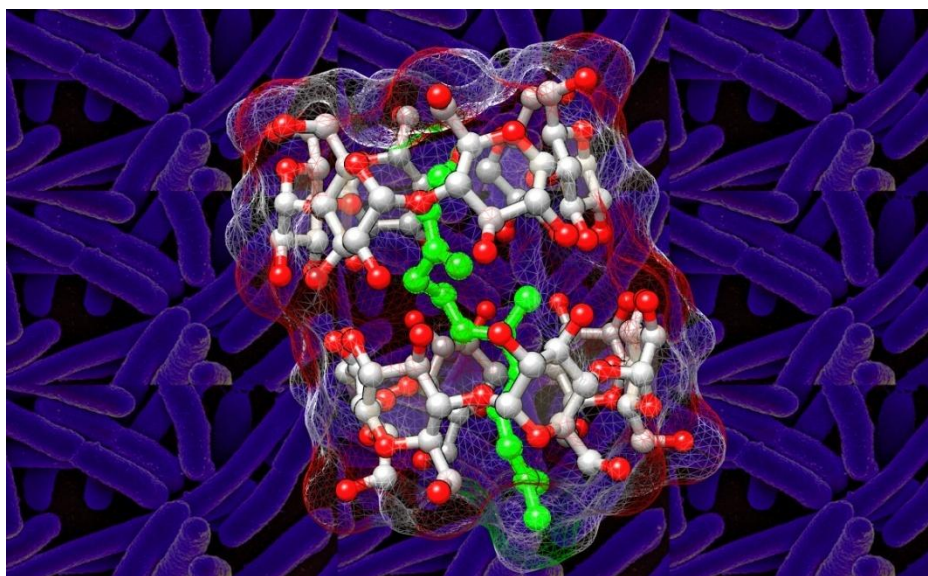




ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ
ΚΥΚΛΟΔΕΤΡΙΝΕΣ»**

ΚΑΤΕΡΙΝΑ Κ. ΦΟΥΡΤΑΚΑ

ΑΘΗΝΑ 2018

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Κωνσταντίνος Μπεθάνης

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
«ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ
ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ»

της Κατερίνας Κ. Φουρτάκα

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Κωνσταντίνος Μπεθάνης

Μέλη τριμελούς επιτροπής παρακολούθησης:

Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος καθηγητής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Φυσικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπων)

Παναγιώτης Κατινάκης, Καθηγητής, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Μέλος)

Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής καθηγητής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Εργαστήριο Γενικής Χημείας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Μέλος)

Μέλη επταμελούς εξεταστικής επιτροπής :

Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος καθηγητής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Φυσικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παναγιώτης Κατινάκης, Καθηγητής, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής καθηγητής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Εργαστήριο Γενικής Χημείας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ηλίας Ηλιόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Γενετικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μιχαήλ Καρπούζας, Αναπληρωτής καθηγητής, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Φυσικής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σαρειδάκης Εμμανουήλ, Ερευνητής Β΄, Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

Μοσχοπούλου Γεωργία, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Κυτταρικής Τεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι κυκλοδεξτρίνες (CD) είναι ολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι αποτελούνται από α -(1-4)-D γλυκοκυρανόζες, τοποθετημένες σε έναν κυκλικό σχηματισμό. Διαθέτουν υδρόφιλες περιφέρειες και υδρόφοβες κοιλότητες όπου έχουν την ικανότητα να φιλοξενούν μία μεγάλη ποικιλία μορίων (ξενιζόμενα μόρια). Τα μόρια αυτά διαθέτουν κατάλληλο μέγεθος, σχήμα και τουλάχιστον ένα υδρόφοβο τμήμα δημιουργώντας έτσι, μαζί με τις κυκλοδεξτρίνες (ξενιστές), τα λεγόμενα «προϊόντα εγκλεισμού». Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε ο εγκλεισμός γραμμικών τερπενίων, τα οποία αποτελούν και συστατικά των αιθερίων ελαίων μιας πληθώρας φαρμακευτικών φυτών. Εμφανίζουν αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες, όμως, πολλά από αυτά είναι πολύ πτητικά, ευοξειδωτά και εμφανίζουν ευαισθησία στο φως, γεγονός που περιορίζει τη χρήση τους. Ο εγκλεισμός βρίσκει πολλές εφαρμογές διότι μέσω αυτού α. βελτιώνονται χαρακτηριστικές του ιδιότητες όπως η υδατοδιαλυτότητα, η βιοδιαθεσιμότητα, κ.ά., β. προστατεύεται το μόριο από χημική αποδόμηση, οξείδωση κ.ά. και γ. επιτυγχάνεται βραδεία αποδέσμευσή του από το σύμπλοκο λόγω ύπαρξης μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τα προϊόντα εγκλεισμού των: γερανιόλη, β -κιτρονελλόλη, E-,Z-κιτράλη και φαρνεσόλη στις φυσικές α -CD και β -CD (6 και 7 γλυκοζιτικές μονάδες αντίστοιχα) και στις μεθυλιωμένες DM- β -CD (2,6-δι-O-μεθυλ- β -κυκλοδεξτρίνη) και TM- β -CD (2,3,6-τρι-O-μεθυλ- β -κυκλοδεξτρίνη). Τη μελέτη αυτή συμπληρώνει το προϊόν εγκλεισμού του γιββερελλικού οξέος (GA₃) σε TM- β -CD, ως συνέχεια μελέτης εγκλεισμού φυτορρυθμιστικών ουσιών σε κυκλοδεξτρίνες [Φουρτάκα Κ., Μεταπτυχιακή διατριβή, «Μελέτη εγκλεισμού βιοδραστικών ουσιών σε κυκλοδεξτρίνες»] αλλά και για τη σύγκριση των δομικών χαρακτηριστικών του εγκλεισμού σε TM- β -CD, μορίων με διαφορετικό σχήμα και μέγεθος. Το κύριο μέρος αυτής της εργασίας αφορά στη δομική μελέτη, με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X, των δομικών χαρακτηριστικών αυτών των προϊόντων εγκλεισμού με σκοπό να προσδιοριστούν οι σχετικές ατομικές θέσεις ξενιστή-ξενιζομένου στα προϊόντα εγκλεισμού, η στοιχειομετρία, η γεωμετρία και οι ενδομοριακές αλλά και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις που παρατηρούνται στην κρυσταλλοδομή. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα προκειμένου να αναλυθούν οι συνθήκες και το ποσοστό επιρροής των κυκλοδεξτρινών στην αντιβακτηριακή δράση της E-/Z-κιτράλης ενάντια στο *Escherichia coli*.

ABSTRACT – Cyclodextrins as encapsulation agents of bioactive compounds

Cyclodextrins (CDs) are natural starch derivatives which consist of α -(1,4) linked glycopyranose subunits. They provide a cage-like supramolecular structure with a hydrophobic internal cavity, where they can incorporate apolar molecules (guests) or parts of molecules, forming the so-called “inclusion compounds”. In these inclusion complexes, covalent bonds are not found between interacting molecules, and they are known as “host-guest” interactions. Terpenes are organic compounds, produced by a variety of medicinal and aromatic plants (MAP) and are present in their essential oils. The majority of monoterpenes are insoluble in water and extremely volatile, properties that make their use in perfumery, cosmetics, drug and food industries problematic. They are found to have antioxidant and antimicrobial properties but most of them are insoluble in water and sensitive to oxidation, two major undesirable properties which preclude their use. Thus, inclusion complexes with CDs, resulting in better stability, higher water solubility, increased bioavailability and offer a slow release of the guests sustaining their action. The crystal structures of inclusion complexes of linear terpenes such as: geraniol, β -citronellol, E/Z-citral and farnesol, with natural and methylated cyclodextrins, have been investigated by X-ray crystallography. The crystal structure of the inclusion complex of gibberellic acid (GA₃, from the family of gibberellins of Plant Growth Regulators) in TM- β -CD was also studied in order to compare the degree of distortion of TM- β -CD as encapsulant of linear terpenes or more bulky molecules, such as GA₃ (Katerina K. Fourtaka “Studies of molecular encapsulation of bioactive compounds in cyclodextrins”). Xray crystallography is a technique used to determine the arrangement of atoms of a crystalline solid in three dimensional space. Thus, it is the unique method that gives information about the molecular structure of such inclusion complexes (stoichiometry, geometry, intramolecular and intermolecular interactions). The parameters that affect the crystal packing mode, the formation of the dimers or the monomers and the degree of distortion of the host-guest molecules are also examined herein. Experiments were conducted also in order to investigate how cyclodextrins affect the antimicrobial activity of citral against *Escherichia coli* bacteria. Beside all cyclodextrins, the presence of TM- β -CD seems to aid significantly the antimicrobial activity of citral.

ΛΕΞΕΙΣ – ΚΛΕΙΔΙΑ

Κυκλοδεξτρίνες	Cyclodextrins
Προϊόντα εγκλεισμού	Inclusion complexes
Τερπένια	Terpenes
Φυσικά προϊόντα	Natural products
Γερανιόλη	Geraniol
Κιτράλη	Citral
β -κιτρονελλόλη	β -citronellol
Φαρνεσόλη	Farnesol
Αντιβακτηριακή δράση	Antibacterial activity
Εσερίχια κόλι	<i>Escherichia coli</i>
Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ	X-ray crystallography

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	iii
ABSTRACT – Cyclodextrins as encapsulation agents of bioactive compounds	iv
ΛΕΞΕΙΣ – ΚΛΕΙΔΙΑ	v
ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	xiii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	xv
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ.....	2
1.1 Φυσικές Κυκλοδεξτρίνες	2
1.2 Μεθυλιωμένες Κυκλοδεξτρίνες.....	3
1.3 Εγκλεισμός και δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού	4
1.4 Εφαρμογές του εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες.....	6
2. ΤΕΡΠΕΝΙΑ.....	8
2.1. Γραμμικά τερπένια - Χρήσεις και πλεονεκτήματα εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες	10
3. ΦΥΤΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΑΥΞΗΣΗΣ.....	15
3.1. Γιββερελλικό οξύ (GA ₃)	16
4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ.....	18
4.1. Κρυστάλλωση - Μέθοδοι κρυστάλλωσης	18
4.2. Συλλογή και επεξεργασία δεδομένων περίθλασης	20
4.3. Βελτιστοποίηση δομής	26
4.4. Αξιολόγηση και κατάθεση δομής	28

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	30
6. ΟΡΓΑΝΑ	31
7. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ.....	34
7.1. Κρυστάλλωση προϊόντων εγκλεισμού σε φυσικές κυκλοδεξτρίνες (α -, β - CDs)	34
7.2. Κρυστάλλωση προϊόντων εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες (DM- β -CD και TM- β -CD)	35
7.3. Συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων από περίθλαση ακτίνων-X και προσδιορισμός δομών.....	37
8. ΑΠΟ ΤΟΝ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟ ΣΤΟ ΔΙΑΛΥΜΑ. ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΗΣ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD ..	49
8.1 Προετοιμασία προϊόντων εγκλεισμού κιτράλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD.....	49
8.2 Ποσοτικός προσδιορισμός της κιτράλης στα προϊόντα εγκλεισμού της β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD	49
9. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ-ΕΥΡΕΣΗ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ-ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ	51
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	53
10. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΓΕΡΑΝΙΟΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.....	54

10.1. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/ β -CD	54
10.2. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/DM- β -CD.....	57
10.3. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/TM- β -CD.....	60
10.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD	63
11. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΣΕ α -CD, β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.....	64
11.1. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ α -CD.....	64
11.2. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ β -CD	67
11.3. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/DM- β -CD	70
11.4. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/TM- β -CD.....	72
11.5. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD, β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD.....	75
12. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΗΣ β -ΚΙΤΡΟΝΕΛΛΟΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.....	76
12.1. Προϊόν εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/ β -CD	76
12.2. Προϊόν εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/DM- β -CD.....	79
12.3. Προϊόν εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/TM- β -CD	82
12.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD.....	84
13. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΦΑΡΝΕΣΟΛΗΣ ΣΕ α -CD, β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.....	85

13.1. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ α -CD.....	85
13.2. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ β -CD.....	88
13.3. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/TM- β -CD	91
13.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε α -CD, β -CD και TM- β -CD.	93
14. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ GA3/TM- β -CD 95	
14.1. Προϊόν εγκλεισμού GA3/TM- β -CD	95
15. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	98
15.1 Έλεγχος αντιβακτηριακής δράσης της κιτράλης απουσία και παρουσία κυκλοδεξτρινών (σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD) στο βακτήριο <i>E. coli</i>	98
15.2 Προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της κιτράλης παρουσία και απουσία κυκλοδεξτρινών (β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD) για το βακτήριο <i>E. coli</i>	100
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	102
16. ΔΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.....	103
17. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΥΣΙΑ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ - ΡΟΛΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΟΜΩΝ	
110	
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	115
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	122
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	132

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σε αυτή τη διδακτορική διατριβή περιλαμβάνονται στις παρακάτω επιστημονικές δημοσιεύσεις και ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια:

Δημοσιεύσεις:

1. **Fourtaka Katerina**, Christoforides Elias, Mentzafos Dimitris and Bethanis Kostas (2018). Crystal structures and molecular dynamics studies of the inclusion compounds of β -citronellol in β -cyclodextrin, heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin. *Journal of Molecular Structure* 1161, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.02.037>
2. Christoforides Elias, **Fourtaka Katerina**, Papaioannou Andreas, Mentzafos Dimitris and Bethanis Kostas. Inclusion complexes of geraniol with β -cyclodextrin, heptakis (2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin and heptakis (2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin: an X-ray crystallographic and molecular dynamics study. (*Journal of Molecular Structure*, In Press)
3. Bethanis Kostas, Christoforides Elias, Tsorteki Frantzeska., **Fourtaka Katerina** and Mentzafos Dimitris (2018). Structural studies of the inclusion compounds of α -naphthaleneacetic acid in heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -Cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -Cyclodextrin by X-ray crystallography and molecular dynamics. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 92(1), 157–171. <https://doi.org/10.1007/s10847-018-0824-y>

Υπό προετοιμασία

4. **Fourtaka Katerina**, Christoforides Elias and Bethanis Kostas (Under preparation) Preparation, crystal structure determination and molecular dynamics studies of the inclusion compounds of citral isomers in native alpha- and beta-cyclodextrins
5. **Katerina Fourtaka**, Elias Christoforides, Panagiotis Katinakis, Christos Pappas and Kostas Bethanis (Under preparation) Structural studies and antimicrobial activity of the inclusion compounds of citral isomers in methylated beta-cyclodextrins
6. **Fourtaka Katerina**, Christoforides Elias and Bethanis Kostas (Under preparation) Structural and molecular dynamic simulation studies of the inclusion compounds of farnesol in native and methylated cyclodextrins.

Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια:

1. Nefeli Sofia D. Sotiropoulou, **Katerina Fourtaka**, Elias Christoforides, Christos Pappas, Kostas Bethanis and Petros A. Tarantilis. Inclusion of borneol, camphor and thujone monoterpenes from sage infusion in native α - and β -cyclodextrin (2018) 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and 10th International Congress on Biodiversity (**ISCNP30 & ICOB10**), November 25-29, Athens, Greece. (Poster presentation)
2. Elias Christoforides, **Katerina Fourtaka**, Nefeli Sofia D. Sotiropoulou, Christos Pappas, Petros Tarantilis and Kostas Bethanis. Structural studies on the encapsulation of Sage bicyclic monoterpenes in β -Cyclodextrin by X-ray crystallography and Molecular dynamics (2018) 9th International Conference of the Hellenic Crystallographic Association (**HeCrA**), October 5-7, Patras, Greece. (Poster presentation)
3. Elias Christoforides, Andreas Papaioannou, **Katerina Fourtaka**, Athena Andreou and Kostas Bethanis. Computational studies of the inclusion compound of Cholesterol in beta-cyclodextrin (2017) Proceedings of the Conference of the Hellenic Society for Computational Biology and Bioinformatics (**HSCBB17**), October 11-13, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Greece. (Poster presentation)
4. **Katerina Fourtaka**, Elias Christoforides, Panagiotis Katinakis, Dimitris Mentzafos and Kostas Bethanis. Crystal structures and molecular dynamics simulations of inclusion compounds of lemongrass oil in native and methylated cyclodextrins. Study of their antimicrobial activity (2017) 5th European Conference on Cyclodextrin (**EuroCD2017**), October 3-6, Lisbon, Portugal. (Poster presentation)
5. **Katerina Fourtaka**, Andreas Papaioannou, Elias Christoforides and Kostas Bethanis. Structural analysis of the inclusion compound of GA3 in permethylated-beta cyclodextrin (2016) Proceedings of the Joint Conference of the Hellenic Crystallographic Association and the Hellenic Society for Computational Biology and Bioinformatics (**HeCrA-HSCBB16**), October 7-9, Agricultural University of Athens, Athens, Greece. (Poster presentation)

6. **Katerina Fourtaka**, Elias Christoforides, Andreas Papaioannou and Kostas Bethanis. Crystal structure and Molecular Dynamics studies of inclusion compounds of agrochemicals and natural products in native and methylated beta cyclodextrins (2015) 4th European Cyclodextrin Congress (**EuroCD2015**), October 6–9, Lille, France. (Poster presentation)
7. **Katerina Fourtaka** and Kostas Bethanis. Inclusion compounds of auxins in cyclodextrins.(2014) 8th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment & 14th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides,18-21 September, 2014, Ioannina, Greece. (Poster presentation)
8. **Katerina Fourtaka**, Nikos Chatziperos, Elias Christoforides, Areti Kokkinou and Kostas Bethanis. X-ray Crystal Structure Analysis of the inclusion compounds of Borneol isomers in β -Cyclodextrin (2013) 21st Panhellenic Conference on Chemistry, December 9-12, Thessaloniki, Greece. (Oral presentation)
9. Elias Christoforides, Kostas Bethanis, **KaterinaFourtaka**, Christos Pappas, Frantzeska Tsorteki, Areti Kokkinou, Pavlos Tzamalīs, Giorgos Aivalakis, Aimilia-Eleni Nikolopoulou, Stella Tsagaropoulou and Dimitris Mentzafos. Inclusion Compound of IBA in β -Cyclodextrin. Preparation, Characterization, Crystal Structure Determination and Application in Plant Seeds and Vegetative Material (2012) 6th Hellenic Crystallography Association Meeting (**HeCrA**), September 28-29, Athens, Greece. (Poster presentation)
10. **Katerina Fourtaka**, Valia Boulaki, Elias Christoforides, Areti Kokkinou and Kostas Bethanis. X-ray crystal structure analysis of the inclusion compounds of Geraniol in native and permethylated- β -Cyclodextrin (2011) 2nd European Conference on Cyclodextrins (**EuroCD**), October 2-4, Asti, Italy. (Poster presentation)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικής του Τμήματος Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Κωνσταντίνου Μπεθάνη κατά το χρονικό διάστημα 2013-2018. Το κύριο μέρος αυτής της διατριβής αφορά στη δομική μελέτη με την απαιτητική μέθοδο της κρυσταλλογραφίας ακτίνων-Χ των προϊόντων εγκλεισμού γραμμικών τερπενίων σε κυκλοδεξτρίνες. Η συλλογή - επεξεργασία δεδομένων σκέδασης από μονοκρυστάλλους των εν λόγω προϊόντων εγκλεισμού και η επίλυση των δομών τους πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσικής με τη χρήση του περιθλασίμετρου D8-Venture, που διαθέτει το εργαστήριο. Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Κωνσταντίνο Μπεθάνη για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση αυτής της διδακτορικής διατριβής καθώς και για την ηθική υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της.

Η δεύτερη μεγάλη ενότητα της εργασίας αφορά στον έλεγχο της αντιμικροβιακής δράσης του προϊόντος εγκλεισμού της E-,Z-κιτράλης, σε φυσικές και μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες ενάντια σε βακτηριακές καλλιέργειες του *Escherichia coli*. Ο έλεγχος της αντιμικροβιακής δράσης πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας (Γ.Π.Α.) υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Παναγιώτη Κατινάκη. Εδώ θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παναγιώτη Κατινάκη για την ευκαιρία που μου έδωσε να αξιοποιήσω τα πορίσματα και τις παρατηρήσεις από την δομική μελέτη των συμπλόκων τερπενίων/κυκλοδεξτρινών στην εφαρμοσμένη χρήση τους ως αντιμικροβιακοί παράγοντες.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Εργαστηρίου Γενικής Χημείας (Γ.Π.Α.) Χρήστο Παππά για την πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθειά του στη φασματοσκοπική μελέτη των παραπάνω συμπλόκων σε υδατικό διάλυμα και συνολικά για τις στοχευμένες παρατηρήσεις και διορθώσεις της παρούσας διατριβής.

Θα ήταν μεγάλη παράληψη να μην ευχαριστήσω τον Ομότιμο Καθηγητή Δημήτρη Μεντζαφό για την εισαγωγή στον κόσμο των κυκλοδεξτρινών, η συμβολή του οποίου αποτελεί πάντοτε πηγή έμπνευσης και δημιουργικότητας για όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Φυσικής του Γ.Π.Α.

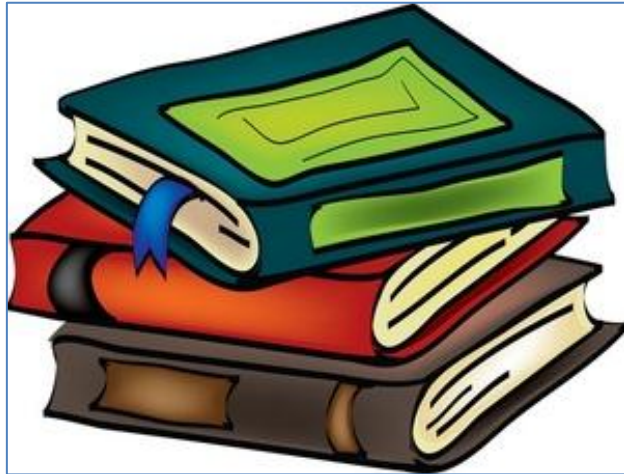
Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα τη Δρ. Αναστασία Βενιεράκη (Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Γ.Π.Α.) για την πολύτιμη βοήθειά της στα μικροβιολογικά πειράματα, τον Υποψήφιο Διδάκτορα Ανδρέα Παπαϊωάννου και τον Μεταδιδακτορικό Ερευνητή Ηλία Χριστοφορίδη (Εργαστήριο Φυσικής, Γ.Π.Α.) τόσο για την άψογη συνεργασία μας κατά την εκτέλεση των πειραμάτων κρυσταλλογραφίας καθώς και την πολύτιμη βοήθεια και συμπαράσταση τους καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής αυτής, καθώς και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Φυσικής για το φιλικό και δημιουργικό περιβάλλον συνεργασίας που μου προσέφεραν.

Το μεγαλύτερο όμως ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένειά μου, στους γονείς και τον αδελφό μου, οι οποίοι με στήριξαν ηθικά και ουσιαστικά σε κάθε προσπάθεια και επιλογή μου.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Ελληνικός όρος	Αγγλικός όρος	Σύντμηση
α -κυκλοδεξτρίνη	<i>a</i> -cyclodextrin	<i>a</i> -CD
β -κυκλοδεξτρίνη	<i>β</i> -cyclodextrin	<i>β</i> -CD
γ -κυκλοδεξτρίνη	<i>γ</i> -cyclodextrin	<i>γ</i> -CD
2-υδροξυπροπυλο- β -κυκλοδεξτρίνη	2-hydroxypropyl- <i>β</i> -cyclodextrin	HP- <i>β</i> -CD
2,6-διμεθυλο- β -κυκλοδεξτρίνη	2,6-Di-O-methyl- <i>β</i> -cyclodextrin	DM- <i>β</i> -CD
2,3,6-τριμεθυλο- β -κυκλοδεξτρίνη	2,3,6-Tri-O-methyl- <i>β</i> -cyclodextrin	TM- <i>β</i> -CD
Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-Ορατού	Ultra Violent-Visible spectroscopy	UV-Vis

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



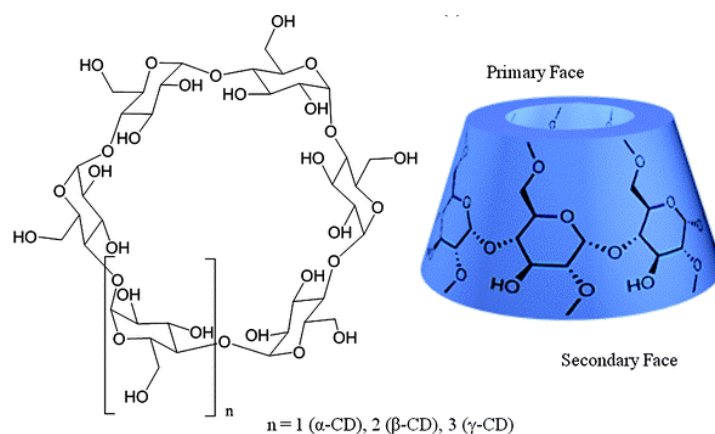
1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

1.1 Φυσικές Κυκλοδεξτρίνες

Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες (native CDs) είναι κυκλικά, υδατοδιαλυτά πολυμερή των οποίων οι δομικές μονάδες είναι οι α -D-γλυκοκυρανόζες, τοποθετημένες σε έναν κυκλικό σχηματισμό (Σχήμα 1). Τα πιο κοινά από αυτά τα φυσικά μόρια είναι η α -, β - και γ - CD, που σχηματίζονται από έξι, επτά και οκτώ μονάδες γλυκοκυρανόζης αντίστοιχα, και σχηματίζουν κοιλότητες διαμέτρου 0.6, 0.8 και 1.0nm. Η ύπαρξη διαφορών στις αναφερόμενες διαμέτρους της κεντρικής κοιλότητας και της περιφέρειάς τους καθιστούν αυτή την ομάδα μορίων σημαντική για την κατανόηση του εγκλεισμού υδρόφοβων μορίων ή υδροφοβικών τμημάτων στις κοιλότητες των κυκλοδεξτρινών.

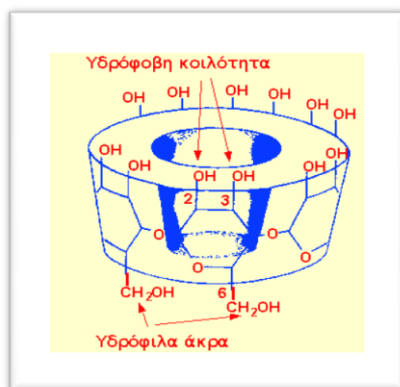
Είναι μη-τοξικά συστατικά, δεν απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα και μεταβολίζονται πλήρως από την μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, οι α -, β - και γ -CDs έχουν λάβει την ένδειξη ασφαλή GRAS (USFDA) για χρήση ως πρόσθετα σε τρόφιμα (Lina and Bär, 2004), (Til and Bär, 1998), (Bellringer et al., 1995)

Σήμερα, παράγονται βιομηχανικά, με μια ετήσια παραγωγή για την β -CD της τάξης των 10.000 τόνων και τρέχουσα τιμή για την β -CD ως συστατικό τροφίμων πολύ λογική (Szente and Fenyvesi, 2018).



Σχήμα 1 από (Zhou and Ritter, 2010): Η χημική και η τρισδιάστατη δομή των φυσικών κυκλοδεξτρινών

Οι CDs έχουν σχήμα κώλου κώνου (Σχήματα 1 και 2), όπου οι δευτεροταγείς υδροξυλομάδες των ατόμων C2 και C3 της γλυκόζης εντοπίζονται στην φαρδιά πλευρά του κώνου (δευτεροταγής πλευρά), ενώ εκείνες των C6 ατόμων είναι τοποθετημένες στην στενή πλευρά του (πρωτοταγής πλευρά). Τα άτομα H1, H2 και H4 των C-H ομάδων, που είναι τοποθετημένα στο εξωτερικό της κοιλότητας του μορίου και οι πολικές υδροξυλομάδες των σακχάρων που είναι διευθετημένες επίσης προς το εξωτερικό του κώνου προσδίδουν στις εξωτερικές επιφάνειες των προσόψεων των CDs υδρόφιλο χαρακτήρα. Αυτή η διασπορά των πολικών ομάδων παρέχει την υδατοδιαλυτότητα σε αυτά τα υλικά. Το εσωτερικό του κώνου προσφέρει ένα περιβάλλον χαμηλότερης πολικότητας από εκείνο του νερού και έτσι μπορεί να θεωρηθεί ως «υδρόφοβη κοιλότητα», που ορίζεται στα δυο άκρα από τους δακτυλίους των C-H ομάδων (H3 και H5) και στη μέση από εκείνον των οξυγόνων-γεφυρών των γλυκοζιτικών μονάδων, «αιθερικά οξυγόνα» (O4 και O5). Τα H6 σχηματίζουν το στενότερο άκρο του κώλου κώνου (Σχήμα 2). Το αποτέλεσμα αυτής της διττής ιδιότητας είναι πως οι CDs μπορούν να σχηματίσουν διαλυτά, αναστρέψιμα προϊόντα εγκλεισμού με ενώσεις χαμηλής υδατοδιαλυτότητας, συμβάλλοντας στην αύξηση της τελευταίας σε αυτές τις ενώσεις.



Σχήμα 2: Οι υδρόφοβες και οι πολικές περιοχές των κυκλοδεξτρινών

1.2 Μεθυλιωμένες Κυκλοδεξτρίνες

Προκειμένου να βελτιωθεί η υδατοδιαλυτότητα των κυκλοδεξτρινών (ιδιαίτερα της β -CD), αλλά και η εκλεκτικότητά τους στον ξενισμό βιοδραστικών ουσιών (φαρμακευτικού κυρίως ενδιαφέροντος), συντίθενται παράγωγα μέσω αλκυλίωσης και υδροξυαλκυλίωσης. Οι υδροξυλομάδες των C2, C3 και C6 είναι τα πιθανά σημεία τροποποίησης. Οι υδροξυλομάδες των C6 είναι οι πιο δραστικές σε σχέση με εκείνες

των C2 και C3 και κατά συνέπεια δημιουργούνται παράγωγα με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες και βελτιωμένη ικανότητα εγκλεισμού υδροφοβικών μορίων (Loftsson and Brewster, 1996; Rasheed et al., 2008).

1.3 Εγκλεισμός και δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού

Τα προϊόντα εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες είναι μια ξεχωριστή μορφή χημικού συμπλόκου καθώς αυτός ο σχηματισμός συμπλόκου δεν εξαρτάται από ιοντικούς ή ομοιοπολικούς δεσμούς αλλά στηρίζεται σε διαμοριακές δυνάμεις και κυρίως σε Van der Waals και δεσμούς υδρογόνου (Del Valle, 2004).

Η στερεοχημεία, και πιθανόν, η πολικότητα τόσο του ξενιστή όσο και του ξενιζόμενου μορίου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επίτευξη ή μη του εγκλεισμού. Πολλές φορές, ο εγκλεισμός στην κοιλότητα των CDs γίνεται έτσι ώστε το ξενιζόμενο μόριο να συγκρατείται εντός της μερικώς, συγκρατώντας στο εσωτερικό της κοιλότητας κάποιες ενεργές θέσεις του και εκθέτοντας ίσως κάποιες άλλες.

Γενικά, όσο μικρότερο είναι το ξενιζόμενο μόριο, τόσο μεγαλύτερος μπορεί να είναι ο βαθμός εγκλεισμού. Ο βαθμός δραστηριότητας για τα μεγαλύτερα ξενιζόμενα μόρια εξαρτάται από την παρουσία μιας κατάλληλης ομάδας, συνήθως υδρόφοβης, ικανής να εισέλθει στον θύλακα της κυκλοδεξτρίνης. Μόνο τα λιπόφιλα τμήματα αυτών των μορίων ενθλακώνονται μες στην λιπόφιλη κοιλότητα της CD και όχι ολόκληρα τα μόρια (Guo et al., 2003).

Για ξενιζόμενα μόρια παρομοίων διαστάσεων, παρατηρείται τα πιο υδρόφοβα μόρια να έχουν τη μεγαλύτερο βαθμό εγκλεισμού στην κοιλότητα των CDs σε υδατικό διάλυμα, αφού η κοιλότητα παρέχει υδρόφοβο μικροπεριβάλλον.

Ο εγκλεισμός από τις CDs συχνά μεταβάλλει προς την σωστή κατεύθυνση τις φυσικοχημικές ιδιότητες των εγκλεισμένων μορίων όπως την υδατοδιαλυτότητα και την σταθερότητα. Είναι επίσης απλούστερη και φθηνότερη από οποιαδήποτε άλλη μέθοδο εγκλεισμού (Wang et al., 2007).

Μια ποικιλία αλληλεπιδράσεων εμφανίζεται κατά την διαδικασία του εγκλεισμού). Συνήθως, οι van der Waals και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις είναι οι κύριες κατευθυντήριες δυνάμεις εγκλεισμού (Driving Forces, (Liu and Guo, 2002)) για την

συμπλοκοποίηση κυκλοδεξτρινών, ενώ οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και οι δεσμοί υδρογόνου επηρεάζουν την διαμόρφωση συγκεκριμένων προϊόντων εγκλεισμού.

Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της σταθεράς σύνδεσης ξενιστή-ξενιζομένου όπως: ποτενσιομετρία, θερμοδομετρίας ισόθερμης τιτλοδότησης (ITC), διαφορική θερμοδομετρία σάρωσης (DSC), Φασματοσκοπία Υπερύθρου (FT-IR), περίθλαση ακτίνων-X (XRD), φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), κυκλικός διχρωσμός (CD), φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis), υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και τα προϊόντα εγκλεισμού είναι συνήθως κατάλληλα για εφαρμογές (Angiolini et al., 2017; Castiglione et al., 2017; Hatziagapiou et al., 2017; Mourtzinou et al., 2008; Novák et al., 2006; Paulidou et al., 2008; Popielec et al., 2018; Saha et al., 2016).

1.4 Εφαρμογές του εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες

Οι κυκλοδεξτρίνες, τις τελευταίες δεκαετίες, βρίσκουν εφαρμογή σε μια πληθώρα προϊόντων, κυρίως τροφίμων (Astray et al., 2009) και φαρμάκων όπως οφθαλμικές σταγόνες, διαλύματα, αλοιφές, χάπια κτλ. (Loftsson and Brewster, 2010)(Sharma and Baldi, 2016)

Οι CDs προσφέρουν πλεονεκτήματα σε πάρα πολλά πεδία εφαρμογών στη βιομηχανία. Αναλυτικότερα προσφέρουν:

- Σταθεροποίηση ευοξειδωτων ουσιών ή ευαίσθητων στο φως ή το οξυγόνο
- Σταθεροποίηση πτητικών ενώσεων (αιθερίων ελαίων κ.ά)
- Κάλυψη δυσάρεστων οσμών ή γεύσεων
- Αύξηση υδατοδιαλυτότητας και βιοδιαθεσιμότητας διαφόρων ουσιών
- Βραδεία απελευθέρωση
- Προστασία των εγκλεισμένων ουσιών από διάσπαση
- Χρήση των συμπλόκων εγκλεισμού στην κατάλυση
- Χρήση τους στη βιομηχανία πολυμερών για τη βελτίωση αντοχής τους (Grégorio et al., 2018; Onyeji, 2018; Tian et al., 2012; Zhou and Ritter, 2010)

Εφαρμογές στην βιομηχανία τροφίμων και ποτών

Ο εγκλεισμός αποτελεί έναν τρόπο προστασίας συστατικών διαφόρων τροφίμων που είναι ευαίσθητα στη θερμοκρασία, την οξείδωση κ.α. Η χρήση CDs σε τρόφιμα και ποτά έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια, καθώς βρίσκουν πολλές εφαρμογές στην επεξεργασία τροφίμων αλλά και ως πρόσθετα τροφίμων. Αιθέρια έλαια και πτητικές ενώσεις (Bethanis et al., 2013; Christoforides et al., 2015; Dhifi et al., 2016; Kfoury et al., 2016, 2018; Marques, 2010) μπορεί να εγκλειστούν σε CDs προκειμένου να βελτιώσουν την υδατοδιαλυτότητα τους, να αποφύγουν την αποδόμηση από οξυγόνο, φως και θερμότητα και την απώλεια κατά την επεξεργασία και αποθήκευση, και να σταθεροποιήσουν αρώματα, γεύσεις και αιθέρια έλαια από ανεπιθύμητες αλλαγές. Οι CDs μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την απόκρυψη δυσάρεστων οσμών ή απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών όπως

πικρών συστατικών που είναι παρόντα σε τρόφιμα και ποτά στη φυσική τους μορφή, ελατώνοντας δυσάρεστες μυρωδιές και γεύσεις. Οι CDs μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν για να επιτευχθεί η ελεγχόμενη απελευθέρωση συγκεκριμένων συστατικών τροφίμων και ποτών. Τα συστατικά των τροφίμων απελευθερώνονται στον κατάλληλο τόπο και χρόνο με τον επιθυμητό ρυθμό με μια μεταβολή στην θερμοκρασία, υγρασία και pH.

Εφαρμογές στη φαρμακοβιομηχανία

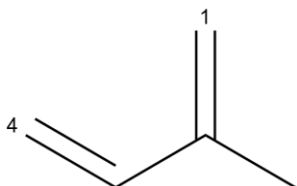
Λόγω της μεγάλης ικανότητας συμπλοκοποίησης και της αμελητέας τοξικότητάς τους, οι CDs χρησιμοποιούνται ευρέως ως μεταφορείς φαρμάκων (Challa et al., 2005; Stella and He, 2008). Επιπροσθέτως, χρήσεις τους εντοπίζονται και στις βιομηχανίες καλλυντικών, αγροχημικών και προστασίας του περιβάλλοντος.

Έτσι, ο χρόνος ζωής των φαρμάκων καθώς και οι οργανοληπτικές του ιδιότητες όπως η ευχάριστη γεύση μπορούν να αυξηθούν. Αυτό μπορεί να παρακινήσει την εισαγωγή και την επανεξέταση ενός πλήθους δραστικών ουσιών που λόγω προβλημάτων σταθερότητας, ασυμβατότητας ή απορρόφησης δεν χρησιμοποιούνται σήμερα. Η αύξηση στην διαλυτότητα, ρυθμό απελευθέρωσης και βιοδιαθεσιμότητα, η τροποποίηση των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων, η τροποποίηση της διάθεσης των φαρμάκων, η επιμήκυνση της απελευθέρωσης των φαρμάκων και η στοχευμένη θεραπεία μπορεί να επιτευχθούν μέσω των κυκλοδεξτρινών (Loftsson and Brewster, 2010).

Επιπρόσθετα, οι CDs δημιουργούν προϊόντα εγκλεισμού με μια μεγάλη ποικιλία αγροχημικών όπως φυτορρυθμιστικές ουσίες, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, εντομοαπωθητικά, μηκυτοκτόνα κ.ά. (Bethanis et al., 2018; Cruickshank et al., 2013a; Donsi et al., 2011; Triantafylloroulou et al., 2011). Ο εγκλεισμός προσφέρει βραδεία αποδέσμευση οπότε μπορούν να χρησιμοποιηθούν μικρότερες ποσότητες των δραστικών ουσιών με μεγαλύτερη διάρκεια δράσης από τη στιγμή της εφαρμογής. Παράλληλα, ουσίες ελάχιστα διαλυτές στο νερό (η πλειονότητα των αγροχημικών), μπορούν να γίνουν πιο ευδιάλυτες, να υπάρξει ομοιογενής κατανομή σε μία μεγάλη επιφάνεια και να μεταφερθεί το μεγαλύτερο τμήμα τους στο εσωτερικό των κυττάρων (Szejtli, 1985a).

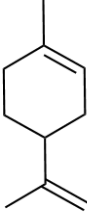
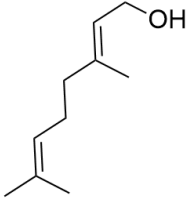
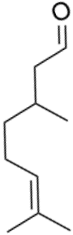
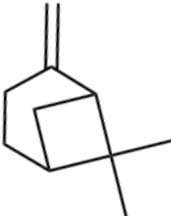

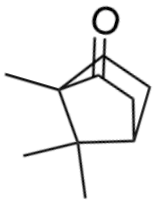
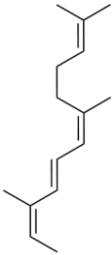
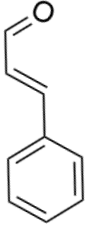
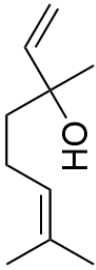
2. ΤΕΡΠΕΝΙΑ

Τα τερπένια είναι η μεγαλύτερη και η πιο σημαντική κατηγορία φυσικών προϊόντων και χρησιμοποιούνται ευρέως στα τρόφιμα, στη φαρμακοβιομηχανία και στην κοσμητική (Lima et al., 2016). Απομονώνονται κυρίως από φυτικούς οργανισμούς (Singh and Sharma, 2015) όπου εμφανίζονται ως μίγματα στα φυτικά αιθέρια έλαια και λειτουργούν ως βιοσυνθετικές δομικές μονάδες σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς. Παρά τη δομική τους ποικιλομορφία, τα τερπένια προκύπτουν από τη σύζευξη κεφαλής-ουράς των δομικών μονάδων ισοπρενίου (C_5H_8) με τη συνένωση να επιτυγχάνεται μεταξύ της κεφαλής (C1) της μια μονάδας ισοπρενίου και την ουρά (C4) της άλλης και έχουν γενικό μοριακό τύπο $(C_5H_8)_n$, όπου n : ο αριθμός των μονάδων ισοπρενίου (Σχήμα 3). Έτσι μπορούν να συντεθούν μακριές ανθρακικές αλυσίδες ή με αναδιάταξη πολυκυκλικά συστήματα. Όταν τα τερπένια υποστούν χημικές τροποποιήσεις, όπως οξείδωση ή αναδιάταξη του ανθρακικού τους σκελετού, οι ενώσεις που προκύπτουν ονομάζονται τερπενοειδή ή ισοπρενοειδή. Κάποια από αυτά περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι μόρια ανοικτής αλυσίδας και άλλα έχουν δακτυλίους.



Σχήμα 3: Συντακτικός τύπος του 2-μεθυλο-1,3-βουταδιενίου (ισοπρένιο)

Τα τερπένια ταξινομούνται με βάση τις μονάδες ισοπρενίου που απαρτίζουν το μόριο. Έτσι έχουμε τα ημιτερπένια (C_5), τα μονοτερπένια (C_{10}), τα σεσκιτερπένια (C_{15}), τα διτερπένια (C_{20}), τα σεστερπένια (C_{25}), τα τριτερπένια (C_{30}), τα τετρατερπένια (C_{40}) και τα πολυτερπένια (πάνω από C_{40}) (Σχήμα 4) (Ashour, Wink, Gershenzon, 2010, Rattan, 2010).

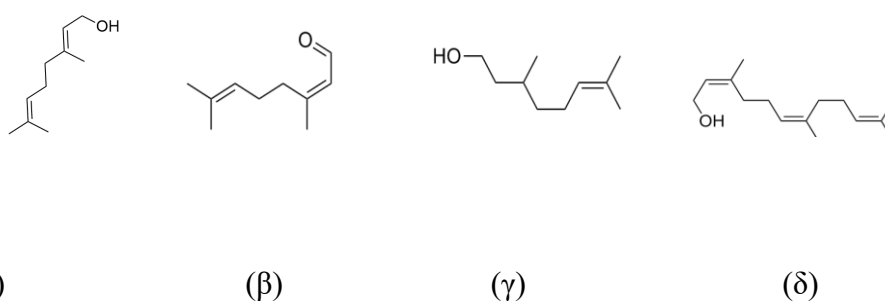
 <p>λεμονένιο</p>	 <p>γερανιόλη</p>	 <p>κιτρονελλάλη</p>
 <p>β-πινένιο</p>	 <p>μυρκένιο</p>	 <p>καμφορά</p>
 <p>α-φαρνεσένιο</p>	 <p>κινναμαλδεΰδη</p>	 <p>λιναλοόλη</p>

Σχήμα 4: Χημικές δομές διαφόρων τερπενίων και τερπενοειδών.

2.1. Γραμμικά τερπένια - Χρήσεις και πλεονεκτήματα εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες

Τα αιθέρια έλαια περιέχουν μια πληθώρα ουσιών μεταξύ των οποίων και αντιοξειδωτικά, φλαβονοειδή, φαινολικά συστατικά και τερπένια όπως η κερκετίνη, λουτεολίνη, καμπεφερόλη, γλυκοζίτες, κατεχόλη, χλωρογενικό οξύ, κιτράλη, κιτρονελλάλη, κιτρονελλόλη, γερανιόλη, φαρνεσόλη κτλ. Λόγω της ισχυρής και ευχάριστης οσμής τους, πολλά χρησιμοποιούνται στην αρωματοθεραπεία, τη σαπωνοποιία, αρωματοποιία και ποτοποιία. Διαθέτουν ισχυρά αντιμικροβιακές, αντιβακτηριακές και αντισηπτικές ιδιότητες, αφού συχνά χρησιμοποιούνται και σαν μυκητοκτόνα. Άλλα χρησιμοποιούνται ως εντομοαπωθητικά και παρασιτοκτόνα, ως αποσμητικά, χαλαρωτικά των μυών αλλά και ως αγχολυτικά. Τέλος, βοηθούν στην καταπολέμηση νευρικών προβλημάτων, μυϊκών πόνων, ρευματισμών, πεπτικών προβλημάτων, δερματικών ερεθισμών και πονοκεφάλων.

Η γερανιόλη, η κιτράλη, η β -κιτρονελλόλη και η φαρνεσόλη είναι μονοτερπένια που εντοπίζονται σε μια πληθώρα αιθερίων ελαίων, όπως εκείνα του λεμονόχορτου, της κιτρονέλλας, του τριαντάφυλλου, της παλμαρόζας κ.ά και χρησιμοποιούνται ως αντιβακτηριακοί και αντι-ϊικοί παράγοντες καθώς και ως συντηρητικά τροφίμων (Adukwu et al., 2016; Carnesecchi et al., 2004; Lapczynski et al., 2008; Tang et al., 2018).



Σχήμα 5: Χημική δομή (α) γερανιόλης, (β) κιτράλης, (γ) β -κιτρονελλόλης, (δ) φαρνεσόλης

γερανιόλη, β-κιτρονελλόλη, κιτράλη και φαρνεσόλη

Το αιθέριο έλαιο της κιτρονέλλας (πλούσιο σε β-κιτρονελλόλη, γερανιόλη και κιτρονελλάλη) χρησιμοποιείται ευρέως ως εντομοαπωθητικός παράγοντας (Specos et al., 2010), (Zamora et al., 2015) και πλέον κατάλληλος για παιδιά (Songkro et al., 2012). Η β-κιτρονελλόλη και η γερανιόλη είναι φυσικά γραμμικά μονο-τερπένια που, εκτός από αντιοξειδωτικά και αντιμικροβιακά, χρησιμοποιούνται και ως φυσικά αντικουνουπικά (Chen and Viljoen, 2010), (Maia and Moore, 2011) (Miro Specos et al., 2010). Εμφανίζουν όμως αυξημένη πτητικότητα, επομένως μικρής διάρκειας προστασία, καθώς και ευαισθησία στην οξείδωση (Bäcktorp et al., 2008). Επιπλέον, πολλά από τα προϊόντα οξείδωσής τους προκαλούν διάφορες αλλεργίες στο δέρμα, δυσχεραίνοντας έτσι την χρήση τους (Huntley, 2010). Μεταξύ άλλων, ένας τρόπος για να προστατεύσουμε τα μόρια αυτά από την εξάτμιση και την οξείδωση, δευκολύνοντας παράλληλα την εφαρμογή τους, είναι η δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού αυτών, με κυκλοδεξτρίνες (Hadian et al., 2018) (Fourtaka et al., 2018). Έχει βρεθεί ότι τα προϊόντα εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης σε κυκλοδεξτρίνες (β-CD) αυξάνουν το χρόνο δράσης της, ελαττώνοντας την εξάτμιση και παράλληλα διασφαλίζουν προστασία από τα κουνούπια για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Songkro et al., 2012).

