartezijevog koordinatnog sustava. Molekula gosta je smještena uzduž z-osi (slika 6).



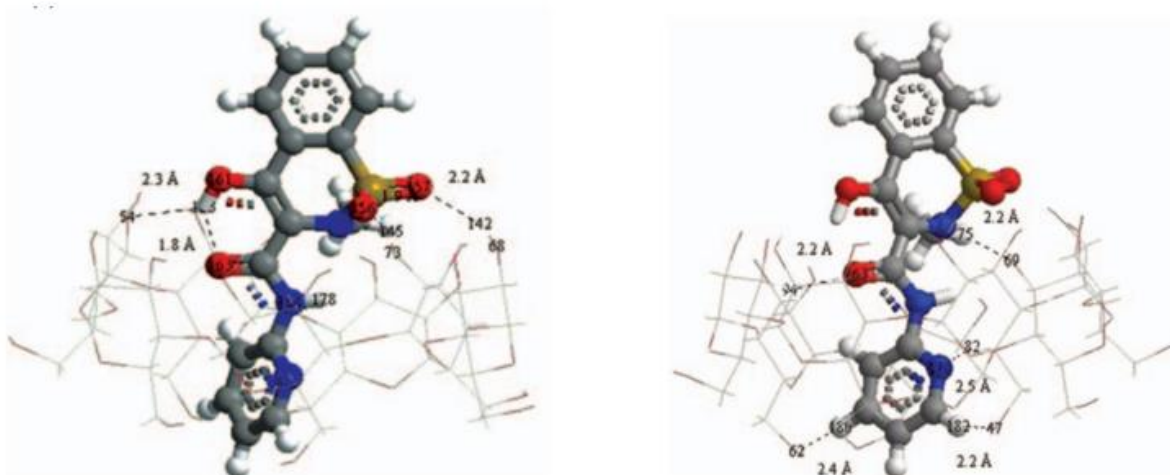
Slika 6. Relativni položaj molekula piroksama i  $\beta$ -ciklodekstrina u Kartezijevom koordinatnom sustavu. Slika preuzeta iz reference br.8.

Budući da je riječ o prilično velikom molekulskom sustavu za modeliranje nekovalentnih interakcija u inkluzijskom kompleksu  $\beta$ -ciklodekstrina i piroksama upotrijebljena je kvantno mehanička i molekulsko mehanička kombinirana, ONIOM metoda. Molekula gosta, piroksam je opisana najvišom razinom teorije, dok je molekula ciklodekstrina, radi jednostavnosti računa, uzeta pod okolni sustav i opisana na nižoj razini teorije.

Kako je ranije spomenuto, glavne interakcije koje sudjeluje u stabilizaciji kompleksa su vodikove veze. Najznačajnije vodikove veze ostvarene su preko enolne i  $-\text{SO}_2$  skupine piroksama. Vodikov atom enolne skupine molekule gosta ostvaruje dvije vodikove veze, jednu intermolekulsku s glikozidnim kisikovim atomom molekule domaćina duljine  $\text{H} \cdots \text{O}$  2,3 Å i drugu, intramolekulsku vodikovu vezu s karbonilnim kisikovim atomom piroksama duljine  $\text{H} \cdots \text{O}$  1,8 Å (slika 7). Intramolekulska vodikova veza je kraća i jača od intermolekulske vodikove veze. Od ostalih vodikovih veza ističu se dvije intermolekulske vodikove veze koje tvori atom kisika  $-\text{SO}_2$  skupine s atomom vodika sekundarne hidroksilne skupine  $\beta$ -ciklodekstrina. Duljina jedne vodikove veze iznosi 2,2 Å, a druge 1,9 Å. Uz spomenute,

relativno jake vodikove veze stvara se i nekoliko slabih vodikovih veza. Jedan od primjera slabih vodikovih veza je ona oblika

C–H ··· O pri čemu proton donorska skupina potječe od molekule piroksama, a akceptor vodikovog atoma je glikozidni kisikov atom  $\beta$ -ciklodekstrina.<sup>8</sup>



Slika 7. Prikaz vodikovih veza u inkluzijskom kompleksu piroksama i  $\beta$ -ciklodekstrina. Slika preuzeta iz reference br.8.

### 2.2.2. Reakcija kompleksiranja

Vežanje molekule gosta u šupljinu molekule domaćina nije trajno nego je to rezultat dinamičke ravnoteže između slobodne molekule gosta, molekule ciklodekstrina i domaćin-gost kompleksa. Sam proces stvaranja inkluzijskog kompleksa između molekule ciklodekstrina i molekule gosta je reverzibilan (j. 2. 2. 2. 1) i može se opisati s dvije konstante, s konstantom stabilnosti (j. 2. 2. 2. 2), te njezinom recipročnom vrijednošću koja odgovara konstanti disocijacije kompleksa (j.2. 2. 2. 3). Reverzibilnost procesa je posebno izražena u vodenim otopinama gdje postoji stalna i brza izmjena između dva moguća oblika.<sup>4</sup>



$$K_S = \frac{[\text{CD-G}]}{[\text{CD}][\text{G}]} \quad (2. 2. 1. 2)$$

$$K_D = \frac{[\text{CD}][\text{G}]}{[\text{CD-G}]} = \frac{1}{K_S} \quad (2. 2. 1. 3)$$

Konstanta stabilnosti kompleksa ( $K_S$ ) opisuje sklonost nastajanja inkluzijskog kompleksa. Što je veća konstanta stabilnosti jače su i nekovalentne interakcije između molekule gosta i molekule domaćina, te je stoga veća i stabilnost nastalog inkluzijskog kompleksa. Konstanta stabilnosti inkluzijskog kompleksa ovisi o temperaturi.<sup>3</sup> U većini slučajeva, povećanje temperature dovodi do molekularnih vibracija koje vode k smanjenju vrijednosti konstante stabilnosti kompleksa i kidanju postojećih nekovalentnih interakcija, primjerice vodikovih veza i van der Waalsovih interakcija, između molekule gosta i ciklodekstrina što u konačnici dovodi do prijevremenog raspada kompleksa, a time i do gubitka njegove funkcije u organizmu ukoliko je inkludirana molekula u ciklodekstrinskoj unutrašnjosti neka vrsta lijeka.

