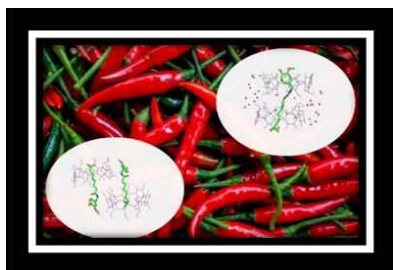
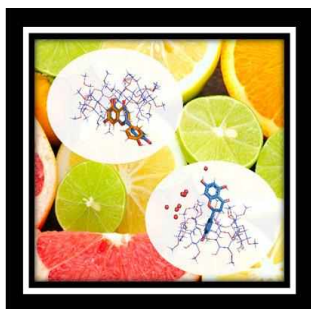




**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**

Μελέτη εγκλεισμού συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες



**Ανδρέας Α. Παπαϊωάννου**

Επιβλέπων Καθηγητής:

Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Μέλη Τριμελούς Επιτροπής:

Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Μιχαήλ Καρπούζας, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2022**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**

Μελέτη εγκλεισμού συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες

“Structural study of inclusion compounds of natural components  
of food in cyclodextrins”

**Ανδρέας Λ. Παπαϊωάννου**

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Μιχαήλ Καρπούζας, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Ηλίας Ηλιόπουλος, Καθηγητής ΓΠΑ

Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Γεωργία Μοσχοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Πέτρος Γκιάστας, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

## Μελέτη εγκλεισμού συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες

Τμήμα Βιοτεχνολογίας  
Εργαστήριο Φυσικής

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής διατριβής είναι η συλλογή και επεξεργασία όλων εκείνων των χαρακτηριστικών που αφορούν τον εγκλεισμό συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες.

Οι κυκλοδεξτρίνες (CDs) είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες που αποτελούνται από μονάδες d-γλυκοπυρανόζης συνδεδεμένες μεταξύ τους με  $\alpha$ -(1→4) γλυκοζιτικούς δεσμούς σε έναν κυκλικό σχηματισμό. Έτσι, τα μόρια της κυκλοδεξτρίνης αποκτούν τελικά ένα σχήμα κόλουρου κώνου με την μεν εξωτερική περιφέρεια να χαρακτηρίζεται ως υδρόφιλη και την δε εσωτερική κοιλότητα υδρόφοβη. Αυτή η χαρακτηριστική διττή ιδιότητα των κυκλοδεξτρινών τις καθιστά ιδανικά μόρια για τον εγκλεισμό, εντός της υδρόφοβης κοιλότητάς τους, υδρόφοβων μορίων κατάλληλου σχήματος και μεγέθους, προς σχηματισμό υδατοδιαλυτών προϊόντων εγκλεισμού. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το μόριο της κυκλοδεξτρίνης χαρακτηρίζεται ως «ξενιστής» (host) ενώ το εγκλεισμένο μόριο ως «ξενιζόμενο» (guest).

Η πιο κοινή κυκλοδεξτρίνη που χρησιμοποιείται ευρέως σε πολλές βιομηχανίες (τρόφιμα, φάρμακα, καλλυντικά κ.α.) είναι η φυσική β-κυκλοδεξτρίνη ( $\beta$ -CD) που αποτελείται από επτά μονάδες γλυκόπυρανόζης, καθώς και οι παράγωγες DM- $\beta$ -CD [επτάκις(2,6-δι-Ο-μεθυλ)- $\beta$ -κυκλοδεξτρίνη] και TM- $\beta$ -CD [επτάκις (2,3,6-τρι-Ο-μεθυλ)- $\beta$ -κυκλοδεξτρίνη] που προκύπτουν με τη μεθυλίωση των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλίων της φυσικής  $\beta$ -CD.

Στην παρούσα διατριβή, μελετώνται με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ τα παρακάτω προϊόντα εγκλεισμού: Χοληστερόλη/ $\beta$ -CD, Ναριγγενίνη/DM- $\beta$ -CD, Ναριγγενίνη/TM- $\beta$ -CD, Καψαϊκίνη/ $\beta$ -CD, Καψαϊκίνη/DM- $\beta$ -CD, Πιπερίνη/ $\beta$ -CD, Πιπερίνη/DM- $\beta$ -CD, Πιπερίνη/TM- $\beta$ -CD, Αραχιδονικό/TM- $\beta$ -CD, Ελαϊκό/ $\beta$ -CD, Λινελαϊκό/ $\beta$ -CD, Μυρκένιο/ $\beta$ -CD και Τυροσόλη/DM- $\beta$ -CD. Τα τελευταία χρόνια τα παραπάνω εγκλειόμενα μόρια παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς οι ιδιότητές τους επηρεάζουν την ποιότητα των τροφίμων, τη διατροφή και την υγεία του ανθρώπου. Αντιπροσωπεύουν ένα ευρύ φάσμα κατηγοριών χημικών ενώσεων, όπως στεροειδή (χοληστερόλη), φλαβονοειδή (ναριγγενίνη), αλκαλοειδή (καψαϊκίνη και πιπερίνη), λιπαρά οξέα (αραχιδονικό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ), μονοτερπένια (μυρκένιο) και φαινόλες (τυροσόλη).

Το πρώτο στάδιο του πειραματικού μέρους αφορά στην κρυσταλλογραφική μελέτη των παραπάνω συμπλόκων. Στα στάδια της συγκεκριμένης μελέτης συμπεριλαμβάνονται η κρυστάλλωση των προϊόντων εγκλεισμού, η συλλογή δεδομένων περίθλασης στο περιθλασίμετρο του εργαστηρίου Φυσικής του ΓΠΑ ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ) σε κρυστογονικές συνθήκες, η επεξεργασία των δεδομένων, η επίλυση και η βελτιστοποίηση των τελικών τρισδιάστατων δομών. Η παραπάνω μελέτη παρείχε σημαντικές πληροφορίες για τη στοιχειομετρία των συμπλόκων στην κρυσταλλική κατάσταση, τη συμμετρία των κρυστάλλων, τον τρόπο εγκλεισμού, τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις κ.α. Οι συνολικά δεκατρείς κρυσταλλικές δομές καθορίστηκαν και καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων Cambridge Structural Database (CSD).

Κατόπιν, με βάση τις τελικές κρυσταλλικές δομές πραγματοποιήθηκαν μελέτες προσομοιώσεων Μοριακής Δυναμικής (Molecular Dynamics) σε υδατικό περιβάλλον. Οι μελέτες αυτές επιτρέπουν την εκτίμηση της κίνησης των ατόμων και της μετατόπισης των μορίων συναρτήσει του χρόνου. Έτσι, παρέχονται επιπρόσθετες δομικές πληροφορίες για την ευστάθεια των συμπλόκων σε υδατικό διάλυμα και τη δυναμική συμπεριφορά των επί μέρους μορίων στα υπό εξέταση συστήματα. Επιπλέον, με την εφαρμογή της μεθόδου MM/GBSA έγινε εκτίμηση των θερμοδυναμικών παραμέτρων που σχετίζονται με τη σταθερότητα των προϊόντων εγκλεισμού κατά τη διάρκεια της

προσομοίωσης, όπως η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης ( $\Delta G_{GB}$ ) η ενθαλπία ( $\Delta H$ ) και η εντροπία ( $\Delta S$ ) του συστήματος.

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν και φασματομετρικές μελέτες σε ορισμένα προϊόντα εγκλεισμού προκειμένου να μελετηθεί η αύξηση της υδατοδιαλυτότητας των ξενιζομένων μορίων (μελέτες Διαγραμμάτων Διαλυτότητας - Phase Solubility studies). Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η αύξηση της υδατοδιαλυτότητας της πιπερίνης παρουσία διαφορετικών ξενιστών ( $\beta$ -CD, τυχαία μεθυλιωμένη  $\beta$ -CD και 2-υδροξυπρόπυλ- $\beta$ -CD) στους 25 °C και του μυρκενίου παρουσία φυσικής  $\beta$ -CD σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 35 και 45 °C). Οι συγκεκριμένες μελέτες επέτρεψαν την εκτίμηση της σταθεράς σύνδεσης  $K_c$  και της απόδοσης συμπλοκοποίησης CE (complexation efficiency) ολικά στο διάλυμα, σύμφωνα με τη μέθοδο των Higuchi-Connors. Ειδικά για το μυρκενίο, η πραγματοποίηση των πειραμάτων σε τρεις θερμοκρασίες κατέστησε εφικτό τον συσχετισμό του φυσικού λογαρίθμου της  $K_c$  ( $\ln K_c$ ) με τον αντίστροφο λόγο της θερμοκρασίας ( $1/T$ ) και τον σχεδιασμό γραφήματος Van't Hoff (Van't Hoff plot), από το οποίο έγινε δυνατός ο υπολογισμός των θερμοδυναμικών παραμέτρων του συμπλόκου μυρκενίου/ $\beta$ -CD ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$  και  $\Delta S$ ). Τα αποτελέσματα των υπολογιστικών (MDs) και πειραματικών μεθόδων βρίσκονται σε σχετική συμφωνία, υποδεικνύοντας για την περίπτωση της πιπερίνης ως καταλληλότερο ξενιστή την RM- $\beta$ -CD, ενώ για το σύμπλοκο εγκλεισμού του μυρκενίου σε  $\beta$ -CD τους 25°C ως καταλληλότερη θερμοκρασία συμπλοκοποίησης .

**Επιστημονική περιοχή:** Δομική Υπερμοριακή Χημεία

**Λέξεις-Κλειδιά:** Χοληστερόλη, Ναριγγενίνη, Πιπερίνη, Καψαΐκίνη, Μυρκενίο, Τυροσόλη, Λιπαρά Οξέα, Κυκλοδεξτρίνες, Προϊόντα Εγκλεισμού, Κρυσταλλική δομή, Συστατικά Τροφίμων, Κρυσταλλογραφία Ακτίνων-Χ

# Structural study of inclusion compounds of natural components of food in cyclodextrins

*Department of Biotechnology  
Laboratory of Physics*

## ABSTRACT

The aim of the present study is the collection and the elaboration of data that are related to the inclusion compounds of natural components of food in cyclodextrins.

Cyclodextrins (CDs) are well known cyclic oligosaccharides, constituted by d-glucopyranose units connected through  $\alpha\rightarrow(1,4)$  glucosidic bonds, having the shape of a truncated cone endowed with a hydrophilic outer periphery and a hydrophobic interior cavity. Due to their shape and amphiphilic properties, CDs have the ability to encapsulate hydrophobic molecules or parts of molecules, inside their cavity, forming non-covalent dynamic inclusion complexes in aqueous solution. In this case cyclodextrins are regarded as “hosts” whereas the encapsulated molecules as “guests”.

The most common CD, used as a host molecule, is the native  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) consisting of seven glucose units.  $\beta$ -CD methylated derivatives, like DM- $\beta$ -CD [heptakis(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin] and TM- $\beta$ -CD [heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin], obtained by methylation of the  $\beta$ -CD hydroxyl groups in 2, 6 and 2, 3 and 6 positions respectively, are also commonly examined as pertinent hosts, as they offer an elongated hydrophobic cavity, higher solubility and in the case of TM- $\beta$ -CD more flexibility upon an induce-fit complexation mechanism with the guest molecule.

In this thesis, a thorough structural study of the following thirteen inclusion complexes is presented: Cholesterol/ $\beta$ -CD, Naringenin/DM- $\beta$ -CD, Naringenin/TM- $\beta$ -CD, Capsaicin/ $\beta$ -CD, Capsaicin/DM- $\beta$ -CD, Piperine/ $\beta$ -CD, Piperine/DM- $\beta$ -CD, Piperine/TM- $\beta$ -CD, Arachidonic/TM- $\beta$ -CD, Oleic/ $\beta$ -CD, Linoleic/ $\beta$ -CD, Myrcene/ $\beta$ -CD and Tyrosol/DM- $\beta$ -CD. The encapsulated molecules cover a variety of chemical categories, such as steroids (cholesterol), flavonoids (naringenin), alkaloids (capsaicin and piperine), fatty acids (arachidonic, oleic and linoleic acid), monoterpenes (myrcene) and finally phenols (tyrosol). In the recent years they are considered to be of great importance for the food industry, in terms of the food quality, nutrition and human health.

Initially, the structure of the examined inclusion complexes was determined by X-ray crystallography. The crystal structures revealed valuable information about the guest:host stoichiometry, the geometrical details of the host-guest conformation and complexation, and the intra- and intermolecular interactions. However, as it is known, the crystal structures are significantly affected by crystal contacts and constitute averages of subsets of possible guest binding modes. In order to overcome these shortcomings, Molecular Dynamics studies (MDs) in aqueous environment were also conducted. The initial models for the MD simulations were based on the crystallographically determined structures. By monitoring the obtained frames during the time frame of the simulations, the dynamical behavior and the stability of the inclusion complexes in aqueous environment was examined. Moreover thermodynamic parameters such as the free energy of the binding of the guest to host ( $\Delta G_{GB}$ ) decomposed into both entropic ( $\Delta S$ ) and enthalpic terms ( $\Delta H$ ), were calculated by the MM/GBSA method.

Finally, phase solubility studies of piperine in the presence of three different hosts at 25 °C ( $\beta$ -CD, Randomly Methylated- $\beta$ -CD and 2-HydroxyPropyl- $\beta$ -CD) were conducted, in order to estimate by using the Higuchi-Connors method, the inclusion complex type, the stability constant  $K_s$  and the Complexation Efficiency (CE), of these inclusion complexes. On the other hand, the solubility of myrcene in aqueous solutions of increased  $\beta$ -CD concentrations at 25, 35 and 45 °C was examined and the thermodynamic parameters ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$  and  $\Delta S$ ) of the myrcene/ $\beta$ -CD complex were calculated from

a Van't Hoff plot ( $\ln K_c$  vs  $1/T$ ). The above experimental results are in agreement with the theoretical studies (MD simulations and MM/GBSA calculations) indicating that RM- $\beta$ -CD is the best host molecule for piperine and the optimum temperature for the myrcene complexation with  $\beta$ -CD is 25 °C.

**Scientific area:** Structural Supramolecular Chemistry

**Keywords:** Cholesterol, Naringenin, Piperine, Capsaicin, Myrcene, Tyrosol, Fatty acids, Cyclodextrins, Inclusion Complexes, Crystal Structure, Food components, X-ray Crystallography

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

Δημοσιεύσεις:

- Christoforides, E., Andreou A., **Papaioannou, A.**, and Bethanis, K. (2022). “Spicy” Cyclodextrin Inclusion Complexes PART-I: Preparation, Physicochemical characterization and Structural analysis of Piperine supramolecular complexes with native and modified  $\beta$ -Cyclodextrins, IJMS (submitted)
- **Papaioannou, A.**, Christoforides, E., and Bethanis K. (2020). Inclusion complexes of naringenin in dimethylated and permethylated  $\beta$ -cyclodextrins: X-ray crystallography and molecular dynamics studies. *Crystals*, 10(1): 10. [doi.org/10.3390/cryst10010010](https://doi.org/10.3390/cryst10010010)
- Christoforides, E., **Papaioannou A.** and Bethanis K. (2018). Crystal structure of the inclusion complex of cholesterol in  $\beta$ -cyclodextrin and molecular dynamics studies. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 14, 838–848. [doi:10.3762/bjoc.14.69](https://doi.org/10.3762/bjoc.14.69)

Ανακοινώσεις σε Διεθνή Συνέδρια:

- Elias Christoforides, **Andreas Papaioannou**, Athena Andreou and Kostas Bethanis. Integrating “spicy” cyclodextrin inclusion complexes into the treatment of cancer: X-ray crystallographic analysis of piperine and capsaicin in native and methylated beta-cyclodextrins (2021), in Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Electronic Conference on Medicinal Chemistry (ECMC2021), November 1–30, MDPI: Basel, Switzerland, doi:10.3390/ECMC2021-11477, Virtual Congress (Poster presentation)
- Elias Christoforides, Sophie Mavrikou, **Andreas Papaioannou**, Athena Andreou, Georgia Moschopoulou, Spyridon Kintzios and Kostas Bethanis. Structural and functional investigation reveals augment solubility and improved therapeutic index against SK-N-SH and HT29-MTX-E12 cells for Piperine inclusion complexes in native and modified  $\beta$ -Cyclodextrins (2021) 10th International Conference of the Hellenic Crystallographic Association (HeCrA21), October 15-17, NCSR Demokritos, Greece (Poster presentation)
- 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 12th Conference of the Hellenic Society for Computational Biology and Bioinformatics (HSCBB17), October 11-13, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Greece (Poster presentation)
- 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)
- 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) 4<sup>th</sup> European Cyclodextrin Congress (EuroCD2015), October 6 – 9, Lille, France (Poster presentation)

**Συντμήσεις - Ξενόγλωσσοι όρου/Abbreviations - Glossary:**

β-κυκλοδεξτρίνη	β-CD
Διμεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη	DM-β-CD
Τριμεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη	TM-β-CD
Τυχαία μεθυλιωμένη β-κυκλοδεξτρίνη	RM-β-CD
2-υδροξυπροπυλ-β-κυκλοδεξτρίνη	HP-β-CD
Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους	UV-Vis



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικής του Τμήματος Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, με επιβλέποντα τον Επίκουρο Καθηγητή Δρ, Κωνσταντίνο Μπεθάνη, τον οποίο και ευχαριστώ πολύ για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, την επιστημονική καθοδήγησή του, τις παρεμβάσεις του κατά τη διάρκεια της έρευνας και το συνεχές ενδιαφέρον του για την επιστημονική μου κατάρτιση και εκπαίδευση.

Ευχαριστώ θερμά τα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Πέτρο Ταραντίλη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μιχαήλ Καρπούζα, για την υποστήριξη, τη συμπαράστασή τους και τις παρατηρήσεις τους.

Θερμές ευχαριστίες θέλω, επίσης, να εκφράσω στον Καθηγητή κ. Ηλία Ηλιόπουλο, στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Χρήστο Παππά, στην Επίκουρη Καθηγήτρια κα Γεωργία Μοσχοπούλου και στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Πέτρο Γκιάστα που αποδέχτηκαν την πρόσκληση συμμετοχής στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και για τον προσωπικό χρόνο που αφιέρωσαν για τη μελέτη του κειμένου, τις παρατηρήσεις και τις διορθώσεις τους προκειμένου να ολοκληρωθεί η συγγραφή του.

Θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Μεταδιδακτορικό Ερευνητή κ. Ηλία Χριστοφορίδη για τη φιλία του, την πολύτιμη συνεισφορά του, τις γνώσεις και τις συμβουλές του, χωρίς τις οποίες θα ήταν αδύνατη η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τη Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια Αθηνά Ανδρέου και τη Δρ. Κατερίνα Φουρτάκα για την άψογη συνεργασία, τη συμπαράσταση και την συνεχή υποστήριξή τους, καθώς και όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Φυσικής για τη βοήθεια και τη φιλοξενία του.

Επιπλέον, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την βοήθεια που παρείχε σε καθημερινή βάση και υπέμεινε τις ανάγκες που προέκυψαν κατά την ενασχόλησή μου με τη διδακτορική διατριβή. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τους γονείς μου, οι οποίοι έθεσαν τις βάσεις γι' αυτό που είμαι σήμερα και τον αδελφό μου Νίκο που στέκεται συνεχώς πλάι μου. Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το αποδίδω στη σύζυγό μου Κατερίνα και στα παιδιά μου Αννέτα και Μιχαήλ, για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξή τους και την υπομονή που έδειξαν όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

## **ΔΗΛΩΣΗ ΕΡΓΟΥ**

Η έγκριση της παρούσης διδακτορικής διατριβής υπό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέως [Νόμος 5343/1932, άρθρο 202]

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ.....	11
1.1.1. Φυσικές Κυκλοδεξτρίνες.....	11
1.1.2. Παράγωγες κυκλοδεξτρίνες .....	13
1.1.3.Κυκλοδεξτρίνες και τοξικότητα .....	14
1.1.4. Εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων .....	15
1.1.5. Μηχανισμός δημιουργίας προϊόντων εγκλεισμού .....	17
1.1.6. Παράμετροι εγκλεισμού και τεχνικές παρασκευής.....	20
1.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΑΚΤΙΝΕΣ-Χ.....	21
1.2.1.Ακτίνες-Χ και κρυσταλλογραφία.....	21
1.2.3. Απεικόνιση της δομής.....	26
1.2.4. Βελτιστοποίηση δομής (refinement).....	28
1.3. ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ .....	30
1.4. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ .....	31
1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	38
2.1. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ.....	38
2.2. ΝΑΡΙΓΓΕΝΙΝΗ .....	40
2.3. ΚΑΨΑΪΚΙΝΗ.....	42
2.5. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	45
2.5.1. Αραχιδονικό οξύ .....	45
2.5.2. Ελαϊκό οξύ .....	47
2.5.3. Λινελαϊκό οξύ .....	48
2.5.4. Λιπαρά οξέα και Covid-19 .....	50
2.6. ΜΥΡΚΕΝΙΟ .....	51
2.7. ΤΥΡΟΣΟΛΗ.....	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	56
3.1. ΥΛΙΚΑ.....	56

3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	57
<b>3.2.1. Παρασκευή κρυστάλλων και κρυσταλλογραφία με ακτίνες-X.....</b>	<b>57</b>
<b>3.2.2. Προσδιορισμός κρυσταλλικής δομής.....</b>	<b>58</b>
<b>3.2.3. Μελέτες Μοριακής Δυναμικής.....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.4. Λήψη Διαγραμμάτων Διαλυτότητας.....</b>	<b>60</b>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ.....	64
4.1. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ/β-CD (Chol/β-CD).....	64
4.2. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΝΑΡΙΓΓΕΝΙΝΗΣ.....	69
<b>4.2.1. Ναριγγενίνη/DM-β-CD (Nar/DM-β-CD).....</b>	<b>69</b>
<b>4.2.2. Ναριγγενίνη/TM-β-CD (Nar/TM-β-CD).....</b>	<b>73</b>
4.3. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΑΨΑΪΚΙΝΗΣ.....	77
<b>4.3.1. Καψαϊκίνη/β-CD (Caps/β-CD).....</b>	<b>77</b>
<b>4.3.2. Καψαϊκίνη/DM-β-CD (Caps/DM-β-CD).....</b>	<b>80</b>
4.4. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΠΙΠΕΡΙΝΗΣ.....	86
<b>4.4.1. Πιπερίνη/β-CD (Pip/β-CD).....</b>	<b>86</b>
<b>4.4.2. Πιπερίνη/DM-β-CD (Pip/DM-β-CD).....</b>	<b>90</b>
4.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ.....	97
<b>4.5.1. Αραχιδονικό οξύ/TM-β-CD (Ara/TM-β-CD).....</b>	<b>97</b>
<b>4.5.2. Ελαϊκό οξύ/β-CD (Oleic/β-CD).....</b>	<b>100</b>
<b>4.5.3. Λινελαϊκό οξύ/β-CD (Lin/β-CD).....</b>	<b>103</b>
4.6. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΜΥΡΚΕΝΙΟΥ/β-CD (Myrc/β-CD).....	108
4.7. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΥΡΟΣΟΛΗΣ/DM-β-CD (Tyr/DM-β-CD).....	111
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ.....	116
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ.....	126
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	131
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	140
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	155

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

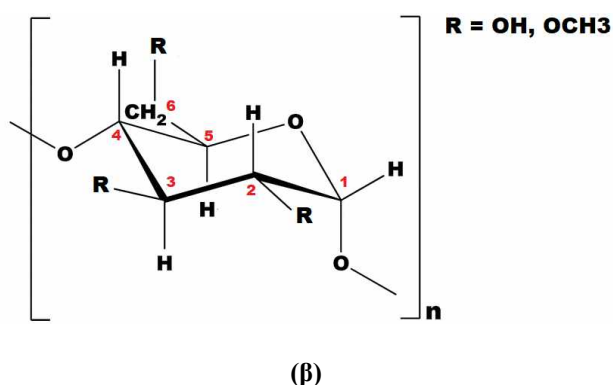
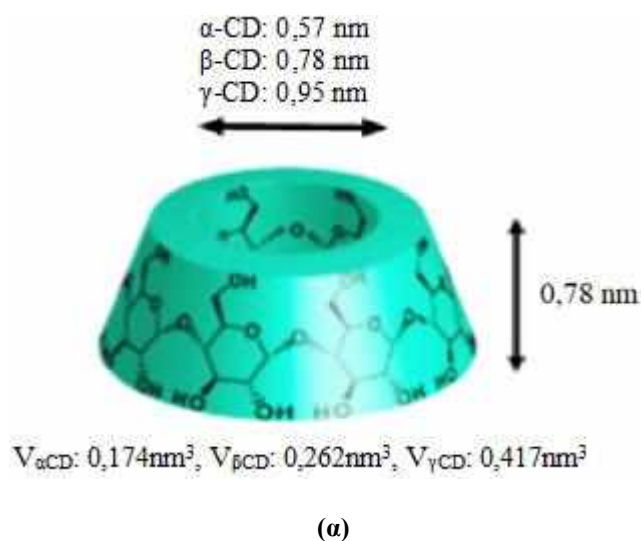
#### 1.1.1. Φυσικές Κυκλοδεξτρίνες

Οι κυκλοδεξτρίνες (cyclodextrins - CD) είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες που αποτελούνται από μονάδες α-D-γλυκοκυρανόζης, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με α-(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς (**Dodziuk 2006**). Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες (parent ή native) παρασκευάζονται με ενζυμική αποδόμηση του αμύλου και αναλόγως του αριθμού των μονάδων γλυκοκυρανόζης που περιέχουν, διακρίνονται σε διαφόρους τύπους, με πιο κοινές τις α-, β- και γ-CD (με έξι, επτά και οκτώ μονάδες αντιστοίχως). Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 1.1**, οι κυκλοδεξτρίνες έχουν χαρακτηριστικό σχήμα κόλουρου κώνου λόγω της διαμόρφωσης των μονάδων γλυκοκυρανόζης που περιέχουν (ανάκλιτρο τύπου  $^4C_1$ ), όπου η στενή πλευρά περιλαμβάνει τα πρωτοταγή άτομα άνθρακα (C6n), ενώ η φαρδιά τα αντίστοιχα δευτεροταγή (C2n και C3n) (**Astray et al. 2009**).

Τόσο τα πρωτοταγή, όσο και τα δευτεροταγή άτομα άνθρακα είναι συνδεδεμένα με υδροξυλομάδες προσανατολισμένες προς το εξωτερικό της κυκλοδεξτρίνης. Η περιορισμένη διάμετρος της πρωτοταγούς πλευράς οφείλεται στην ελεύθερη περιστροφή των υδροξυλίων των ατόμων C6n. Τοποθετημένα προς το εσωτερικό του κυκλικού μορίου βρίσκονται τα άτομα υδρογόνου των ανθράκων C3n και C5n, καθώς και τα «αιθερικά» οξυγόνα O4n. Τα μη δεσμικά ζεύγη ηλεκτρονίων των τελευταίων είναι προσανατολισμένα προς το εσωτερικό της κοιλότητας και δημιουργούν μία υψηλή ηλεκτρονιακή πυκνότητα, προσδίδοντας σε αυτήν χαρακτηριστικά βάσης κατά Lewis (**Astray et al. 2009; Del Valle 2004; Fernández-Alonso et al. 2012**).

Οι κοιλότητες των CD παρουσιάζουν το ίδιο ύψος (περίπου 7,5 Å), αλλά διαφέρουν στη διάμετρό τους (α-CD  $\approx$  5,0 Å, β-CD  $\approx$  7,0 Å και γ-CD  $\approx$  9,0 Å) με αποτέλεσμα να υπάρχει μία διαβάθμιση στην ικανότητα πρόσδεσης (binding affinity) διαφόρων μορίων (**Astray et al. 2010**). Σε κάθε μονάδα γλυκοκυρανόζης, το υδροξύλιο που είναι συνδεδεμένο με το δευτεροταγές άνθρακα C2n, μπορεί να σχηματίσει δεσμό υδρογόνου (-H) με το υδροξύλιο του δευτεροταγούς άνθρακα C3n της γειτονικής μονάδας. Στη β-CD συνδέονται με αυτό τον τρόπο όλα τα δευτεροταγή υδροξύλια, με αποτέλεσμα το μόριο της να έχει μία μάλλον σταθερή και άκαμπτη δομή, στην οποία ενδεχομένως οφείλεται η χαμηλή υδατοδιαλυτότητά της (18,5 mg/mL). Αντιθέτως, σε άλλες κυκλοδεξτρίνες είτε αυτή η σύνδεση λαμβάνει χώρα σε μερικά μόνο από τα δευτεροταγή υδροξύλια (α-CD), είτε λόγω μεγέθους είναι αρκετά πιο εύκαμπτες (γ-CD), με αποτέλεσμα να είναι περισσότερο ευδιάλυτες (**Astray et al.**

2009; Del Valle 2004). Ακόμα και έτσι όμως, η διαλυτότητά τους στο νερό παραμένει χαμηλότερη από την αντίστοιχη των άκυκλων σακχάρων.



**Σχήμα 1.1.** (α) Σχηματική αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής των φυσικών κυκλοδεξτρινών καθώς και γεωμετρικά χαρακτηριστικά αυτής και (β) χαρακτηριστική διαμόρφωση (τύπου ανάκλιτρου,  ${}^4\text{C}_1$ ) μιας μονάδας γλυκοπυρανόζης. Στην φυσική β-CD ( $n=7$ ) όλες οι R ομάδες (δύο στην πρωτοταγή πλευρά (θέσεις 2 και 3) και μία στην δευτεροταγή (θέση 6)) είναι υδροξύλια ( $\text{R}=\text{OH}$ ), ενώ στις περιπτώσεις των μεθυλιωμένων β-CD είναι μεθόξυ- ομάδες ( $\text{R}=\text{OCH}_3$ )

Η όλη διευθέτηση των ατόμων στο μόριο μιας κυκλοδεξτρίνης, όπως περιγράφηκε παραπάνω (δηλαδή οι πολικές υδροξυλομάδες «στραμμένες» προς το εξωτερικό μέρος του μορίου και τα μη πολικά μόρια προς το εσωτερικό) καθιστά την περιφέρεια του μορίου της υδρόφιλη, ενώ την εσωτερική κοιλότητα υδρόφοβη και ως εκ τούτου γίνεται δυνατή η «φιλοξενία» στο εσωτερικό της υδρόφοβων μορίων και κατ' επέκταση ο σχηματισμός υδατοδιαλυτών προϊόντων εγκλεισμού (inclusion compounds) (Del Valle 2004). Σε αυτή τη «συνύπαρξη» των δύο μορίων σε ένα σχηματισμό, το μόριο που βρίσκει καταφύγιο στην κοιλότητα χαρακτηρίζεται ως ξενιζόμενο (guest),

ενώ η κυκλοδεξτρίνη ως ξενιστής (host). Αυτή η ικανότητα των CD να δημιουργούν προϊόντα εγκλεισμού, έχει βρει πολλές εφαρμογές σε διάφορους τομείς, όπως στη φαρμακευτική, στα καλλυντικά, στη χημική βιομηχανία και στα τρόφιμα (Astray et al. 2009). Σύντομη ιστορική αναδρομή στα μακρομόρια των κυκλοδεξτρινών παρουσιάζεται στον **Πίνακα 1.1**. Ειδικά για τις εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων θα γίνει ιδιαίτερη αναφορά σε επόμενη ενότητα.

**Πίνακας 1.1.** Χρονολογική εξέλιξη των κυκλοδεξτρινών (Sharma et al. 2016; Szejtli 2004; Poulson et al. 2022)

Έτος	Ορόσημο
1891	<b>Villiers:</b> Παρατήρηση «αγνώστων» κρυστάλλων κατά τη ζύμωση του αμύλου (κελλουλοζίνη-cellulosine)
1911	<b>Schardinger:</b> Παρασκευή α- και β-CD από το άμυλο
1935	<b>Freudenberg:</b> Διερεύνηση της δομής των α- και β-CD
	<b>Freudenberg-Jacobi:</b> Παρασκευή γ-CD
1935-1955	<b>French:</b> Παρασκευή μεγαλύτερων CD
	<b>Cramer:</b> Διερεύνηση δημιουργίας προϊόντων εγκλεισμού
1953	<b>French-Cramer-Plieninger:</b> Διερεύνηση χρήσης των CD σε φαρμακευτικά σκευάσματα
1955-1975	Λιγότερες από 1.000 δημοσιευμένες εργασίες με «λέξη-κλειδί» τις κυκλοδεξτρίνες
1976	<b>Ιαπωνία:</b> Το 1 <sup>ο</sup> φαρμακευτικό προϊόν παγκοσμίως, βασισμένο σε CD [Προσταγλανδίνη E2/β-CD (Prostarmon E <sup>TM</sup> )]
1981	<b>Ογγαρία:</b> 1 <sup>ο</sup> Διεθνές Συνέδριο για τις CD
1988	<b>Ευρώπη:</b> Το 1 <sup>ο</sup> προϊόν που περιέχει CD [Piroxicam/β-CD (Brexin)]
1997	<b>ΗΠΑ:</b> Το 1 <sup>ο</sup> εγκεκριμένο προϊόν με CD [Itraconazole/HP-β-CD (Sporanox)]
2015-2020	Περίπου 85.200 δημοσιευμένες εργασίες με «λέξη-κλειδί» τις κυκλοδεξτρίνες

### 1.1.2. Παράγωγες κυκλοδεξτρίνες

Η χαμηλή διαλυτότητα των φυσικών κυκλοδεξτρινών στο νερό αλλά και στους οργανικούς διαλύτες και η σχετικά στιβαρή δομή τους, περιορίζει την ικανότητα τους να δημιουργούν προϊόντα εγκλεισμού και, ως εκ τούτου, ενδεχόμενες εφαρμογές τους. Τα παραπάνω προβλήματα αντιμετωπίζονται με τη δημιουργία παραγώγων τους (Uekama et al. 1998; Dos Santos et al. 2017). Αυτά προκύπτουν με χημική μετατροπή των υδροξυλίων του μορίου των φυσικών κυκλοδεξτρινών, κυρίως με μεθυλίωση, αλκυλίωση ή υδροξυ-αλκυλίωση. Οι υποκατεστημένες λειτουργικές ομάδες αυξάνουν τη λειτουργικότητα και τις εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών, καθώς σε μοριακό επίπεδο

δρουν ως προσομοιωτές ενζύμων (mimics) και χρησιμοποιούνται στη στοχευόμενη μεταβίβαση μορίων με φαρμακευτική δράση, ενώ λόγω της αυξημένης εναντιο-εκλεκτικότητας σε σχέση με τις φυσικές κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται στην αναλυτική χημεία (Del Valle 2004).