Η φαρνεσόλη είναι ένα σесκιτερπένιο με πολλαπλές χρήσεις. Εκτός από την εφαρμογή της στην κοσμητική και την αρωματοποιία (Lapczynski et al., 2008), εμφανίζει αναλγητικές και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες καθώς φαίνεται να περιορίζει τον χρόνιο πονοκέφαλο. Η περιορισμένη υδατοδιαλυτότητά του όμως, περιορίζει τη χρήση του (Derengowski et al., 2009). Ένας τρόπος προκειμένου να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα και ο ρυθμός διαλυτοποίησής της είναι μέσω του σχηματισμού προϊόντων εγκλεισμού αυτής σε β-CD (Cabral Silva et al., 2017). Βρέθηκε επίσης ότι η φαρνεσόλη περιορίζει τις ιστολογικές βλάβες και συμβάλλει στη νευροπροστασία, καταστέλλοντας τη γλοίωση του εγκεφάλου που προκαλεί η έκθεση σε ακρυλαμίδιο σε ποντίκια (Santhanasabapathy et al., 2015). Τέλος, χρησιμοποιείται και ως φυσικό παρασιτοκτόνο για ακάρεα και λειτουργεί ως φερομόνη για διάφορα άλλα έντομα.

Το μόριο της κιτράλης είναι υπεύθυνο για το λεμονάτο άρωμα των εσπεριδοειδών, εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση και όπως πολλά άλλα πτητικά τερπένια, εμφανίζει ευαισθησία σε διάφορα είδη ακτινοβολίας. Συγκεκριμένα με επίδραση υπεριώδους

ακτινοβολίας υφίσταται κυκλοποίηση σε «φωτοκιτράλη A» και «φωτοκιτράλη B» (Szente and Szejtli, 1988) γεγονός που επηρεάζει τη γεύση των τροφίμων. Ο εγκλεισμός της E-/Z-κιτράλης όμως σε κυκλοδεξτρίνες αποτρέπει αυτή την κυκλοποίηση όπως βρέθηκε από τους (Szejtli et al., 1979) έπειτα από 6 ώρες έκθεσή της σε υπεριώδη ακτινοβολία. Εκτός από την ευαισθησία ως προς την οξείδωση και τη σταθερότητα, η κιτράλη εμφανίζει περιορισμένη υδατοδιαλυτότητα (Lu et al., 2018). Ένας τρόπος βελτίωσης των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της είναι ο εγκλεισμός της σε κυκλοδεξτρίνες.

Έχει μελετηθεί επίσης και η αντιμικροβιακή δράση της κιτράλης και του προϊόντος εγκλεισμού της, σε β -CD, σε διάφορες συγκεντρώσεις, σε φιλμ χιτοζάνης ενάντια στα βακτηριακά στελέχη *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* και *Listeria monocytogenes*. Βρέθηκε λοιπόν ότι η προσθήκη μικρής ποσότητας του προϊόντος εγκλεισμού της κιτράλης σε β -CD σε φιλμ χιτοζάνης όχι μόνο αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών αλλά προσφέρει και αντοχή στον εφελκυσμό στο φιλμ της χιτοζάνης γεγονός που βοηθά στην εξέλιξη της λειτουργικής συσκευασίας τροφίμων “functional food packaging” (Souza et al., 2014).

Η β -CD φαίνεται να είναι ο καταλληλότερος ξενιστής που μπορεί να ενθλακώσει τα στερεοϊσομερή της κιτράλης κυρίως λόγω μεγέθους του μακρόκυκλου αφού οι κύριες δυνάμεις εγκλεισμού (driving forces) είναι οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις και η κατάλληλη γεωμετρία μεταξύ ξενιστή και ξενιζομένου μορίου.(Ruktanonchai et al., 2011). Έχει μελετηθεί και ο εγκλεισμός της σε β -CD με φασματοσκοπία FT-IR, με DSC καθώς έχουν πραγματοποιηθεί και διαγράμματα διαλυτότητας που αποδεικνύουν την αύξηση της υδατοδιαλυτότητας της κιτράλης παρουσία της β -CD (NurAinA.H, 2011)

Συγκρίνοντας το ρυθμό αποδέσμευσης της κιτράλης από τις φυσικές κυκλοδεξτρίνες (α -CD, β -CD και γ -CD), βρέθηκε πως η ίδια αποδεσμεύεται με πιο αργό ρυθμό από την κοιλότητα της β -CD σε σχέση με τις υπόλοιπες κυκλοδεξτρίνες, λόγω του βαθμού εγκλεισμού, που φαίνεται στην β -CD, να είναι μεγαλύτερος. (Phunpree et al., 2017)

Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών είναι ισχυροί αντιμικροβιακοί παράγοντες. Παρ' όλα αυτά, η πτητικότητα, η χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και η ευαισθησία τους στην οξειδωση περιορίζουν τη χρήση τους (Rakmai et al., 2017). Ωστόσο, η λιπόφιλη φύση τους είναι εκείνη που τους επιτρέπει να συσσωρεύονται στις μεμβράνες των κυττάρων καθιστώντας τους περισσότερο διαπερατές. Το μεγαλύτερο όμως πρόβλημα που δυσκολεύει την εφαρμογή των αιθερίων ελαίων και των συστατικών τους, είναι ότι δεν μπορούν να διαλυτοποιηθούν σε υδατικά μέσα. Συνεπώς, λόγω της περιορισμένης διασποράς τους σε αυτά (πολλά τερπένια σχηματίζουν συσσωματώματα με το άγαρ), είναι απαραίτητο στις εφαρμογές να χρησιμοποιούνται σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή αντιμικροβιακή δράση (Liang et al., 2012).

Ένας τρόπος αντιμετώπισης και βελτίωσης της βιολογικής τους δράσης είναι ο εγκλεισμός τους σε διάφορα μόρια ξενιστές. Οι κυκλοδεξτρίνες, ως συμπλοκοποιητές, φαίνεται να εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα, επομένως βρίσκουν μια πληθώρα εφαρμογών και παράλληλα αυξάνουν δραματικά την υδατοδιαλυτότητα (Samperio et al., 2010). Το πλεονέκτημα της χρήσης τους είναι ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αντιμικροβιακές αναλύσεις αλλά και στο τελικό προϊόν, είτε αυτό είναι γαλάκτωμα είτε πρόσθετο τροφίμων (Sadgrove et al., 2015). Οι CDs δε φαίνεται να έχουν αντιμικροβιακή δράση και δεν επιφέρουν δυσμενή αποτελέσματα στον ανθρώπινο οργανισμό (Bar and Ulitzur, 1994; Szente and Szejtli, 2004).

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες πολλών αιθερίων ελαίων ή και πολλών συστατικών τους έχουν μελετηθεί ενάντια σε αρκετούς μικροοργανισμούς. Συγκεκριμένα ελέγχθηκε η αντιμικροβιακή δράση τεσσάρων συστατικών: της ευγενόλης, καρβακρόλης, λιναλοόλης και 2-πεντανουόλοφουρανίου ενάντια στους μικροοργανισμούς: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* και *Saccharomyces cerevisiae* χρησιμοποιώντας ως γαλακτοματοποιητές α -CD, β -CD και HP- β -CD. Βρέθηκε λοιπόν πως η HP- β -CD είναι καλύτερος γαλακτοματοποιητής διότι παρατηρήθηκε μείωση της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης/ελάχιστης μικροβιοκτόνου συγκέντρωσης (MIC) αλλά και αύξηση της δραστηριότητας σε κάποιες περιπτώσεις (Liang et al., 2012). Επίσης ελέγχθηκε η δράση της trans-κινναμαλδεΐδης και των προϊόντων εγκλεισμού της σε α -CD και β -CD ενάντια στα: *E. coli* και *S. aureus* όπου βρέθηκε ότι τα προϊόντα εγκλεισμού αυτά παρεμποδίζουν σε μεγαλύτερο βαθμό την ανάπτυξη του βακτηρίου *E. coli* σε σχέση με το *S. aureus*

(Chun et al., 2015). Εκτός από καθαρές ουσίες, έχει μελετηθεί και η αντιμικροβιακή δράση πολλών αιθερίων ελαίων χρησιμοποιώντας κυκλοδεξτρίνες ως γαλακτοματοποιητές. Για παράδειγμα διάφορα αιθέρια έλαια του γένους των προστανθινών, πλούσια σε 1,8 κινεόλη, εμφάνισαν αυξημένη αντιμικροβιακή δράση παρουσία α -CD, γεγονός που οφείλεται στο ότι η 1,8 κινεόλη είναι ένα μικρό μόριο και μπορεί να εισέρχεται στην κοιλότητα της α -CD και να ρυθμίζεται έτσι η εξάτμισή της (Sadgrove et al., 2015).

Ένας από τους σκοπούς της παρούσας εργασίας είναι ο έλεγχος της ικανότητας των CDs να αυξήσουν την υδατοδιαλυτότητα της E-/Z-κιτράλης και να αξιολογηθεί ο βαθμός στον οποίο αυτές επηρεάζουν την αντιμικροβιακή δράση της E-/Z-κιτράλης ενάντια στο βακτήριο *E. coli*.

3. ΦΥΤΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΑΥΞΗΣΗΣ

Οι φυτικές ορμόνες είναι οργανικές ουσίες οι οποίες σε μικρές ποσότητες προάγουν, παρεμποδίζουν ή τροποποιούν μερικά ποσοτικά ή ποιοτικά χαρακτηριστικά της αύξησης (Kaur et al., 2018; Sajjad et al., 2017; Small and Degenhardt, 2018). Οι ορμόνες είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των φυτών και έλλειψή τους καθιστά τα φυτά μια ακαθόριστη μάζα μη διαφοροποιημένων κυττάρων. Είναι εκείνες που προσδίδουν σχήμα στο φυτό, επηρεάζοντας την έκπτυξη του σπόρου, το χρόνο της άνθησης, το φύλλο του άνθους, τη μακροβιότητά του, την ωρίμανση των φύλλων και των καρπών, τον τροπισμό διαφόρων ιστών, το σχηματισμό των φύλλων και την αύξηση του βλαστού, ακόμη και τον κυτταρικό θάνατο (Bari and Jones, 2009). Τα φυτά χρειάζονται τις ορμόνες σε πολύ συγκεκριμένες χρονικές στιγμές κατά την διάρκεια της ανάπτυξης και σε συγκεκριμένα σημεία του φυτού, αλλά θα πρέπει και να απαλλάσσονται από τις επιδράσεις τους, όταν πια δεν τις χρειάζονται. Γι' αυτό μετά τη σύνθεση τους, οι ορμόνες, μετακινούνται σε εκείνο το μέρος του φυτού όπου προκαλούν άμεσες δράσεις ή αποθηκεύονται στα κύτταρα ώστε να απελευθερωθούν αργότερα. Οι μηχανισμοί ελέγχου της συγκέντρωσης της ορμόνης στους φυτικούς ιστούς είναι αρκετά πολύπλοκοι και περιλαμβάνουν πολλές διεργασίες. Τα φυτά έχουν την ικανότητα επίσης να χρησιμοποιούν διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια για να ρυθμίσουν εσωτερικά τις ποσότητες των ορμονών και να μετριάσουν τις επιδράσεις τους. Η συγκέντρωση των ορμονών που απαιτείται για να ανταποκριθεί το φυτό είναι πολύ χαμηλή και κυμαίνεται συνήθως από 10^{-6} έως 10^{-5} mol/L (Davies, 2010).

Οι κυριότερες κατηγορίες φυτικών ορμονών είναι οι εξής:

- το αμπισικό οξύ,
- οι αυξίνες,
- οι κυτοκινίνες,
- το αιθυλένιο και
- οι γιββερελίνες (Santner et al., 2009).

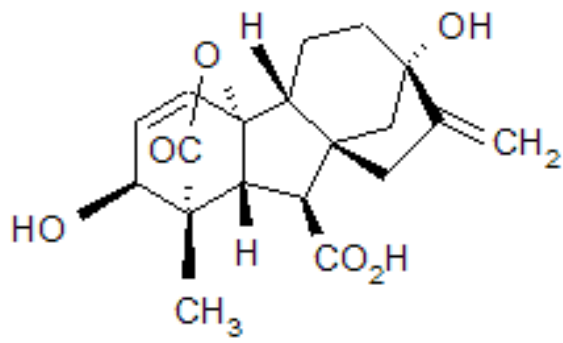
3.1. Γιββερελλικό οξύ (GA₃)

Το γιββερελλικό οξύ (Gibberellic acid ή Gibberellin A₃ ή GA₃ ή GA) ανήκει στην κατηγορία των γιββερελλινών και είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη φυτορρυθμιστική ουσία. Η δράση της συμβάλλει μεταξύ άλλων στην προαγωγή της ανάπτυξης των νεαρών βλαστών από τα μεριστώματα, την ωρίμανση των φύλλων, την άνθηση και τον καθορισμό του φύλου του φυτού. Η μεγαλύτερη, ωστόσο, συνεισφορά του εντοπίζεται στην προαγωγή του σπασίματος του λήθαργου με την επακόλουθη βλάστηση του φυτικού σπέρματος (Davière and Achard, 2013).

Η χαμηλή διαλυτότητά της στο νερό (5 g/L στους 20°C) που περιορίζει τη βιοδιαθεσιμότητά της μπορεί να υπερκερασθεί με την χρήση του βιομορίου της κυκλοδεξτρίνης. Είναι εν γένει αποδεκτό ότι με τον εγκλεισμό κατάλληλων φυτορρυθμιστικών ουσιών σε κυκλοδεξτρίνες επιτυγχάνεται αύξηση της σταθερότητας και της βιοδιαθεσιμότητάς τους, μείωση των φαινομένων παράπλευρης ρύπανσης και αργή και ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους. Τα τελικά προϊόντα (ένωση συναρμογής με αντιστρεπτούς δεσμούς) χαρακτηρίζονται τόσο φιλικά προς το περιβάλλον, όσο και οικονομικότερα, λόγω της μειωμένης ποσότητας αγροχημικού προϊόντος που απαιτείται (Ge et al., 2011; Szejtli, 1985b; Tsorteki et al., 2004).

Ως συνέχεια μιας μελέτης εγκλεισμού διαφόρων φυτορρυθμιστικών ουσιών αύξησης σε κυκλοδεξτρίνες στο εργαστήριό μας, η παρούσα εργασία περιλαμβάνει μεταξύ άλλων, τη δομική μελέτη του προϊόντος εγκλεισμού του GA₃ σε TM-β-CD με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.

Οι Yang et al., 2012 μελέτησαν τον εγκλεισμό του παραγώγου GA-13315 (13 χλωρο 3,15 διοξυ γιββερελλικό οξύ), σε β-CD και HP-β-CD τόσο σε στερεή κατάσταση (XRD, DSC) όσο και σε διάλυμα (UV-Vis και ¹H NMR). Βρέθηκε λοιπόν ότι ο εγκλεισμός αυξάνει την υδατοδιαλυτότητα και βελτιώνει τις φυσικοχημικές ιδιότητες του GA-13315.



Σχήμα 6 : Χημική δομή GA₃

4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ

Η κρυσταλλογραφία είναι μέθοδος προσδιορισμού των σχετικών θέσεων των ατόμων μορίων στο χώρο από κρυστάλλους, που χαρακτηρίζονται από την περιοδική διάταξη των δομικών τους λίθων στις τρεις διαστάσεις. Η κρυσταλλική δομή αποτελείται από μία περιοδικά επαναλαμβανόμενη βασική δομική μονάδα την μοναδιαία κυψελίδα, που επεκτείνεται προς τις τρεις διαστάσεις (McPherson, 2008). Επομένως, μελετώντας την ασύμμετρη μονάδα (μικρότερο δυνατό τμήμα της δομής που δεν επαναλαμβάνεται με καμία πράξη συμμετρίας στον χώρο) της κυψελίδας και προσδιορίζοντας τις θέσεις των ατόμων της, έχουμε μια ολοκληρωμένη εικόνα του κρυστάλλου. Κάθε κρυσταλλογραφική μελέτη περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. κρυστάλλωση,
2. συλλογή και επεξεργασία δεδομένων περίθλασης,
3. καθορισμός της υπό εξέταση δομής.

4.1. Κρυστάλλωση - Μέθοδοι κρυστάλλωσης

Καλής ποιότητας κρυσταλλογραφικά δεδομένα προϋποθέτουν έναν καλής ποιότητας για περίθλαση κρύσταλλο. Αυτό επιτυγχάνεται εκτός των άλλων με τη χρήση της κατάλληλης μεθόδου κρυστάλλωσης. Απαραίτητη προϋπόθεση στο σχηματισμό κρυστάλλων είναι η δημιουργία υπέρκορου διαλύματος. Η διαδικασία αυτή της κρυστάλλωσης μπορεί να χωριστεί σε 3 στάδια: την πυρήνωση όπου μόρια ή ιόντα σχηματίζουν σταθερά συσσωματώματα (πυρήνες), την αύξηση όπου γίνεται η ανάπτυξη του κρυστάλλου στις τρεις διαστάσεις και τη λήξη όπου σταματά η κρυστάλλωση (Qiwei and Shouquan, 1990). Ένα πρόγραμμα κρυστάλλωσης μπορεί να διαρκέσει από μερικές ώρες έως αρκετές ημέρες. Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες μέθοδοι κρυστάλλωσης είναι: η εξάτμιση (evaporation), η διάχυση ατμών (vapor diffusion) και η αργή ψύξη (slow cooling).

Κρυστάλλωση με εξάτμιση

Η εξάτμιση του διαλύτη χρησιμοποιείται συνήθως για την κρυστάλλωση ανόργανων μορίων. Ο ρυθμός εξάτμισης προσαρμόζεται έτσι ώστε να δημιουργούνται κρύσταλλοι εντός μερικών ημερών. Στην περίπτωση που ένας διαλύτης δεν αποδώσει ποιοτικούς κρυστάλλους, χρησιμοποιείται σύστημα διαλυτών.

Κρυστάλλωση με διάχυση ατμών

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως σε κρυστάλλωση πρωτεϊνών όπου επιτυγχάνεται έλεγχος της εξάτμισης από ένα διάλυμα άλατος μεγαλύτερης συγκέντρωσης που αποτελεί τον κατακρημνιστή. Έτσι ένα διάλυμα πρωτεΐνης με συγκέντρωση άλατος μικρότερη από αυτή που απαιτείται για κατακρήμιση εξισορροπείται με διάχυση ατμών από ένα μεγαλύτερο και καλά κλεισμένο δοχείο. Ο διαλύτης (συνήθως το νερό), μεταφέρεται σταδιακά από το πρωτεϊνικό διάλυμα στο διάλυμα άλατος έως ότου επέλθει ισορροπία και οι κρύσταλλοι σχηματίζονται καθώς το πρωτεϊνικό διάλυμα αποκτά μεγαλύτερη συγκέντρωση. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος διάχυσης των ατμών είναι αυτή της καθιστής (sitting drop) ή της κρεμάμενης σταγόνας (hanging drop).

Κρυστάλλωση με ελεγχόμενη μεταβολή της θερμοκρασίας (αργή ψύξη ή θέρμανση)

Επιτυγχάνεται με τη δημιουργία κορεσμένου διαλύματος στο οποίο η θερμοκρασία είτε μειώνεται ή αυξάνεται αργά ώστε να σχηματισθούν κρύσταλλοι. Ο ρυθμός μεταβολής της θερμοκρασίας θα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά έτσι ώστε να δημιουργηθούν καλής ποιότητας και όσο το δυνατόν μεγαλύτεροι μονο-κρύσταλλοι. Στην περίπτωση που η θερμοκρασία μεταβάλλεται με γρήγορο ρυθμό, σχηματίζονται μικρο-κρύσταλλοι. Το σύστημα συνήθως τοποθετείται σε υδατόλουτρο για καλύτερη μόνωση και ελεγχόμενη μεταβολή της θερμοκρασίας με αργό ρυθμό.

4.2. Συλλογή και επεξεργασία δεδομένων περίθλασης

4.2.1. Ακτίνες X - Νόμος Bragg-Δείκτες Miller

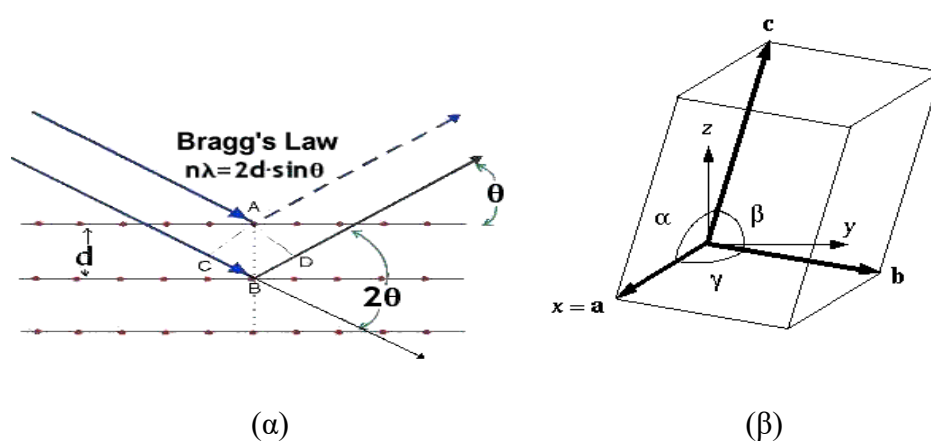
Η ακτινοβολία X έχει υψηλότερη ενέργεια από τις ακτινοβολίες του ορατού φάσματος (400-700nm), ιδιότητα που την κάνει διεισδυτική σε υλικά σώματα αναλόγως της πυκνότητάς τους.

Όταν ακτινοβολία X προσπέσει σε ένα άτομο, μόριο ή ιόν, υφίσταται σκέδαση και επανεκπέμπεται σαν σφαιρικό κύμα. Η σκέδαση αυτή οφείλεται στην αλληλεπίδραση των ακτίνων-X με τα δεσμευμένα ηλεκτρόνια στα άτομα, μόρια ή ιόντα. Η μελέτη του φαινομένου περίθλασης ακτίνων-X από μονοκρυστάλλους στηρίζεται, αρχικά, στην παρατηρούμενη συμβολή των σκεδαζόμενων κυμάτων από τα δεσμευμένα ηλεκτρόνια. Τα ελαστικά σκεδαζόμενα κύματα συμβάλλουν το ένα με το άλλο είτε επάνω στη ίδια φάση, είτε σε διαφορετική φάση είτε ακόμη και σε ενδιάμεση. Αυτό εξαρτάται από την κατεύθυνση των εισερχόμενων και εξερχόμενων κυμάτων και τις σχετικές θέσεις των ηλεκτρονίων μεταξύ τους. Εάν η διαφορά στην πορεία προκύπτει από ηλεκτρόνια που απέχουν κατά ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος, τα κύματα σκεδαζούν στη ίδια φάση και τα πλάτη τους θα προστεθούν. Αντίθετα, αν απέχουν ημιακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος θα συμβάλλουν ακριβώς σε αντίθετη φάση και θα αλληλοεξουδετερωθούν. Οι συνθήκες για να επιτευχθεί σκέδαση στη ίδια φάση μπορούν να συνοψιστούν αρκετά ικανοποιητικά εάν φανταστούμε τα κύματα να ανακλώνται σε επίπεδα που περνούν από τα άτομα. Όσα περισσότερα είναι τα παράλληλα επίπεδα μιας τέτοιας οικογένειας, τόσο πιο μεγάλη είναι η ένταση της περιθλώμενης δέσμης. Η ύπαρξη, δηλαδή, του δικτύου των επαναλαμβανόμενων κυψελίδων, κατά μήκος των τριών διαστάσεων, λειτουργεί ενισχυτικά για την προκύπτουσα ανάκλαση.

Η σχέση μεταξύ της γωνίας σκέδασης και του διαστήματος των δυο επιπέδων δίνεται από τον νόμο Bragg (Εξίσωση 1). Αν d είναι η απόσταση μεταξύ των επιπέδων μιας τέτοιας οικογένειας θα έχουμε ενισχυτική συμβολή των ανακλώμενων ακτίνων σε γωνίες θ , όταν η διαφορά δρόμου που ακολουθούν $2d\sin\theta$, είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας λ . Επομένως,

$$2d\sin\theta = n \lambda \quad (n=1,2,3,\dots) \quad (\text{Εξίσωση 1})$$

Περίθλαση υπάρχει όταν επαληθεύεται ο νόμος Bragg. Ο νόμος αυτός είναι θεμελιώδης στην κρυσταλλογραφία, επειδή η περιοδική διάταξη στο χώρο των κυψελίδων συνεπάγεται πως όμοια άτομα θα βρίσκονται στα ίδια επίπεδα. Άρα, παρατηρείται μια συμπεριφορά σκέδασης των ακτίνων-X από τα ηλεκτρόνια όμοιων ατόμων που σχηματίζουν ένα ατομικό επίπεδο. Επομένως, εάν γνωρίζουμε το μήκος κύματος των ακτίνων-X που εισέρχονται στον κρύσταλλο και μπορούμε να μετρήσουμε τη γωνία θ που σχηματίζουν οι προσπίπτουσες και οι εξερχόμενες του κρυστάλλου ακτίνες, τότε μπορούμε να υπολογίσουμε την απόσταση μεταξύ των ατομικών επιπέδων d (Σχήμα 7.α).



Σχήμα 7: (α). Σχηματική απεικόνιση του νόμου Bragg, (β). Ως διαστάσεις μιας μοναδιαίας κυψελίδας (unit cell), θεωρούνται οι τιμές των ακμών a , b , c και γωνιών α , β , γ .

Ο νόμος Bragg επιτρέπει να προσδιορίσουμε το διάστημα μεταξύ των επιπέδων γνωρίζοντας το μήκος κύματος της δέσμης των ακτίνων-X και τη γωνία πρόσπτωσής τους.

Ένας μονοκρυστάλλος χαρακτηρίζεται από την περιοδική επανάληψη στις 3 διαστάσεις μιας μοναδιαίας κυψελίδας (unit cell), που χαρακτηρίζεται από τις τιμές των ακμών a , b , c και γωνιών α , β , γ (σχήμα 7). Λόγω της μετάθεσης της μοναδιαίας κυψελίδας και στις 3 διαστάσεις, ο κρύσταλλος αποτελείται θεωρητικά από άπειρες οικογένειες παράλληλων επιπέδων, που καθορίζονται από ίδιες οικογένειες ατόμων. Τα παράλληλα επίπεδα της κάθε οικογένειας θα απέχουν μεταξύ τους την ίδια απόσταση d_{hkl} . Τα h , k και l είναι ακέραιοι αριθμοί, αποτελούν τους δείκτες Miller

και καθορίζουν τη θέση των ατομικών επιπέδων στο σύστημα συντεταγμένων του πραγματικού χώρου (Ευθύς χώρος, Direct space). Οι δείκτες αυτοί καθορίζουν τα επίπεδα Bragg που «κόβουν» την μοναδιαία κυψελίδα στις τρεις διαστάσεις της h , k και l φορές αντίστοιχα.

4.2.2 Συλλογή δεδομένων περίθλασης από μονοκρύσταλλο - Παράγοντας δομής

Ένας επιλεγμένος μονοκρύσταλλος τοποθετείται σε διαδρομή μονοχρωματικής ακτινοβολίας- X από την περίθλαση της οποίας προκύπτει πλήθος δευτερευουσών δεσμών. Οι δέσμες αυτές μπορούμε να θεωρήσουμε, σύμφωνα με τον νόμο Bragg ότι προέρχονται από ανάκλαση της αρχικής δέσμης στα επίπεδα hkl του κρυστάλλου. Ο κρύσταλλος πρέπει να έχει κατάλληλο όγκο, ώστε κατά τη συλλογή των δεδομένων να βρίσκεται μονίμως υπό δέσμη σταθερής έντασης. Κι αυτό γιατί κατά την περιστροφή του να μην υπάρχει σημείο που να δέχεται μειωμένη ένταση εξερχόμενο από τη δέσμη. Η συλλογή των δεδομένων από την έκθεση του κρυστάλλου στις ακτίνες- X γίνεται με χρήση ανιχνευτή, ο οποίος συλλέγει τις εντάσεις των ανακλάσεων. Ο αριθμός των ανακλάσεων που μπορούμε να συλλέξουμε εξαρτάται από την ένταση της προσπίπτουσας δέσμης, την ποιότητα του κρυστάλλου και το σύστημα συλλογής των δεδομένων. Με τη λήξη της συλλογής δεδομένων το σύνολο των ανακλάσεων υποβάλλεται σε επεξεργασία(δεικτοδότηση και ολοκλήρωση) με την οποία προσδιορίζεται η ομάδα χώρου και εφαρμόζονται διορθώσεις απορροφήσεως.

Ο ανιχνευτής (detector) καταγράφει τις ανακλάσεις και μας δίνει φωτογραφίες από τις οποίες μπορούμε να προσδιορίσουμε την θέση και ένταση I των ανακλάσεων. Αναλύοντας αυτές τις πληροφορίες μπορούμε να προσδιορίσουμε τη δομή των μορίων στον κρύσταλλο. Οι ανακλάσεις βρίσκονται πάνω σε ένα φανταστικό κρυσταλλικό πλέγμα που αποτελεί το αντίστροφο πλέγμα (reciprocal lattice) που περιγράφεται με ένα σύστημα αξόνων με μοναδιαία διανύσματα a^* , b^* και c^* . Κάθε ανάκλαση χαρακτηρίζεται από τις συντεταγμένες της h, k, l σε αυτό το σύστημα αξόνων (όπου h, k, l είναι ακέραιοι αριθμοί).

Γενικά, για την περίθλαση της ακτινοβολίας από κρύσταλλο ορίζεται η συνάρτηση $F_M(H)$, που αντιστοιχεί στο περιθλώμενο κύμα, συνολικά από το περιεχόμενο της μοναδιαίας κυψελίδας και ονομάζεται παράγοντας δομής με διανυσματικό δείκτη H (ή δεικτών h, k, l) και δίνεται από τη σχέση:

$$F_H = \sum_{j=1}^N f_j \exp(2\pi i H \cdot r_j), \text{ (Εξίσωση 2)}$$

Όπου N είναι ο αριθμός των ατόμων στη μοναδιαία κυψελίδα ενώ με H σημειώνεται το διάνυσμα του αντίστροφου χώρου $H=ha^* + kb^* + lc^*$.

Ο παράγοντας δομής μπορεί να παραχθεί και με τη μορφή:

$F_H = |F_H| \exp(i\phi_H)$, με ϕ_H να απεικονίζει τη φάση του παράγοντα δομής F_H . Η τιμή του F_H , δηλαδή το μέτρο και η φάση του, εξαρτάται από τις θέσεις των ατόμων, επομένως από την κρυσταλλική δομή. Αντιστρόφως, όπως φαίνεται από την Εξίσωση 2, οι παράγοντες δομής αποτελούν τους συντελεστές Fourier της συνάρτησης ηλεκτρονικής πυκνότητας. Επομένως, εάν είναι γνωστές οι τιμές (μέτρα και φάσεις) των παραγόντων δομής, η ηλεκτρονική πυκνότητα της μοναδιαίας κυψελίδας ορίζεται με μοναδικό τρόπο.

$$\rho(r) = \frac{1}{V} \sum_{h,k,l=-\infty}^{+\infty} F_H \exp[-2\pi i(hx + ky + lz)]$$

Δεν είναι δυνατόν να λύσουμε την εξίσωση βάσει μόνο των δεδομένων που προκύπτουν από την περίθλαση των ακτίνων-X. Οι εντάσεις της περιθλώμενης ακτινοβολίας μπορούν να δώσουν πληροφορία μόνο για τα μέτρα $|F_H|$ ενώ καμία πληροφορία δεν έχουμε για τις αντίστοιχες φάσεις. Αυτό στοιχειοθετεί και το γνωστό πρόβλημα των φάσεων στην Κρυσταλλογραφία: με ποιο τρόπο δηλαδή, θα αναγνωρίσουμε τις θέσεις των ατόμων ξεκινώντας μόνο από τα μέτρα $|F_H|$. Αυτή τη στιγμή, γενική λύση δεν υπάρχει για το πρόβλημα των φάσεων, υπάρχουν όμως διάφορες μέθοδοι που εφαρμόζονται σε ορισμένες περιπτώσεις με επιτυχία.

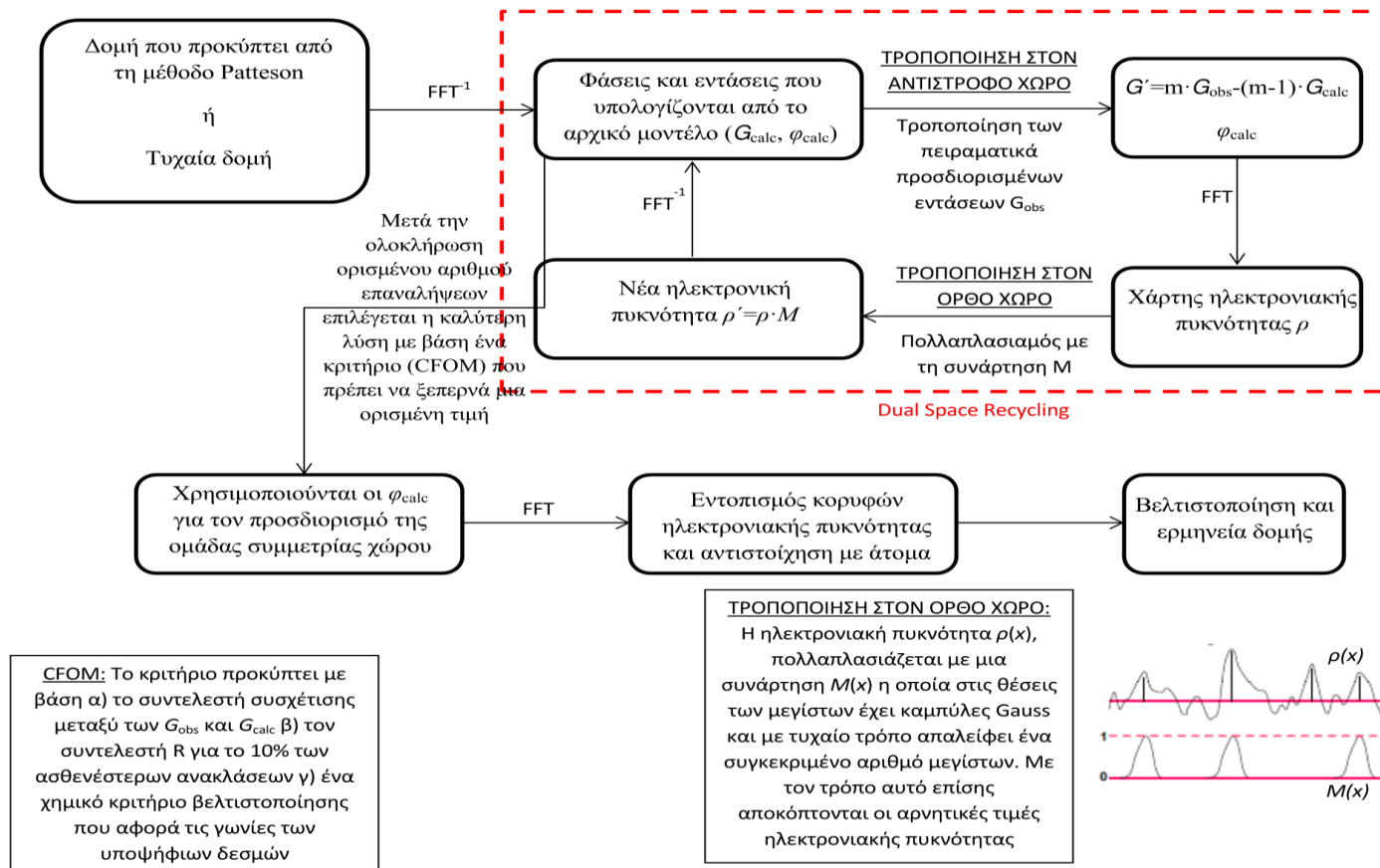
4.2.3. Άμεσες μέθοδοι επίλυσης δομής

Με τον όρο άμεσες μέθοδοι ορίζονται οι μέθοδοι εκείνες που προσπαθούν να υπολογίσουν άμεσα τις φάσεις των παραγόντων δομής από τις παρατηρούμενες εντάσεις, και συνεπώς από τα μέτρα των παραγόντων δομής, χρησιμοποιώντας καθαρά μαθηματικές τεχνικές. Η φάση και το εύρος ενός κύματος είναι, εν γένει, ανεξάρτητα μεγέθη. Στην περίπτωση όμως της περίθλασης των ακτίνων-Χ από ένα κρύσταλλο, επιτυγχάνεται η σύνδεση των δύο αυτών τιμών, χρησιμοποιώντας δύο βασικές ιδιότητες της συνάρτησης της ηλεκτρονικής πυκνότητας $\rho(r)$:

1) Η ηλεκτρονική πυκνότητα είναι παντού θετική δηλ. $\rho(r) \geq 0$

2) Περιγράφεται προσεγγιστικά από διακριτά άτομα (ατομικότητα).

Το πρόγραμμα SHELXT πραγματοποιεί επίλυση στο διττό χώρο (Ορθό-Αντίστροφο) και σε ομάδα χώρου $P1$. Πιο αναλυτικά, ξεκινώντας από τυχαίες φάσεις ή από εκείνες που προκύπτουν από μέθοδο Patterson, υπολογίζει με έναν αντίστροφο μετασχηματισμό Fourier (FFT^{-1}) εντάσεις και οι φάσεις του αρχικού μοντέλου. Στη συνέχεια γίνεται τροποποίηση των πειραματικά προσδιορισμένων εντάσεων (G_{obs}) στον αντίστροφο χώρο και χρησιμοποιώντας ξανά μετασχηματισμό Fourier (FFT), υπολογίζεται ο χάρτης ηλεκτρονιακής πυκνότητας (ρ). Στη συνέχεια γίνεται τροποποίηση πολλαπλασιάζοντας την πυκνότητα με μια συνάρτηση $M(x)$ προκειμένου να αποκοπούν οι αρνητικές τιμές ηλεκτρονιακής πυκνότητας (βλ. σχήμα 8) στον ορθό χώρο και προκύπτει μια νέα ηλεκτρονική πυκνότητα (ρ'). Μετά την ολοκλήρωση ορισμένου αριθμού επαναλήψεων, επιλέγεται η καλύτερη λύση, βρίσκεται η ακριβής ομάδα χώρου, γίνεται εντοπισμός των κορυφών ηλεκτρονιακής πυκνότητας και αντιστοίχισή της στα άτομα. Τέλος πραγματοποιείται ερμηνεία του χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας και βελτιστοποίηση του μοντέλου.



Σχήμα 8: Διάγραμμα ροής επίλυσης δομής με τη μέθοδο Patterson ή Τυχαίας δομής

4.3. Βελτιστοποίηση δομής

Βελτιστοποίηση ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία οι τιμές των παραμέτρων βελτιστοποιούνται με μαθηματικές μεθόδους στατιστικής προσαρμογής [Ελάχιστα Τετράγωνα (Least Squares, L.S)], ώστε το τελικό μοντέλο να συμφωνεί όσο το δυνατό καλύτερα με τα πειραματικά δεδομένα.

Ένα σημαντικό κριτήριο αξιολόγησης της πορείας βελτιστοποίησης είναι οι τιμές των δεικτών αξιοπιστίας της δομής. Ο παράγοντας αξιοπιστίας R (R_{crist} ή R_1) αποκαλύπτει την συμφωνία μεταξύ των πειραματικών τιμών όλων των παραγόντων δομής $|F_o|$ και των αντίστοιχων υπολογιζόμενων $|F_c|$ και δίνεται από τη σχέση:

$$R_1 = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$$

Όσον αφορά δομές μικρού-μεσαίου μεγέθους, συνήθως ελέγχεται και ένας δείκτης αξιοπιστίας με στατιστικό βάρος (w), που δίνεται από τη σχέση:

$$w_R = \frac{\sum (F_o^2 - F_c^2)}{\sum w F_o^2}$$

Κατά την διαδικασία της βελτιστοποίησης πρέπει επίσης να ελέγχονται εκτός από τη συμφωνία πειραματικών και υπολογισθέντων δεδομένων, οι παράμετροι και οι περιορισμοί-εξαναγκασμοί (restraints-costraints). Παράμετροι ενός μοντέλου θεωρούνται:

- Ανεξάρτητες συντεταγμένες x,y,z (κλασματικές ή πραγματικές)
- Θερμικοί παράγοντες (ισοτροπικοί ή ανισοτροπικοί)
- Αριθμός κατάληψης

Στα σύμπλοκα κυκλοδεξτρινών, τα μικρά ξενιζόμενα μόρια, που εντοπίζονται στην κοιλότητα των CDs είναι σχεδόν πάντα αποδιατεταγμένα.

Σε κάθε βήμα της βελτιστοποίησης πρέπει να ελέγχονται και να εφαρμόζονται περιορισμοί, που θεωρούνται ως επιπρόσθετες παρατηρήσεις (βάσει γεωμετρίας). Οι περιορισμοί αφορούν:

- Μήκη των δεσμών και γωνίες μεταξύ των δεσμών

- Χειρομορφία
- Δεσμοί Van der Waals, π-π αλληλεπιδράσεις, υδρογονικοί δεσμοί
- Η μοριακή διάταξη στον χώρο

Κάθε περιορισμός χρειάζεται να εφαρμόζεται κατάλληλα, και οι γεωμετρικοί φέρουν επίσης ένα συνολικό στατιστικό βάρος (weight) στον υπολογισμό των πειραματικών δεδομένων. Σημαντικής σημασίας είναι η επιλογή μοντέλου παραμετροποίησης. Όπως αναφέρθηκε, το μοντέλου του μορίου που μελετάμε μπορεί να υποστεί παραμετροποίηση με διάφορους τρόπους. Αυτή εξαρτάται κυρίως από την αναλογία δεδομένων/παραμέτρων.

Στο σημείο αυτό θα αναφερθούμε πιο αναλυτικά στην μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων:

Κάθε άτομο χαρακτηρίζεται από τις παραμέτρους θέσης (x,y,z) και τον ιστροπικό θερμικό συντελεστή U ή τους ανιστροπικούς $U_{i,j}$. Στη βελτιστοποίηση με ιστροπικό συντελεστή σε κάθε άτομο αντιστοιχούν τέσσερις μεταβλητές x,y,z,U και το σύνολο των μεταβλητών είναι $M=4N+1$ για κρύσταλλο με N άτομα στην ασύμμετρη μονάδα. Σε βελτιστοποίηση με ανιστροπικούς θερμικούς συντελεστές, οι μεταβλητές για κάθε άτομο γίνονται εννιά και το σύνολο των μεταβλητών στην ασύμμετρη μονάδα $M=9N+1$. Οι τιμές του M καθορίζονται από τον αριθμό των ανεξάρτητων ανακλάσεων, που παρατηρήθηκαν στο πείραμα. Σε περιπτώσεις κρυσταλλογραφικών πειραμάτων, δομών μικρού-μεσαίου μεγέθους, που φτάνουν σε ατομική διακριτότητα, ο λόγος πλήθους ανεξάρτητων ανακλάσεων προς το πλήθος των χρησιμοποιούμενων μεταβλητών βελτιστοποίησης δεν πρέπει να είναι μικρότερος του επτά. Σκοπός της χρήσης της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων είναι η βελτιστοποίηση της δομής μέσω ελαχιστοποίησης του Q:

$$Q = \sum w \left(|F_o| - \frac{1}{K} |F_c| \right)^2$$

όπου : w το στατιστικό βάρος που βρίσκεται σε αντίστροφη σχέση με το σφάλμα $\sigma(F_o)$, $|F_o|$ οι πειραματικές τιμές και $|F_c|$ οι υπολογιζόμενες και K ο παράγοντας κλίμακας (scale factor).

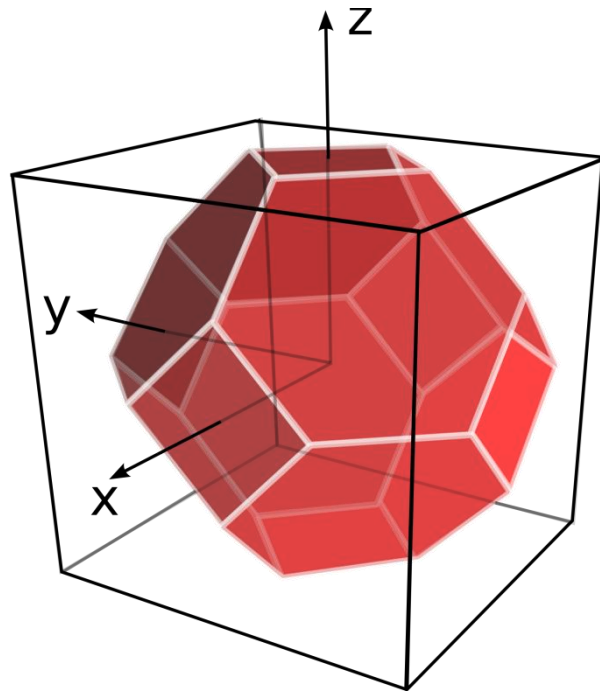
4.4. Αξιολόγηση και κατάθεση δομής

Σε κάθε βήμα γίνεται αποτίμηση της ποιότητας του μοντέλου. Το μοντέλο εκτός από το ότι θα πρέπει να ικανοποιεί τους δείκτες αξιοπιστίας, θα πρέπει να είναι χημικά (γεωμετρία μορίου, μήκη δεσμών, κα), βιολογικά (διατήρηση ενεργότητας, δράσης, χειρομορφίας, κα) και στατιστικά (σωστός αριθμός κατάληψης μέσα στην κυψελίδα, κα) ορθό. Η βελτιστοποίηση της κρυσταλλικής δομής θεωρείται ότι έχει τελειώσει εάν ικανοποιούνται οι εξής όροι:

1. Έχουν βρεθεί όλα τα άτομα της ασύμμετρης μονάδας. Θεωρείται ότι δεν υπάρχει άτομο που να μην έχει εντοπισθεί όταν τα μέγιστα της ηλεκτρονιακής πυκνότητας που εντοπίζεται είναι μικρότερα του $0.7 \text{ e}/\text{\AA}^3$.
2. Ο λόγος της μέγιστης μετατόπισης (με εφαρμογή ελαχίστων τετραγώνων) προς το μέγιστο σφάλμα είναι σημαντικά μικρότερος της μονάδας.
3. Ο συντελεστής αξιοπιστίας R έχει τη μικρότερη δυνατή τιμή. Αποδεκτή τιμή για υπερμοριακά σύμπλοκα (π.χ. σύμπλοκα κυκλοδεξτρινών) είναι μία κοντά στο 0.1 για τον R και 0.3 για τον wR .

Ο τελικός έλεγχος της ορθότητας της κρυσταλλικής δομής μπορεί να πραγματοποιηθεί με πλήθος υπολογιστικών προγραμμάτων. Για σχετικά μικρά μόρια χρησιμοποιείται το Checkcif/PLATON (Spek, 2009). Το τελικό στάδιο περιλαμβάνει την κατάθεση (deposit) των ατομικών συντεταγμένων και των παραγόντων δομής σε σχετικές βάσεις δεδομένων όπως η Cambridge Structural Database (CSD) (Groom et al., 2016).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



5. ANTIΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Οι διαλύτες (κυρίως αιθανόλη) χρησιμοποιήθηκαν όπως παραλήφθηκαν από την εταιρεία Applichem σε βαθμό καθαρότητας «χημικώς καθαρά» χωρίς επιπλέον καθαρισμό. Οι φυσικές α -, β -CDs καθώς και τα μεθυλιωμένα παράγωγά τους DM- β -CD και TM- β -CD χρησιμοποιήθηκαν όπως παραλήφθηκαν από τις εταιρείες Sigma, Cyclolab και Applichem. Η γερανιόλη (καθαρότητας 98%, $d=0.879\text{g/mL}$), E-/Z-κιτράλη (95%, $d=0.888\text{g/mL}$), η (\pm)- β -κιτρονελλόλη (95%, $d=0.857\text{g/mL}$), η φαρνεσόλη (95%, $d=0.886\text{g/mL}$) και το γιββερελλικό οξύ (90%) χρησιμοποιήθηκαν επίσης όπως παραλήφθηκαν από την εταιρεία Sigma.

Για τον έλεγχο της αντιμικροβιακής δράσης χρησιμοποιήθηκαν άγαρ, χλωριούχο Νάτριο και Τρυπτόνη όπως παραλήφθηκαν από την εταιρεία Fluka προκειμένου να παρασκευασθεί το θρεπτικό υλικό.