### 2.3. Priprava inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina u čvrstom stanju

Postoji nekoliko metoda stvaranja inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina s molekulom gosta od kojih svaka ovisi o svojstvima molekule gosta i o prirodi izabrane vrste ciklodekstrina.<sup>9</sup>

#### 2.3.1. Metoda gnječenja

Metoda gnječenja je pogodna za molekule gosta koje su slabo topljive u vodi. Prije nego što se doda u suspenziju ciklodekstrina molekulu gosta je potrebno otopiti ukoliko se nalazi u čvrstom agregacijskom stanju. Nakon njezinog dodatka provede se gnječenje. Kao rezultat provedbe procesa gnječenja dobiva se homogena smjesa koja se ostavi stajati neko vrijeme kako bi iskristalizirao produkt. Kruti produkt se ispere s malom količinom otapala u svrhu uklanjanja sitnih čestica, nečistoća, koje su se adsorbirale na površini molekule ciklodekstrina, te se na kraju posuši u vakuumu. Metoda gnječenja se po prvi puta upotrijebila za inkludiranje lijeka ibuprofena u ciklodekstrinsku šupljinu kako bi se povećala njegova topljivost u organizmu, a time i učinkovitost djelovanja.<sup>9</sup>

#### 2.3.2. Koprecipitacija

Koprecipitacija je metoda pogodna za molekule gosta koje nisu topljive u vodi, ali su topljive u organskim otapalima kao što su primjerice kloroform, benzen i dietil-eter. Na samom početku postupka molekula gosta se otopi u nekom od navedenih organskih otapala, a u dobivenu otopinu se potom doda određena količina vodene otopine ciklodekstrina poznate

koncentracije. Pripravljena reakcijska smjesa se promućka i stavi se na hlađenje u ledenu kupelj kako bi iskristalizirao inkluzijski kompleks ciklodekstrina i molekule gosta. Na kraju je potrebno dobivene kristale produkta isprati s organskim otapalom i osušiti na temperaturi od 50 °C. Jedan od primjera korištenja te metode je za enkapsulaciju nesteroidnog, antiupalnog lijeka oksaprozina u ciklodekstrinsku unutrašnjost.<sup>9</sup>

### 2.3.3. Sušenje raspršivanjem

Metoda sušenja raspršivanjem danas igra ključnu ulogu u kapsuliranju lijeka kako bi se povećala njegova topljivost i bioraspoloživost. Radi se o prilično jednostavnoj metodi čija provedba započinje otapanjem odabrane vrsta ciklodekstrina i molekule gosta u destiliranoj vodi. Potom se dobivena otopina stavi osušiti u uređaj za raspršivanje kojeg je prije samog postupka potrebno postaviti na temperaturu od 50-70 °C. Budući da je temperatura strogo kontrolirana, proces je pogodan i za sušenje termoosjetljivih molekula. Trenutno se metoda sušenja raspršivanjem koristi za enkapsulaciju folne kiseline (vitamin B9) u ciklodekstrinsku šupljinu s ciljem povećanja njezine topljivosti.<sup>9</sup>

## 2.4. Karakterizacija inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina

Nastanak inkluzijskih kompleksa može biti potvrđen proučavanjem interakcija između molekule gosta i ciklodekstrina različitim metodama kao što su primjerice termogravimetrija, kromatografija, NMR spektroskopija, masena spektrometrija, infracrvena spektroskopija, UV-VIS spektroskopija, DSC, analiza fazne topljivosti i mnoge druge. Odabir metoda za karakterizaciju ovisi o svojstvima molekule gosta i domaćina.

### 2.4.1. Termogravimetrijska analiza

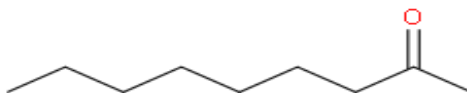
Termogravimetrija je termoanalitička metoda kojom se mjeri promjena mase uzorka u ovisnosti o temperaturi ili vremenu, pri čemu se druga komponenta drži konstantnom. Metoda se ponajviše koristi za karakterizaciju i identifikaciju uzorka, te za mehanizam i kinetiku njegove razgradnje.<sup>10</sup> Također, metoda može biti vrlo korisna u ispitivanju nastanka inkluzijskih



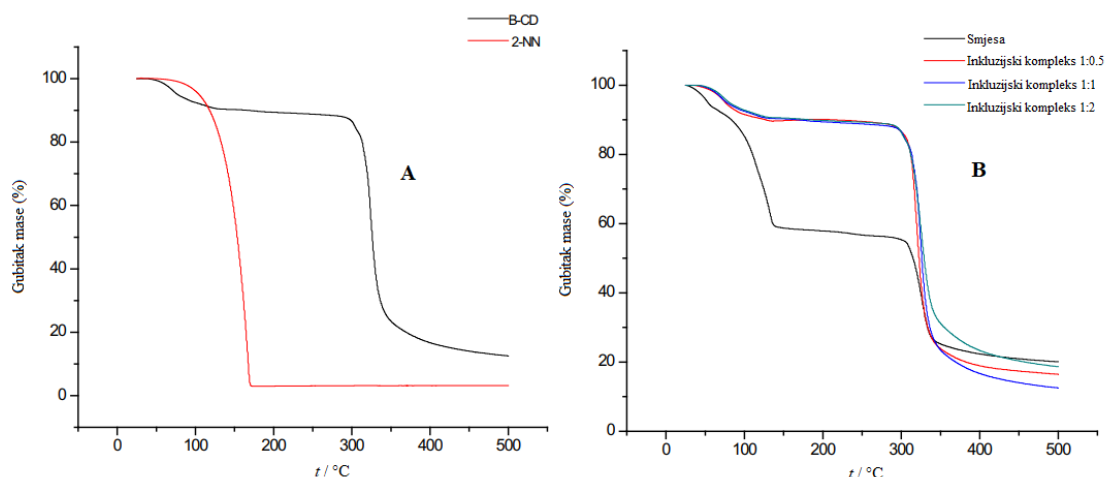
kompleksa. Tom metodom je, između ostalog, okarakteriziran inkluzijski kompleks  $\beta$ -ciklodekstrina s 2-nonanonom, opće formule  $C_{19}H_{18}O$ .

2-nonanon je organska molekula iz skupine ketona sa strukturnom formulom prikazanom na slici 8. Zbog strukture, topljivost spoja u vodi je vrlo niska i iznosi 0,4 mg / mL, no moguće ju je povećati njegovim inkludiranjem u šupljinu  $\beta$ -ciklodekstrina. Osim što pospješuje topljivost spoja, nastali inkluzijski kompleks ga dodatno stabilizira, sprječavajući njegov rani termalni raspad što je vidljivo iz usporedbe termogravimetrijskih krivulja prikazanih na slici 9. Termički raspad inkluzijskog kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina s 2-nonanonom odvija se pri temperaturi od oko 350 °C, dok se nekompleksirani 2-nonanon raspada pri dvostruko manjoj temperaturi, što ide u prilog tomu da kompleksiranje 2-nonanona s  $\beta$ -ciklodekstrinom značajno povećava termalnu stabilnost spoja.<sup>11</sup>

Molekula 2-nonanona može nesmetano ući u hidrofobnu šupljinu  $\beta$ -ciklodekstrina jer molekulskom strukturom odgovara promjeru šupljine domaćina. Inkluzijski kompleks spoja i  $\beta$ -ciklodekstrina je u velikoj mjeri stabiliziran hidrofobnim i van der Waalsovima interakcijama, te u nešto manjoj mjeri slabim vodikovim vezama. Karbonilni kisikov atom molekule 2-nonanona sadrži dva nepodijeljena elektronska para i kao takav može poslužiti kao akceptor atoma vodika čiji je donor sekundarna hidroksilna skupina  $\beta$ -ciklodekstrina. C–H skupina spoja može također poslužiti kao donor vodikovog atoma, no stvorena vodikova veze bit će slaba zbog male elektronegativnosti atoma ugljika. Ukoliko je C–H skupina proton donorska kao akseptori vodikove veze služe glikozidni kisikovi atomi  $\beta$ -ciklodekstrina. Jačina tih nekovalentnih interakcija ne dozvoljava lako izbacivanje molekule gosta iz šupljine domaćina što ima pozitivan učinak na topljivost i termalnu stabilnost spoja.