Τα παράγωγα διακρίνονται, αναλόγως της αλληλεπίδρασής τους με τα μόρια νερού, σε ιονισμένα, υδρόφοβα και υδρόφιλα (Pinho et al. 2014). Τα ιονισμένα χαρακτηρίζονται από αυξημένη ικανότητα εγκλεισμού μορίων στο εσωτερικό τους και καλύτερο διαχωρισμό (dissolution) στα επιμέρους μόρια. Τα υδρόφοβα παράγωγα τροποποιούν (μειώνουν) το ρυθμό απελευθέρωσης υδατοδιαλυτών μορίων. Τέλος, τα υδρόφιλα παρουσιάζουν αυξημένη διαλυτότητα στο νερό και ευνοούν τη δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού με μόρια αδιάλυτα ή ελάχιστα διαλυτά στο νερό (Πίνακας 1.2). Ορισμένα παραδείγματα υδρόφιλων παραγώγων, είναι η υδροξυπροπυλ-β-CD [(2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin (HP-β-CD)] και οι μεθυλιωμένες (permethylated) β-CD, με κυριότερες τη διμεθυλιωμένη [heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-CD (DM-β-CD)] και τη τριμεθυλιωμένη β-CD [heptakis(2,3,6-di-O-methyl)-β-CD (TM-β-CD)] που προκύπτουν με τη μεθυλίωση των υδροξυλίων στις θέσεις 2, 6 και 2, 3, 6 αντίστοιχα.

**Πίνακας 1.2.** Χημικές ιδιότητες και χαρακτηριστικά ορισμένων κυκλοδεξτρινών

Κυκλοδεξτρίνη	Μονάδες γλυκοπυρανόζης	Μοριακό Βάρος	Διαλυτότητα στο νερό (25°C - mg/mL)
α-CD	6	973	145
β-CD	7	1135	18,5
γ-CD	8	1297	232
HP-β-CD	7	1400	> 600
RM-β-CD	7	≈1310	> 500
DM-β-CD	7	1331	212,6
TM-β-CD	7	1430	50

### 1.1.3.Κυκλοδεξτρίνες και τοξικότητα

Η πρόσληψη από το στόμα μεθυλιωμένων κυκλοδεξτρινών αποφεύγεται λόγω της ενδεχόμενης τοξικότητάς τους (Brewster et al. 2007) ενώ, αντιθέτως, οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες δεν φαίνεται να προκαλούν προβλήματα υγείας, καθώς είναι σταθερά μόρια που δεν παρουσιάζουν κάποια τοξική δράση. Δεν απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα (Del Valle 2004), ενώ υδρολύονται από τη μικροβιακή χλωρίδα του παχέος εντέρου σε μαλτόζη και γλυκόζη (Dos Santos et al. 2017). Πιο συγκεκριμένα, η α-CD δεν συσχετίζεται με σημαντικές αρνητικές επιδράσεις, η β-CD είναι



ουσιαστικά μη τοξική, ενώ η κατανάλωση σημαντικών ποσοτήτων  $\gamma$ -CD ή μαλτοδεξτρίνης (8g) δεν φαίνεται να επηρεάζει ιδιαίτερα το γαστρο-εντερικό σύστημα (**Brewster et al. 2007**).

Σε αρκετές χώρες πλέον, οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες θεωρούνται ασφαλείς, με χαρακτηριστικότερα παραδείγματα την Ιαπωνία όπου είναι εγκεκριμένες για χρήση σε τρόφιμα ως τύπος «τροποποιημένου αμύλου» (**Astray et al. 2010**) και τις ΗΠΑ όπου οι  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\gamma$ -CD κατατάσσονται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration) στα ασφαλή πρόσθετα τροφίμων (Generally Recognized As Safe - GRAS) (**Dos Santos et al. 2017**). Όσον αφορά την Ευρωπαϊκή Ένωση, η  $\beta$ -CD συμπεριλαμβάνεται στον κατάλογο του Κανονισμού 1333/2008 (περί προσθέτων τροφίμων) με τον κωδικό E459. Προβλέπεται η χρήση της σε τρόφιμα που έχουν τη μορφή δισκίων και δισκίων με επικάλυψη (σε ποσότητα quantum satis – «όσο είναι απαραίτητο») και σε αρωματισμένα ποτά σε σκόνη στιγμιαίας παρασκευής (σε ποσότητα 500mg/kg ή L ανάλογα με το τρόφιμο). Επιπλέον, ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός 231/2012 ορίζει τις προδιαγραφές της  $\beta$ -CD που προορίζεται για χρήση στα τρόφιμα. Η Ευρωπαϊκή Επιστημονική Επιτροπή για τα Τρόφιμα (Scientific Committee on Food - SCF) εκτίμησε ως ανώτατη Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (Acceptable Daily Intake) της  $\beta$ -CD τα 5mg ανά κιλό σωματικού βάρους (**EFSA 2016**).

#### 1.1.4. Εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων

Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για υγιεινή διατροφή και η εμφάνιση στην αγορά των αποκαλούμενων «λειτουργικών» τροφίμων έχουν ανοίξει νέους ορίζοντες στη χρήση των κυκλοδεξτρινών στη βιομηχανία τροφίμων.

Για παράδειγμα, η γεύση-οσμή (flavor) κατέχει σημαντικό ρόλο στην άποψη που σχηματίζει ο καταναλωτής για ένα τρόφιμο. Οι διάφορες διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την επεξεργασία του τροφίμου από την παρασκευή έως την αποθήκευση, η παρουσία ή προσθήκη άλλων συστατικών και τα υλικά συσκευασίας, συχνά προκαλούν υποβάθμιση της γεύσης-οσμής. Αυτή η υποβάθμιση περιορίζεται με τον εγκλεισμό πτητικών συστατικών τα οποία μετέπειτα προστίθενται στα τρόφιμα και τα ποτά (**Qi et al. 1995**).

Ένας άλλος «στόχος» είναι η προστασία των τροφίμων από την οξείδωση, τη θέρμανση και το φως. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι κατά την παραγωγή των χυμών συμβαίνει καταστροφή των φυτικών ιστών που συχνά οδηγεί στη ραγδαία αύξηση αντιδράσεων ενζυμικής αμαύρωσης. Με την προσθήκη κυκλοδεξτρινών ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - και μαλτόζυλο- $\beta$ -CD) στους χυμούς των φρούτων και λαχανικών, εγκλείεται η οξειδάση των πολυφαινολών που είναι υπεύθυνη για την μετατροπή των άχρωμων

πολυφαινολών σε έγχρωμες, αποτρέποντας έτσι την αμαύρωση και συμβάλλοντας στην διατήρηση του χρώματος (Del Valle, 2004).

Ομοίως, ορισμένες ενώσεις που προσδίδουν ιδιαίτερο και χαρακτηριστικό άρωμα στα τρόφιμα (π.χ. η κιτράλη στα εσπεριδοειδή) και είναι ευαίσθητες κατά τη θέρμανση ή/και κατά την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, προστατεύονται μέσω του εγκλεισμού τους σε κυκλοδεξτρίνες με αποτέλεσμα την αποφυγή αλλοίωσης της γεύσης και του αρώματος του προϊόντος.

Γενικά, η μεταβολή που υφίστανται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων είναι ένα σημαντικό πρόβλημα. Συχνά η πικρή γεύση αποτελεί αιτία απόρριψης των τροφίμων, από τον καταναλωτή. Στους χυμούς των εσπεριδοειδών για παράδειγμα, δύο κατηγορίες χημικών ενώσεων είναι υπεύθυνες, τα φλαβονοειδή και τα λεμονοειδή (κυρίως η ναριγγίνη και η λεμονίνη αντίστοιχα). Αν και οι φρέσκοι χυμοί δεν είναι ιδιαίτερα πικροί, αυτή η γεύση γίνεται πιο έντονη κατά την αποθήκευση και εξαρτάται από το pH και την θερμοκρασία. Μια διαδικασία για την μείωση της πικράδας και την διατήρηση των υπολοίπων χαρακτηριστικών και της διαθρεπτικής αξίας των χυμών είναι η χρήση κυκλοδεξτρινών (Astray et al. 2009). Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι και οι ίδιες οι κυκλοδεξτρίνες έχουν γλυκιά γεύση, τότε μπορούν άνετα να συνεισφέρουν στη βελτίωση της γεύσης ή στην εξάλειψη της πικρής μετάγευσης των τροφίμων (Singh et al. 2002)

Σημαντική φαίνεται η αποτελεσματικότητα της β-CD στην απομάκρυνση της χοληστερόλης από ζωικά προϊόντα, βελτιώνοντας τα διατροφικά χαρακτηριστικά τους. Μελέτες έχουν γίνει σε γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γάλα, όπου ποσότητα διήλθε από ακινητοποιημένα γυάλινα σφαιρίδια επικαλυμμένα με β-CD με το εξερχόμενο γάλα να παρουσιάζει μείωση χοληστερόλης κατά 41 % ενώ η ικανότητα ανακύκλωσης της κυκλοδεξτρίνης πλησίαζε το 100% (Kwak et al. 2004). Η απομάκρυνση της χοληστερόλης και των φυτοστερολών από τη μαγιονέζα με τη προσθήκη β-CD, οδήγησε σε προϊόν με μεγαλύτερη αντοχή έναντι της οξειδωσης και σταθερά φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κατά την αποθήκευση (Jung et al. 2008). Ικανοποιητική μείωση της χοληστερόλης έδειξαν και αντίστοιχες μελέτες σε προϊόντα όπως είναι το βούτυρο (Jung et al. 2006), το τυρί (Bae et al. 2008), το λαρδί (Kim et al. 2007), ο κρόκος του αυγού (Mine et al. 1998) και η κρέμα (Shim et al. 2003).

Επίσης, οι κυκλοδεξτρίνες μπορεί να δεσμεύσουν ελεύθερα λιπαρά οξέα από τα μαγειρικά λίπη, ώστε να βελτιωθεί η συμπεριφορά των τελευταίων κατά το τηγάνισμα και να αποφευχθούν ανεπιθύμητα αποτελέσματα όπως είναι η δημιουργία καπνού, αφρίσματος, αμαύρωσης και εναπόθεσης λιπαρών υπολειμμάτων στις επιφάνειες (Astray et al. 2010).

Τέλος, μία άλλη ενδιαφέρουσα εφαρμογή με πλεονεκτήματα είναι αυτή των υλικών συσκευασίας που περιέχουν κυκλοδεξτρίνες. Αφενός μεν περιορίζονται οι υπολειμματικοί πτητικοί οργανικοί επιμολυντές που απαντώνται συνήθως στα υλικά συσκευασίας, αφετέρου δε βελτιώνεται ο ρυθμός

διάχυσης από και προς το εσωτερικό των υλικών συσκευασίας, ώστε τα τρόφιμα να διατηρούν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και γενικότερα την ποιότητα τους. Επιπλέον, ορισμένες πτητικές ενώσεις με αντιμυκητιακή δράση που υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα, έχουν περιορισμένη χρήση λόγω της πτητικότητάς τους. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η εξανάλη, η οποία εγκλεισμένη σε β-CD περιόρισε την αλλοίωση μούρων, καθ' όλο το διάστημα από την αποθήκευση έως και την πώληση τους (Almenar et al. 2007). Επίσης, σύμπλεγμα α-τοκοφερόλης/β-CD χρησιμοποιήθηκε ως υλικό συσκευασίας για την ελεγχόμενη απελευθέρωση της αντι-οξειδωτικής α-τοκοφερόλης και την προστασία του συσκευασμένου προϊόντος (Siró et al. 2006). Η υψηλή σχετική υγρασία (RH) των συσκευασμένων φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών, η οποία ευνοεί την αλλοίωσή τους, μπορεί να αποτελέσει μέσο μεταφοράς διάφορων αντιοξειδωτικών ή αντιμικροβιακών συστατικών με μεταφορείς τις CD. Αυτό συμβαίνει επειδή η αλληλεπίδραση μεταξύ ξενιζόμενου μορίου και κυκλοδεξτρίνης εξασθενεί λόγω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων νερού και της κυκλοδεξτρίνης και, ως συνέπεια, το ξενιζόμενο μόριο απελευθερώνεται και προστατεύει το προϊόν (Ayala-Zavala et al. 2008).

### 1.1.5. Μηχανισμός δημιουργίας προϊόντων εγκλεισμού

Ο σχηματισμός προϊόντος εγκλεισμού δεν αποτελεί μια στατική και μόνιμη κατάσταση, αλλά μία δυναμική διαδικασία που μπορεί να παρασταθεί ως εξής:



- Όπου, [CD] : η συγκέντρωση της κυκλοδεξτρίνης  
 [G] : η συγκέντρωση του ξενιζόμενου μορίου  
 [CD-G] : η συγκέντρωση του προϊόντος εγκλεισμού  
 m, n : φυσικοί αριθμοί που αντιπροσωπεύουν την αναλογία host:guest

Επίσης, η σταθερά ισορροπίας  $K_c$  της παραπάνω αντίδρασης συνδέεται με την σχέση:

$$K_c = \frac{K_r}{K_d} = \frac{[\text{CD}_m - \text{G}_n]}{[\text{CD}]^m \cdot [\text{G}]^n} \quad (2)$$

- Όπου,  $K_c$  : η σταθερά ισορροπίας

$K_r$  : η σταθερά σχηματισμού (recombination)

$K_d$  : η σταθερά διαχωρισμού (dissociation)

Ο εγκλεισμός προκύπτει μέσω μιας σειράς αλληλεπιδράσεων που συμβαίνουν στα συστατικά μέρη του συστήματος, δηλαδή του ξενιζόμενου μορίου (guest), του ξενιστή (host) και του διαλύτη (συνήθως νερό). Πιο συγκεκριμένα, το σύστημα μεταπίπτει σε μία σταθερότερη κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας καθώς οι αρχικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μη πολικών και πολικών μορίων του συστήματος (δηλαδή μεταξύ της υδρόφοβης κοιλότητας της CD και των εγκλωβισμένων σε αυτήν μορίων νερού, αλλά και μεταξύ του ξενιζόμενου μορίου και των μορίων νερού του διαλύτη) αντικαθίστανται με αλληλεπιδράσεις μη πολικές (μεταξύ του guest και της κοιλότητας του host) και πολικές (μεταξύ των μορίων νερού που εξήλθαν από την κοιλότητα του ξενιστή και των μορίων νερού του διαλύτη). Συνοπτικά τα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα μπορούν να περιγραφούν ως εξής:

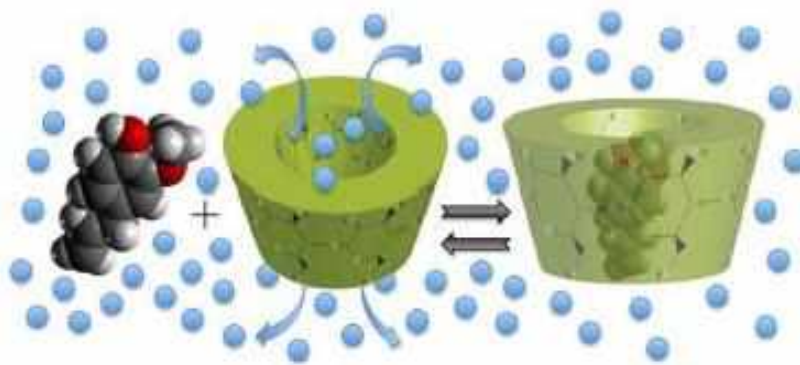
α) απομάκρυνση των πολικών μορίων νερού από τη μη πολική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης (μόρια υψηλής ενθαλπίας) που έχει σαν αποτέλεσμα:

- δημιουργία δεσμών υδρογόνου (ελάττωση ενθαλπίας του συστήματος) μεταξύ των «εκδιωγμένων» μορίων νερού από την υδρόφοβη κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, με τα υπόλοιπα μόρια νερού του διαλύματος, και

- αύξηση των μορίων νερού που κινούνται ελεύθερα στο υδατικό περιβάλλον (από την απελευθέρωση τους από την υδρόφοβη κοιλότητα της CD, όπου είναι σαφώς περισσότερο διατεταγμένα), επομένως αύξηση του εντροπικού όρου του συστήματος

β) μείωση του πλήθους των υψηλής τάξης (χαμηλής εντροπίας) μορίων νερού που επιδιαλυτώνουν τα υδρόφοβα μόρια (υποψήφια ξενιζόμενα) όταν αυτά είναι ελεύθερα στο υδατικό περιβάλλον.

Πρέπει να τονισθεί ότι εδώ δεν παρατηρούνται οι συνήθεις ιοντικοί και ομοιοπολικοί δεσμοί που απαντώνται στις χημικές ενώσεις. Η πρόσδεση του ξενιζόμενου μορίου στην κυκλοδεξτρίνη πραγματοποιείται μέσω διαφόρων ασθενών διαμοριακών δυνάμεων, δυνάμεων Van der Waals, δυνάμεων διασποράς (dispersion) London ακόμα και δεσμών υδρογόνου, εφ' όσον αυτοί προκύψουν. Αν και τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις χαρακτηρίζονται από μικρή ενέργεια (ενδεικτικά αναφέρεται ότι η ενέργεια των δυνάμεων Van der Waals και του δεσμού υδρογόνου είναι περίπου 4 kJ/mol και 40 kJ/mol αντίστοιχα), στα προϊόντα εγκλεισμού επιτυγχάνεται σταθερότητα παρόμοια με αυτή ενός ομοιοπολικού δεσμού (περίπου 400 kJ/mol) λόγω της υπάρξης και συνέργειας πολλαπλών τέτοιων αλληλεπιδράσεων αλλά και της θερμοδυναμικής ισορροπίας του συστήματος στο χώρο.



**Εικόνα 1.1.** Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας εγκλεισμού ενός μορίου στο εσωτερικό της κυκλοδεξτρίνης με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός προϊόντος εγκλεισμού

Το μέγεθος, το σχήμα, η στερεοχημεία και η πολικότητα του ξενιζόμενου μορίου επηρεάζουν την ισχύ της σύνδεσης του προϊόντων εγκλεισμού του. Το προϊόν είναι πιο σταθερό όσο πιο έντονο χαρακτήρα ηλεκτρονιοδότη παρουσιάζουν οι χαρακτηριστικές ομάδες του εγκλειόμενου μορίου, το οποίο υιοθετεί μέσα στη κοιλότητα της CD, την καταλληλότερη δυνατή διαμόρφωση ώστε να επωφεληθεί το μέγιστο δυνατόν από τις ασθενείς δυνάμεις Van der Waals.

Θερμοδυναμικές παράμετροι, όπως η εντροπία και η ενθαλπία, παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο καθώς «απελευθερώνονται» τα υψηλής ενθαλπίας μόρια νερού από την κοιλότητα της CD και εκτονώνεται η «πίεση» που δέχεται το μόριο της κυκλοδεξτρίνης λόγω διαμορφώσεων (ring strain release). Ο εγκλεισμός παρεμποδίζει την περιστροφή του guest, κάτι που αποτελεί την αιτία για την χαμηλή εντροπία που παρατηρείται. Η μεταβολή της σταθεράς  $K_c$  συναρτήσεως της θερμοκρασίας δίνει τη δυνατότητα υπολογισμού της μεταβολής της εντροπίας ( $\Delta S$ ) και της ενθαλπίας ( $\Delta H$ ), με τη χρήση διαφόρων τεχνικών, όπως τη χρήση φασματοφωτομέτρου, αν και περισσότερο αξιόπιστα αποτελέσματα λαμβάνονται με θερμιδομετρικούς προσδιορισμούς. Τα θερμοδυναμικά δεδομένα καταδεικνύουν ότι οι κυκλοδεξτρίνες είναι αρκετά εκλεκτικές στη «φιλοξενία» μορίων.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό ενός προϊόντος εγκλεισμού είναι το pH, ο βαθμός ιονισμού, η θερμοκρασία, η μέθοδος παρασκευής του προϊόντος εγκλεισμού, ο τύπος της κυκλοδεξτρίνης και το μέγεθος της κοιλότητας της. Η  $\beta$ -CD έχει περισσότερες εφαρμογές στον εγκλεισμό χημικών ενώσεων συγκριτικά με τις άλλες φυσικές κυκλοδεξτρίνες, λόγω του μεγέθους και της διαθεσιμότητάς της και εγκλείει συνήθως αρωματικά και ετεροκυκλικά μόρια. Από την άλλη, η  $\alpha$ -CD σχηματίζει προϊόντα εγκλεισμού συνήθως με μόρια χαμηλού μοριακού βάρους ή με μόρια που περιέχουν αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες και η  $\gamma$ -CD με μεγαλύτερα μόρια, όπως μακρομόρια και στεροειδή (Astray et al. 2009; Marques et al. 2010).

Η συνήθης μοριακή αναλογία (στοιχειομετρία) ενός προϊόντος εγκλεισμού είναι 1:1 (ένα μόριο guest με ένα μόριο host), χωρίς όμως αυτό να είναι απόλυτο. Για παράδειγμα, εάν το ξενιζόμενο μόριο έχει

μικρό μοριακό βάρος περισσότερα από ένα μόρια του ενδέχεται να εγκλειστούν σε μία κυκλοδεξτρίνη, ενώ αντιθέτως, περισσότερα από ένα μόρια κυκλοδεξτρίνης μπορεί να απαιτηθούν για να εγκλείσουν ένα μόριο guest μεγάλου μοριακού βάρους (**Del Valle 2004**).

#### **1.1.6. Παράμετροι εγκλεισμού και τεχνικές παρασκευής**

Όταν η κυκλοδεξτρίνη βρίσκεται σε κρυσταλλική κατάσταση, μόνο τα μόρια που βρίσκονται στην επιφάνεια του κρυστάλλου μπορούν να συμμετάσχουν στον σχηματισμό προϊόντος εγκλεισμού. Στα διαλύματα κυκλοδεξτρίνης περισσότερα μόρια είναι διαθέσιμα. Η θέρμανση αυξάνει τη διαλυτότητα της κυκλοδεξτρίνης και του ξενιζόμενου μορίου και κατά συνέπεια, αυξάνεται η πιθανότητα εγκλεισμού. Ο εγκλεισμός συμβαίνει γρηγορότερα όταν ο guest είναι διαλυτός ή διασπείρεται σε μικροσκοπικά, λεπτά (fine) σωματίδια.

Η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει μεν τη διαλυτότητα του guest και του host, αλλά από την άλλη αποσταθεροποιεί το σχηματιζόμενο προϊόν. Η σταθερότητά του τελευταίου εξαρτάται από τον εγκλεισμένο μόριο, αλλά συνήθως αποσταθεροποιείται μεταξύ 50 και 60 °C. Υπάρχουν πάντως και περιπτώσεις που το προϊόν είναι σταθερό σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ειδικά όταν ο guest είναι ισχυρά συνδεδεμένος ή το προϊόν είναι εξαιρετικά δυσδιάλυτο.

Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο είναι το νερό. Όσο περισσότερο διαλυτή σε αυτό είναι η κυκλοδεξτρίνη, τόσο περισσότερα είναι τα διαθέσιμα μόρια της για εγκλεισμό. Σε περίπτωση που ο διαλύτης σχηματίζει προϊόν εγκλεισμού με την κυκλοδεξτρίνη, ο guest θα πρέπει να είναι ικανός να απομακρύνει τα μόρια του διαλύτη έξω από την κοιλότητά της. Το νερό για παράδειγμα, απομακρύνεται πολύ εύκολα. Επίσης, ενδέχεται να μη διαλύονται αμέσως όλοι οι guest στο νερό, με αποτέλεσμα ο εγκλεισμός να καθίσταται μία διαδικασία εξαιρετικά αργή ή και αδύνατη. Σε αυτές τις περιπτώσεις και προκειμένου να διαλυθεί το ξενιζόμενο μόριο, κρίνεται επιθυμητή η χρήση κάποιου οργανικού διαλύτη ο οποίος θα πρέπει να απομακρύνεται εύκολα με εξάτμιση. Παραδείγματα τέτοιων διαλυτών είναι η αιθανόλη και ο διαιθυλαιθέρας.

Καθώς η ποσότητα νερού αυξάνεται, αυξάνεται και η ικανότητα διάλυσης συγκεκριμένης ποσότητας τόσο κυκλοδεξτρίνης όσο και guest, ώστε ο εγκλεισμός να πραγματοποιείται πιο γρήγορα. Εν τούτοις, περαιτέρω αύξηση της ποσότητας νερού ενδεχομένως να δημιουργήσει τόσο αραιό διάλυμα, ώστε να μην είναι συχνή η «συνάντηση» μεταξύ μορίων κυκλοδεξτρίνης και guest. Για αυτό, πρέπει να διατηρείται η ποσότητα νερού όσο χρειάζεται χαμηλή για να διασφαλιστεί ότι η διαδικασία εγκλεισμού θα πραγματοποιηθεί σε ικανοποιητικό βαθμό.

Μερικά μόρια με υψηλό μοριακό βάρος, όπως για παράδειγμα αυτά των ελαίων, έχουν την τάση να συσσωματώνονται περισσότερο μεταξύ τους, παρά με την κυκλοδεξτρίνη. Σε ορισμένες περιπτώσεις,

η χρήση μεγαλύτερης ποσότητας νερού σε συνδυασμό με καλή ανάμειξη, επιτρέπει τη διασπορά και τον διαχωρισμό των λιπαρών μορίων ή την απομόνωση του ενός από το άλλο. Όταν τελικά τα λιπαρά μόρια έρθουν σε επαφή με την κυκλοδεξτρίνη, σχηματίζουν ένα αρκετά σταθερό προϊόν εγκλεισμού.

Τέλος, όταν το ξενιζόμενο μόριο είναι πτητικό είναι πιθανόν να υπάρξουν απώλειες, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες. Για να αποτραπεί ένα τέτοιο ενδεχόμενο συνίσταται η χρήση ψυκτών ή περιεκτών που σφραγίζονται με πώμα.

Τα προϊόντα εγκλεισμού μπορούν να παρασκευαστούν με μια σειρά από τεχνικές, όπου η επιλογή και η αποδοτικότητά τους εξαρτάται από τις ιδιότητες των μορίων που πρόκειται να εγκλειστούν, την κινητική στην κατάσταση ισορροπίας, την ανάπτυξη άλλων συστατικών και διαδικασιών και την τελική επιθυμητή ποσότητα. Συνήθως, απαιτείται μια μικρή ποσότητα νερού για να εκκινήσουν οι απαραίτητες θερμοδυναμικές διαδικασίες.

Η πιο κοινή μέθοδος είναι αυτή της κατακρήμνισης (co-precipitation) που οδηγεί στην παρασκευή υψηλής καθαρότητας κρυστάλλων. Αρχικά, ζυγίζεται κατάλληλη ποσότητα guest και διαλύεται σε διαλύτη. Έπειτα, προστίθεται στάγδην σε διάλυμα κυκλοδεξτρίνης που περιέχει την ελάχιστη δυνατή ποσότητα νερού και το οποίο βρίσκεται στους 75 °C υπό ανάδευση. Η ανάδευση συνεχίζεται στην ίδια θερμοκρασία για περίπου μία ώρα και έπειτα αφήνεται το όλο σύστημα να κρυσώσει σταδιακά σε θερμοκρασία δωματίου (υπό ανάδευση πάντα). Άλλες τεχνικές που μπορεί ενδεικτικά να αναφερθούν είναι η λειοτρίβιση (kneading), η ανάμειξη διαλυμάτων ή αιωρημάτων, η δημιουργία πάστας, η ξηρή ανάμειξη (στην περίπτωση «λιπαρών» μορίων) κ.α.

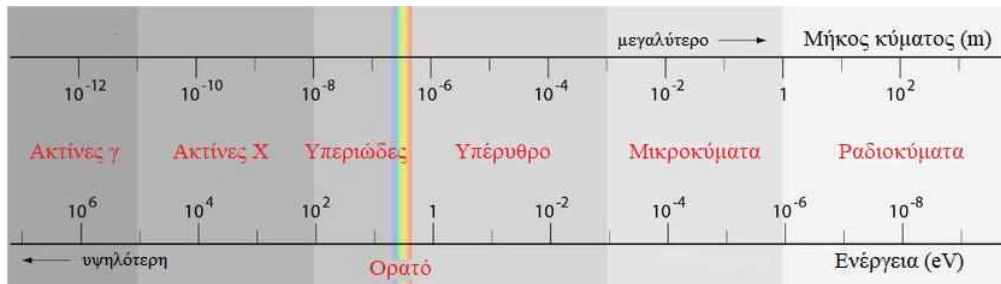
Ανεξάρτητα της εφαρμοζόμενης τεχνικής, μπορεί να πραγματοποιηθεί κατάλληλος διαχωρισμός του παραγομένου ίζηματος (π.χ. φυγοκέντριση, διήθηση, ξήρανση) και αποθήκευσή του (συνήθως στους 25 °C). Ορισμένες φορές το ίζημα ξεπλένεται με μικρή ποσότητα νερού ή άλλου διαλύτη (π.χ. μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη). Πάντως, η χρήση οργανικών διαλυτών ενδέχεται να δημιουργήσει προβλήματα, καθώς υπάρχει η πιθανότητα να εγκλειστούν τελικά στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης μόρια του διαλύτη και όχι του ξενιζόμενου μορίου (Mura et al. 2015; Del Valle 2004).

## 1.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΑΚΤΙΝΕΣ-X

### 1.2.1. Ακτίνες-X και κρυσταλλογραφία

Οι ακτίνες-X αποτελούν τμήμα του φάσματος ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και καταλαμβάνουν την περιοχή μεταξύ του υπεριώδους και των ακτινών γ (Εικόνα 1.2). Η ύπαρξή τους είχε ήδη

παρατηρηθεί νωρίτερα από διάφορους ερευνητές, αλλά ο άνθρωπος που θεωρείται ότι τις ανακάλυψε και τις μελέτησε διεξοδικά είναι ο Wilhelm Röntgen το 1895. Ο χαρακτηρισμός «X», που ο ίδιος χρησιμοποίησε αρχικά για να υποδείξει ότι επρόκειτο για ένα άγνωστο είδος ακτινοβολίας, έμελλε να διατηρηθεί σαν ονομασία αυτών των ακτίνων στο μεγαλύτερο μέρος του πλανήτη. Γρήγορα βρήκαν εφαρμογή στην ιατρική για τις γνωστές «ακτινογραφίες», όπως επίσης διαπιστώθηκε ότι η μακροχρόνια έκθεση σε αυτές είναι επιζήμια για την υγεία.



**Εικόνα 1.2.** Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

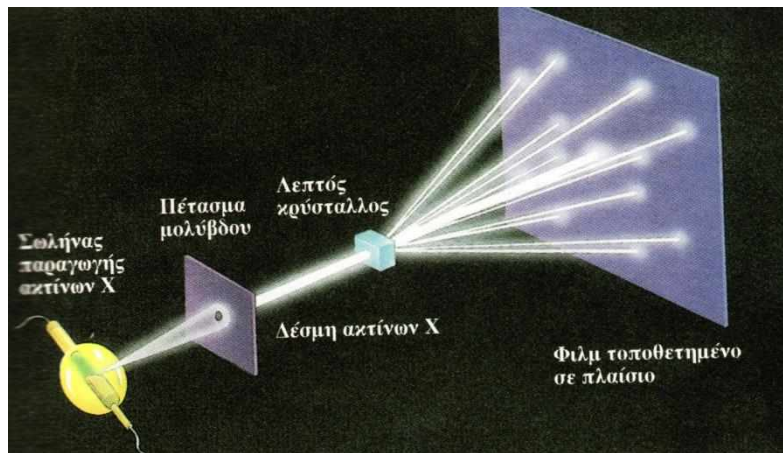
Την ίδια περίπου χρονική περίοδο η επιστημονική κοινότητα είχε καταλήξει στο ότι τα κρυσταλλικά στερεά χαρακτηρίζονται από μία κανονική, επαναλαμβανόμενη διάταξη ατόμων, ιόντων ή μορίων στο χώρο, σχηματίζοντας μία μακροσκοπική τρισδιάστατη περιοδική δομή, στην οποία οφείλεται και η συμμετρία των κρυστάλλων. Ο Auguste Bravais εισήγαγε την έννοια του χωρικού πλέγματος, δηλαδή της άπειρης διάταξης σημείων στο χώρο, όπου η κατανομή τους είναι πανομοιότυπη σε όλο το πλέγμα. Επομένως, ένα κρυσταλλικό πλέγμα αντιστοιχεί στην περιοδική κατανομή στοιχειωδών μονάδων ύλης. Σε κάθε κρύσταλλο αντιστοιχεί μία στοιχειώδης κρυσταλλική μονάδα ή αλλιώς μοναδιαία κυψελίδα (primitive cell) της οποίας η επανάληψη στο χώρο με μετατόπιση σχηματίζει τον κρύσταλλο. Εάν εφαρμοσθεί σύστημα κρυσταλλογραφικών αξόνων μπορεί η μοναδιαία κυψελίδα να περιγραφεί βάσει των τιμών των ακμών  $a$ ,  $b$ ,  $c$  και των γωνιών  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Ο ελάχιστος όγκος που μέσω της κρυσταλλικής συμμετρίας μπορεί να αποδώσει τη μοναδιαία κυψελίδα, καλείται ασύμμετρη μονάδα (asymmetric unit). Το σύνολο των σχέσεων συμμετρίας που παρατηρείται σε έναν σχηματισμό αντικειμένων καλείται Ομάδα Χώρου (point group). Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις διάφορες δυνατές συμμετρίες δημιουργούνται 14 τύποι πλεγμάτων (πλέγματα Bravais) τα οποία κατατάσσονται σε 7 κρυσταλλογραφικά συστήματα με διαφορετική συμμετρία και χαρακτηριστικά, όπως απεικονίζονται στον παρακάτω **Πίνακα 1.3**.