Παρασκευή θρεπτικού υλικού

Παρασκευάστηκε τεχνητό υγρό θρεπτικό υπόστρωμα LB ως εξής: σε 1L απιονισμένο νερό διαλυτοποιήθηκαν 10g τρυπτόνης, 10g χλωριούχου νατρίου και 5g εκχυλίσματος ζύμης (yeast extract). Στη συνέχεια προστέθηκε στο παραπάνω μίγμα, άγαρ 1.5%, και οι κωνικές φιάλες τοποθετήθηκαν στους 120°C για 20min προκειμένου να γίνει αποστείρωση του στερεού θρεπτικού υποστρώματος. Στην περίπτωση παρασκευής υγρού θρεπτικού υποστρώματος χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες αναλογίες τρυπτόνης, χλωριούχου νατρίου και εκχυλίσματος ζύμης χωρίς να προστεθεί άγαρ.

6. ΟΡΓΑΝΑ

Το όργανο μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή δεδομένων με ακτίνες-X ήταν το Εργαστηριακό περιθλασίμετρο D8-Venture της εταιρείας Bruker.

Σε ένα τέτοιο όργανο, η ακτινοβολία-X παράγεται από ακίνητη άνοδο χαλκού με τον εξής τρόπο: Αρχικά, ηλεκτρόνια παραγόμενα από θερμαινόμενη κάθοδο, επιταχύνονται σε υψηλή τάση και υπό κενό (sealtubes) και προσπίπτουν στην άνοδο με μεγάλη ταχύτητα. Έτσι, υπόκεινται σε απότομη μεταβολή την κινητικής τους κατάστασης. Η ταχεία μεταβολή της κινητικής κατάστασης των ηλεκτρονίων παράγει φωτόνια. Η είσοδος ταχέων ηλεκτρονίων στο θετικά φορτισμένο μεταλλικό πλέγμα της ανόδου, έχει ως αποτέλεσμα τη σύγκρουσή τους με τα ηλεκτρόνια των εξωτερικών στιβάδων των ατόμων (*Cu* ή *Mo*) του μεταλλικού πλέγματος, τα οποία εκτοπίζονται από τις εξωτερικές στιβάδες και μεταπίπτουν σε χαμηλότερες ενεργειακά στιβάδες. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε παραγωγή ακτινοβολίας-X. Ένα τυπικό περιθλασίμετρο αποτελείται από μια πηγή ακτινοβολίας, ένα μονοχρωμάτορα για επιλογή κατάλληλου μήκους κύματος, σχισμές που καθορίζουν το σχήμα της ακτίνας, μια γωνιομετρική κεφαλή (για ρύθμιση προσανατολισμού του δείγματος και των θέσεων του ανιχνευτή). Όταν χρησιμοποιείται ανιχνευτής θέσης για την παρατήρηση της περιθλώμενης ακτινοβολίας, συνήθως είναι απαραίτητη και η χρήση μιας παγίδας (beamstop), προκειμένου να μειώσει την ένταση της αρχικής ακτινοβολίας, που δεν έχει περιθλαστεί από το δείγμα. Η συλλογή δεδομένων πραγματοποιήθηκε με περιθλασίμετρο D8-Venture, χρησιμοποιώντας το λογισμικό APEX3, ανιχνευτή PHOTON 50 (τύπου CMOS) και πηγή ακτίνων-X το σύστημα IμS Microfocus X-raySource με χρήση *Cu*. (Σχήμα 9α)

Επεξεργασία δεδομένων από σκέδαση ακτίνων-X

Ο όρος «Επεξεργασία Δεδομένων» χρησιμοποιείται για να περιγράψει όλη την διαδικασία από την στιγμή συλλογής των εικόνων περίθλασης έως την δημιουργία μιας λίστας εντάσεων για όλες τις ανακλάσεις. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό APEX3 της Bruker. Η επεξεργασία περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Αρχικά πραγματοποιείται δεικτοδότηση (indexing) των εικόνων περίθλασης, δηλαδή απόδοση δεικτών Miller στις κηλίδες και εύρεση κατάλληλης μοναδιαίας κυψελίδας

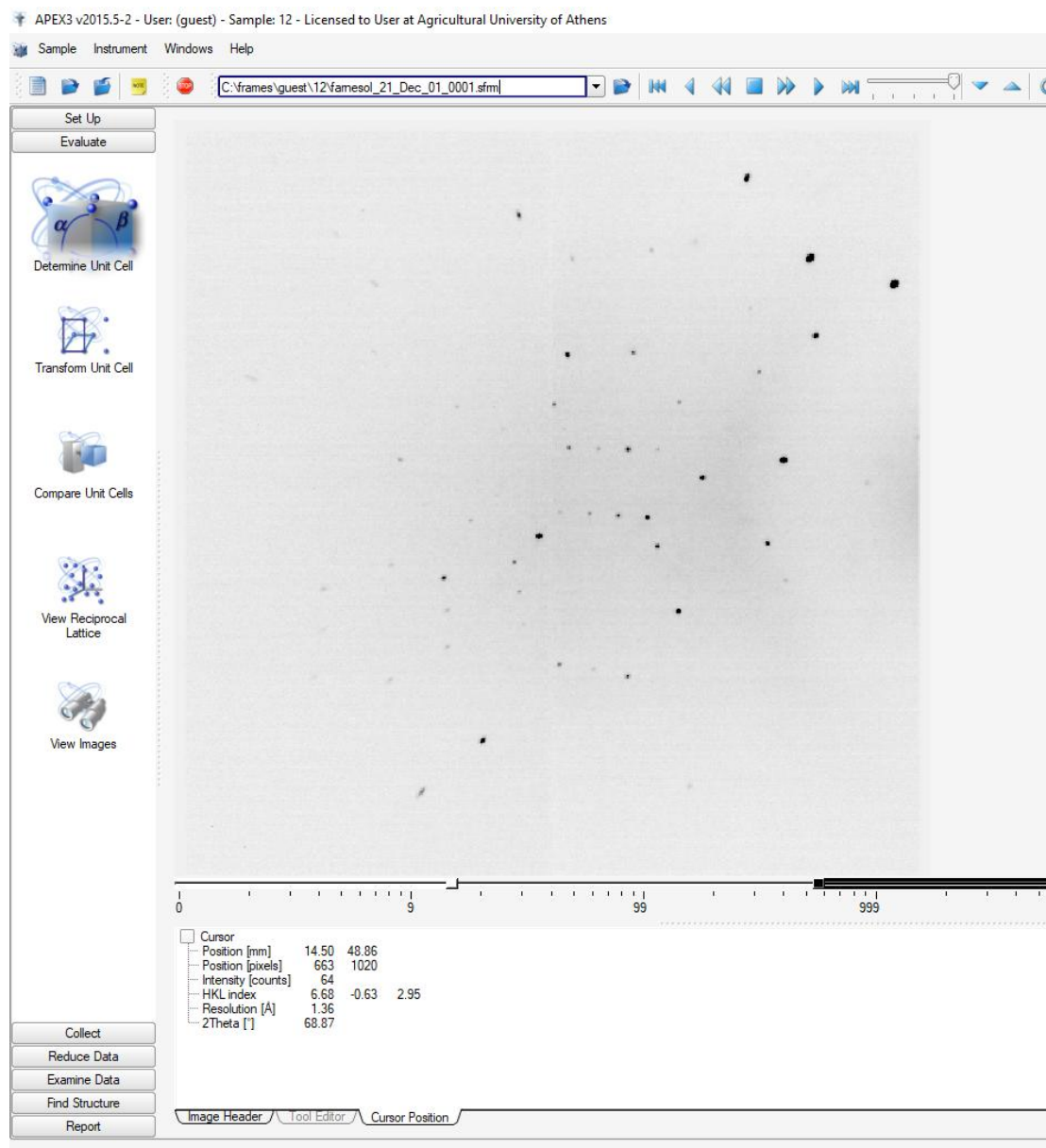
στο πλέγμα με παράλληλη βελτιστοποίηση όλων των παραμέτρων του πειράματος (διαστάσεις κυψελίδας, προσανατολισμός κρυστάλλου, θέση ανιχνευτή, κα) (Σχήμα 9β). Ακολουθεί ολοκλήρωση δεδομένων περίθλασης (integration) που παρέχει πληροφορίες για τις διαστάσεις της κυψελίδας, τη γεωμετρία της περίθλασης μια πρώτη εκτίμηση του πλέγματος Bravais. Η γνώση αυτής της πληροφορίας επιτρέπει την πρόβλεψη των σχετικών θέσεων των κηλίδων στην εικόνα περίθλασης. Έτσι, δημιουργείται τρισδιάστατο προφίλ κάθε κηλίδας, που περιγράφεται από τους δείκτες hkl. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το *SAINT* (Bruker-AXS, 2013).

Η εύρεση της ομάδας χώρου γίνεται με το πρόγραμμα *XPREP*, που εντοπίζει τυχόν στοιχεία συμμετρίας (π.χ. τυχόν άξονες ελίκωσης από τις συστηματικές αποσβέσεις, κα) που οδηγούν στην ορθή εύρεση της ομάδας χώρου.

Κανονικοποίηση και συγχώνευση δεδομένων. Οι εντάσεις που υπολογίστηκαν με κατάλληλα προγράμματα δεν είναι όλες στην ίδια κλίμακα, εξαιτίας ενός συνδυασμού φυσικών παραγόντων του πειράματος, κι επομένως ένας αριθμός διορθώσεων πρέπει να εφαρμοστεί προκειμένου να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή εκτίμηση για την πραγματική ένταση. Διόρθωση απορρόφησης πραγματοποιείται με το πρόγραμμα *SADABS* (Sheldrick, 2012). Το στάδιο της συγχώνευσης, παράλληλα, παρέχει ένα μεγάλο αριθμό στατιστικών (R_{int} , R_{sigma} , πληρότητα δεδομένων, κα) στην ποιότητα των δεδομένων, κυρίως από την συμφωνία μεταξύ των συμμετρικά-συσχετισμένων παρατηρήσεων. Κανονικοποίηση και συγχώνευση δεδομένων γίνεται με το πρόγραμμα *SAINT*. Έτσι αποκτούμε ένα αρχείο τύπου hkl το οποίο περιέχει τους δείκτες Miller, τις εντάσεις και τα σφάλματα.



(α)



(β)

Σχήμα 9: (α). Το περιθλασίμετρο D8-Venture της Bruker (εργ. Φυσικής, Γ.Π.Α.) με ανιχνευτή PHOTON 50 (τύπου CMOS) και (β) Ενδεικτική εικόνα περίθλασης από μονοκρύσταλλο του προϊόντος εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε β -CD με χρήση του λογισμικού APEX 3.

Τα φάσματα UV-Vis λήφθηκαν με φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού BIOBASE BK-S380.

7. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Στη δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες σημαντικό ρόλο, όπως έχει προαναφερθεί, διαδραματίζει η διαλυτότητα αυτών στο νερό. Συγκεκριμένα, η υδατοδιαλυτότητα της β -CD αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τη DM- β -CD και TM- β -CD, η διαλυτότητα των οποίων ελαττώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας (solubility inversion).

Επιπλέον, οι μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες παρουσιάζουν αυξημένη υδατοδιαλυτότητα σε σχέση με τις φυσικές. Συγκεκριμένα η δι-μεθυλιωμένη εμφανίζει τη μεγαλύτερη διαλυτότητα στο νερό όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Διαλυτότητα της α -CD β -CD, DM- β -CD, TM- β -CD στο νερό.

	α -CD	β -CD	DM- β -CD	TM- β -CD
25°C	145 g/L	18,5 g/L	600 g/L	100 g/L

7.1. Κρυστάλλωση προϊόντων εγκλεισμού σε φυσικές κυκλοδεξτρίνες (α -, β - CDs)

Τα προϊόντα εγκλεισμού τόσο σε α - όσο και σε β -CD δημιουργήθηκαν με τη μέθοδο της αργής ψύξης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ισομοριακές ποσότητες β -CD και ξενιζομένου μορίου. Έτσι σε υδατικό διάλυμα 5 mL διαλυτοποιήθηκαν 0,09g β -κυκλοδεξτρίνης (0,08 mmol) και στη συνέχεια προστέθηκαν ισομοριακές ποσότητες από το κάθε έλαιο [γερανιόλη 13.9 μ L (d=0,884g/mL) κιτράλη 14 μ L (d=0,888g/mL), κιτρονελλόλη 17 μ L (d=0,857g/mL), φαρνεσόλη 20 μ L (d=0,886g/mL)]. Το μίγμα αφέθηκε υπό ανάδευση μέχρι να διαυγάσει και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε λουτρό στους 70°C. Για την περίπτωση των συμπλόκων της α -CD, σε 5 mL αιθανολικού διαλύματος 10% (v/v) α -CD (0.25 mmol, 0.05M) προστέθηκε ισομοριακή ποσότητα (42 μ L) κιτράλης ή (63 μ L) φαρνεσόλης.

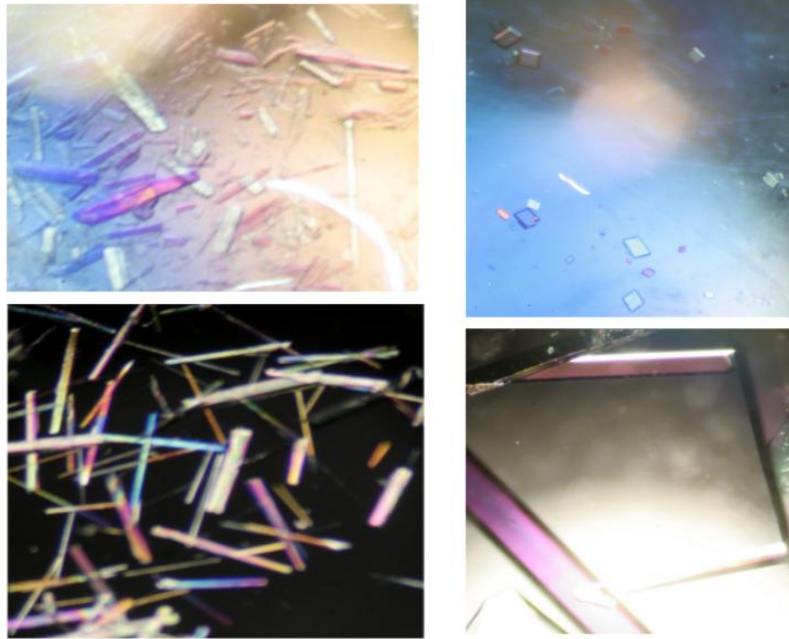
Μετά από 7 ημέρες προέκυψαν καλοσχηματισμένοι άχρωμοι πρισματικοί κρύσταλλοι στην πρώτη και ραβδοειδείς στην δεύτερη περίπτωση με σταδιακή ελάττωση της θερμοκρασίας έως τους 25°C. (Σχήμα 10)

7.2. Κρυστάλλωση προϊόντων εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες (DM-β-CD και TM-β-CD)

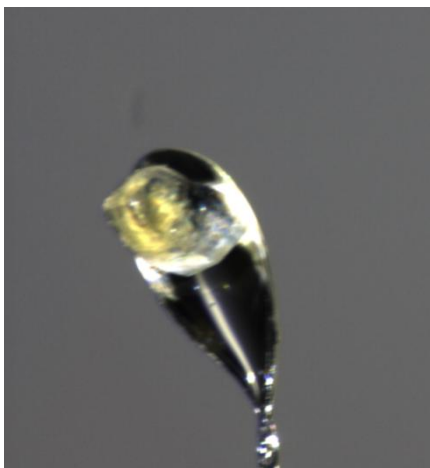
Για την περίπτωση των μεθυλιωμένων κυκλοδεξτρινών, η μέθοδος αναπτύχθηκε με γνώμονα την ιδιαιτερότητα που παρουσιάζει η διαλυτότητά τους η οποία λέγεται αναστροφή διαλυτότητας (solubility inversion).

Οι κρύσταλλοι των προϊόντων εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες δημιουργήθηκαν υπό αυξανόμενη θερμοκρασία. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ισομοριακές ποσότητες ξενιστή – ξενιζομένου μορίου σε συγκέντρωση κοντά σε εκείνη του κορεσμού της TM-β-CD και DM-β-CD αντίστοιχα. Συγκεκριμένα σε υδατικό διάλυμα 2 mL διαλυτοποιήθηκαν 0,2g (~0,1 mmol) στους 30°C TM-β-CD και στη συνέχεια προστέθηκαν στάγδην και υπό ανάδευση ισομοριακές ποσότητες εκάστου αιθερίου ελαίου [γερανιόλη, κιτράλη, κιτρονελλόλη και φαρνεσόλη ~18μL] και 50mg στερεής GA3, αντίστοιχα.

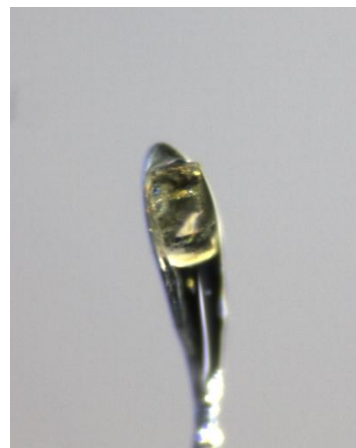
Στην περίπτωση της DM-β-CD διαλυτοποιήθηκαν ~1,0g DM-β-CD σε 2mL (~0,75 mmol) νερό και στη συνέχεια προστέθηκαν στάγδην και υπό ανάδευση τα αιθέρια έλαια σε ισομοριακές ποσότητες [γερανιόλη 120μL, κιτράλη 125μL, κιτρονελλόλη 137μL, φαρνεσόλη 188μL] . Τα διαλύματα αφέθηκαν υπό ανάδευση για 3h, σε αεροστεγώς κλεισμένα δοχεία, ανεβάζοντας σταδιακά τη θερμοκρασία έως τους 48°C, οπότε και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο. Έπειτα από μερικές ημέρες (συνήθως 4-5) δημιουργήθηκαν καλοσχηματισμένοι κρύσταλλοι οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε κρυοπροστατευτικό διάλυμα παραφινέλαιου έτσι ώστε να απομακρυνθεί από την περιφέρεια του κρυστάλλου κάθε μικροποσότητα μητρικού υγρού και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν για συλλογή δεδομένων περίθλασης ακτίνων-X. (Σχήμα 11)



Σχήμα 10: Φωτογραφίες μονοκρυστάλλων α) του προϊόντος εγκλεισμού της κιτράλης/ α -CD (ραβδόμορφοι), β) κιτράλης/ β -CD (πρισματικοί), γ) κιτράλης/DM- β -CD (ραβδοειδείς) και δ) κιτράλης/TM- β -CD (ραβδοειδείς)



(α)



(β)

Σχήμα 11: Μονοκρύσταλλος προϊόντος εγκλεισμού κιτράλης/ β -CD προστατευμένος σε παραφινέλαιο

7.3. Συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων από περίθλαση ακτίνων-X και προσδιορισμός δομών

Η συλλογή δεδομένων πραγματοποιήθηκε με περιθλασίμετρο D8-venture της Bruker, χρησιμοποιώντας το λογισμικό APEX3, ανιχνευτή PHOTON 50 (τύπου CMOS) και πηγή ακτίνων-X το σύστημα IμS Microfocus X-ray Source με χρήση Cu. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε υπό κρυογονικές συνθήκες, 100 K και η ολοκλήρωση των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα *SAINTE*. Η διόρθωση της απορρόφησης πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα *SADABS* (Sheldrick, 2012) και η επίλυση της δομής έγινε με τη βοήθεια του *SHELXT* (Sheldrick, 2015a). Η βελτιστοποίηση όλων των δομών πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος *SHELXL-2014* (Sheldrick, 2015b) χρησιμοποιώντας το *SHELXLE* GUI (Hübschle et al., 2011). Προκειμένου να επιτευχθεί η βελτιστοποίηση των δομών χρησιμοποιήθηκαν κάποιοι περιορισμοί (restraints) σε μήκη δεσμών και γωνίες ξενιστών ή και ξενιζομένων μορίων, όπου αυτό κρίθηκε απαραίτητο. Οι περιορισμοί αυτοί, όπως *DFIX*, *DANG*, *FLAT* κτλ και οι τυπικές αποκλίσεις τους προσαρμόστηκαν σύμφωνα με το εγχειρίδιο του προγράμματος *SHELXL* (Thorn et al., 2012). Η δομική πολυπλοκότητα των μοντέλων σε συνδυασμό με τη χαμηλή ανάλυση σε αρκετές περιπτώσεις οδήγησε στη χρήση του προγράμματος *PRODRG* (Schuttelkopf and van Aalten, 2004) προκειμένου να χρησιμοποιηθούν κατάλληλες τιμές για μήκη δεσμών και γωνιών στους παραπάνω περιορισμούς. Συγκεκριμένα οι κυριότεροι περιορισμοί που χρησιμοποιήθηκαν για τη βελτιστοποίηση των δομών αφορούσαν στις 1,2 αποστάσεις δεσμών (εντολή *DFIX*) και στις 1,3 αποστάσεις δεσμών (εντολή *DANG*). Η εντολή *SIMU* χρησιμοποιήθηκε κυρίως στα άτομα του ξενιζομένου μορίου ώστε να αποκτήσουν παρόμοιο συντελεστή θερμικής κίνησης μεταξύ τους. Τα υδρογόνα προστέθηκαν υπολογιστικά με την εντολή *HFIX* (σύμφωνα με το rigid model, ακολουθώντας την κίνηση του ατόμου στο οποίο προσδέονται), σε αποστάσεις από αυτό που εξαρτώνται από τη θερμοκρασία διεξαγωγής του πειράματος (εισάγονται με εντολή *TEMP*) και με $U=1.200$. Η εντολή *ANIS* τοποθετήθηκε στα άτομα του ξενιστή αποφεύγοντας εκείνα που παρουσιάζουν αποδιάταξη σε περισσότερες από μία θέσεις. Γενικά η βελτιστοποίηση της δομής με ανισοτροπικούς παράγοντες θερμικής κίνησης βελτιώνει από τη μία πλευρά τον δείκτη R_I αλλά ταυτόχρονα οδηγεί σε μικρό λόγο [δεδομένα/παράμετροι] δηλαδή το προτεινόμενο μοντέλο είναι κατευθυνόμενο, το λεγόμενο bias model. Τέλος τοποθετήθηκαν τα μόρια νερών όπου

ήταν απαραίτητο σύμφωνα με τους χάρτες διαφορικής ηλεκτρονιακής πυκνότητας (F_o-F_c) ύστερα από διαδοχικούς κύκλους βελτιστοποίησης. Η βελτιστοποίηση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων επί του F^2 ενώ ο τελικός δείκτης αξιοπιστίας όλων των δομών (R_1) ήταν ικανοποιητικός. Εκτός από τον τελικό δείκτη αξιοπιστίας ελέγχθηκε και ο wR_2 ο οποίος ήταν επίσης ικανοποιητικός (περίπου τριπλάσιος του R_1). Τέλος, ο τελικός δείκτης προσαρμογής επί του F^2 ($GOOF$) όλων των κρυσταλλικών δομών κυμάνθηκε γύρω από την τιμή 1.00, όπως φαίνεται στους κρυσταλλογραφικούς πίνακες που παρατίθενται παρακάτω. Τα κρυσταλλογραφικά αρχεία (.cif files) με ενσωματωμένους τους παράγοντες δομής προετοιμάστηκαν μέσω της πλατφόρμας *WinGX* (Farrugia, 2012) προκειμένου να κατατεθούν στην CSD. Οι εικόνες των προϊόντων εγκλεισμού δημιουργήθηκαν με τα προγράμματα *MERCURY* (Macrae et al., 2008) και *PYMOL* (Schrödinger, LLC, 2015) ενώ η γεωμετρική ανάλυση και συγκεκριμένα ο υπολογισμός των τιμών των D , D_k , Φ , d , τ , t και C πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα *Olex 2* (Dolomanov et al., 2009). Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν:

D_k : η απόσταση του κάθε $O4_n$ από το βαρύκεντρο των $O4_n$,

D : η απόσταση του κάθε $O4_n$ από το επόμενο $O4_{n+1}$,

Φ : η γωνία που σχηματίζουν τα $O4_{n-1}$ - $O4_n$ - $O4_{n+1}$,

d : η απόσταση του κάθε $O4_n$ από το επίπεδο των $O4$,

τ : η γωνία που σχηματίζεται μεταξύ των επιπέδων $O4_{n-1}$ - $C1_n$ - $C4_n$ - $O4_n$ και εκείνου των $O4$,

t : η γωνία συστροφής των $O5_n$ - $C5_n$ - $C6_n$ - $O6_n$ και για τις μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες υπολογίζεται και μία δεύτερη γωνία συστροφής, η $C5_n$ - $C6_n$ - $O6_n$ - $C7_n$

Πίνακας 2: Κρυσταλλογραφικοί πίνακες δεδομένων και στατιστικά βελτιστοποίησης των προϊόντων εγκλεισμού των γερανιόλης, κιτράλης, κιτρονελλόλης, φαρνεσόλης και γιββερελλικού οξέος σε φυσικές (α -CD και β -CD) και μεθυλιωμένες (DM- β -CD και TM- β -CD) κυκλοδεξτρίνες .

	Γερανιόλη/ β -CD	Γερανιόλη/DM- β -CD	Γερανιόλη/TM- β -CD
Δεδομένα περίθλασης μονοκρυστάλλου			
Μοριακός τύπος	$C_{42}H_{70}O_{35} \cdot C_{10}H_{18}O \cdot 6[H_2O]$	$C_{56}H_{98}O_{35} \cdot C_{10}H_{18}O \cdot 9[H_2O]$	$C_{63}H_{112}O_{35} \cdot C_{10}H_{18}O \cdot H_2O$
Μοριακό βάρος	1399,58	1529,04	1546,82
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, $P2_1$	Ορθορομβικό, $P2_12_12_1$	Ορθορομβικό, $P2_12_12_1$
Θερμοκρασία (K)	100	100	100
a, b, c (Å)	15.580 (5), 24.980 (2), 18.680 (2)	18.256(5), 19.254(3), 24.160(4)	14.903(6), 20.888(1), 27.686(8)
α, β, γ (°)	110,91 (2)		
Όγκος (V, Å ³)	6791 (3)	8492(3)	8618(4)
Πολλαπλότητα (Z)	4	4	4
Τύπος Ακτινοβολίας	Σύγχροτρον	Cu $K\alpha$	Σύγχροτρον
Είδος ακτινοβολίας	Σύγχροτρον, $\lambda = 0,8148 \text{ \AA}$	Cu $K\alpha$ $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$	Σύγχροτρον, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$
Συντελεστής απορρόφησης (μ, mm^{-1})	0,12	0,93	0,10
Μέγεθος κρυστάλλου (mm)	$0,2 \times 0,2 \times 0,1$	$0,2 \times 0,2 \times 0,1$	$0,25 \times 0,16 \times 0,1$
Συλλογή δεδομένων			
Περιθλασίμετρο	Σύγχροτρον	BrukerAPEX-II	Σύγχροτρον
Διόρθωση απορρόφησης	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2
T_{\min}, T_{\max}	0,059, 0,778	0,545, 0,752	0.684, 0.746
Συλλεχθείσες, Ανεξάρτητες,	7609, 7609, 7525	65409, 12224, 8812	6739, 6739, 6381

Παρατηρούμενες με κριτήριο $I > 2\sigma(I)$ ανακλάσεις			
R_{int}	0,06	0,080	0,058
$\theta_{\text{max}} (^{\circ})$	25,1	59,1	23,2
$(\sin \theta/\lambda)_{\text{max}} (\text{\AA}^{-1})$	0,521	0,557	0,555
Βελτιστοποίηση			
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)],$ $wR(F^2), S$	0,067, 0,183, 1,04	0,093, 0,272, 1,04	0,070, 0,188, 1,14
Ανακλάσεις	7609	12224	6739
Παράμετροι	1188	965	792
Περιορισμοί	148	76	84

	Κιτράλη/ α -CD	Κιτράλη/ β -CD	Κιτράλη/DM- β -CD	Κιτράλη/TM- β -CD
Λεδομένα περίθλασης μονοκρυστάλλου				
Μοριακός τύπος	$C_{36}H_{60}O_{30} \cdot C_{10}H_{16}O \cdot C_2H_6O \cdot 9[H_2O]$	$C_{42}H_{70}O_{35} \cdot C_{10}H_{16}O \cdot 6[H_2O]$	$C_{56}H_{98}O_{35} \cdot C_{10}H_{20}O [H_2O]$	$C_{63}H_{112}O_{35} 2[C_{10}H_{20}O]$
Μοριακό βάρος	1143,98	1365,83	1480,16	1567,81
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, $P1$	Μονοκλινές, $C2$	Ορθορομβικό, $P2_12_12_1$	Ορθορομβικό, $P2_12_12_1$
Θερμοκρασία (K)	100	293	100	100
a, b, c (Å)	13,8115(19), 13,8652(16), 15,648 (2)	18,892(4), 24,452(4), 15,662(5)	11,2400(6),14,9344 (8), 45,211(2)	14,9291(19), 20,947(3), 27,683(4)
α, β, γ (°)	85,177(12), 88,117(10), 60,169(10)	110,748(15)	-	-
Όγκος ($V, \text{Å}^3$)	2590,2(6)	6766 (3)	7589,2 (7)	8657 (2)
Πολλαπλότητα (Z)	2	4	4	4
Τύπος Ακτινοβολίας	Cu $K\alpha$	Cu $K\alpha$	Cu $K\alpha$	Cu $K\alpha$
Συντελεστής απορρόφησης (μ , mm^{-1})	1,13	1,04	0,90	0,82
Μέγεθος κρυστάλλου (mm)	$0,35 \times 0,2 \times 0,1$	$0,3 \times 0,22 \times 0,15$	$0,8 \times 0,4 \times 0,2$	$0,1 \times 0,08 \times 0,05$
Συλλογή δεδομένων				
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II	Bruker APEX-II	Bruker APEX-II	Bruker APEX-II
Διόρθωση απορρόφησης	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2014/5	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: SADABS2016/2
T_{\min}, T_{\max}	0,444, 0,754	0,621, 0,752	0,582, 0,753	0,448, 0,753
Συλλεχθείσες, Ανεξάρτητες, Παρατηρούμενες με κριτήριο $I > 2\sigma(I)$ ανακλάσεις	96926, 19920, 9719	38257, 11320, 9904	67554, 10490, 10066	39739, 9129, 8745
R_{int}	0,040	0,035	0,042	0,074
θ_{max} (°)	57,9	51,9	60,0	51,9
$(\sin\theta/\lambda)_{\text{max}}$ (Å ⁻¹)	0,626	0,588	0,562	0,510
Βελτιστοποίηση				
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], \omega R(F^2), S$	0,042, 0,115, 1,05	0,057, 0,159, 1,04	0,090, 0,254, 1,25	0,1175, 0,312, 1,08
Ανακλάσεις	19920	11320	10490	9129

Παράμετροι	1452	933	915	884
Περιορισμοί	44	111	105	33

	<i>β</i> -κιτρνελλόλη/ β-CD	<i>β</i> -κιτρνελλόλη/ DM-β-CD	<i>β</i> -κιτρνελλόλη/ TM-β-CD
Δεδομένα περίθλασης μονοκρυστάλλου			
Μοριακός τύπος	2[C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅]·2[C ₁₀ H ₂₀ O] ·25[H ₂ O]	[C ₅₆ H ₉₈ O ₃₅]·C ₁₀ H ₂₀ O· 4.3[H ₂ O]	[C ₆₃ H ₁₁₂ O ₃₅]·[C ₁₀ H ₂₀ O]· H ₂ O
Μοριακό βάρος	1449,12	1505,23	1571,91
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, <i>P</i> 1	Ορθορομβικό, <i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	Ορθορομβικό, <i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Θερμοκρασία (K)	100	100	100
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	15,383(2),15,409(2), 17,713 (2)	10,391(3),15,1063(18), 51,050 (8)	14,9291(19), 20,947(3), 27,683 (4)
α, β, γ (°)	113,898(9),99,431(9), 102,109 (9)	-	-
Όγκος (V, Å ³)	3604,9 (9)	8013 (3)	8657 (2)
Πολλαπλότητα (<i>Z</i>)	1	4	4
Τύπος Ακτινοβολίας	Cu <i>Kα</i>	Cu <i>Kα</i>	Cu <i>Kα</i>
Συντελεστής απορρόφησης (μ, mm ⁻¹)	1,06	0,91	0,82
Μέγεθος κρυστάλλου (mm)	0,5 × 0,44 × 0,18	0,5 × 0,3 × 0,2	0,1 × 0,08 × 0,05
Συλλογή δεδομένων			
Περιθλασίμετρο	Bruker <i>APEX</i> -II	Bruker <i>APEX</i> -II	Bruker <i>APEX</i> -II
Διόρθωση απορρόφησης	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>
<i>T</i> _{min} , <i>T</i> _{max}	0,512, 0,754	0,494, 0,753	0,448, 0,753
Συλλεχθείσες, Ανεξάρτητες,	70467,25966, 25329	80357, 11133, 10595	39739, 9129, 8745

Παρατηρούμενες με κριτήριο $I > 2\sigma(I)$ ανακλάσεις			
R_{int}	0,047	0,045	0,074
$\theta_{\text{max}} (^{\circ})$	72,1	57,9	51,9
$(\sin \theta/\lambda)_{\text{max}} (\text{\AA}^{-1})$	0,618	0,550	0,510
Βελτιστοποίηση			
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], \omega R(F^2), S$	0,079, 0,219, 0,92	0,093, 0,255, 1,07	0,089, 0,242, 1,14
Ανακλάσεις	25966	11133	9129
Παράμετροι	1243	882	883
Περιορισμοί	163	66	33

	φαρνεσόλη/ <i>α</i> -CD	φαρνεσόλη/ <i>β</i> -CD	φαρνεσόλη/ TM- <i>β</i> -CD
Λεδομένα περίθλασης μονοκρυστάλλου			
Μοριακός τύπος	2[C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀]·C ₁₅ H ₃₂ O	2[C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅]·C ₁₅ H ₃₂ O	C ₆₃ H ₁₁₂ O ₃₅ ·C ₁₅ H ₃₂ O
Μοριακό βάρος	1146,91	1382,33	805,66
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, <i>P</i> 1	Μονοκλινές, <i>C</i> 2	Μονοκλινές, <i>P</i> 2 ₁
Θερμοκρασία (K)	120	120	120
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	13,776(7), 13,883(4), 15,720 (9)	19,310(5), 24,447(6), 15,879 (4)	11,691(3), 27,613(5), 14,775 (5)
<i>α</i> , <i>β</i> , <i>γ</i> (°)	93,03(3), 92,02(4), 119,44 (3)	109,236 (11)	111,882 (17)
Όγκος (V, Å ³)	2608 (2)	7078 (3)	4426 (2)
Πολλαπλότητα (<i>Z</i>)	2	4	4
Τύπος Ακτινοβολίας	Cu <i>Kα</i>	Cu <i>Kα</i>	Cu <i>Kα</i>
Συντελεστής απορρόφησης (μ, mm ⁻¹)	1,13	1,04	0,81
Μέγεθος κρυστάλλου (mm)	0,8 × 0,12 × 0,08	0,6 × 0,2 × 0,06	0,5 × 0,2 × 0,11
Συλλογή δεδομένων			
Περιθλασίμετρο	Bruker <i>APEX</i> -II	Bruker <i>APEX</i> -II	Bruker <i>APEX</i> -II
Διόρθωση απορρόφησης	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>	Μέθοδος: Multi-scan Πρόγραμμα: <i>SADABS2014/5</i>
<i>T</i> _{min} , <i>T</i> _{max}	0.558, 0.752	1, 1	0,487, 0,752
Συλλεχθείσες, Ανεξάρτητες, Παρατηρούμενες με κριτήριο <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>) ανακλάσεις	100571, 15126, 14136	34269, 10093, 9541	60331, 12613, 11420

R_{int}	0,063	0,238	0,075
$\theta_{\text{max}} (^{\circ})$	60,2	59,1	59,0
$(\sin \theta/\lambda)_{\text{max}} (\text{\AA}^{-1})$	0,563	0,557	0,556
Βελτιστοποίηση			
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)],$ $wR(F^2), S$	0,073, 0,206, 1,03	0,1, 0,266, 1,00	0,075, 0,204, 1,06
Ανακλάσεις	15126	10093	12613
Παράμετροι	1334	909	1006
Περιορισμοί	108	101	108

GA₃/TM-β-CD	
Δεδομένα περιθλασης μονοκρυστάλλου	
Μοριακός τύπος	C ₆₃ H ₁₁₂ O ₃₅ · C ₁₉ H ₂₂ O ₆ · H ₂ O
Μοριακό βάρος	1775,88
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Ορθορομβικό, P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Θερμοκρασία (K)	100
a, b, c (Å)	14,7487 (8), 22,0113 (13), 27,6009 (15)
Όγκος (V, Å ³)	8960,3 (9)
Πολλαπλότητα (Z)	4
Τύπος Ακτινοβολίας	Cu Kα
Συντελεστής απορρόφησης, (μ, mm ⁻¹)	0,89
Συλλογή Δεδομένων	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Διόρθωση απορρόφησης	Multi-scan SADABS2014/5
T _{min} , T _{max}	1, 1
Συλλεχθείσες, Ανεξάρτητες, Παρατηρούμενες με κριτήριο I > 2σ(I) ανακλάσεις	75243, 9150, 6703
R _{int}	0,07
θ _{max} (°)	50,6
(sin θ/λ) _{max} (Å ⁻¹)	0,501
Βελτιστοποίηση	
R[F ² > 2σ(F ²)], wR(F ²), S	0,097, 0,256, 1,04

Ανακλάσεις	9150
Παράμετροι	1111
Περιορισμοί	293

8. ΑΠΟ ΤΟΝ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟ ΣΤΟ ΔΙΑΛΥΜΑ. ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΗΣ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD

8.1 Προετοιμασία προϊόντων εγκλεισμού κιτράλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD

Τα προϊόντα εγκλεισμού παρασκευάστηκαν σε αναλογία mol 1:1 (ξενιστή:ξενιζομένου μορίου). Για το σκοπό αυτό, κατάλληλες ποσότητες β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD διαλυτοποιήθηκαν σε 25mL νερού στους 30°C και στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην και υπό ανάδευση E-/Z-κιτράλη, διαλυτοποιημένη σε 2mL αιθανόλης. Τα μίγματα αφέθηκαν υπό ανάδευση, σε αεροστεγή δοχεία, για 24 ώρες στους 25°C, και στη συνέχεια στους 60°C, όπου διηθήθηκαν. Ακολούθησε έκπλυση των ιζημάτων με εξάνιο προκειμένου να απομακρυνθεί η ποσότητα της κιτράλης που δεν έχει εγκλεισθεί. Τα ιζήματα συλλέχθηκαν και αφέθηκαν στο πυριαντήριο στους 40°C έως ότου σταθεροποιηθούν οι μάζες τους και αποθηκεύτηκαν στους 4°C σε αεροστεγή δοχεία.

8.2 Ποσοτικός προσδιορισμός της κιτράλης στα προϊόντα εγκλεισμού της β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD

Προκειμένου να προσδιορισθεί η ποσότητα της κιτράλης που έχει εγκλεισθεί στις κυκλοδεξτρίνες, 50 mg από τα προϊόντα εγκλεισμού διαλυτοποιήθηκαν σε 16mL αιθανόλη και τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 20min ώστε να γίνει η αποσυμπλοκοποίηση και να περάσει η κιτράλη στο διάλυμα. Έπειτα ακολούθησε διήθηση των μιγμάτων αυτών με φίλτρα 0,45 μ m (Millipore) και στο διήθημα μετρήθηκε η απορρόφηση με φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού στα 240nm όπου βρέθηκε ότι εμφανίζει το λ_{\max} η κιτράλη.

Η καμπύλη αναφοράς της κιτράλης κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας μεθανολικά διαλύματα αυτής σε διάφορες συγκεντρώσεις ($2 \cdot 10^{-5}$ - $7 \cdot 10^{-5}$) και μετρώντας την απορρόφηση στα 240 nm κατασκευάστηκε η σχέση που συνδέει την απορρόφηση με τη συγκέντρωση της κιτράλης.

Η εξίσωση ευθείας από την καμπύλη αναφοράς της κιτράλης είναι:

$A=15371c-0,2254$. (όπου A η απορρόφηση στα 240nm και c η συγκέντρωση της κιτράλης στο διάλυμα σε mol/L).

Με βάση την καμπύλη, υπολογίστηκε και η περιεκτικότητα κιτράλης σε κάθε ένα από τα προϊόντα εγκλεισμού με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$\% \text{ w/w κιτράλης} = 152,23 \cdot \frac{c}{m} \cdot 100\%$$

Όπου m το βάρος των προϊόντων εγκλεισμού (g), 152,23 το μοριακό βάρος της κιτράλης, ο βαθμός αραίωσης είναι 20 και ο όγκος του εκχυλισμένου διαλύματος (0,008L).

Έτσι βρέθηκε ότι η κατά βάρος περιεκτικότητα της κιτράλης για τη β -CD είναι 10,5%w/w, για τη DM- β -CD: 8,1%w/w και για την TM- β -CD: 8,2%w/w (ως προς τη μοριακά αναλογία).

9. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ-ΕΥΡΕΣΗ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ-ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Η ικανότητα της κιτράλης ως προς την αναστολή ανάπτυξης του βακτηρίου *E.coli* μελετήθηκε πειραματικά μέσω της διάχυσής της σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα από κυκλικά φίλτρα διαμέτρου 0,5cm.

Για το σκοπό αυτό παρασκευάστηκαν αιθανολικά διαλύματα κιτράλης σε διάφορες συγκεντρώσεις (3, 1,15, 0,6, 0,3, 0,2, 0,15, 0,12 M).

Πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση της ανάπτυξης των κυττάρων *E.coli* BW25113 μέσω της καμπύλης ανάπτυξης της καλλιέργειας με τη χρήση του φωτομέτρου. Σε κάθε μέτρηση της οπτικής πυκνότητας λαμβάνεται 1 mL καλλιέργειας μέρος του οποίου χρησιμοποιείται για την επίστρωση σε τρυβλίο. Συγκεκριμένα, 1 mL καλλιέργειας αραιώνεται με αποστειρωμένο υγρό θρεπτικό υλικό LB ώστε να προκύψουν οι αραιώσεις 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-7} . Έπειτα 10 μ L της αραιωμένης πλέον καλλιέργειας επιστρώνονται σε στερεό θρεπτικό υλικό LB. Τα τρυβλία επωάζονται για 20 ώρες στους 30°C και έπειτα λαμβάνονται οι μετρήσεις των αποικιών οι οποίες προέρχονται από ένα μοναδικό κύτταρο.

Ο αριθμός των ζώντων κυττάρων ανά mL (CFU/mL) αρχικού διαλύματος υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των αποικιών ανά τρυβλίο με τον παράγοντα αραιώσης.

Με τον τρόπο αυτό εντοπίστηκε η χρονική στιγμή λήψης δείγματος της καλλιέργειας για επίστρωση των τρυβλίων. Σε κάθε τρυβλίο επιστρώθηκαν $3 \cdot 10^3$ cfu/ml (αριθμός των ζώντων κυττάρων ανά mL) μετά από αραιώση καλλιέργειας βακτηρίων συγκέντρωσης $2 \cdot 10^5$ cfu/ml.

Στο κέντρο επιστρωμένων τρυβλίων με 100 μ L από αραιωμένη καλλιέργεια βακτηριακών κυττάρων *E.coli* BW25113 τοποθετήθηκαν φίλτρα διαμέτρου 0,5cm. Ποσότητα 20 μ L από τα παραπάνω διαλύματα κιτράλης εφαρμόστηκε στα φίλτρα. Τα τρυβλία κλείστηκαν περιφερειακά με παραφίλμ και τοποθετήθηκαν στους 30°C, για 24 ώρες προκειμένου να γίνει επώαση. Τέλος μετρήθηκε η διάμετρος της άλου που είχε σχηματισθεί σε καθένα από τα τρυβλία. Η κάθε μεταχείριση εφαρμόστηκε σε τρεις επαναλήψεις.

Σε άλλη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχες μεταχειρίσεις σε συγκεντρώσεις κιτράλης 0,2, 0,15 και 0,12 M, καθώς και τα προϊόντα εγκλεισμού

της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις ως προς τη κιτράλη. Στην περίπτωση της καθαρής κιτράλης χρησιμοποιήθηκε διαλύτης αιθανόλη ενώ στην περίπτωση των προϊόντων εγκλεισμού της χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη-νερό σε αναλογία όγκου 50-50. Η κάθε μεταχείριση πραγματοποιήθηκε σε τρεις επαναλήψεις.

Ο προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της κιτράλης και των προϊόντων εγκλεισμού της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD για το βακτήριο *E.coli* BW25113 υπολογίστηκε εφαρμόζοντας ίδιες ποσότητες διαλύματος κιτράλης, με ή χωρίς CDs, σε διάφορες συγκεντρώσεις μέσα σε στερεό θρεπτικό μέσο. Για το σκοπό αυτό, σε διαφορετικές κωνικές φιάλες με αποστειρωμένο θρεπτικό υλικό, προστέθηκαν, λίγο πριν την πήξη (<40°C), ποσότητα ίση με 60μL, διαλύματα κιτράλης με ή χωρίς κυκλοδεξτρίνες (0.001-0.01M) και τα μίγματα τοποθετήθηκαν αμέσως στα τρυβλία. Μετά την πήξη τους έγινε επίστρωση $3 \cdot 10^3$ cfu/ml κυττάρων, σε κάθε τρυβλίο, από μία ανεπτυγμένη καλλιέργεια (24h). Τα τρυβλία κλείστηκαν περιμετρικά με parafilm και αφέθηκαν στους 30°C για επώαση. Την επόμενη ημέρα μετρήθηκε ο αριθμός των αποικιών που σχημάτισαν τα κύτταρα που είχαν επιβιώσει. Για κάθε μεταχείριση πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις.

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ώστε να κατασκευασθούν καμπύλες ανάπτυξης, προκειμένου να ελεγχθεί ο βαθμός στον οποίο η κιτράλη και τα προϊόντα εγκλεισμού της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD, επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου σε υγρό θρεπτικό μέσο.

Σε φιάλες που περιείχαν 5mL αποστειρωμένου υγρού θρεπτικού υλικού, τοποθετήθηκαν 40μL κύτταρα από μία ανεπτυγμένη βακτηριακή καλλιέργεια. Σε αυτά εφαρμόστηκαν ίσες ποσότητες από τα διαλύματα κιτράλης, παρουσία και απουσία των β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD αντίστοιχα, σε διάφορες αραιώσεις ως προς την κιτράλη, και οι καλλιέργειες τοποθετήθηκαν στους 30°C, υπό ανάδευση, προκειμένου να μελετηθεί η ανάπτυξη των κυττάρων. Από κάθε μεταχείριση λαμβάνονταν, κάθε 2 ώρες, ίση ποσότητα κυττάρων (100 μL), τα οποία επιστρώνονταν σε στερεό θρεπτικό μέσο και τοποθετούνταν σε κλίβανο (30°C). Την επόμενη ημέρα μετρήθηκαν οι αποικίες που είχαν επιβιώσει σε κάθε τρυβλίο. Κάθε μεταχείριση πραγματοποιήθηκε εις διπλούν.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ



10. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΓΕΡΑΝΙΟΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.

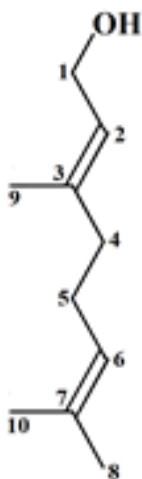
10.1. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/ β -CD

Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/ β -CD κρυσταλλώνει στο μονοκλινές $P2_1$ κρυσταλλικό σύστημα και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει δύο μόρια β -CD (HostA και HostB), δύο μόρια γερανιόλης και 16 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 29 θέσεις. Τα δύο μόρια ξενιστές σχηματίζουν διμερή «κεφαλής-κεφαλής» (οι δευτεροταγείς υδροξυλο-ομάδες του ενός αντικρύζουν τις δευτεροταγείς υδροξυλο-ομάδες του άλλου) τα οποία σταθεροποιούνται μέσω υδρογονικών δεσμών μεταξύ των δευτεροταγών υδροξυλο-ομάδων $O3n-H$. Ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται επίσης μεταξύ των $O2n-H$ και των $O3(n+1)-H$ υδροξυλίων των γειτονικών γλυκοζιτικών μονάδων και των δύο ξενιστών προσδίδοντας επιπλέον σταθερότητα στη δομή.