Slika 8. Strukturna formula molekule 2-nonanona. Slika preuzeta iz reference br.12.



Slika 9. Termogram pojedinačnih spojeva, 2-nonanona i  $\beta$ -ciklodekstrina (A) i inkluzijskih kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina s 2-nanononom u različitim stehiometrijskim odnosima (B).

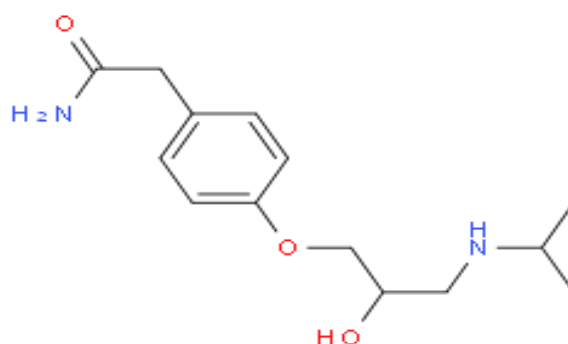
Slika preuzeta iz reference br.11.

#### 2.4.2. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC) je termonalitička metoda koja se koristi u određivanju termičkih parametara tvari poput termičke stabilnosti, vrelišta i tališta, identifikaciji faznih transformacija i sl. Metoda se temelji na mjerenju topline koju je potrebno odvesti ili dovesti uzorku kako bi se održala konstantna temperaturna razlika između uzorka i referentne tvari. Izmjerena toplina pokazuje se kao funkcija temperature i registrira se kao pik na DSC krivulji.<sup>10</sup> DSC je jedna od metoda koja se koristi u svrhu raspoznavanja inkluzijskih kompleksa i njihovu karakterizaciju.

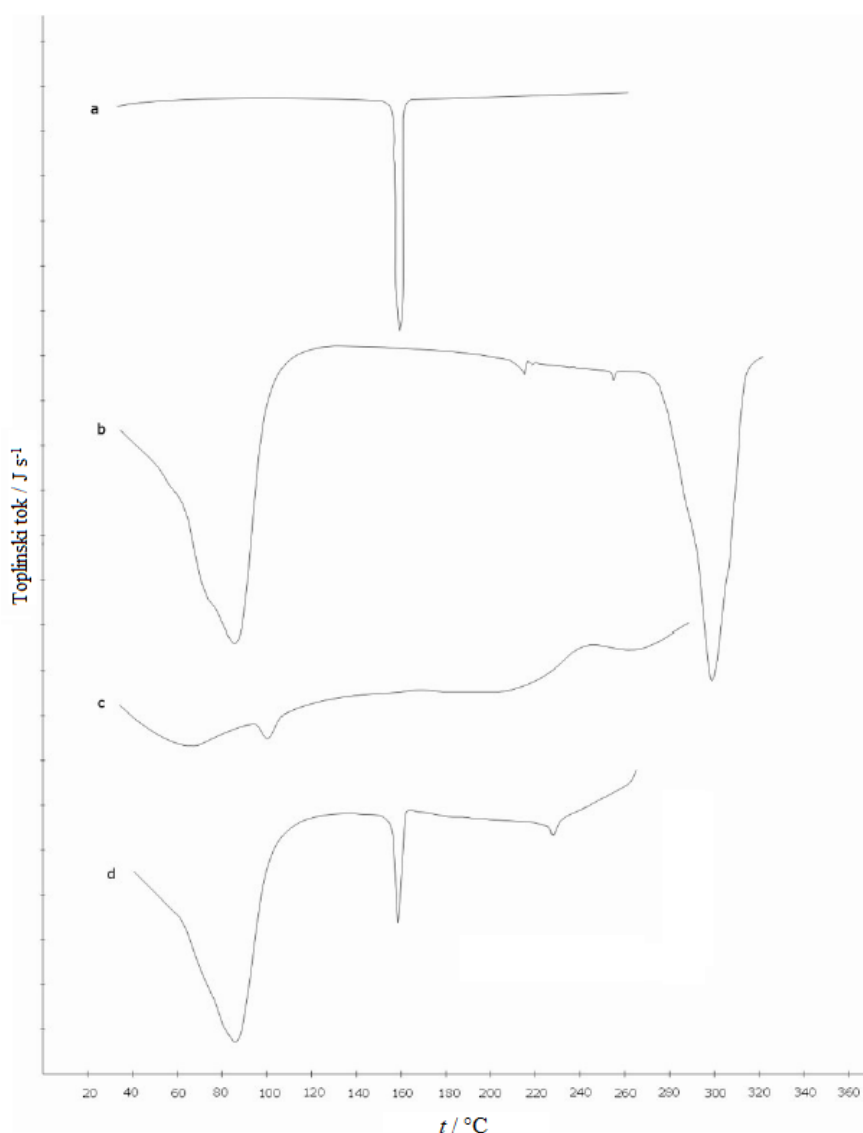
##### 2.4.2.1. Inkluzijski kompleks atenolola i $\beta$ -ciklodekstrina

Atenolol je sintetski derivat izopropilamino-propanola, djeluje kao  $\beta$ -blokator i kao takav se ponajviše koristi u liječenju raznih kardiovaskularnih bolesti, primjerice hipertenzije, zastoja srca i niza drugih. Topljivost atenolola u vodi je izrazito slaba i iznosi svega 0,3 mg / mL. Upravo se ta slaba topljivost ističe kao osnovni nedostatak tog  $\beta$ -blokatora. Jedan od načina da se pospješi topljivost spoja je njegovo kompleksiranje s  $\beta$ -ciklodekstrinom.<sup>13</sup>



Slika 10. Strukturna formula molekule atenolola. Slika preuzeta iz reference br.12.