**Πίνακας 1.3.** Κρυσταλλογραφικά συστήματα: τύποι και χαρακτηριστικά τους

Κρυσταλλογραφικά συστήματα		
Συμμετρία	Σύστημα	Χαρακτηριστικά μοναδιαίας κυψελίδας
-      ↓      +	Τρικλινές	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma$
	Μονοκλινές	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$
	Ορθορομβικό	$a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
	Τριγωνικό	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma < 120^\circ, \neq 90^\circ$
	Τετραγωνικό	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
	Εξαγωνικό	$a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$
	Κυβικό	$a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$

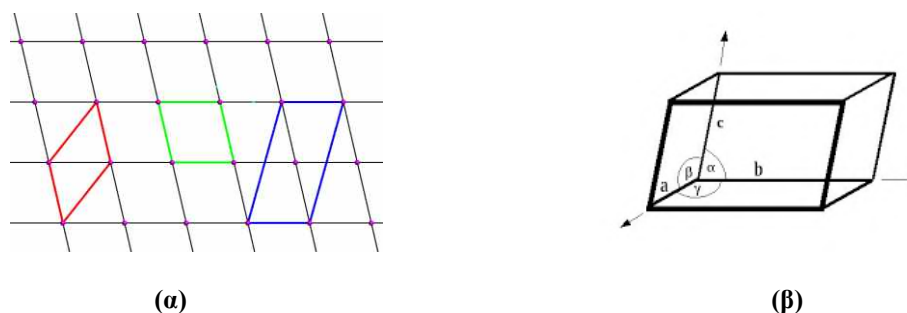
Το 1912 ο Max von Laue, έχοντας υπ' όψιν ότι η απόσταση των γειτονικών ατόμων σε ένα κρυσταλλικό πλέγμα είναι της τάξεως των  $10^{-10}$  m ή αλλιώς 1 Angstrom ( $\text{\AA}$ ), συγκρίσιμη δηλαδή με το μήκος κύματος των ακτίνων-X, είχε την ιδέα να χρησιμοποιηθούν οι ακτίνες-X για τη μελέτη κρυστάλλων, εκμεταλλευόμενος το φαινόμενο της περίθλασης. Ως τέτοιο, ονομάζεται η ιδιότητα που παρουσιάζει ένα κύμα (επομένως και μία λεπτή δέσμη φωτός), όταν συναντά ένα εμπόδιο με διαστάσεις παρόμοιες με αυτές του μήκους κύματός του, να παρεκκλίνει από την αρχική διεύθυνση διάδοσής του προς διάφορες διευθύνσεις. Την ίδια χρονιά, μαζί με τους Friedrich και Knipping πραγματοποίησε το πρώτο πείραμα λαμβάνοντας διαμόρφωμα περίθλασης σε φωτοταινία (φιλμ), δηλαδή την αποτύπωση κηλίδων (spots) που οφείλονταν στην περίθλαση των ακτίνων-X (**Εικόνα 1.3**).



Εικόνα 1.3. Περίθλαση ακτίνων X μέσω κρυστάλλου (Hugh 1994)

### 1.2.2. Νόμος του Bragg

Στην προηγούμενη ενότητα, αναφέρθηκε ότι η διάταξη των ατόμων των κρυστάλλων δημιουργεί ένα τρισδιάστατο πλέγμα (Σχήμα 1.2). Αν ένας παρατηρητής είχε τη δυνατότητα να κοιτάζει αυτό το πλέγμα από διάφορες οπτικές γωνίες θα μπορούσε να φανταστεί την ύπαρξη πολλών παράλληλων επιπέδων, λόγω της περιοδικότητας που παρουσιάζουν τα άτομα στον χώρο. Όταν μία ακτίνα προσπίπτει σε ένα άτομο σκεδάζεται. Επίσης, όταν προσπίπτει σε πολλά άτομα (όπως συμβαίνει με έναν κρύσταλλο) οι σκεδαζόμενες ακτίνες συμβάλλουν στο τελικό παρατηρούμενο αποτέλεσμα στο φιλμ (συμβολή). Οι συνολικές σκεδαζόμενες ακτίνες-X συμβάλλουν, λοιπόν, είτε ενισχυτικά (ευρισκόμενες στην ίδια φάση), είτε αποσβεστικά (σε διαφορετική φάση). Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι ακτίνες που φτάνουν σε συγκεκριμένες θέσεις του ανιχνευτή, δεν σκεδάζουν ενισχυτικά, αλλά αλληλο-αναιρούνται και δεν καταγράφεται κηλίδα στο διαμόρφωμα (αναιρετική συμβολή). Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις, συμβαίνει ενισχυτική συμβολή των σκεδαζομένων από τον κρύσταλλο κυμάτων, σε συγκεκριμένες θέσεις του ανιχνευτή, όπου εμφανίζονται έντονες κηλίδες δημιουργώντας το συγκεκριμένο διαμόρφωμα περίθλασης.



Σχήμα 1.2. Σχηματική παράσταση (α) του χωρικού πλέγματος δισδιάστατου κρυστάλλου και των μοναδιαίων κυψελίδων του και (β) κρυσταλλογραφικών αξόνων ([pd.chem.ucl.ac.uk](http://pd.chem.ucl.ac.uk); [xray0.princeton.edu](http://xray0.princeton.edu))

Αν θεωρήσουμε τις σκεδαζόμενες από τον κρύσταλλο ακτίνες, ως ανακλώμενες από τα υποθετικά επίπεδα του κρυσταλλικού πλέγματος που προαναφέρθηκαν, θα παρατηρείται ενισχυτική συμβολή μεταξύ ανακλώμενων ακτινών από γειτονικά τέτοια επίπεδα, που ανήκουν στην ίδια οικογένεια (παράλληλα μεταξύ τους), όταν η διαφορά μήκους της διαδρομής μεταξύ τους είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος. Σε αυτήν την περίπτωση, ισχύει ο νόμος της ανάκλασης, σύμφωνα με τον οποίο η γωνία πρόσπτωσης των ακτινών στα κρυσταλλικά επίπεδα είναι ίση με την γωνία ανάκλασης (**Σχήμα 1.3**). Η παραπάνω διατύπωση αποτελεί τον νόμο του Bragg και εκφράζεται με την εξίσωση:

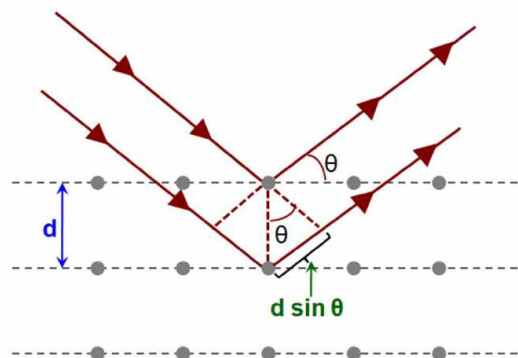
$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \quad (3)$$

Όπου,  $n$  : ακέραιος αριθμός (1, 2, 3...)

$\lambda$  : το μήκος κύματος

$d$  : η απόσταση των δύο επιπέδων

$\theta$  : η γωνία πρόσπτωσης/ανάκλασης



**Σχήμα 1.3.** Σχηματική παράσταση του νόμου του Bragg ([www.researchgate.net](http://www.researchgate.net))

Οι ανακλώμενες ακτίνες από όλα τα παράλληλα επίπεδα που απέχουν μεταξύ τους την ίδια απόσταση  $d_{hkl}$  θα συμβάλλουν ενισχυτικά όταν ικανοποιείται ο νόμος Bragg. Όπου  $h$ ,  $k$ ,  $l$  είναι ακέραιοι αριθμοί που καλούνται δείκτες Miller και καθορίζουν τα επίπεδα Bragg που τέμνουν τη μοναδιαία κυψελίδα στο σύστημα συντεταγμένων κατά  $h$ ,  $k$  και  $l$  φορές αντίστοιχα.

Εν κατακλείδι, το τελικό διαμόρφωμα περίθλασης ενός κρυστάλλου προκύπτει από την ενισχυτική συμβολή ανακλάσεων από διάφορες ομάδες παράλληλων επιπέδων που σχηματίζονται από άτομα λόγω περιοδικότητας στο χώρο και ικανοποιούν τις προϋποθέσεις του νόμου του Bragg.

### 1.2.3. Απεικόνιση της δομής

Όταν τα φωτόνια των ακτίνων-X διέρχονται μέσα από έναν κρύσταλλο, σκεδάζονται κυρίως από τα ηλεκτρόνια των ατόμων, ενώ αντιθέτως οι πυρήνες δεν συνεισφέρουν σημαντικά στην σκέδασή τους. Επομένως, αυτό που δημιουργεί το διαμόρφωμα περίθλασης των ακτίνων-X από έναν κρύσταλλο είναι η ηλεκτρονιακή κατανομή σε αυτόν. Ο προσδιορισμός αυτής, συνεπάγεται και τον προσδιορισμό της κρυσταλλικής δομής, θεωρώντας ότι οι ατομικές θέσεις είναι οι θέσεις των μεγίστων της ηλεκτρονιακής πυκνότητας.

Ο προσδιορισμός της ηλεκτρονιακής πυκνότητας (σκεδαστής) από τη γνώση των σκεδαζομένων κυμάτων μπορεί να επιτευχθεί άμεσα μέσω ενός μετασχηματισμού Fourier. Επομένως, εάν είναι γνωστά τα πλάτη και οι φάσεις των κυμάτων ( $F_{\mathbf{H}}$ ) που προέκυψαν από την περίθλαση ακτίνων-X από έναν κρύσταλλο, και που αποτυπώνονται σε συγκεκριμένες θέσεις ( $\mathbf{H} = h k l$ ) του αντίστροφου χώρου (χώρος περιθλάσεων), η ηλεκτρονιακή πυκνότητα της κρυσταλλικής δομής μπορεί να προσδιοριστεί από την εξίσωση:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum F_{\mathbf{h}} \exp[-2\pi i \mathbf{H} \cdot \mathbf{r}] \quad (4)$$

Όπου  $\rho(\mathbf{r})$  : η ηλεκτρονιακή πυκνότητα του κρυστάλλου

υ,

$\mathbf{H}$  :  $h k l$ , οι ακέραιοι αριθμοί που προσδιορίζουν τη θέση του παρατηρούμενου κύματος στον αντίστροφο χώρο (χώρος περιθλάσεων)

$F_{\mathbf{H}}$  : μιγαδικός αριθμός που συμπεριλαμβάνει την πληροφορία για το πλάτος  $|F_{\mathbf{H}}|$  και τη φάση  $\varphi_{\mathbf{H}}$  του σκεδαζομένου κύματος  $\mathbf{H}$  και ονομάζεται παράγων δομής

Στον τρισδιάστατο χώρο, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα ( $\rho$ ) εκφράζεται ως ηλεκτρόνια ανά μονάδα όγκου και ο παράγων δομής ( $F$ ) ως ηλεκτρόνια ανά μοναδιαία κυψελίδα, οπότε ο τύπος (4) παίρνει τη μορφή:

$$\rho(x, y, z) = (1/V) \sum_{hkl} \{F_{hkl} \exp[-2\pi i(hx+ky+lz)]\} \quad (5)$$

Όπου,  $V$  : ο όγκος της μοναδιαίας κυψελίδας

Άρα για να αποκτηθεί η εικόνα της μοριακής δομής απαιτείται η γνώση του πλάτους ( $|F|$ ) και της φάσης ( $\varphi$ ) των σκεδαζομένων κυμάτων. Εντούτοις, στο διαμόρφωμα περίθλασης που καταγράφεται

στον ανιχνευτή, μόνο η ένταση αυτών των κυμάτων  $I_{hkl}$  είναι δυνατόν να μετρηθεί, επειδή η αλλαγή της φάσης γίνεται με τεράστια συχνότητα (της τάξης των  $10^{17} - 10^{19}$  Hz). Η ένταση αυτή είναι ανάλογη του τετραγώνου του πλάτους του σκεδαζομένου κύματος ( $I \propto |F|^2$ ), οπότε μόνο η πληροφορία του πλάτους αυτών των κυμάτων μπορεί να ανακτηθεί πειραματικά. Το πρόβλημα προσδιορισμού των αντιστοιχών φάσεων,  $\phi$ , της παρατηρούμενης ακτινοβολίας που προέκυψε από την περίθλαση στον κρύσταλλο, είναι κεντρικό στην κρυσταλλογραφία και ονομάζεται το «πρόβλημα των φάσεων». Για να προσδιοριστούν οι φάσεις αυτών των κυμάτων, ώστε να «μεταφραστεί» το διαμόρφωμα περίθλασης στην κρυσταλλική δομή, έχουν επινοηθεί διάφοροι τρόποι, όπως η συνάρτηση Patterson ή οι μέθοδοι της ισόμορφης αντικατάστασης (isomorphous replacement), της ανώμαλης σκέδασης (anomalous scattering) και της μοριακής αντικατάστασης (molecular replacement).

Η συνάρτηση Patterson αναπτύσσεται θέτοντας αρχικά όλες τις φάσεις ίσες με μηδέν, έτσι ώστε όλες οι καταγραφόμενες από τον ανιχνευτή εντάσεις, να αποδίδουν το αποτέλεσμα της συνέλιξης (convolution) της  $\rho(\mathbf{r})$  με την αντίστροφή της  $\rho(-\mathbf{r})$ . Από τον μετασχηματισμό Fourier των παρατηρούμενων εντάσεων προκύπτει μία συνάρτηση (Patterson) που περιλαμβάνει μόνο μετρήσιμες ποσότητες.

Η ισόμορφη αντικατάσταση βασίζεται στον προσδιορισμό μιας ισόμορφης κρυσταλλικής δομής ( με μοναδιαία κυψελίδα ίδιων περίπου διαστάσεων και συμμετρίας) η οποία προκύπτει από την εμφύσηση του μητρικού κρυστάλλου (parent) σε πυκνό διάλυμα βαρέων μετάλλων ή μεταλλικών συμπλόκων προς δημιουργία του παραγώγου (derivative) κρυστάλλου. Στις επιτυχημένες περιπτώσεις, τα βαρέα μεταλλικά ιόντα ή μεταλλικά σύμπλοκα, προσδένονται στην κρυσταλλική δομή του μητρικού, με αποτέλεσμα να την εμπλουτίζουν με ισχυρούς σκεδαστές οι οποίοι μπορούν να δώσουν ένα αρχικό ατελές μοντέλο της παραγώγου δομής, μέσω της συνάρτησης Patterson, πράγμα που δεν είναι συνήθως εφικτό για τη δομή του μητρικού κρυστάλλου από την οποία απουσιάζουν τέτοιοι ισχυροί σκεδαστές.

Η ανώμαλη σκέδαση στηρίζεται σε μετρήσεις σκεδαζόμενης ακτινοβολίας η οποία βρίσκεται σε διαφορετική φάση σε σχέση με την εισερχόμενη ακτινοβολία (ανώμαλη σκέδαση). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται όταν η ενέργεια της προσπίπτουσας ακτινοβολίας είναι κοντά στις ακμές απορρόφησης (absorption edges) κάποιων ατόμων της κρυσταλλικής δομής.

Οι μέθοδοι της ισόμορφης αντικατάστασης και της ανώμαλης σκέδασης εφαρμόζονται όταν η εξεταζόμενη δομή είναι εντελώς άγνωστη. Αντίθετα, αυτή της μοριακής αντικατάστασης εφαρμόζεται όταν η εξεταζόμενη δομή είναι παρόμοια, με κάποια άλλη γνωστή δομή, η οποία χρησιμοποιείται ως αρχικό μοντέλο.

Τελικά, από το σύνολο των παραγόντων δομής, στα όρια διακριτότητας (resolution) που επέτρεψε η συλλογή πειραματικών δεδομένων, με μετρούμενα πλάτη και προσδιοριζόμενες φάσεις, είναι δυνατή η δημιουργία ενός χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας, ο οποίος δίνει μία τρισδιάστατη εικόνα της δομής και μπορεί να μεταφραστεί σε ατομικές θέσεις (Blow 2002).

#### 1.2.4. Βελτιστοποίηση δομής (refinement)

Επιγραμματικά υπάρχουν τέσσερα στάδια που απαιτούνται για την επίλυση της δομής ενός κρυστάλλου:

α) η δημιουργία κρυστάλλων και η επιλογή κατάλληλου κρυστάλλου για μελέτη με ακτίνες-X σε περιθλασίμετρο

β) η συλλογή δεδομένων, κατά κύριο λόγο σε κρυογονική θερμοκρασία (100 K) για λιγότερη καταπόνηση του εξεταζόμενου κρυστάλλου από τις ακτίνες-X και περιορισμό της θερμικής κίνησης των ατόμων που οδηγεί σε δεδομένα και υψηλότερης διακριτότητας (resolution) σε σχέση με αντίστοιχα πειράματα σε θερμοκρασία δωματίου.

γ) «ανάγνωση» (integration) και επεξεργασία (scaling) των δεδομένων από τις εικόνες περίθλασης που κατέγραψε ο ανιχνευτής.

δ) ο προσδιορισμός αρχικών φάσεων για τους παρατηρούμενους παράγοντες δομής και επομένως ενός αρχικού μοντέλου (επίλυση) της κρυσταλλικής δομής. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου για την αρχική επίλυση της δομής εξαρτάται από την εκάστοτε περίπτωση (μέγεθος της δομής, παρουσία βαρέων ατόμων, παρουσία ανώμαλης σκέδασης, μέγιστη ανάλυση κ.α.).

Μετά από όλα τα παραπάνω λαμβάνονται οι συντεταγμένες για ορισμένα ή για όλα τα άτομα (εκτός συνήθως των υδρογόνων) που απαρτίζουν τη δομή. Παρά ταύτα, κάποια άτομα μπορεί να μην ανταποκρίνονται στο σωστό είδος, οι συντεταγμένες μπορεί να μην είναι ακριβείς και, επιπλέον, να χρειάζεται να διευκρινισθούν και άλλες λεπτομέρειες της δομής, όπως πιθανή αποδιάταξη των θέσεων των προσδιοριζόμενων ατόμων, ο βαθμός κατάληψης ορισμένων ατόμων, οι θέσεις των ατόμων υδρογόνου κ.α. Η διαδικασία από την αρχική, ατελή επίλυση της δομής μέχρι τον τελικό, ακριβή προσδιορισμό της, ονομάζεται Βελτιστοποίηση.

Για τη βελτιστοποίηση των κρυσταλλικών δομών διατίθενται πλούσιο λογισμικό. Η παρούσα εργασία στηρίχθηκε στο υπολογιστικό πρόγραμμα βελτιστοποίησης SHELXL που δημιουργήθηκε από τον George Sheldrick και απαιτεί την εισαγωγή δύο αρχείων. Το ένα έχει κατάληξη .hkl και περιέχει τα δεδομένα του πλήθους και των εντάσεων των παρατηρούμενων ανακλάσεων Bragg (reflection data)

$h$ ,  $k$ ,  $l$ ,  $F^2$  και  $\sigma(F^2)$ . Τα δεδομένα για την προσδιορισμένη μοναδιαία κυψελίδα, τη συμμετρία της, καθώς και οι ατομικές συντεταγμένες του αρχικού και των διαδοχικά βελτιωμένων μοντέλων, μαζί με τους χημικούς περιορισμούς (constraints, restraints) και τις επιλογές, παραμέτρους και εντολές βελτιστοποίησης, περιέχονται στο δεύτερο αρχείο με κατάληξη .ins. Κάθε εντολή συμβολίζεται με τέσσερα γράμματα και μπορεί να αναφέρεται στα γενικά χαρακτηριστικά του κρυστάλλου, στην εισαγωγή δεδομένων ανάκλασης, στη δημιουργία καταλόγων και πινάκων, «εξαναγκασμών» (constraints) ή «περιορισμών» (restraints) κ.α. Με τους «εξαναγκασμούς» ρυθμίζονται κάποιες παράμετροι ώστε να έχουν συγκεκριμένες τιμές περιορίζοντας έτσι τον αριθμό των παραμέτρων που πρόκειται να βελτιστοποιηθούν (π.χ. ποια άτομα είναι ανισοτροπικά ή πόσα άτομα υδρογόνου συνδέονται με ένα άτομο άλλου στοιχείου κ.α.), ενώ με τους «περιορισμούς» εισάγεται κάθε πρόσθετη πειραματική παρατήρηση (π.χ. η συγκεκριμένη απόσταση των ανθρακοατόμων αναλόγως του είδους του δεσμού ή ότι ένας αρωματικός δακτύλιος είναι επίπεδος κ.λ.π.).

Βάσει των παραπάνω αρχείων δημιουργούνται άλλα δύο επιπλέον αρχεία μετά την εκτέλεση κάθε κύκλου βελτιστοποίησης. Το αρχείο .lst που περιέχει μία λεπτομερή καταγραφή της διαδικασίας βελτιστοποίησης της δομής και ένα αρχείο .res που είναι παρόμοιο με το .ins με τη διαφορά ότι κάθε φορά περιέχει τις αναθεωρημένες τιμές των παραμέτρων.

Η αξιολόγηση της δομής γίνεται με κάποιους δείκτες, οι οποίοι θα πρέπει κατά τη διάρκεια της βελτιστοποίησης να συγκλίνουν σε μία ελάχιστη τιμή και να αναφέρονται κατά τη δημοσίευση μίας δομής (Müller et al. 2006). Ενδεικτικά αναφέρονται οι δύο πιο σημαντικοί:

α) ο δείκτης R1, ο οποίος είναι και ο πιο κοινός:

$$R1 = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|} \quad (6)$$

Όπου,  $F_o$  : οι παράγοντες δομής των παρατηρούμενων ανακλάσεων

$F_c$  : οι παράγοντες δομής των ανακλάσεων που αναμένονταν θεωρητικά να παρατηρηθούν

β) ο δείκτης καλής προσαρμογής S ή GooF (Goodness of fit):

$$GooF = \left( \frac{\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2}{N_R - N_P} \right)^{1/2} \quad (7)$$

Όπου,  $N_R$  : ο αριθμός των ανεξάρτητων ανακλάσεων

$N_P$  : ο αριθμός των βελτιστοποιημένων παραμέτρων

### 1.3. ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ

Η μοριακή δυναμική (molecular dynamics – MD) είναι μία υπολογιστική τεχνική (*in silico*) που προβλέπει θεωρητικά τις κινήσεις των ατόμων και μορίων ενός συστήματος, όπως για παράδειγμα ενός συμπλόκου κυκλοδεξτρίνης, με την πάροδο του χρόνου. Πιο ειδικά, τα άτομα του συστήματος αφήνονται να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους και με το διαλύτη που περιβάλλει το σύστημα (συνήθως νερό) και υπολογίζεται κάθε στιγμή η συνισταμένη δύναμη που ασκείται πάνω σε κάθε άτομο. Έτσι, γίνεται μια πρόβλεψη της τροχιάς κάθε ατόμου σε σχέση με τον χρόνο, με απλή επίλυση των εξισώσεων κίνησης του Νεύτωνα. Η εκτίμηση των δυνάμεων μεταξύ των ατόμων εντός των μορίων και επίσης μεταξύ των μορίων γίνεται, στο πλαίσιο της μοριακής μοντελοποίησης, βάσει κατάλληλων δυναμικών πεδίων (Force Fields). Τα δυναμικά πεδία αναφέρονται στις συναρτήσεις και στις παραμέτρους που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της δυναμικής ενέργειας ενός συστήματος ατόμων στη μοριακή μηχανική και τη μοριακή δυναμική. Οι παράμετροι για μια επιλεγμένη συνάρτηση δυναμικής ενέργειας μπορούν να προέρχονται από ημι-εμπειρικούς υπολογισμούς κβαντικής μηχανικής, από πειραματικά δεδομένα (π.χ. NMR) ή και από τα δύο. Τα δυναμικά πεδία στη μοριακή μηχανική και τη μοριακή δυναμική χρησιμοποιούν την ίδια έννοια με τα δυναμικά πεδία στην κλασική φυσική, με τη διαφορά ότι εδώ οι παράμετροι δυναμικού πεδίου περιγράφουν το ενεργειακό τοπίο, από το οποίο οι δυνάμεις που δρουν σε κάθε σωματίδιο προέρχονται ως βαθμίδα της δυναμικής ενέργειας σε σχέση με τις συντεταγμένες των σωματιδίων. Το κάθε είδος δυναμικού πεδίου ορίζει και διαφορετικές παραμέτρους προκειμένου να περιγράψει καλύτερα τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και να προσδιορίσει ορθότερα την συνολική δυναμική ενέργεια. Για παράδειγμα, στην περίπτωση των κυκλοδεξτρινών το πεδίο δυνάμεων GLYCAM είναι το καταλληλότερο καθώς λαμβάνει υπόψην του όλες τις επιτρεπτές αποστάσεις και γωνίες των γλυκοζών που συμμετέχουν στην προσομοίωση.

Η επίδραση του διαλύτη στο υπό εξέταση σύστημα, εξετάζεται είτε με την εφαρμογή ενός εκπεφρασμένου (explicit) μοντέλου, όπου λαμβάνονται υπόψη τα μόρια του διαλύτη (με ατομικές συντεταγμένες και βαθμούς ελευθερίας) είτε με την εισαγωγή κατάλληλης διηλεκτρικής σταθεράς για το χώρο που καταλαμβάνει ο διαλύτης (implicit model). Σε όλες τις μελέτες της παρούσας διατριβής, χρησιμοποιείται ως διαλύτης αποκλειστικά το νερό. Για το νερό αρκετά δημοφιλές είναι το εκπεφρασμένο μοντέλο TIP3P που χαρακτηρίζεται από την απλότητα και την αποτελεσματικότητά του, καθώς ορίζει ένα φορτίο για κάθε άτομο του μορίου του νερού και διατηρεί τη γνωστή γεωμετρία του.

Σημαντικό παράγοντα της μοριακής δυναμικής μελέτης κάθε συστήματος, αποτελεί και η κατάλληλη επιλογή των διαστάσεων και του σχήματος του χώρου όπου πραγματοποιείται η προσομοίωση (box size), ώστε να αποφεύγονται λανθασμένες εκτιμήσεις που μπορεί να προκύψουν από τις



αλληλεπιδράσεις των μορίων με γειτονικά που παραβιάζουν τα όρια του ορισμένου περιβάλλοντος του συστήματος.

Κάθε υπό εξέταση σύστημα οδηγείται σε κατάσταση ισορροπίας με τις απαραίτητες ελαχιστοποιήσεις ενέργειας. Αρχικά με ελαχιστοποίηση της ενέργειας των ατόμων υδρογόνου και την εφαρμογή στα μόρια νερού κανονικών συνθηκών περιβάλλοντος (σταθερές παράμετροι: N, V, T). Στη συνέχεια με μια δεύτερη ελαχιστοποίηση της ενέργειας (αυτή τη φορά του συστήματος) και ακολούθως σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι την επιθυμητή τελική τιμή ώστε τελικά να επιτευχθεί εξισορρόπηση του συστήματος σε ισοβαρείς-ισόθερμες συνθήκες (σταθερές παράμετροι: N, P, T).

Η προσομοίωση παράγει στιγμιότυπα (frames) από τα οποία η μετακίνηση και η ταχύτητα των σωματιδίων του συστήματος σε συνάρτηση με τον χρόνο (trajectory), μπορεί να απεικονισθεί και να μελετηθεί με κατάλληλα υπολογιστικά προγράμματα (π.χ. Visual Molecular Dynamics - VMD).

Επίσης, με τη βοήθεια μεθόδων μοριακής μηχανικής (Molecular Mechanics *Poisson-Boltzmann* or *Generalised Born Surface Area* continuum solvation – MM/PBSA, MM/GBSA) είναι δυνατός ο θεωρητικός υπολογισμός της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης (binding -  $\Delta G_{GB}$ ) του προϊόντος εγκλεισμού (Bill et al. 2012). Η τελευταία αποτελεί το άθροισμα των αντίστοιχων ενεργειών της αέριας (gas) και της διαλυτοποιημένης (solvation) φάσης:

$$\Delta G_{GB} = \Delta G_{gas} + \Delta G_{solv} \quad (13)$$

Επίσης, με τη χρήση προγραμμάτων (CCPTRAJ του AMBER12) είναι δυνατός ο υπολογισμός της τιμής της εντροπίας ( $\Delta S$ ) και κατά συνέπεια ο εντροπικός όρος ( $T \cdot \Delta S$ ), οπότε η ελεύθερη ενέργεια του συστήματος ( $\Delta G_{bind}$ ) δίδεται από την σχέση:

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{GB} - T \cdot \Delta S \quad (14)$$

Επειδή όμως ο εντροπικός όρος δεν περιέχει την πληροφορία της εντροπίας που οφείλεται στη διαμόρφωση των μορίων και οι διάφορες εναλλακτικές μέθοδοι εκτίμησής του δεν δίνουν συγκρίσιμα αποτελέσματα, συνήθως παραλείπεται (Genheden et al. 2015) και, επομένως, η σύγκριση μεταξύ των ενεργειών πρόσδεσης (binding affinities) των προϊόντων εγκλεισμού βασίζεται αποκλειστικά στην τιμή της  $\Delta G_{GB}$ .

#### 1.4. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ

Η ευρεία χρήση της μελέτης των διαγραμμάτων διαλυτότητας (phase solubility studies) για διάφορες, κυρίως υδρόφοβες ουσίες, οφείλεται τόσο στη σημασία του προσδιορισμού της αύξησης της

διαλυτότητας τους παρουσίας κυκλοδεξτρινών (αυξανόμενης συγκέντρωσης) στο διάλυμα αλλά και στον απλό τρόπο με τον οποίο προσφέρουν τον προσδιορισμό μιας φαινόμενης (apparent) σταθεράς πρόσδεσης  $K_c$  μεταξύ ξενιστή και ξενιζομένου μορίου. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της  $K_c$  από τα διαγράμματα διαλυτότητας με πιο διαδεδομένη αυτή των Higuchi και Connors (Higuchi et al. 1965). Σε αυτή τη μέθοδο λαμβάνει χώρα η προσθήκη σταθερής περισσειας μιας ουσίας χαμηλής υδατοδιαλυτότητας σε μια σειρά υδατικών διαλυμάτων κυκλοδεξτρίνης (CD) διαφόρων συγκεντρώσεων. Ακολουθεί ανάδευση σε σταθερή θερμοκρασία μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία. Κατά τη διαδικασία αυτή, μία ποσότητα της υπό εγκλεισμό ουσίας παραμένει αδιάλυτη και κατακρημνίζεται, ενώ η υπόλοιπη διαλυτοποιείται καθώς ενθυλακώνεται στην κοιλότητα της CD ή/και παγιδεύεται ανάμεσα σε μονάδες τέτοιων συμπλόκων εγκλεισμού. Το διάλυμα φυγοκεντρείται ή διηθείται μέσω φίλτρων σύριγγας για την απομάκρυνση του αδιάλυτου μέρους και ακολουθεί η μελέτη του διαλυτοποιημένου ξενιζομένου μορίου με διάφορες τεχνικές, όπως η φασματοφωτομετρική εξέταση σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους (UV) ή η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid chromatography - HPLC). Έπειτα, σχηματίζεται το διάγραμμα διαλυτότητας όπου στον κατακόρυφο άξονα καταγράφεται η συγκέντρωση του guest και στον οριζόντιο άξονα η συγκέντρωση της CD (Das et al. 2013). Το διάγραμμα απεικονίζει ουσιαστικά την επίδραση της συγκέντρωσης της κυκλοδεξτρίνης στη διαλυτότητα του ξενιζομένου μορίου (Brewster et al. 2007).