Η αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου του προϊόντος εγκλεισμού είναι 2:2 αφού σε κάθε μόριο β -CD εγκλείεται ένα μόριο γερανιόλης, αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις, μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα. Πιο συγκεκριμένα, τα ξενιζόμενα μόρια G1 (αριθμός κατάληψης 0.6) και G2 (αριθμός κατάληψης 0.4) βρέθηκαν στην κοιλότητα HostA, ενώ οι θέσεις G3 (αριθμός κατάληψης 0.6) και G4 (αριθμός κατάληψης 0.4) στην κοιλότητα HostB. Λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων τα εγκλεισμένα ξενιζόμενα μόρια μπορούν να συνυπάρξουν μόνο ως ζεύγη G1/G3 ή G2/G4 (Σχήμα 13α).

Όλα τα ξενιζόμενα μόρια διευθετούνται αξονικά μέσα στις κοιλότητες, με τον κύριο άξονά τους (άξονας που σχηματίζουν τα άτομα C1-C2-C3-C4-C5-C6-C7, (βλ. σχήμα...13β,γ) να σχηματίζει γωνίες με τον αντίστοιχο μοριακό άξονα 7^{ns} 'ταξης του ξενιστή μεταξύ $4,2^\circ$ και $27,1^\circ$. Οι υδρόφοβες άλκυλο-ομάδες των ξενιζομένων μορίων καταλήγουν στην ενδιάμεση περιοχή του σχηματιζόμενου διμερούς και οι μεθυλο-ομάδες C8 και C10 αλληλεπιδρούν με τα άτομα υδρογόνου H3 της β -CD. Οι πολικές υδροξυλο-ομάδες των ξενιζομένων μορίων προσανατολίζονται προς τη «στενή» περιοχή του κώνου και προεξέχουν από το μέσο επίπεδο που σχηματίζουν τα πρωτοταγή άτομα οξυγόνου $O6n$ της β -CD συνάπτοντας υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ τους. Σημαντικοί είναι επίσης οι δεσμοί υδρογόνου που συνδέουν τις θέσεις

G3 και G4 με το άτομο οξυγόνου O65A της β -CD του γειτονικού διμερούς αλλά και εκείνοι μεταξύ μορίων νερού που γεφυρώνουν τα γειτονικά προϊόντα εγκλεισμού και σταθεροποιούν τους σχηματιζόμενους αυλούς (Σχήμα 13β).



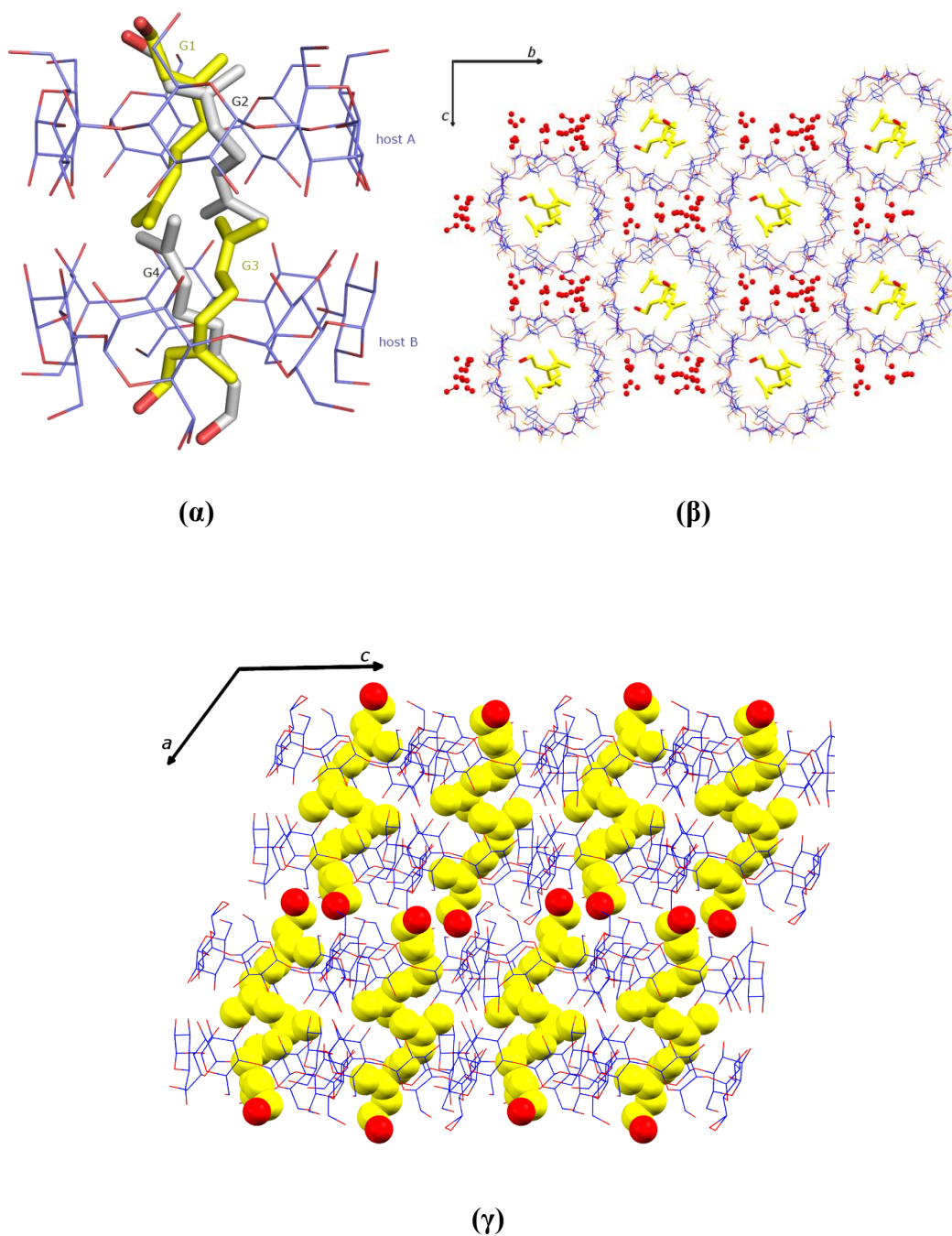
Σχήμα 12: Σχηματική αναπαράσταση του μορίου της γερανιόλης.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού γερανιόλης/ β -CD

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των ξενιστών που αφορούν τη διευθέτησή τους στο χώρο παρουσιάζονται στον πίνακα II.1. Παρατηρούμε πως τα άτομα οξυγόνου των O4_n και στις δύο κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν κανονικά επτάγωνα όπως φαίνεται από τις ίσες αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αποκλίσεις από τα αντίστοιχα μέσα επίπεδα των ατόμων O4_n. Οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διέδρες γωνίες (τ) (γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n και του επιπέδου των O4) που υποδηλώνει πως καμία γλυκοζιτική μονάδα δεν αποκλίνει από τη σχηματιζόμενη κωνική γεωμετρία των μορίων της κυκλοδεξτρίνης. Επιπρόσθετα, η μελέτη των γωνιών συστροφής των ατόμων O5_n-C5_n-C6_n-O6_n έδειξε πως όλες εμφανίζουν τη λεγόμενη «gauche-gauche» διαμόρφωση με τις υδροξυλο-ομάδες να κατευθύνονται προς το εξωτερικό της κοιλότητας του κώνου (Πίνακας II.1) και να σχηματίζουν υδρογονικούς δεσμούς με τα γύρω μόρια νερού. Μία μόνο πρωτοταγής υδροξυλο-ομάδα του HostA καθώς και μία αποδιατεταγμένη θέση του HostB εμφανίζουν τη «gauche-trans» (gt) διαμόρφωση, με τα υδροξύλια να κατευθύνονται προς το εσωτερικό της υδρόφοβης κοιλότητας.

Τα διμερή των β -CD διευθετούνται κατά μήκος του άξονα a , (η γωνία του μοριακού άξονα 7^{th} τάξης και του άξονα a είναι 10.63°), και σχηματίζουν στρώσεις στο επίπεδο

ab. Η κρυσταλλική διεύθυνση των διμερών σχηματίζει τα λεγόμενα κανάλια (*CH*) αφού η μετατόπιση μεταξύ δύο γειτονικών διμερών κατά τον άξονα *a* (2,87Å) βρίσκεται πολύ κοντά στα 2.7Å, σύμφωνα με την κατηγοριοποίηση των (Mentzafos et al., 1991), (Σχήμα 13γ).



Σχήμα 13: (α) Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/β-CD σχηματίζει διμερή. Τα ξενιζόμενα μόρια G1 και G3 (κίτρινο, 60%) συνυπάρχουν μέσα στην κοιλότητα του

διμερούς όπως επίσης και τα G2 και G4 (γκρι, 40%) και συνεπώς η στοιχειομετρία ξενιστή : ξενιζομένου μορίου είναι πάντα 2:2. Τα μόρια νερού παραλείπονται χάριν ευκρίνειας (β) προβολή κατά τον άξονα a . Τα μόρια νερού απεικονίζονται ως κόκκινες σφαίρες (γ) προβολή κατά τον άξονα b .

Μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD, βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας, οδήγησε στην εύρεση 26 ισόμορφων δομών, 10 εκ των οποίων είναι προϊόντα εγκλεισμού κυκλοδεξτρινών που κρυσταλλώνουν σε ομάδα χώρου $P2_1$ (όπως και το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης σε β -CD). Ανάμεσα σε αυτά, τα προϊόντα εγκλεισμού της (-)-α-τερπινεδόλης και της (+)-α-τερπινεδόλης σε β -CD περιγράφονται ως κανάλια (CH) που διευθετούνται κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a (Ceborska et al., 2015) (2,88Å μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών διμερών κατά τον άξονα a).

10.2. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/DM- β -CD

Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης σε DM- β -CD κρυσταλλώνει σε ορθορομβικό σύστημα και συγκεκριμένα στην ομάδα χώρου $P2_12_12_1$. Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο DM- β -CD, ένα μόριο γερανιόλης αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (G1 και G2) με αριθμούς κατάληψης 50% η καθεμιά, και 9 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 13 θέσεις (Σχήμα 14α). Επομένως, η στοιχειομετρία του προϊόντος εγκλεισμού φαίνεται να είναι 1:1. Η υδροξυλο-ομάδα της γερανιόλης εντοπίζεται επάνω από το μέσο επίπεδο που σχηματίζουν τα γλυκοζιτικά οξυγόνα ($O4n$) της DM- β -CD προς την πρωτοταγή (κλειστή) πλευρά του κώνου, ενώ, η υδρόφοβη ουρά της εκτείνεται στην ευρεία περιοχή ως το μεσο-διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών συμπλόκων της ίδιας στήλης. Τα προϊόντα εγκλεισμού σταθεροποιούνται με δεσμούς υδρογόνου μέσω των μορίων νερού που γεφυρώνουν τα γειτονικά μονομερή (Σχήμα 14β).

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά D , D_k και Φ της DM- β -CD (Πίνακας II.2) υποδηλώνουν έναν μακρόκυκλο που εμφανίζει συνάφεια με εκείνον της β -CD και παραπέμπουν σε ένα κανονικό επτάγωνο. Όλες οι γλυκοζιτικές μονάδες συντελούν στη δημιουργία της κωνικής γεωμετρίας αφού καμία δεν αποκλίνει από τη γεωμετρία

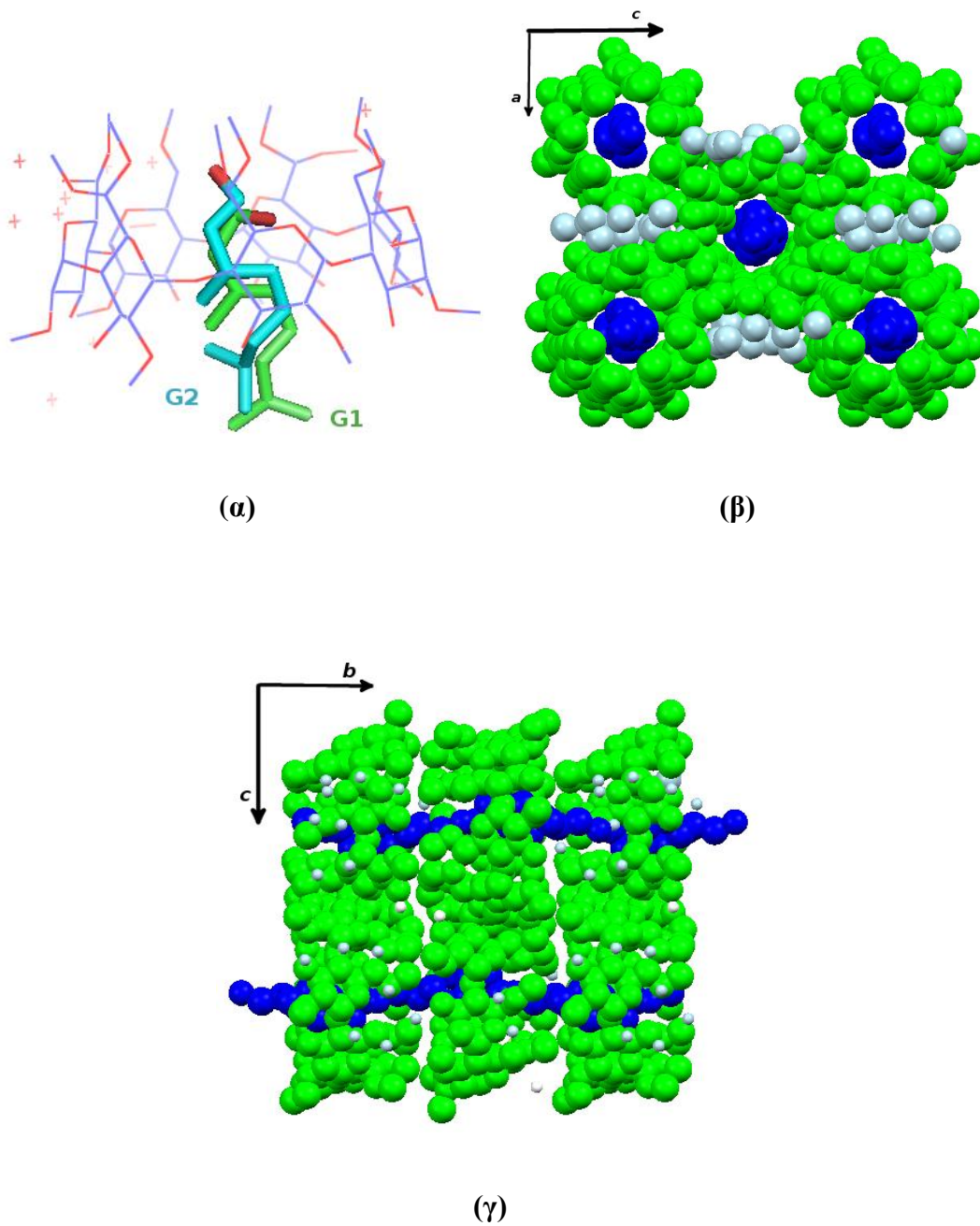
αυτή και όλες οι διέδρες γωνίες (τ) μεταξύ του επιπέδου που σχηματίζουν $O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n$ και εκείνου των $O4_n$ εμφανίζονται θετικές. Η μελέτη των γωνιών συστροφής $O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$ των πρωτοταγών μεθόξυ-ομάδων έδειξε πως ανάμεσα στις τέσσερις πλήρως εντοπισμένες μεθόξυ-ομάδες, οι δύο εμφανίζουν τη «gauche-trans» διαμόρφωση κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του κώνου ενώ η τρίτη τη «gauche-gauche» με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας της DM- β -CD. Οι υπόλοιπες τέσσερις γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν και τις δύο διαμορφώσεις αφού οι μεθόξυ-ομάδες ($O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$) βρίσκονται απεντοπισμένες σε δύο θέσεις η καθεμιά (Πίνακας II.2). Συνεπώς, το μόριο ξενιστής εμφανίζει τη διαμόρφωση ενός «ανοικτού» κόλουρου κώνου ο οποίος επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εξέλθει και από τις δύο πλευρές του.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού γερανιόλης/DM- β -CD

Τα σχηματιζόμενα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης/DM- β -CD διευθετούνται στο χώρο σχηματίζοντας αντιπαράλληλους αυλούς κατά μήκος του άξονα *b* και το μέσο επίπεδο των ατόμων οξυγόνου ($O4_n$) δημιουργεί με αυτόν γωνία $88,82^\circ$ (Σχήμα 14β,γ). Έτσι η ευρεία πλευρά του ενός αντικρίζει τη στενή πλευρά του αμέσως επόμενου (head-to-tail mode). Τα μόρια νερού γεφυρώνουν τις γειτονικές στήλες μέσω ενός δικτύου υδρογονικών δεσμών όπως φαίνεται αναλυτικά στον πίνακα I.1.

Επιπλέον πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD, βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας και βρέθηκε ένα ισόμορφο προϊόν εγκλεισμού που κρυσταλλώνει στην ίδια ομάδα χώρου ($P2_12_12_1$) και με παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας.

Συγκεκριμένα πρόκειται για το προϊόν εγκλεισμού της αδαμαντανόλης/DM- β -CD (BEFJOL) (Czugler et al., 1981) το οποίο σχηματίζει μονομερή με αναλογία 1:1 και όμοιο πακετάρισμα (αντιπαράλληλες στήλες κατά μήκος του άξονα *b*), με εκείνο της γερανιόλης/DM- β -CD. Η μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών μονομερών κατά τον άξονα *b* είναι $0,32\text{\AA}$ και $0,54\text{\AA}$ για τα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης/DM- β -CD και της αδαμαντανόλης/DM- β -CD αντίστοιχα.



Σχήμα 14: (α) Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/DM-β-CD σχηματίζει μονομερή με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 1:1 (β) προβολή της κρυσταλλικής διεύθεσης των προϊόντων εγκλεισμού στο επίπεδο ac . (γ) Στο χωροπληρωματικό μοντέλο της εικόνας οι DM-β-CDs σχηματίζουν αντιπαράλληλες στήλες κατά μήκος του άξονα b .

10.3. Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/TM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/TM-β-CD κρυσταλλώνει σε ορθορομβικό σύστημα και συγκεκριμένα στην ομάδα χώρου $P2_12_12_1$. Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο TM-β-CD και ένα μόριο γερανιόλης αποδιατεταγμένο σε τρεις θέσεις G1, G2 και G3 (αριθμοί κατάληψης 0,6, 0,2 και 0,2 αντίστοιχα) και ένα μόριο νερού με αριθμό κατάληψης 0,4. Το ξενιζόμενο μόριο εντοπίζεται στην κοιλότητα του ξενιστή και εμφανίζει μια διαφορετική διεύθυνση σε σχέση με τα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης/β-CD και γερανιόλης/DM-β-CD αφού ο μακρόκυκλος της TM-β-CD είναι ευρύτερος και πιο εύκαμπτος. Συγκεκριμένα, η τερπενική «ραχοκοκαλιά» του ξενιζομένου μορίου G1 εκτείνεται κατά μήκος της διαμέτρου του οβάλ μακρόκυκλου, πλάι στη δευτεροταγή-ευρεία πλευρά της TM-β-CD. Η υδροξυλική ομάδα της γερανιόλης σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με το άτομο οξυγόνου O22 της δευτεροταγούς μεθόξυ-ομάδας (O1...O22 απόσταση 2,9116(11)Å), ενώ η αλειφατική αλυσίδα προεξέχει επίσης από τη δευτεροταγή πλευρά του ξενιστή, καταλαμβάνοντας τον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ δύο διαδοχικών προϊόντων εγκλεισμού της ίδιας στήλης (Σχήμα 15α). Με παρόμοιο τρόπο φαίνεται να εγκλείεται και η β-κιτρονελλόλη σε TM-β-CD, όπου το πλήρως εντοπισμένο μόριο β-κιτρονελλόλης (αρ. κατάληψης: 100%) συνδέεται επίσης με υδρογονικό δεσμό με μία δευτεροταγή μεθόξυ-ομάδα του ξενιστή (Fourtaka et al., 2018).

Παρ' όλα αυτά, το ξενιζόμενο μόριο G2, φαίνεται να έχει μια εντελώς διαφορετική διεύθυνση μέσα στην κοιλότητα του ξενιστή αφού η υδρόφοβη αλκυλο-ομάδα εισχωρεί αρκετά στο εσωτερικό του κώνου (απόσταση μεταξύ C7 και του επιπέδου των ατόμων οξυγόνου O4n= 0,84(4)Å) ενώ η υδροξυλική ομάδα προεξέχει από την ευρεία πλευρά του κώνου συνδεδεμένη με ένα, μερικώς εντοπισμένο, μόριο νερού (OW1...O1B=2,74(4)Å). Τέλος, η θέση του ξενιζομένου μορίου G3 σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου είτε με το άτομο οξυγόνου O1B της TM-β-CD (απόσταση O1C...O61B= 3,01(5)Å) είτε με το O63 (απόσταση O1C...O63=3,27(4)Å), άτομα της πρωτοταγούς περιοχής των μεθόξυ-ομάδων αφού η υδροξυλική ομάδα προσανατολίζεται προς τη στενή περιοχή του κώνου, σε αντίθεση με εκείνη του ξενιζομένου μορίου G1 η οποία προσανατολίζεται προς την ευρεία πλευρά του.

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά και οι παράμετροι που αφορούν τη διαμόρφωση της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/TM-β-CD παρατίθενται στον Πίνακα I.1. Τα γλυκοζιτικά άτομα οξυγόνου O4n που συνδέουν μεταξύ τους τα

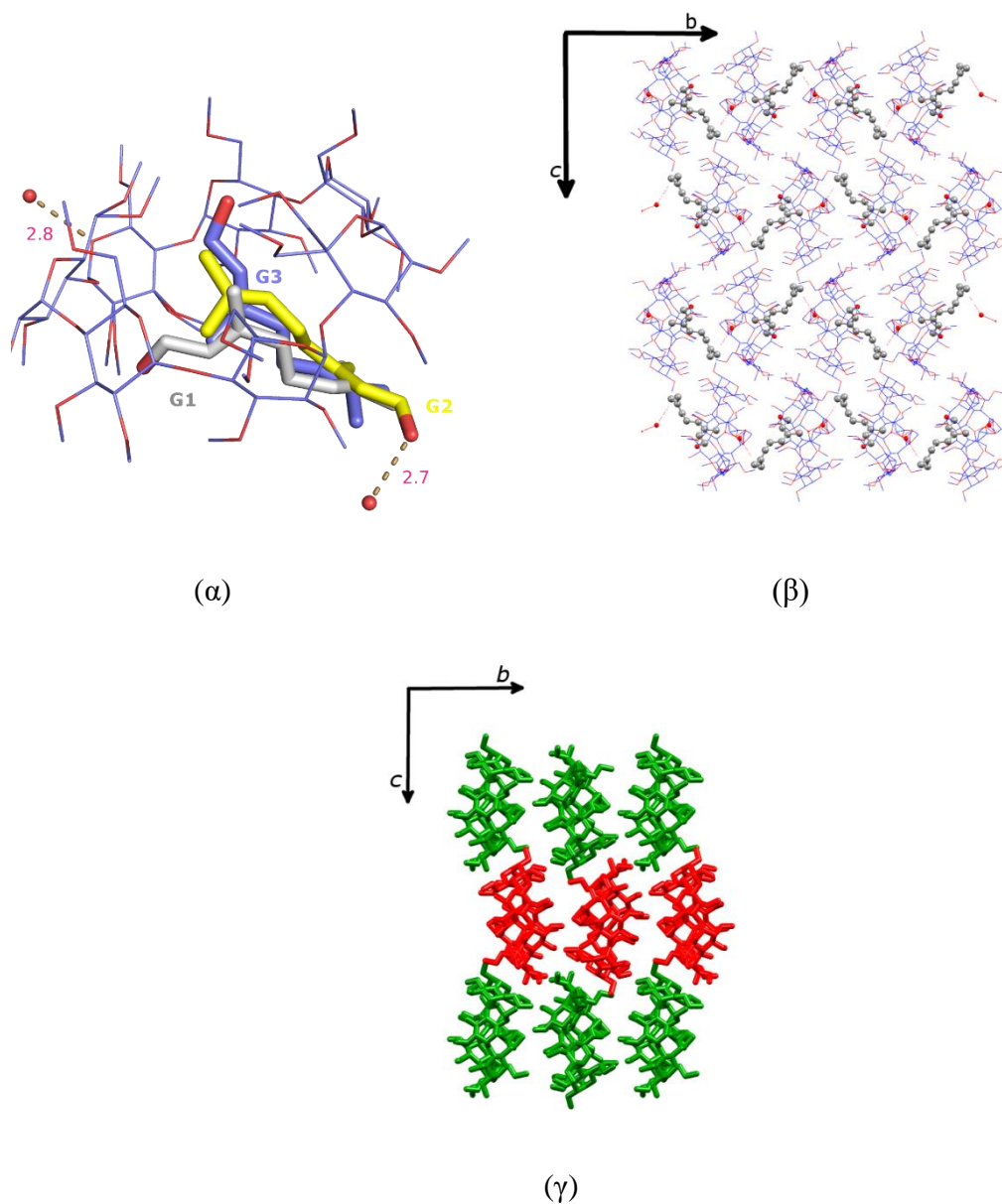
μονομερή του ξενιστή αποκλίνουν αρκετά από το μέσο επίπεδο που σχηματίζουν τα άτομα οξυγόνου O_{4n} και σχηματίζουν ένα ελλειπτικό επτάγωνο. Οι διέδρες γωνίες μεταξύ των επιπέδων $O_{4n-1}-C_{1n}-C_{4n}-O_{4n}$ και εκείνου των O_{4n} (τ) εμφανίζουν μεγάλο εύρος τιμών ($13,90(2)^\circ$ έως $43,3(2)^\circ$). Έτσι, δεν εντοπίζονται ενδομοριακοί υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των δευτεροταγών μεθόξυ-ομάδων, με αποτέλεσμα να έχουμε έναν ισχυρά παραμορφωμένο ξενιστή. Πέντε υπερ-μεθυλιωμένες γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διέδρες γωνίες, γεγονός που υποδηλώνει πως οι πρωτοταγείς πλευρές τους συγκλίνουν προς τον μοριακό άξονα 7^{th} τάξης του μακρόκυκλου, ενώ, οι υπόλοιπες δύο, προσανατολίζονται προς το εξωτερικό του κώνου. Αυτή είναι μία συνηθισμένη εικόνα της $TM-\beta-CD$, η οποία εμφανίζεται σε μια πληθώρα προϊόντων εγκλεισμού της (Harata et al., 1983). Παρ' όλ' αυτά, αρκετές μεθυλο-ομάδες, στις δύο πλευρές του κώνου, εμφανίζονται αποδιατεταγμένες σε δύο θέσεις. Η μελέτη των γωνιών συστροφής των ατόμων $O_{5n}-C_{5n}-C_{6n}-O_{6n}$ έδειξε πως τρεις από τις τέσσερις πλήρως εντοπισμένες πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες εμφανίζουν τη «*gauche-gauche*» (*gg*) διαμόρφωση, κατευθυνόμενες προς το εξωτερικό του κώνου ενώ μία μόνο τη «*gauche-trans*» (*gt*), με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του. Οι υπόλοιπες αποδιατεταγμένες μεθόξυ-ομάδες εμφανίζουν και τις τρεις πιθανές διαμορφώσεις (*gg*, *gt* και την «*trans-gauche*» (*tg*)) Πίνακας Π.3.

Συνεπώς, οι πρωτοταγείς μεθόξυ-ομάδες σχηματίζουν ένα κλειστό καπάκι (Cruickshank et al., 2013b) στη στενή περιοχή της $TM-\beta-CD$, ένα φαινόμενο που παρατηρείται σε μια πληθώρα προϊόντων εγκλεισμού της $TM-\beta-CD$. Επομένως, ο μακρόκυκλος φαίνεται να κλείνει από την πρωτοταγή πλευρά του εμποδίζοντας το ξενιζόμενο μόριο να εισχωρήσει αρκετά στην κοιλότητά του.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού γερανιόλης/ $TM-\beta-CD$

Τα προϊόντα εγκλεισμού διευθετούνται σχηματίζοντας περιστρεφόμενα κανάλια με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς» παράλληλα στον άξονα b (Σχήμα 15β,γ). Η μετατόπιση δύο διαδοχικών μονομερών της ίδιας στήλης είναι $3,392(6)\text{\AA}$. Οι αντιπαράλληλες στήλες σταθεροποιούνται μέσω διαμορικών δεσμών C-H...O μεταξύ των ξενιστών και ενός μοναδικού υδρογονικού δεσμού ανάμεσα στο αιθερικό άτομο οξυγόνου O_{54} του ξενιστή και ενός μορίου νερού (απόσταση $O_{52}\dots O_{W1} = 2,841(6)\text{\AA}$). Αυτό το πακετάρισμα χαρακτηρίζει αρκετές ισόμορφες δομές προϊόντων εγκλεισμού της $TM-\beta-CD$ με ποικίλα ξενιζόμενα μόρια, όχι μόνο γραμμικά (Fourtaka

et al., 2018)(DEWMIE), αλλά και κυκλικά όπως το δι-μεθοξυ-[3-μεθυλο-4-(μεθυλοθειο)φαινοξυ]-θειικό φωσφοράνιο/TM- β -CD (CIJVEY) (Cruickshank et al., 2013) και η 3-κυκλο-οκτυλο-1,1-δι-μεθυλο-ουρία/TM- β -CD (OYAPIO).



Σχήμα 15: (α) Το προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/TM- β -CD. Όλες οι θέσεις G1, G2 και G3 (γκρι με αριθμό κατάληψης: 60%, κίτρινο με αρ.κατάληψης: 20% και μωβ με αρ. κατάληψης: 20%, αντίστοιχα) διευθετούνται με διαφορετικό τρόπο μέσα στην κοιλότητα. Το μόριο νερού λειτουργεί ως γέφυρα συνδέοντας το ξενιζόμενο μόριο με τους γειτονικούς ξενιστές, (β) τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν περιστρεφόμενα κανάλια με τη βοήθεια των υδρογονικών δεσμών που συνδέουν ξενιστή-νερό-

ξενιζόμενα μόρια και (γ) τα προϊόντα εγκλεισμού σε μοτίβο «κεφαλής-ουράς» σχηματίζουν αντιπαράλληλα περιστρεφόμενα κανάλια κατά μήκος του άξονα b .

10.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD

Η γερανιόλη είναι ένα γραμμικό μονοτερπένιο και σχηματίζει σταθερά προϊόντα εγκλεισμού με όλες τις κυκλοδεξτρίνες που μελετήθηκαν.

Το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/ β -CD σχηματίζει το «κλασσικό διμερές», το οποίο κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου $P2_1$, φτιάχνοντας αυλούς κατά μήκος του άξονα a . Το ενθυλακωμένο μόριο της γερανιόλης εντοπίζεται αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις σε κάθε ξενιστή, συνεπώς υπάρχουν δύο πιθανά μοντέλα που αφορούν τη διεύθυνση του ξενιζομένου μορίου μέσα στην κοιλότητα του διμερούς. Το δίκτυο υδρογονικών δεσμών παίζει σημαντικό ρόλο στην στήριξη και σταθεροποίηση των σχηματιζόμενων καναλιών.

Σε ότι αφορά τα προϊόντα εγκλεισμού της γερανιόλης σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, αυτά κρυσταλλώνουν σε ομάδα χώρου $P2_12_12_1$ και διευθετούνται σε μοτίβο «κεφαλής-ουράς» κατά τον άξονα b . Οι διαφορές στις δομές τους εντοπίζονται κυρίως στην κρυσταλλική διεύθυνση αφού το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/DM- β -CD φτιάχνει κανάλια ενώ το αντίστοιχο με TM- β -CD, περιστρεφόμενα κανάλια. Στο προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/DM- β -CD, η γερανιόλη βρίσκεται αποδιατεταγμένη σε δύο θέσεις μέσα στην κοιλότητα του ξενιστή, με την αλειφατική ουρά της να προεξέχει έως το μεσοδιάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών προϊόντων εγκλεισμού της ίδιας στήλης, ενώ, ένα δίκτυο νερών σταθεροποιεί τη δομή.

Τα κύρια χαρακτηριστικά του συμπλόκου εγκλεισμού της γερανιόλης/TM- β -CD είναι η σαφώς ευρύτερη κοιλότητα που διαθέτει ο ξενιστής και οι τρεις αποδιατεταγμένες θέσεις του μορίου της γερανιόλης, δύο από τις οποίες διευθετούνται με τις υδροξυλικές τους ομάδες να βρίσκονται μέσα στην κοιλότητα, ενώ, η άλλη να εντοπίζεται έξω από αυτήν.

11. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΣΕ α -CD, β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.

11.1. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ α -CD

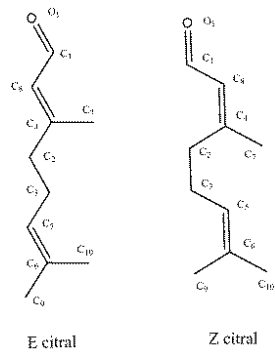
Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD κρυσταλλώνει στο τρικλινές κρυσταλλικό σύστημα *P1* και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει δύο μόρια α -CD (Host_A και Host_B) και ένα μόριο κιτράλης απεντοπισμένο σε δύο θέσεις, αυτή του Z- και του E-στερεοϊσομερούς της κιτράλης (σχήμα 16). Τα άτομα O1...C1...C4...C7...C8 βρίσκονται αποδιατεταγμένα με αριθμούς κατάληψης 0,6 και 0,4 για το Z- και το E- ισομερές αντίστοιχα, ενώ τα υπόλοιπα (C9...C6...C10...C5...C3...C2) της αλειφατικής αλυσίδας, είναι πλήρως εντοπισμένα στην κοιλότητα του διμερούς. Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει επίσης αιθανόλη και 9 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 10 θέσεις. Υπάρχει επίσης ένα μόριο αιθανόλης (OEt1, OEt2, OEt3) αποδιατεταγμένο σε τρεις θέσεις πλάι στην πρωτοταγή πλευρά του προϊόντος εγκλεισμού, το οποίο σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με το μόριο της κιτράλης όπως φαίνεται στο Σχήμα 17α. Τα μόρια ξενιστές διευθετούνται στον κρύσταλλο ώστε η ευρεία δευτεροταγής πλευρά του ενός να βρίσκεται απέναντι από τη δευτεροταγή πλευρά του άλλου σχηματίζοντας διμερή που συγκρατούνται μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ των δευτεροταγών υδροξυλομάδων O3nH (Σχήμα 17α). Παρ' όλ' αυτά, οι δύο εναντιομερείς μορφές της E- και Z- κιτράλης εντοπίζονται στην κοιλότητα της CD_A σχηματίζοντας προϊόντα εγκλεισμού με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 2:1 στην κρυσταλλική κατάσταση. Τα γραμμικά ξενιζόμενα μόρια διευθετούνται αξονικά στην κοιλότητα του διμερούς (με τον άξονα της O1...C1...C8...C4...C2...C3...C5...C6) (Σχήμα 17α). Οι υδρόφοβες άλκυλο-ομάδες των ξενιζομένων μορίων βρίσκονται στο διάκενο μεταξύ των διμερών ενώ η αλδεϋδο-ομάδα τους πλάι στην πρωτοταγή περιοχή του ξενιστή σχηματίζοντας υδρογονικό δεσμό με ένα (απεντοπισμένο σε 8 θέσεις) από τα 10 μόρια νερού. Από την άλλη πλευρά, οι ξενιστές των γειτονικών προϊόντων εγκλεισμού συγκρατούνται είτε άμεσα μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ των πρωτοταγών υδροξυλομάδων είτε έμμεσα με υδρογονικούς δεσμούς με μόρια νερού που λειτουργούν ως γέφυρες (Πίνακας I.2).

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που αφορούν τη διεύθετηση των μορίων της α -CD στο χώρο παρουσιάζονται στον πίνακα II.4. Τα άτομα οξυγόνου (O4n) των

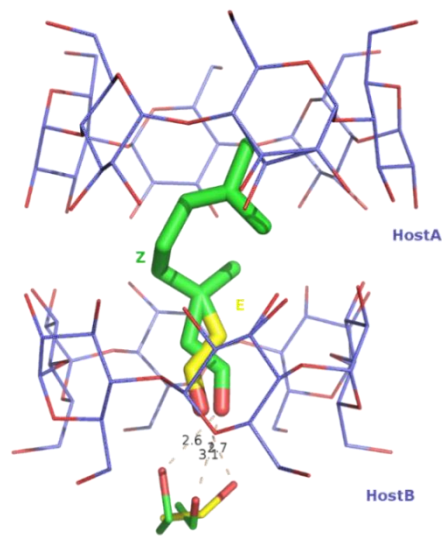
γλυκοζιτικών μονάδων των δύο ξενιστών σχηματίζουν κανονικά εξάγωνα, σχεδόν επίπεδα, όπως φαίνεται από τις αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αποκλίσεις από το μέσο επίπεδο των O4n. Οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διεδρες γωνίες (tilt angles), γεγονός που υποδηλώνει πως οι πρωτοταγείς πλευρές συγκλίνουν προς το εσωτερικό του κώνου. Όλες οι πρωτοταγείς υδροξυλο-ομάδες του ξενιστή εμφανίζουν τη λεγόμενη «gauche-gauche» (gg) διαμόρφωση με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κυκλοδεξτρίνης.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού κιτράλης/a-CD

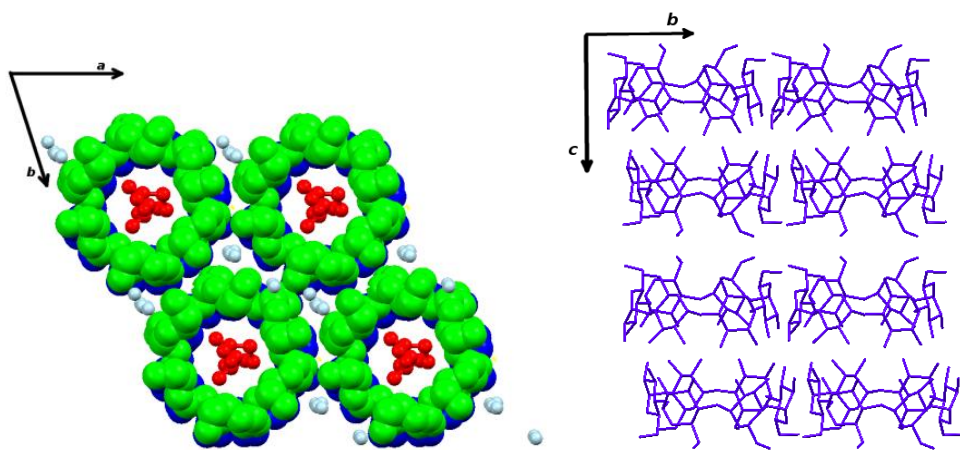
Τα σχηματιζόμενα διμερή των *a-CD* διευθετούνται κατά μήκος του άξονα *c* και σχηματίζουν στρώσεις στο επίπεδο των *ab* κρυσταλλογραφικών αξόνων (Σχήμα 17β,γ). Ο αντίστοιχος άξονας έκτης τάξης σχηματίζει γωνία 81,5° με τον άξονα *c* ενώ η μετατόπιση μεταξύ δύο γειτονικών διμερών κατά τον άξονα *c* είναι 2,05Å. Τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν στήλες κατά τον άξονα *c* ενώ η μετατόπιση ανάμεσα σε δύο γειτονικές στήλες είναι 15,41 Å. Σύμφωνα με την ταξινόμηση των (Harata and Kawano, 2002) που έκαναν για τα προϊόντα εγκλεισμού σε *a-CDs*, παρατηρείται ότι στην ασύμμετρη μονάδα έχουμε σχηματισμό διμερών «κεφαλής-κεφαλής» (η δευτεροταγής περιοχή της μιας αντικρύζει τη δευτεροταγή περιοχή της άλλης) με κάθε *a-CD* να συγκλίνει ως προς τον άξονα του σχηματιζόμενου αυλού, επομένως τα δύο μόρια της *a-CD* είναι μετατοπισμένα ως προς τον άξονα του κάθε αυλού, ώστε να επιτευχθεί αυτό το γραμμικό πακετάρισμα (Σχήμα 17γ). Μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD (Groom et al., 2016) βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας οδήγησε σε 11 ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού με την *a-CD* τα οποία κρυσταλλώνουν επίσης σε τρικλινές σύστημα έχοντας την ίδια κρυσταλλική διεύθυνση στο χώρο. Συγκεκριμένα, το προϊόν εγκλεισμού του διαίθυλο-φουμαρικού/a-CD(CIGLAG)(Choi et al., 2006) και του βουτυλο-ισοθειοκυανικού/a-CD(XIGBOE) (Sicard-Roselli et al., 2001) σχηματίζουν διμερή κεφαλής-κεφαλής ή ουράς-ουράς όπου το ξενιζόμενο μόριο διευθετείται στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των γειτονικών διμερών των *a-CDs*. Οι υπόλοιπες δομές σχηματίζουν διμερή προϊόντων εγκλεισμού αφού το ξενιζόμενο μόριο είναι πλήρως ενθλακωμένο στην υδροφοβική κοιλότητα του διμερούς όπως στην περίπτωση της κιτράλης/a-CD.



Σχήμα 16: Σχηματική αναπαράσταση E- και Z- στερεοϊσομερούς της κιτράλης



(α)



(β)

(γ)

Σχήμα 17: (α) Το προϊόν εγκλεισμού της E-,Z-κιτράλης/ α -CD σχηματίζει διμερή με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 2:1. Οι δύο διαμορφώσεις (E- και Z-) της κιτράλης έχουν εγκλεισθεί σχηματίζοντας ένα ισχυρά αποδιατεταγμένο μόριο κιτράλης, (β) προβολές των προϊόντων εγκλεισμού κατά τον άξονα *c*. Οι α -CDs σχηματίζουν στρώσεις κατά το *ab* επίπεδο και παρουσιάζονται χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Mercury (γ) κρυσταλλική διευθέτηση διμερών στο επίπεδο *bc*. Το μόριο της κιτράλης παραλείπεται χάριν ευκρίνειας.

11.2. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ β -CD

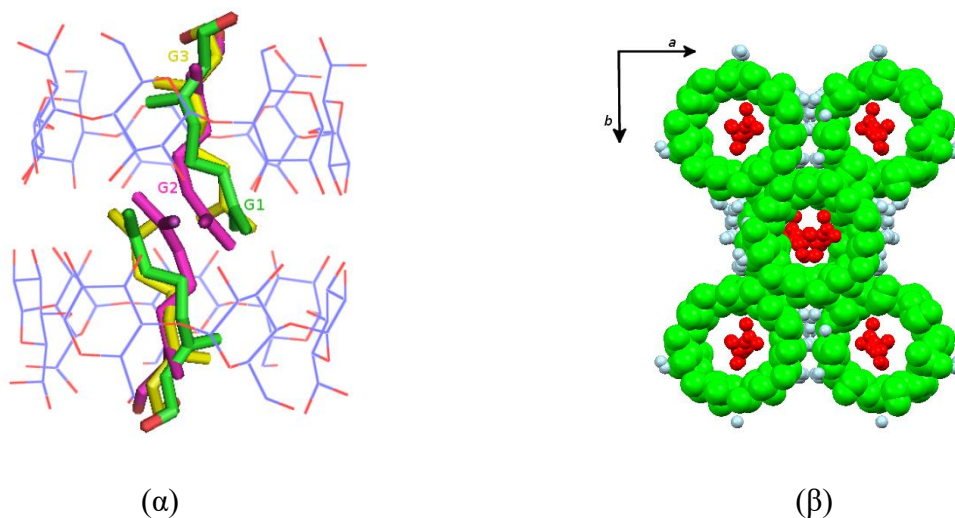
Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/ β -CD κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου C2 και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο β -CD, ένα μόριο κιτράλης και 6,3 μόρια νερού απεντοπισμένα σε 19 θέσεις. Τα μόρια ξενιστές σχηματίζουν διμερή ώστε η ευρεία δευτεροταγής πλευρά του ενός να «αντικρίζει» τη δευτεροταγή πλευρά του άλλου συνάπτοντας υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ τους μέσω των δευτεροταγών υδροξυλομάδων (Σχήμα 18α). Παρ' όλ' αυτά, μόνο το E- στερεοϊσομερές της κιτράλης εντοπίζεται στην κοιλότητα του διμερούς με αριθμούς κατάληψης 0,3 (G1), 0,3 (G2) και 0,4 (G3) αντίστοιχα. Δύο από τα άτομα οξυγόνου (O1) του ξενιζομένου μορίου (G1 και G3) εντοπίζονται σε ειδικές θέσεις “special positions” επομένως έχουν τους μισούς αριθμούς κατάληψης σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα της κιτράλης. Συνεπώς, η E-κιτράλη σχηματίζει προϊόντα εγκλεισμού με τη β -CD σε αναλογία 2:2 (ξενιστή:ξενιζομένου μορίου) στην κρυσταλλική κατάσταση. Όμως λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων συνυπάρχουν μόνο τα ζεύγη G1-G2 και G1-G3 στη σχηματιζόμενη κοιλότητα του διμερούς. Τα ξενιζόμενα μόρια διευθετούνται αξονικά μέσα στην κοιλότητα του διμερούς με τον επιμήκη άξονά τους (άξονα που σχηματίζουν τα O1-C1-C8-C4-C2-C3-C5-C6). Οι υδρόφοβες αλκυλο-ομάδες εντοπίζονται στον ενδιάμεσο χώρο που σχηματίζουν τα διμερή ενώ οι αλδεϋδο-ομάδες προεξέχουν από τις πρωτοταγείς περιοχές των κυκλοδεξτρινών. Τα γειτονικά προϊόντα εγκλεισμού συγκρατούνται είτε άμεσα μέσω υδρογονικών δεσμών με τα πρωτοταγή υδροξύλια είτε έμμεσα δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου με μόρια νερού που λειτουργούν ως γέφυρες στην κρυσταλλική κατάσταση.

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που αφορούν τη διευθέτηση των ξενιστών στον κρύσταλλο παρατίθενται στον Πίνακα II.5. Τα γλυκοζιτικά άτομα οξυγόνου O4*n* των

β -CDs σχηματίζουν κανονικά επτάγωνα, σχεδόν επίπεδα όπως φαίνεται και από τις αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αντίστοιχες αποκλίσεις από το μέσο επίπεδο που σχηματίζουν τα γλυκοζιτικά οξυγόνα ($O4_n$). Οι γλυκοζιτικές μονάδες σχηματίζουν θετικές διεδρες γωνίες ($O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n$), επομένως οι πρωτοταγείς πλευρές κατευθύνονται προς το εσωτερικό του αντίστοιχου άξονα 7^{ης} τάξης του κώνου. Όλα τα πρωτοταγή υδροξύλια των ξενιστών εμφανίζουν τη «gauche-gauche» διαμόρφωση με την γωνία συστροφής των $O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$ να κυμαίνεται γύρω στις 60° , με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας και σχηματίζοντας υδρογονικούς δεσμούς με μόρια νερού-γέφυρες στην κρυσταλλική κατάσταση.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού κιτράλης β -CD

Τα διμερή των β -CDs διευθετούνται κατά μήκος του άξονα c σχηματίζοντας στρώσεις στο κρυσταλλικό επίπεδο ab . Ο αντίστοιχος άξονας 7^{ης} τάξης των β -CDs σχηματίζει γωνία $89,95^\circ$ με τον κρυσταλλογραφικό άξονα c . Η μετατόπιση μεταξύ των σχηματιζόμενων διμερών κατά μήκος του άξονα c είναι $2,82 \text{ \AA}$, γεγονός που υποδηλώνει το σχηματισμό καναλιών (*IM*, Channel packing mode, εύρος μετατόπισης: $2,7-3,1 \text{ \AA}$) (Mentzafos et al., 1991). Ωστόσο έγινε αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD, βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας, όπου βρέθηκαν 28 ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού και κλαθράτα (clathrates) των β -CD τα οποία κρυσταλλώνουν είτε στο τρικλινές ($P1$) είτε στο μονοκλινές ($C2$) κρυσταλλικό σύστημα με την ίδια κρυσταλλική διευθέτηση (κανάλια κατά τον άξονα c).



Σχήμα 18: **(α)** Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/ β -CD σχηματίζει διμερή με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 2:2. Μόνο η E- διαμόρφωση της κιτράλης, αποδιατεταγμένη σε τρεις θέσεις, εντοπίστηκε στην κοιλότητα του διμερούς. Τα μόρια νερού παραλείπονται χάριν ευκρίνειας. **(β)** προβολή της κρυσταλλικής διευθέτησης των προϊόντων εγκλεισμού κατά τον άξονα *c*. Στο χωροπληρωματικό μοντέλο της εικόνας οι β -CDs σχηματίζουν στρώσεις στο επίπεδο *ab*.