Uspješnost inkludiranja spoja u ciklodekstrinsku šupljinu može biti potvrđena indirektno diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom usporedivši termalnu stabilnost slobodnih spojeva, atenolola i  $\beta$ -ciklodekstrina, te inkluzijskog kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina s molekulom atenolola. Na DSC krivuljama, prikazanim na slici 11, za atenolol je vidljiv uski pik pri temperaturi od oko 160 °C, dok se za  $\beta$ -ciklodekstrin uočava širi pik pri temperaturi od oko 300 °C. Pikovi odgovaraju topljivosti pojedinih spojeva. Prilikom kompleksiranja atenolola s  $\beta$ -ciklodekstrinom na DSC-krivulji (slika 11c) se zapaža potpuni gubitak endotermnog pika koji je odgovarao topljivosti atenolola što ukazuje na njegovo potpuno inkludiranje u šupljinu domaćina. Nakon inkludiranja spoja u ciklodekstrinsku šupljinu na krivulji se zapaža samo blago zakrivljeni pik pomaknut prema dosta nižoj temperaturi koji odgovara topljivosti inkluzijskog kompleksa atenolola i  $\beta$ -ciklodekstrina. Time je potvrđena činjenica da kompleksiranje atenolola s  $\beta$ -ciklodekstrinom uveliko pospješuje topljivost spoja u ljudskom organizmu.<sup>13</sup>



Slika 11. DSC krivulja za a) atenolol, b)  $\beta$ -ciklodekstrin, c) inkluzijski kompleks atenolola i  $\beta$ -ciklodekstrina i d) reakcijsku smjesu atenolola i  $\beta$ -ciklodekstrina.

Slika preuzeta iz reference br.13

Što se tiče samog načina kompleksiranja atenolola s  $\beta$ -ciklodekstrinom, spoj čija je molekulska strukturna formula prikazana na slici 10, ima mogućnost stvaranja tri vodikove veze s molekulom domaćina  $\beta$ -ciklodekstrinom. Jedna vodikova veza se stvara preko amidne skupine atenolola, dok se preostale dvije vodikove veze stvaraju preko hidroksilne i amino-skupine spoja. Poprilično velik broj vodikovih veza koje spoj ostvaruje sa sekundarnim hidroksilnim skupinama vanjskog obruba  $\beta$ -ciklodekstrina pridonosi stabilizaciji atenolola i u

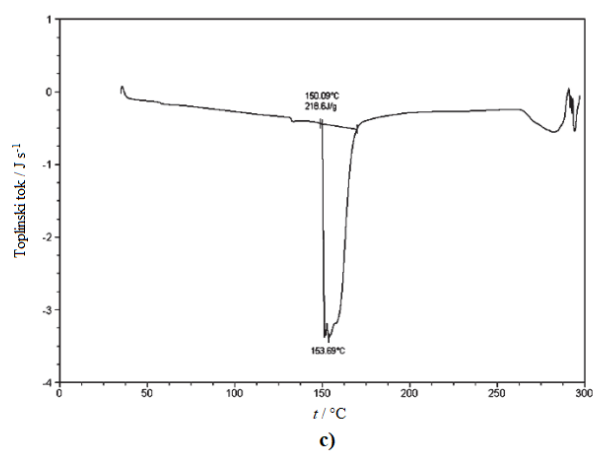
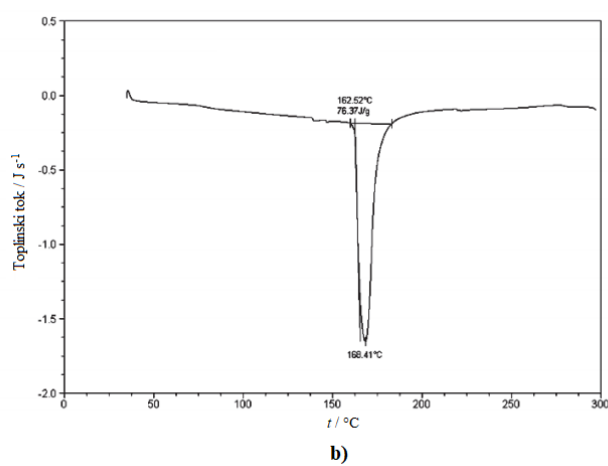
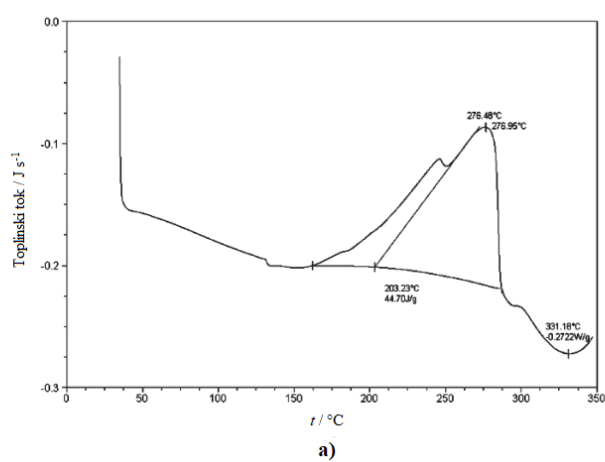
konačnici pospješuje njegovu topljivost u vodi. Od ostalih nekovalentnih, stabilizirajućih interakcija ističu se van der Waalsove i hidrofobne interakcije između molekule gosta i molekule domaćina u vodenoj otopini.

#### 2.4.2.2. *Inkluzijski kompleks željezova(II) fumarata i $\beta$ -ciklodekstrina*

Željezov(II) fumarat je sol željezova(II) iona i trans-1,2-etilendikarboksilne kiseline i koristi se kao aktivna supstanca u liječenju sideropenične anemije. Sol je vrlo slabo topljiva u vodi. Njena topljivost iznosi svega 0,14 g u 100 mL vode, no moguće ju je pospješiti smještanjem željezova(II) fumarata u kristalnu strukturu  $\beta$ -ciklodekstrina što je pokazano korištenjem diferencijalne pretražne kalorimetrije.<sup>14</sup>

Na DSC krivulji za željezov(II) fumarat (slika 12 a) vidljiv je egzotermni pik pri temperaturi od 277 °C koja odgovara temperaturi raspada spoja. Za  $\beta$ -ciklodekstrin temperatura raspada je pomaknuta na oko 170 °C. Kod DSC krivulje za inkluzijski kompleks željezova(II) fumarata i  $\beta$ -ciklodekstrina (slika 12c) primjećuje se potpuni gubitak egzoternog pika pri temperaturi od 277 °C koji je odgovarao termalnom raspadu željezova(II) fumarata. Iz toga proizlazi da je došlo do potpunog ulaska spoja u hidrofobnu šupljinu  $\beta$ -ciklodekstrina čime se pospješila njegova prvobitna niska topljivost.<sup>14</sup>

Stabilizaciji sustava doprinose vodikove veze između atoma kisika karboksilnih skupina željezova(II) fumarata i atoma vodika sekundarnih hidroksilnih skupina  $\beta$ -ciklodekstrina, te hidrofobne i van der Waalsove interakcije. Također, dodatnoj stabilizaciji stvorenog inkluzijskog kompleksa doprinose jake elektrostatske interakcije željezova(II) iona s trans-1,2-etilendikarboksilnom kiselinom i s vanjskim obodnim hidroksilnim skupinama  $\beta$ -ciklodekstrina. Ion željeza(II) ima mogućnost uspostaviti jake elektrostatske interakcije s molekulom domaćina zbog relativno visokog naboja i malog atomskog radijusa, u usporedbi s ostalim prijelaznim elementima. Stvaranjem takve supramolekulske strukture topljivost željezova(II) fumarata u organizmu se znatno povećava što ima pozitivan učinak u terapiji liječenja sideropenične anemije.