Τα διαγράμματα διαλυτότητας, αναλόγως της εικόνας που παρουσιάζουν, διακρίνονται σε δύο κύριους τύπους: A και B, οι οποίοι με τη σειρά τους διακρίνονται σε υπο-τύπους (Σχήμα 1.4). Πιο συγκεκριμένα, ο τύπος A διακρίνεται στους:

α)  $A_L$ , όπου η καμπύλη είναι ευθύγραμμη με θετική κλίση σε όλο το μήκος και αφορά προϊόντα εγκλεισμού όπου η φαινόμενη στοιχειομετρία ξενιζομένου(G):ξενιστή(CD) είναι n:1, με  $n = 1, 2, 3, \dots$  (δηλ. σύμπλοκα [G-GD], [G<sub>2</sub>-CD], [G<sub>3</sub>-CD] κλπ)

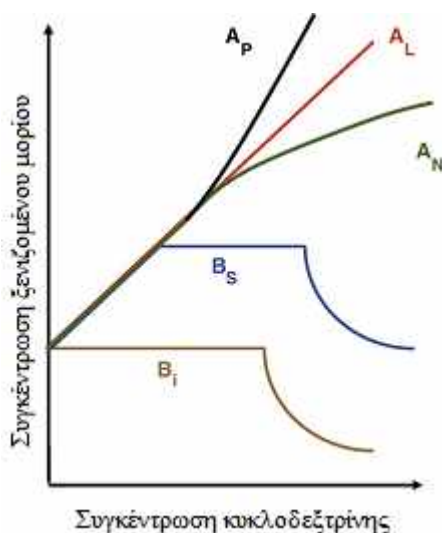
β)  $A_p$ , όπου η καμπύλη είναι αρχικά ευθύγραμμη με θετική κλίση, αλλά όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της κυκλοδεξτρίνης αποκλίνει από τη γραμμικότητα με ανοδική τάση. Αντιπροσωπεύει προϊόντα που η φαινόμενη στοιχειομετρία ξενιζομένου(G):ξενιστή(CD) είναι 1:n, με  $n = 1, 2, 3, \dots$  (δηλ. σύμπλοκα [G-CD], [G-CD<sub>2</sub>], [G-CD<sub>3</sub>] κλπ) και

γ)  $A_N$ , όπου η καμπύλη είναι αρχικά ευθύγραμμη με θετική κλίση, αλλά όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζει απόκλιση από τη γραμμικότητα με πτωτική τάση και υποδεικνύει ότι δεν υπάρχουν ευνοϊκά φαινόμενα για τον εγκλεισμό του guest ή ότι τα μόρια του host συνενώνονται μεταξύ τους

Ο τύπος Β αντιπροσωπεύει τα χαμηλής διαλυτότητας προϊόντα εγκλεισμού και παρατηρείται συνήθως όταν ο host είναι φυσική κυκλοδεξτρίνη, κυρίως β-CD. Εδώ παρατηρούνται δύο υπο-τύποι:

α) ο B<sub>S</sub>, όπου η καμπύλη διακρίνεται σε τρία τμήματα: Το πρώτο είναι ευθύγραμμο με θετική κλίση, το δεύτερο επίσης ευθύγραμμο με μηδενική κλίση (παράλληλο στον οριζόντιο άξονα) και το τρίτο εμφανίζει αρνητική κλίση. Το δεύτερο τμήμα υποδηλώνει ότι περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του host δεν προκαλεί μεταβολή της διαλυτότητας του guest, ενώ το τρίτο τμήμα ότι περαιτέρω προσθήκη του host προκαλεί μείωση του guest στο διάλυμα λόγω σχηματισμού του προϊόντος εγκλεισμού και ταυτόχρονης κατακρήμνισης του

β) ο B<sub>I</sub>, όπου η καμπύλη αποτελείται από δύο τμήματα και αντιστοιχούν στο δεύτερο και τρίτο τμήμα του υπο-τύπου B<sub>S</sub> όπως αυτά περιγράφηκαν προηγουμένως και υποδηλώνει τον σχηματισμό αδιάλυτων στο νερό προϊόντων εγκλεισμού



**Σχήμα 1.4.** Οι παρατηρούμενοι τύποι των διαγραμμάτων διαλυτότητας (Brewster et al. 2007)

Στα διαγράμματα τύπου A η κλίση της διαγραφόμενης καμπύλης, εκφράζεται με την εξίσωση:

$$\text{κλίση} = \frac{n \cdot K_c \cdot [G_0]^n}{1 + (K_c \cdot [G_0]^n)} \quad (10)$$

Όπου,  $K_c$  : η σταθερά ισορροπίας

$[G_0]^n$  : η συγκέντρωση του ξενιζόμενου μορίου απουσία κυκλοδεξτρίνης, δηλαδή ισοδυναμεί με το σημείο που η καμπύλη τέμνει τον κατακόρυφο άξονα

Κάθε γραμμική καμπύλη μπορεί να αποδοθεί με εξίσωση 1<sup>ου</sup> βαθμού ( $y = \alpha \cdot x + \beta$ ), οπότε στην εξίσωση (10), αν σημειώσουμε με  $\alpha$  την κλίση της καμπύλης, ενώ η τεταγμένη επί τη αρχή  $\beta$  είναι η  $[G_0]^n$ , στην περίπτωση αναλογίας 1:1 μεταξύ guest:host (οπότε  $n=1$ ) και λύνοντας ως προς  $K$ , προκύπτει:

$$K_{1:1} = \frac{\alpha}{\beta \cdot (1 - \alpha)} \quad (11)$$

Μία άλλη ενδιαφέρουσα παράμετρος είναι η απόδοση συμπλοκοποίησης (Complexation Efficiency – CE) που ορίζεται ως ο λόγος  $[CD_m-G_n]/[CD]_m$  η οποία, σε συνδυασμό με τον τύπο (11) και για αναλογία 1:1, ισοδυναμεί με:

$$CE = [Go] \cdot K_{1:1} = \frac{\alpha}{1 - \alpha} \quad (12)$$

Από τον παραπάνω τύπο διαπιστώνεται ότι η CE εξαρτάται μόνο από την κλίση  $\alpha$  του διαγράμματος, επομένως ο υπολογισμός της υπόκειται σε λιγότερα σφάλματα.

Οι τύποι (11) και (12) εφαρμόζονται και στα ευθύγραμμα τμήματα καμπυλών που ανήκουν σε άλλους τύπους διαγραμμάτων (π.χ. Bs) για μια απλή και γρήγορη εκτίμηση των παραμέτρων  $K_{1:1}$  και CE (πάντα για αναλογία guest:host 1:1) (**Brewster et al. 2007**).

Τα διαγράμματα διαλυτότητας, εφ' όσον πραγματοποιηθούν σε περισσότερες από μία θερμοκρασίες, μπορούν να επιτρέψουν τον προσδιορισμό των θερμοδυναμικών παραμέτρων που επηρεάζουν τον σχηματισμό του προϊόντος εγκλεισμού, σύμφωνα με την εξίσωση Van 't Hoff:

$$\ln K_c = - \frac{\Delta H}{R \cdot T} + \frac{\Delta S}{R} \quad (13)$$

Όπου,  $R$  : η παγκόσμια σταθερά των αερίων

$\Delta H$  : η μεταβολή της ενθαλπίας

$\Delta S$  : η μεταβολή της εντροπίας

$T$  : η απόλυτη θερμοκρασία

Εάν καταγραφούν σε ένα σύστημα αξόνων οι τιμές της σταθεράς  $K_c$  (άξονας τεταγμένων) και ο αντίστροφος λόγος των απόλυτων θερμοκρασιών  $1/T$  (άξονας τετμημένων) θα δημιουργηθεί μία γραφική παράσταση, γνωστή ως Van't Hoff, με τη μορφή ευθύγραμμης καμπύλης. Από την κλίση της καμπύλης ( $-\Delta H/R$ ) μπορεί να υπολογισθεί η  $\Delta H$  και από την τεταγμένη της ( $\Delta S/R$ ) η  $\Delta S$ . Αρνητικές τιμές της  $\Delta H$  υποδηλώνουν ότι ο εγκλεισμός είναι μία εξώθερμη διαδικασία, επομένως είναι αυθόρμητη. Το μέγεθός της αποτελεί ένδειξη των αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα, όπως οι υδρόφοβες εξ' αιτίας της απομάκρυνσης των μορίων νερού από την κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, η αύξηση των διαμοριακών δυνάμεων Van der Waals και ο σχηματισμός δεσμών -H. Αρνητικές τιμές της  $\Delta S$  σημαίνουν ένα καλά διατεταγμένο σύστημα και αποδίδονται στη μείωση των βαθμών ελευθερίας του προϊόντος εγκλεισμού συγκριτικά με τους βαθμούς των επιμέρους συστατικών του όταν αυτά βρίσκονται σε ελεύθερη κατάσταση.

Τέλος, ο υπολογισμός των  $\Delta H$  και  $\Delta S$  καθιστά δυνατό τον υπολογισμό της μεταβολής της ελεύθερης ενέργειας του Gibbs ( $\Delta G$ ) που προκύπτει λόγω των αλληλεπιδράσεων που συμβαίνουν κατά τον εγκλεισμό, από την ακόλουθη εξίσωση που συνδέει τις τρεις παραμέτρους (**Mourtzinis et al. 2007**):

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad (14)$$

## 1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη προϊόντων εγκλεισμού συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες. Συγκεκριμένα εξετάζονται δεκατρία προϊόντα εγκλεισμού. Στα εξεταζόμενα ξενιζόμενα μόρια (guests), περιλαμβάνονται ενώσεις για τις οποίες έχει αναπτυχθεί αυξημένο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια σε διάφορους τομείς και ιδιαίτερα στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς οι ιδιότητές τους επηρεάζουν την ποιότητα των τροφίμων, τη διατροφή και την υγεία των καταναλωτών. Τα μόρια αυτά ανήκουν σε ένα ευρύ φάσμα κατηγοριών ενώσεων: η χοληστερόλη από τα στεροειδή, η ναριγγενίνη από τα φλαβονοειδή, η καψαϊκίνη και η πιπερίνη από τα αλκαλοειδή, το αραχιδονικό, ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ από τα λιπαρά οξέα, το μυρκένιο από τα μονοτερπένια και η τυροσόλη από τις φαινόλες.

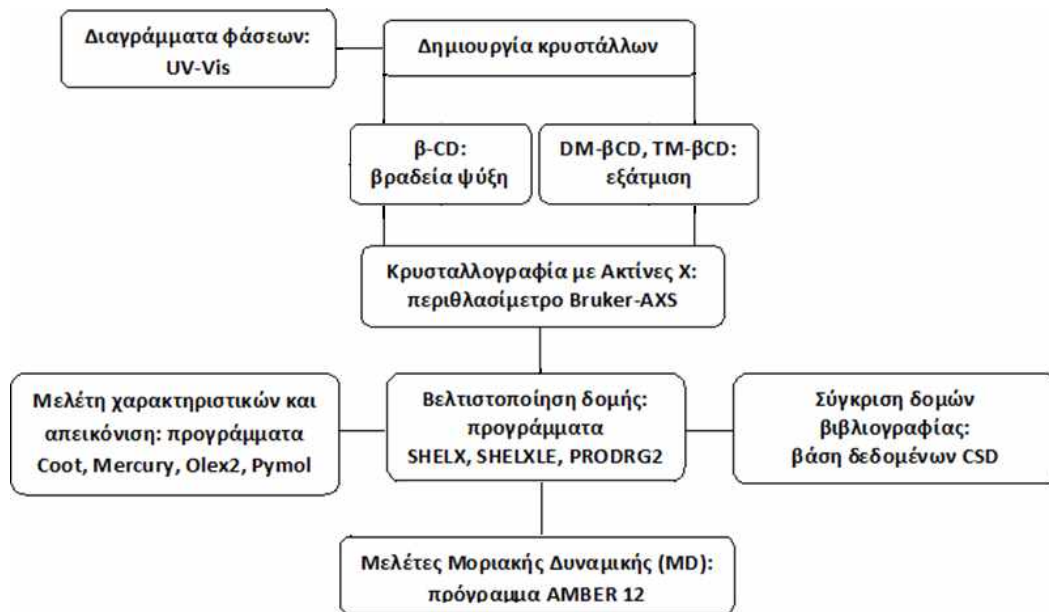
Ο εγκλεισμός τους πραγματοποιήθηκε και μελετήθηκε σε τρεις τύπους κυκλοδεξτρινών: την φυσική β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) και τις μεθυλιωμένες DM-β-CD και TM-β-CD. Η εξέταση προϊόντων εγκλεισμού σε διάφορους τύπους κυκλοδεξτρινών έχει ενδιαφέρον, καθώς ο εγκλεισμός των guest ποικίλει αναλόγως του host. Το μόριο της β-CD, όταν σχηματίζει σύμπλοκα εγκλεισμού, αποκτά μια «στιβαρή» και άκαμπτη δομή, δίνοντας την εικόνα κανονικού επταγώνου, με το μόριο του guest

τοποθετημένο συνήθως σε αξονική θέση (κάθετα) στο κέντρο της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης. Αντιθέτως, το μόριο της TM-β-CD είναι σαφώς πιο εύκαμπτο, με σχήμα ελλειπτικού επταγώνου, ενώ οι μεθυλίωσεις στο πρωτοταγές στόμιό της, δημιουργούν συνήθως ένα «καπάκι» που δεν επιτρέπει τον πλήρη εγκλεισμό του guest, με αποτέλεσμα συχνά να βρίσκεται τοποθετημένος σε ισημερινή θέση. Τέλος, το μόριο της DM-β-CD κατά τον σχηματισμό συμπλόκων εγκλεισμού παρουσιάζει μία ενδιάμεση εικόνα μεταξύ της β-CD και της TM-β-CD. Διατηρεί το επταγωνικό σχήμα κυρίως λόγω των ενδομοριακών δεσμών -H που αναπτύσσονται μεταξύ των ατόμων O3n...O2n+1 των γειτονικών μονάδων 2,6-δι-μεθυλιωμένης γλύκοκυρανόζης.

Επίσης, οι κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων αποκαλύπτουν ότι τα μόρια της β-CD συχνά σχηματίζουν χαρακτηριστικά διμερή «κεφαλής-κεφαλής», δηλαδή δύο διαδοχικά μόρια β-κυκλοδεξτρίνης (host A και host B) με τα δευτεροταγή στόμιά τους τοποθετημένα το ένα απέναντι από το άλλο, που συγκρατώνται με διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των ατόμων οξυγόνου O2n των δευτεροταγών υδροξυλίων του host A και με τα απέναντι άτομα O3n του host B. Από την άλλη, η μερική ή ολική μεθυλίωση των υδροξυλίων στις περιφέρειες των DM-β-CD και TM-β-CD αντίστοιχα, δεν επιτρέπει τη δημιουργία ανάλογων διαμοριακών δεσμών -H και επομένως παρόμοιων διμερών, με αποτέλεσμα η δευτεροταγής πλευρά του ενός μορίου συχνά να έχει απέναντί της την πρωτοταγή του άλλου (διαμόρφωση «κεφαλής-ουράς»).

Επιγραμματικά, το πειραματικό μέρος αποτελείται αρχικά από τη δημιουργία κρυστάλλων των προϊόντων εγκλεισμού και τη μελέτη της δομής τους με κρυσταλλογραφία ακτίνων -X. Ακολουθεί η επίλυση, βελτιστοποίηση και απεικόνιση των κρυσταλλικών δομών με υπολογιστικά προγράμματα και η σύγκριση τους με αντίστοιχες, παρομοίων χαρακτηριστικών, καταχωρημένες δομές από τη βάση δεδομένων CSD. Μελέτες Μοριακής Δυναμικής μέσω προσομοιώσεων επιτρέπουν την μελέτη της συμπεριφοράς των προϊόντων εγκλεισμού σε υδατικό περιβάλλον και την εκτίμηση των θερμοδυναμικών παραμέτρων του συστήματος. Επίσης, με τη δημιουργία Διαγραμμάτων Διαλυτότητας ερευνάται η περίπτωση της πιπερίνης σε υδατικά διαλύματα παρουσία τριών διαφορετικών host (β-CD, HP-β-CD και RM-β-CD) στην ίδια θερμοκρασία (25 °C) και η περίπτωση του μυρκενίου σε υδατικά διαλύματα του ίδιου host (β-CD) αλλά σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 35 και 45°C).

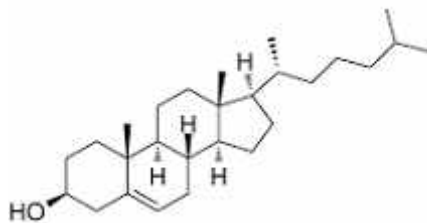
Το διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους απεικονίζεται στο **Σχήμα 1.5**.



Σχήμα 1.5. Διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

### 2.1. ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



Η Χοληστερόλη [(3β)-cholest-5-en-3-ol] είναι μία πολυκυκλική στεροειδής ένωση που συντίθεται στα κύτταρα των θηλαστικών και κατέχει σημαντικό ρόλο στη βιολογία ως απαραίτητο δομικό υλικό των κυτταρικών τοιχωμάτων, καθώς και ως πρόδρομη ένωση για τη βιοσύνθεση διαφόρων ενώσεων, όπως της βιταμίνης D, των χολικών οξέων και των στεροειδών ορμονών.

Εντούτοις, η κατανάλωση αυγών, κρέατος, γαλακτοκομικών προϊόντων και γενικότερα τροφίμων πλούσιων σε χοληστερόλη, έχει συνδυαστεί με την εμφάνιση πολλών ασθενειών, όπως είναι η αθηροσκλήρωση, η υπέρταση, η στεφανιαία νόσος, το έμφραγμα και το εγκεφαλικό επεισόδιο (**Berger et al. 2015**). Επιπλέον, σχετίζεται με την κληρονομική ασθένεια Niemann-Pick τύπου C (NPC) κατά την οποία συμβαίνει μη φυσιολογική συσσώρευση χοληστερόλης στα ενδολυσosomal σώματα και έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση συμπτωμάτων, όπως είναι ο προοδευτικός εκφυλισμός των νευρικών κυττάρων και η ηπατοσπληνομεγαλία, που συχνά προκαλούν το θάνατο σε νεαρή ηλικία (**Chang et al. 2005**). Καθώς είναι γνωστή η διαδικασία ανταλλαγής της χοληστερόλης μεταξύ των ιστών του σώματος, όπως επίσης και ο μηχανισμός μεταφοράς της, η ανάπτυξη συστημάτων μεταφοράς φαρμακευτικών ενώσεων (drug carriers) και παραγόντων απομάκρυνσης (removal agents) της χοληστερόλης για τον έλεγχο διαταραχών που σχετίζονται με αυτήν παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον (**Ikonen 2008**).

Η μελέτη των προϊόντων εγκλεισμού της χοληστερόλης με κυκλοδεξτρίνες επικεντρώνεται στην μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στα κύτταρα του οργανισμού και στα τρόφιμα.

Έτσι, η β-CD και τα τροποποιημένα παράγωγά της, όπως η DM-β-CD, η τυχαία μεθυλιωμένη RM-β-CD και η HP-β-CD συχνά χρησιμοποιούνται στη φαρμακευτική ως μεταφορείς για την απομάκρυνση της χοληστερόλης από τα κύτταρα (**Mahammad et al. 2015; Zidovetzki et al. 2007; Zimmer et al. 2016; Danthi et al. 2004**).]



Προσφάτως ερευνήθηκε η χρήση των κυκλοδεξτρινών ως θεραπευτικών παραγόντων για την ασθένεια NPC, για την οποία δεν υπάρχει ακόμα κάποια αποτελεσματική θεραπεία. Αποδείχθηκε ότι η χορήγηση HP-β-CD μείωσε σημαντικά τη συνάθροιση χοληστερόλης στα λυσοσώματα, μολονότι η αναγκαία δόση είναι μεγάλη και ενδεχομένως επιβλαβής και μπορεί να προκαλέσει το θάνατο των κυττάρων (Vance et al. 2011; Vance et al. 2014; Liu 2012). Από την άλλη, χρήση σουλφοβουτυλαιθερικών παραγώγων των β-CD και γ-CD έδειξαν αποτελεσματικότητα με αυξημένη ασφάλεια σε πειραματόζωα που έπασχαν από την ασθένεια NPC (Davidson et al. 2016). Επιπλέον, διάφορες υπερ-κατασκευές κυκλοδεξτρινών, όπως για παράδειγμα β-CD συνδεδεμένη με μονολακτόζη (Motoyama et al. 2017) ή με βιοδιασπώμενα πολυμερή (Tamura et al. 2014), καθώς επίσης HP-β-CD συνδεδεμένη με μυκήλια λιπιδίων προσδεμένα με πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG), είχαν θεραπευτικά αποτελέσματα και μειωμένη τοξικότητα (Brown et al. 2016).

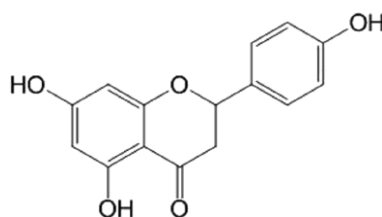
Η χοληστερόλη απαντάται, επίσης, σε αφθονία στα συσσωματώματα λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης και πιστεύεται ότι έχει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση ασθενειών, καθώς η αύξηση των επιπέδων της ευνοεί την είσοδο ιών στα κύτταρα, όπως ο SARS-Cov-2. Επομένως, η μείωση της χοληστερόλης μπορεί να περιορίσει την εκδήλωση της Covid-19 (Pawlos et al. 2021). Στο παρελθόν, η μείωση της χοληστερόλης με τη χρήση της RM-β-CD προκάλεσε σημαντική μείωση της παραγωγής αντιγράφων του SARS-Cov-1 από «μολυσμένα» κύτταρα (Li et al. 2007). Για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού μηχανισμού του οργανισμού κατά του SARS-Cov-2, ερευνητές επικεντρώνονται στον περιορισμό της σύνθεσης της χοληστερόλης με διάφορους τρόπους, όπως με τη χορήγηση στατινών (Shmidt et al. 2020).

Αλλά η πιο σημαντική εφαρμογή των κυκλοδεξτρινών αφορά την απομάκρυνση της χοληστερόλης από ζωικά προϊόντα. Καθώς οι καταναλωτές ενδιαφέρονται όλο και περισσότερο για τις διατροφικές συνήθειές τους, οι εταιρείες τροφίμων έχουν αναπτύξει πολλές τεχνικές προκειμένου να περιορίσουν τη χοληστερόλη, όπως είναι η εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, η υπερ-κριτική εκχύλιση με CO<sub>2</sub> ή η αποδόμησή της μέσω οξειδασών της χοληστερόλης. Όμως αυτές οι μέθοδοι παρουσιάζουν μειονεκτήματα καθώς δεν είναι εκλεκτικές, αφού εκτός της χοληστερόλης απομακρύνονται και άλλα συστατικά και επιπλέον απαιτείται ακριβός εξοπλισμός και έχουν υψηλό λειτουργικό κόστος (Sieber et al. 1993). Από την άλλη, προϊόντα όπως το γάλα (Alonso et al. 2009), το βούτυρο (Dias et al. 2010), το τυρί (Kwak et al. 2002) και τα αυγά (Jeong et al. 2014), μετά από κατάλληλη επεξεργασία με β-κυκλοδεξτρίνη παρουσίασαν μείωση της περιεκτικότητας σε χοληστερόλη ακόμα και σε ποσοστό άνω του 90%.

Στο παρελθόν αρκετές εργασίες μελέτησαν τη σύνδεση (Cloudy et al. 1991; Loftsson et al. 2002; Nishijo et al. 2003; dos Santos et al. 2011), τον τύπο εγκλεισμού (Ravichdran et al. 1998) και τη δυναμική συμπεριφορά του προϊόντος εγκλεισμού χοληστερόλης/β-CD μέσω προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής (Lopez et al. 2011; Yu et al. 2006; López et al. 2013), αλλά η κρυσταλλική

δομή απουσίαζε. Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκε η δομή και εξετάστηκαν τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της. Η κατανόηση της δομής μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη για την δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού με βελτιωμένες φαρμακευτικές ιδιότητες και την ανάπτυξη νέων θεραπειών για την καταπολέμηση ασθενειών. Επίσης, τα συμπεράσματα μπορεί να βρουν εφαρμογή και σε άλλες ενώσεις με δομή παρόμοια της χοληστερόλης, όπως είναι οι φυτικές στερόλες.

## 2.2. NAPIGGENINΗ



Η Ναριγγενίνη [(±)-2,3-διϋδρο-5,7-διϋδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλ)-4H-1-βενζοπυραν-4-όνη] ή (5,7-διϋδροξυ-2-(4-υδροξυφαινυλ)-χρωμαν-4-όνη] είναι το άγλυκο τμήμα της ναριγγίνης, ενός φλαβονοειδούς γλυκοζίτη που απαντάται κυρίως στα εσπεριδοειδή (Rao et al. 2017). Το μόριό της αποτελείται από δύο δακτυλίους χρωμόνης (AC) και έναν δακτύλιο φαινυλίου (B). Υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον στη χρήση της ναριγγενίνης στη βιομηχανία τόσο των τροφίμων όσο και των φαρμάκων, το οποίο οφείλεται στις πολλές θετικές για την υγεία επιδράσεις που παρουσιάζει, όπως αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, αντι-αθηροσκληρωτικές, αντι-οιστρογονικές και αντι-οξειδωτικές ιδιότητες (Patel et al. 2012; Zeng et al. 2018; Zaidun et al. 2018; Salehi et al. 2019). Επίσης, έχει αποδειχθεί η ικανότητά της να περιορίζει ή να παρεμποδίζει επιζήμιες μεταβολικές διεργασίες (Karim et al. 2018), όπως τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα του αίματος ή η δραστηκότητα του ιού της Ηπατίτιδας C.

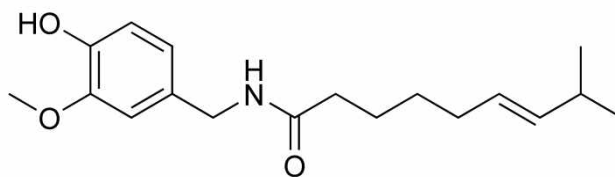
Οι Clementi et al. (2021) αναφέρουν ότι η ναριγγενίνη είναι πολύ αποτελεσματική στην παρεμπόδιση λοιμώξεων του ανθρώπου από την οικογένεια των κορωνοϊών και ειδικά στην περίπτωση του SARS-Cov-2 παρουσιάζει ισχυρή αντικική δράση. Πρόσφατες έρευνες θεωρούν ότι ορισμένα φλαβονοειδή και ανάμεσά τους η ναριγγενίνη, ενδέχεται να δρουν ως παρεμποδιστές της κύριας πρωτεάσης του SARS-Cov-2. Οι ερευνητές «στοχεύουν» στις πρωτεάσες των ιών, καθώς έχουν εξέχοντα ρόλο στη διαδικασία δημιουργίας των αντιγράφων τους. Μελέτες μοριακού ελλιμενισμού (molecular docking) έδειξαν ότι η ναριγγενίνη έχει την δυνατότητα να συνδέεται με την πρωτεάση 3CLpro του κορωνοϊού και κατά συνέπεια να παρεμποδίζει τη δράση της. Αντίστοιχες,

επίσης, μελέτες δείχνουν ότι η ναριγγενίνη συνδέεται με τους υποδοχείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης 2 (ACE2) που βρίσκεται στη μεμβράνη των κυττάρων διαφόρων οργάνων του ανθρώπου, με τους οποίους συνδέεται και ο SARS-Cov-2 για να εισέλθει στα κύτταρα (**Tutunchi et al. 2020**). Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός, είναι η ικανότητά της να παρεμποδίζει τη λειτουργία κυτταρικών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, που είναι γνωστές ως ιονικοί διάυλοι δύο πόρων (two pore ionic channels - TPC). Η λειτουργία των TPC επιτρέπει στα βιομόρια που απελευθερώνει ο ιός να κυκλοφορήσουν στο εσωτερικό του κυττάρου προτού προλάβουν να δράσουν τα λυσοσώματα (όργανα που περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα) του τελευταίου. Αντιθέτως, η παρεμπόδιση της λειτουργίας των διαύλων TPC ευνοεί τη δράση των λυσοσωμάτων και την έγκαιρη αποδόμηση των μορίων του «εισβολέα» προτού ξεκινήσει η διαδικασία αντιγραφής του. Η προσκόλληση της ναριγγενίνης στους διαύλους TPC περιόρισε τη δράση άλλων κορωνοϊών στο παρελθόν, όπως οι SARS-Cov-1 και MERS-Cov και φαίνεται ότι το ίδιο ισχύει και με τον SARS-Cov-2 (**Alberca et al. 2020**). Όλα τα παραπάνω αναδεικνύουν τη ναριγγενίνη σε μία υποσχόμενη επιλογή για την αντιμετώπιση της Covid-19.

Από την άλλη, ο χαμηλός χρόνος ημίσειας ζωής, η χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και η χαμηλή σταθερότητά της, περιορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα καθώς και τις ενδεχόμενες εφαρμογές της. Ο μικρο-εγκλεισμός της ναριγγενίνης μέσα σε κυκλοδεξτρίνες αποτελεί έναν τρόπο να υπερνικηθούν τα παραπάνω προβλήματα (**Sangpheak et al. 2015; Shulman et al. 2011**).

Προϊόντα εγκλεισμού της ναριγγενίνης σε φυσικές και τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες έχουν μελετηθεί εκτενώς με φασματοσκοπία UV-Vis και FT-IR (**Yang et al. 2013; Xu et al. 2014**) και δομικά με διάφορες τεχνικές, όπως φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance - NMR), περίθλαση ακτίνων -X (X-Ray diffraction - XRD), διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry - DSC), θερμοβαρμετρική ανάλυση (Thermal Gravimetric Analysis - TGA) και ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy - SEM) (**Semalty et al. 2014; Wen et al. 2010**). Επίσης, έχουν παρουσιασθεί μελέτες μοριακού ελλιμενισμού (molecular docking), αλλά και προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (**Sangpheak et al. 2014; Sangpheak et al. 2015**) με σκοπό να εξετασθεί η δυναμική συμπεριφορά τους σε υδατικό περιβάλλον. Εν τούτοις, οι κρυσταλλικές δομές τους απουσιάζουν από τη βιβλιογραφία. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της περίθλασης ακτίνων -X σε κρυστάλλους που προκύπτουν κατά τον εγκλεισμό της ναριγγενίνης σε DM-β-CD και TM-β-CD.

### 2.3. ΚΑΨΑΪΚΙΝΗ



Η καψαϊκίνη (8-μεθυλο-N-βανίλλυλο-6-εννεαμίδιο) ανήκει στην οικογένεια των αλκαλοειδών και είναι λιποδιαλυτή, άοσμη και με εξαιρετικά καυστική γεύση. Βρίσκεται σε σημαντικές ποσότητες στους καρπούς των φυτών της οικογένειας των Καψικοειδών (*Capsicum*), όπως είναι η πιπεριά (Hayman et al. 2008; Adaszek et al. 2019).

Προκαλεί την αίσθηση καψίματος όταν έρχεται σε επαφή με τους ιστούς των θηλαστικών. Βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στους φυτικούς ιστούς που συγκρατούν τους σπόρους των καρπών και πιθανόν δρα ως παράγων αποτροπής των φυτοφάγων ζώων. Η δράση της οφείλεται στο γεγονός ότι ενεργοποιεί κατάλληλους υποδοχείς στα νεύρα που προκαλούν την αίσθηση της ζέστης και της καυστικότητας. Κατά το επόμενο στάδιο, τα νεύρα δεν αντιδρούν στην υπερβολική ζέστη και τους χημικούς ερεθισμούς, οπότε χάνουν την ικανότητα να μεταδίδουν νευρικά σήματα και φλεγμονές. Αυτή η διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα η καψαϊκίνη να βρίσκει εφαρμογή στην παρασκευή αναλγητικών και αντιφλεγμονωδών σκευασμάτων. Βρίσκει, επίσης, πολλές κλινικές εφαρμογές για την καταπολέμηση μακροχρόνιων πόνων, του κνησμού, του πονόλαιμου, της μυοκαρδιακής ισχαιμίας, του βήχα και τη δυσκολίας στην κατάποση, αλλά και για την προστασία του γαστρικού συστήματος, την υπερλειτουργία της ουροδόχου κύστεως και την ανάρρωση μετά από συμπτώματα ναυτίας και εμέτου (Hayman et al. 2008). Επίσης, συνεισφέρει στην καταπολέμηση της παχυσαρκίας και στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης, ενώ αποτελεί σημαντικό δείκτη της ποιότητας των πιπεριών τσίλι. (Huang et al. 2019).

Επηρεάζει τη ρύθμιση της θερμοκρασίας (thermoregulation) και το μεταβολισμό των λιπαρών ιστών (σύνδρομο αδυνατίσματος) και χαρακτηρίζεται από αντι-οξειδωτικά, υποτασικά και αντικαρκινικά αποτελέσματα. Η διαιτητική καψαϊκίνη επίσης προστατεύει από δυσλειτουργίες των καρδιομεταβολικών οργάνων. Όταν χορηγείται στο στομάχι τρωκτικών παρεμποδίζει την έκκριση γαστρικών οξέων, ενώ με ενδοφλέβια ένεση στις γάτες προκαλεί πνευμονική αντίδραση με συμπτώματα ασθενούς αναπνοής, βραδυκαρδίας και υπότασης. Από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια, φαίνεται ότι η κατανάλωση καψαϊκίνης ενδεχομένως να έχει προληπτική επίδραση στη νόσο Αλτσχάιμερ (Alzheimer).

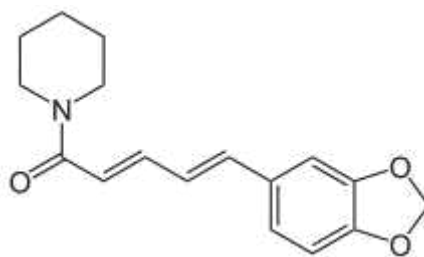
Τέλος, η καψαϊκίνη έχει αντιβακτηριακές και αντι-ικές ιδιότητες. Η δράση της έχει επιβεβαιωθεί σε σχέση με βακτήρια, όπως *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Helicobacter pylori* και *Streptococcus pyogenes*. Η χορήγηση καψαϊκίνης στη δίαιτα νεοσσών κοτόπουλων και ελαιορητίνης της καψαϊκίνης σε πτηνά έδειξαν ότι είχαν ως αποτέλεσμα τη μείωση των περιστατικών μόλυνσης από σαλμονέλλα. Παρομοίως, στα ινδικά χοιρίδια η χορήγηση cis-καψαϊκίνης έδειξε προστασία από την ανάπτυξη δερματικών εξανθημάτων λόγω έρπητα (*herpes simplex virus - HSR*), ενώ σε χρόνιες επιμολύνσεις η εφαρμογή του αλκαλοειδούς μείωσε σημαντικά τον χρόνο ανάρρωσης (**Adaszek et al. 2019**).

Η καψαϊκίνη χρησιμοποιείται επίσης ως συστατικό εντομο-απωθητικών ή/και βιοχημικό εντομοκτόνο στη γεωπονία εξ' αιτίας της αποτελεσματικότητάς της σε μια πληθώρα εντόμων, κάτι που είναι αρκετά ενδιαφέρον καθώς η παρουσία φυτοπροστατευτικών υπολειμμάτων στο περιβάλλον αποτελεί ενδεχόμενο κίνδυνο για την υγεία, αφού μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος, διάρροια και έμετο (**Shen et al. 2012**).

Στον άνθρωπο, ο υποδοχέας παροδικού δυναμικού (transient potential receptor) TRP vanilloid 1 (TRPV1) είναι γνωστός υποδοχέας της καψαϊκίνης και η κύρια λειτουργία του είναι η καταγραφή και ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος, λειτουργώντας ως «αισθητήρας» του οξειδωτικού στρες. Ενεργοποιείται με διάφορους τρόπους, μεταξύ άλλων από καυστικές ενώσεις και συστατικά τροφίμων, όπως είναι η καψαϊκίνη. Η αύξηση των εκκρίσεων του TRPV1 στον οργανισμό συνδέεται με μια σειρά από συμπτώματα του Covid-19, όπως βήχας, απόφραξη της ρινικής κοιλότητας, πόνος, έμετος, διάρροια και σε ορισμένες περιπτώσεις απότομη και ισχυρή απώλεια όσφρησης και γεύσης. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η παροχή καψαϊκίνης στο διαιτολόγιο ασθενών της Covid-19 «αναισθητοποιεί» τον TRPV1 και συνεισφέρει στην ανακούφιση ορισμένων συμπτωμάτων της ασθένειας, όπως είναι ο βήχας και ο πυρετός (**Bousquet et al. 2021**).