11.3. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/DM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/DM-β-CD κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου $P2_12_12_1$ και η ασύμμετρη μονάδα περιέχει ένα μόριο *E*-κιτράλης με κατάληψη 100% εγκλεισμένο στην κοιλότητα της DM-β-CD και ένα μόριο νερού, απεντοπισμένο σε δύο θέσεις με αριθμούς κατάληψης 50% η καθεμία να διευθετείται εξωτερικά του προϊόντος εγκλεισμού. Επομένως η στοιχειομετρία του προϊόντος εγκλεισμού φαίνεται να είναι 1:1. Μόνο το *E*-εναντιομερές της κιτράλης εντοπίζεται στην κοιλότητα της DM-β-CD με την αλδεϋδομάδα να προσανατολίζεται πλάι στις μεθόξυ-ομάδες της πρωτοταγούς πλευράς του κώνου και την υδρόφοβη αλυσίδα της να εκτείνεται έως την ευρεία πλευρά της κυκλοδεξτρίνης (Σχήμα 19α). Τα σύμπλοκα εγκλεισμού σταθεροποιούνται με δεσμούς υδρογόνου μέσω των νερών που γειφυρώνουν τα γειτονικά μονομερή.

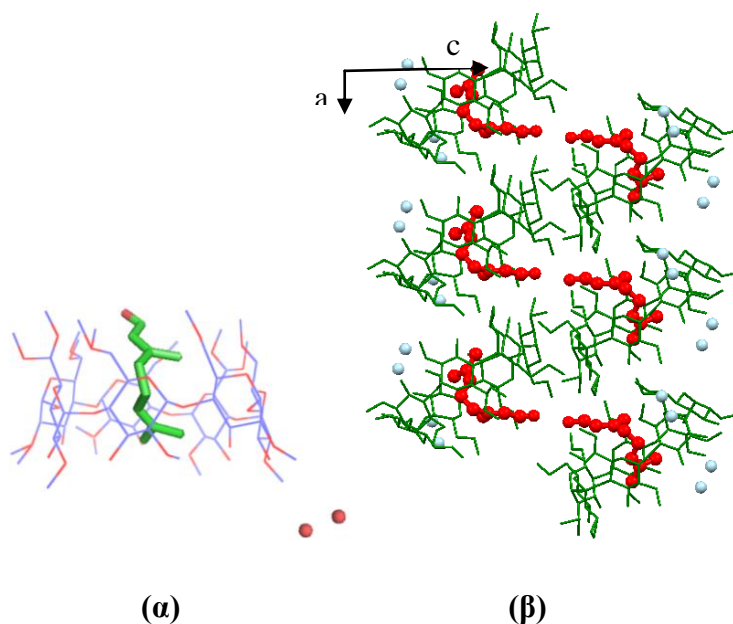
Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά D , D_k και Φ της DM-β-CD (Πίνακας II.5) υποδηλώνουν έναν μακρόκυκλο που εμφανίζει συνάφεια με εκείνον της β-CD και παραπέμπουν σε ένα κανονικό επτάγωνο. Όλα τα μονομερή συντελούν στη δημιουργία της κωνικής γεωμετρίας αφού κανένα δεν αποκλίνει από τη γεωμετρία αυτή και όλες οι διεδρες γωνίες μεταξύ του επιπέδου $O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n$ και εκείνου των $O4$ εμφανίζονται θετικές. Η μελέτη των γωνιών συστροφής (τ) $O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$ των πρωτοταγών μεθόξυ-ομάδων έδειξε πως ανάμεσα στις τέσσερις πλήρως εντοπισμένες μεθόξυ-ομάδες, οι δύο εμφανίζουν τη «gauche-gauche» διαμόρφωση κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του κώνου ενώ οι άλλες δύο τη «gauche-trans» με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας της DM-β-CD. Οι υπόλοιπες τρεις γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν και τις δύο διαμορφώσεις αφού οι μεθόξυ-ομάδες ($O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$) βρίσκονται απεντοπισμένες σε δύο θέσεις η καθεμία (Πίνακας II.6). Συνεπώς, το μόριο ξενιστής εμφανίζει τη διαμόρφωση ενός «ανοικτού» κόλπου κώνου ο οποίος επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εξέλθει και από τις δύο πλευρές του.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού κιτράλης/DM-β-CD

Τα μονομερή των DM-β-CDs διευθετούνται κατά μήκος του άξονα a σχηματίζοντας αντιπαράλληλες στήλες τύπου «βίδας» κατά μήκος του άξονα a και το μέσο επίπεδο των ατόμων $O4_n$ δημιουργεί με αυτόν γωνία $54,28^\circ$, όπως φαίνεται στο Σχήμα 19β. Έτσι η ευρεία (δευτεροταγής) πλευρά του ενός αντικρίζει τη στενή (πρωτοταγή)

πλευρά του αμέσως επόμενου (head-to-tail mode). Το μόριο νερού γεφυρώνει τις γειτονικές αντιπαράλληλες στήλες σχηματίζοντας υδρογονικούς δεσμούς με το άτομο οξυγόνου, O61, της πρωτοταγούς (στενής) περιοχής και το άτομο οξυγόνου, O31, της δευτεροταγούς (ευρείας) πλευράς της DM- β -CD (Σχήμα 19α,β).

Επιπλέον πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD, βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας και βρέθηκαν δύο ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού που κρυσταλλώνουν στην ίδια ομάδα χώρου ($P2_12_12_1$) και με παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας. Το πρώτο αφορά το προϊόν εγκλεισμού διθειοφαινίου/DM- β -CD (XIXKUL) (Takashima et al., 2006) το οποίο σχηματίζει μονομερή με αναλογία 1:1 και όμοιο πακετάρισμα (αντιπαράλληλες στήλες κατά τον a άξονα) στο χώρο όπως και στην περίπτωση της κιτράλης/DM- β -CD. Το δεύτερο είναι το προϊόν εγκλεισμού του οξικού-μετα-τολουολίου/DM- β -CD το οποίο κρυσταλλώνει επίσης στην ίδια ομάδα χώρου με παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας (Vyas and Kempster, 1984).



Σχήμα 19: **(α)** Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/DM- β -CD σχηματίζει μονομερή με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 1:1. Μόνο η E- διαμόρφωση της κιτράλης εντοπίστηκε στην κοιλότητα του διμερούς **(β)** προβολή της κρυσταλλικής διευθέτησης των προϊόντων εγκλεισμού κατά τον άξονα a . Στο χωροπληρωματικό μοντέλο της εικόνας οι DM- β -CDs σχηματίζουν αντιπαράλληλες στήλες στο επίπεδο ac .

11.4. Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/TM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/TM-β-CD κρυσταλλώνει στην ορθορομβική ομάδα χώρου $P2_12_12_1$ και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο κιτράλης ενθυλακωμένο σε ένα μόριο TM-β-CD και ένα μόριο νερού απεντοπισμένο σε δύο θέσεις (OW1 και OW2) με αριθμούς κατάληψης 0,7 και 0,3 καθεμιά. Το μόριο της κιτράλης βρίσκεται εγκλεισμένο και απεντοπισμένο σε δύο θέσεις, G1 (0,7) και G2 (0,3), που αντιστοιχούν στο E- και Z- στερεοϊσομερές αντίστοιχα, στην κοιλότητα του ξενιστή. Συνεπώς η E-/Z- κιτράλη σχηματίζει προϊόντα εγκλεισμού με την TM-β-CD σε αναλογία 1:1. Παρ' όλ' αυτά, το ξενιζόμενο μόριο εμφανίζει δύο εντελώς διαφορετικές διευθετήσεις στην κοιλότητα της TM-β-CD. Σε ότι αφορά τη θέση G1, το μόριο της κιτράλης βρίσκεται πλήρως ενθυλακωμένο στην TM-β-CD, έχοντας μια εκτεταμένη διαμόρφωση, με το γραμμικό της άξονα (άξονας που σχηματίζουν τα άτομα O1A-C1A-C2A-C3A-C4A-C5A-C6A-C7A), να διευθετείται κάθετα στην κοιλότητα, με την αλδεϋδο-ομάδα να προσανατολίζεται πλάι στην πρωτοταγή-στενή πλευρά και την υδρόφοβη ουρά να εκτείνεται πλάι στη δευτεροταγή-ευρεία πλευρά του κώνου (Σχήμα 20α). Αντίθετα το Z- στερεοϊσομερές (G2) της κιτράλης εμφανίζει μια εντελώς διαφορετική, πιο «κεκαμένη», διευθέτηση αφού βρίσκεται κυρίως στην ευρεία πλευρά του κώνου έχοντας και την αλδεϋδο-ομάδα αλλά και την «ουρά» της στη δευτεροταγή περιοχή των μεθοξυ-ομάδων (Σχήμα 20α) της TM-β-CD. Το μοναδικό απεντοπισμένο μόριο νερού συμπληρώνει την ασύμμετρη μονάδα αφού η θέση G1 συνυπάρχει με την OW1 και η G2 με την OW2 του μορίου του νερού. Επιπλέον η θέση OW1 του νερού συνάπτει δεσμό υδρογόνου (~2,9Å) με το άτομο οξυγόνου O55 της γειτονικής κυκλοδεξτρίνης. Συνεπώς η θέση G1 του ξενιζομένου μορίου θα λέγαμε πως έχει εγκλεισθεί σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τη G2 διότι η κιτράλη στην πρώτη περίπτωση εισχωρεί περισσότερο στην υδρόφοβη κοιλότητα της TM-β-CD και πλησιάζει την πρωτοταγή πλευρά του κώνου ενώ η G2 βρίσκεται κυρίως στην ευρεία περιοχή.

Η διαμόρφωση της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού με την κιτράλη εμφανίζει διαφορές σε σχέση με εκείνη των β-CD και DM-β-CD στα αντίστοιχα σύμπλοκα εγκλεισμού. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που αφορούν τη διαμόρφωση της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/TM-β-CD παρατίθενται στον Πίνακα II.7. Τα γλυκοζιτικά άτομα οξυγόνου (O4n) που συνδέουν μεταξύ τους τα μονομερή του ξενιστή αποκλίνουν αρκετά από το μέσο επίπεδο που σχηματίζουν τα O4n και

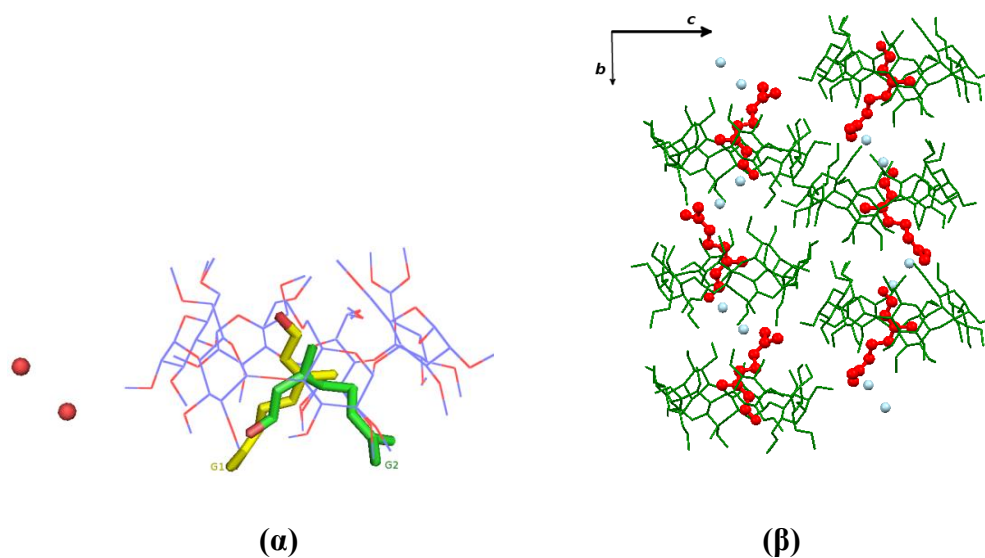
σχηματίζουν ένα ελλειπτικό επτάγωνο. Δεν εντοπίζονται ενδομοριακοί υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των δευτεροταγών μεθοξυ-ομάδων με αποτέλεσμα να έχουμε ένα ισχυρά παραμορφωμένο μόριο-ξενιστή. Τα γεωμετρικά στοιχεία του ξενιστή δείχνουν επίσης πως πέντε γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές γωνίες συστροφής κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του μακρόκυκλου ενώ οι υπόλοιπες δύο (2 και 5) κατευθύνονται προς το εξωτερικό αυτού όπως συμβαίνει στην πλειοψηφία των συμπλόκων εγκλεισμού της TM-β-CD.

Από τη μελέτη των γωνιών συστροφής $O5_{n-1}-C5_n-C6_n-O6_n$ παρατηρούμε ότι επικρατούν κυρίως οι «gauche-gauche» (gg) διαμορφώσεις με εξαίρεση κάποιες απεντοπισμένες θέσεις των μεθόξυ ομάδων που εμφανίζουν τη «gauche-trans»(gt) και την «trans-gauche» (tg) διαμόρφωση. Παρατηρούμε λοιπόν το σχηματισμό ενός «καπακιού» στην πρωτοταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για τα προϊόντα εγκλεισμού που αφορούν την TM-β-CD (Caira et al., 2017), που δεν επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εισέλθει πλήρως στην υδρόφοβη κοιλότητα.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού κιτράλης/TM-β-CD

Τα προϊόντα εγκλεισμού της κιτράλης/TM-β-CD πακετάρονται σε διαδοχικούς περιστρεφόμενους αυλούς τύπου «βίδας» και διευθετούνται με τρόπο κεφαλής-ουράς κατά μήκος του άξονα *b*. Η μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών ξενιστών σε μια στήλη είναι 11,28Å. Το μοτίβο αυτό της κρυσταλλικής διευθέτησης είναι συνηθισμένο και χαρακτηρίζει αρκετές ισόμορφες δομές προϊόντων εγκλεισμού των TM-β-CDs. Συγκεκριμένα μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD, βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας έδωσε 4 ισόμορφα σύμπλοκα εγκλεισμού υπερμεθυλιωμένων β-κυκλοδεξτρινών που κρυσταλλώνουν στο ορθορομβικό ($P2_12_12_1$) σύστημα και σχηματίζουν περιστρεφόμενα κανάλια κατά τον άξονα *b*. Αυτά είναι το 2-χλωρο-N-(αιθοξυμεθυλ)-N-(2-αιθυλ-6-μεθυλφαινυλο) ακεταμίδιο/TM-β-CD (CIJVIC) (Cruickshank et al., 2013), το (S)-παρα-μεθόξυφαινυλοπρόπουλοσουλφινικό/TM-β-CD (SIBSIG) (N.Stellenboom, 2007), το 3-κυκλοοκτυλο-1,1-διμεθυλ-ουρία/TM-β-CD (OYAPIO) και τοπ-ιωδο-φαινόλη/TM-β-CD (CAMPPI) (Harata et al., 1983). Τα δύο τελευταία προϊόντα εγκλεισμού περιέχουν στην ασύμμετρη μονάδα ένα (περίπτωση κιτράλης/TM-β-CD) και τέσσερα

μόρια νερού αντίστοιχα. Αυτό το μόριο ή δίκτυο νερών διευθετείται έξω από την κοιλότητα της TM- β -CD σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου είτε μεταξύ των ξενιζομένων μορίων και των γειτονικών περιστρεφόμενων αυλών, είτε μόνο μεταξύ των γειτονικών αυλών των TM- β -CDs.



Σχήμα 20: **(α)** Το προϊόν εγκλεισμού της κιτράλης/TM- β -CD σχηματίζει μονομερή με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 1:1. Η E-κιτράλη (G1) έχει αριθμό κατάληψης 0,7 ενώ η Z-κιτράλη (G2) εντοπίζεται με 0,3 **(β)** κρυσταλλική διευθέτηση των προϊόντων εγκλεισμού της κιτράλης/TM- β -CD. Στο μοντέλο της εικόνας τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν αντιπαράλληλες στήλες τύπου ζιγκ-ζαγκ/βίδας κατά μήκος του άξονα b .

11.5. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD, β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD

Στο κεφάλαιο αυτό μελετήθηκαν με κρυσταλλογραφία ακτίνων X τα προϊόντα εγκλεισμού της E-/Z-κιτράλης σε φυσικές και μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες. Και τα δύο στερεοϊσομερή της κιτράλης εντοπίζονται στις κοιλότητες των CDs, επομένως αξίζει να τονισθεί ότι οι συγκεκριμένες CDs δεν εμφανίζουν στερεοεκλεκτικότητα.

Τα προϊόντα εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD και β -CD κρυσταλλώνουν στο P1 και C2 κρυσταλλικό σύστημα αντίστοιχα και σχηματίζουν κανάλια κατά τον άξονα c, ενώ τα προϊόντα εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες CDs στο ορθορομβικό σύστημα $P2_12_12_1$ φτιάχνοντας αντιπαράλληλες στήλες με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς» ως προς το ξενιζόμενο μόριο. Τα προϊόντα εγκλεισμού σε φυσικές CDs σχηματίζουν διμερή, ένα συνηθισμένο φαινόμενο για την α -CD και β -CD, με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 2:1 και 2:2 αντίστοιχα. Σε ότι αφορά τα σύμπλοκα της κιτράλης με τις μεθυλιωμένες DM- β -CD και TM- β -CD, αυτά σχηματίζουν μονομερή με αντίστοιχη αναλογία 1:1.

Ο εγκλεισμός φαίνεται να επηρεάζει τη διαμόρφωση των CDs αλλά και της κιτράλης αφού το ξενιζόμενο μόριο διευθετείται με διαφορετικό τρόπο στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης ανάλογα με το είδος της κυκλοδεξτρίνης. Από τη μελέτη των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των ξενιστών στα προϊόντα εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD, β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD παρατηρούμε πως τη μεγαλύτερη παραμόρφωση υφίστανται η TM- β -CD λόγω απουσίας ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών στις δευτεροταγείς περιοχές. Έτσι, η «στενή» πλευρά του κώνου σχηματίζει ένα είδος «καπακιού» που έχει ως αποτέλεσμα να ωθεί το ξενιζόμενο μόριο προς την ευρεία περιοχή των μεθόξυ-ομάδων και να μην του επιτρέπει να εξέλθει από την «κλειστή» πλευρά. Έτσι θα μπορούσαμε να πούμε πως έχουμε μερικό εγκλεισμό διότι ένα τμήμα του ξενιζομένου μορίου βρίσκεται στο μεσο-διάστημα (interface) μεταξύ δύο διαδοχικών μονομερών, ένα φαινόμενο συνηθισμένο που συναντάται σε πολλά προϊόντα εγκλεισμού των TM- β -CDs που έχουν μελετηθεί ως τώρα.

Από τη διεύθυνση του μορίου της κιτράλης στα τέσσερα σύμπλοκα εγκλεισμού, καταλήγουμε στο γεγονός ότι, στα σύμπλοκα με τις φυσικές CDs, η κιτράλη έχει μια περισσότερο εκτεταμένη διαμόρφωση στην κοιλότητα των διμερών ενώ στα προϊόντα εγκλεισμού της με τις μεθυλιωμένες αποκτά μια πιο κεκαμένη μορφή.

12. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΗΣ β -ΚΙΤΡΟΝΕΛΛΟΛΗΣ ΣΕ β -CD, DM- β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.

12.1. Προϊόν εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/ β -CD

Το προϊόν εγκλεισμού της β -κιτρονελλόλης/ β -CD κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου *P1* και η ασύμμετρη μονάδα του περιέχει δύο μόρια ξενιστές (A και B), ένα ζεύγος εναντιομερών ξενιζομένων μορίων και 25 μόρια νερού απεντοπισμένα σε 29 θέσεις. Τα δύο μόρια β -κιτρονελλόλης βρίσκονται εγκλεισμένα στην κοιλότητα του διμερούς που σχηματίζουν οι β -CD. Η ασύμμετρη μονάδα περιέχει δύο μόρια β -CD τοποθετημένα σε προσανατολισμό ουρά-ουρά και συνδεδεμένα με δεσμούς H μεταξύ των O3n-H υδροξυλομάδων τους, σχηματίζοντας διμερή. Δύο μόρια κιτρονελλόλης με προσανατολισμό ουρά-ουρά βρίσκονται απεντοπισμένα στη σχηματιζόμενη υδροφοβική κοιλότητα του διμερούς.

Η β -κιτρονελλόλη εμφανίζει δύο εναντιομερείς μορφές, την (+) και την (-). Είναι αξιοσημείωτο ότι συνυπάρχουν οι δύο αυτές μορφές στην κοιλότητα A (που σημειώνονται ως 1(+) και 1(-)) με αριθμούς κατάληψης 0,5 η καθεμία. Στην κοιλότητα B υπάρχουν επίσης οι δύο εναντιομερείς μορφές της β -κιτρονελλόλης όπου η μεν 2(+) διαμόρφωση εμφανίζει αριθμό κατάληψης 0,5 ενώ η 2(-) βρίσκεται απεντοπισμένη σε δύο θέσεις με κατάληψη 0,3 και 0,2 αντίστοιχα. Λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων τα ξενιζόμενα μόρια συνυπάρχουν μόνο ως ζεύγη 1(-)/2(+) ή 1(+)/2a,b(-). Συνεπώς, σε κάθε περίπτωση, ένα ζεύγος εναντιομερών είναι εγκλεισμένο στην υδρόφοβη κοιλότητα του διμερούς σχηματίζοντας 2:2 αναλογία στην κρυσταλλική κατάσταση.

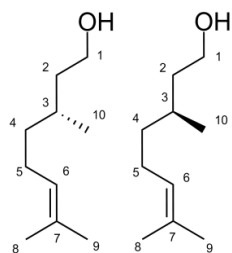
Τα ξενιζόμενα μόρια διευθετούνται κάθετα στην υδρόφοβη κοιλότητα του διμερούς με τον γραμμικό άξονά τους (άξονας που σχηματίζουν τα άτομα O1-C1-C2-C3-C4-C5-C6-C7, (Σχήμα. 21 και 22α) να σχηματίζει με τον άξονα του επταγώνου της κυκλοδεξτρίνης γωνίες μεταξύ 1,3° και 25,5°. Οι υδρόφοβες άλκυλο-ομάδες των ξενιζομένων μορίων εντοπίζονται στο μεσοδιάστημα "interface" του διμερούς ενώ οι υδροξυλομάδες τους προεξέχουν από τις πρωτοταγείς περιοχές των κυκλοδεξτρινών δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου είτε άμεσα με τα πρωτοταγή υδροξύλια των γειτονικών κυκλοδεξτρινών, είτε έμμεσα συνάπτοντας δεσμούς υδρογόνου με μόρια νερού-γέφυρες όπως φαίνεται στον πίνακα I.3.

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των ξενιστών που αφορούν τη διευθέτησή τους στο χώρο παρουσιάζονται στον πίνακα Π.8. Παρατηρούμε πως τα άτομα των $O4n$ και στις δύο κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν κανονικά επτάγωνα όπως φαίνεται από τις ίσες αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αποκλίσεις από τα αντίστοιχα μέσα επίπεδα των $O4n$. Οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διεδρες γωνίες (γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ $O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n$ και του επιπέδου των $O4$) που υποδηλώνει πως καμία γλυκοζιτική μονάδα δεν αποκλίνει από τη σχηματιζόμενη κωνική γεωμετρία των μορίων της κυκλοδεξτρίνης. Επιπρόσθετα η μελέτη των γωνιών συστροφής $O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$ έδειξε πως όλες εμφανίζουν τη λεγόμενη «gauche-gauche» διαμόρφωση με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας του κώνου όπως φαίνεται στον Πίνακα Π.8. Μία μόνο απεντοπισμένη θέση της πρωτοταγούς υδροξυλομάδας εμφανίζει τη *gauche-trans(gt)* διαμόρφωση κατευθυνόμενη προς το εσωτερικό της υδρόφοβης κοιλότητας.

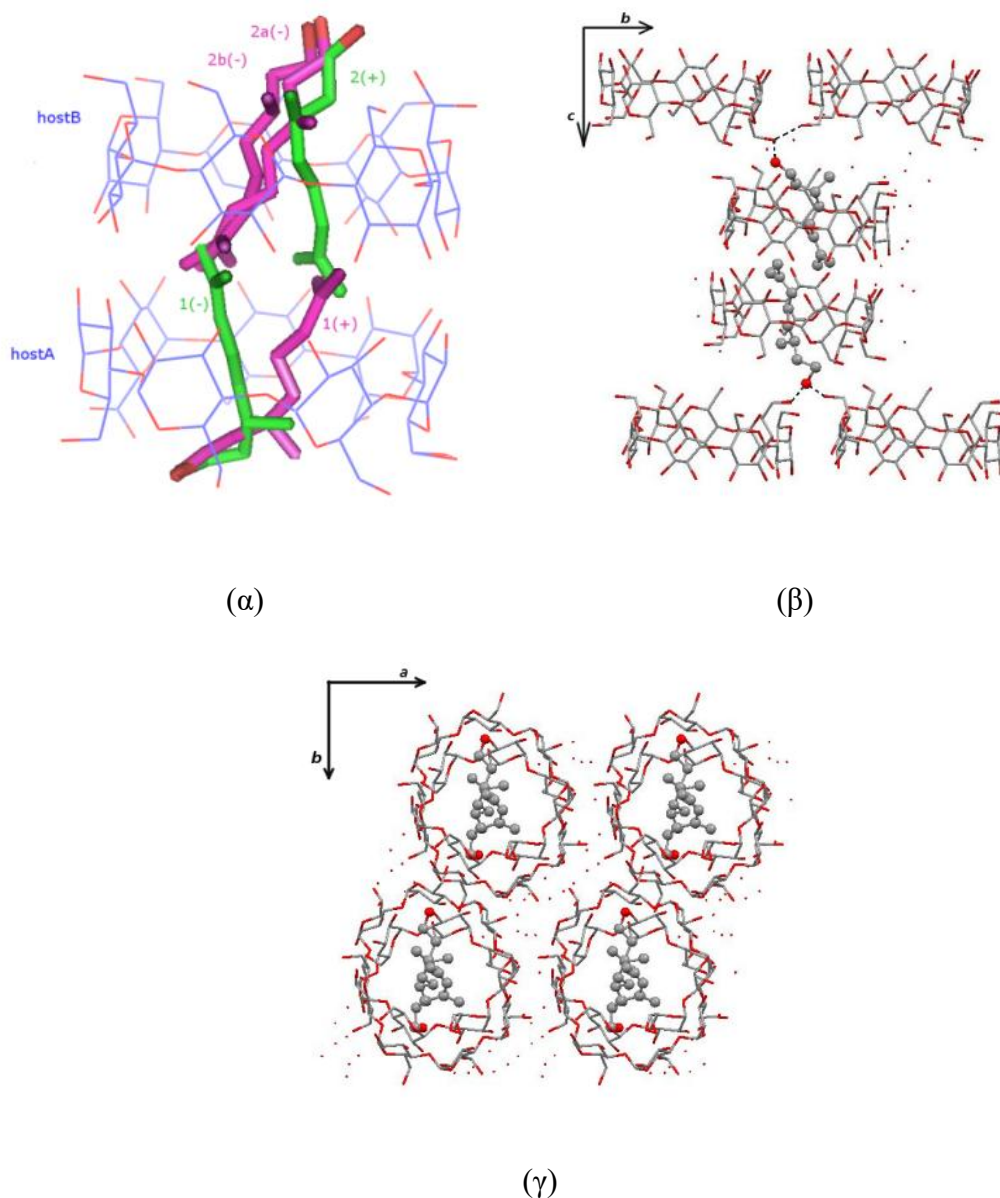
Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης/β-CD

Τα διμερή σχηματίζουν στρώσεις κατά τον άξονα *c* (Σχήμα 22β,γ). Ο κρυσταλλογραφικός άξονας έβδομης τάξης σχηματίζει γωνία $20,07^\circ$ με τον άξονα *c*. Η μετατόπιση μεταξύ δύο γειτονικών διμερών κατά τον *c*-άξονα είναι $5,93 \text{ \AA}$ πράγμα που υποδηλώνει πως τα διμερή κρυσταλλώνουν σχηματίζοντας τα λεγόμενα «ενδιάμεσα κανάλια» (Intermediate Channel, *IM*) (Mentzafos et al., 1991).

Η κρυσταλλική διευθέτηση του προϊόντος εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης/β-CD εμφανίζει αρκετές ομοιότητες με το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης/β-CD αφού και στις δύο περιπτώσεις το ξενιζόμενο μόριο είναι ένα γραμμικό μονο-τερπένιο του οποίου τα διμερή διευθετούνται σχηματίζοντας «ενδιάμεσα κανάλια» κατά τον άξονα-*c* (Ceborska et al., 2015). Όμοια κρυσταλλική διευθέτηση εμφανίζει και το προϊόν εγκλεισμού της λιναλοόλης σε β-CD όπου τα σχηματιζόμενα διμερή σχηματίζουν ελικοειδή κανάλια κατά τον άξονα-*a* (Ceborska, 2016).



Σχήμα 21: Σχηματική αναπαράσταση της (+)-β-κιτρονελλόλης και (-)-β-κιτρονελλόλης αντίστοιχα.



Σχήμα 22: (α) Απεικόνιση της ασύμμετρης μονάδας του προϊόντος εγκλεισμού της κιτρονελλόλης/β-CD. Τα μόρια νερού παραλείπονται. (β) κρυσταλλική μοριακή διεύθετηση κατά τον άξονα *a*- και(γ) *c*- αντίστοιχα.

12.2. Προϊόν εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης/DM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης σε DM-β-CD κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου $P2_12_12_1$ και η ασύμμετρη μονάδα περιέχει ένα μόριο (-)-β-κιτρονελλόλης απεντοπισμένο σε δύο θέσεις, (-)a και (-)b, με αριθμό κατάληψης 0,5 η καθεμιά, εγκλεισμένο στην κοιλότητα της DM-β-CD και 4,3 μόρια νερού, απεντοπισμένα σε 7 θέσεις (αριθμοί κατάληψης: 0,3 έως 1), περιφερειακά του προϊόντος εγκλεισμού. Συνεπώς η στοιχειομετρία του προϊόντος εγκλεισμού είναι 1:1.

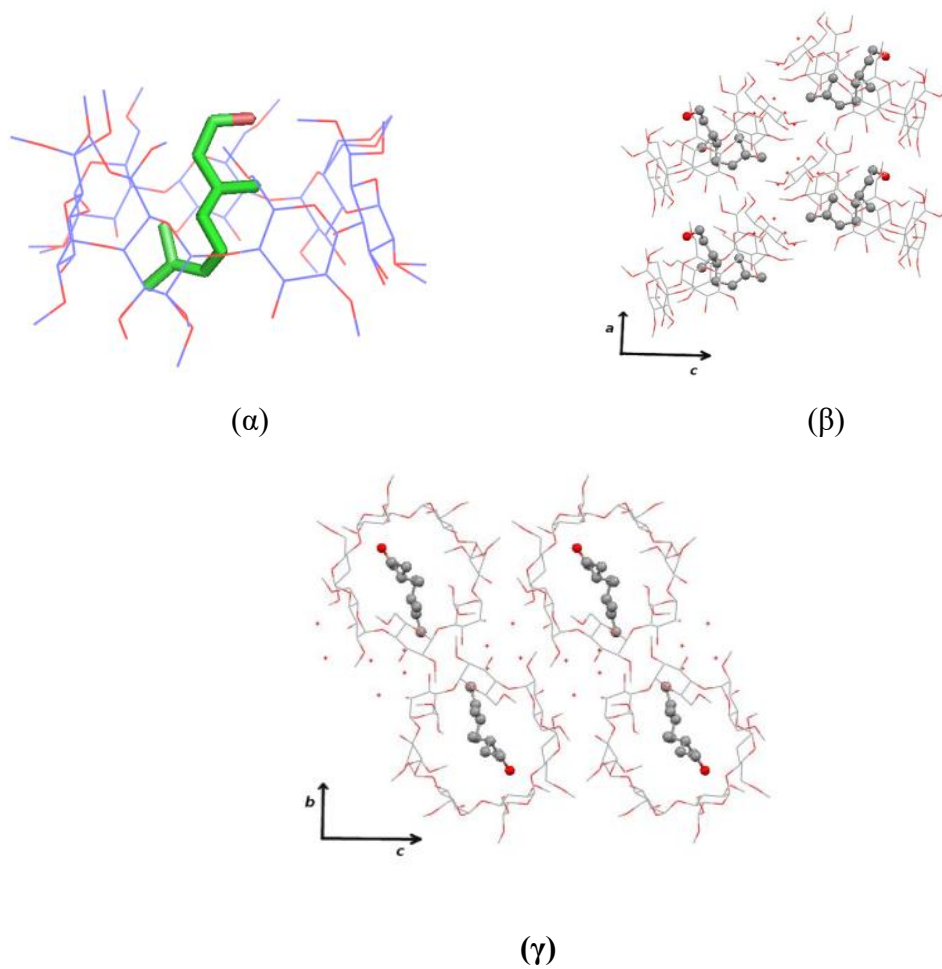
Συγκεκριμένα, το μόριο της (-)-β-κιτρονελλόλης βρίσκεται πλήρως ενθυλακωμένο στην κοιλότητα της DM-β-CD με την υδροξυλομάδα και την αλκυλομάδα να προσανατολίζονται πλάι στην πρωτοταγή και δευτεροταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης αντίστοιχα (Σχήμα 23α). Τα προϊόντα εγκλεισμού σταθεροποιούνται με δεσμούς υδρογόνου και τα μόρια νερού λειτουργούν σαν «κόλλα», σταθεροποιώντας τα γειτονικά σύμπλοκα μεταξύ τους στην κρυσταλλική κατάσταση.

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά D, D_k και Φ της DM-β-CD (Πίνακας II.9) υποδηλώνουν έναν μακρόκυκλο που εμφανίζει μεγάλη συνάφεια με εκείνον της β-CD και επομένως παραπέμπουν σε ένα κανονικό επτάγωνο. Είναι αξιοσημείωτο ότι όλα τα μονομερή συντελούν στη δημιουργία της κωνικής γεωμετρίας αφού κανένα δεν αποκλίνει από τη γεωμετρία αυτή και όλες οι διέδρες γωνίες μεταξύ του επιπέδου O_{4n-1}-C_{1n}-C_{4n}-O_{4n} και εκείνου των O_{4n} εμφανίζονται θετικές. Ανάμεσα στις 5 πλήρως εντοπισμένες μεθόξυ-ομάδες, οι τρεις εμφανίζουν τη «gauche-gauche» διαμόρφωση, με όλες τις γωνίες να κυμαίνονται γύρω στις 60° με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας του κώνου ενώ οι υπόλοιπες δύο εμφανίζουν τη «gauche-trans» διαμόρφωση και διευθετούνται με κατεύθυνση προς το εσωτερικό της κοιλότητας της DM-β-CD. Οι υπόλοιπες δύο απεντοπισμένες μεθόξυ-ομάδες εμφανίζουν και τις δύο διαμορφώσεις. Συνεπώς, το μόριο ξενιστής εμφανίζει τη διαμόρφωση ενός ανοικτού κόλουρου κώνου ο οποίος επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εξέλθει από την πρωτοταγή πλευρά του.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης/DM-β-CD.

Τα προϊόντα εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης/DM-β-CD διευθετούνται παράλληλα στον άξονα-α σχηματίζοντας στήλες με διαδοχική αλληλουχία «κεφαλής-ουράς». Η μετατόπιση μεταξύ δύο γειτονικών προϊόντων εγκλεισμού της ίδιας στήλης είναι 5,32 Å και η απόσταση μεταξύ τους 8,92 Å. Σύμφωνα με αυτό τον τρόπο κρυσταλλικής διεύθυνσης, τα μόρια ξενιστές συγκλίνουν προς τον άξονα-α και τα μέσα επίπεδα των O4n σχηματίζουν γωνία 30,87° με το επίπεδο bc. Η γωνία που σχηματίζεται ανάμεσα στα μέσα επίπεδα των O4n των ξενιστών γειτονικών στηλών βρέθηκε 61,73° που υποδηλώνει κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση τύπου «ψαροκόκαλο». (Σχήμα 23 β και γ). Τα μόρια νερού «γεμίζουν» τον ενδιάμεσο χώρο των σχηματιζόμενων προϊόντων εγκλεισμού σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου με τα άτομα οξυγόνου (O6n) των πρωτοταγών μεθοξυ-ομάδων καθώς και με τις υδροξυλομάδες των δευτεροταγών πλευρών της κυκλοδεξτρίνης γεφυρώνοντας τις γειτονικές στήλες στον κρύσταλλο (Σχήμα 23γ) (Πίνακας I.3).

Το προϊόν εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης/DM-β-CD είναι ισόμορφο με εκείνο της trans-ρεσβερατρόλης/DM-β-CD (Trollpe et al., 2014) το οποίο κρυσταλλώνει επίσης στην ίδια ομάδα χώρου με παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας και ίδιο πακετάρισμα. Το γεγονός ότι πακετάρονται τα δύο αυτά προϊόντα εγκλεισμού με τον ίδιο τρόπο παρουσιάζει ενδιαφέρον διότι η trans-ρεσβερατρόλη είναι ένα ογκώδες μόριο συγκριτικά με τη β-κιτρονελλόλη, προεξέχει από τη δευτεροταγή πλευρά της DM-β-CD και εκτείνεται στο μεσο-διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών συμπλόκων. Αντίθετα η β-κιτρονελλόλη φαίνεται να είναι πλήρως ενθυλακωμένη στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Στις δύο περιπτώσεις τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν στήλες πράγμα που μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως το μέγεθος και η γεωμετρία του ξενιζομένου μορίου δεν επηρεάζει το πακετάρισμα των προϊόντων εγκλεισμού.



Σχήμα 23: (α) Η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος εγκλεισμού της (-)-β-κιτρονελλόλης/DM-β-CD, (β) και (γ) προβολές κατά τον άξονα *b*- και *a*-αντίστοιχα. Μόνο μία εκ των δύο θέσεων απεικονίζεται χάριν διαύγειας.

12.3. Προϊόν εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης/TM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης/TM-β-CD κρυσταλλώνει στην ορθορομβική ομάδα χώρου $P2_12_12_1$ και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο TM-β-CD, ένα μόριο β-κιτρονελλόλης και ένα μόριο νερού με αριθμό κατάληψης 0,5. Το ξενιζόμενο μόριο στην περίπτωση αυτή εμφανίζει διαφορετική διευθέτηση στην κοιλότητα της TM-β-CD σε σχέση με την εικόνα που είχαμε στις περιπτώσεις των συμπλόκων της β-κιτρονελλόλης σε β-CD και DM-β-CD. Συγκεκριμένα, η υδροξυλομάδα του ξενιζομένου μορίου προσανατολίζεται πλάι στη δευτεροταγή-ευρεία πλευρά του κώνου συνάπτοντας υδρογονικό δεσμό με το άτομο οξυγόνου O24 της μεθοξυ ομάδας της δευτεροταγούς πλευράς του ξενιστή (απόσταση O1A...O24 2,90(2)Å). Η αλειφατική αλυσίδα της β-κιτρονελλόλης βρίσκεται επίσης κοντά στη δευτεροταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης και εκτείνεται κυρίως στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ δύο γειτονικών συμπλόκων εγκλεισμού (Σχήμα 24α). Το μοναδικό απεντοπισμένο μόριο νερού δημιουργεί έναν υδρογονικό δεσμό με ένα άτομο οξυγόνου (O54) της πρωτοταγούς μεθοξυ-ομάδας της κυκλοδεξτρίνης: OW1...O54 = 2,81(3) Å.

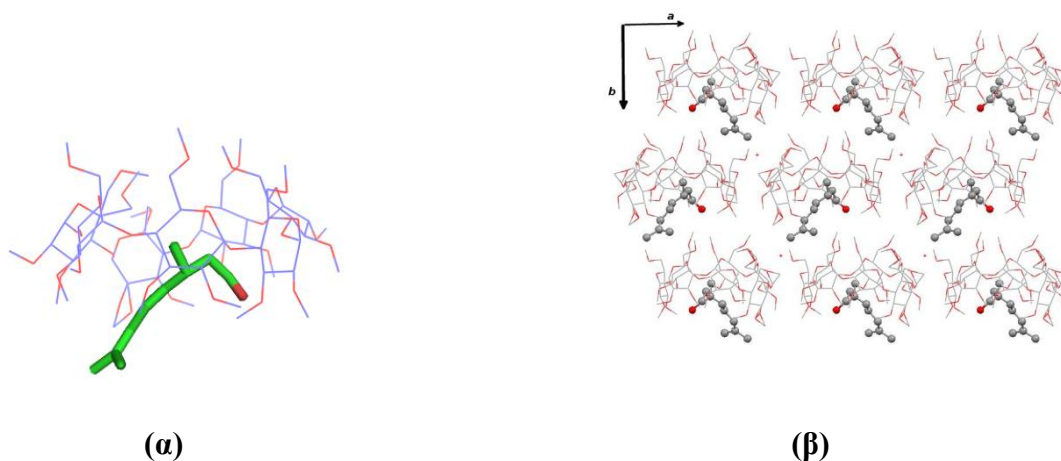
Η διαμόρφωση της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού με τη β-κιτρονελλόλη εμφανίζει διαφορές σε σχέση με εκείνη των β-CD και DM-β-CD στα αντίστοιχα σύμπλοκα. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού με τη β-κιτρονελλόλη παρατίθενται αναλυτικά στον Πίνακα II.10. Τα άτομα οξυγόνου που συνδέουν μεταξύ τους τις γλυκοζιτικές μονάδες του ξενιστή ($O4n$) αποκλίνουν αρκετά από το μέσο επίπεδο των $O4n$ σχηματίζοντας ένα ελλειπτικό επτάγωνο. Συνεπώς, το μόριο ξενιστή εμφανίζεται ισχυρά παραμορφωμένο χάρη στην απουσία ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών ανάμεσα στις δευτεροταγείς μεθοξυ ομάδες. Τα γεωμετρικά στοιχεία του ξενιστή δείχνουν επίσης πως πέντε γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές γωνίες συστροφής κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του μακρόκυκλου ενώ οι υπόλοιπες δύο (2 και 5) κατευθύνονται προς το εξωτερικό αυτού όπως συμβαίνει στην πλειοψηφία των συμπλόκων εγκλεισμού της TM-β-CD.

Επομένως συμπεραίνουμε από τις οι γωνίες συστροφής $O5_{n-1}-C5_n-C6_n-O6_n$ ότι επικρατούν κυρίως οι «gauche-gauche» (gg) διαμορφώσεις με εξαίρεση κάποιες απεντοπισμένες θέσεις των μεθόξυ ομάδων που εμφανίζουν τη «gauche-trans»(gt) και την «trans-gauche» (tg) διαμόρφωση. Παρατηρούμε λοιπόν το σχηματισμό ενός «καπακιού» στην πρωτοταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης, το οποίο είναι

χαρακτηριστικό για τα προϊόντα εγκλεισμού που αφορούν την TM- β -CD (Caira et al., 2017), που δεν επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εισέλθει πλήρως στην υδρόφοβη κοιλότητα.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/TM- β -CD.

Τα προϊόντα εγκλεισμού πακετάρονται σε διαδοχικούς περιστρεφόμενους αυλούς τύπου «βίδας» και διευθετούνται με τρόπο κεφαλής-ουράς κατά τον άξονα b . Η μετατόπιση μεταξύ δυο γειτονικών ξενιστών σε μια συγκεκριμένη στήλη είναι 3,94Å. Παράλληλες και αντιπαράλληλες στήλες τοποθετημένες κατά μήκος των αξόνων a και b αντίστοιχα, σταθεροποιούνται κυρίως με τη συμβολή ενός μεγάλου αριθμού διαμοριακών δεσμών τύπου C-H...O και σε ένα συνηθισμένο μοτίβο κρυσταλλικής διεύθυνσης που χαρακτηρίζει αρκετές ισόμορφες δομές συμπλόκων εγκλεισμού της TM- β -CD (Groom et al., 2016).



Σχήμα 24: (α) Η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος εγκλεισμού της (-)- β -κιτρονελλόλης/TM- β -CD, (β) προβολή κατά τον άξονα c .

12.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης σε β-CD, DM-β-CD και TM-β-CD.

Τα προϊόντα εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης σε φυσικές και μεθυλιωμένες CDs χαρακτηρίστηκαν με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Πιο αναλυτικά, το προϊόν εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης/β-CD κρυσταλλώνει στο τρικλινές σύστημα $P1$ σχηματίζοντας το «κλασσικό διμερές» με αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου 2:2, στο οποίο δύο μόρια β-κιτρονελλόλης είναι εγκλεισμένα και απεντοπισμένα σε δύο και τρεις θέσεις αντίστοιχα. Σε ό,τι αφορά τα προϊόντα εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης στις DM-β-CD και TM-β-CD, τα κρυσταλλογραφικά αποτελέσματα έδειξαν πως κρυσταλλώνουν στο ορθορομβικό σύστημα $P2_12_12_1$ και η ασύμμετρη μονάδα τους περιλαμβάνει ένα μόριο ξενιστή και ένα μόριο β-κιτρονελλόλης ενθυλακωμένο στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Παρ' όλα αυτά, στην τελευταία περίπτωση το ξενιζόμενο μόριο εντοπίζεται κυρίως πλάι στη δευτεροταγή-ευρεία περιοχή του κώνου με αποτέλεσμα να μην είναι πλήρως εγκλεισμένο στην κοιλότητα της TM-β-CD γι' αυτό και παρατηρείται αυτό το είδος της κρυσταλλικής διευθέτησης. Το πλήρως εγκλεισμένο μόριο της β-κιτρονελλόλης στην κοιλότητα της DM-β-CD φαίνεται να έχει μια εκτενή διαμόρφωση σε αντίθεση με τον μερικό εγκλεισμό που υφίσταται στην κοιλότητα της TM-β-CD σε μια πιο «χαλαρή» διευθέτηση.

Ο εγκλεισμός φαίνεται να επηρεάζει τη διαμόρφωση των CDs αλλά και της κιτράλης αφού το ξενιζόμενο μόριο διευθετείται με διαφορετικό τρόπο στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης ανάλογα με το είδος της κυκλοδεξτρίνης. Από τη μελέτη των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των ξενιστών στα προϊόντα εγκλεισμού της β-κιτρονελλόλης σε β-CD, DM-β-CD και TM-β-CD παρατηρούμε πως τη μεγαλύτερη παραμόρφωση υφίσταται η TM-β-CD λόγω απουσίας ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών στις δευτεροταγείς περιοχές. Έτσι, η «στενή» πλευρά του κώνου σχηματίζει ένα είδος «καπακιού» που έχει ως αποτέλεσμα να ωθεί το ξενιζόμενο μόριο προς την ευρεία περιοχή των μεθόξυ-ομάδων και να μην του επιτρέπει να εξέλθει από την «κλειστή» πλευρά. Έτσι θα μπορούσαμε να πούμε πως έχουμε μερικό εγκλεισμό διότι ένα τμήμα του ξενιζομένου μορίου βρίσκεται στο μεσο-διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών μονομερών, ένα φαινόμενο συνηθισμένο που συναντάται σε πολλά προϊόντα εγκλεισμού των TM-β-CDs που έχουν μελετηθεί ως τώρα.

13. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΦΑΡΝΕΣΟΛΗΣ ΣΕ α -CD, β -CD ΚΑΙ TM- β -CD.