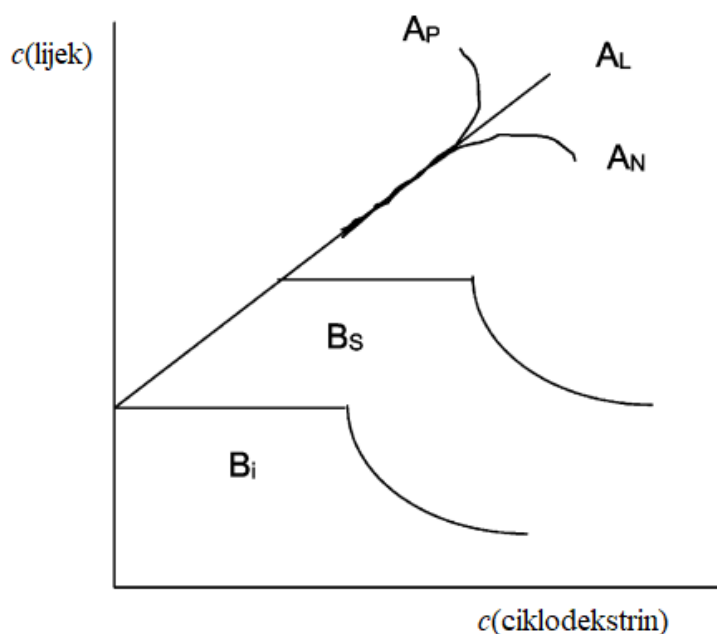


Slika 12. DSC krivulja za a) željezov(II) fumarat, b)  $\beta$ -ciklodekstrin i c) inkluzijski kompleks  $\beta$ -ciklodekstrina i željezova(II) fumarata. Slika preuzeta iz reference br.14.

### 2.4.3. Analiza fazne topljivosti

Konstante stabilnosti kompleksa različitih molekula gosta s ciklodekstrinima mogu se odrediti analizom fazne topljivosti molekule gosta prilikom kompleksiranja s molekulom ciklodekstrina, prema postupku kojeg su opisali Higuchi i Conors.

Prema Higuchiju i Conorsu dijagrami fazne topljivosti mogu se podijeliti na dva glavna tipa od kojih je svaki opisan specifičnom krivuljom (slika 13). A tip krivulje je indikator za topljive inkluzijske komplekse, dok je B tip krivulje indikator za inkluzijske komplekse izrazito slabe topljivosti. Dva glavna tipa dijele se na podtipove pri čemu se A tip dijeli na  $A_L$  podtip koji ukazuje na linearnu ovisnost topljivosti molekule gosta s porastom koncentracije ciklodekstrina,  $A_P$  podtip koji označava pozitivnu devijacijsku izotermu i  $A_N$  podtip koji prikazuje negativnu devijacijsku izotermu. B tip krivulje dijeli se na dva podtipa.  $B_S$  podtip prikazuje krivulju karakterističnu za komplekse ograničene topljivosti, dok  $B_I$  podtip krivulje ima oblik karakterističan za netopljive komplekse. Analizom fazne topljivosti inkluzijskih kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina uglavnom se dobije B tip krivulje ( $B_S$  podtip), dok hidrofilni derivati ciklodekstrina kao primjerice 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin i sulfobutil- $\beta$ -ciklodekstrin daju A tip krivulje.<sup>3</sup>



Slika 13. Dijagram fazne topljivosti. Slika preuzeta iz reference br.3.

Iz grafičkog prikaza topljivosti molekule gosta u ovisnosti o koncentraciji ciklodekstrina može se odrediti konstanta stabilnosti kompleksa,  $K_S$  (j. 2. 3. 1. 1).

$$K_S = \frac{\text{tg}\alpha}{s_o (1-\text{tg}\alpha)} \quad (2.3.1.1)$$

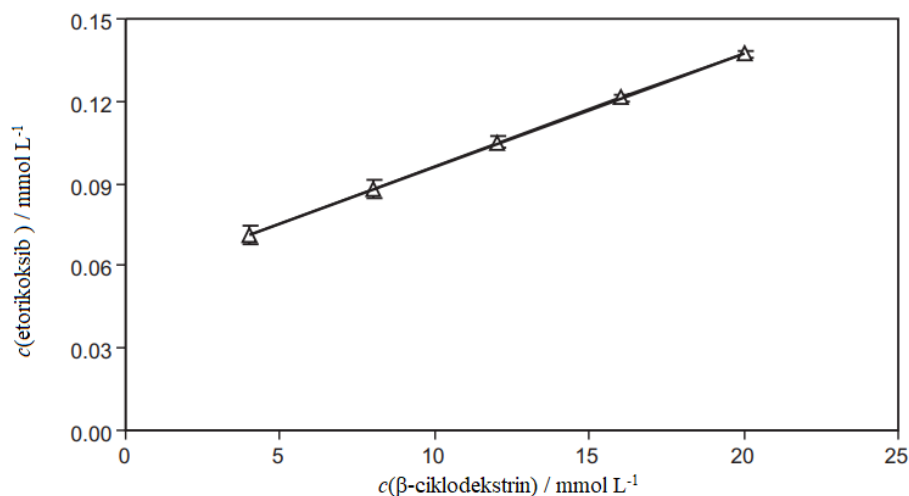
U jednadžbi iznad  $\text{tg}\alpha$  odgovara koeficijentu smjera pravca izotermne topljivosti, a  $s_o$  u nazivniku predstavlja odsječak na ordinati čija vrijednost odgovara intrinzičnoj topljivosti inkludirane molekule (slika 14).<sup>3</sup> Dodatno, linearna ovisnost topljivosti molekule gosta o koncentraciji ciklodekstrina i  $\text{tg}\alpha < 1$  ukazuju na nastanak inkluzijskog kompleksa gost-ciklodekstrin u ekvimolarnom odnosu.