Όμως όλες οι προαναφερόμενες εφαρμογές και τα οφέλη της καψαϊκίνης, περιορίζονται λόγω της πολύ χαμηλής υδατοδιαλυτότητάς της. Η επίσης χαμηλή αφομοίωση στο ήπαρ έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα της καψαϊκίνης στον ανθρώπινο οργανισμό. Επιπροσθέτως, ανεπιθύμητες ιδιότητες, όπως η υψηλή καυστικότητα και ο έντονος ερεθισμός, περιορίζουν τη χορήγηση της καψαϊκίνης από το στόμα και κατά συνέπεια τις πολλές ενδεχόμενες θεραπευτικές εφαρμογές και γενικότερα την χρήση της στην πράξη (**Zhao et al. 2016; Venkataswamy et al. 2019**). Επομένως, είναι σημαντική η εφαρμογή μεθόδων για τη βελτίωση της διαλυτότητας και σταθερότητάς της στο νερό (**Shen et al. 2012**). Για να επιτευχθεί αυτό, όπως άλλωστε συμβαίνει και με άλλα υδρόφοβα μόρια, απαιτείται η χρήση τασιενεργών ενώσεων, οργανικών διαλυτών ή η δημιουργία προϊόντων εγκλεισμού. Τα προϊόντα εγκλεισμού πλεονεκτούν, καθώς δεν απαιτείται η χρήση οργανικών διαλυτών και αποφεύγονται τα μειονεκτήματα που προκύπτουν λόγω παρεντερικών επιπλοκών που παρατηρούνται κατά την εφαρμογή των τασιενεργών ενώσεων (**Couto et al. 2020**).

## 2.4 ΠΙΠΕΡΙΝΗ



Η πιπερίνη [(2E,4E)-5-(2H-1,3-βενζοδιοξολ-5-υλ)-1-(πιπεριδιν-1-υλ)πεντα-2,4-διεν-1-όνη] είναι ένα κίτρινο κρυσταλλικό αλκαλοειδές με χαρακτηριστική καυστική γεύση που απαντάται κυρίως στο μαύρο πιπέρι (*Piper Nigrum*). Το μόριό της ουσιαστικά προκύπτει από την ένωση δύο μορίων: α) της πιπεριδίνης, ενός εξαμελούς ετεροκυκλικού δακτυλίου που περιέχει ένα άτομο αζώτου και β) του πιπερικού οξέος που αποτελείται από μία συζυγή ανθρακική αλυσίδα που καταλήγει σε ένα σύστημα δύο δακτυλίων (έναν αρωματικό και έναν πενταμελή 1,3-διοξολίου) που αποκαλείται 1,3-βενζοδιοξόλιο (1,3-benzodioxole).

Γενικά, παρουσιάζει διάφορες ιδιότητες με ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία των τροφίμων και της φαρμακευτικής, όπως για παράδειγμα αντιμολυσματικές, αντικαταθλιπτικές, αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντι-οξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα να γίνεται προσπάθεια τα τελευταία χρόνια προκειμένου να αναβαθμισθεί ο ρόλος της (**Debnath et al. 2020; Alshehri et al. 2018; Liu et al. 2020**). Από την άλλη, μία ενδεχόμενη εφαρμογή της πιπερίνης στην παρασκευή λειτουργικών τροφίμων είναι περιορισμένη επειδή είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό και ασταθής στο υπεριώδες φως (**Ezawa et al. 2016**).

Η πιπερίνη χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή Κινέζικη και Ινδική ιατρική και φαρμακευτική. Εφαρμόζεται ευρέως στην καταπολέμηση του πόνου, του κρυώματος, της ρευματικής αρθρίτιδας, της γρίπης και του πυρετού. Έχει αναφερθεί επίσης, ότι ενισχύει την κυκλοφορία του αίματος, της σιελόρροιας και του ερεθισμού της όρεξης. Κατέχει ένα πολύπλευρο βιολογικό ρόλο που περιλαμβάνει την καταπράυνση του πόνου και του έλκους και την καταπολέμηση της υπότασης, ενώ της έχει αποδοθεί και εντομο-απωθητική δράση. Επιπλέον, αυξάνει την απορροφητικότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα πολλών χημικών ενώσεων με φαρμακευτική δράση. Έχει αναφερθεί η εφαρμογή της για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας φαρμάκων κατά της φυματίωσης. Συμβάλει στην διαδικασία της πέψης και θεωρείται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτικό φάρμακο σε θεραπείες που σχετίζονται με την καταπολέμηση της παχυσαρκίας (**Tiwary et al. 2020**). Επηρεάζει, επίσης, τη δράση διαφόρων ενζύμων αποτρέποντας με αυτό τον τρόπο την έναρξη αρνητικών βιολογικών διεργασιών και ασθενειών (**Stojanović-Radić et al. 2019**).

Τέλος, προσομοιώσεις με το ηλεκτρονικό πρόγραμμα Molegro Virtual Docker (MVD-3.0.0) που χρησιμοποιείται για μελέτες μοριακού ελλιμενισμού, έδειξαν ότι η πιπερίνη συγκαταλέγεται στα φυσικά προϊόντα που παρουσιάζουν σημαντική τάση για πρόσδεση τόσο με την γλυκοπρωτεϊνική ακίδα του SARS-Cov-2, όσο και με τον αντίστοιχο κυτταρικό υποδοχέα της. Επομένως, παρεμποδίζει την σύνδεση του ιού με τα κύτταρα, αποτελώντας έναν ασφαλή και αποτελεσματικό τρόπο καταπολέμησης του Covid-19 (Maurya et al. 2020).

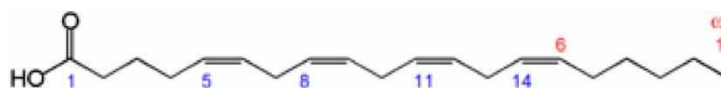
Ο εγκλεισμός της πιπερίνης σε β-CD ή άλλες φυσικές κυκλοδεξτρίνες έχει μελετηθεί με διάφορες μεθόδους με σκοπό να εξετασθούν οι φυσικο-χημικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος. Ενδεικτικά αναφέρονται η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, η θερμοβαρυμετρία, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, η περίθλαση σκόνης με ακτίνες X (Powder X-Ray Diffraction - PXRD), η φασματομετρία (φθορισμού, FTIR, NIR, Raman, NMR). Η στοιχειομετρία και η αποτελεσματικότητα της σύνδεσης μεταξύ πιπερίνης και κυκλοδεξτρίνης, καθώς και το πώς επηρεάζεται η διαλυτοποίηση της πιπερίνης εκτιμήθηκαν με τη λήψη διαγραμμάτων (διαγράμματα διαλυτότητας και Job's plot) και με δοκιμές διαλυτοποίησης (Ezawa et al. 2016; Ezawa et al. 2018; Ezawa et al. 2019; Quilaqueo et al. 2019). Παρόλη όμως την εκτεταμένη έρευνα μόνο υποθέσεις έχουν γίνει για την κρυσταλλική δομή του προϊόντος Pip/β-CD. Επιπλέον, για αντίστοιχες δομές Pip/DM-β-CD και Pip/TM-β-CD δεν έχει προηγηθεί κάποια δημοσιευμένη έρευνα.

## 2.5. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον και η έρευνα των λιπαρών οξέων, λόγω των ιδιοτήτων που τους έχουν αποδοθεί και οι οποίες σχετίζονται με την υγεία. Υπάρχουν ορισμένα λιπαρά οξέα που ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να συνθέσει και χαρακτηρίζονται μη απαραίτητα (π.χ. το ελαϊκό οξύ), ενώ κάποια άλλα δεν μπορεί να τα συνθέσει (π.χ. αραχιδονικό και λινελαϊκό οξύ) οπότε καλούνται απαραίτητα και λαμβάνονται μέσω της τροφής (Sales-Campos et al. 2013).

### 2.5.1. Αραχιδονικό οξύ

Το αραχιδονικό οξύ (cis-5,8,11,14-εικοσιτετρανοϊκό οξύ) είναι ένα πολυ-ακόρεστο ωμέγα-6 λιπαρό οξύ, που αποτελείται από μία ανθρακική αλυσίδα 20 ατόμων και τέσσερεις cis- διπλούς δεσμούς (C20:4, ω-6). Αν και δομικά παρόμοιο με το κορεσμένο αραχιδικό οξύ (C20:0) που απαντάται στην αραχίδα (αράπικο φυστίκι), δεν περιέχεται στο αραχιδέλαιο (Chandrasekharan et al. 2016).



Ανήκει στα ωμέγα λιπαρά οξέα, τα οποία παρουσιάζουν ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον στη φαρμακευτική, στη γεωπονία αλλά και στα τρόφιμα, λόγω των ποικίλων υγιεινών και λειτουργικών ιδιοτήτων τους (**Chang et al. 2018**). Θεωρούνται απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, καθώς ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να τα συνθέσει, οπότε η πρόσληψή τους γίνεται μόνο μέσω της διατροφής (**Harauma et al. 2017**). Ο άνθρωπος προσλαμβάνει το αραχιδονικό οξύ είτε μέσω τροφών που περιέχουν υψηλά ποσοστά του, όπως τα ολόκληρα αυγά, ο σολωμός, ο τόνος και τα άπαχα κρέατα, είτε από τη μετατροπή του λινελαϊκού οξέος (C18:2, ω-6) που είναι άφθονο στα φυτικά έλαια, όπως το σογέλαιο και το ηλιέλαιο (**Hanna et al. 2018**).

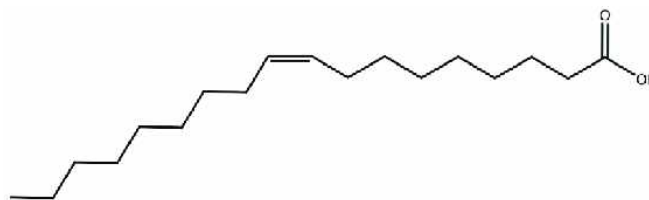
Τα φωσφολιπίδια των κυττάρων των θηλαστικών είναι πλούσια σε αραχιδονικό οξύ, καθώς το τελευταίο ενσωματώνεται σε αυτά. Με αυτό τον τρόπο, αποτελεί δομικό συστατικό των κυττάρων και θεωρείται απαραίτητο συστατικό, ιδιαίτερα κατά τη φάση της ανάπτυξης των θηλαστικών.

Επιπλέον, παίζει σημαντικό ρόλο σε περιπτώσεις τραυματισμών και σοβαρής ή εκτεταμένης καταστροφής των κυττάρων, καθώς συμμετέχει στον μηχανισμό της δημιουργίας φλεγμονής (**Tallima et al. 2018**). Πρόκειται για μία αντίδραση των οργανισμών σε κυτταρικό επίπεδο όταν αντιλαμβάνονται ως «εχθρική» την παρουσία εσωτερικών ή εξωτερικών παραγόντων, η οποία είναι επωφελής μεν όταν θεραπεύει έναν τραυματισμένο ιστό, επιζήμια δε όταν καθίσταται ανεξέλεγκτη (**Chandrasekharan et al. 2016**).

Επιπρόσθετα, ο μικρο-εγκλεισμός του αραχιδονικού οξέος είναι ένας τρόπος να διατηρηθούν και/ή να βελτιωθούν τα βιολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά, καθώς το συγκεκριμένο οξύ «κουβαλάει» όλα τα προβλήματα που έχουν τα ωμέγα-6 λιπαρά οξέα παρά την αφθονία τους στη φύση, δηλαδή: α) δυσκολία εκ μέρους του καταναλωτή να προσλάβει την απαιτούμενη ημερήσια προσλαμβανόμενη δόση, β) τεχνικές δυσκολίες κατά την παραγωγή, μεταφορά και αποθήκευση, γ) χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα και δ) οξείδωση λόγω πολυ-ακορεστότητας προς ελεύθερες ρίζες, προσδίδοντας άσχημη γεύση-οσμή, με αποτέλεσμα να επηρεάζονται η διάρκεια ζωής, οι οργανοληπτικές ιδιότητες και η γενικότερη αποδοχή του προϊόντος (**Chang et al. 2018**).



### 2.5.2. Ελαϊκό οξύ



Το ελαϊκό οξύ (cis-9-δεκαοκτενοϊκό οξύ) είναι το πλέον κοινό μονο-ακόρεστο οξύ στην ημερήσια διατροφή. Δεν απαντάται μόνο στο ελαιόλαδο, αλλά και σε άλλα φυτικά έλαια, όπως στα υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ σογιέλαιο και κραμβέλαιο, σε ξηρούς καρπούς, φρούτα (αβοκάντο) και ορισμένα ζωικά προϊόντα (μοσχαρίσιος κιμάς, χοιρινό κρέας, αυγά). Το ελαϊκό οξύ ρυθμίζει την κατανάλωση φαγητού, το σωματικό βάρος και την κατανάλωση ενέργειας του οργανισμού, οπότε δίαιτες πλούσιες σε ελαϊκό οξύ συνεισφέρουν στη διαχείριση και την καταπολέμηση της παχυσαρκίας (**Tutunchi et al. 2020**).

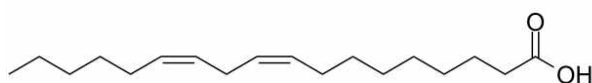
Η συνεισφορά του ελαιολάδου στην υγεία αποδίδεται εν μέρει και στην υψηλή περιεκτικότητά του σε ελαϊκό οξύ, η οποία οδηγεί σε πτώση των επιπέδων χοληστερόλης, του αθηροσκληρωτικού κινδύνου, της πίεσης του αίματος και, ως επακόλουθο, της λήψης αντι-υπερτασικών φαρμάκων. Επιπλέον, παρουσιάζει την ικανότητα να ενισχύει την διείσδυση ενώσεων στον οργανισμό διαμέσου του δέρματος και γενικά περιορίζει την αντίδραση του οργανισμού έναντι στα μοσχεύματα. Επίσης, το ελαϊκό οξύ σχετίζεται με αντιφλεγμονώδη δράση σε αυτο-άνοσες ασθένειες, στην προστασία κατά του καρκίνου του μαστού και γενικότερα στη βελτίωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος (**Abe et al. 1995; Sales-Campos et al. 2013**).

Ο Ευρωπαϊκός Φορέας Ασφάλειας Τροφίμων (European Safety Food Authority - EFSA) το 2011 γνωμοδότησε ότι η αντικατάσταση στη διατροφή κορεσμένων λιπαρών από ακόρεστα λιπαρά, όπως το ελαϊκό, συμβάλλει στη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα. Η Ευρωπαϊκή Ένωση ενέταξε τον παραπάνω ισχυρισμό υγείας για το ελαϊκό οξύ, με την προϋπόθεση ότι αποτελεί τουλάχιστον το 45 % των λιπαρών οξέων του προϊόντος και υπό τον όρο ότι το συγκεκριμένο οξύ παρέχει περισσότερο από το 20 % της ενέργειας του προϊόντος (**EFSA Scientific opinion 9(4);2043; Reg. (EU) 432/2012**).

Επίσης, το ελαϊκό οξύ παρουσιάζει την ικανότητα να ενισχύει την διείσδυση ενώσεων στον οργανισμό διαμέσου του δέρματος. Όμως η περιορισμένη υδατοδιαλυτότητά του, ειδικά στο βλεννογόνο, όπως και η ευκολία με την οποία οξειδώνεται, αποτελούν πρόβλημα και περιορίζουν την ενισχυτική δράση του. Πολλές προσπάθειες έλαβαν χώρα για να υπερνικηθούν αυτά τα

προβλήματα, συμπεριλαμβανομένου της χρήσης μυκηλίων λιπαρών οξέων με τασιενεργές ενώσεις ή χολικών αλάτων που κατέληξαν σε σημαντική αύξηση της απορρόφησής του. Για παράδειγμα, η δημιουργία προϊόντος εγκλεισμού ελαϊκού οξέος και HP-β-CD αποτελεί έναν αποτελεσματικό και ασφαλή τρόπο για την προώθηση και την απορρόφηση μέσω της ρινικής κοιλότητας κατάλληλης φαρμακευτικής δραστικής ένωσης (budeselin), η οποία χρησιμοποιείται κυρίως για την θεραπεία του καρκίνου του προστάτη και της ενδομητρίωσης (Abe et al. 1995).

### 2.5.3. Λινελαϊκό οξύ



Το λινελαϊκό οξύ (cis,cis-9,12-δεκαοκταδιενοϊκό οξύ) είναι ένα πολύ-ακόρεστο ω-6 λιπαρό οξύ, που συγκαταλέγεται στα απαραίτητα λιπαρά οξέα, καθώς δεν μπορεί να τα συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός. Πηγές του είναι τα διάφορα φυτικά έλαια και κυρίως το καρδαμέλαιο (safflower oil), το ηλιέλαιο, το αραβοσιτέλαιο, το σογέλαιο, όπως επίσης το σουσάμι και τα αμύγδαλα. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις περιέχεται επίσης στο κραμβέλαιο, στο φυστικέλαιο και στο ελαιόλαδο.

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι η πλειονότητα των ανθρώπων καταναλώνει σημαντικές ποσότητες του οξέος και μάλιστα με αυξητική τάση τα τελευταία χρόνια λόγω της ολοένα υψηλότερης κατανάλωσης σπορελαίων πλούσιων σε λινελαϊκό οξύ. Δίαιτες πολύ πλούσιες σε λινελαϊκό οξύ και παράλληλα πολύ φτωχές σε ω-3 λιπαρά οξέα έχουν θεωρηθεί υπεύθυνες για την εκδήλωση χρόνιων φλεγμονών, υπέρτασης, θρομβώσεων, αύξησης του κινδύνου καρδιακής προσβολής και εγκεφαλικού. Επίσης, επιβραδύνουν τον ρυθμό μεταβολισμού των, ωφέλιμων για την υγεία, ω-3 λιπαρών οξέων (α-λινολενικού, εικοσιπενταενοϊκού και εικοσιδυοεξαενοϊκού οξέος) (Kaur et al. 2014).

Ωστόσο, σύμφωνα με τους Li et al. (2020) δεν υπάρχει άμεση σύνδεση της πρόσληψης λινελαϊκού οξέος με τις καρδιο-αγγειακές ασθένειες, τον καρκίνο και τη θνησιμότητα. Θεωρούν ότι προκύπτουν αμφιβολίες σχετικά με τα ευρήματα ορισμένων διατροφικών μελετών αναφορικά με την αρνητική επίδραση της κατανάλωσης λινελαϊκού οξέος, καθώς αρκετές φορές στηρίζονται σε προσωπικές υποθέσεις που ενδεχομένως να είναι εσφαλμένες. Μάλιστα μετά από σύγκριση της βιβλιογραφίας διαπίστωσαν ότι σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενειών, όπως η στεφανιαία νόσος, το λινελαϊκό έχει ευεργετικότερα αποτελέσματα συγκριτικά με τα κορεσμένα ή μονο-ακόρεστα λιπαρά οξέα.

Οι λιπαρές ύλες έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση της στεφανιαίας αρτηριακής νόσου, επειδή η κατανάλωση τους συνεπάγεται την αύξηση της συγκέντρωσης χοληστερόλης που μεταφέρεται με τη κυκλοφορικό σύστημα μέσω των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (low density lipoproteins - LDL). Παρ' όλα αυτά επηρεάζουν και την χοληστερόλη που μεταφέρεται μέσω των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (high density lipoproteins – HDL), με το λόγο της συνολικής χοληστερόλης προς την HDL χοληστερόλη (t-cholesterol:HDL-cholesterol) να αποτελεί σημαντικό και ευαίσθητο δείκτη για την πιθανότητα εκδήλωσης της στεφανιαίας αρτηριακής νόσου, περισσότερο κρίσιμο από ό,τι η συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης (**Mensink et al. 2003**).

Μετά από επεξεργασία των δεδομένων που προέκυψαν από 60 δοκιμές στη δίαιτα εθελοντών από διάφορα κράτη και οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε βάθος χρόνου, διαπιστώθηκε ότι τα φυτικά έλαια που είναι πλούσια σε cis ακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το ελαιόλαδο, το κραμβέλαιο, το σογέλαιο και το ηλιέλαιο μειώνουν τον λόγο t-cholesterol:HDL-cholesterol και, επομένως, τον κίνδυνο εκδήλωσης ασθένειας. Επιπλέον, τα πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως το λινελαϊκό οξύ (C18:2) έδειξαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τα μονο-ακόρεστα, αν και η μεταξύ τους διαφορά ήταν μικρή (**Mensink et al. 2003**). Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι **Goyens et al. (2005)** σε αντίστοιχες δοκιμές.

Μάλιστα ο Ευρωπαϊκός Φορέας Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority - EFSA) στηριζόμενος στις παραπάνω μελέτες γνωμοδότησε υπέρ του ισχυρισμού ότι «το λινελαϊκό οξύ συμβάλλει στη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα». Ως επακόλουθο, η Ευρωπαϊκή Ένωση υιοθέτησε τον παραπάνω ισχυρισμό με τη προϋπόθεση ότι αφορά τρόφιμα που περιέχουν τουλάχιστον 1,5 g λινελαϊκού οξέος (LA) ανά 100 g και ανά 100 kcal και ότι ο καταναλωτής εξασφαλίζει τα ευεργετικά αποτελέσματα με ημερήσια πρόσληψη 10 g LA (**Reg. (EU) 432/2012; EFSA scientific opinion 7(9);1276**).

Το λινελαϊκό οξύ, όπως άλλωστε και τα λιπαρά οξέα γενικότερα, χαρακτηρίζεται από ελάχιστη διαλυτότητα στο νερό, χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, ενώ επίσης οξειδώνεται εύκολα. Ορισμένα προϊόντα οξείδωσης (degradation) του λινελαϊκού οξέος, τα οποία δημιουργούνται σε διάφορες θερμοκρασίες παρουσία αέρα και υγρασίας, παίζουν σημαντικό ρόλο στην υγεία του ανθρώπου και μπορεί να θεωρηθούν υπεύθυνα για μια σειρά ασθενειών, όπως για παράδειγμα η νεοπλασία (**Hădărugă et al. 2006**). Επομένως, η «προστασία» του με ενδεχόμενο εγκλεισμό σε κυκλοδεξτρίνες θα μπορούσε να βελτιώσει τα παραπάνω μειονεκτήματα.

#### 2.5.4. Λιπαρά οξέα και Covid-19

Ορισμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα τα ακόρεστα, όπως το αραχιδονικό, το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ, αλλά και οι μεταβολίτες τους, λειτουργούν ως ενδογενείς αντι-ικοί παράγοντες παρουσιάζοντας αποτελεσματική δράση στην αδρανοποίηση διαφόρων τύπων ιών, όπως του έρπητα και της γρίπης και επομένως πιστεύεται ότι μπορούν να συμβάλλουν στην καταπολέμηση του Covid-19 (Shoieb et al. 2020; Goc et al. 2021).

Ο SARS-CoV-2 εισβάλλει στα ανθρώπινα κύτταρα μέσω σύνδεσης της πρωτεϊνικής ακίδας του με έναν υποδοχέα που βρίσκεται στην επιφάνεια των κυττάρων, το μετατρεπτικό ένζυμο-2 της αγγειοτασίνης (ACE2). Τα λιπαρά οξέα έχουν την ικανότητα να συνδέονται με την πρωτεϊνική ακίδα του ιού, παρεμποδίζοντας τη σύνδεση ιού-ACE2. Κατά την εξέταση αυτής της ικανότητας των λιπαρών οξέων, φάνηκε ότι τα πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα είχαν τα καλύτερα αποτελέσματα, με το λινελαϊκό οξύ να συγκαταλέγεται στα κορυφαία, με την παρεμπόδιση σε συγκεκριμένη συγκέντρωση (2,5mg/mL), να φθάνει το 100%. Όσον αφορά τα μονο-ακόρεστα λιπαρά οξέα, στην ίδια πάντα έρευνα και στην ίδια συγκέντρωση, το ελαϊκό εμφάνισε την μεγαλύτερη παρεμπόδιση, με ποσοστό περίπου 92% (Goc et al. 2021).

Ειδικά για την οικογένεια των κορωνοϊών, το μονοπάτι μεταβολισμού από το λινελαϊκό προς το αραχιδονικό οξύ έχει χαρακτηριστεί σημαντικό για τον επανασχεδιασμό των λιπιδίων. Θεωρείται ότι η δέσμευση του λινελαϊκού οξέος από τον κορωνοϊό προκαλεί έναν μηχανισμό που ενδεχομένως οδηγεί σε απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και σε φλεγμονή (Toelzer et al. 2020).

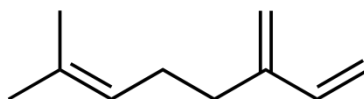
Ομοίως μελέτες που αφορούν το ελαϊκό οξύ, έχουν δείξει ότι συγκαταλέγεται στις λιπαρές ενώσεις με έντονη αντιφλεγμονώδη και ευεργετική δράση απέναντι σε ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος και των πνευμόνων ενισχύοντας το ανοσοποιητικό σύστημα (Elshahawy 2020). Με παρόμοιο τρόπο όταν ορισμένοι μεταβολίτες του ελαϊκού οξέος προσκολλώνται ισχυρά σε κατάλληλους υποδοχείς δημιουργούνται ήπιες φλεγμονές και φαίνεται ότι αυτά τα ωφέλιμα αποτελέσματα συμβαίνουν και κατά της Covid-19. Επομένως, οποιαδήποτε διαταραχή στην παραγωγή των λιπαρών οξέων και των μεταβολιτών τους ή ενδεχόμενη έλλειψή τους, κάνουν τον ανθρώπινο οργανισμό περισσότερο ευάλωτο σε προσβολές από ιούς και την εκδήλωση ασθενειών, όπως είναι ο SARS-CoV-2 (Ghaffari et al. 2020). Πράγματι, φαίνεται ότι ο συγκεκριμένος ιός διαταράσσει στοχευμένα την σύνθεση των κυτταρικών λιπιδίων και των μεταβολιτών τους, ώστε να δημιουργηθούν οι πλέον κατάλληλες συνθήκες για την «εισβολή» του στο κύτταρο (Shoieb et al. 2020).

Επίσης, ουσίες που κατά καιρούς χορηγήθηκαν σε ασθενείς, παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, παρουσίασαν άλλα προβλήματα που παρεμπόδισαν την ευρύτερη χρήση τους. Για παράδειγμα, η δεξαμεθαζόνη, που χορηγήθηκε σε ευρεία κλίμακα στο Ηνωμένο Βασίλειο και θεωρήθηκε το πιο «επιτυχημένο» φάρμακο κατά της Covid-19, είχε μεν ως αποτέλεσμα την μείωση της θνησιμότητας

των βαρέως νοσούντων ασθενών κατά ένα τρίτο, αλλά σε ορισμένους υπερτασικούς ή διαβητικούς ασθενείς προκάλεσε παρενέργειες (Shoieb et al. 2020). Παρομοίως, κατά την εκτίμηση της δράσης της ρεμδεσιβίρης σε ασθενείς από την Ευρώπη, τις ΗΠΑ, τον Καναδά και την Ιαπωνία, παρά το γεγονός ότι το 68% των ασθενών έδειξε σημάδια βελτίωσης όσον αφορά την παροχή οξυγόνου και το 57% των αρχικώς διασωλημένων ασθενών αποσωληνώθηκε, διαπιστώθηκε ότι στο 60% των ασθενών εκδηλώθηκαν διάφορα δυσμενή συμπτώματα, όπως εξανθήματα, διάρροια, υπόταση και νεφρική ανεπάρκεια, τα οποία για το 23% ήταν έντονα και συνοδεύτηκαν από πολλαπλή δυσλειτουργία οργάνων και σηπτικό σοκ (Grein et al. 2020).

Επομένως, η χορήγηση λιπαρών οξέων στους ασθενείς μπορεί να αποτελέσει μια συμπληρωματική, ασφαλή και αποτελεσματική θεραπευτική αγωγή ενάντια στην Covid-19 και έχει προταθεί από διάφορους ερευνητές. Για παράδειγμα, οι Toelzer et al. (2020) καταλήγουν ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ του λινελαϊκού οξέος, του SARS-CoV-2 και της εκδήλωσης της ασθένειας και συστήνουν την χορήγηση του οξέος στους ασθενείς. Ο Elshahawy (2020) λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι η ασθένεια Covid-19 επηρεάζει κατά κύριο λόγο τους πνεύμονες και μπορεί να καταλήξει ακόμα και στον θάνατο του ασθενούς λόγω δύσπνοιας, πρότεινε την χορήγηση ελαϊκού οξέος με τη μορφή σιροπιού ή ταμπλέτας, ενώ, τέλος, οι Shoieb et al. (2020) αναφέρουν ότι η ανάκτηση, μέσω μικροεγκλεισμού, του αραχιδονικού οξέος και των αντιφλεγμονωδών μεταβολιτών του θα συνεισφέρει σε μία καινοτόμο διαχείριση της εν λόγω ασθένειας.

## 2.6. ΜΥΡΚΕΝΙΟ



Το μυρκένιο είναι ένα αλειφατικό μονοτερπένιο που διακρίνεται δύο ισομερείς μορφές, την α- και τη β-, αλλά στη φύση απαντάται μόνο το β-μυρκένιο (7-μεθυλ-3-μεθυλενο-1,6-οκταδιένιο). Είναι άχρωμο και η υφή του ελαιώδης. Διαλύεται σε αιθερικούς και αλκοολικούς διαλύτες, ενώ σε θερμοκρασία δωματίου είναι σχεδόν αδιάλυτο στο νερό (Behr et al. 2009). Το άρωμά του χαρακτηρίζεται γήινο, φρουτώδες και ομοιάζει με του γαρύφαλλου (καρύκευμα), αλλά σε μεγάλες συγκεντρώσεις είναι έντονο και καυστικό (pungent) (Hartsel et al. 2016).

Απαντάται στα αιθέρια έλαια διαφόρων φυτών, όπως η λουΐζα (verbena), το γάλβανο (galbanum) και το λεμονόχορτο (lemongrass), αλλά και στη φλούδα των φρούτων της νεραντζιάς (Citrus aurantium). Είναι το κύριο συστατικό των ελαίων του λυκίσκου και της δάφνης, τα οποία χρησιμοποιούνται στην παραγωγή αλκοολούχων αναψυκτικών και αναλόγως της ποικιλίας των φυτών, η παρουσία του β-μυρκένιου στο έλαιο μπορεί να φθάσει σε επίπεδα της τάξεως 40-70%. Εξ' αιτίας του υψηλού κόστους παραγωγής του από τα αιθέρια έλαια, η συνήθης μέθοδος παρασκευής του προκύπτει από την πυρόλυση του β-πινενίου. Αποθηκεύεται σε χαμηλές θερμοκρασίες (3 °C ή χαμηλότερη) προκειμένου να διατηρηθεί για σημαντικό χρονικό διάστημα (έως 12 μήνες) χωρίς σημαντικές απώλειες, διαφορετικά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος το μυρκένιο οξειδώνεται και ανεξαρτήτως της επαφής του ή όχι με τον αέρα, πολυμερίζεται γρήγορα και «χάνεται» (Zeiger 1997; Behr et al. 2009).

Γενικά πρόκειται για μία χημική ένωση όπου η διενική δομή της τη κάνει αρκετά δραστική, με αποτέλεσμα να παρουσιάζει μία πληθώρα εφαρμογών. Τόσο το ίδιο, όσο και τα αιθέρια έλαια που το περιέχουν, χρησιμοποιούνται ευρέως ως αρωματικοί παράγοντες (scenting agents) στα καλλυντικά και τη σαπωνοποιΐα, αλλά και στα απορρυπαντικά. Επιπλέον, αποτελεί βασική ένωση για τη δημιουργία τερπενικών αλκοολών που χρησιμοποιούνται επίσης στην παρασκευή αρωμάτων. Βρίσκει εφαρμογή και στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς αποτελεί συστατικό διαφόρων αιθερίων ελαίων που χρησιμοποιούνται για την δημιουργία αρώματος σε αναψυκτικά, αλκοολούχα ποτά και τρόφιμα (Zeiger 1997; Bonamin et al. 2004; Behr et al. 2009).

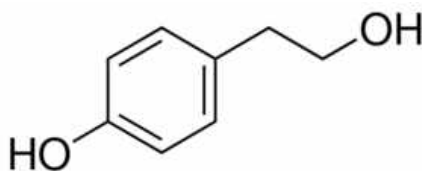
Επίσης, είναι μία ένωση που παρουσιάζει αναλγητική δράση, καθώς και αποτελεί το ενεργό συστατικό του ροφήματος που προκύπτει από το λεμονόχορτο (Zeiger 1997). Το β-μυρκένιο παρόλο που απαντάται σε μικρές συγκεντρώσεις στο συστατικό του αιθερίου ελαίου των νεραντζιών, παρουσιάζει σημαντικές γαστροπροστατευτικές και αντι-οξειδωτικές ιδιότητες με αποτέλεσμα να δρα κατά του έλκους. Επιπλέον, μία ενδεχόμενη χρήση του σε συνδυασμό με τρόφιμα που έχουν θεραπευτικές ιδιότητες (nutraceuticals) είναι η καταπολέμηση ασθενειών που προκύπτουν υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες (Bonamin et al. 2004). Παρουσιάζει επίσης μια σειρά από ιδιότητες που σχετίζονται ιδιαίτερα με τα κανναβινοειδή (cannabinoids). Για παράδειγμα, επηρεάζει την διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών, ιδιαίτερα των αιμοσφαιρίων του εγκεφάλου, αυξάνοντας την μεταφορά των κανναβινοειδών στον εγκέφαλο. Έχει σημαντικά αναλγητικά αποτελέσματα που παρεμποδίζονται από την ναλοξόνη, ένα οπιοειδές ανταγωνιστικό. Σε αντίθεση με τη μορφίνη, στο μυρκένιο δεν παρατηρήθηκε κάποια ανοχή (tolerance) έπειτα από επαναλαμβανόμενες δόσεις σε αρουραίους. Επίσης, έδειξε βελτιωμένη ανοχή διαβητικών αρουραίων στη γλυκόζη, χωρίς παράλληλα να εμφανίζεται κάποια επίδραση στα επίπεδα γλυκόζης στους υγιείς αρουραίους. Σε πολύ μεγάλες δοσολογίες σε ποντίκια, το μυρκένιο εμφάνισε ηρεμιστική δράση παρόμοια με αυτή των φαινοβαρβιτουρικών. Οι ισχυρές αντιφλεγμονώδεις αλλά και οι αντικαταβολικές ιδιότητές του που

σχετίζονται με την οστεο-αρθρίτιδα των ανθρώπων, το έχουν καταστήσει αντικείμενο μελέτης σε ευρύ ερευνητικό πεδίο (**Hartsel et al. 2016**).