13.1. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ α -CD

Το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε α -CD κρυσταλλώνει στο τρικλινές σύστημα $P1$ και η ασύμμετρη μονάδα του περιλαμβάνει δύο μόρια ξενιστές (A και B), ένα μόριο φαρνεσόλης και 9,5 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 11 θέσεις. Το μόριο της φαρνεσόλης βρίσκεται εγκλεισμένο στην κοιλότητα του διμερούς που σχηματίζουν τα δύο μόρια α -CDs τα οποία έχουν προσανατολισμό ουρά-ουρά (Σχήμα 26α) και συγκρατούνται με υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ των δευτεροταγών υδροξυλο-ομάδων τους ($O3n-H$). Συνεπώς, η αναλογία ξενιστή:ξενιζόμενου μορίου είναι 2:1. Τμήμα του μορίου της φαρνεσόλης, και συγκεκριμένα τα άτομα C1-C2-OH βρίσκονται αποδιατεταγμένα σε δύο θέσεις με αριθμούς κατάληψης 0,5 η καθεμιά όπως φαίνεται στο Σχήμα 26α. Το ξενιζόμενο μόριο διευθετείται κάθετα μέσα στη σχηματιζόμενη υδροφοβική κοιλότητα του διμερούς, και εξωτερικά από αυτό, τα μόρια νερού γεφυρώνουν τα γειτονικά διμερή μεταξύ τους μέσω δεσμών υδρογόνου. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των ξενιστών που αφορούν τη διευθέτησή τους στο χώρο παρουσιάζονται στον πίνακα II.11. Παρατηρούμε πως τα άτομα των $O4n$ και στις δύο κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν κανονικά εξάγωνα όπως φαίνεται από τις ίσες αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αποκλίσεις από τα αντίστοιχα μέσα επίπεδα των $O4n$. Οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διεδρες γωνίες (γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ $O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n$ και του επιπέδου των $O4$) γεγονός που υποδηλώνει πως καμία γλυκοζιτική μονάδα δεν αποκλίνει από τη σχηματιζόμενη κωνική γεωμετρία των μορίων της κυκλοδεξτρίνης. Τέλος, η μελέτη των γωνιών συστροφής $O5_n-C5_n-C6_n-O6_n$ έδειξε πως όλες οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν τη λεγόμενη «gauche-gauche» διαμόρφωση με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας του κώνου όπως φαίνεται στον Πίνακα II.11.

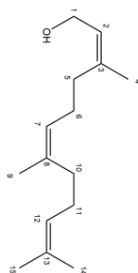
Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού φαρνεσόλης/ α -CD

Τα σχηματιζόμενα διμερή πακετάρονται με προσανατολισμό «κεφαλής-κεφαλής» σχηματίζοντας αυλούς, σχεδόν παράλληλους με τον άξονα c . Δεν παρατηρούνται απ' ευθείας υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των διαδοχικών διμερών της ίδιας στήλης αλλά οι

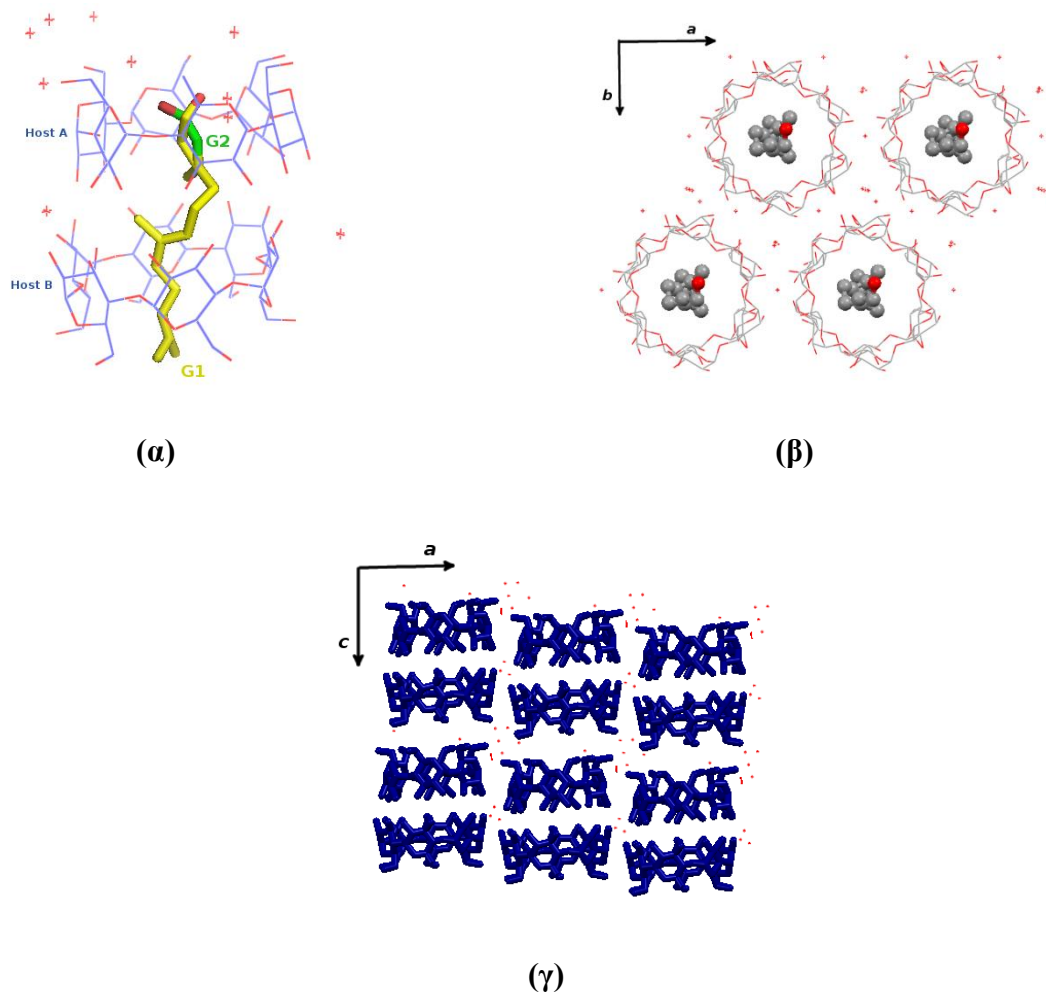
πρωτοταγείς υδροξυλο-ομάδες συνδέονται με μόρια νερού που γεφυρώνουν και συγκρατούν τα διμερή του κάθε αυλού. Στην ασύμμετρη μονάδα του διμερούς κάθε μόριο *a*-CD φαίνεται να έχει μια κλίση ως προς τον άξονα του σχηματιζόμενου αυλού, επομένως τα δύο μόρια της *a*-CD εμφανίζουν μια σχετική μετατόπιση ως προς τον άξονα του κάθε αυλού, ώστε να επιτευχθεί αυτό το γραμμικό πακετάρισμα (Harata and Kawano, 2002). (Σχήμα 26γ).

Η μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών διμερών της ίδιας στήλης είναι 2,1 Å (Σχήμα 26β και γ). Η κρυσταλλική διευθέτηση σταθεροποιείται μέσω ενός δικτύου υδρογονικών δεσμών, συμπεριλαμβανομένων των μορίων νερού που βρίσκονται αποδιατεταγμένα στον ενδιάμεσο χώρο, μεταξύ των σχηματιζόμενων αυλών.

Αυτό το μοτίβο της κρυσταλλικής διευθέτησης είναι συνηθισμένο για τα προϊόντα εγκλεισμού των *a*-CDs αφού η αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD (Groom et al., 2016), βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας έδωσε 12 ισόμορφα σύμπλοκα που κρυσταλλώνουν στο τρικλινές σύστημα. Όλα τα ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού, που αφορούν μια πληθώρα ξενιζομένων μορίων, σχηματίζουν αυλούς κατά τον κρυσταλλογραφικό άξονα *c* δημιουργώντας διμερή με προσανατολισμό «κεφαλής-κεφαλής» εκτός από εκείνο της 2,2 αζω-δι-πυριδίνης/*a*-CD που εμφανίζει διμερή με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς».



Σχήμα 25: Σχηματική αναπαράσταση του μορίου της φαρνεσόλης.



Σχήμα 26: (α) Η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος εγκλεισμού της φαρνεσόλης/ α -CD, (β) κρυσταλλική μοριακή διεύθετη κατά τον άξονα c (γ) κρυσταλλική διεύθετη στο επίπεδο ac . Το μόριο της φαρνεσόλης παραλείπεται χάριν ευκρίνειας.

13.2. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ β -CD

Το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/ β -CD κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου C2 και η ασύμμετρη μονάδα του περιέχει τρία μόρια ξενιστές (CD1, CD2, CD3), ένα μόριο φαρνεσόλης αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (G1 και G2) και 9.5 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 19 θέσεις.

Ο τρόπος εγκλεισμού της φαρνεσόλης (σεσκιτερπένιο-15 άτομα C) σε β -CD διαφέρει σε σχέση με τα προϊόντα εγκλεισμού των μονο-τερπενίων (10 άτομα C) σε β -CDs που μελετήθηκαν παραπάνω. Σε όλες τις περιπτώσεις εγκλεισμού μονο-τερπενίων έχουμε αναλογία 2:2 και εγκλεισμό των ξενιζομένων μορίων στην κοιλότητα του σχηματιζόμενου διμερούς της β -CD, ενώ στο σύμπλοκο της φαρνεσόλης/ β -CD η φαρνεσόλη εντοπίζεται κυρίως στο μεσοδιάστημα μεταξύ δύο γειτονικών διμερών. Συγκεκριμένα, τμήμα του μορίου της φαρνεσόλης βρίσκεται εγκλεισμένο στο διμερές που σχηματίζουν τα μόρια CD2 και CD3 και ένα μεγάλο κομμάτι του μορίου προεξέχει από την πρωτοταγή περιοχή της CD2 και ενθυλακώνεται στη CD1 (Σχήμα 27α).

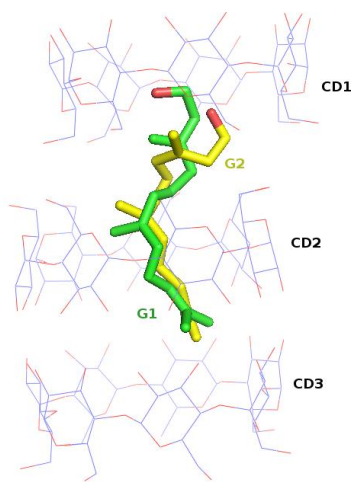
Το ξενιζόμενο μόριο διευθετείται κάθετα με τον γραμμικό άξονά του (άξονας που σχηματίζουν τα άτομα C1-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C10-C11-C12-C13, Σχήμα 25) στις υδρόφοβες κοιλότητες των CD1, CD2 και CD3 με την υδρόφοβη ουρά (C13-C14-C15) να προσανατολίζεται πλάι στην περιοχή των δευτεροταγών υδροξυλο-ομάδων “interface” του διμερούς που σχηματίζουν οι CD2 και CD3, ενώ τα άτομα O-C1-C2-C3-C4-C5-C6-C7-C8-C9 προεξέχουν από την πρωτοταγή περιοχή της CD2 και ενθυλακώνονται στην CD1. Το ξενιζόμενο μόριο εντοπίζεται επάνω σε θέσεις του πλέγματος της ομάδας χώρου (special positions) επομένως οι θέσεις G1 και G2 έχουν τους μισούς αριθμούς κατάληψης, 0,25 η καθεμιά, με προσανατολισμό κεφαλή-ουρά. Επομένως η αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου είναι 2:1. Τα μόρια νερού γεφυρώνουν τα γειτονικά σύμπλοκα εγκλεισμού συνάπτοντας υδρογονικούς δεσμούς με άτομα οξυγόνου διαδοχικών κυκλοδεξτρινών.

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των ξενιστών που αφορούν τη διευθέτησή τους στο χώρο παρουσιάζονται στον Πίνακα II.12. Παρατηρούμε πως τα άτομα των O4n της β -CD σχηματίζουν κανονικά επτάγωνα όπως φαίνεται από τις ίσες αποστάσεις από τα αντίστοιχα βαρύκεντρα και από τις αποκλίσεις από τα αντίστοιχα μέσα επίπεδα των O4n. Άρα ο μακρόκυκλος του ξενιστή εμφανίζει μία κυκλική διαμόρφωση ως

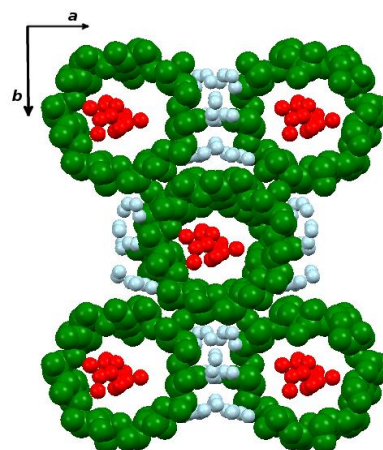
αποτέλεσμα του εγκλεισμού και τον ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών μεταξύ των γειτονικών γλυκοζιτικών μονάδων του. Οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διεδρες γωνίες (γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ $O_{4_{n-1}}-C_{1_n}-C_{4_n}-O_{4_n}$ και του επιπέδου των O_4) γεγονός που υποδηλώνει πως καμία γλυκοζιτική μονάδα δεν αποκλίνει από τη σχηματιζόμενη κωνική γεωμετρία των μορίων της κυκλοδεξτρίνης. Επιπλέον, η μελέτη των γωνιών συστροφής $O_{5_n}-C_{5_n}-C_{6_n}-O_{6_n}$ έδειξε πως όλες εμφανίζουν τη λεγόμενη «gauche-gauche» διαμόρφωση με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας του κώνου εκτός από τέσσερις γλυκοζιτικές μονάδες των οποίων τα άτομα $C_{6_n}-O_{6_n}$ είναι αποδιατεταγμένα σε περισσότερες από μία θέσεις και εμφανίζουν και τις δύο διαμορφώσεις (*gauche-gauche* και *gauche-trans*) όπως φαίνεται στον Πίνακα II.12.

Κρυσταλλική διευθέτηση προϊόντος εγκλεισμού φαρνεσόλης/ β -CD.

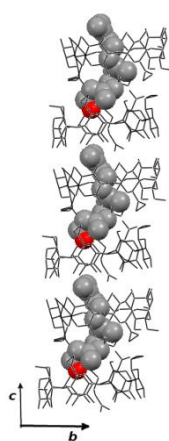
Το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/ β -CD κρυσταλλώνει σε ομάδα χώρου C2 και σχηματίζει κανάλια κατά τον άξονα c (Σχήμα 27β,γ). Το μέσο επίπεδο των O_{4n} του διμερούς σχηματίζει γωνία $81,39^\circ$ με τον κρυσταλλογραφικό άξονα c. Η μετατόπιση μεταξύ δύο γειτονικών διμερών είναι $2,45\text{\AA}$ γεγονός που υποδηλώνει πως τα σύμπλοκα εγκλεισμού κρυσταλλώνουν σχηματίζοντας τα λεγόμενα «κανάλια» (Channel packing mode, CH) (Mentzafos et al., 1991). Μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD (Groom et al., 2016), βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας έδωσε 50 ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού β -κυκλοδεξτρινών εκ των οποίων τα 41 κρυσταλλώνουν σε ομάδα χώρου C2 και τα υπόλοιπα σε μονοκλινές σύστημα P1. Αυτό δείχνει πως πρόκειται για έναν συνηθισμένο τρόπο εγκλεισμού μιας πληθώρας μορίων στη συγκεκριμένη κυκλοδεξτρίνη.



(α)



(β)



(γ)

Σχήμα 27: (α) Το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/β-CD (β) Στο χωροπληρωματικό μοντέλο της εικόνας οι β-CDs σχηματίζουν στήλες στο επίπεδο ab . (γ) προβολή της κρυσταλλικής διεύθεσης των προϊόντων εγκλεισμού κατά τον άξονα c .

13.3. Προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/TM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/TM-β-CD κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου $P2_1$ και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο TM-β-CD και ένα μόριο φαρνεσόλης, αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις G1 και G2, με αριθμούς κατάληψης 0,5 έκαστη. Το ξενιζόμενο μόριο εντοπίζεται κυρίως στην περιοχή των δευτεροταγών μεθόξυ-ομάδων της κυκλοδεξτρίνης όπως φαίνεται στο Σχήμα 28α. Συγκεκριμένα τα άτομα O-C1-C2-C3-C4. Της φαρνεσόλης εντοπίζονται στο χώρο μεταξύ δύο διαδοχικών προϊόντων εγκλεισμού της ίδιας στήλης με την υδροξυλο-ομάδα να σχηματίζει υδρογονικό δεσμό με το άτομο οξυγόνου (O54) του αμέσως επόμενου ξενιστή (μήκος δεσμού 3,13 Å και 2,93 Å για G1 και G2 αντίστοιχα). Η υπόλοιπη αλειφατική αλυσίδα βρίσκεται εγκλεισμένη πλάι στη δευτεροταγή περιοχή του κώνου ενώ στην ασύμμετρη μονάδα δεν εντοπίζονται μόρια νερού.

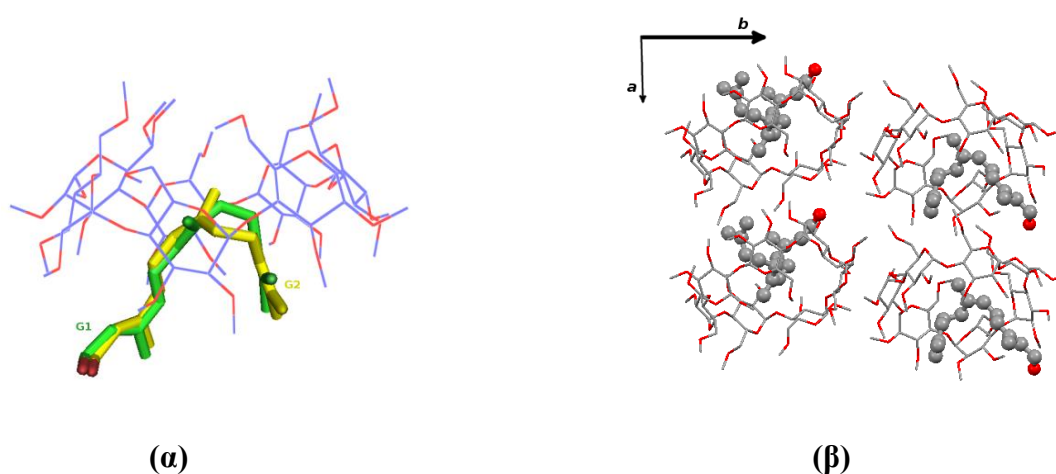
Η διαμόρφωση του ξενιστή στο προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/TM-β-CD εμφανίζει διαφορές σε σχέση με εκείνη των φυσικών κυκλοδεξτρινών (α -CD και β -CD). Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού με τη β -κιτρονελλόλη παρατίθενται αναλυτικά στον πίνακα Π.13. Τα άτομα οξυγόνου που συνδέουν μεταξύ τους τις γλυκοζιτικές μονάδες του ξενιστή ($O4_n$) αποκλίνουν αρκετά από το μέσο επίπεδο των $O4_n$ σχηματίζοντας ένα ελλειπτικό επτάγωνο. Συνεπώς, το μόριο ξενιστής εμφανίζεται ισχυρά παραμορφωμένο χάρη στην απουσία ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών ανάμεσα στις δευτεροταγείς μεθόξυ-ομάδες. Τα γεωμετρικά στοιχεία του ξενιστή δείχνουν επίσης πως πέντε γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διέδρες γωνίες (γωνίες που σχηματίζουν τα $O4_{n-1}$ -C1_n-C4_n-O4_n) κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του μακρόκυκλου ενώ οι υπόλοιπες δύο (2 και 5) κατευθύνονται προς το εξωτερικό αυτού όπως συμβαίνει στην πλειοψηφία των συμπλόκων εγκλεισμού της TM-β-CD.

Σε ότι αφορά τις γωνίες συστροφής των $O5_n$ -C5_n-C6_n-O6_n, παρατηρούμε ότι σε τέσσερις γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζονται μόνο «gauche-gauche» (gg) διαμορφώσεις με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κώνου, ενώ σε δύο γλυκόζες, μόνο οι «gauche-trans» (gt) διαμορφώσεις κατευθυνόμενες προς το εξωτερικό της κοιλότητας. Σε μία μόνο γλυκόζη τα αποδιατεταγμένα άτομα $O5_n$ -C5_n-C6_n-O6_n εμφανίζουν τις δύο διαμορφώσεις. Όσο για τις γωνίες συστροφής των C5_n-C6_n-O6_n-C7_n, αυτές εμφανίζουν κυρίως την «trans-gauche» διαμόρφωση αφού κυμαίνονται γύρω στις 180° όπως φαίνεται στον Πίνακα Π.13. Παρατηρούμε λοιπόν, το

σχηματισμό ενός «καπακιού» στην πρωτοταγή περιοχή της κυκλοδεξτρίνης, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για τα προϊόντα εγκλεισμού που αφορούν την TM- β -CD (Caiga et al., 2017), που δεν επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εισέλθει πλήρως στην υδρόφοβη κοιλότητα.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού φαρνεσόλης/TM- β -CD.

Τα προϊόντα εγκλεισμού πακετάρονται σχηματίζοντας αντιπαράλληλους αυλούς (Σχήμα 28β) οι οποίοι διευθετούνται με τρόπο κεφαλής-ουράς κατά μήκος του άξονα a και συγκρατούνται μεταξύ τους με ένα δίκτυο διαμοριακών δεσμών C-H...O. Η μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών προϊόντων εγκλεισμού της ίδιας στήλης είναι 5,35Å ενώ η γωνία που σχηματίζει το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n του ξενιστή, με τον κρυσταλλογραφικό άξονα a είναι 85,3°. Το μοτίβο αυτό της κρυσταλλικής διεύθυνσης χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο προϊόν εγκλεισμού διότι η αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD (Groom et al., 2016), με βάση τις διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας δεν έδωσε κάποιο ισόμορφο σύμπλοκο.



Σχήμα 28: (α) Απεικόνιση της ασύμμετρης μονάδας του προϊόντος εγκλεισμού φαρνεσόλης/TM- β -CD, (β) τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν αντιπαράλληλες στήλες κατά μήκος του άξονα a .

13.4. Συζήτηση για τα προϊόντα εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε α -CD, β -CD και TM- β -CD.

Συνοψίζοντας βρέθηκε ότι το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/ α -CD κρυσταλλώνει στο τρικλινές σύστημα $P1$ ενώ εκείνο των φαρνεσόλη/ β -CD και φαρνεσόλη/TM- β -CD στο μονοκλινές σύστημα $C2_1$ αντίστοιχα. Η αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου είναι 2:1, 2:2 και 1:1 για τα προϊόντα εγκλεισμού σε α -CD, β -CD και TM- β -CD αντίστοιχα. Τα προϊόντα εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε α -CD και β -CD σχηματίζουν παράλληλους αυλούς, με προσανατολισμό ξενιζομένου μορίου «κεφαλή-ουρά», κατά τον άξονα c , ενώ το σύμπλοκο της φαρνεσόλης/TM- β -CD διευθετείται στο χώρο σχηματίζοντας αντι-παράλληλους αυλούς κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα a . Στην ασύμμετρη μονάδα των προϊόντων εγκλεισμού των φυσικών κυκλοδεξτρινών εντοπίζονται 9,5 μόρια νερού τα οποία γεφυρώνουν και σταθεροποιούν τους γειτονικούς αυλούς στον κρύσταλλο. Κανένα μόριο νερού δε βρέθηκε στο σύμπλοκο εγκλεισμού της φαρνεσόλης/TM- β -CD όπως συμβαίνει συνήθως στα προϊόντα εγκλεισμού των μεθυλιωμένων κυκλοδεξτρινών.

Η διαφορά στον μηχανισμό εγκλεισμού της φαρνεσόλης, συγκριτικά με τα υπόλοιπα γραμμικά μόρια που μελετήθηκαν, εντοπίζεται κυρίως στο προϊόν εγκλεισμού της σε β -CD. Στην περίπτωση αυτή, το ξενιζόμενο μόριο βρίσκεται εγκλεισμένο κυρίως στην κοιλότητα του διμερούς που σχηματίζουν οι β -CDs έχοντας προσανατολισμό «ουράς-ουράς». Αντίθετα, όλα τα υπόλοιπα ξενιζόμενα μόρια που μελετήθηκαν, βρίσκονται εγκλεισμένα στη σχηματιζόμενη κοιλότητα των β -CDs και διευθετούνται με προσανατολισμό «κεφαλής-κεφαλής» (κλασσικό διμερές), με την περιοχή των δευτεροταγών υδροξυλο-ομάδων της μιας β -CD να αντικρίζει τη δευτεροταγή περιοχή της άλλης.

Παρατηρώντας τη διεύθυνση του μορίου της φαρνεσόλης στα τρία σύμπλοκα εγκλεισμού, καταλήγουμε στο γεγονός ότι, στα σύμπλοκα με τις φυσικές CDs, η φαρνεσόλη έχει μια εκτεταμένη διαμόρφωση στην κοιλότητα των διμερών ενώ στο προϊόν εγκλεισμού της με την TM- β -CD αποκτά μια πιο κεκαμένη μορφή.

Τέλος, από τη μελέτη των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των μορίων ξενιστών στα προϊόντα εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε α -CD, β -CD και TM- β -CD παρατηρούμε πως τη μεγαλύτερη παραμόρφωση υφίσταται η TM- β -CD λόγω απουσίας ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών στις δευτεροταγείς περιοχές. Ως συνέπεια, η

«στενή» πλευρά του κώνου σχηματίζει ένα είδος «καπακιού» που έχει ως αποτέλεσμα να ωθεί το ξενιζόμενο μόριο προς την ευρεία περιοχή των μεθόξυ-ομάδων και να μην του επιτρέπει να εξέλθει από την «κλειστή» πλευρά. Έτσι θα μπορούσαμε να πούμε πως έχουμε μερικό εγκλεισμό διότι ένα τμήμα του ξενιζομένου μορίου βρίσκεται στο μεσο-διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών μονομερών, ένα φαινόμενο συνηθισμένο που συναντάται σε όλα τα προϊόντα εγκλεισμού των TM- β -CDs που έχουν μελετηθεί ως τώρα.

14. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ GA₃/TM-β-CD

Το εργαστήριο Φυσικής του Γ.Π.Α. έχει ασχοληθεί ερευνητικά με φυτορρυθμιστικές ουσίες που ανήκουν στην κατηγορία των αυξινών, όπως για παράδειγμα: Ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA) 2,4,5-τριχλωρο-φαινοξυ-οξικό οξύ, 2,4-διχλωρο-φαινοξυ-οξικό οξύ, 2-μεθυλο-4-χλωρο-φαινόξυ-οξικό οξύ (MCPA), 4-χλωρο-φαινοξυ-οξικό οξύ (4-CPA) κτλ. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε κρυσταλλογραφικά το προϊόν εγκλεισμού του GA₃/TM-β-CD. Εκτός από τη GA₃ σε TM-β-CD έγιναν προσπάθειες εγκλεισμού της GA₃ σε DM-β-CD και β-CD. Ωστόσο καλής ποιότητας μονοκρύσταλλοι δημιουργήθηκαν στην περίπτωση της DM-β-CD και TM-β-CD ενώ στη β-CD δεν παρατηρήθηκε δημιουργία κρυστάλλων. Σε ότι αφορά τους μονοκρυστάλλους GA₃/DM-β-CD που χρησιμοποιήθηκαν για συλλογή δεδομένων δεν παρατηρήθηκε ικανοποιητική σκέδαση καθώς δεν είχαμε υψηλή διακριτική ικανότητα. Αντίθετα το προϊόν εγκλεισμού του GA₃/TM-β-CD έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα και προχωρήσαμε στην επίλυση και βελτιστοποίηση της δομής του.

14.1. Προϊόν εγκλεισμού GA₃/TM-β-CD

Το προϊόν εγκλεισμού του GA₃/TM-β-CD κρυσταλλώνει στο ορθορομβικό σύστημα P₂₁2₁2₁ και η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο GA₃, αποδιατεταγμένο σε τρεις θέσεις με αριθμούς κατάληψης 0,26, 0,28 και 0,32 (G₂, G₁ και G₃ αντίστοιχα) (Σχήμα 30α), εγκλεισμένο σε ένα μόριο TM-β-CD. Στην ασύμμετρη μονάδα υπάρχει ένα μόριο νερού απεντοπισμένο σε δύο θέσεις, W₁ και W₂, με αριθμούς κατάληψης 0,4 και 0,3 αντίστοιχα. Το W₁ συνδέεται με δεσμούς υδρογόνου με το O₅₁ γειτονικής κυκλοδεξτρίνης (πράξη συμμετρίας -0,5000+X , 0,5000-Y , 1,0000-Z) και το O₆₄ άλλης γειτονικής κυκλοδεξτρίνης (πράξη συμμετρίας 0,5000+X , 0,5000-Y , 1,0000-Z) (Πίνακας I.5). Αντίθετα το W₂ σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με τα O₅₁ και O₆₁ της κυκλοδεξτρίνης που ανήκει στην ίδια ασύμμετρη μονάδα και το O₅₅ γειτονικής (πράξη συμμετρίας: 1,0000+X , 0,0000+Y , 0,0000+Z). Το GA₃ βρίσκεται λοιπόν αποδιατεταγμένο και μερικώς εγκλεισμένο στην κοιλότητα της TM-β-CD και συγκεκριμένα εκτείνεται περίπου από το επίπεδο των O_{4n} και προεξέχει από την ευρεία περιοχή του κώνου έως το διάκενο μεταξύ δύο διαδοχικών

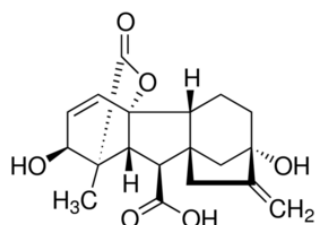
κυκλοδεξτρινών της ίδιας στήλης. Συγκεκριμένα, δύο από τις τρεις θέσεις (G2 και G3) έχουν ελαφρώς μεγαλύτερο βαθμό εγκλεισμού αφού το ξενιζόμενο μόριο βρίσκεται λίγο υψηλότερα από επίπεδο των O4 (~0,4Å) πλησιάζοντας προς την πρωτοταγή-«κλειστή» περιοχή της TM-β-CD. Αντίθετα η θέση G1 εντοπίζεται κάτω από το επίπεδο των O4n προς την «ευρεία» περιοχή της κυκλοδεξτρίνης και εκτείνεται και αυτή ως το μεσοδιάστημα μεταξύ δύο γειτονικών προϊόντων εγκλεισμού του ίδιου αυλού, όπως φαίνεται στο Σχήμα 30β .

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού με το GA₃ παρατίθενται αναλυτικά στον πίνακα II.14. Όλες οι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν τη ⁴C₁ διαμόρφωση του ανακλίντρου που άλλωστε έχει και τη χαμηλότερη ενέργεια. Τα άτομα οξυγόνου που συνδέουν μεταξύ τους τις γλυκοζιτικές μονάδες του ξενιστή (O4n) αποκλίνουν αρκετά από το μέσο επίπεδο των O4n σχηματίζοντας ένα ελλειπτικό επτάγωνο. Συνεπώς, το μόριο ξενιστής εμφανίζεται ισχυρά παραμορφωμένο χάρη στην απουσία ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών ανάμεσα στις δευτεροταγείς μεθόξυ-ομάδες. Επίσης παρατηρούμε πως η πρωτοταγής-στενή περιοχή του κώνου σχηματίζει ένα «καπάκι» (Caïra et al., 2017) με αποτέλεσμα να μην επιτρέπει στο ξενιζόμενο μόριο να εξέλθει από αυτή την πλευρά. Τα γεωμετρικά στοιχεία του ξενιστή δείχνουν επίσης πως έξι γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζουν θετικές διεδρες γωνίες (γωνίες που σχηματίζουν τα O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n) κατευθυνόμενες προς το εσωτερικό του μακρόκυκλου ενώ μία μόνο κατευθύνεται προς το εξωτερικό της TM-β-CD (Πίνακας II.14).

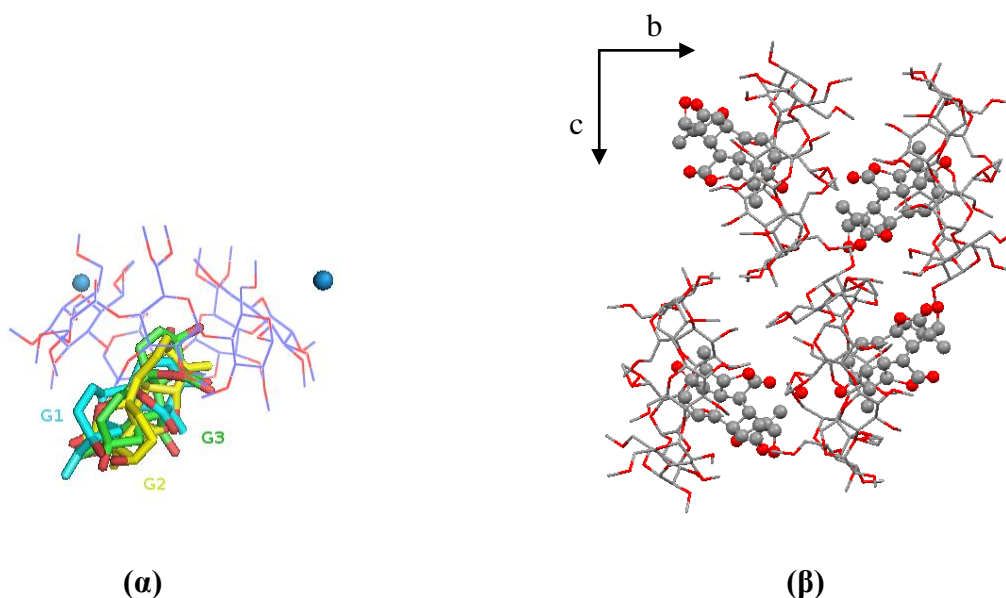
Σε ότι αφορά τις γωνίες συστροφής των O5_n-C5_n-C6_n-O6_n, παρατηρούμε ότι σε τέσσερις γλυκοζιτικές μονάδες εμφανίζονται μόνο «gauche-gauche» (gg) διαμορφώσεις με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κώνου, ενώ σε μία γλυκόζη, μόνο οι «gauche-trans» (gt) διαμόρφωση κατευθυνόμενη προς το εξωτερικό της κοιλότητας. Στις υπόλοιπες δύο γλυκόζες, οι απεντοπισμένες γωνίες συστροφής των O5_n-C5_n-C6_n-O6_n εμφανίζουν τη «gauche-gauche», τη «gauche-trans» και την «trans-gauche» (tg) διαμόρφωση σχηματίζοντας γωνία γύρω στις 180° όπως φαίνεται στον Πίνακα II.14.

Κρυσταλλική διεύθυνση προϊόντος εγκλεισμού $GA_3/TM-\beta-CD$.

Τα προϊόντα εγκλεισμού πακετάρονται σχηματίζοντας αντιπαράλληλους αυλούς οι οποίοι διευθετούνται με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς» ως προς το ξενιζόμενο μόριο κατά μήκος του άξονα b και συγκρατούνται μεταξύ τους με ένα δίκτυο διαμοριακών δεσμών C-H...O (Σχήμα 30β). Μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD (Groom et al., 2016), βασισμένη σε παρόμοιες διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας έδωσε 2 ισόμορφα προϊόντα εγκλεισμού $TM-\beta-CD$, το 4-υδροξυ-αζω-βενζένιο/ $TM-\beta-CD$ (DORLEC) (Shietal.) και το 2-ναφθαλενοξικό οξύ/ $TM-\beta-CD$ (BENCIU) (Bethanis et al., 2018). Όλα κρυσταλλώνουν στο ορθορομβικό κρυσταλλικό σύστημα $P2_12_12_1$ σχηματίζοντας αντιπαράλληλες στήλες κατά μήκος του άξονα b με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς» ως προς το ξενιζόμενο μόριο.



Σχήμα 29: Σχηματική αναπαράσταση GA_3



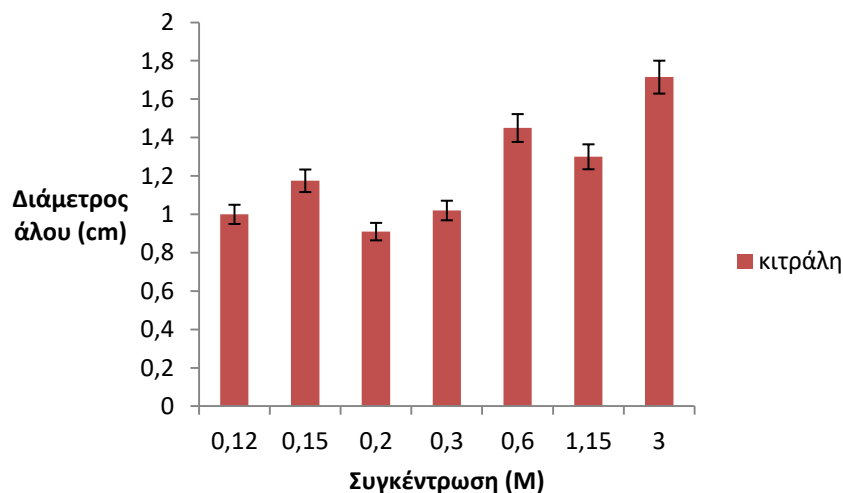
Σχήμα 30: **(α)** Απεικόνιση της ασύμμετρης μονάδας του προϊόντος εγκλεισμού $GA_3/TM-\beta-CD$, **(β)** τα προϊόντα εγκλεισμού $GA_3/TM-\beta-CD$ σχηματίζουν αντιπαράλληλες στήλες κατά τον άξονα b .

15. ANTIMΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

15.1 Έλεγχος αντιβακτηριακής δράσης της κιτράλης απουσία και παρουσία κυκλοδεξτρινών (σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD) στο βακτήριο *E. coli*

Ελέγχθηκε αρχικά η ικανότητα της κιτράλης να αναστείλει την ανάπτυξη του βακτηρίου *E.coli* BW25113 , μέσω διάχυσής της σε στερεό υπόστρωμα από κυκλικά φίλτρα που είχαν εμβολιασθεί με 20μL κιτράλης σε διάφορες συγκεντρώσεις.

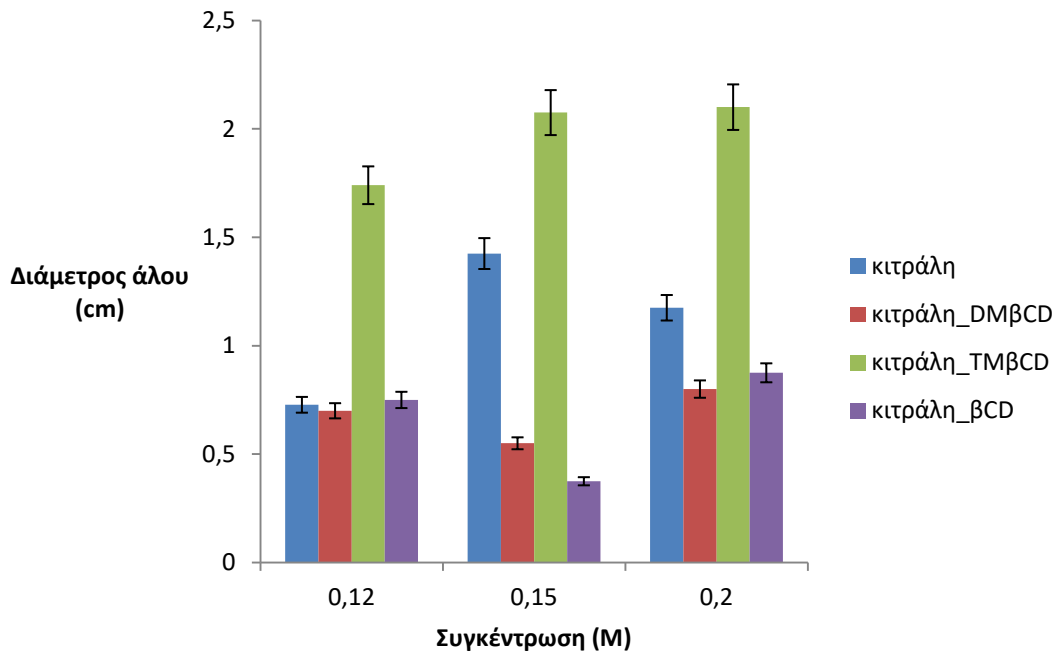
Από τη διάμετρο της άλου που σχηματίστηκε σε κάθε μεταχείριση συμπεραίνουμε πως, η διάμετρος της σχηματιζόμενης άλου ενισχύεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της κιτράλης (Σχήμα 31).



Σχήμα 31: Αντιβακτηριακή δράση της κιτράλης μέσω διάχυσής της σε στερεό υπόστρωμα από φίλτρα διηθητικού χαρτιού.

Σε άλλη σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχες μεταχειρίσεις σε συγκεντρώσεις κιτράλης 0,2, 0,15 και 0,12 M καθώς και τα προϊόντα εγκλεισμού της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις ως προς τη κιτράλη.

Από το διάγραμμα του σχήματος 32 φαίνεται πως στις τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις της κιτράλης που εφαρμόστηκαν (παρουσία και απουσία κυκλοδεξτρινών), μεγαλύτερη διάμετρο άλου σχηματίζει η κιτράλη/TM-β-CD. Συμπεραίνουμε λοιπόν πως η TM-β-CD ενισχύει, σε μεγάλο βαθμό, τη βακτηριοκτόνο δράση της κιτράλης. Από την άλλη πλευρά, η δράση της κιτράλης παρουσία β-CD ενάντια στο βακτήριο *E.coli* κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα με εκείνη παρουσία της DM-β-CD και χαμηλότερα από τα επίπεδα της καθαρής κιτράλης. Επομένως, η β-CD και η DM-β-CD φαίνεται να προστατεύουν το μόριο της κιτράλης ελαττώνοντας παράλληλα τη βιοδιαθεσιμότητά του συγκριτικά με την TM-β-CD.



Σχήμα 32: Αντιβακτηριακή δράση της κιτράλης παρουσία και απουσία κυκλοδεξτρινών (β-CD, DM-β-CD, TM-β-CD) μέσω διάχυσής της σε στερεό υπόστρωμα από φίλτρα διηθητικού χαρτιού.

15.2 Προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της κιτράλης παρουσία και απουσία κυκλοδεξτρινών (β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD) για το βακτήριο *E. coli*.

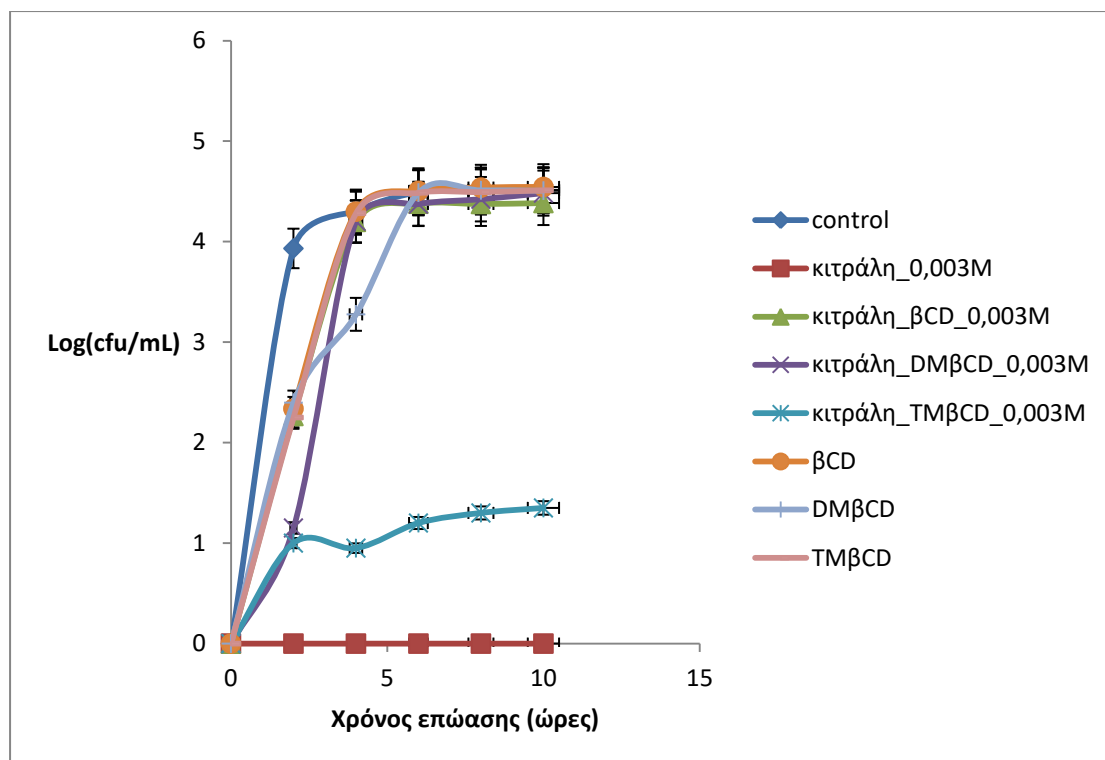
Ο προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) της κιτράλης και των προϊόντων εγκλεισμού της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD για το βακτήριο *E. coli*, υπολογίστηκε εφαρμόζοντας ίδιες ποσότητες διαλύματος κιτράλης, με ή χωρίς CDs, σε διάφορες συγκεντρώσεις μέσα στο στερεό υπόστρωμα.

Στον πίνακα 3 φαίνονται αναλυτικά οι τιμές MIC, για το βακτήριο *E. coli*, της καθαρής κιτράλης αλλά και των προϊόντων εγκλεισμού της σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD.

Παρατηρώντας τις τιμές, καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η καθαρή κιτράλη και η κιτράλη/TM- β -CD κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα MIC (0.001 και 0.0015M αντίστοιχα) ενώ αρκετά μεγαλύτερες τιμές βρέθηκαν για την κιτράλη σε β -CD και DM- β -CD (0.01 και 0.009M αντίστοιχα) .

Πίνακας 3: MIC της κιτράλης στην ελεύθερη μορφή και στα προϊόντα εγκλεισμού αυτής με β -CD, DM- β -CD, TM- β -CD για το βακτήριο *E. coli* .

	κιτράλη	κιτράλη/ β -CD	κιτράλη/ DM- β -CD	κιτράλη/ TM- β -CD
MIC	0.001M	0.01M	0.009M	0.0015M



Σχήμα 33: Αριθμός αποικιών σε σχέση με το χρόνο επώασης ύστερα από προσθήκη του αντιμικροβιακού στο στερεό υπόστρωμα.

Παρατηρώντας τις καμπύλες ανάπτυξης των κυττάρων παρουσία της κιτράλης με ή χωρίς την παρουσία κυκλοδεξτρινών (σχήμα 33), καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η καθαρή κιτράλη, αλλά και παρουσία της TM-β-CD, παρεμποδίζει την ανάπτυξη του *E.coli*. Σε σχέση με όλες τις κυκλοδεξτρίνες που χρησιμοποιήθηκαν, η παρουσία της TM-β-CD (στο διάλυμα κιτράλης) αναστέλλει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη του συγκεκριμένου βακτηρίου (παρόμοια δράση με εκείνη της καθαρής κιτράλης) αφού φαίνεται η ίδια να ενισχύει τη βιοδιαθεσιμότητα του μορίου της κιτράλης. Η δράση της κιτράλης παρουσία των β-CD και DM-β-CD ενάντια στο *E.coli* δείχνει να είναι παρόμοια και ελαφρώς ανασταλτική, όπως και οι ίδιες οι κυκλοδεξτρίνες δεν επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι κυκλοδεξτρίνες αυξάνουν την υδατοδιαλυτότητα, τη βιοδιαθεσιμότητα, βελτιώνουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες της κιτράλης και παράλληλα προστατεύουν το μόριό της από την οξείδωση ελαττώνοντας παράλληλα την πτητικότητα του. Συνεπώς, αποφεύγεται η χρήση οργανικών διαλυτών αφού οι κυκλοδεξτρίνες είναι καλοί γαλακτωματοποιητές και μπορούν να δράσουν ως «μεταφορείς» (carriers) διαφόρων λιπόφιλων μορίων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ



16. ΔΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Στα διμερή των προϊόντων εγκλεισμού των τερπενίων (κιτράλη και φαρνεσόλη) με α -CD, η μία CD εμφανίζεται ελαφρώς μετατοπισμένη σε σχέση με την άλλη (ως προς τον άξονα c) διότι δεν συμπληρώνονται όλοι οι υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των δευτεροταγών υδροξυλικών ομάδων. Η εικόνα αυτή αφορά μια πληθώρα προϊόντων εγκλεισμού που κρυσταλλώνουν στο τρικλινές κρυσταλλικό σύστημα όπου οι α -CDs σχηματίζουν διμερή κεφαλής-κεφαλής (head-to-head dimers) (Harata and Kawano, 2002). Παρ' ότι η κιτράλη είναι μονοτερπένιο (10 άτομα άνθρακα) και η φαρνεσόλη σесκιτερπένιο (15 άτομα άνθρακα), έχουμε και στις δύο περιπτώσεις σχηματισμό διμερούς με ίδια στοιχειομετρία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου (2:1) και παρόμοια κρυσταλλική διευθέτηση (σχηματισμός καναλιών, CH-type). Η μετατόπιση δύο διαδοχικών διμερών της ίδιας στήλης και στις δύο περιπτώσεις υπολογίστηκε γύρω στα 2,1 Å.