Inkluzijski kompleksi s konstantom stabilnosti od oko 100-5000 L / mol prikladni su za praktičnu primjenu u raznim industrijskim granama. Inkluzijske komplekse s  $K_S < 100$  L / mol karakteriziraju vrlo labilne interakcije između molekule gosta i domaćina koje su uzrok preuranjenog otpuštanja molekule gosta iz šupljine molekule domaćina i beznačajnog poboljšanja topljivosti inkludirane molekule. Ukoliko je  $K_S > 5000$  L / mol stabilnost inkluzijskih kompleksa je izrazito visoka, te je otpuštanje molekule gosta iz ciklodekstrinske šupljine ograničeno ili u potpunosti spriječeno.<sup>9</sup>

#### 2.4.3.1. Inkluzijski kompleks etorikoksiba i $\beta$ -ciklodekstrina

Etorikoksib, lijek za ublažavanje simptoma osteoartritisa i reumatoidnog artritisa, ima vrlo slabu topljivost u vodi. Topljivost etorikoksiba u destiliranoj vodi, pri pH-vrijednosti 6,8 i sobnoj temperaturi, iznosi svega 24  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Slaba topljivost etorikoksiba u vodi može odgoditi njegovu brzinu apsorpcije u organizmu i početak djelovanja, što može dovesti do negativnih posljedica u terapiji liječenja tim lijekom. Jedna od mogućnosti poboljšanja topljivosti toga lijeka je njegovo uvođenje u vodenu otopinu  $\beta$ -ciklodekstrina. Ta vrsta ciklodekstrina može tvoriti inkluzijski kompleks topljiv u vodi sa slabo topljivim etorikoksibom. Topljivost etorikoksiba u 4 mmol / L vodenoj otopini  $\beta$ -ciklodekstrina iznosi 0,025 mmol / L. Daljnjim povećanjem koncentracije vodene otopine  $\beta$ -ciklodekstrina topljivost etorikoksiba se linearno povećava što prema Higuchiju i Connorsu odgovara  $A_L$  krivulji u dijagramu fazne topljivosti (slika 14). Konstanta stabilnosti nastalog inkluzijskog kompleksa etorikoksiba i  $\beta$ -ciklodekstrina iznosi 170 L / mol što dodatno potvrđuje stabilnost nastalog inkluzijskog kompleksa i omogućuje njegovu praktičnu primjenu.<sup>15</sup>





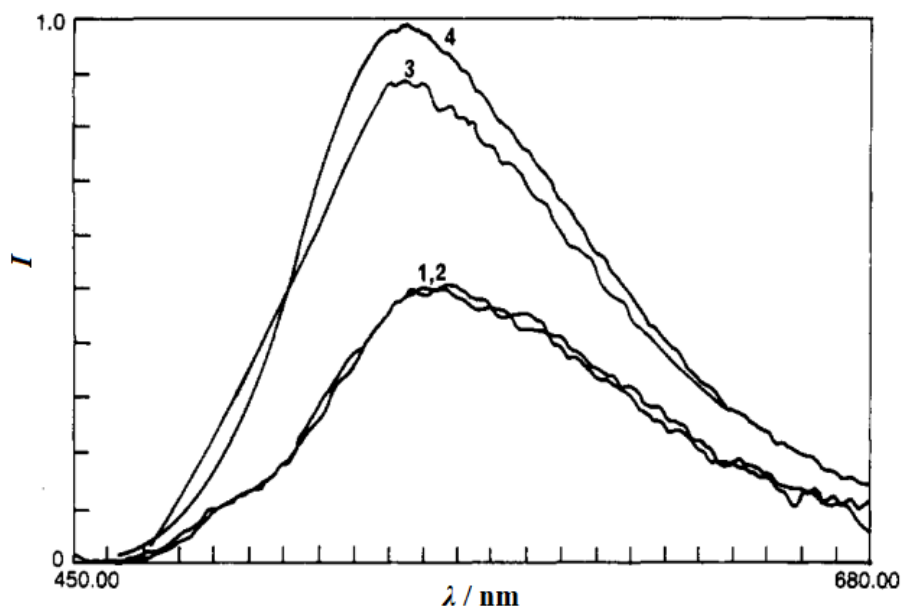
Slika 14. Dijagram fazne topljivosti lijeka etorikoksiba u vodenoj otopini  $\beta$ -ciklodekstrina različitih množinskih koncentracija. Slika preuzeta iz reference br.15.

#### 2.4.4. Fluorescentna spektroskopija

Fluorescentna spektroskopija je metoda koja se temelji na mjerenju snage fluorescentnog zračenja. Ekscitacija uzorka se vrši laserom ugrađenim u fluorimetar. Riječ je o vrlo osjetljivoj metodi koja kao takva može poslužiti u karakterizaciji inkluzijskih kompleksa.

##### 2.4.4.1. Inkluzijski kompleks kumarina i $\beta$ -ciklodekstrina

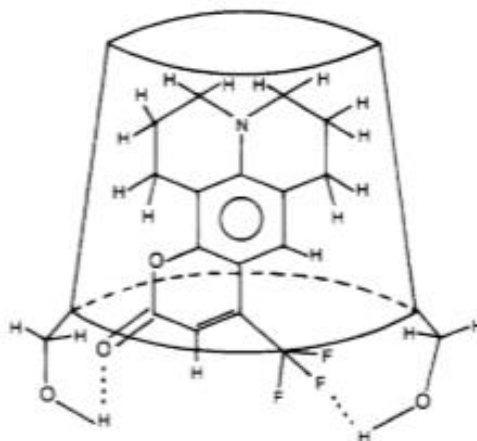
Kumarini su organski spojevi široko zastupljeni u biljnom svijetu. Sastoje se od kondenzirane benzenske jezgre s heterocikličkim  $\alpha$ -pironskim prstenom i imaju karakteristično svojstvo fluorescencije, te razna farmakološka i biološka svojstva.<sup>16</sup> Kumarin pokazuje fluorescenciju bijele, plave, žute i zelene boje u vidljivom području spektra, te upravo to svojstvo može poslužiti u dokazivanju njegove prisutnosti u različitim tvarima.<sup>17</sup> Jačina fluorescencije kumarina se može u velikoj mjeri pojačati dodatkom baze ili jednostavnim kompleksiranjem spoja s  $\beta$ -ciklodekstrinom koji u tom procesu igra ulogu domaćina. Naime, ukoliko se kumarin 540A, opće formule  $C_{16}H_{14}F_3NO_2$ , kompleksira s  $\beta$ -ciklodekstrinom dolazi do povećanja intenziteta fluorescencije i maksimum krivulje se pomiče ulijevo, prema nižim valnim duljinama (slika 15).<sup>18</sup>



Slika 15. Intenzitet fluorescencije organskog spoja kumarina 540A, prije (1, 2) i nakon (3,4) kompleksiranja s  $\beta$ -ciklodekstrinom, u ovisnosti o valnoj duljini.

Slika preuzeta iz reference br.18.

Stvaranje inkluzijskog kompleksa spoja s  $\beta$ -ciklodekstrinom moguće je prvenstveno iz steričkih razloga. Naime, kumarin 540A je dovoljno mala organska molekula za ulazak u šupljinu  $\beta$ -ciklodekstrina čiji promjer iznosi 7,5 Å. Unutrašnjost  $\beta$ -ciklodekstrina je hidrofobna stoga će se u nju smjestiti manje polarni dio molekule kumarina 540A, dok će karboksilna i trifluormetilna skupina, polarnije funkcijske skupine kumarina 540A, biti uz vanjski hidrofilni obrub molekule domaćina. Molekula gosta ostvaruje preko atoma fluora i karboksilnog kisika dvije vodikove veze sa sekundarnim hidroksilnim skupinama  $\beta$ -ciklodekstrina smještenih na vanjskom obrubu molekule (slika 16).<sup>18</sup> Iz steričkih razloga izlazak molekule gosta iz šupljine molekule domaćina neće biti lako moguće. Dodatno, nekovalentne interakcije s molekulom domaćina stabiliziraju molekulu kumarina što se pozitivno odražava na intenzitet fluorescencije spoja.