Εξετάζοντας τις επιπτώσεις του μυρκενίου στους ζωικούς οργανισμούς, έγιναν εκτεταμένα πειράματα σε ποντίκια, όπου αναφέρθηκαν εκδηλώσεις διαφόρων συμπτωμάτων, όπως απώλεια βάρους, αλλά η τοξικότητά του ήταν χαμηλή και δεν υπήρξε συσχέτιση με την εμφάνιση καρκίνου. Από την άλλη, η έκθεση του ανθρώπου στο β-μυρκενίο δείχνει να σχετίζεται με την εμφάνιση ορισμένων ασθενειών, όπως η δερματίτιδα, η επιπεφυκίτιδα (conjunctivitis) και η υπνηλία (somnolence), ενώ υπήρξε και μία μεμονωμένη περίπτωση εργαζομένου σε ζυθοποιία, όπου η χρόνια έκθεση του στις αναθυμιάσεις του μυρκενίου προκάλεσε έντονα και επίμονα συμπτώματα άσθματος (**Zeiger 1997**).

Σε κάθε περίπτωση όμως, παρουσιάζει χαμηλή τοξικότητα τόσο κατά την επαφή με το δέρμα, όσο και κατά την εισαγωγή μέσω στόματος, με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζεται στις ΗΠΑ ως ασφαλές (GRAS) και να είναι εγκεκριμένο πρόσθετο από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drugs Administration – FDA). Το 1974 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή συμπεριέλαβε το μυρκενίο στον κατάλογο με τις τεχνητές αρωματικές ενώσεις που μπορούν να προστεθούν προσωρινά στα τρόφιμα χωρίς να αποτελούν κίνδυνο για την δημόσια υγεία (**Behr et al. 2009**).

## 2.7. ΤΥΡΟΣΟΛΗ



Καρδιαγγειακές παθήσεις όπως η αθηροσκλήρωση συνδέονται με την οξείδωση των λιπιδίων. Οι αντι-οξειδωτικές ενώσεις φαίνεται ότι δρουν προστατευτικά, επομένως η κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και ροφημάτων πλούσιων σε φαινολικά αντιοξειδωτικά, βοηθά στην μείωση της θνησιμότητας από ασθένειες όπως η στεφανιαία νόσος και το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Επίσης, τα χαρακτηριστικά τρόφιμα της μεσογειακής διαίτας, δηλαδή ο καρπός της ελιάς και το ελαιόλαδο, θεωρούνται από πολλούς λειτουργικά τρόφιμα λόγω των βιοφαινολών που περιέχουν (**Di Benedetto et al. 2007; Aree et al. 2018**).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση, αναγνωρίζοντας τη συμβολή των πολυφαινολών ελαιολάδου στην προστασία των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες, περιλαμβάνει στον **Ευρωπαϊκό Κανονισμό 432/2012** σχετικό ισχυρισμό υγείας, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί όταν το ελαιόλαδο περιέχει τουλάχιστον 5 mg υδροξυτυροσόλης και παραγώγων της (π.χ. σύμπλοκο ελαιοευρωπαϊνης και τυροσόλης) ανά 20 g ελαιολάδου και με την προϋπόθεση ότι η ημερήσια πρόσληψη ελαιολάδου είναι τουλάχιστον 20g.

Η τυροσόλη [4-(2-υδροξυ-αιθυλ)φαινόλη] ανήκει, μαζί με την ελευρωπεΐνη και την υδροξυτυροσόλη, στις κυριότερες φαινόλες του ελαιολάδου (**Paulo et al. 2020**). Επίσης, τα υδατικά απόβλητα των ελαιουργείων αποτελούν σημαντική πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών, οπότε η ανάκτηση αυτών των ενώσεων μετατρέπει ένα παραπροϊόν επιμόλυνσης του περιβάλλοντος σε πηγή βιοδραστικών ενώσεων. Η τυροσόλη απαντάται επίσης και σε ορισμένα ποτά, όπως το λευκό κρασί, τη μπίρα και το βερμούτ (**Pontillo et al. 2021**).

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολών επηρεάζεται από τη θέση και το είδος των λειτουργικών ομάδων που είναι συνδεδεμένες με τον φαινολικό δακτύλιο. Στις βιοφαινόλες εξαρτάται από τον αριθμό των υδροξυλίων στο μόριο (**Mukherjee et al. 2009**). Επομένως, η τυροσόλη παρουσιάζει μεν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με την υδροξυτυροσόλη και την ελευρωπεΐνη, αλλά παρόλα αυτά θεωρείται πολύ σημαντική (**Pontillo et al. 2021**).

Βελτιώνει τους ενδοκυτταρικούς αντιοξειδωτικούς αμυντικούς μηχανισμούς και προστατεύει τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου (Caco2) από τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (low-density lipoproteins – LDL), δηλαδή πρωτεΐνες που έχουν μεγάλη τάση να οξειδώνονται και σχετίζονται άμεσα με την αθηροσκλήρωση (**Pontillo et al. 2021; García-Padial et al. 2012**). Οι **Mukherjee et al. (2009)** κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τόσο στα ερυθρά όσο και στα λευκά κρασιά, η τυροσόλη συμμετέχει σε διαδικασίες σχηματισμού πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη μακροζωΐα και την αντιγήρανση. Επιπλέον, πολλές έρευνες επιβεβαιώνουν ότι η τυροσόλη προσφέρει προστατευτικά αποτελέσματα στο νευρικό σύστημα και την καρδιά και επιταχύνει τη ρύθμιση των επιπέδων των LDL στον άνθρωπο (**Pontillo et al. 2021**), ενώ παρέχει σημαντική προστασία από το οξειδωτικό στρες (**Di Benedetto et al. 2007**).

Παρά τις αξιοσημείωτες ιδιότητές της, η εφαρμογή της στα τρόφιμα και στα συμπληρώματα διατροφής ως προσθέτου, βιο-ενεργού συστατικού ή ακόμα και ως σταθεροποιητή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών, είναι περιορισμένη ιδιαίτερα όταν απαιτείται η αποθήκευσή τους (**Paulo et al. 2020**). Κατ' αρχήν, όπως συμβαίνει άλλωστε στις φαινολικές ενώσεις, είναι ευαίσθητη στη θερμοκρασία και το φως (**López-García et al. 2010**). Επιπλέον, ο υψηλός ρυθμός μεταβολισμού της στο ήπαρ και το λεπτό έντερο και ο υδρόφιλος χαρακτήρας της που καθυστερεί την αφομοίωσή της από τα λιπαρά υποστρώματα, περιορίζουν την απορρόφηση και την βιοδιαθεσιμότητά της (**Pontillo et al. 2021; Paulo et al. 2020**).



Εφ' όσον η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται από την σταθερότητα, τη βιοδραστικότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά της, ο εγκλεισμός της με κυκλοδεξτρίνες αποτελεί έναν τρόπο για να υπερνικηθούν αυτά τα προβλήματα, καθώς επιτρέπει την ελεγχόμενη απελευθέρωσή της. Επιπλέον, μπορεί να την προστατεύσει από την οξείδωση και να βελτιώσει ιδιότητες, όπως την αντιοξειδωτική δράση, την υδατοδιαλυτότητα και την σταθερότητά της (**García-Padial et al. 2012; Paulo et al. 2020; Pontillo et al. 2021**). Οι **Aree et al. (2018)** μελέτησαν την κρυσταλλική δομή τυροσόλης/ $\beta$ -CD, μεταξύ άλλων και με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Στο Εργαστήριο Φυσικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου πραγματοποιήθηκε αντίστοιχη μελέτη της κρυσταλλικής δομής της τυροσόλης/DM- $\beta$ -CD.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1. ΥΛΙΚΑ

Για την υλοποίηση του πειραματικού μέρους της παρούσας εργασίας, χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια από διάφορους οίκους, τα οποία αναγράφονται στον παρακάτω **Πίνακα 3.1**. Επίσης, διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διαδικασία παρασκευής των κρυστάλλων (αιθανόλη του οίκου Applichem, κωδικός προϊόντος: 64-17-5) και για τη λήψη των διαγραμμάτων διαλυτότητας φάσεων (μεθανόλη του οίκου Applichem, κωδ.: 67-56-1 και χλωροφόρμιο της Sigma-Aldrich, κωδ.: 67-66-3).

**Πίνακας 3.1.** Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν και χαρακτηριστικά τους

<b>Guests</b>	<b>M.M. (Da)</b>	<b>Κωδικός προϊόντος</b>	<b>Οίκος</b>
Cholesterol ( $\geq 99\%$ )	386,65	57-88-5	Sigma
Naringenin ( $\geq 95\%$ )	272,26	67604-48-2	Sigma
Capsaicin ( $\geq 95\%$ )	305,41	404-86-4	Sigma
Piperine ( $\geq 97\%$ )	285,34	94-62-2	Sigma
Arachidonic acid ( $>95,0\%$ )	304,47	506-32-1	Sigma
Oleic acid ( $\geq 99\%$ )	282,46	112-80-1	Sigma
Linoleic acid ( $\geq 99\%$ )	280,45	60-33-3	Sigma
$\beta$ -Myrcene	136,23	123-35-3	Sigma
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol - (tyrosol) (98%)	138,16	501-94-0	Aldrich
<b>Hosts</b>	<b>M.M. (Da)</b>	<b>Κωδικός προϊόντος</b>	<b>Οίκος</b>
$\beta$ -Cyclodextrin	1135	7585-39-9	Applichem
Heptakis-2,6-O-methyl- $\beta$ -Cyclodextrin (DIMEB)	1131,39	51166-71-3	Sigma
Heptakis-2,3,6- O-methyl- $\beta$ -Cyclodextrin (TRIMEB)	1429,6	55216-11-0	Sigma
Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin (RAMEB)	~1310	128446-36-6	Sigma
(2-Hydroxypropyl)- $\beta$ - cyclodextrin (HP $\beta$ CD)	1380	128446-35-5	Sigma

## 3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.2.1. Παρασκευή κρυστάλλων και κρυσταλλογραφία με ακτίνες-X

Η επιλογή μεθόδου δημιουργίας κρυστάλλων συμπλόκων εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες εξαρτάται από το είδος της κυκλοδεξτρίνης-ξενιστή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ενώ η υδατοδιαλυτότητα των φυσικών κυκλοδεξτρινών αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, αντίθετα στις μεθυλιωμένες μειώνεται.

Έτσι στις φυσικές κυκλοδεξτρίνες επιλέχθηκε η μέθοδος της βραδείας ψύξης (slow cooling). Αρχικά ζυγίσθηκαν ποσότητες των guest και host σε περιέκτη με πάμα, διαλύθηκαν σε κατάλληλη ποσότητα νερού και το σύστημα αναδεύθηκε μέχρι να επιτευχθεί η διαλυτοποίηση (διαύγαση). Μετά ο περιέκτης τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 70 °C και ακολούθησε σταδιακή ψύξη μέχρι τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, μία διαδικασία που απαιτεί χρονικό διάστημα περίπου μίας εβδομάδας. Στις περιπτώσεις επιτυχών πειραμάτων, στη βάση του περιέκτη παρατηρήθηκαν οι σχηματιζόμενοι κρύσταλλοι. Παραδείγματα τέτοιων κρυστάλλων απεικονίζονται στην **Εικόνα 3.1**.

Για τη δημιουργία κρυστάλλων συμπλόκων εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, αφού ζυγίσθηκαν οι ποσότητες των guest και host στον περιέκτη και διαλύθηκαν σε ποσότητα νερού, ακολούθησε ανάδευση του διαλύματος για 1h και έπειτα παραμονή μέσα σε κλίβανο υπό σταθερή θερμοκρασία (48 °C). Οι κρύσταλλοι που δημιουργήθηκαν μετά από διάστημα μερικών ημερών, τοποθετήθηκαν σε παραφινέλαιο για να προστατευθούν.

Σε κάθε περίπτωση, δοκιμάστηκαν αρχικά διάφορες αναλογίες μεταξύ του ξενιζομένου μορίου και του ξενιστή και τελικά επελέγη αυτή που απέδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα (συνήθως 1:1 ή 1:2).



(α)



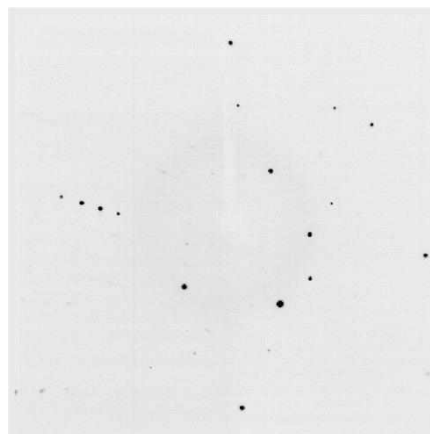
(β)

**Εικόνα 3.1.** Κρύσταλλοι των προϊόντων εγκλεισμού: (α) Καψαϊκίνης/β-CD και (β) Τυροσόλης/DM-β-CD

Οι σχηματιζόμενοι κρύσταλλοι κάθε προϊόντος εγκλεισμού μεταφέρθηκαν από το αρχικό διάλυμα (mother liquor) σε ποσότητα παραφινελαίου και συλλέχθηκαν με κατάλληλο εργαλείο (cryo-loop). Έπειτα, τοποθετήθηκαν σε περιθλασίμετρο Bruker-D8 VENTURE υπό ρεύμα αζώτου στους 100 K με ανιχνευτή PHOTON 50 και πηγή ακτίνων-X IμS Microfocus με ακτινοβολία CuKα ( $\lambda=1,54178 \text{ \AA}$ ). Η καταγραφή των εικόνων περίθλασης έγινε με το πρόγραμμα Bruker SAINT και οι διορθώσεις των δεδομένων απορρόφησης με το πρόγραμμα SADABS (SAINT, Bruker-AXS 2013; Sheldrick 2012).



(α)



(β)

**Εικόνα 3.2.** (α) Το περιθλασίμετρο Bruker-D8 VENTURE και (β) χαρακτηριστικό διαμόρφωμα περίθλασης που ελήφθη από κρύσταλλο Μυρκενίου/ $\beta$ -CD

### 3.2.2. Προσδιορισμός κρυσταλλικής δομής

Τα υπολογιστικά προγράμματα SHELXL και SHELXLE (Sheldrick 2015; Hübschle et al. 2011) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό και τη βελτιστοποίηση της δομής, όπου εφαρμόστηκαν περιορισμοί (restraints και constraints), βάσει των γνωστών χημικών-δομικών πληροφοριών για τα επιμέρους μόρια και τις αλληλεπιδράσεις τους. Για παράδειγμα, για την εκτίμηση των θέσεων των ατόμων υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε η εντολή HFIX, ενώ όποτε κρίθηκε σκόπιμο να ρυθμισθούν οι παράμετροι ανισοτροπικής μετατόπισης των ατόμων, εφαρμόστηκαν οι εντολές DELU και SIMU. Επιπλέον, κάποιες φορές ήταν ανάγκη να ορισθούν τα μήκη δεσμών ή γωνιών των ατόμων σε συγκεκριμένες τιμές, οπότε χρησιμοποιήθηκαν οι εντολές DING και DANG αντιστοίχως. Συχνά, λόγω της δομικής πολυπλοκότητας των προϊόντων εγκλεισμού, τα παραπάνω μήκη και οι γωνίες των host και guest για την εκάστοτε δομή, ορίστηκαν σύμφωνα με τις τιμές που υπολόγισε ο

διαδικτυακός διακομιστής PRODRG2 (Schüttelkopf et al. 2004). Επίσης, για την καλύτερη μελέτη και μέτρηση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των δομών, καθώς και την απεικόνισή τους, έγινε χρήση των ειδικών υπολογιστικών προγραμμάτων PyMol, Olex2, Coot και Mercury (Schrödinger et al. 2020; Dolomanov et al. 2009; Emsley et al. 2008; Macrae et al. 2008).

Τέλος, η σύγκριση των δομών με άλλες αντίστοιχες της βιβλιογραφίας, έγινε με αναζήτηση από τη βάση δεδομένων Cambridge Structural Database (CSD) με τη βοήθεια του προγράμματος CellCheck (Groom et al. 2016).

### 3.2.3. Μελέτες Μοριακής Δυναμικής

Μελέτες Μοριακής Δυναμικής (MDs) πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος AMBER12 (Case et al. 2005), μέσω προσομοιώσεων διάρκειας 12 ns. Οι αρχικές κρυσταλλικές δομές των προϊόντων εγκλεισμού, όπως αυτές προσδιορίστηκαν κρυσταλλογραφικά, αποτέλεσαν την πηγή για τις αρχικές ατομικές συντεταγμένες σε κάθε προσομοίωση. Στην περίπτωση που host ήταν η  $\beta$ -CD εφαρμόστηκε το δυναμικό πεδίο GLYCAM 06 (Kirschner et al. 2008) ενώ για τις DM- $\beta$ -CD και TM- $\beta$ -CD το πεδίο q4md-CD (Cezard et al. 2011). Με τη βοήθεια του προγράμματος xLEaP ορίστηκαν τα όρια του περιοδικού, οκταεδρικού περιβάλλοντος χώρου (box size) σε απόσταση 10 Å από τα πλησιέστερα άτομα του συμπλόκου, ενώ στα μόρια νερού εφαρμόστηκε το μοντέλο TIP3P.

Η ρύθμιση της θερμοκρασίας και της πίεσης έγινε με τη χρήση κατάλληλου αλγορίθμου (Berendsen).

Το πρόγραμμα SANDERS χρησιμοποιήθηκε για την υλοποίηση των προσομοιώσεων MDs, με την εφαρμογή κατάλληλου πρωτοκόλλου που περιελάμβανε τα εξής στάδια:

α) Ελαχιστοποίηση ενέργειας (minimization) 1000 βημάτων για τα άτομα υδρογόνου χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο απότομης καθόδου (steepest descent algorithm) για τους πρώτους 500 κύκλους και τον αλγόριθμο συζυγούς κλίσης (conjugate gradient algorithm) για τους υπόλοιπους κύκλους με περιορισμούς θέσης ( $50 \text{ Kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ )

β) Θέρμανση των μορίων νερού από 0 K έως 300 K για 50ps υπό σταθερό όγκο και θερμοκρασία (συνθήκες NVT) χρησιμοποιώντας ίδιους περιορισμούς θέσης στο σύστημα ( $50 \text{ Kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ ). Η χρήση του αλγόριθμου SHAKE (Kräutler et al. 2001) περιορίζει όλους τους δεσμούς που περιλαμβάνουν υδρογόνο. Ο αλγόριθμος θερμοστάτη Berendsen με σταθερές σύζευξης 0,5 ps χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της θερμοκρασίας και της πίεσης

γ) Ελαχιστοποίηση ενέργειας 1000 βημάτων ολόκληρου του συστήματος με ασθενείς περιορισμούς θέσης

δ) Σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας από 5 σε 300 K σε έξι βήματα των 15 ps με περιορισμούς στο σύμπλοκο ( $10 \text{ Kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ )

ε) Σταδιακή απελευθέρωση των περιορισμών σε δώδεκα βήματα των 15 ps στους 300 K

στ) Εξισορρόπηση πυκνότητας (συνθήκες NPT) για 250 ps χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο θερμοστάτη Berendsen με σταθερές σύζευξης 1 ps και

ζ) Περαιτέρω προσομοίωση (NPT) υπό φυσιολογικές συνθήκες (1 atm, 300 K) για 400 ps. Οι προσομοιώσεις NPT υπό φυσιολογικές συνθήκες συνεχίζονται για επιπλέον 11 ns.

Η απεικόνιση των MDs πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα VMD (**Humphrey et al. 1996**).

Στη συνέχεια, έγινε εκτίμηση της διαφοράς της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης  $\Delta G_{GB}$  του ξενιζόμενου μορίου στον ξενιστή με τη μέθοδο MM/GBSA (Molecular Mechanics/ Generalized Born Surface Area) (**Genheden et al. 2015**) χρησιμοποιώντας κατάλληλα προγράμματα και αρχεία (mmprbsa.inp) της πλατφόρμας AMBER12. Η τιμή  $\Delta G_{GB}$  περιλαμβάνει τη συνεισφορά των δυνάμεων van der Waals, την ηλεκτροστατική ενέργεια, την ηλεκτροστατική συμβολή στην ενέργεια χωρίς επιδιαλυτότητα και τη μη πολική συνεισφορά στην ενέργεια χωρίς επιδιαλυτότητα. Για τους παραπάνω υπολογισμούς απαιτήθηκαν 10000 πόζες.

Για την εκτίμηση της ελεύθερης ενέργειας δέσμευσης του συστήματος ( $\Delta G_{bind}$ ) απαιτείται και ο εντροπικός όρος “ $T \cdot \Delta S$ ” (υπενθυμίζεται ότι:  $\Delta G_{bind} = \Delta G_{GB} - T \cdot \Delta S$ ) ο οποίος υπολογίσθηκε με τη λήψη στιγμιοτύπων ανά 100 πόζες, έπειτα από κατάλληλη ανάλυση (nmode) υπό σταθερή θερμοκρασία χρησιμοποιώντας επίσης το κατάλληλο πρόγραμμα της σουίτας AMBER12. Όμως, όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 1.3, η εκτίμηση του όρου της εντροπίας είναι συχνά προβληματική και γι' αυτό ο συγκεκριμένος όρος συνήθως παραλείπεται, οπότε η σύγκριση των ενεργειών μεταξύ των συμπλόκων βασίσθηκε αποκλειστικά στον όρο  $\Delta G_{GB}$ .

#### 3.2.4. Λήψη Διαγραμμάτων Διαλυτότητας

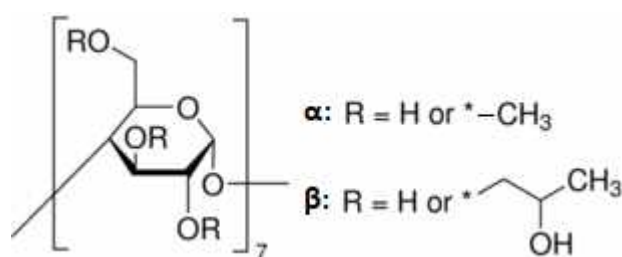
Στην περίπτωση της πιπερίνης και του μυρκενίου πραγματοποιήθηκαν πειράματα για τη λήψη διαγραμμάτων διαλυτότητας με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου UV-Vis (BioBase BK-S380), σύμφωνα με τη μέθοδο των Higuchi-Connors. Σκοπός ήταν η μελέτη διαλυτοποίησης των συγκεκριμένων ενώσεων σε διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων του εκάστοτε host, ενώ δίνεται η δυνατότητα υπολογισμού της φαινόμενης σταθεράς σύνδεσης  $K_c$  (binding constant) μεταξύ guest-host και της απόδοσης εγκλεισμού CE (complexation efficiency).

Η πιπερίνη εξετάστηκε στο σύμπλοκό της με τρεις ξενιστές (host): τη φυσική β-CD, τη τυχαία μεθυλωμένη-β-CD (randomly methylated-β-CD ή RM-β-CD) και τη 2-υδροξυ-πρόπυλ-βCD (2-hydroxypropyl-β-CD ή HP-βCD). Τα μόρια των RM-β-CD και HP-β-CD απεικονίζονται στο **Σχήμα 3.1** και προκύπτουν από την τυχαία αντικατάσταση των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλίων της β-κυκλοδεξτρίνης με μεθύλια ή με υδροξυπροπυλομάδες αντίστοιχα.

Όπως είναι γνωστό, όταν μονοχρωματική ακτινοβολία διαπεράσει διάλυμα που περιέχει ένωση που την απορροφά, η έντασή της μειώνεται κατά μήκος της διαδρομής. Η μείωση της έντασής της εξαρτάται από την απόσταση που διανύει η ακτινοβολία μέσα στο διάλυμα και την συγκέντρωση του διαλύματος. Όλα τα παραπάνω εκφράζονται μαθηματικά με τον νόμο των Beer-Lambert:

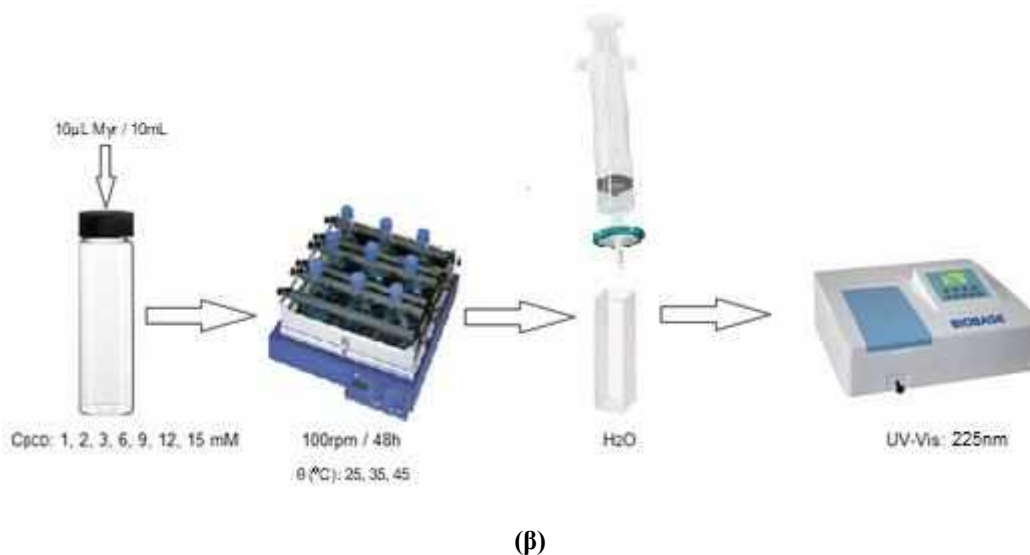
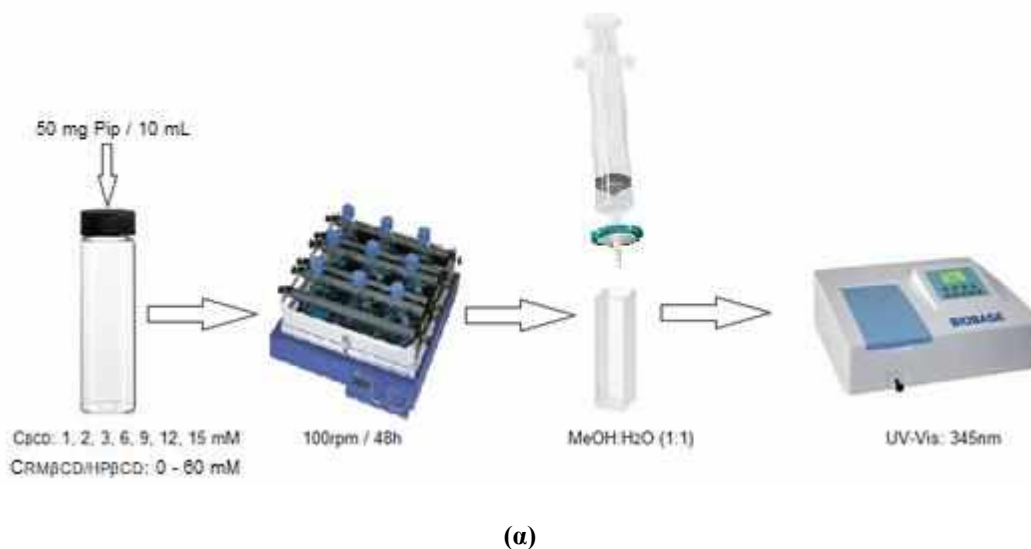
$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C \quad (14)$$

- όπου, A : η απορρόφηση  
 ε : ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης της υπό εξέταση ένωσης (L/mol·m)  
 l : το μήκος της διαδρομής μέσα στο διάλυμα (m)  
 C : η συγκέντρωση του διαλύματος (mol/L)



**Σχήμα 3.1.** Τα μόρια των: (α) RM-β-CD και (β) HP-β-CD

Ακολούθησε το κύριο πειραματικό μέρος (**Εικόνα 3.2.α**), όπου σε γυάλινους περιέκτες με πώμα παρασκευάστηκαν 10 mL υδατικών διαλυμάτων των ξενιστών σε διάφορες συγκεντρώσεις. Η περιορισμένη υδατοδιαλυτότητα της β-CD (18,5 mg/mL στους 25 °C) είναι ο λόγος που παρασκευάστηκαν διαλύματα σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1, 2, 3, 6, 9, 12 και 15 mM), ενώ αντίθετα η υψηλή διαλυτότητα στο νερό των RM-β-CD και HP-β-CD (>500 και >1200 mg/mL στους 25 °C αντίστοιχα) επέτρεψαν την παρασκευή διαλυμάτων υψηλότερων συγκεντρώσεων (7,5-15-22,5-30-37,5-45-52,5 και 60 mM). Έπειτα προστέθηκε σε κάθε διάλυμα περίσσεια πιπερίνης (50 mg) και τα διαλύματα αναδεύθηκαν σε τάραχτρο για 48h στις 100 περιστροφές ανά λεπτό (rpm) και σε θερμοκρασία 25 °C. Τα διαλύματα διηθήθηκαν με τη βοήθεια φίλτρων σύριγγας 0,45μm και μετά αραιώθηκαν σε διαλύτη MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1). Ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης των τελικών διαλυμάτων σε φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους (UV-Vis) της BioBase (BK-S380) σε μήκος κύματος 345 nm. Σημειώνεται, ότι όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.



**Εικόνα 3.2.** Πορεία πειράματος Διαγραμμάτων Διαλυτότητας: **(α)** στην πιπερίνη και **(β)** στο μυρκένιο

Βασιζόμενοι στον παραπάνω νόμο, έγινε ο υπολογισμός του συντελεστή μοριακής απόσβεσης “ε” της πιπερίνης παρασκευάζοντας διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων σε διαλύτη μεθανόλη:νερού (MeOH:H<sub>2</sub>O) αναλογίας 1:1 και καταγράφοντας την εκάστοτε απορρόφηση A σε μήκος κύματος 345nm.

Όσον αφορά το μυρκένιο, ο ξενιστής που χρησιμοποιήθηκε ήταν η β-κυκλοδεξτρίνη και η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν παρόμοιας λογικής με αυτήν της πιπερίνης, ωστόσο ελαφρώς διαφοροποιημένη (**Εικόνα 3.2.β**). Αρχικά, υπολογίσθηκε ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης του μυρκενίου με την καταγραφή της απορρόφησης διαλυμάτων μυρκενίου γνωστών συγκεντρώσεων σε χλωροφόρμιο, στα 225 nm. Έπειτα, σε γυάλινους περιέκτες με πάμα παρασκευάσθηκαν 10 mL υδατικών διαλυμάτων της β-κυκλοδεξτρίνης σε συγκεντρώσεις 1, 2, 3, 6, 9, 12 και 15 mM. Σε κάθε

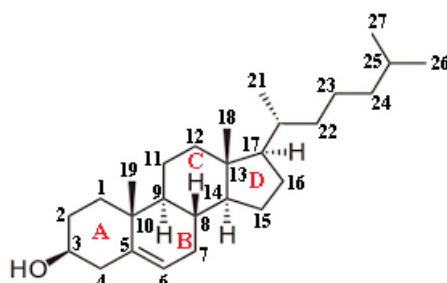


περιέκτη προστέθηκε περίσσεια μυρκενίου (10  $\mu\text{L}$ ) και ακολούθησε ανάδευση των διαλυμάτων με τη βοήθεια ταραχτρου στα 100 rpm για 2 ημέρες. Μετά την ανάδευση τα διαλύματα διηθήθηκαν με τη χρήση φίλτρων σύριγγας 0,45 $\mu\text{m}$  και τοποθετήθηκαν ως είχαν (χωρίς αραιώση) σε κυψελίδα χαλαζία στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis όπου μετρήθηκε η απορρόφησή τους στα 225 nm. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν και σε τρεις θερμοκρασίες (25, 35 και 45  $^{\circ}\text{C}$ ).

Η πραγματοποίηση των πειραμάτων σε τρεις θερμοκρασίες κατέστησε δυνατή τη δημιουργία διαγράμματος Van't Hoff και την εκτίμηση των θερμοδυναμικών παραμέτρων ( $\Delta\text{H}$ ,  $\Delta\text{S}$  και  $\Delta\text{G}$ ) που χαρακτηρίζουν την διαδικασία σχηματισμού του προϊόντος εγκλεισμού στο διάλυμα.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ

### 4.1. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ/β-CD (Chol/β-CD)



Ο κρύσταλλος ανήκει στην ομάδα χώρου  $P1$  και τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.1**. Η ασύμμετρη μονάδα περιέχει δύο μόρια β-CD που έχουν το ρόλο του ξενιστή (host A και B) διατεταγμένα αξονικά με τέτοιο τρόπο ώστε το δευτεροταγές στόμιο (κεφαλή) του ενός να βρίσκεται απέναντι στο δευτεροταγές στόμιο του άλλου σχηματίζοντας ένα διμερές τύπου κεφαλής-κεφαλής που συγκρατείται μέσω διαμοριακών δεσμών υδρογόνου μεταξύ των  $O3n-H$  υδροξυλομάδων τους. Ένα μόριο χοληστερόλης βρίσκεται πλήρως εγκλεισμένο μέσα στην κοιλότητα του διμερούς, ώστε η στοιχειομετρία του προϊόντος εγκλεισμού μεταξύ ξενιζομένου:ξενιστή (guest: host) να είναι 1:2 (**Εικόνα 4.1.α**). Επίσης, η μοναδιαία κυψελίδα περιέχει 22 μόρια νερού διανεμημένα σε 35 θέσεις.