Το σχηματιζόμενο διμερές της φαρνεσόλης φαίνεται να είναι πιο σταθερό σε σχέση με την κιτράλη, εξαιτίας του μεγαλύτερου μήκους του, αφού διαπερνά πλήρως το μακρόκυκλο του ξενιστή (προσομοιάζει με ψευδοροταξάνιο). Σε ότι αφορά την κιτράλη σε α -CD, παρ' ότι βρίσκεται επίσης σε εκτεταμένη διαμόρφωση, η υδρόφοβη ουρά της προσανατολίζεται κυρίως στην περιοχή της διεπιφάνειας του σχηματιζόμενου διμερούς. Αποτέλεσμα αυτών, είναι ο εγκλεισμός της φαρνεσόλης να είναι ισχυρότερος από την κιτράλη. Αυτό επιβεβαιώνεται από τις τιμές που υπολογίστηκαν από τη μέθοδο MM/GBSA (Πίνακας 4) όπου παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή ενέργειας σύνδεσης για τη φαρνεσόλη/ α -CD σε σχέση με την κιτράλη/ α -CD ($-33,95 \pm 2,53$ και $-20,37 \pm 2,11$ kcal/mol αντίστοιχα).

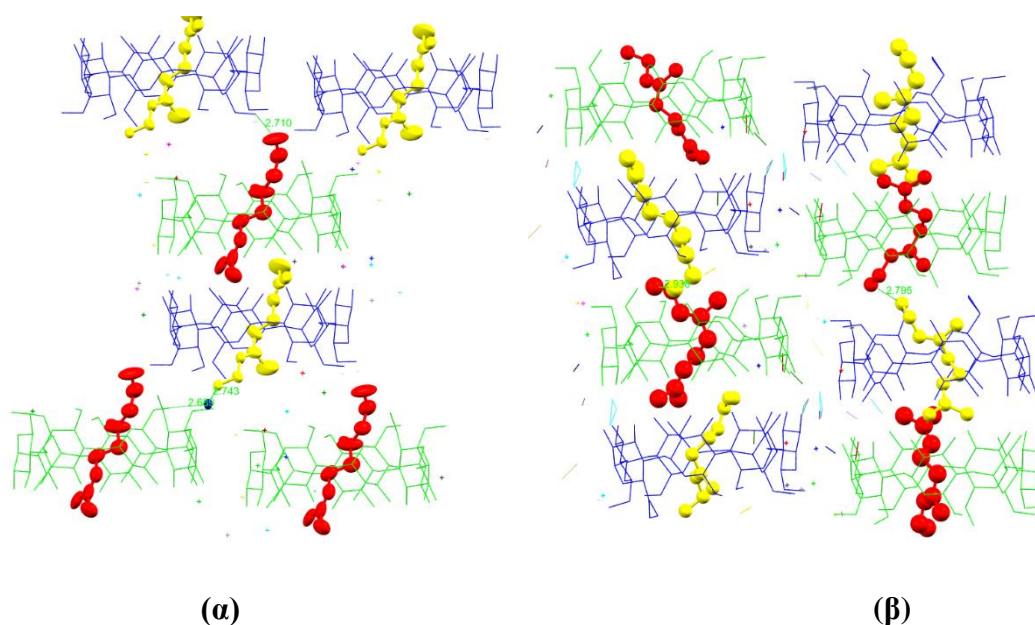
Συγκρίνοντας τα προϊόντα εγκλεισμού κιτράλης και φαρνεσόλης σε β -CD, όπου έχουμε επίσης σχηματισμό διμερούς, οι διαφορές είναι ακόμη πιο έντονες διότι στο σχηματιζόμενο διμερές της β -CD χωρούν δύο μόρια κιτράλης ενώ στο διμερές με την φαρνεσόλη μόνο ένα μόριο φαρνεσόλης. Η φαρνεσόλη βρίσκεται σε εκτεταμένη διαμόρφωση και διαπερνά, σαν άξονας, έναν μακρόκυκλο β -CD, με την πολική κεφαλή του να εισέρχεται στην πρωτοταγή περιοχή του γειτονικού διμερούς (η υδρόφιλη ουρά του βρίσκεται πλάι στο μεσοδιάστημα του σχηματιζόμενου διμερούς ενώ η πολική κεφαλή του εισέρχεται στην πρωτοταγή περιοχή του γειτονικού διμερούς). Ο εγκλεισμός της φαρνεσόλης/ β -CD φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ισχυρός

(ψευδοροταξάνιο) γεγονός που επιβεβαιώνεται από τις τιμές του Πίνακα 4 (-20,13±2,25 και -34,04±2,73 kcal/mol για κιτράλη και φαρνεσόλη σε β -CD αντίστοιχα). Τα άλλα δύο μονοτερπένια (β -κιτρονελλόλη και γερανιόλη) ακολουθούν τον τρόπο εγκλεισμού της κιτράλης στα διμερή με τη β -CD, με στοιχειομετρία 2:2, και εμφανίζουν παρόμοιες τιμές ενεργειών σύνδεσης (Πίνακας 4). Συνεπώς, το μήκος την αλυσίδας της φαρνεσόλης έχει ως συνέπεια τον ισχυρότερο εγκλεισμό της. Αυτό βέβαια ισχύει μόνο για τα διμερή που σχηματίζουν οι α - και β -CDs.

Σε όλα τα διμερή που σχηματίζει η β -CD, τα ξενιζόμενα μόρια φαίνεται να «αναγκάζονται» να λάβουν μια πιο εκτενή διαμόρφωση η οποία δεν είναι απαραίτητα και η σταθερότερη γι' αυτά (πχ. γερανιόλη και β -κιτρονελλόλη). Βέβαια, τα διμερή των β -CDs «κουμπώνουν τέλεια» δηλαδή έχουμε σχηματισμό υδρογονικών δεσμών μεταξύ όλων των δευτεροταγών υδροξυλικών ομάδων (head-to-head dimer), γεγονός που επηρεάζει τη διαμόρφωση του ξενιζομένου μορίου, το βαθμό εγκλεισμού και την κρυσταλλική διευθέτηση. Επομένως, ο τρόπος που σχηματίζεται το διμερές παίζει σημαντικό ρόλο στο τελικό προϊόν, και αυτό μπορεί να μελετηθεί μόνο με κρυσταλλογραφία ακτίνων X.

Η μελέτη των προϊόντων εγκλεισμού σε β -CDs κατέληξε στο ότι σε όλα τα μονοτερπένια (γερανιόλη, κιτράλη, β -κιτρονελλόλη) η αναλογία ξενιστή:ξενιζομένου μορίου είναι 2:2 ενώ στα σεσκιτερπένια [φαρνεσόλη και νερολιδόλη (Μεταπτυχιακή εργασία Κωνσταντίνας Κούρου «Εγκλεισμός συστατικών εκχυλίσματος πρόπολης σε κυκλοδεξτρίνες»)] είναι 2:1. Τα μονοτερπένια ενθυλακώνονται με τον ίδιο τρόπο στο σχηματιζόμενο διμερές (τα άτομα οξυγόνου προσανατολίζονται προς τις πρωτοταγείς πλευρές και οι υδρόφοβες αλειφατικές αλυσίδες προς την περιοχή μεταξύ των δύο δευτεροταγών πλευρών του διμερούς). Τα ξενιζόμενα μόρια βρίσκονται ισχυρά αποδιατεταγμένα μέσα στα σχηματιζόμενα διμερή καθώς δεν φαίνεται οι β -CDs να εμφανίζουν στερεοεκλεκτικότητα. Το πακετάρισμα των προϊόντων εγκλεισμού των μονοτερπενίων σε β -CD διαμορφώνεται ανάλογα με τον τρόπο που το ξενιζόμενο μόριο συνδέεται με δεσμούς υδρογόνου είτε με τον ξενιστή που τον ενθυλακώνει είτε με ξενιστή ή ξενιζόμενο μόριο γειτονικού συμπλόκου. Συγκεκριμένα, η κιτράλη συνάπτει δεσμούς υδρογόνου με τον ξενιστή που την ενθυλακώνει και η γερανιόλη με γειτονικά ξενιζόμενα μόρια. Και στις δύο περιπτώσεις τα σύμπλοκα σχηματίζουν κανάλια και η μετατόπιση μεταξύ δυο γειτονικών διμερών του ίδιου αυλού είναι γύρω στα 2,85Å. Αντίθετα, στα προϊόντα εγκλεισμού της β -κιτρονελλόλης και της

γερανιόλης των (Ceborska et al., 2015), μία δομή που έχει ήδη δημοσιευτεί (CCDC code: VUYGUT) (Σχήμα 34), τα ξενιζόμενα μόρια συνάπτουν δεσμούς υδρογόνου με γειτονικούς ξενιστές γεγονός που συντελεί στο πακετάρισμα των λεγόμενων «ενδιάμεσων καναλιών», *IM channels* (μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών διμερών της ίδιας στήλης ~5,9Å. Από την άλλη πλευρά, το μόριο της φαρνεσόλης, έχοντας μια πιο μακριά αλυσίδα, διεισδύοντας και στο γειτονικό διμερές, σχηματίζει αυλούς (*CH-type*) στα προϊόντα εγκλεισμού του με β -CDs. Στην περίπτωση αυτή έχουμε μια εντελώς διαφορετική μοναδιαία κυψελίδα, επομένως δεν υπάρχει καμία ισομορφία με τα προϊόντα εγκλεισμού των μονοτερπενίων σε β -CDs.



Σχήμα 34 (α). Τα διμερή του προϊόντος γερανιόλη/ β -CD (VUYGUT) σχηματίζουν «ενδιάμεσα κανάλια» (*IM packing mode*) λόγω των δεσμών–H μεταξύ γερανιόλης και προτοταγών υδροξυλομάδων γειτονικών CDs και (β) τα αντίστοιχα διμερή στην παρούσα μελέτη σχηματίζουν αυλούς (*CH*) λόγω των δεσμών–H και H-H αλληλεπιδράσεων μεταξύ γειτονικών μορίων γερανιόλης

Εν κατακλείδι, το μέγεθος του ξενιζομένου μορίου επηρεάζει σημαντικά το σχηματισμό του προϊόντος εγκλεισμού στις περιπτώσεις με ξενιστές α - και β -CDs όπου η κοιλότητα του ξενιστή είναι πιο σταθερή εξαιτίας των ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών του ξενιστή και των διαμοριακών του διμερούς.

Σε όλα τα προϊόντα εγκλεισμού της DM- β -CD, δεν παρατηρείται σχηματισμός διμερούς, έχουμε όμως ενδομοριακούς υδρογονικούς δεσμούς, επομένως ο ξενιστής διατηρεί τη γεωμετρία κανονικού επταγώνου και τα μονοτερπένια βρίσκονται εγκλεισμένα εμφανίζοντας παρόμοιες ενέργειες σύνδεσης. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των DM- β -CDs σε όλα τα προϊόντα εγκλεισμού τους, έχουν παρόμοιες τιμές, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο μακρόκυκλος της DM- β -CD δεν παραμορφώνεται σε καμία περίπτωση. Η κοιλότητα δηλαδή είναι «στερεή» (μοιάζει με κανονικό επτάγωνο) και το ξενιζόμενο μόριο κάμπτεται ανάλογα με την περίπτωση. Η β -κιτρονελλόλη έχει περισσότερους βαθμούς ελευθερίας (λόγω ύπαρξης ενός διπλού δεσμού) σε σχέση με τη γερανιόλη (δύο διπλοί δεσμοί), επομένως φαίνεται να κάμπτεται περισσότερο ώστε να «χωρέσει» στο μακρόκυκλο. Αντίθετα, η γερανιόλη εξέχει πολύ περισσότερο από την δευτεροταγή πλευρά της DM- β -CD διότι έχει λιγότερους βαθμούς ελευθερίας στο μόριό της και δε μπορεί να καμφθεί όσο η β -κιτρονελλόλη. Αν και μέσα στα όρια του σφάλματος, οι τιμές ενέργειας σύνδεσης για τη γερανιόλη/DM- β -CD είναι μικρότερη διότι η κιτράλη και η β -κιτρονελλόλη βρίσκονται εξ'ολοκλήρου μέσα στην κοιλότητα της DM- β -CD γεγονός που υποδηλώνει πως οι βαθμοί ελευθερίας του ξενιζομένου παίζουν σημαντικότερο ρόλο από τη χαρακτηριστική ομάδα (αλδεΐδη ή αλκοόλη στην περίπτωση αυτή). Το γεγονός αυτό επηρεάζει και την κρυσταλλική διεύθετηση, αφού το προϊόν εγκλεισμού της γερανιόλης σχηματίζει αντιπαράλληλους αυλούς (προσανατολισμός κεφαλής-ουράς), αφού προεξέχει από τη δευτεροταγή πλευρά, ενώ εκείνο της β -κιτρονελλόλης και της κιτράλης, παράλληλες και αντιπαράλληλες στήλες αντίστοιχα (προσανατολισμός κεφαλής-ουράς) οι οποίες συγκλίνουν ως προς τον άξονα a . Σε όλα τα προϊόντα εγκλεισμού των τερπενίων με DM- β -CDs, φαίνεται τα άτομα οξυγόνου των ξενιζομένων μορίων (γερανιόλης, κιτράλης και β -κιτρονελλόλης), να προσανατολίζονται προς την πρωτοταγή πλευρά της DM- β -CD (είτε συνάπτοντας υδρογονικούς δεσμούς με μόρια νερού είτε όχι).

Τέλος, όλα τα προϊόντα εγκλεισμού της DM- β -CD κρυσταλλώνουν στην ίδια ομάδα χώρου ($P2_12_12_1$), παρ' όλα αυτά, δεν είναι ισόμορφα διότι έχουν διαφορετικές

διατάσεις μοναδιαίας κυψελίδας και διαφορετική κρυσταλλική μοριακή διευθέτηση. Η δομή του συμπλόκου εγκλεισμού της φαρνεσόλης σε DM- β -CD παρουσιάζει ενδιαφέρον, αν και δεν έχει ολοκληρωθεί η βελτιστοποίησή της, εξαιτίας της χαμηλής διακριτότητας που οι μονοκρυσταλλοί περιθλούν τις ακτίνες-X. Παρ' όλα αυτά, η δομή είναι μοναδική, διότι η αναλογία ξενιστή:ξενιζόμενου μορίου είναι 2:1 (λόγω της μακρύτερης ανθρακικής αλυσίδας που διαθέτει η φαρνεσόλη σε σχέση με τα άλλα μονο-τερπένια) και τα προϊόντα εγκλεισμού σχηματίζουν κανάλια κατά τον άξονα c , μια εικόνα που δεν εμφανίζεται σε κανένα άλλο προϊόν εγκλεισμού της DM- β -CD.

Σε όλες τις περιπτώσεις των σχηματιζόμενων προϊόντων εγκλεισμού της TM- β -CD, παρατηρείται η δημιουργία «καπακιού» στην πρωτοταγή-στενή περιοχή της TM- β -CD. Ο βαθμός εγκλεισμού φαίνεται να είναι μικρότερος σε σχέση με τις υπόλοιπες κυκλοδεξτρίνες, διότι ο ξενιστής είναι αρκετά εύκαμπτος (βλ. γεωμετρικά χαρακτηριστικά παράρτημα II), επομένως, τα ξενιζόμενα μόρια διευθετούνται στην κοιλότητα με διαφορετικούς τρόπους όπως: τα άτομα οξυγόνου πλάι στην πρωτοταγή ή τη δευτεροταγή περιοχή, εκτεταμένη ή κεκαμένη διαμόρφωση κτλ. Η μεγάλη ευκαμψία που διαθέτει η κοιλότητα της TM- β -CD, την καθιστά ικανή να φιλοξενεί στο εσωτερικό της μια πληθώρα μορίων διαφόρων γεωμετριών. Οι δομές των συμπλόκων εγκλεισμού των εξεταζόμενων τερπενίων σε TM- β -CD αποκαλύπτουν έντονο το μηχανισμό induced-fit στο σχηματισμό των συμπλόκων εγκλεισμού. Η περιμεθυλωμένη β -κυκλοδεξτρίνη, στερείται υδροξυλομάδων και έτσι δεν έχει τη δυνατότητα σχηματισμού διαμοριακών και ενδομοριακών υδρογονικών δεσμών που σταθεροποιούν τη διαμόρφωσή της. Αποτέλεσμα αυτού είναι ο μακρόκυκλος του ξενιστή TM- β -CD να παρουσιάζει έντονη παραμόρφωση και να αποκλίνει σημαντικά από τη μορφή κανονικού επταγώνου. Κύριο χαρακτηριστικό όλων των δομών είναι η διαμόρφωση «κλειστού» αντί κόλουρου κώνου στην πρωτοταγή περιοχή της TM- β -CD που διακρίνεται από το σχηματισμό ενός «καπακιού» που δημιουργούν τρεις γλυκοπυρανόζες με μεγάλη κλίση τ . Από τους πίνακες του Παραρτήματος II φαίνεται ότι το εύρος των τιμών για τις γωνίες τ κυμαίνεται από 30,6 έως 43,3° για τους ξενιστές των συμπλόκων εγκλεισμού κινράλης, κίτρονελλόλης και γερανιόλης σε TM- β -CD. Στην περίπτωση του συμπλόκου εγκλεισμού φαρνεσόλης σε TM- β -CD οι τιμές αυτές κυμαίνονται από 28,8 έως 34,9°, μαρτυρώντας μια πιο ανοιχτή διαμόρφωση στην πρωτοταγή πλευρά του ξενιστή εξαιτίας της βαθύτερης διεϊσδυσης

του μακρύτερου ξενιζόμενου μορίου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η περίπτωση του συμπλόκου εγκλεισμού GA_3 σε TM- β -CD όπου ζευγάρια τ γωνιών εμφανίζουν υψηλές θετικές αλλά και αρνητικές τιμές ($\tau_1=-39$, $\tau_4=-40,5$ και $\tau_3=35,6$, $\tau_7=31,1^\circ$). Σε αυτήν την περίπτωση το μεγάλο μέγεθος του ξενιζόμενου GA_3 και το βάθος εγκλεισμού του, έχει σαν αποτέλεσμα η πρωτοταγής πλευρά του ξενιστή TM- β -CD να υιοθετεί διαμόρφωση που «ταιριάζει» στον προσανατολισμό και το σχήμα του ξενιζόμενου τμήματος.

Επίσης, από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM- β -CD στα εξεταζόμενα σύμπλοκα εγκλεισμού όπως δίνονται στους Πίνακες Π3, Π7, Π10, Π13, Π14 του Παραρτήματος II, προκύπτει ότι στην περίπτωση εγκλεισμού της φαρνεσόλης και της γερανιόλης, ο μακρόκυκλος του ξενιστή πλησιάζει περισσότερο στο σχήμα κανονικού επταγώνου καθώς εμφανίζει μικρότερο εύρος τιμών για τα μεγέθη D_k , D , d και Φ_n συγκριτικά με τα άλλα σύμπλοκα εγκλεισμού. Ειδικότερα, $120^\circ-137^\circ$ (η γωνία που σχηματίζουν τα $O_{4_{n-1}}-O_{4_n}-O_{4_{n+1}}$, Φ), $4,7-5,2 \text{ \AA}$ (η απόσταση του κάθε O_{4_n} από το βαρύκεντρο των O_{4n} , D_k), $4,3-4,47 \text{ \AA}$ (η απόσταση του κάθε O_{4_n} από το επόμενο $O_{4_{n+1}}$, D), και $0,7 - 0,45 \text{ \AA}$ (η απόσταση του κάθε O_{4n} από το επίπεδο των O_{4n} , d). Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι σε προϊόντα εγκλεισμού με σχετικά μικρού μοριακού βάρους λιπόφιλα ξενιζόμενα μόρια, υπάρχει μεγάλη παραμόρφωση του μακρόκυκλου της TM- β -CD (Caira et al., 2004), γεγονός που παρατηρείται στην περίπτωση του προϊόντος εγκλεισμού του α -ναφθαλινοξικού οξέος σε DM- β -CD και TM- β -CD (Bethanis et al., 2018) ενώ μια λιγότερο παραμορφωμένη γεωμετρία ξενιστή παρατηρείται σε περιπτώσεις όπου όπου τα ξενιζόμενα μόρια είναι πιο ογκώδη και σχετικά μεγαλύτερου μοριακού βάρους όπως για παράδειγμα το ναπροξέν (naproxen) (Caira et al., 1994). Εντούτοις, στην περίπτωση του σημαντικά μεγαλύτερου ξενιζόμενου μορίου του GA_3 , παρατηρείται μεγάλη παραμόρφωση της TM- β -CD παρόμοια με αυτή των συμπλόκων εγκλεισμού κιτράλης και β -κιτρονελλόλης. Ακόμα, στις περιπτώσεις εγκλεισμού του 1-ναφθαλινοξικού οξέος (NAA) (Bethanis et al., 2018) και 2-ναφθαλινοξικού οξέος (2NAA) σε TM- β -CD (Triantafylloroulou et al., 2013) παρότι πρόκειται για μόρια ίδιου μεγέθους, η διαφορά στη θέση υποκατάστασης του ναφθαλενίου οδήγησε σε μικρότερο βάθος εγκλεισμού το μόριο της NAA σε σχέση με αυτό της 2-NAA και σε μεγαλύτερη παραμόρφωση του μακρόκυκλου του ξενιστή.

Επομένως, γίνεται σαφές ότι το μέγεθος και το σχήμα του εγκλεισμένου τμήματος του ξενιζομένου μορίου είναι αυτό που παίζει τον κυρίαρχο ρόλο στη διαδικασία «induced-fit» κατά τη συμπλοκοποίηση εγκλεισμού και επηρεάζει σημαντικά τη γεωμετρία και το βαθμό παραμόρφωσης του ξενιστή στο σχηματιζόμενο προϊόν εγκλεισμού κυρίως στις περιπτώσεις όπου ο ξενιστής είναι αρκετά εύκαμπτος όπως στην περίπτωση της per-μεθυλιωμένης/ β -CD.

Η γερανιόλη, η κιτράλη, η φαρνεσόλη και το GA₃ διευθετούνται σχηματίζοντας αντι-παράλληλους αυλούς ενώ το προϊόν εγκλεισμού της β -κιτρονελλόλης/TM- β -CD σχηματίζει παράλληλα κανάλια κατά τον άξονα *b*. Παρ' ότι η φαρνεσόλη είναι ένα σεσκιτερπένιο, με μακρύτερη αλυσίδα σε σχέση με τα υπόλοιπα (γερανιόλη, κιτράλη, β -κιτρονελλόλη), εμφανίζει μεγάλη ευκαμψία με αποτέλεσμα να εγκλείεται σχεδόν ολόκληρο το μόριο της στην κοιλότητα της TM- β -CD.

Όλα τα προϊόντα εγκλεισμού κρυσταλλώνουν στην ίδια ομάδα χώρου ($P2_12_12_1$), εκτός από το προϊόν εγκλεισμού της φαρνεσόλης/TM- β -CD το οποίο κρυσταλλώνει σε μονοκλινές κρυσταλλικό σύστημα ($P2_1$).

17. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΙΤΡΑΛΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΥΣΙΑ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΩΝ - ΡΟΛΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ-ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΟΜΩΝ

Μελετώντας τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών μεταχειρίσεων συμπεραίνουμε πως η κιτράλη όχι μόνο απουσία αλλά και παρουσία της TM- β -CD, παρεμποδίζει την ανάπτυξη του βακτηρίου *E coli* αγρίου τύπου.

Το συμπέρασμα αυτό διεξήχθη ύστερα από μια σειρά μεταχειρίσεων σε στερεό και υγρό θρεπτικό υλικό. Αρχικά, ελέγχθηκε η ικανότητα της κιτράλης να δρα ως βακτηριοκτόνο ενάντια στο βακτήριο *E coli*. Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκαν επάνω σε διηθητικό χαρτί, ίσοι όγκοι διαλύματος κιτράλης, σε διάφορες συγκεντρώσεις, αφού προηγουμένως είχε γίνει επίστρωση των κυττάρων στα τρυβλία. Έπειτα από σύγκριση της διαμέτρου της άλου που είχε σχηματισθεί σε κάθε τριβλίο (λόγω διάχυσης) καταλήξαμε στο συμπέρασμα πως η κιτράλη είναι ικανή να αναστείλει την ανάπτυξη του βακτηρίου.

Οι ίδια πειραματική διαδικασία επαναλήφθηκε παρουσία και απουσία των CDs (β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD), σε συγκεντρώσεις 0,2, 0,15 και 0,12 M ως προς την κιτράλη, ώστε να διαπιστωθεί ο βαθμός στον οποίο η κάθε κυκλοδεξτρίνη επηρεάζει την αντιβακτηριακή δράση της κιτράλης ενάντια στο συγκεκριμένο βακτήριο. Συγκρίνοντας τις διαμέτρους της άλου που δημιουργήθηκαν σε κάθε μεταχείριση, έγινε φανερό πως η κιτράλη παρουσία TM- β -CD σχηματίζει τη μεγαλύτερη διάμετρο σε όλες τις παραπάνω συγκεντρώσεις. Από την άλλη πλευρά, οι μεταχειρίσεις της κιτράλης σε β -CD και DM- β -CD σχημάτισαν σημαντικά μικρότερες διαμέτρους σε σχέση με την κιτράλη/TM- β -CD και ενίοτε με την καθαρή κιτράλη. Το γεγονός ότι η κιτράλη/TM- β -CD σχηματίζει μεγαλύτερη διάμετρο από την καθαρή κιτράλη είναι σημαντικό, διότι φαίνεται πως η TM- β -CD όχι μόνο αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα και τη διαλυτότητα της κιτράλης σε υδατικά μέσα αλλά ενισχύει σε σημαντικό βαθμό την αντιβακτηριακή της δράση.

Αντίστοιχα με τα παραπάνω αποτελέσματα προέκυψαν ύστερα από εφαρμογή της κιτράλης παρουσία και απουσία των CDs, σε υγρές βακτηριακές καλλιέργειες, από τις οποίες λαμβάνονταν κάθε 2 ώρες ίδια ποσότητα κυττάρων και επιστρώνονταν σε

στερεό θρεπτικό υλικό. Έπειτα από 24 ώρες επώασης και αφέτου μετρήθηκε ο αριθμός των αποικιών που είχαν επιβιώσει σε κάθε τριβλίο, βρέθηκε ότι η μεταχείριση της κιτράλης/TM- β -CD (διαλύτης νερό) εμφανίζει παρόμοια δράση με την καθαρή κιτράλη σε διαλύτη αιθανόλη. Από την άλλη πλευρά οι μεταχειρίσεις της κιτράλης παρουσία της β -CD και της DM- β -CD παρουσιάζουν παρόμοια δράση ενάντια στο συγκεκριμένο βακτήριο, η οποία είναι πολύ μικρότερη της κιτράλης σε TM- β -CD και της καθαρής κιτράλης. Επομένως, φαίνεται πως η β -CD και η DM- β -CD προστατεύουν περισσότερο το μόριο της κιτράλης σε σχέση με την TM- β -CD, περιορίζοντας έτσι την αντιβακτηριακή του δράση.

Εν κατακλείδι, σε όλες τις μεταχειρίσεις που πραγματοποιήθηκαν (υγρές και στερεές καλλιέργειες του βακτηρίου *E.coli*), η TM- β -CD φαίνεται να ενισχύει την αντιβακτηριακή δράση της κιτράλης, βελτιώνοντας τις φυσικοχημικές της ιδιότητες, αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητά της, και επιπλέον διασφαλίζεται η προστασία της από την εξάτμιση και την οξείδωση. Συνεπώς, αποφεύγεται η χρήση οργανικών διαλυτών αφού οι κυκλοδεξτρίνες είναι καλοί γαλακτωματοποιητές και μπορούν να δράσουν ως «μεταφορείς» (carriers) διαφόρων λιπόφιλων μορίων.

Στον πίνακα 4 δίνονται τα αποτελέσματα που προκύπτουν από υπολογισμούς μοριακής δυναμικής (Molecular Dynamics simulation, MDs), που πραγματοποιήθηκαν αξιοποιώντας τις συντεταγμένες των κρυσταλλικών δομών των συμπλόκων των κυκλοδεξτρινών. Φαίνεται πως σε υδατικό περιβάλλον τα τερπένια διατηρούν την αρχική (κρυσταλλογραφικά προσδιορισμένη) θέση τους μέσα στην κοιλότητα (Σχήμα 35.), σε κάθε περίπτωση ανεξάρτητα του μορίου ξενιστή (Fourtaka et al., 2018). Υπολογισμοί με μεθόδους μοριακής μηχανικής (Molecular Mechanics – Generalized Born Surface Area, MM/GBSA) (Bill R. Miller et al., 2012) χρησιμοποιώντας τα παραχθέντα τροχιακά από τις προσομοιώσεις πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να γίνει σύγκριση των σταθερών πρόσδεσης σε κάθε περίπτωση. Η μέθοδος δίνει τον ενθαλπικό όρο ΔH ή $\Delta G_{(GB)}$, που περιλαμβάνει τις van der Waals αλληλεπιδράσεις από υπολογισμούς μοριακής μηχανικής, την ηλεκτροστατική ενέργεια που οφείλεται στα πεδία δυνάμεων (εδώ το GLYCAM (Kirschner et al., 2008)), την ηλεκτροστατική ενέργεια ως ενέργεια διαλυτοποίησης με χρήση του μοντέλου GB και τις άπολες (μη-πολικές) αλληλεπιδράσεις μεταξύ των επιφανειών των μορίων με την χρήση της μεθόδου ‘LCPO’. Για τον υπολογισμό της συνολικής ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης $\Delta G_{(all)}$, ο εντροπικός όρος $T \cdot \Delta S$

υπολογίζεται από την ανάλυση normal mode (Genheden and Ryde, 2015) σε σταθερή θερμοκρασία και προστίθεται στον όρο $\Delta G_{(GB)}$ σύμφωνα με την εξίσωση:

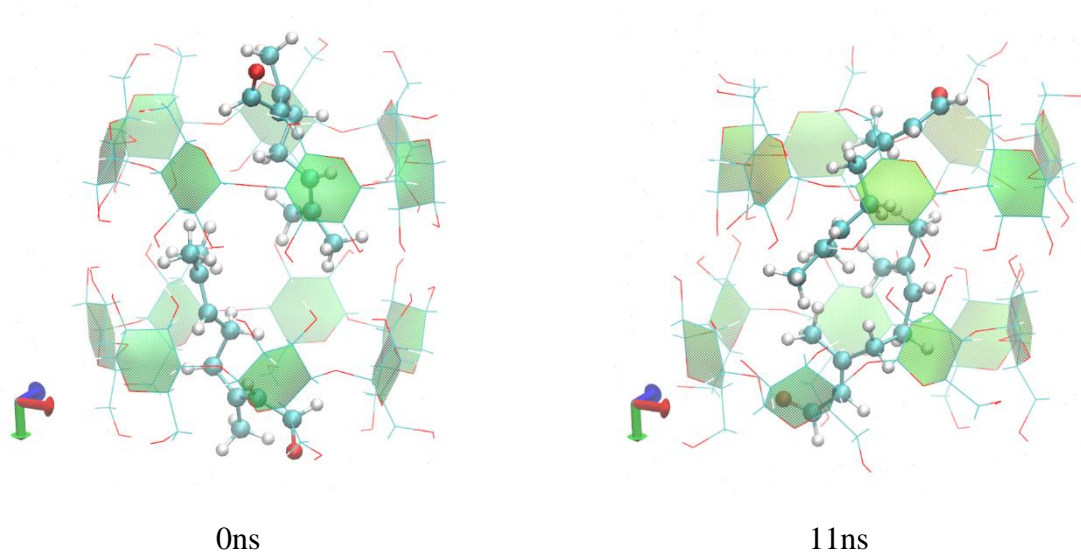
$$\Delta G_{(all)} = \Delta G_{(GB)} - T \cdot \Delta S$$

Από τον Πίνακα 4 παρατηρούμε πως η ενέργεια πρόσδεσης (ΔH) των τριών μονοτερπενίων είναι περίπου ίδια για ξενιστές β -CD και DM- β -CD και μικρότερη σχετικά στην περίπτωση της TM- β -CD. Συγκεκριμένα για την κιτράλη ισχύει $\Delta H(\text{κιτράλης}/\beta\text{-CD}) > \Delta H(\text{κιτράλης}/\text{DM-}\beta\text{-CD}) > \Delta H(\text{κιτράλης}/\text{TM-}\beta\text{-CD})$ ενώ για τη β -κιτρνελλόλη και τη γερανιόλη ισχύει το αντίστροφο αλλά οι τιμές αυτές βρίσκονται στα όρια του σφάλματος. Από την άλλη πλευρά τα προϊόντα εγκλεισμού

Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι τα προϊόντα εγκλεισμού της TM- β -CD είναι λιγότερο σταθερά, επομένως προσφέρουν γρηγορότερη απελευθέρωση και αυτό δικαιολογεί την παρατηρούμενη δράση της κιτράλης παρουσία TM- β -CD στα μικροβιολογικά αποτελέσματα.

Πίνακας 4: Υπολογισμός ενθαλπικού και εντροπικού όρου για την ενέργεια σύνδεσης (kcal/mol), που προκύπτουν από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προσομοίωσης μοριακής δυναμικής των προϊόντων εγκλεισμού (μέθοδος MM/GBSA).

Σύμπλοκα εγκλεισμού	Ενθαλπικός όρος (ΔH)	Τυπική απόκλιση	Εντροπικός όρος ($T^*\Delta S$)	Τυπική απόκλιση	Σταθερά σύνδεσης (ΔG_{all})	Τυπική απόκλιση
κιτράλη/ α -CD	-20,37	2,11	-17,16	1,94	-3,21	2,87
κιτράλη/ β -CD	-20,13	2,25	-16,88	2,69	-3,25	3,51
κιτράλη/ DM- β -CD	-21,75	2,09	-16,39	1,42	-5,36	2,53
κιτράλη/ TM- β -CD	-18,49	4,79	-16,87	1,85	-1,62	5,14
β κιτρνελλόλη/ β -CD	-21,57	2,05	-17,35	2,43	-4,19	3,12
β κιτρνελλόλη/ DM- β -CD	-20,14	2,73	-16,54	1,71	-3,59	3,22
β κιτρνελλόλη/ TM- β -CD	-12,46	4,05	-16,02	1,71	3,57	4,40
γερανόλη/ β -CD	-20,95	2,08	-17,14	2,35	-3,86	3,09
γερανόλη/ DM- β -CD	-18,65	2,37	-16,01	1,44	-2,64	2,77
γερανόλη/ TM- β -CD	-16,52	2,88	-17,22	2,00	0,70	3,5
Φαρνεσόλη/ β -CD	-34,04	2,73	-21,60	2,64	-12,44	3,80
Φαρνεσόλη/ α -CD	-33,95	2,53	-22,33	2,98	-11,62	2,55
Φαρνεσόλη/ TM- β -CD	-19,01	2,84	-18,46	1,48	-0,55	2,03



Σχήμα 35. Αντιπροσωπευτικά στιγμιότυπα στα 0 και 11 ns για το προϊόν εγκλεισμού της κινράλης/ β -CD από μελέτες προσομοίωσης μοριακής δυναμικής. Τα ξενιζόμενα μόρια (εδώ μόρια κινράλης) απεικονίζονται ως CPKs και οι ξενιστές (β -CD) ως paper chain. Η εικόνα δημιουργήθηκε με το VMD (Humphrey et al., 1996).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Πίνακας Ι.1: Κυριότεροι υδρογονικοί δεσμοί προϊόντων εγκλεισμού της γερανόλης σε β -CD, DM- β -CD και TM- β -CD.

Προϊόν εγκλεισμού γερανόλης/β-CD		
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ μορίων γερανόλης		
<u>Άτομο 1</u> (πράξη συμμετρίας)	<u>Άτομο 2</u> (πράξη συμμετρίας)	<u>Απόσταση (Å)</u>
OA1B(x,y,z)	OB1B(x,y,z)	2.65(8)
OA1B(x,y,z)	OB1A(1+x,y,z)	2.93(8)
OA1(x,y,z)	OB1B (-1+x, y,z)	2.79(4)
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ μορίων γερανόλης και β-CD		
O65A(x,y,z)	OA1B(-1+x,y,z)	2.51(8)
O65A(x,y,z)	OB1B(-1+x,y,z)	2.92(5)
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ β-CDs μονομερών και μορίων νερού		
O51A(x,y,z)	OW2 (-1+x,y,z)	2.90(4)
O61A(x,y,z)	OW1(-1+x,y,z)	2.93(9)
O63A(x,y,z)	OW1(1-x,1/2+y,1-z)	2.82(9)
O63A(x,y,z)	OW2(1-x,1/2+y,1-z)	2.59(8)
O21A(x,y,z)	OW3(x,y,z)	2.87(2)
O35A(x,y,z)	OW7(x,y,1+z)	2.91(4)
O35A(x,y,z)	OW8(x,y,1+z)	2.86(7)
O33A(x,y,z)	OW7(1-x,1/2+y,1-z)	2.66(8)
O31A(x,y,z)	OW11(x,y,z)	2.76(0)
O64A(x,y,z)	OW13(x,y,1+z)	2.67(0)
O64A(x,y,z)	OW14(x,y,1+z)	2.90(8)
O36A(x,y,z)	OW15(x,y,z)	2.71(4)
O34A(x,y,z)	OW15(1-x,1/2+y,2-z)	2.644
O34A(x,y,z)	OW16(1-x,1/2+y,2-z)	2.903
O25A(x,y,z)	OW17(x,y,1+z)	2.786
O66A(x,y,z)	OW21(x,y,z)	2.838
O52A(x,y,z)	OW21(-x,1/2+y,1-z)	2.947
O66A(x,y,z)	OW22(x,y,z)	2.403
O62A(x,y,z)	OW22(-x,1/2+y,1-z)	2.929
O27A(x,y,z)	OW23(x,y,z)	2.815
O27A(x,y,z)	OW24(x,y,z)	2.563
O22A(x,y,z)	OW31(1-x,1/2+y,1-z)	2.588
O61A(x,y,z)	OW25(-1+x,y,z)	2.828
O25A(x,y,z)	OW32(x,y,1+z)	2.798
O23B(x,y,z)	O21B(1-x,-1/2+y,1-z)	2.769
O64B(x,y,z)	O66B(2-x,-1/2+y,2-z)	2.805
O64B(x,y,z)	O57B(2-x,-1/2+y,2-z)	2.991
O62B(x,y,z)	OW1(x,y,z)	2.824
O62B(x,y,z)	OW2(x,y,z)	2.835
O37B(x,y,z)	OW3(1-x,1/2+y,1-z)	2.817
O63B(x,y,z)	OW5(x,y,z)	2.736
O66B(x,y,z)	OW5(2-x,1/2+y,2-z)	2.86
O63B(x,y,z)	OW6(x,y,z)	3.002
O25B(x,y,z)	OW7(x,y,1+z)	2.742
O26B(x,y,z)	OW9(1-x,1/2+y,2-z)	2.706

O26B(x,y,z)	OW10(1-x,1/2+y,2-z)	2.637
O24B(x,y,z)	OW15(x,y,z)	2.798
O24B(x,y,z)	OW16(x,y,z)	2.705
O22B(x,y,z)	OW17(x,y,z)	2.778
O22B(x,y,z)	OW18(x,y,z)	2.652
O22B(x,y,z)	OW30(x,y,z)	2.84
O64B(x,y,z)	OW19(1+x,y,1+z)	2.872
O55B(x,y,z)	OW19(1+x,y,1+z)	2.93
O57B(x,y,z)	OW19(1-x,1/2+y,1-z)	3.017
O67B(x,y,z)	OW19(1-x,1/2+y,1-z)	2.721
O33B(x,y,z)	OW23(x,y,z)	2.829
O24B(x,y,z)	OW23(x,y,z)	2.971
O24B(x,y,z)	OW31(x,y,z)	2.855
O31B(x,y,z)	OW23(1-x,1/2+y,1-z)	2.727
O31B(x,y,z)	OW24(1-x,1/2+y,1-z)	2.806
O62B(x,y,z)	OW25(x,y,z)	2.861
O61B(x,y,z)	OW26(1-x,1/2+y,1-z)	2.749
O35B(x,y,z)	OW32(x,y,1+z)	3.039
Δεσμοί υδρογόνου μεταξύ γειτονικών διμερών β-CD		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Atom 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O66A(x,y,z)	O66B(1-x,-1/2+y,2-z)	2.84(7)
O62A(x,y,z)	O63B(1-x,-1/2+y,1-z)	2.79(7)
Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/DM-β-CD		
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ DM-β-CDs μονομερών και μορίων νερού		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O34(x,y,z)	OW5(1.5-x,1-y, -1/2+z)	2.97(2)
O31(x,y,z)	OW1(-x,-1/2+y,1.5-z)	2.76(3)
O61(x,y,z)	OW14(-1+x,y,z)	2.60(1)
O35(x,y,z)	OW3(1/2+x, 1/2-y, 1-z)	2.79(4)
OW13(x,y,z)	OW6(x,y,z)	2.52(2)
OW5(x,y,z)	OW6(x,y,z)	2.79(1)
O33(x,y,z)	OW6(1-x, -1/2+y, 1.5-z)	2.84(5)
OW5(x,y,z)	OW7(1.5-x, 1-y, 1/2+z)	2.70(3)
O64B(x,y,z)	OW8(x,y,z)	2.19(1)
O36(x,y,z)	OW8(1.5-x, 1-y, 1/2+z)	2.83(5)
O63B(x,y,z)	OW11(1.5-x, 1-y, -1/2+z)	2.59(3)
OW1(x,y,z)	OW3(1/2-x, 1-y, 1/2+z)	2.81(4)
OW1(x,y,z)	OW4(x,y,z)	2.78(6)
OW1(x,y,z)	OW8(-1+x,y,z)	2.91(9)
OW2(x,y,z)	OW4(1+x,y,z)	2.89(7)
OW14(x,y,z)	OW4(1+x,y,z)	2.48(2)
OW2(x,y,z)	OW7(x,y,z)	2.27(7)
OW14(x,y,z)	OW7(x,y,z)	3.02(4)
OW14(x,y,z)	OW9(x,y,z)	2.56(5)
OW14(x,y,z)	OW10(x,y,z)	2.98(5)
OW3(x,y,z)	OW10(-1/2+x,1/2-y,1-z)	2.74(5)
OW3(x,y,z)	OW11(-1/2+x,1/2-y,1-z)	2.84(5)
OW4(x,y,z)	OW9(-1+x, y,z)	2.83(4)
OW4(x,y,z)	OW12(-1+x, y,z)	2.86(2)
OW7(x,y,z)	OW8(x,y,z)	2.76(1)

OW9(x,y,z)	OW12(x,y,z)	1.97(3)
OW9(x,y,z)	OW10(x,y,z)	2.51(7)
OW9(x,y,z)	OW11(x,y,z)	2.95(9)
OW12(x,y,z)	OW10(x,y,z)	2.71(2)
OW12(x,y,z)	OW11(x,y,z)	2.46(6)
Προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/TM-β-CD		
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ μορίων γερανιόλης και TM-β-CDs		
O61B(x,y,z)	O1B(x,y,z)	3.00(6)
O22(x,y,z)	O1(x,y,z)	2.91(2)
O22B(x,y,z)	O1(x,y,z)	2.52(5)
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ TM-β-CDs και μορίων νερού		
O52(x,y,z)	OW1(x,y,z)	2.83(4)
O1A(x,y,z)	OW1(1-x,1/2+y,1/2-z)	2.74(3)

Πίνακας I.2: Κυριότεροι υδρογονικοί δεσμοί προϊόντων εγκλεισμού της κιτράλης σε α -CD και β -CD

Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/α-CD		
E- και Z- κιτράλη		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O1 (x, y, z)	OEt4 (x, y, z)	2.74(2)
O1 (x, y, z)	OEt1 (x, y, z)	2.84(4)
O1A (x, y, z)	OEt3 (x, y, z)	2.65(3)
Δεσμοί υδρογόνου μεταξύ γειτονικών διμερών α-CD		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O26B (x, -1+y, 1+z)	O23A (x, y, z)	2.72 (1)
O26A (x, 1+y, z)	O32A (x, y, z)	2.81 (3)
O22A (x, y, z)	O21B (-1+x, y, 1+z)	2.82 (4)
Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/β-CD		
E-κιτράλη (G3)		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O1 (x, y, z)	O6E1 (x, y, z)	2.65(3)
Δεσμοί υδρογόνου μεταξύ γειτονικών διμερών β-CD		
O5D (x, y, z)	O6A(1.5-x, -1/2+y, 1-z)	2.99(5)
O6C (x, y, z)	O6A(1.5-x, -1/2+y, 1-z)	2.86(3)
O2E (x, y, z)	O2G (1/2-x, -1/2+y, -z)	2.74(1)
O6G (x, y, z)	O6C (-1/2+x, 1/2 + y, z)	2.86(1)
O6D (x, y, z)	O6D (1-x, y, 1-z)	2.81(1)
O6B1 (x, y, z)	O6F (1-x, y, 1-z)	2.88(2)
O6B1 (x, y, z)	O6FF (1-x, y, 1-z)	2.88(1)
O6B2 (x, y, z)	O6B2 (2-x, y, 1-z)	2.83(1)
Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/DM-β-CD		
O61(x, y, z)	OW1 (1/2+x, 1/2-y, -z)	2.96(5)
O31(x, y, z)	OW2 (x, -1+y, z)	2.81(5)
Προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/TM-β-CD		
O55 (x, y, z)	O55 (x, y, z)	O55 (x, y, z)
OW1(x, y, z)	OW1(x, y, z)	OW1(x, y, z)

Πίνακας I.3: βασικοί υδρογονικοί δεσμοί των προϊόντων εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης σε β-CD, TM-β-CD και DM-β-CD.

β-κιτρονελλόλη/β-CD		
Εγκλεισμένα εναντιομερή :1(-) και 2(+)		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O1 (1+); x, -1+y, -1+z)	O61A (x, y, z)	2.58(2)
O1 (1+); x, -1+y, -2+z)	O67B (x, y, z)	2.66(3)
O1 (1+); x, -1+y, -2+z)	O67G (x, y, z)	2.83(2)
O1 (1+); x, -1+y, -2+z)	OW14 (x, y, z)	2.70(3)
O1 (1-); x, y, -1+z)	OW1 (x, y, z)	2.85(1)
O1 (1(-))	O67A (x, y, z)	2.66(1)
O1 (2+); x, -2+y, -2+z)	O55B (x, y, z)	2.93(2)
Εγκλεισμένα εναντιομερή:1(+) and 2(-) (απεντοπισμένα σε 2a(-)- and 2b(-))		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O1 (1(+))	O67A (β-CD)	2.72(2)
O1 (1+); x, y, -1+z)	OW1(μόριο νερού)	2.57(1)
O1 (2a(-) και 2b(-); x, -2+y, -2+z)	O64B (β-CD)	2.60(2)
	O64B (β-CD)	2.63(3)
Υδρογονικοί δεσμοί γειτονικών β-CD διμερών		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
O66A(x, y, z)	O62B(-1+x, y, z)	2.75(2)
O64A(x, y, z)	O67A(x, -1+y, z)	2.88(4)
O61A(x, y, z)	O65B (x, 1+y, 1+z)	2.77(2)
O61G(x, y, z)	O53B(1+x, 1+y, 1+z)	2.87(5)
O61G(x, y, z)	O63B(1+x, 1+y, 1+z)	2.95(3)
O61G(x, y, z)	O63E(1+x, 1+y, 1+z)	2.86(2)
O52A(x, y, z)	O63E(1+x, 1+y, 1+z)	2.72(1)
O62B(x, y, z)	O66B(-1+x, y, z)	2.96(1)
O64B(x, y, z)	O61B (x, -1+y, z)	2.71(3)
β-κιτρονελλόλη/DM-β-CD		
OW1 (-1/2+x, 1/2-y, 1-z)	O67A(x, y, z)	2.84(4)
OW1 (-1/2+x, 1/2-y, 1-z)	OW4(x, y, z)	2.79(2)
O36B (-1/2 + x, 1.5 -y, 1-z)	OW4(x, y, z)	2.74(1)
O36A (-1/2 + x, 1.5 - y, 1-z)	OW4(x, y, z)	2.63(4)
OW1(x, y, z)	OW6(x, y, z)	2.79(1)
OW2(x, y, z)	OW6(x, y, z)	2.74(2)
O67A(-1/2 + x, 1/2 - y, 1-z)	OW2 (x, y, z)	2.67(2)
O27A(x, y, z)	OW6(x, y, z)	2.95(1)
OW6 (x, y, z)	OW7 (1+x, y, z)	2.88(2)
OW7 (x, y, z)	O66A (x, y, z)	2.80(1)
OW7 (1/2+x, 1.5-y, 1-z)	O35A (x, y, z)	2.88(2)
β-κιτρονελλόλη/TM-β-CD		
O1A(1/2-x, 1-y, 1/2+z)	O24 (x, y, z)	2.90(2)
O54 (x, y, z)	OW1 (1/2-x, -y, 1/2+z)	2.81(3)

Πίνακας Ι.4: Βασικοί υδρογονικοί δεσμοί των προϊόντων εγκλεισμού *φαρνεσόλης* σε α -CD, β -CD και TM- β -CD.