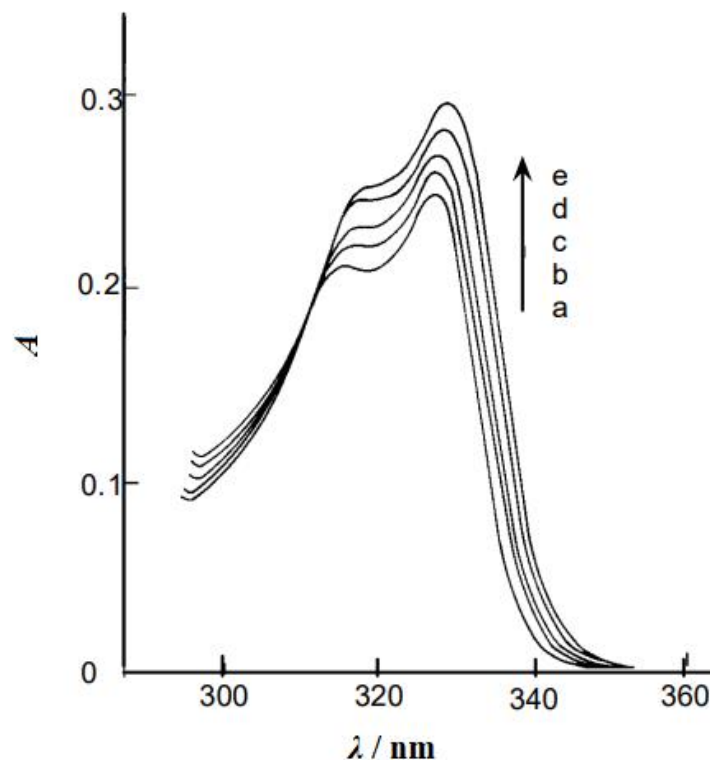


Slika 16. Shematski prikaz inkluzijskog kompleksa kumarina 540A i  $\beta$ -ciklodekstrina.

Slika preuzeta iz reference br.18.

#### 2.4.5. UV-VIS spektroskopija

UV/Vis spektar nastaje bilježenjem intenziteta zračenja koje je uzorak apsorbirao, propustio ili reflektirao u ovisnosti o valnoj duljini, te se kao takav koristi kao jedan od indikatora kompleksiranja molekule gosta s ciklodekstrinom. Prilikom kompleksiranja, dolazi do promjene u odnosu na originalni vidljivi ili ultraljubičasti apsorpcijski spektar molekule gosta što je vidljivo iz grafičkog prikaza apsorpcijskog spektra  $\beta$ -naftola prikazanog na slici 17.<sup>19</sup> Specifične interakcije između molekule gosta i ciklodekstrina mogu dovesti do velikih promjena u apsorpcijskom maksimumu molekule gosta. Općenito, kompleksiranjem molekule gosta s ciklodekstrinom dolazi do povećanja apsorpcijskog maksimuma, a time i do povećanja početne vrijednosti apsorbancije, koja se kvantitativno može odrediti primjenom Beer-Lambertovog zakona.



Slika 17. Apsorpcijski spektar  $\beta$ -naftola prije kompleksiranja s  $\beta$ -ciklodekstrinom (a) i u vodenim otopinama  $\beta$ -ciklodekstrina različitih koncentracija (b-e).

Slika preuzeta iz reference br.19.

## 2.5. Primjena ciklodekstrina

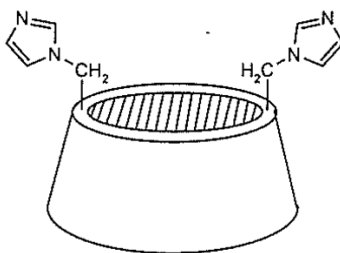
Ciklodekstrini imaju veliku primjenu u industriji, posebice u prehrambenoj, kozmetičkoj, tekstilnoj i farmaceutskoj industriji. Široku primjenu ciklodekstrina u industriji je omogućila njihova specifična prstenasta struktura i mogućnost stvaranja inkluzijskih kompleksa s različitim vrstama molekula gosta. Od prirodnih ciklodekstrina najčešće se za znanstvene i tehnološke svrhe koristi  $\beta$ -ciklodekstrin zbog vrlo jednostavnog načina pripreme i komercijalne dostupnosti.<sup>6</sup>

Ovisno o granama industrije razlikuje se i svrha primjene ciklodekstrina. Naime, u prehrambenoj industriji ciklodekstrini se upotrebljavaju u svrhu spriječavanja gubitka standardnog mirisa i okusa hrane prilikom zamrzavanja, odmrzavanja, te raznih termičkih obrada hrane. Druga važna primjena ciklodekstrina u toj industriji je u uklanjanju kolesterola iz animalnih i mliječnih proizvoda, te gorkih komponenti iz limunskog soka. U kozmetičkoj industriji ciklodekstrini se primjenjuju u parfemima i detergentima za inkludiranje mirisa i njihovo kontrolirano otpuštanje, te u proizvodnji krema za sunčanje kako bi smanjili moguće nuspojave ograničavajući interakcije između UV zraka i kože.<sup>8</sup>

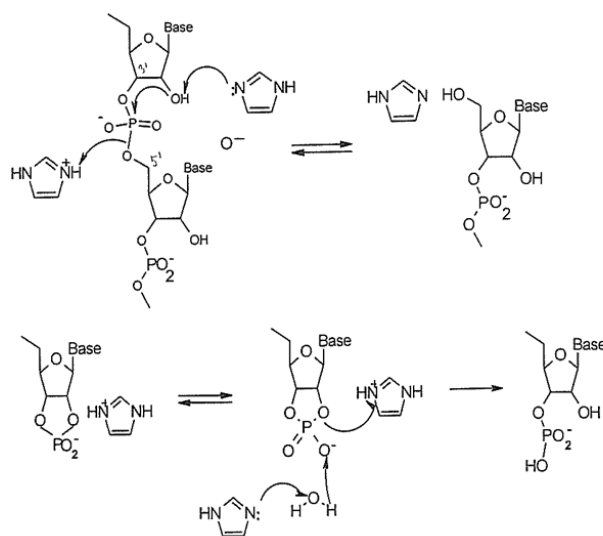
Najveća primjena ciklodekstrina je u farmaceutskoj industriji. Inkluzijski kompleksi ciklodekstrina s raznim lijekovima povećavaju topljivost lijeka i time pospešuju njegovu učinkovitost i bioraspoloživost, te ublažavaju gorki okus pojedinih lijekova. Primjenom ciklodekstrina može se spriječiti i moguća inkompatibilnost lijeka s drugim pomoćnim tvarima prilikom proizvodnje. Uz navedeno ciklodekstrini se upotrebljavaju u svrhu kontroliranog otpuštanja pojedinih lijekova u organizam, kao što su ciprofloksacin, triklosan, vankomicin, te kloroheksidin glukonat. Također, ciklodekstrini mogu i kemijski stabilizirati lijek, te spriječiti njegovu enzimatsku razgradnju.<sup>8</sup>