Το μόριο της χοληστερόλης είναι διατεταγμένο σε αξονική θέση (axially) μέσα στο εσωτερικό των κοιλοτήτων των δύο μορίων β-CD που απαρτίζουν το διμερές. Το μέσο επίπεδο των A, B, C και D δακτυλίων της είναι κάθετο ως προς το μέσο επίπεδο των γλυκοζιτικών  $O4n$  ατόμων των host σχηματίζοντας με αυτό γωνία  $83,18(16)^\circ$ . Το στερολικό τμήμα του guest είναι καλά προσαρμοσμένο στο εσωτερικό της κοιλότητας του host A, ενώ το αλειφατικό τμήμα βρίσκεται στο εσωτερικό της κοιλότητας του host B προσπαθώντας να «γεμίσει» τον κενό χώρο της κοιλότητας με αποτέλεσμα να παρουσιάζει υψηλές τιμές ατομικής μετατόπισης (atomic displacement parameters) λόγω θερμικής κίνησης. Η υδροξυλομάδα της χοληστερόλης προεξέχει από το πρωτοταγές χείλος του host A (απόσταση μεταξύ του ατόμου O της υδροξυλομάδας της Chol και του μέσου επιπέδου των ατόμων  $O4n$  του host A:  $5,329(12)$  Å) και είναι συνδεδεμένη με δεσμούς υδρογόνου (-H) με τα πρωτοταγή υδροξύλια των γειτονικών διμερών της β-CD [ $O1\dots O63B$ :  $2,688(4)$  Å και  $O1\dots O66B$ :  $2,721(5)$  Å] ενισχύοντας έτσι το «οικοδόμημα» του κρυστάλλου και επηρεάζοντας το βαθμό εγκλεισμού του guest στην κρυσταλλική διάταξη (**Εικόνα 4.1.γ**). Το προϊόν εγκλεισμού σταθεροποιείται επίσης από πολυάριθμες αλληλεπιδράσεις Van der Waals και  $CH\dots O$  κυρίως μεταξύ του guest και της εσωτερικής κοιλότητας του διμερούς του host.

**Πίνακας 4.1.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Χοληστερόλης/β-CD

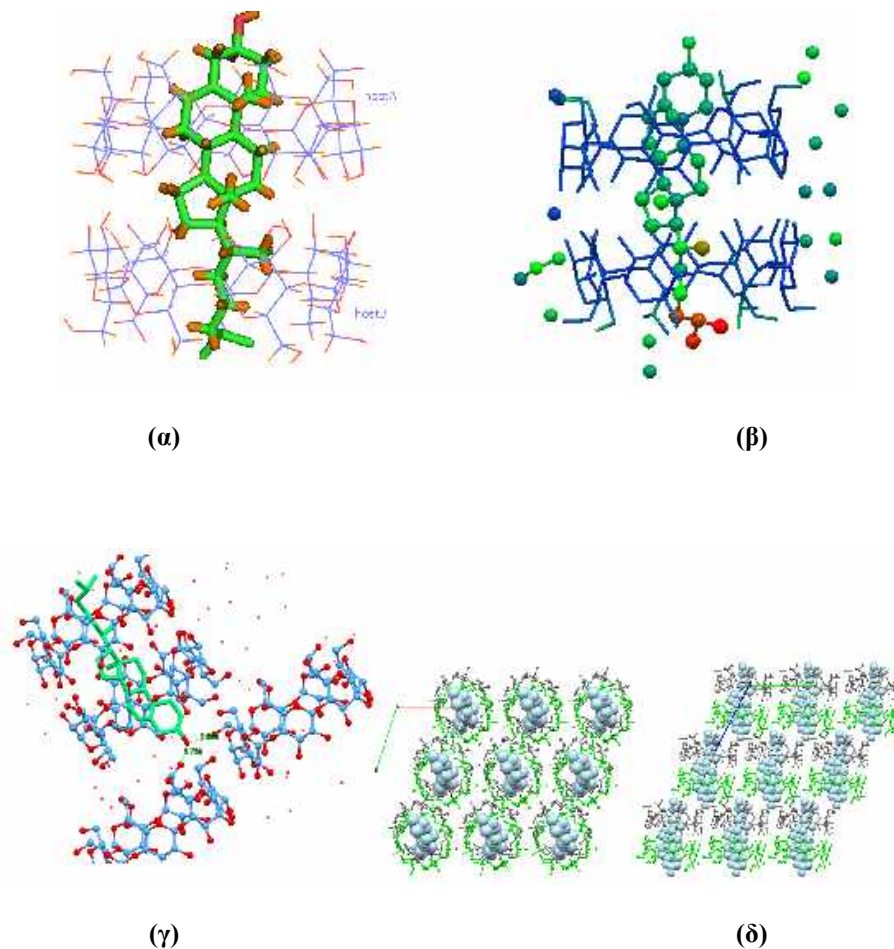
<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Chol/β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=2, C <sub>55,5</sub> H <sub>59</sub> O <sub>46,9</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	1504,94
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, P1
Θερμοκρασία (Κ)	100
a / b / c (Å)	15,16(3) / 15,60(3) / 17,84(3)
α / β / γ (°)	114,02(14) / 99,33(13) / 102,08(12)
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	3623(12)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	1,06
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Tmin / Tmax	0,498 / 0,75
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξάρτητων / παρατηρούμενων [I>2s(I)]	61231 / 15060 / 11737
Rint	0,105
θmax (°)	50,9
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,504
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )], wR(F <sup>2</sup> ), S	0,083 / 0,224 / 1,03
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	15060 / 1153 / 82
Δrmax, Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )	0,71 / -0,43
Παράμετρος πλήρους δομής	0,04(13) συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

Συγκεκριμένα, η πλευρά των ατόμων C1 και C2 του δακτυλίου A και η απέναντι πλευρά των ατόμων C6 και C7 του δακτυλίου B της χοληστερόλης σχηματίζουν ασθενείς H...H αλληλεπιδράσεις, με τα εσωτερικά υδρογόνα (H3 και H5) των απέναντι διατεταγμένων γλυκοπυραζονών του host A (Glu II, Glu III και Glu VI, Glu VII αντιστοίχως). Τα άτομα C2-H2A του δακτυλίου A και G7-H7A του δακτυλίου B σχηματίζουν επίσης δεσμούς CH...O με το πρωτοταγές υδροξύλιο O63C (με μερικό βαθμό κατάληψης s.o.f.: 0,4) και το γλυκοζιτικό άτομο O46A αντίστοιχα. Η στενή σύνδεση του

στερολικού τμήματος του guest με την υδρόφοβη κοιλότητα του host A ενισχύεται επιπλέον με αλληλεπιδράσεις H...H μεταξύ των υδρογόνων της μεθυλομάδας C19 (η οποία είναι κάθετη ως προς το μέσο επίπεδο των στερολικών δακτυλίων) και των «εσωτερικών» υδρογόνων H5 της 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> γλυκοπυρανόζης του host A. Η μεθυλομάδα C18 του guest, η οποία έχει τον ίδιο προσανατολισμό με την C19, είναι τοποθετημένη στον ενδιάμεσο χώρο του διμερούς και δεν αλληλεπιδρά με τα δύο μόρια της β-CD. Η μεθυλομάδα C21 που είναι κάθετη ως προς τις μεθυλομάδες C18 και C19 βρίσκεται τοποθετημένη μέσα στην κοιλότητα του host B και σε στενή επαφή με το εσωτερικό άτομο H3 της 6<sup>ης</sup> μονάδας γλυκοπυρανόζης (H36C-C36B). Το αλειφατικό τμήμα της χοληστερόλης εξέρχεται από το πρωτοταγές χείλος του host B. Τα υδρογόνα του δευτεροταγούς ατόμου C24 σχηματίζουν δεσμούς CH...O με τα μερικού βαθμού κατάληψης μόρια νερού που είναι τοποθετημένα στον χώρο μεταξύ των διμερών. Η ισοπροπυλο-ομάδα του guest προεξέρχεται από το πρωτοταγές στόμιο του host B και είναι σαφώς περισσότερο αποδιατεταγμένη από το στερολικό τμήμα, σχηματίζοντας δεσμούς CH...O με: α) τη μερικής κατάληψης (βαθμός κατάληψης: 0,2) υδροξυλομάδα O61D του host B, β) τα αποδιατεταγμένα μόρια νερού που καλύπτουν τον χώρο ανάμεσα στα διμερή και γ) την πρωτοταγή υδροξυλομάδα O66A του host A του γειτονικού διμερούς.

Τα γλυκοζιδικά O4n άτομα και των δύο host σχηματίζουν σχεδόν κανονικά επτάγωνα, τα οποία ουσιαστικά είναι επίπεδα, όπως φαίνεται από τις αποστάσεις τους από το βαρύκεντρό τους (Dk), τις αποστάσεις μεταξύ των γειτονικών ατόμων O4n (D) και τις αποκλίσεις τους από το αντίστοιχο μέσο επίπεδο O4n (d). Οι γλυκοζιδικές μονάδες έχουν θετικές γωνίες κλίσης (tilt angles), με αποτέλεσμα οι πρωτοταγείς πλευρές τους να «γέρνουν» προς το νοητό άξονα της κοιλότητας. Η πλειοψηφία των υδροξυλομάδων τόσο στο host A, όσο και στο host B παρουσιάζουν διαμόρφωση gauche:gauche, προσανατολισμένες προς την εξωτερική πλευρά της κοιλότητας. Μία αποδιατεταγμένη υδροξυλομάδα του host A και δύο του host B εμφανίζουν τόσο gauche:gauche, όσο και gauche:trans διαμόρφωση, προσανατολισμένες προς το εσωτερικό και το εξωτερικό της κοιλότητας.

Τα διμερή της β-CD δημιουργούν στοίβες κατά μήκος του άξονα c, ο οποίος σχηματίζει με τον άξονα εβδόμης τάξεως γωνία 7,86°. Η μετατόπιση μεταξύ δύο διαδοχικών διμερών στον άξονα c είναι 5,91 Å, η οποία είναι πολύ κοντά στο μέσο όρο των 6 Å που παρατηρείται στις περιπτώσεις των διμερών κρυσταλλικών δομών που κρυσταλλώνουν σύμφωνα με τον τύπο «πακεταρίσματος» ενδιάμεσου καναλιού (intermediate channel – IM).



**Εικόνα 4.1** (α) η κρυσταλλική δομή του προϊόντος εγκλεισμού της χοληστερόλης στο διμερές της β-CD. Τα μόρια του νερού έχουν παραληφθεί για λόγους ευκρίνειας. (β) το προϊόν εγκλεισμού χρωματισμένο ανάλογα με τις παραμέτρους ατομικής μετατόπισης ( $U$ 's) με τη χρήση του προγράμματος Mercury 3.9. Οι τιμές των  $U$  αυξάνονται από το γαλάζιο προς το κόκκινο χρώμα. (γ) Οι ομάδες υδροξυλίων της χοληστερόλης είναι συνδεδεμένες με δεσμούς -H με τα πρωτοταγή υδροξύλια των γειτονικών διμερών. (δ) Η δημιουργία καναλιών ενδιάμεσου τύπου (IM) κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα  $c$ . Κάτοψη κατά μήκος των αξόνων  $c$  (αριστερά) και  $a$  (δεξιά)

Σύμφωνα με την κατηγοριοποίηση των διμερών προϊόντων εγκλεισμού της β-CD (Mentzafos et al. 1991), τα διμερή που ανήκουν στην ομάδα χώρου  $P1$  κρυσταλλώνουν σχηματίζοντας κανάλια (channel -CH) όταν οι διαστάσεις της κυψελίδας είναι όλες περίπου 15,5 Å ή στην περίπτωση που μία από τις διαστάσεις της κυψελίδας είναι μεγαλύτερη των 17 Å σχηματίζοντας κανάλια τύπου IM και οι υπόλοιπες δύο είναι περίπου 15,5 Å. Μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων Cambridge Structural Database (CSD) (Groom et al. 2016) κατέληξε σε 26 δομές προϊόντων εγκλεισμού σε β-CD με παρόμοιες διαστάσεις κυψελίδας. Τρεις μεταξύ αυτών [οι ANAXAP (Singleton et al. 2010), UJEFEV (Wang et al. 2009), XAMDEX (Yee et al. 2017)] έχουν στοιχειομετρία guest:host 1:2, με

τη μετατόπιση των διαδοχικών διμερών κατά μήκος του άξονα c να είναι 6,017, 6,22 και 6,27 Å αντιστοίχως και σχηματίζοντας, επίσης, κανάλια IM.

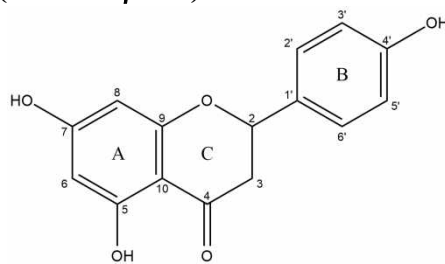
Το πρώτο διμερές (ANAXAP), αφορά τον εγκλεισμό ενός μικρού μορίου της ενεργούς μορφής της [Fe-Fe]-υδρογονάσης {[Fe-Fe]-H<sub>2</sub>ase active site}, (μ-SCH<sub>2</sub>NH(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>CH<sub>2</sub>S)[Fe<sup>I</sup>(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, μέσα στη κοιλότητα μιας κλαθρίνης άλατος β-CD με Νάτριο 1·2 {1·2 β-CD sodium salt clathrate}. Επίσης, στην ασύμμετρη μονάδα υπάρχουν 28 μόρια νερού. Στην κρυσταλλική δομή του προϊόντος εγκλεισμού της 8-υδροξυκινολίνης (8-hydroxyquinoline) (UJEFEV), η ασύμμετρη μονάδα αποτελείται από δύο μόρια β-CD, ένα 8-υδροξυκινολίνης, δύο αιθανόλης και τριάντα μόρια νερού. Οι υδρόφοβες κοιλότητες των δύο β-CD σχηματίζουν ένα διμερές κεφαλής-κεφαλής, που περιέχει μόνο τα μόρια αιθανόλης, ενώ το μικρό επίπεδο μόριο της 8-υδροξυκινολίνης δεν είναι εγκλεισμένο, αλλά παγιδευμένο στην ενδιάμεση επιφάνεια του διμερούς.

Η κρυσταλλική δομή του XAMDEX αφορά προϊόν εγκλεισμού β-κυκλοδεξτρίνης με τη φαινοξοδιόλη (phenoxydiol/β-CD) και είναι η μόνη παρόμοια περίπτωση με το αντίστοιχο των Chol/β-CD. Η φαινοξοδιόλη είναι ένα παράγωγο ισοφλαβόνης που φέρεται να έχει αντικαρκινικές ιδιότητες. Η ασύμμετρη μονάδα της φαινοξοδιόλης/β-CD περιέχει ένα μόριο guest εγκλεισμένο σε δύο μόρια β-CD και 26 μόρια νερού. Όλα τα μόρια νερού περιβάλλουν τον εξωτερικό χώρο του προϊόντος συνδέοντας με τη μορφή γέφυρας τα γειτονικά διμερή. Δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ host και guest, με αποτέλεσμα η φαινοξοδιόλη να συγκρατείται στην κοιλότητα του διμερούς κυρίως μέσω των «γεφυρωμένων» μορίων του νερού. Τέτοιου είδους σχηματισμός προϊόντος εγκλεισμού είναι επιθυμητός διότι έτσι επιτυγχάνεται εύκολη αποδέσμευση του guest. Πράγματι, ο βαθμός κατάληψης (0,5) που παρουσιάζει το μόριο της φαινοξοδιόλης μέσα στην κοιλότητα του διμερούς, υποδεικνύει ότι είναι δυνατή η διάχυσή του μέσω των καναλιών του κρυστάλλου με τη βοήθεια του υδατικού δικτύου, μια δομή που χαρακτηρίζεται σαν «καράβι μέσα σε φιάλη» (ship-in-a-bottle).

Αντιθέτως, στην περίπτωση του προϊόντος Chol/β-CD, το ογκώδες μόριο της χοληστερόλης με μήκος περίπου 16,5 Å βρίσκεται εγκλεισμένο με το υδροξύλιο και την ισοπροπυλομάδα να προεξέχουν από το πρωτοταγές στόμιο των δύο host και συνδέεται άμεσα με τους host των γειτονικών μονάδων εγκλεισμού. Αυτή η σφιχτή προσαρμογή του μέσα στην κοιλότητα των δύο μορίων β-CD ενισχύεται επιπλέον από τις παραπάνω αναφερθείσες αλληλεπιδράσεις μεταξύ guest-host. Συνεπώς, η χοληστερόλη βρίσκεται πάντα μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα του διμερούς και το μέγεθος και το σχήμα της παρεμποδίζουν την διάχυσή του στον κρύσταλλο.

## 4.2. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΝΑΡΙΓΓΕΝΙΝΗΣ

### 4.2.1. Ναριγγενίνη/DM-β-CD (Nar/DM-β-CD)



Ναριγγενίνη

Το προϊόν εγκλεισμού Nar/DM-β-CD κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου  $P2_12_12_1$  και τα μονομερή του σχηματίζουν αυλούς κοχλία (screw channels) κατά μήκος του άξονα  $a$ , τύπου κεφαλής-ουράς. Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο DM-β-CD, ένα μόριο ναριγγενίνης (βαθμός κατάληψης s.o.f. = 1,0) και 4,6 αποδιατεταγμένα μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 9 θέσεις (**Εικόνα 4.2.1.α**).

Ο φαινολικός δακτύλιος της ναριγγενίνης (δακτύλιος B) είναι πλήρως βυθισμένος στην κοιλότητα του host σχηματίζοντας γωνία  $69,31^\circ$  με το μέσο επίπεδο των γλυκοζιτικών  $O4n$  ( $n=1-7$ ) ατόμων της κυκλοδεξτρίνης. Το υδροξύλιο του δακτυλίου είναι προσανατολισμένο προς το ευρύ άνοιγμα του host ευρισκόμενο σε απόσταση  $1,514 \text{ \AA}$  «κάτω» από το μέσο επίπεδο των  $O4n$  συνδεδεμένο με το γειτονικό host μέσω ενός δεσμού -H με το αιθερικό οξυγόνο  $O54$  και δεσμούς CH...O με τις πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες. Ο δακτύλιος B σταθεροποιείται περαιτέρω μέσω αλληλεπίδρασης τύπου CH/ $\pi$  μεταξύ του δικού του συστήματος  $\pi$  και των ατόμων  $C55-H55$  της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης. Οι δακτύλιοι χρωμόνης της ναριγγενίνης (δακτύλιοι A και C) σχηματίζουν γωνία  $77,261(4)^\circ$  με τον φαινολικό δακτύλιο B και εξέχουν αρκετά από το πρωτοταγές στόμιο του host. Ο δακτύλιος C, που βρίσκεται πιο κοντά προς το στόμιο, σχηματίζει δεσμούς CH...O με τις πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες. Ο δακτύλιος A είναι τοποθετημένος έξω από την κοιλότητα, στον ενδιάμεσο χώρο των γειτονικών μονάδων εγκλεισμού. Το υδροξύλιο του στη θέση 7 συνδέεται με δεσμό -H με το μόριο νερού OW1, που φέρει συμπληρωμένο βαθμό κατάληψης και συνδέει σαν γέφυρα τις γειτονικές ασύμμετρες μονάδες. Τα δύο υδροξύλια του δακτυλίου A (στις θέσεις 5 και 7), σχηματίζουν δεσμούς CH...O με τις μεθοξυ-ομάδες των γειτονικών host.

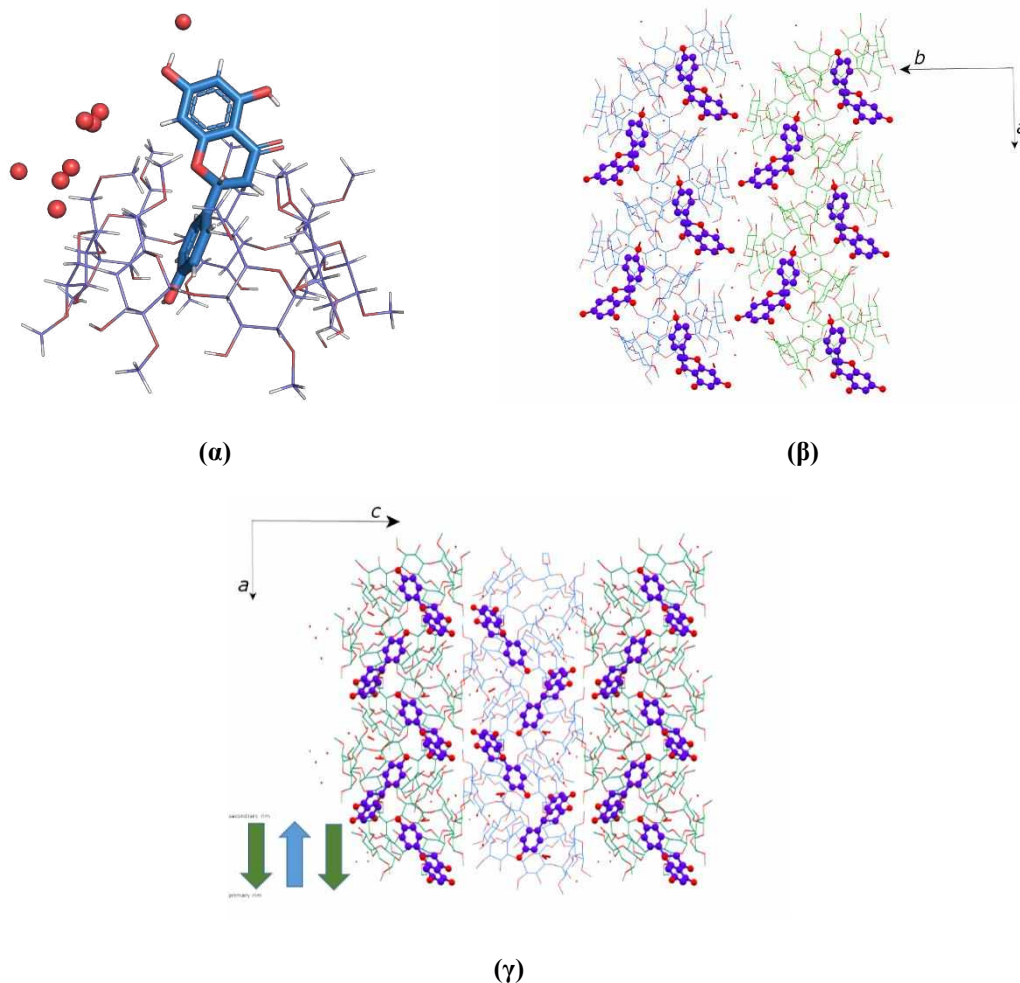
Επιπλέον, το τμήμα χρωμόνης του guest σταθεροποιείται ακόμα περισσότερο με διάφορες αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  μεταξύ του συστήματος  $\pi$  του δακτυλίου A και των μεθοξυ-ομάδων των γειτονικών host. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο τρόπος εγκλεισμού που παρατηρείται στην κρυσταλλική δομή του συγκεκριμένου προϊόντος εγκλεισμού, με το μόριο της ναριγγενίνης να εισέρχεται από την πρωτοταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης, έρχεται σε αντίθεση με τις προβλέψεις που είχαν προκύψει μέσω μελετών μοριακού ελλιμενισμού (molecular docking) (**Sangpheap et al.**

2014) ή φασμάτων 2D-NMR (ROESY) που ελήφθησαν από πειράματα με χρήση NMR σε D<sub>2</sub>O (Yang et al. 2013) και τα οποία παρουσίαζαν το μόριο να εισέρχεται από τη δευτεροταγή πλευρά του host, τον δακτύλιο B να βρίσκεται τοποθετημένος στη κοιλότητα με το υδροξύλιο του να «κοιτάζει» προς το πρωτοταγές στόμιο και τους δακτυλίους χρωμόνης να εξέχουν αρκετά από το ευρύ άνοιγμα του host.

**Πίνακας 4.2.1.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Ναριγγενίνης/DM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Nar/DM-β-CD</b>
Χημικός τύπος		Z=4, C <sub>71.7</sub> H <sub>112.4</sub> O <sub>44.5</sub>
Μοριακή μάζα, Mr		1685,4
Κρυσταλλικό σύστημα / ομάδα χώρου		Ορθορομβικό, P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Θερμοκρασία (K)		100
a / b / c (Å)		15,531 (1) / 17,810 (1) / 30,149 (2)
α / β / γ (°)		90 / 90 / 90
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )		8340,1 (10)
Τύπος ακτινοβολίας		Cu Kα
M (mm <sup>-1</sup> )		0,96
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Περιθλασίμετρο		Bruker APEX-II
Tmin / Tmax		0,583 / 0,752
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]		65321 / 11718 / 10457
Rint		0,056
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )		0,556
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )], wR(F <sup>2</sup> ), S		0,056 / 0,128 / 1,05
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)		11718 / 959 / 80
Δrmax, Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )		0,51 / -0.44
Παράμετρος πλήρους δομής		-0,04 (6) συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)





**Εικόνα 4.2.1.** (α) Η ασύμμετρη μονάδα της κρυσταλλικής δομής του προϊόντος εγκλεισμού Nar/DM-β-CD. Ένα μόριο guest εγκλείεται μερικώς μέσα στην κοιλότητα του host με τον δακτύλιο B να εισέρχεται από την πρωτοταγή πλευρά. (β) Οι μονάδες στοιβάζονται στον χώρο σχηματίζοντας «ψαροκόκκαλο» κατά μήκος του άξονα a. Αυτές οι στοιβές αναπτύσσονται κατά μήκος του άξονα b (απεικόνιση του επιπέδου ab). (γ) Η αντιπαράλληλη διάταξη κατά μήκος του άξονα c (απεικόνιση του επιπέδου ac)

Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της κυκλοδεξτρίνης υποδεικνύουν ότι σε γενικές γραμμές, η κυκλική διαμόρφωση της DM-β-CD παρουσιάζει την συνήθη μορφή δακτυλίου, η οποία οφείλεται κυρίως στους δεσμούς -H που αναπτύσσονται μεταξύ των ατόμων O3n H...O2(n+1) των γειτονικών μονάδων γλυκοκυρανόζης (Aree et al. 1999). Εξάιρεση στον σχηματισμό αυτών των δεσμών αποτελούν οι μονάδες Glu II και Glu III καθώς η απόσταση μεταξύ των ατόμων O32 και O23 είναι 3,324(3) Å, που έχει ως αποτέλεσμα μία ελαφριά απόκλιση από την ιδανική συμμετρία 7<sup>ης</sup> τάξεως του μορίου της κυκλοδεξτρίνης [Dk: διακύμανση της απόστασης μεταξύ των ατόμων O4n και του βαρυκέντρου τους από 4,9230(2) έως 5,3577(3) Å· Φn: διακύμανση γωνιών O4n-1...O4n...O4n+1 από 115,895(11) έως 140,256(6) °]. Να σημειωθεί ότι μία επιπλέον μερική μεθυλίωση (με βαθμό

κατάληψης s.o.f. = 0,7) παρατηρείται στο υδροξύλιο O32-H της δεύτερης μονάδας γλυκοκυρανόζης Glu II της DM-β-CD, καθώς φαίνεται ότι το εμπορικό προϊόν είχε προσμίξεις με ομόλογες ενώσεις με περισσότερα μεθυλωμένα υδροξύλια. Όταν απουσιάζει αυτή η μεθυλίωση, το υδροξύλιο O32H (β. κατάληψης: 0,3) συνδέεται με δεσμό -H με το οξυγόνο του μορίου νερού OW36 (β. κατάληψης: 0,3), το οποίο με τη σειρά του συνδέεται με αντίστοιχο δεσμό με το μόριο OW7 (β. κατάληψης: 0,3). Οι γωνίες κλίσεως  $\tau$  που δείχνουν την κλίση των πρωτοταγών μεθοξυ-ομάδων προς το εσωτερικό ή το εξωτερικό της κοιλότητας ποικίλουν μεταξύ 2,6755(2) και 24,7479(9)°. Οι παρατηρούμενες υψηλές τιμές των γωνιών  $\tau$  που αφορούν τις μονάδες γλυκοκυρανόζης Glu I, Glu II καθώς και τις απέναντί τους Glu V, Glu VI, υποδεικνύουν ένα ευρύ δευτεροταγές στόμιο του host..

Πράγματι, η Ναριγγενίνη όπως εισέρχεται από την στενή πλευρά του host εγκλείεται μερικώς μέσα στην κοιλότητα της DM-β-CD, με το εσωτερικό της δευτεροταγούς πλευράς της δεύτερης να παραμένει ουσιαστικά κενό. Αυτό επιτρέπει στις ασύμμετρες μονάδες του προϊόντος εγκλεισμού να αναπτύξουν μία τάση αυτό-εγκλεισμού των μορίων host (**Bethanis et al. 2018**). Συγκεκριμένα, οι γειτονικές ασύμμετρες μονάδες στοιβάζονται παράλληλα στον άξονα a με τρόπο που δίνει την εικόνα ψαροκόκκαλου (herring bone) με μία κλίση ως προς το επίπεδο bc ίση με 26,56°. Τα μέσα επίπεδα των O4n των γειτονικών host σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 53,12°. Η πρωτοταγής μεθοξυ-ομάδα της Glu IV γλυκοκυρανόζης του επόμενου host που ακολουθεί από «κάτω», εισέρχεται βαθιά μέσα στο ευρύ χείλος της κοιλότητας του «επάνω» host, με το άτομο O54 να συνδέεται με δεσμό -H με το υδροξύλιο του δακτυλίου B του guest. Οι μεθοξυ-ομάδες των γειτονικών γλυκοκυρανοζών (Glu III και Glu V) βρίσκονται επίσης κάτω από το ευρύ χείλος του επάνω host. Οι στήλες που σχηματίζονται από την διάταξη του «ψαροκόκκαλου» είναι διατεταγμένες μεταξύ τους παράλληλα κατά μήκος του άξονα b και αντιπαράλληλα κατά τον άξονα c μετατοπισμένες κατά 5,581(3) Å και συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς -H με μόρια νερού που λειτουργούν σαν γέφυρες (**Εικόνες 4.1.1.β-γ**). Προϊόντα εγκλεισμού της DM-β-CD με παρόμοια διευθέτηση στο χώρο περιλαμβάνουν παρόμοιο, επίσης, αριθμό μορίων νερού (περίπου 4,5 μόρια νερού ανά ασύμμετρη μονάδα) (**Fourtaka et al. 2018**). Το «ψαροκόκκαλο» έχει παρατηρηθεί στην κρυσταλλική δομή της άνυδρης DM-β-CD (**Steiner et al. 1995**) όπου η μεθοξυ-ομάδα O6-C8 του ενός μορίου εισέρχεται μέσα στο επόμενο μόριο με αυτο-εγκλεισμό. Η άνυδρη DM-β-CD κρυσταλλώνει επίσης σε  $P2_12_12_1$  με διαστάσεις κυψελίδας παρόμοιες με αυτές της κρυσταλλικής δομής της NaT/DM-β-CD και με μία μεθοξυ-ομάδα του γειτονικού host να εισέρχεται μέσα στην κοιλότητα του προηγούμενου, με αποτέλεσμα να «γεμίζει» τον χώρο και να «κλείνει» το ευρύ χείλος της DM-β-CD.

Μια εκτενής έρευνα στη βάση δεδομένων CSD κατέληξε σε δύο δομές προϊόντων εγκλεισμού με β-CD, οι οποίες εμφανίζουν παρόμοιες διαστάσεις κυψελίδας (ομοιότητα κατά 94,5 και 91,4% αντιστοίχως) και την ίδια ομάδα χώρου. Παρόλα αυτά και τα δύο μονομερή – (το 2-(2,6-dichloro-3-methylphenylamino)benzoate/β-CD, CCDC code: MANNOE) και το (3-(10,11-dihydro-5H-

dibenzo[a,d][7]annulen-5-ylidene)-N,N-dimethylpropan-1-amine/ $\beta$ -CD, CCDC code: MEJHAN) σχηματίζουν αυλούς κατά μήκος του άξονα b.

#### 4.2.2. Ναριγγενίνη/TM- $\beta$ -CD (Nar/TM- $\beta$ -CD)

Ο κρύσταλλος του προϊόντος εγκλεισμού Nar/TM- $\beta$ -CD ανήκει στην ομάδα χώρου  $P2_1$ . Η ασύμμετρη μονάδα αποτελείται από ένα μόριο TM- $\beta$ -CD που φιλοξενεί ένα μόριο ναριγγενίνης, αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (A και B) με τον ίδιο βαθμό κατάληψης (0,5) (Εικόνα 4.2.2.α).