Φαρνεσόλη/α-CD		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
Υδρογονικοί δεσμοί γειτονικών α-CD διμερών		
O23A(x,y,z)	O22B(1+x,y,z)	2.85(1)
O24A(x,y,z)	O21B(1+x,1+y,z)	2.74(2)
O31B(x,y,z)	O22B(x,y,z)	2.92(5)
O32B(x,y,z)	O23B(x,y,z)	2.84(5)
O33B(x,y,z)	O24B(x,y,z)	2.75(4)
O35B(x,y,z)	O26B(x,y,z)	2.77(3)
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ α-CDs διμερών και μορίων νερού		
O31A(x,y,z)	OW1(x,y,z)	2.59(6)
O25A(x,y,z)	OW1(x,1+y,z)	2.68(2)
O61A(x,y,z)	OW2(x,y,z)	2.75(6)
O65A(x,y,z)	OW2(x,1+y,z)	2.80(7)
O63A(x,y,z)	OW2(1+x,1+y,z)	2.79(3)
O61A(x,y,z)	OW3(x,y,z)	2.72(3)
O64A(x,y,z)	OW3(x,1+y,z)	2.78(3)
O65A(x,y,z)	OW5(-1+x,y,z)	2.72(2)
O62A(x,y,z)	OW5(x,y,z)	2.83(2)
O24A(x,y,z)	OW7(x,1+y,1+z)	3.04(2)
O34A(x,y,z)	OW7(x,1+y,1+z)	3.03(5)
O66A(x,y,z)	OW8(x,y,z)	2.68(1)
O66A(x,y,z)	OW11(x,y,z)	3.02(2)
O62A(x,y,z)	OW8(1+x,y,z)	2.73(2)
O62A(x,y,z)	OW11(1+x,y,z)	2.61(2)
O64A(x,y,z)	OW8(1+x,1+y,z)	2.77(1)
O64A(x,y,z)	OW11(1+x,1+y,z)	2.70(5)
O66A(x,y,z)	OW9(x,y,z)	2.63(6)
O63A(x,y,z)	OW9(1+x,1+y,z)	2.75(3)
O23A(x,y,z)	OW10(1+x,y,z)	2.70(2)
O33A(x,y,z)	OW10(1+x,y,z)	2.82(3)
O26B(x,y,z)	OW1(x,y,z)	2.74(3)
O65B(x,y,z)	OW3(x,y,1+z)	2.68(2)
O62B(x,y,z)	OW3(x,1+y,1+z)	2.79(1)
O66B(x,y,z)	OW4(x,y,1+z)	2.72(5)
O62B(x,y,z)	OW4(x,1+y,1+z)	2.76(5)
O64B(x,y,z)	OW4(1+x,1+y,1+z)	2.79(2)
O61B(x,y,z)	OW5(-1+x,y,1+z)	2.79(4)
O64B(x,y,z)	OW5(x,y,1+z)	2.72(3)
O61B(x,y,z)	OW6(x,y,1+z)	2.72(1)
O65B(x,y,z)	OW6(1+x,y,1+z)	2.74(3)
O63B(x,y,z)	OW6(1+x,1+y,1+z)	2.74(4)
O31B(x,y,z)	OW7(-1+x,y,1+z)	2.74(5)
O25B(x,y,z)	OW7(x,y,1+z)	2.71(5)

O66B(x,y,z)	OW9(x,y,1+z)	2.69(3)
O63B(x,y,z)	OW9(1+x,1+y,1+z)	2.76(4)
O26B(x,y,z)	OW10(x,-1+y,z)	2.92(4)
O32B(x,y,z)	OW10(x,y,z)	2.96(4)
Φαρνεσόλη/β-CD		
Υδρογονικοί δεσμοί γειτονικών β-CD διμερών		
O21(x,y,z)	O36(1-x,y,-z)	3.03(2)
O21(x,y,z)	O27(1-x,y,-z)	2.99(2)
O31(x,y,z)	O26(1-x,y,-z)	3.01(3)
O31(x,y,z)	O36(1-x,y,-z)	2.73(1)
O22(x,y,z)	O26(1-x,y,-z)	2.85(4)
O32(x,y,z)	O35(1-x,y,-z)	2.81(6)
O23(x,y,z)	O25(1-x,y,-z)	3.00(7)
O33(x,y,z)	O34(1-x,y,-z)	2.79(1)
O37(x,y,z)	O37(1-x,y,-z)	2.79(5)
O61B(x,y,z)	O67B(1-x,y,1-z)	2.00(4)
O61B(x,y,z)	O67G(1-x,y,1-z)	2.41(5)
O66(x,y,z)	O64(1.5-x,-1/2+y,1-z)	2.76(7)
O66(x,y,z)	O64B(1.5-x,-1/2+y,1-z)	2.87(4)
O63(x,y,z)	O66(-1/2+x,1/2+y,z)	2.84(7)
O21(x,y,z)	O23(1/2-x,-1/2+y,-z)	2.74(2)
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ β-CD διμερών και μορίων νερού		
O51(x,y,z)	OW7(1-x,y,1-z)	2.80(5)
O61B(x,y,z)	OW7(1-x,y,1-z)	2.77(5)
OW7(x,y,z)	O67(1-x,y,1-z)	2.90(3)
O61(x,y,z)	OW22(-1/2+x,-1/2+y,z)	2.78(6)
OW7(x,y,z)	O64(1.5-x,-1/2+y,1-z)	2.77(4)
O66(x,y,z)	OW22(1.5-x,-1/2+y,1-z)	3.03(6)
O67G(x,y,z)	OW22(1.5-x,-1/2+y,1-z)	2.88(7)
O62(x,y,z)	OW27(x,y,z)	2.38(4)
O62(x,y,z)	OW17(x,y,z)	2.85(3)
O62B(x,y,z)	OW27(x,y,z)	2.11(3)
O62B(x,y,z)	OW17(x,y,z)	2.97(2)
O64(x,y,z)	OW27(1-x,y,1-z)	2.73(1)
O64(x,y,z)	OW17(1-x,y,1-z)	2.84(8)
O64B(x,y,z)	OW27(1-x,y,1-z)	2.91(4)
O57(x,y,z)	OW27(1/2+x,-1/2+y,z)	2.77(4)
OW25(x,y,z)	OW27(1/2+x,-1/2+y,z)	2.69(6)
OW25(x,y,z)	OW17(1/2+x,-1/2+y,z)	2.07(4)
OW13(x,y,z)	OW17(1/2+x,-1/2+y,z)	2.32(2)
O61(x,y,z)	OW1(-1+x,y,z)	2.74(5)
O24(x,y,z)	OW2(x,y,z)	2.71(3)
O31(x,y,z)	OW2(-1/2+x,-1/2+y,z)	2.78(4)
O66(x,y,z)	OW3(x,y,z)	2.72(7)
O63(x,y,z)	OW3(1.5-x,1/2+y,1-z)	2.74(7)
O65(x,y,z)	OW4(x,y,z)	2.77(4)

O26(x,y,z)	OW5(x,y,z)	2.66(7)
O65(x,y,z)	OW8(x,y,z)	2.85(5)
OW25(x,y,z)	OW8(-1/2+x,-1/2+y,z)	2.99(5)
OW13(x,y,z)	OW8(-1/2+x,-1/2+y,z)	2.93(6)
O52(x,y,z)	OW9(-1+x,y,z)	3.02(3)
O62(x,y,z)	OW9(-1+x,y,z)	2.75(3)
O65(x,y,z)	OW9(2-x,y,1-z)	2.84(3)
O65(x,y,z)	OW16(2-x,y,1-z)	2.67(2)
O35(x,y,z)	OW10 (x,y,z)	2.88(2)
O22(x,y,z)	OW14(1-x,y,-z)	2.65(4)
O22(x,y,z)	OW11(-1/2+x,-1/2+y,z)	2.99(6)
O37(x,y,z)	OW12(1-x,y,-z)	2.96(4)
O25(x,y,z)	OW12(1.5-x,1/2+y,-z)	2.68(6)
O27(x,y,z)	OW6 (x,y,z)	2.81(0)
O27(x,y,z)	OW30 (x,y,z)	2.65(8)
O37(x,y,z)	OW6(1-x,y,-z)	2.98(3)
O32(x,y,z)	OW6(-1/2+x,1/2+y,z)	2.89(5)
O32(x,y,z)	OW30(-1/2+x,1/2+y,z)	2.94(6)
Φαρνεσόλη/TM-β-CD		
Υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ φαρνεσόλης και TM-β-CD		
O54(x,y,z)	OAA(x,y,z)	2.93(2)

Πίνακας 1.5: Βασικοί υδρογονικοί δεσμοί προϊόντος εγκλεισμού $GA_3/TM-\beta-CD$.

$GA_3/TM-\beta-CD$		
<u>Άτομο 1</u>	<u>Άτομο 2</u>	<u>Απόσταση (Å)</u>
W1 (x,y,z)	O51 (-1+x, y, z)	2.92(3)
O67B (x,y,z)	O31(x,y,z)	2.50(8)
W1 (x,y,z)	O72 (-x, -1/2+y, 1.5-z)	2.35(8)
W1 (x,y,z)	O71 (-x, -1/2+y, 1.5-z)	2.45(3)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Πίνακας ΙΙ.1: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά της β -CD στο προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/ β -CD

	D_k (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ_n (°)	τ (°)	t (°)	C
CD_A (HostA)							
n=1	5.16(6)	4.49(3)	-0.066(2)	126.55(2)	+13.69(5)	-55.38(4)	gg
n=2	5.04(4)	4.40(6)	-0.012(4)	130.60(4)	+7.23(3)	-66.84(4)	gg
n=3	5.12(4)	4.427(3)	-0.064(2)	127.93(3)	+8.95(3)	-66.72(5)	gg
n=4	5.13(6)	4.45(4)	0.005(19)	127.86(3)	+7.93(3)	-65.10(5)	gg
n=5	5.07(5)	4.38(5)	-0.077(3)	128.99(4)	+10.58(4)	62.63(3)	gt
n=6	5.06(4)	4.43(5)	-0.053(18)	129.43(2)	+3.40(12)	-63.48(4)	gg
n=7	5.12(4)	4.42(3)	-0.043(15)	128.48(4)	+6.39(2)	-65.43(2)	gg
CD_B (HostB)							
n=1	5.03(6)	4.40(4)	0.014(5)	129.98(9)	+10.41	-56.26(4)	gg
n=2	5.21(5)	4.32(5)	-0.056(19)	125.29(14)	+4.04	-61.89(9)	gg
n=3	5.03(4)	4.48(5)	-0.015(5)	130.43(17)	+2.00	-67.83(8)	gg
n=4	5.01(4)	4.41(3)	0.093(3)	129.72(16)	+10.32	-60.98(9)	gg
n=5	5.17(7)	4.43(3)	-0.054(19)	126.32(14)	+11.95	84.17(10)	gt

n=6	5.11(3)	4.34(5)	-0.049(17)	128.43(15)	+8.03(3)	-63.24(8)	gg
n=7	5.01(4)	4.46(3)	0.067(2)	129.64(14)	+11.146(4)	-69.52(8)	gg

Πίνακας II.2 : Γεωμετρικά χαρακτηριστικά της DM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/ DM-β-CD

	D_k (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ_n (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5.04(13)	4.39(6)	0.019(3)	128.75(13)	+12.89(4)	-64.81(7)	gg
n=2	4.97(3)	4.37(11)	-0.069(12)	129.77(7)	+16.91(4)	63.78(3) -63.85(2)	gt gg
n=3	5.05(7)	4.36(7)	0.040(7)	128.21(10)	+9.40(2)	64.09(13) -67.06(12)	gt gg
n=4	5.09(12)	4.32(7)	0.055(9)	127.40(12)	+17.35(4)	64.94(6) -66.25(7)	gt gg
n=5	4.99(9)	4.45(9)	-0.100(17)	129.46(4)	+10.96(3)	60.72(11)	gt
n=6	5.00(8)	4.35(10)	0.049(8)	129.19(14)	+13.69(3)	69.50(10) -69.92(12)	gt gg
n=7	5.12(9)	4.35(7)	0.005(8)	126.86(18)	+15.11(3)	68.99(9)	gt

Πίνακας II.3: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού γερανιόλης/ TM-β-CD

	D_k (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ_n (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.66(4)	4.48(5)	0.030(3)	136.99(12)	+43.3(2)	77.4(7) 113.1(9)	gt tg
n=2	4.95(4)	4.29(5)	0.556(3)	125.71(12)	-13.9(2)	-68.7(6)	gg
n=3	5.22(4)	4.39(5)	-0.278(3)	122.25(12)	+15.55(2)	75.2(6)	gt
n=4	4.92(4)	4.25(7)	-0.399(3)	128.87(13)	+29.0(3)	-74.0(6)	gg

n=5	4.73(6)	4.44(7)	0.368(4)	132.78(16)	+36.1(3)	76.7(9) -81.5(2)	gt gg
n=6	5.09(4)	4.37(6)	0.332(3)	124.80(12)	-16.9(4)	-81.5(9) -83.8(2)	gg gg
n=7	5.21(4)	4.24(5)	-0.609(3)	119.39(11)	+38.8(2)	-74.9(5)	gg

Πίνακας II.4: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά α -CD στο προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ α -CD

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
CD_A (HostA)							
n=1	4.19(6)	4.15(7)	121.34(10)	-0.008(13)	+6.96(15)	-67.33(11)	gg
n=2	4.31(5)	4.33(6)	117.81(11)	0.074(10)	+19.72(3)	-73.17(12)	gg
n=3	4.23(7)	4.23(5)	119.87(10)	-0.061(9)	+13.63(3)	-70.43(11)	gg
n=4	4.19(6)	4.25(7)	131.31(1)	0.062(9)	+13.55(3)	-63.50(1)	gg
n=5	4.29(5)	4.15(6)	118.23(11)	-0.076(11)	+10.19(18)	-58.13(1)	gg
n=6	4.20(7)	4.32(5)	120.65(10)	0.089(13)	+12.12(3)	-66.21(11)	gg
CD_B (HostB)							
n=1	4.25(7)	4.27(6)	119.85(10)	-0.007(13)	14.17(3)	-71.13(11)	gg
n=2	4.16(5)	4.23(7)	121.43(10)	0.081(12)	8.26(17)	-71.92(11)	gg
n=3	4.26(6)	4.24(5)	118.93(10)	-0.123(18)	14.44(3)	-62.58(10)	gg
n=4	4.28(7)	4.16(6)	118.39(10)	0.094(14)	10.02(2)	-59.29(11)	gg

n=5	4.13(5)	4.32(8)	122.96(10)	-0.023(3)	10.36(2)	-67.43(11)	gg
n=6	4.28(6)	4.14(5)	117.84(1)	-0.021(3)	7.62(14)	-65.57(10)	gg

Πίνακας II.5: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά της β -CD στο προϊόν εγκλεισμού κινράλης/ β -CD

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5.02(7)	4.49(9)	129.22(7)	0.074(2)	+10.27(3)	-61.97(12)	gg
n=2	5.22(11)	4.30(6)	124.62(12)	-0.057(18)	+13.45(5)	-48.32(6) 58.55(12)	gg gt
n=3	4.99(7)	4.39(6)	130.45(7)	-0.050(16)	+8.25(3)	-63.40(12)	gg
n=4	4.95(7)	4.43(1)	129.98(9)	0.082(3)	+9.95(4)	-70.37(13)	gg
n=5	5.12(11)	4.39(6)	127.57(10)	0.008(3)	+10.18(4)	-61.97(12)	gg
n=6	5.15(8)	4.34(7)	126.14(4)	-0.082(3)	+8.30(3)	-62.26(12) 57.60(12)	gg gt
n=7	4.90(8)	4.34(8)	131.79(12)	0.024(8)	+3.27(12)	-64.73(7)	gg

Πίνακας II.6: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά DM- β -CD στο προϊόν εγκλεισμού κινράλης/DM- β -CD

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.90(2)	4.31(13)	131.41(2)	-0.269(1)	+11.51(16)	-66.16(10),	gg
n=2	4.88(2)	4.49(18)	131.40(1)	0.009(8)	+5.01(2)	-69.25(15), 52.51(16),	gg gt
n=3	5.24(2)	4.38(18)	123.66(3)	0.207(8)	+13.69(5)	-74.35(2), -90(13)	gg gg
n=4	5.07(18)	4.26(19)	128.69(7)	-0.05(2)	+22.40(11)	-70.52(12)	gg
n=5	4.86(3)	4.43(17)	131.00(3)	-0.22(9)	+6.85(4)	-58.05(15) 63.65(16)	gg gt

n=6	5.03(16)	4.44(14)	129.19(16)	0.168(6)	+10.25(11)	72.12(9)	gt
n=7	5.26(18)	4.33(2)	122.76(2)	0.156(6)	+24.58(3)	81.13(11)	gt

Πίνακας II.7 : Γεωμετρικά χαρακτηριστικά TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού κιτράλης/ TM-β-CD

	D _κ (Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.55(5)	4.35(5)	136.98(7)	-0.404(9)	+39.00(7)	150.89(3) -24.73(2)	tg gg
n=2	5.20(6)	4.50(6)	122.17(2)	-0.351(8)	-12.16(3)	-77.67(7) -66.58(7)	gg gg
n=3	5.35(7)	4.33(4)	116.27(7)	0.643(15)	+35.64(8)	52.57(8) -69.30(4)	gt gg
n=4	4.51(4)	4.24(4)	140.30(5)	-0.043(11)	+40.52(7)	71.65(19)	gg
n=5	4.87(4)	4.56(7)	127.84(5)	-0.542(3)	-15.57(4)	-67.44(8)	gg
n=6	5.38(8)	4.23(4)	119.45(8)	0.220(5)	+12.20(3)	-70.15(4)	gg
n=7	4.96(5)	4.35(4)	126.92(10)	0.477(11)	+31.12(6)	-76.667(8)	gg

Πίνακας II.8: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά β-CD στο προϊόν εγκλεισμού β-κιτρονελλόλης/β-CD

	D _κ (Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
CD_A (HostA)							
n=1	5.06(8)	4.38(6)	128.39(8)	0.024(4)	+12.13(3)	73.60(10) -64.28(11)	gt gg
n=2	5.04(7)	4.27(6)	127.49(9)	-0.007(11)	+4.63(10)	-65.20(10)	gg
n=3	4.93 (6)	4.43(7)	131.01(8)	-0.005(7)	+11.20(2)	-65.65(11)	gg
n=4	5.07(8)	4.33(7)	127.08(9)	-0.020(3)	+9.40(2)	-64.61(12)	gg
n=5	5.05(8)	4.33(5)	128.11(9)	0.049(8)	+7.98(17)	-58.96(9)	gg
n=6	4.98(6)	4.37(6)	129.48(8)	-0.036(6)	+4.15(9)	-64.09(10)	gg

n=7	5.01 (7)	4.37(7)	128.36(9)	-0.005(8)	+4.81(10)	-57.42(7)	gg
CD_B (HostB)							
n=1	4.84(6)	4.32(7)	132.79(8)	-0.043(7)	+5.93(12)	-67.98(10)	gg
n=2	5.06(8)	4.47(7)	128.05(9)	0.021(3)	+7.54(15)	-57.38(10)	gg
n=3	5.23(8)	4.31(5)	123.79(9)	0.032(5)	+5.99(13)	-66.10(10) 60.82(8)	gg gt
n=4	4.88(6)	4.30(6)	132.37(9)	-0.052(8)	+6.17(13)	-63.80(9)	gg
n=5	4.93(7)	4.50(7)	130.33(8)	0.020(3)	+12.89(3)	-68.07(12)	gg
n=6	5.20(8)	4.31(6)	125.13(9)	0.006(9)	+10.24(2)	-63.97(12)	gg
n=7	5.08(8)	4.37(5)	127.44(9)	0.016(3)	+8.24(17)	-56.18(9) -84.04(11)	gg gg

Πίνακας Π.9: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά DM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού β-κίτρονελλόλης/DM-β-CD.

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.90(2)	4.31(13)	131.42(2)	-0.270(1)	+11.51(16)	-65.90(14)	gg
n=2	4.88(2)	4.49(18)	131.40(1)	0.010(8)	+5.02(2)	53.13(13) -68.42(4)	gt gg
n=3	5.24(2)	4.38(18)	123.66(3)	0.207(8)	+13.69(5)	-85.39(14)	gg
n=4	5.07(18)	4.26(19)	128.70(7)	-0.051(2)	+22.40(11)	-70.45(3)	gg
n=5	4.86(3)	4.43(17)	131.05(3)	-0.222(9)	+6.85(4)	-55.97(15) 45.47(3) 76.03(4)	gg gt gt

n=6	5.03(16)	4.44(14)	129.19(16)	0.168(6)	+10.25(11)	73.52(14)	gt
n=7	5.26(18)	4.33(2)	122.76(2)	0.157(6)	+24.59(3)	80.65(3)	gt

Πίνακας II.10: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά TM- β -CD στο προϊόν εγκλεισμού β -κιτρονελλόλης/TM- β -CD.

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.55(5)	4.35(5)	136.99(7)	-0.404(9)	+39.00(7)	150.89(3) -24.73(2)	tg gg
n=2	5.20(6)	4.50(6)	122.17(2)	-0.351(8)	-12.17(3)	-77.67(7) -66.59(7)	gg gg
n=3	5.35(7)	4.33(4)	116.27(7)	0.644(15)	+35.64(8)	52.57(8) -69.30(4)	gt gg
n=4	4.51(4)	4.24(4)	140.30(5)	-0.043(11)	+40.53(7)	71.66(19)	gg
n=5	4.87(4)	4.56(7)	127.85(5)	-0.542(3)	-15.58(4)	-67.45(8)	gg
n=6	5.38(8)	4.23(4)	119.45(8)	0.221(5)	+12.21(3)	-70.15(4)	gg
n=7	4.96(5)	4.35(4)	126.93(10)	0.477(11)	+31.13(6)	-76.67(8)	gg

Πίνακας II.11: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά α -CD στο προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ α -CD

	Dκ(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
CD_A (HostA)							
n=1	4.15(4)	4.34(6)	122.48(18)	0.054(4)	4.32(4)	-65.55(8)	gg
n=2	4.20(6)	4.33(9)	120.52(17)	-0.064(4)	4.14(4)	-67.64(7)	gg
n=3	4.35(6)	4.17(8)	117.11(17)	0.079(4)	4.31(4)	-71.52(6)	gg
n=4	4.20(5)	4.29(8)	120.72(17)	-0.086(4)	4.28(4)	-72.31(7)	gg

n=5	4.17(5)	4.27(8)	121.66(16)	0.077(4)	4.18(4)	-62.87(7)	gg
n=6	4.34(6)	4.23(4)	116.85(17)	-0.06(4)	4.28(4)	-60.70(7)	gg
CD_B (HostB)							
n=1	4.27(5)	4.33(8)	118.51(16)	-0.017(4)	7.75(4)	-66.05(8)	gg
n=2	4.25(5)	4.17(8)	119.9(16)	-0.02(4)	12.82(3)	-72.54(7)	gg
n=3	4.19(6)	4.25(8)	121.00(17)	0.072(4)	7.12(4)	-72.03(7)	gg
n=4	4.24(5)	4.22(8)	119.34(17)	-0.121(4)	12.94(4)	-64.21(7)	gg
n=5	4.27(5)	4.27(8)	118.7(17)	0.102(4)	10.05(4)	-59.32(10)	gg
n=6	4.17(5)	4.15(8)	122.02(17)	-0.034(4)	9.61(4)	-67.67(7)	gg

Πίνακας II.12: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά β -CD στο προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/ β -CD

	D_κ(Å)	D(Å)	Φ (°)	d(Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5.14(12)	4.32(8)	126.18(13)	-0.018(5)	+12.44(4)	-55.61(13) 60.31(4)	gg gt
n=2	5.11(1)	4.38(10)	127.50(6)	0.007(18)	+10.11(4)	131.10(9) -99.55(18)	gt gg
n=3	4.94(12)	4.33(9)	130.63(15)	0.008(2)	+5.48(17)	-68.55(6)	gg
n=4	5.00(9)	4.44(10)	129.45(4)	0.003(10)	+9.66(3)	39.13(3) -57.39(15)	gt gg
n=5	5.19(13)	4.38(9)	125.49(16)	-0.030(8)	+12.50(4)	-66.38(6)	gg
n=6	5.01(9)	4.27(8)	129.28(8)	0.031(8)	+7.72(2)	-59.860(14)	gg
n=7	4.91(10)	4.50(11)	131.42(11)	-0.002(5)	+13.88(5)	-58.76(10)	gg

						14.33(3)	gt
						69.46(17)	gt

Πίνακας Π.13: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού φαρνεσόλης/TM-β-CD.

	D_K(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.66 (14)	4.30(7)	136.86(13)	0.385(9)	+34.89(11)	70.51(18)	gt
n=2	5.19(8)	4.47(7)	121.54(5)	0.342(8)	-13.95(4)	-77.04(17)	gg
n=3	5.19(9)	4.35(13)	119.92(14)	-0.669(15)	+34.13(9)	65.11(19)	gt
n=4	4.65(13)	4.35(8)	137.33(11)	0.119(4)	+34.35(11)	10.57(3) -65.41(18)	gt gg
n=5	5.02(12)	4.39(8)	124.59(11)	0.456(11)	-12.10(4)	-69.06(17)	gg
n=6	5.15(9)	4.32(10)	126.23(16)	-0.221(5)	+13.56(4)	-66.28 (8)	gg
n=7	5.05(9)	4.40(13)	124.00(7)	-0.414(9)	+28.86(7)	-78.44(18)	gg

Πίνακας Π.14 : Γεωμετρικά χαρακτηριστικά TM-β-CD στο προϊόν εγκλεισμού του GA₃/TM-β-CD.

	D_K(Å)	D (Å)	Φ (°)	d (Å)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4.55(5)	4.50(6)	136.98(7)	-0.404(9)	-39.00(7)	-24.73(5) 150.89(3)	gt tg
n=2	5.20(6)	4.33(4)	122.17(2)	-0.352(8)	+12.16(3)	-77.67(7) -66.58(7)	gg gg
n=3	5.35(7)	4.24(4)	116.27(7)	0.643(15)	+35.64(8)	52.57(8) -69.30(4)	gt gg
n=4	4.51(4)	4.53(7)	140.30(5)	-0.043(11)	-40.52(7)	71.65(19)	gt

n=5	4.87(4)	4.23(4)	127.84(5)	-0.542(13)	+15.57(4)	-67.44(8)	gg
n=6	5.38(8)	4.35(4)	119.45(8)	0.220(5)	+12.20(3)	-70.15(4)	gg
n=7	4.96(5)	4.35(5)	126.92(10)	0.477(11)	+31.12(6)	-76.66(8)	gg

* όπου Dk: η απόσταση του κάθε O4_n από το βαρύκεντρο των O4_n, D: η απόσταση του κάθε O4_n από το επόμενο O4_{n+1}, Φ: η γωνία που σχηματίζουν τα O4_{n-1}-O4_n-O4_{n+1}, d: η απόσταση του κάθε O4_n από το επίπεδο των O4, τ: η γωνία που σχηματίζεται μεταξύ των επιπέδων O4_{n-1}-C1_n-C4_n-O4_n και εκείνου των O4, t: η γωνία συστροφής των O5_n-C5_n-C6_n-O6_n και για τις μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες υπολογίζεται και μία δεύτερη γωνία συστροφής, η C5_n-C6_n-O6_n-C7_n

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adukwu, E.C., Bowles, M., Edwards-Jones, V., and Bone, H. (2016). Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *100*, 9619–9627.
- Angiolini, L., Agnes, M., Cohen, B., Yannakopoulou, K., and Douhal, A. (2017). Formation, characterization and pH dependence of rifampicin: heptakis(2,6-di-O-methyl)-beta-cyclodextrin complexes. *Int. J. Pharm.* *531*, 668–675.
- Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J.C., Rial-Otero, R., and Simal-Gándara, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocoll.* *23*, 1631–1640.
- Bäcktorp, C., Hagvall, L., Börje, A., Karlberg, A.-T., Norrby, P.-O., and Nyman, G. (2008). Mechanism of Air Oxidation of the Fragrance Terpene Geraniol. *J. Chem. Theory Comput.* *4*, 101–106.
- Bar, R., and Ulitzur, S. (1994). Bacterial toxicity of cyclodextrins: Luminous *Escherichia coli* as a model. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *41*, 574–577.
- Bellringer, M.E., Smith, T.G., Read, R., Gopinath, C., and Olivier, P. (1995). β -Cyclodextrin: 52-Week toxicity studies in the rat and dog. *Food Chem. Toxicol.* *33*, 367–376.
- Bethanis, K., Tzamalis, P., Tsorteki, F., Kokkinou, A., Christoforides, E., and Mentzafos, D. (2013). Structural study of the inclusion compounds of thymol, carvacrol and eugenol in β -cyclodextrin by X-ray crystallography. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* *77*, 163–173.
- Bethanis, K., Christoforides, E., Tsorteki, F., Fourtaka, K., and Mentzafos, D. (2018). Structural studies of the inclusion compounds of α -naphthaleneacetic acid in heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -Cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -Cyclodextrin by X-ray crystallography and molecular dynamics. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* *92*, 157–171.
- Bill R. Miller, I., T. Dwight McGee, J., Swails, J.M., Homeyer, N., Gohlke, H., and Roitberg, A.E. (2012). MMPBSA.py: An Efficient Program for End-State Free Energy Calculations. *J. Chem. Theory Comput.* *8*, 3314–3321.
- Bruker-AXS (2013). *SAINT* (Madison, Wisconsin, USA).
- Cabral Silva, J., Fábila de Moraes Alcantara, L., Mikaelly Dias Soares, J., Gama e Silva, M., Martins de Lavor, É., Matos Andrade, V., Menezes, P., Araújo, A., Hévila Inocência Leite, L., Menezes, I.R., et al. (2017). Docking, characterization and investigation of β -cyclodextrin complexed with farnesol, an acyclic sesquiterpene alcohol, produces orofacial antinociceptive profile in experimental protocols.
- Caira, M.R., Griffith, V.J., Nassimbeni, L.R., and Van Oudtshoorn, B. (1994). X-ray structure and thermal analysis of a 1:1 complex between (S)-naproxen and

heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **20**, 277–290.

Caira, M.R., Giordano, F., and Vilakazi, S.L. (2004). X-ray Structure and Thermal Properties of a 1:1 Inclusion Complex Between Permethylated β -Cyclodextrin and Psoralen. *Supramol. Chem.* **16**, 389–393.

Carnesecci, S., Bras-Goncalves, R., Bradaia, A., Zeisel, M., Gosse, F., Poupon, M.-F., and Raul, F. (2004). Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Lett.* **215**, 53–59.

Castiglione, F., Ganazzoli, F., Malpezzi, L., Mele, A., Panzeri, W., and Raffaini, G. (2017). Inclusion complexes of β -cyclodextrin with tricyclic drugs: an X-ray diffraction, NMR and molecular dynamics study. *Beilstein J. Org. Chem.* **13**, 714–719.

Ceborska, M., Szwed, K., Asztemborska, M., Wszelaka-Rylik, M., Kicińska, E., and Suwińska, K. (2015). Study of β -cyclodextrin inclusion complexes with volatile molecules geraniol and α -terpineol enantiomers in solid state and in solution. *Chem. Phys. Lett.* **641**.

Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., and Khar, R.K. (2005). Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *AAPS PharmSciTech* **6**, E329–E357.

Christoforides, E., Mentzafos, D., and Bethanis, K. (2015). Structural studies of the inclusion complexes of the (+)- and (–)-borneol enantiomers in α - and β -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **81**, 193–203.

Chun, J.-Y., Jo, Y.-J., Bjrappa, P., Choi, M.-J., and Min, S.-G. (2015). Antimicrobial Effect of α - or β -Cyclodextrin Complexes with Trans-Cinnamaldehyde Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Dry. Technol.* **33**, 377–383.

Cruickshank, D.L., Rougier, N.M., Maurel, V.J., de Rossi, R.H., Buján, E.I., Bourne, S.A., and Caira, M.R. (2013a). Permethylated β -cyclodextrin/pesticide complexes: X-ray structures and thermogravimetric assessment of kinetic parameters for complex dissociation. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **75**, 47–56.

Cruickshank, D.L., Rougier, N.M., Vico, R.V., Bourne, S.A., Buján, E.I., Caira, M.R., and de Rossi, R.H. (2013b). Inclusion of the insecticide fenitrothion in dimethylated- β -cyclodextrin: unusual guest disorder in the solid state and efficient retardation of the hydrolysis rate of the complexed guest in alkaline solution. *Beilstein J. Org. Chem.* **9**, 106–117.

Czugler, M., Eckle, E., and Stezowski, J.J. (1981). Crystal and molecular structure of a 2,6-tetradeca-O-methyl- β -cyclodextrin–adamantanol 1 : 1 inclusion complex. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1291–1292.

Davies, P. (2010). The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. In *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, pp. 1–15.

Del Valle, E.M.M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* *39*, 1033–1046.

Derengowski, L.S., De-Souza-Silva, C., Braz, S.V., Mello-De-Sousa, T.M., Bao, S.N., Kyaw, C.M., and Silva-Pereira, I. (2009). Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* *8*, 13–13.

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., and Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines* *3*, 25.

Dolomanov, O.V., Bourhis, L.J., Gildea, R.J., Howard, J.A.K., and Puschmann, H. (2009). *OLEX2*: a complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.* *42*, 339–341.

Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., and Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Sci. Technol.* *44*, 1908–1914.

Farrugia, L.J. (2012). *WinGX* and *ORTEP* for Windows: an update. *J. Appl. Crystallogr.* *45*, 849–854.

Fourtaka, K., Christoforides, E., Mentzafos, D., and Bethanis, K. (2018). Crystal structures and molecular dynamics studies of the inclusion compounds of β -citronellol in β -cyclodextrin, heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin. *J. Mol. Struct.* *1161*, 1–8.

Ge, X., He, J., Yang, Y., Qi, F., Huang, Z., Lu, R., Huang, L., and Yao, X. (2011). Study on inclusion complexation between plant growth regulator 6-benzylaminopurine and β -cyclodextrin: Preparation, characterization and molecular modeling. *J. Mol. Struct.* *994*, 163–169.

Genheden, S., and Ryde, U. (2015). The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin. Drug Discov.* *10*, 449–461.

gregorio, C., Fourmentin, S., Fenyvesi, E., Torri, G., Fourmentin, M., and Morin-Crini, N. (2018). *Fundamentals and Applications of Cyclodextrins*. pp. 1–55.

Groom, C.R., Bruno, I.J., Lightfoot, M.P., and Ward, S.C. (2016). The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallogr. Sect. B* *72*, 171–179.

Guo, M., Zhang, S., Song, F., Wang, D., Liu, Z., and Liu, S. (2003). Studies on the non-covalent complexes between oleanolic acid and cyclodextrins using electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* *38*, 723–731.

Hadian, Z., Maleki, M., Abdi, K., Atyabi, F., Mohammadi, A., and Khaksar, R. (2018). Preparation and Characterization of Nanoparticle β -Cyclodextrin:Geraniol Inclusion Complexes. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* *17*, 39–51.

- Harata, K., and Kawano, K. (2002). Crystal structure of the cyclomaltohexaose (α -cyclodextrin) complex with isosorbide dinitrate. Guest-modulated channel-type structure. *Carbohydr. Res.* *337*, 537–547.
- Harata, K., Uekama, K., Otagiri, M., and Hirayama, F. (1983). The Structure of the Cyclodextrin Complex. XVI. Crystal Structure of Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin-p-Iodophenol (1 : 1) Complex Tetrahydrate. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* *56*, 1732–1736.
- Hatziagapiou, K., Bethanis, K., Lambrou, G.I., Yannakopoulou, K., Karpusas, M., Braoudaki, M., Christoforides, E., Tsorteki, F., Milionis, V., Kavantzias, N., et al. (2017). Enhanced Gefitinib Cytotoxicity in the Presence of Cyclodextrins: In-Vitro and Biophysical Studies Towards Potential Therapeutic Interventions for Cancer. *J. Biomed. Nanotechnol.* *13*, 522–533.
- Hübschle, C.B., Sheldrick, G.M., and Dittrich, B. (2011). ShelXle: a Qt graphical user interface for *SHELXL*. *J. Appl. Crystallogr.* *44*, 1281–1284.
- Humphrey, W., Dalke, A., and Schulten, K. (1996). *VMD*: visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph.* *14*, 33–38, 27–28.
- Huntley, A. (2010). Aromatherapy Science: a Guide for Healthcare Professionals. *Focus Altern. Complement. Ther.* *11*, 260–260.
- Kaur, P., Mal, D., Sheokand, A., Shweta, Singh, L., and Datta, S. (2018). Role of Plant Growth Regulators in Vegetable Production: A Review.
- Kfoury, M., hadaruga, daniel, Hădărugă, N., and Fourmentin, S. (2016). Cyclodextrins as encapsulation material for flavors and aroma. In *Encapsulations*; Grumezescu, A.M., Ed.; Academic Press, 2016; pp. 127–192 ISBN 978-0-12-804307-3.
- Kfoury, M., Landy, D., and Fourmentin, S. (2018). Characterization of Cyclodextrin/Volatile Inclusion Complexes: A Review. *Mol. Basel Switz.* *23*.
- Kirschner, K.N., Yongye, A.B., Tschampel, S.M., Gonzalez-Outeirino, J., Daniels, C.R., Foley, B.L., and Woods, R.J. (2008). GLYCAM06: a generalizable biomolecular force field. *Carbohydrates. J. Comput. Chem.* *29*, 622–655.
- Lapczynski, A., Bhatia, S.P., Letizia, C.S., and Api, A.M. (2008). Fragrance material review on farnesol. *Toxicol. Dermatol. Assess. Cycl. Non-Cycl. Terpene Alcohols* *46*, S149–S156.
- Liang, H., Yuan, Q., Vriesekoop, F., and Lv, F. (2012). Effects of cyclodextrins on the antimicrobial activity of plant-derived essential oil compounds. *Food Chem.* *135*, 1020–1027.
- Liu, L., and Guo, Q.-X. (2002). The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* *42*, 1–14.
- Loftsson, T., and Brewster, M.E. (1996). Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization. *J. Pharm. Sci.* *85*, 1017–1025.

- Loftsson, T., and Brewster, M.E. (2010). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *J. Pharm. Pharmacol.* *62*, 1607–1621.
- Macrae, C.F., Bruno, I.J., Chisholm, J.A., Edgington, P.R., McCabe, P., Pidcock, E., Rodriguez-Monge, L., Taylor, R., van de Streek, J., and Wood, P.A. (2008). Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.* *41*, 466–470.
- Marques, H.M.C. (2010). A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour Fragr. J.* *25*, 313–326.
- McPherson, A. (2008). An Overview of Macromolecular Crystallography. In *Introduction to Macromolecular Crystallography*, (John Wiley & Sons, Inc.), pp. 1–18.
- Mentzafos, D., Mavridis, I.M., Le Bas, G., and Tsoucaris, G. (1991). Structure of the 4-*tert*-butylbenzyl alcohol- β -cyclodextrin complex. Common features in the geometry of β -cyclodextrin dimeric complexes. *Acta Crystallogr. Sect. B* *47*, 746–757.
- Miro Specos, M., Garcia, J., Tornesello, J., Marino, P., Della Vecchia, M., Defain, M., and Hermida, L. (2010). Microencapsulated Citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles.
- Mourtzinis, I., Kalogeropoulos, N., Papadakis, S.E., Konstantinou, K., and Karathanos, V.T. (2008). Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in beta-cyclodextrin and modified starch. *J. Food Sci.* *73*, S89-94.
- Novák, C., Éhen, Z., Fodor, M., Jicsinszky, L., and Orgoványi, J. (2006). Application of combined thermoanalytical techniques in the investigation of cyclodextrin inclusion complexes. *J. Therm. Anal. Calorim. - J therm anal calorim* *84*, 693–701.
- Onyeji, C. (2018). *Cyclodextrin Complexes: Utility in Improving Drug Bioavailability and Other Applications*.
- Paulidou, A., Maffeo, D., Yannakopoulou, K., and Mavridis, I.M. (2008). Crystal structure of the inclusion complex of the antibacterial agent triclosan with cyclomaltoheptaose and NMR study of its molecular encapsulation in positively and negatively charged cyclomaltoheptaose derivatives. *Carbohydr. Res.* *343*, 2634–2640.
- Popielec, A., Agnes, M., Yannakopoulou, K., Fenyvesi, É., and Loftsson, T. (2018). Effect of β - and γ -cyclodextrins and their methylated derivatives on the degradation rate of benzylpenicillin. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* *91*, 199–209.
- Qiwei, W., and Shouquan, J.I.A. (1990). Theoretical estimation of the crystal growth driving force during slow cooling. *J. Cryst. Growth* *102*, 678–680.
- Rakmai, J., Cheirsilp, B., Mejuto, J.C., Torrado-Agrasar, A., and Simal-Gándara, J. (2017). Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black

pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Hydrocoll.* 65, 157–164.

Rasheed, A., K., K.A., and S., V.S. (2008). Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. *Sci. Pharm.* 76.

Rattan, R.S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot.* 29, 913–920.

Sadgrove, N., Greatrex, B., and Jones, G. (2015). α -Cyclodextrin encapsulation enhances antimicrobial activity of cineole-rich essential oils from Australian species of *Prostanthera* (Lamiaceae).

Saha, S., Roy, A., Roy, K., and Roy, M.N. (2016). Study to explore the mechanism to form inclusion complexes of β -cyclodextrin with vitamin molecules. *Sci. Rep.* 6, 35764.

Sajjad, Y., Jaskani, M., Asif, M., and Qasim, M. (2017). Application of plant growth regulators in ornamental plants: A review.

Samperio, C., Boyer, R., Eigel, W.N., Holland, K.W., McKinney, J.S., O’Keefe, S.F., Smith, R., and Marcy, J.E. (2010). Enhancement of Plant Essential Oils’ Aqueous Solubility and Stability Using Alpha and Beta Cyclodextrin. *J. Agric. Food Chem.* 58, 12950–12956.

Santhanasabapathy, R., Vasudevan, S., Kumari, A., Raja, P., and Sudhandiran, G. (2015). Farnesol quells oxidative stress, reactive gliosis and inflammation during acrylamide induced neurotoxicity: Behavioral and Biochemical evidence.

Schrödinger, LLC (2015). The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8.

Schuttelkopf, A.W., and van Aalten, D.M.F. (2004). PRODRG: a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 60, 1355–1363.

Sharma, N., and Baldi, A. (2016). Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview. *Drug Deliv.* 23, 729–747.

Sheldrick, G.M. (2012). Bruker-AXS, SADABS (Madison, Wisconsin, USA).

Sheldrick, G.M. (2015a). *it* SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr. Sect. A* 71, 3–8.

Sheldrick, G.M. (2015b). Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71, 3–8.

Small, C.C., and Degenhardt, D. (2018). Plant growth regulators for enhancing revegetation success in reclamation: A review. *Ecol. Eng.* 118, 43–51.

Songkro, S., Hayook, N., Jaisawang, J., Maneenuan, D., Chuchome, T., and Kaewnopparat, N. (2012). Investigation of inclusion complexes of citronella oil, citronellal and citronellol with β -cyclodextrin for mosquito repellent.

- Specos, M.M.M., Garcia, J.J., Tornesello, J., Marino, P., Vecchia, M.D., Tesoriero, M.V.D., and Hermida, L.G. (2010). Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* *104*, 653–658.
- Spek, A.L. (2009). Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D* *65*, 148–155.
- Stella, V.J., and He, Q. (2008). Cyclodextrins. *Toxicol. Pathol.* *36*, 30–42.
- Szejtli, J. (1985a). Cyclodextrins: A new group of industrial basic materials. *Food Nahr.* *29*, 911–924.
- Szejtli, J. (1985b). Cyclodextrins in Pesticides. In: *Cyclodextrin Technology. Topics in Inclusion Science*, vol 1. Springer, Dordrecht
- Szejtli, J., Szente, L., and Bánky-Előd, E. (1979). Molecular encapsulation of volatile, easily oxidizable labile flavour substances by cyclodextrins.
- Szente, L., and Fenyvesi, É. (2018). Cyclodextrin-Enabled Polymer Composites for Packaging. *Molecules* *23*.
- Szente, L., and Szejtli, J. (1988). Stabilization of Flavors by Cyclodextrins. In *Flavor Encapsulation*, (American Chemical Society), pp. 148–157.
- Szente, L., and Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *NFIF Part 1* *15*, 137–142.
- Takashima, Y., Sakamoto, K., Oizumi, Y., Yamaguchi, H., Kamitori, S., and Harada, A. (2006). Complex Formation of Cyclodextrins with Various Thiophenes and their Polymerization in Water: Preparation of Poly-pseudo-rotaxanes containing Poly(thiophene)s. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* *56*, 45–53.
- Tang, X., Shao, Y.-L., Tang, Y.-J., and Zhou, W.-W. (2018). Antifungal Activity of Essential Oil Compounds (Geraniol and Citral) and Inhibitory Mechanisms on Grain Pathogens (*Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus*). *Mol. Basel Switz.* *23*.
- Thorn, A., Dittrich, B., and Sheldrick, G.M. (2012). Enhanced rigid-bond restraints. *Acta Crystallogr. A* *68*, 448–451.
- Tian, Y.-Q., Zhou, X., and Jin, Z.-Y. (2012). Use of cyclodextrins in food, pharmaceutical and cosmetic industries. In *Cyclodextrin Chemistry*, (WORLD SCIENTIFIC / CHEMICAL INDUSTRY PRESS, CHINA), pp. 215–233.
- Til, H.P., and Bär, A. (1998). Subchronic (13-Week) Oral Toxicity Study of γ -Cyclodextrin in Dogs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* *27*, 159–165.
- Triantafyllopoulou, V., Mentzafos, D., Tsorteki, F., and Bethanis, K. (2011). Inclusion Compounds of Plant Growth Regulators in Cyclodextrins. Part VI. Study of the Inclusion Compound of MCPA in β -Cyclodextrin by X-Ray Crystallography.
- Triantafyllopoulou, V., Tsorteki, F., Mentzafos, D., and Bethanis, K. (2013). Inclusion compounds of plant growth regulators in cyclodextrins, part VII: study of

the crystal structures of 2-naphthylacetic acid encapsulated in β -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin complexes by X-ray crystallography. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 75, 303–310.

Tsorteki, F., Bethanis, K., and Mentzafos, D. (2004). Structure of the inclusion complexes of heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin with indole-3-butyric acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Carbohydr. Res.* 339, 233–240.

Vyas, R.H., and Kempster, C.J.E. (1984). The low- and high-temperature phases of tris(ethylene terephthalate). *Acta Crystallogr. Sect. A* 40, C276.

Wang, Z., Zhang, X., Deng, Y., and Wang, T. (2007). Complexation of hydrophobic drugs with hydroxypropyl- β -cyclodextrin by lyophilization using a tertiary butyl alcohol system. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 57, 349–354.

Zhou, J., and Ritter, H. (2010). Cyclodextrin functionalized polymers as drug delivery systems. *Polym Chem I*, 1552–1559.

Κούρου Κωνσταντίνα (2018) Μεταπτυχιακή διατριβή με τίτλο «Εγκλεισμός συστατικών εκχυλίσματος πρόπολης σε κυκλοδεξτρίνες» Εργαστήριο Φυσικής, Γ.Π.Α

Φουρτάκα Κατερίνα (2012) Μεταπτυχιακή διατριβή με τίτλο «Μελέτη εγκλεισμού βιοδραστικών ουσιών σε κυκλοδεξτρίνες» (2012) Εργαστήριο Φυσικής, Γ.Π.Α