Uz gore navedeno, ciklodekstrini zbog svoje dobro definirane strukture imaju i nekoliko primjena u katalizi kemijskih reakcija. Ciklodekstrini mogu sudjelovati u kovalentnoj katalizi, kiselinsko-baznoj katalizi, te u nekovalentnoj katalizi. U kovalentnoj katalizi, hidroksilne skupine ciklodekstrina stupaju u interakciju sa supstratom i tvore kovalentni intermedijer. Jedan od primjera kovalentne katalize je hidroliza aromatskog estera fenil-acetata. Fenil-acetat je relativno mali supstrat te se stoga lako smješta u ciklodekstrinsku šupljinu. Nakon što se supstrat nađe u odgovarajućoj poziciji sekundarne hidroksilne skupine domaćina izvrše nukleofilni napad na karbonilni kisikov atom supstrata pri čemu nastaje acetil-ciklodekstrin, dok fenolna skupina izlazi iz šupljine. U daljnjem koraku dolazi do hidrolize intermedijera, potpomognute molekulom vode, pri čemu kao produkt izlazi octena kiselina, a ciklodekstrin se regenerira. Za takvu reakciju katalize je najpovoljniji meta supstituirani fenil-acetat zbog minimalne udaljenosti između nukleofilnog i elektrofilnog centra.<sup>20</sup> Uz to, ciklodekstrini su se pokazali i kao efikasni katalizatori u reakciji raspada molekule RNA, posebno regioizomeri

disupstituiranog  $\beta$ -ciklodekstrina. Raspad RNA molekule kataliziran tom vrstom ciklodestrina je primjer kiselinsko-bazne katalize, čiji je mehanizam prikazan na slici 19.  $\beta$ -ciklodekstrin je supstiuiran s dva histidinska bočna ogranka koji uveliko olakšavaju raspad RNA molekule (slika 18). Nakon smještanja RNA molekule u šupljinu disupstituiranog  $\beta$ -ciklodekstrina dolazi do protoniranja jednog od dva histidinska bočna ogranka, čime se 2' hidroksilna skupina riboze koja je poprilično loš nukleofil pretvara u alkoksidni ion, izrazito dobar nukleofil. Intramolekularni napad alkoksidnog iona, na mjestu 2' riboznog prstena, na terminalni fosfat kao rezultat daje 2', 3'-ciklički ribonukleotidni monofosfat intermedijer. U daljnjem koraku dolazi do selektivne hidrolize intermedijera, potpomognute molekulom vode, što u konačnici daje dijelove RNA koji na jednom od dva moguća položaja imaju terminalni fosfat (slika 19). Također, disupstiuirani  $\beta$ -ciklodekstrini se koriste i kao katalizatori u reakciji enolizacije ketona.<sup>5</sup>



Slika 18. Shematski prikaz disupstituiranog  $\beta$ -ciklodekstrina. Slika preuzeta iz reference br.5.



Slika 19. Mehanizam reakcije raspada RNA molekule kataliziran disupstituiranim  $\beta$ -ciklodekstrinom. Slika preuzeta iz reference br.5.

### § 3. LITERATURNI IZVORI

1. J. W. Steed, J. L. Atwood, *Supramolecular Chemistry*, Second Edition, Wiley, 2009, str. 35–38, 72–73, 361–370.
2. K. Pičuljan, *Struktura i vodikove veze derivata tiosemikarbazona u otopini*, Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2014, str. 51–53.
3. E. M. M. Del Valle, *Cyclodextrins and their uses: a review*, Department of Chemical Engineering, University of Salamanca, 2003.
4. J. Jablan, *Oblikovanje i vrednovanje ciklodekstrinskih terapijskih sustava za oralnu primjenu zaleplona*, Doktorski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2014.
5. H. Dodziuk, *Introduction to Supramolecular Chemistry*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 2002, str. 104–105, 207–215, 252.
6. D. Đorđević, M. Novaković, S. Konstantinović, *Primena ciklodekstrina u oblasti tekstila*, Stručni rad, Tehnološki fakultet, Leskovac, 2006.
7. [http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/209592/1/10-%20chapter-1\\_introduction.pdf](http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/209592/1/10-%20chapter-1_introduction.pdf) (datum pristupa 27. kolovoza 2018.)
8. S. Hadjar, D. Khatmi, *J. Comput. Theor. Nanosci.* **9** (2012), 1–6.
9. B. Cheirsilp, J. Rakmai, *J. Med. Biol. Eng.* **2** (2016), 1–6.
10. Skupina autora, *Termalna analiza*, Skripta za internu uporabu, Zavod za opću i anorgansku kemiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 1994.
11. R. L. Abarca, F. J. Rodriguez, A. Guarda, M. J. Galotto, J. E. Bruna, *Food Chem.* **196** (2016), 968–975.
12. [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com) (datum pristupa 16. kolovoza 2018.)
13. J. Knežević, *Strukturno istraživanje inkluzijskih kompleksa  $\beta$ -ciklodekstrina*, Diplomski rad, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 2006.
14. A. J. Kapor, Lj. B. Nikolić, V. D. Nikolić, M. Z. Stanković, M. D. Cakić, D. P. Ilić, I. I. Mladenović-Renisavljević, I. S. Ristić, *Adv. Tech.* **1** (2012), 7–15.
15. H. M. Patel, B. N. Suhagia, S. A. Shah, I. S. Rathod, V. K. Parmar, *Acta Pharm.* **57** (2007), 351–359.
16. N. Markota, *Dizajn i sinteza 1, 3, 4 –oksadiazola s kumarinskim prstenom*, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište u Osijeku, 2014.
17. [http://www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20Obiohemiju/Predmeti%20KOHBI/I\\_ciklus/IV\\_godina/Hemija\\_prirodnih\\_produkata/9-Fenolske\\_kiseline\\_i\\_Kumarini\\_.pdf](http://www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20Obiohemiju/Predmeti%20KOHBI/I_ciklus/IV_godina/Hemija_prirodnih_produkata/9-Fenolske_kiseline_i_Kumarini_.pdf) (datum pristupa 21. srpnja 2018.)
18. S. Scypinski, J. M. Drake, *J. Phys. Chem.* **89** (1985), 2432–2435.
19. <https://www.colby.edu/chemistry/PChem/lab/GuestHostUV.pdf> (datum pristupa 23. srpnja 2018.)
20. H. Dodziuk, *Cyclodextrins and Their Complexes*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006, str. 94–95.