Ο τρόπος εγκλεισμού είναι παρόμοιος και στις δύο θέσεις: το τμήμα χρωμόνης του guest βρίσκεται στο δευτεροταγές ευρύ άνοιγμα του host και προσανατολισμένο σε «ισημερινή» διάταξη, με το επίπεδό της να σχηματίζει γωνία με το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n του host  $80,4^\circ$  (θέση A) και  $88,3^\circ$  (θέση B). Το φαινολικό τμήμα του (δακτύλιος B) εξέρχει από το ευρύ άνοιγμα του host και βρίσκεται στο ενδιάμεσο χώρο των γειτονικών ασύμμετρων μονάδων (complex units). Η κύρια διαφορά μεταξύ των δύο θέσεων του guest εντοπίζεται στην ελαφρά μετατόπιση του δακτυλίου B [απόσταση μεταξύ των βαρυκέντρων του δακτυλίου B στις θέσεις A και B:  $1,051(2) \text{ \AA}$ ] και στην περιστροφή γύρω από τον άξονα C1'-C2' του μορίου, σχηματίζοντας οι θέσεις A και B γωνία με το επίπεδο των δακτυλίων χρωμόνης  $83,65(2)^\circ$  και  $69,64(3)^\circ$  αντίστοιχα. Και στις δύο αποδιατεταγμένες θέσεις το υδροξύλιο του δακτυλίου B δημιουργεί δεσμό -H με το άτομο O36 της δευτεροταγούς μεθοξυ-ομάδας του γειτονικού host. Στην περίπτωση της θέσης A, το άτομο O4' του υδροξυλίου συμμετέχει σε δεσμούς CH...O με τα μεθύλια των πρωτοταγών και δευτεροταγών μεθοξυ-ομάδων των τριών γειτονικών host. Όσον αφορά τη θέση B, ο δακτύλιος B σταθεροποιείται περαιτέρω με δεσμούς CH...O μεταξύ των ατόμων C2'-H2' με το άτομο O21 του host και των C3'-H3' με το άτομο O66 ενός γειτονικού host.

Επιπλέον, παρατηρούνται και στις δύο θέσεις, αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  μεταξύ του συστήματος  $\pi$  του δακτυλίου B του guest και των μεθυλίων των πρωτοταγών μεθοξυ-ομάδων των γειτονικών host. Οι δακτύλιοι χρωμόνης A και C σταθεροποιούνται με διάφορους δεσμούς -H, και CH...O, όπως και αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  με τον host του μονομερούς, αλλά και με τους host των γειτονικών ασύμμετρων μονάδων. Πιο συγκεκριμένα, και στις δύο αποδιατεταγμένες θέσεις του guest παρατηρείται δεσμός -H μεταξύ του υδροξυλίου στη θέση 7 του δακτυλίου A (O7-H7) και του οξυγόνου O34 της δευτεροταγούς μεθοξυ-ομάδας γειτονικού host. Στη θέση B δημιουργείται ένας επιπλέον δεσμός -H μεταξύ του δεύτερου υδροξυλίου του δακτυλίου A (στη θέση 5) και του οξυγόνου της πρωτοταγούς μεθοξυ-ομάδας του host (O5-H5...O67). Ομοίως στις δύο θέσεις, οι δακτύλιοι A και C συμμετέχουν σε αρκετούς δεσμούς CH...O με τις μεθοξυ-ομάδες τόσο του ίδιου host, όσο και των γειτονικών. Αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  λαμβάνουν χώρα μεταξύ του συστήματος  $\pi$  του δακτυλίου A και των μεθυλίων των host.

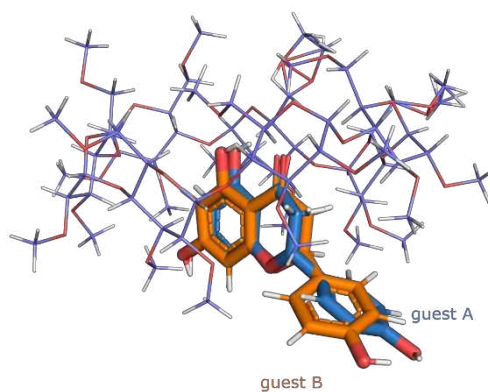
**Πίνακας 4.2.2.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Ναριγγενίνης/TM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Nar/TM-β-CD</b>
Χημικός τύπος		Z=4, C <sub>39</sub> H <sub>50,5</sub> O <sub>20</sub>
Μοριακή μάζα, Mr		850,88
Κρυσταλλικό σύστημα / ομάδα χώρου		Μονοκλινές, P2 <sub>1</sub>
Θερμοκρασία (Κ)		100
a / b / c (Å)		15,758 (3) / 12,913 (2) / 22,273 (3)
α / β / γ (°)		90 / 109,936 (1) / 90
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )		4260,6 (13)
Τύπος ακτινοβολίας		Cu Kα
M (mm <sup>-1</sup> )		0,90
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Περιθλασίμετρο		Bruker APEX-II
Tmin / Tmax		0,496 / 0,753
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]		65916 / 15008 / 14866
Rint		0,046
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )		0,596
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )], wR(F <sup>2</sup> ), S		0,043 / 0,110 / 1,06
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)		15008 / 1050 / 147
Δrmax, Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )		0,38 / -0.35
Παράμετρος πλήρους δομής		0,07 (3) συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

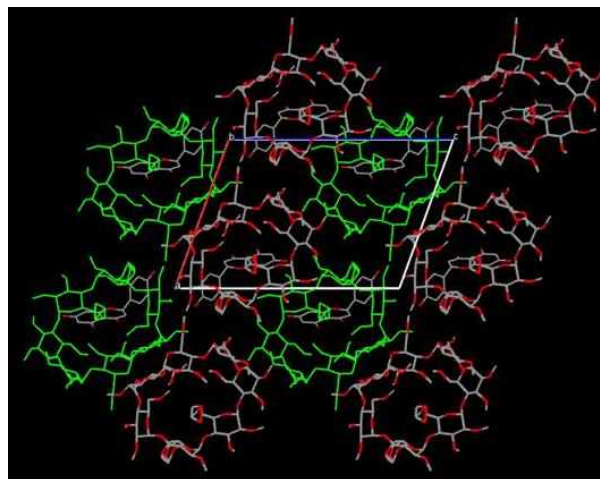
Όπως φαίνεται από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της TM-β-CD, το μόριό της είναι αρκετά παραμορφωμένο, λόγω απουσίας ενδομοριακών δεσμών -H που είναι υπεύθυνοι για την κυκλική διαμόρφωση του μορίου της κυκλοδεξτρίνης, όπως παρατηρείται για παράδειγμα στην DM-β-CD. Η απόκλιση των γλυκοζιτικών ατόμων O4n από το μέσο επίπεδό τους κυμαίνεται μεταξύ -0,805(10) και 0,625(8) Å. Οι αποστάσεις τους από το βαρύκεντρό τους διαφέρουν, επίσης, σημαντικά [από 4,398(6) έως 5,310(8) Å], υποδηλώνοντας μία παραμόρφωση της κυκλικής δομής που αποκτά το σχήμα ενός ελλειπτικού επταγώνου. Ο μακρύς άξονας του ελλειπτικού σχήματος του host συμπίπτει με τον ισημερινό προσανατολισμό του τμήματος χρωμόνης του guest, που υποδηλώνει ότι ο εγκλεισμός είναι αυτός που προκαλεί την παραμόρφωση της TM-β-CD στη προσπάθεια να χωρέσει ο guest στην κοιλότητα. Οι γωνίες κλίσεως τ των μεθυλιωμένων γλυκοκυρανοζών του host (μεταξύ του μέσου

επιπέδου των O4n και του μέσου επιπέδου των ατόμων O4n-1, C1n, C4n και O4n) που ποικίλουν μεταξύ  $-17,28(16)^\circ$  και  $47,61(15)^\circ$ , υποδεικνύουν ένα «κλειστό» πρωτοταγές στόμιο και ένα «ανοικτό» δευτεροταγές. Πιο αναλυτικά, πέντε μονάδες γλυκόζης σχηματίζουν θετικές γωνίες γέρνοντας προς τον άξονα 7<sup>ης</sup> τάξεως, ενώ οι υπόλοιπες δύο (Glu I και Glu V) έχουν αρνητικές γωνίες. Οι υψηλές τιμές των γωνιών  $\tau$  για τις μονάδες Glu III, Glu VI και ιδιαίτερα της Glu VII, δείχνουν τον σχηματισμό του χαρακτηριστικού «καπακιού» της πρωτοταγούς πλευράς που αποτελεί κοινό γνώρισμα των προϊόντων εγκλεισμού της TM-β-CD. Έτσι, ο host εμφανίζει το σχήμα ενός κλειστού κώνου, τον οποίο ο guest δεν μπορεί να διαπεράσει και κατά συνέπεια, παραμένει τοποθετημένος χαμηλά στην δευτεροταγή πλευρά του host. Οι δευτεροταγείς μεθοξυ-ομάδες των μονάδων Glu VI και Glu VII βρίσκονται αρκετά πιο πάνω από το μέσο επίπεδο των υπολοίπων δευτεροταγών μεθοξυ-ομάδων, επιτρέποντας το φαινολικό τμήμα του guest να προεξέχει από το δευτεροταγές άνοιγμα του host. Από την άλλη, οι πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες εμφανίζουν τις συνήθεις διαμορφώσεις τύπου gauche:gauche και gauche:trans, με εξαίρεση μιας θέσης με χαμηλό βαθμό κατάληψης (0,2) που έχει μία ασυνήθιστη διαμόρφωση trans:gauche, σύμφωνα με τις τιμές των γωνιών στρέψης  $t$  (O5n-C5n-C6n-O6n).

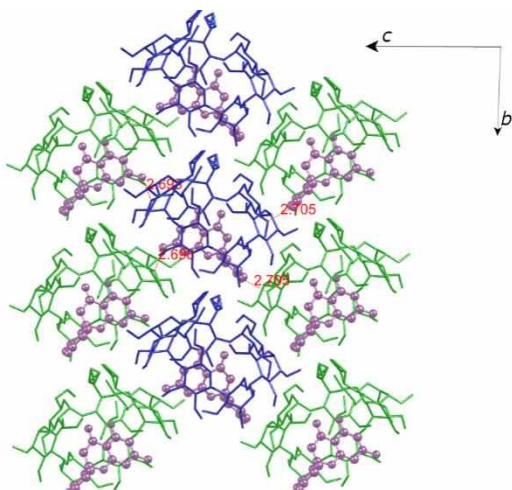
Εξ' αιτίας της απουσίας μορίων νερού, οι ασύμμετρες μονάδες σχηματίζουν αυλούς μορφής κεφαλής-ουράς κατά μήκος του άξονα b, με τα μέσα επίπεδα των ατόμων O4n να παρουσιάζουν κλίση  $33,65(2)^\circ$  ως προς το επίπεδο ac. Οι ασύμμετρες μονάδες αυτών των αυλών συνδέονται μεταξύ τους με πολυάριθμες αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα γειτονικά μόρια των guest και host τύπου CH...O και CH/π. Οι αυλοί παρατάσσονται κατά μήκος των αξόνων a και c. Εντούτοις, οι ασύμμετρες μονάδες τους που διατάσσονται κατά μήκος του άξονα a, έχουν αντίθετες κλίσεις σε σχέση με τις μονάδες των αυλών κατά μήκος του άξονα c (**Εικόνα 4.2.2.β**). Έτσι, κάθε αυλός περιβάλλεται από γειτονικούς όπου οι ασύμμετρες μονάδες τους έχουν αντίθετη κλίση. Κατά τη διάταξη αυτή, η ασύμμετρη μονάδα είναι σφιχτά «συσκευασμένη» με τη μορφή «κλωβού» (cage-type mode), με το ευρύ στεφάνι της TM-β-CD εγκλωβισμένο από τις πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες των γειτονικών μορίων κυκλοδεξτρίνης του ίδιου αυλού και τις δευτεροταγείς μεθοξυ-ομάδες των μορίων κυκλοδεξτρίνης των γειτονικών αυλών, οι οποίες σχηματίζουν δεσμούς -H με τα υδροξύλια των δακτυλίων A και B των εγκλεισμένων μορίων guest (**Εικόνα 4.2.2.γ**). Αν και παρόμοια διευθέτηση έχει αναφερθεί κατά το παρελθόν σε προϊόν εγκλεισμού TM-β-CD (**Caira et al. 1996**), ωστόσο αποτελεί ιδιαίτερη περίπτωση καθώς δεν απαντάται καταχώρηση παρόμοιας κρυσταλλικής δομής (διαστάσεις κυψελίδας και ομάδα χώρου) στη βάση δεδομένων CSD.



(α)



(β)

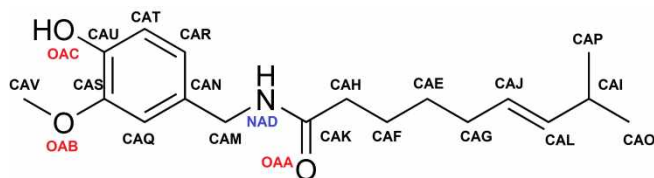


(γ)

**Εικόνα 4.2.2.** (α) Η ασύμμετρη μονάδα της Na<sup>+</sup>/TM-β-CD. (β) Προβολή του επίπεδου ac, όπου διακρίνεται ο αντίθετος προσανατολισμός των αυλών κατά μήκος του άξονα a σε σχέση με τον άξονα c (γ) Προβολή του επίπεδου bc, όπου φαίνεται η σφιχτά «εγκλωβισμένη» ασύμμετρη μονάδα ανάμεσα στις γειτονικές με τη μορφή «κλωβού». Με κόκκινο χρώμα αναγράφονται οι αποστάσεις των δεσμών -H μεταξύ των μορίων guest και host των γειτονικών ασύμμετρων μονάδων.

## 4.3. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΚΑΨΑΪΚΙΝΗΣ

### 4.3.1. Καψαϊκίνη/β-CD (Caps/β-CD)



Η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος εγκλεισμού Caps/β-CD περιλαμβάνει ένα μόριο β-CD, ένα μόριο καψαϊκίνης με αριθμό κατάληψης 0,50 και 11,5 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 16 θέσεις. Ο κρύσταλλος ανήκει στην ομάδα χώρου  $C_2$ , δηλαδή στην μοναδιαία κυψελίδα υπάρχει ένας άξονας συμμετρίας σαν κάτοπτρο, με αποτέλεσμα αυτή να αποτελείται από την ασύμμετρη μονάδα και το είδωλο της. Επομένως, η αναλογία guest:host στη μοναδιαία κυψελίδα είναι 1:2 (**Εικόνα 4.3.1.α**).

Ο guest βρίσκεται τοποθετημένος μέσα στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης σε αξονική θέση (γωνία μεταξύ μέσων επιπέδων ατόμων καψαϊκίνης και ατόμων O4n της β-CD:  $76,91^\circ$ ), με τον βανιλικό δακτύλιο να βρίσκεται μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα, μεταξύ του επιπέδου των ατόμων O4n και της δευτεροταγούς πλευράς της. Ακολουθεί η αλειφατική αλυσίδα που διαπερνάει το πρωτοταγές στόμιο του host, εισέρχεται στη κοιλότητα του επόμενου host επίσης από την πρωτοταγή πλευρά και καταλήγει στο επίπεδο των δευτεροταγών υδροξυλίων. Δημιουργείται, λοιπόν, σε όλο το μήκος του άξονα c μια συνεχής στήλη από μόρια καψαϊκίνης, όπου είναι «περασμένα» τα μόρια της β-CD. Τα δύο τμήματα του μορίου του guest (βανιλικό και αλειφατικό) εμφανίζουν μια ελαφρά κλίση μεταξύ τους, καθώς τα μέσα επίπεδά τους σχηματίζουν γωνία  $23,29^\circ$ . Τέλος, η γωνία που προκύπτει από τα μέσα επίπεδα των βανιλικών δακτυλίων των δύο μορίων καψαϊκίνης του διμερούς είναι  $56,41^\circ$ .

Όσον αφορά το μόριο του host, τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των ατόμων O4n (**Πίνακας 4.3.1**) του προσδίδουν ένα σχήμα που προσομοιάζει αυτό του κανονικού επταγώνου. Ενδεικτικά αναφέρονται οι αποστάσεις Dk [μ. όρος:  $5,041 \text{ \AA}$ , εύρος:  $4,858 \text{ \AA}$  (O41) με  $5,243 \text{ \AA}$  (O46)], d [εύρος:  $-0,034 \text{ \AA}$  (O46) με  $0,028 \text{ \AA}$  (O47)] και D [μ. όρος:  $4,376 \text{ \AA}$ , εύρος:  $4,232 \text{ \AA}$  (O46) έως  $4,540 \text{ \AA}$  (O47)]. Το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n είναι ελαφρώς κεκλιμένο ως προς το επίπεδο ab σχηματίζοντας γωνία  $1,657(7)^\circ$ . Οι μικρές κλίσεις των γλυκοζιτικών μονάδων της β-κυκλοδεξτρίνης αποτυπώνονται από τις τιμές των γωνιών τ [μ. όρος:  $11,76^\circ$ , εύρος:  $6,92^\circ$  (O46) έως  $16,46^\circ$  (O47)] και δηλώνουν ότι το πρωτοταγές στόμιο του host είναι «ανοικτό», επιτρέποντας στο μόριο του guest να διατάσσεται σε αξονική θέση κατά μήκος της κοιλότητας της β-CD. Δύο πρωτοταγή άτομα οξυγόνου (O61 και O63) εμφανίζονται σε δύο αποδιατεταγμένες θέσεις με βαθμό κατάληψης 0,50 η καθεμία, όπου στη μία θέση η γωνία στρέψης t (O5n-C5n-C6n-O6n) έχει διαμόρφωση gauche:gauche, ενώ η άλλη gauche:trans. Οι γωνίες στρέψης t που αφορούν τα υπόλοιπα O6n άτομα είναι διαμόρφωσης

gauche:gauche, οπότε τα O6n έχουν κατά κύριο κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κυκλοδεξτρίνης, ευνοώντας έτσι τη δημιουργία δεσμών -H με γειτονικά μόρια νερού.

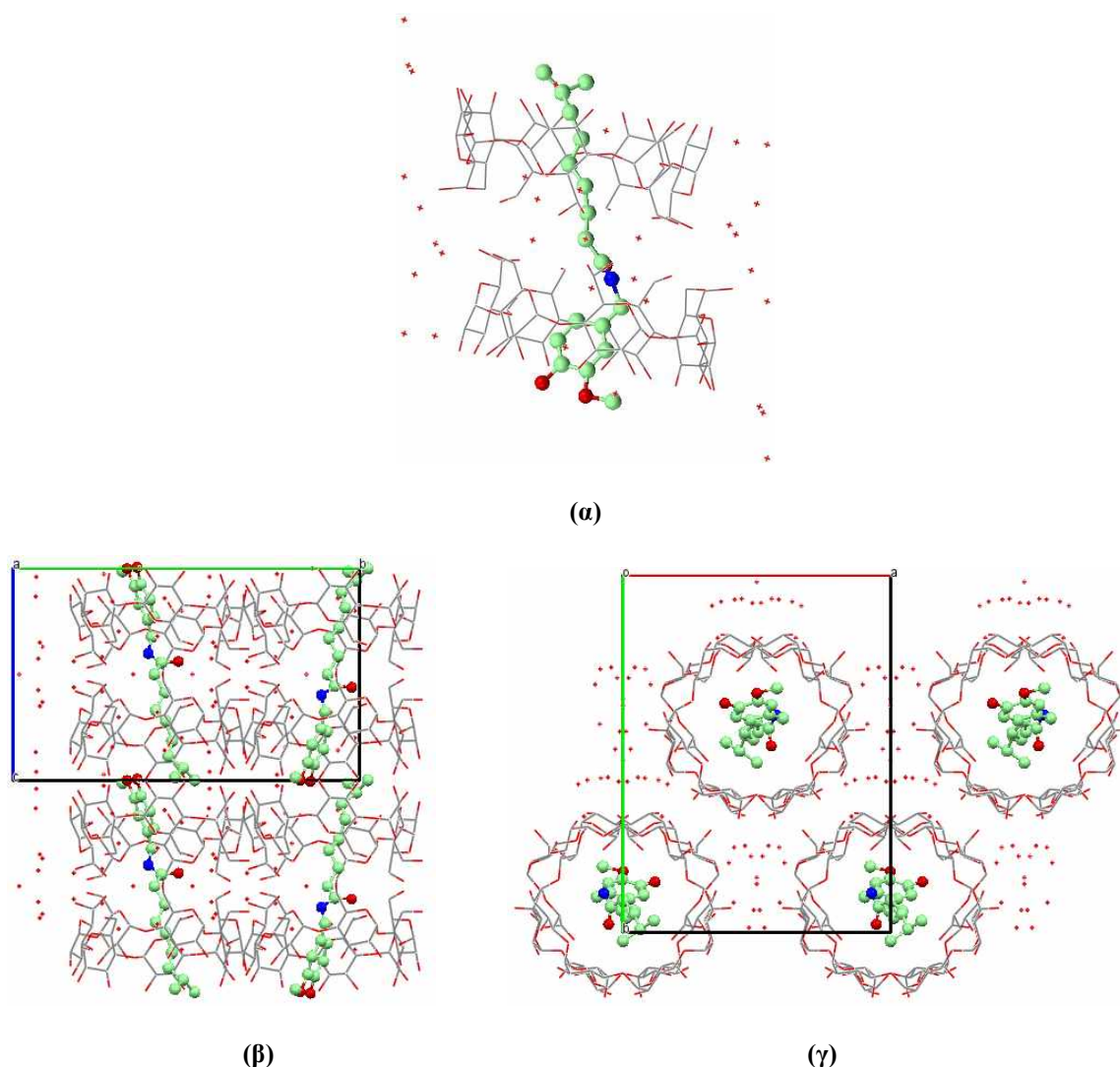
**Πίνακας 4.3.1.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Καψαϊκίνης/β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Caps/β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=8, C <sub>25,5</sub> H <sub>32</sub> N <sub>0,3</sub> O <sub>23,9</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	724,0
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, C2
Θερμοκρασία (K)	100
a / b / c (Å)	19, 356(8) / 24,416(5) / 15,760(4)
α / β / γ (°)	90,00 / 108,90(2) / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	7046(4)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	1,092
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Tmin, Tmax	0,769 / 0,849
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	63257 / 11844 / 11066
Rint	0,042
θmax (°)	65,3
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,674
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,087 / 0,255 / 1,257
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	11844 / 907 / 83
Δρmax / Δρmin (eÅ <sup>3</sup> )	1,184 / -0,447
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,06(4) από 4978 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

Τα μόρια κυκλοδεξτρίνης που αποτελούν το διμερές είναι παράλληλα μεταξύ τους ως συνέπεια της κατοπτρικής συμμετρίας της ομάδας χώρου C2. Μεταξύ τους δημιουργούνται οι κλασικοί δ. υδρογόνου που συνδέουν τα άτομα O2n του ενός μορίου με τα O3n του άλλου. Τα βαρύκεντρα δύο διαδοχικών διμερών απέχουν 15,760(4) Å και η μετατόπισή τους ως προς τον άξονα μετατόπισης c είναι 2,313(7) Å δημιουργώντας κανάλια (CH). Τα γειτονικά διμερή έχουν απόσταση 15,578(3) Å, με



τα  $O4n$  επίπεδα να είναι παράλληλα και δημιουργούν αντίστοιχα κανάλια και με αντιπαράλληλο προσανατολισμό του guest (Εικόνες 4.3.1.β και 4.3.1.γ).



**Εικόνα 4.3.1.** (α) ο εγκλεισμός της καψαϊκίνης σε δύο διαδοχικά μόρια β-CD, (β) ο σχηματισμός καναλιών Caps/β-CD κατά μήκος του άξονα a και (γ) η άποψη των καναλιών από το επίπεδο bc, όπου στον ενδιάμεσο χώρο διακρίνονται τα μόρια νερού.

Πλήθος δεσμών -H παρατηρούνται μεταξύ των πρωτοταγών υδροξυλίων τόσο των διαδοχικών διμερών, όσο και των γειτονικών, ενώ με αντίστοιχους δεσμούς συνδέονται και με τα μόρια νερού του περιβάλλοντα χώρου. Η ισχυρή παρουσία των μορίων νερού έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μεταξύ τους ενός εκτεταμένου δικτύου δεσμών -H που σταθεροποιεί την κρυσταλλική δομή της Caps/β-CD. Από την άλλη, τα μόρια του guest δεν συμμετέχουν σε δεσμούς -H, ούτε παρατηρείται κάποιος αντίστοιχος δεσμός μεταξύ των διαδοχικών και γειτονικών διμερών, αλλά συγκρατούνται με

ένα ευρύ δίκτυο ασθενών δυνάμεων. Πάντως, σύμφωνα με την μέθοδο των **Takahashi et al. 2000** διαπιστώθηκε αλληλεπίδραση CH/π μεταξύ του δακτυλίου του guest με το μόριο της β-CD, όπως φαίνεται και στο Παράρτημα I-Γ (Πίνακας 1).

Κατά την αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD οι δομές με καταχωρημένες ονομασίες DEVTED, BEFDOG και XUBXUN παρουσίαζαν τη μεγαλύτερη ομοιότητα με τον κρύσταλλο της Caps/β-CD (99,42 %, 97,33 % και 97,26 % αντίστοιχα). Οι δύο πρώτες ανήκουν στην ίδια ομάδα χώρου (C2) και ο κρύσταλλος της XUBXUN στην P1, ενώ και στις τρεις δομές παρατηρούνται τα διμερή «κεφαλής-κεφαλής». Η DEVTED αφορά προϊόν εγκλεισμού της β-κυκλοδεξτρίνης με τη βενζοφαινόνη (διφαινυλ-μεθανόνη) που αποτελείται από δύο φαινολικούς δακτυλίους ενωμένους με έναν άνθρακα καρβονυλίου. Σχηματίζονται τα διμερή της β-CD κατά μήκος του άξονα c, με πλήθος δ. -H να συγκρατούν τα διαδοχικά και γειτονικά διμερή σε πυκνά δομημένα κανάλια (CH) και ο guest να βρίσκεται καλά περιτειχισμένος στην κοιλότητα του host με την καρβονυλομάδα του τοποθετημένη στο μέσο επίπεδο των ατόμων O4n (**Le Bas et al. 1984**). Το BEFDOG προκύπτει από τον εγκλεισμό του 4-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος και της β-CD και θεωρείται ότι ο σχηματισμός των διμερών τύπου «κεφαλής-κεφαλής» και η διευθέτησή τους στον χώρο σε κανάλια οφείλεται αφ' ενός στην CH...O αλληλεπίδραση μεταξύ ενός οξυγόνου της καρβοξυλομάδας του guest και ενός πρωτοταγούς ατόμου υδρογόνου του host και αφ' ετέρου στους διαμοριακούς δεσμούς -H τόσο μεταξύ των απέναντι πρωτοταγών, όσο και των απέναντι δευτεροταγών υδροξυλίων των διαδοχικών μορίων της β-CD (**Liu et al. 2003**). Τέλος, στη δομή XUBXUN το διμερές της β-CD εγκλείει ένα μόριο φερομόνης, της [(Z)-τετραδεκ-7-εν-1-άλης [(Z)-tetradec-7-en-1-al], σχηματίζοντας στον χώρο κανάλια (CH), ενώ στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των γειτονικών καναλιών βρίσκεται επίσης εγκλωβισμένο ένα ακόμα μόριο του guest (**Yannakopoulou et al. 2002**).

#### 4.3.2. Καψαϊκίνη/DM-β-CD (Caps/DM-β-CD)

Ο κρύσταλλος Caps/DM-β-CD ανήκει στην ομάδα χώρου P1, με την ασύμμετρη κυψελίδα να περιέχει δύο μόρια του host και δύο μόρια καψαϊκίνης [αναλογία guest:host (2:2)], ενώ δεν υπάρχουν μόρια νερού. Ουσιαστικά πρόκειται για δύο μονομερή A και B σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους (γωνία των μέσων επιπέδων των ατόμων O4n των δύο μονομερών: 4,18 °) και με προσανατολισμό που θυμίζει τον τύπο «κεφαλής - κεφαλής». Παρ' όλα αυτά, δεν σχηματίζουν το διμερές που παρατηρείται στα αντίστοιχα σύμπλοκα της β-κυκλοδεξτρίνης, καθώς τα μονομερή δεν είναι τοποθετημένα το ένα κάτω από το άλλο, αλλά διαγώνια, με τα βαρύκεντρα των επιπέδων των O4n ατόμων να απέχουν 14,52 Å (**Εικόνα 4.3.2.α**). Επίσης, οι προβολές των προαναφερόμενων βαρυκέντρων ως προς το επίπεδο (bc) έχουν απόσταση 14,355 Å. Επιπλέον, τα μόρια της DM-β-CD

σε σχέση με το επίπεδο bc είναι προσανατολισμένα πλάγια σχηματίζοντας γωνίες  $28,78^\circ$  (μονομερές A) και  $24,64^\circ$  (μονομερές B).

Αυτή η πλάγια διαμόρφωση φαίνεται να οφείλεται στη διευθέτηση των μορίων της καψαϊκίνης που αναγκάζει τα μόρια του host να προσανατολιστούν αναλόγως. Κατ' αρχήν, οι διεδρες γωνίες O5n-O5n-C6n-O6n που παρατηρούνται στους host των μονομερών έχουν υιοθετήσει κυρίως τη διαμόρφωση gauche:gauche με κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας, επιτρέποντας με αυτό τον τρόπο την βαθιά είσοδο της αλειφατικής αλυσίδας της καψαϊκίνης στην κοιλότητα του host. Πράγματι, το αλειφατικό άκρο της βρίσκεται τοποθετημένο περίπου στο μέσο επίπεδο των ατόμων C5n του host, με την υπόλοιπη αλειφατική αλυσίδα να διατρέχει όλη τη κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης και να εξέρχεται από το δευτεροταγές στόμιό της, ενώ ο βανιλλικός δακτύλιος εξέχει αρκετά από το μόριο του host και καταλαμβάνει τον ενδιάμεσο κενό χώρο. Το μόριο του guest δεν εκτείνεται ευθύγραμμα, καθώς τα μέσα επίπεδα της αλειφατικής αλυσίδας και του βανιλλικού δακτυλίου σχηματίζουν γωνίες  $53,17^\circ$  και  $72,96^\circ$  (guest A και B αντίστοιχα), ενώ η αλειφατική αλυσίδα του σχηματίζει, επίσης με τα μέσα επίπεδα των ατόμων O4n των δύο host, γωνία  $61,29^\circ$  (μονομερές A) και  $66,68^\circ$  (μονομερές B).

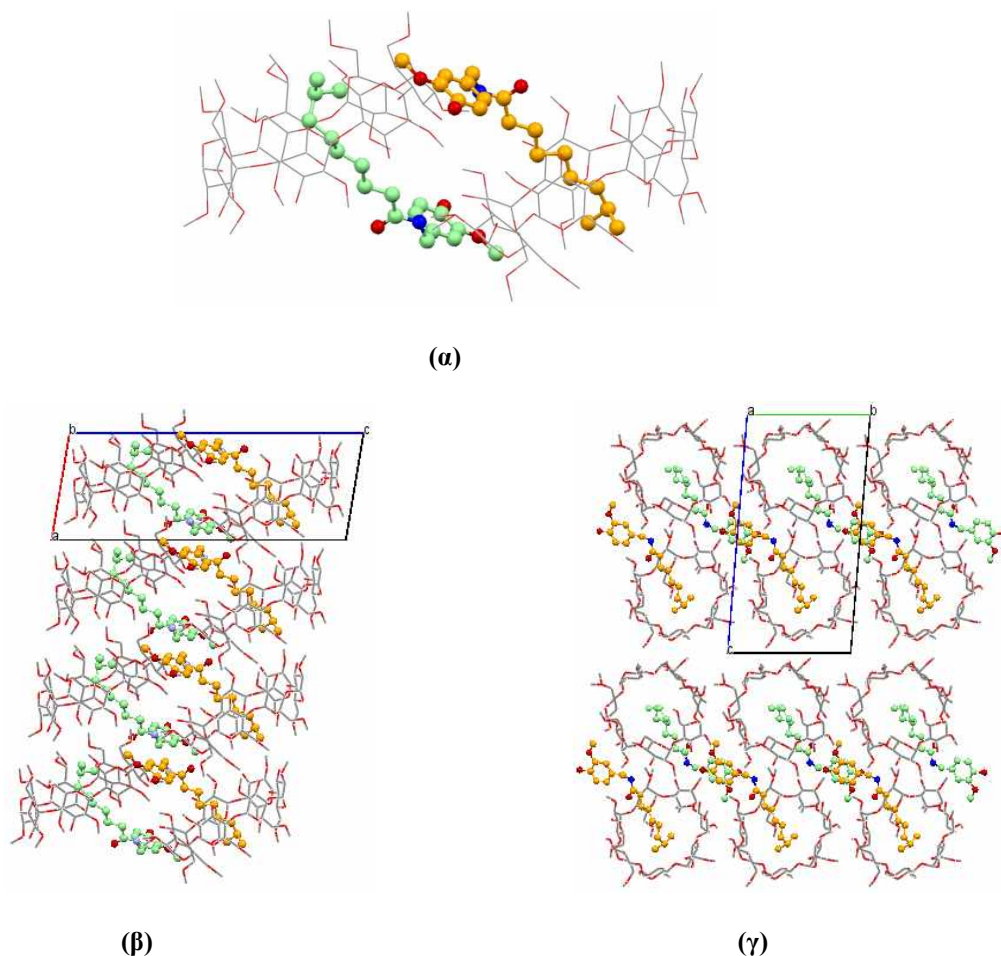
Οι **Huang et al. (2019)** για να διαπιστώσουν την ευνοϊκότερη διαμόρφωση του μορίου της καψαϊκίνης κατά τον εγκλεισμό της στην HP-β-CD εφάρμοσαν, μεταξύ άλλων, τεχνικές μοριακού σχεδιασμού (molecular modeling) και μοριακής δυναμικής, όπου κατέληξαν ότι ευνοείται περισσότερο ο εγκλεισμός της καψαϊκίνης με τον εγκλεισμό του αρωματικού δακτυλίου στην κοιλότητα του host και το αλειφατικό τμήμα να εξέχει από την πρωτοταγή πλευρά του host (aromatic moiety-in) συγκριτικά με την αντίθετη διαμόρφωση (aromatic moiety-out). Η προτίμηση στη διαμόρφωση «aromatic moiety-in» οφείλεται στην ανάπτυξη δεσμών OH...O μεταξύ guest και host με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός αρκετά σταθερότερου προϊόντος εγκλεισμού, σε σχέση με τη διαμόρφωση «aromatic moiety-out» όπου μεταξύ του αλειφατικού τμήματος του guest και του μορίου του host παρατηρούνται μόνο ασθενείς δυνάμεις Van der Waals. Όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι ισχύουν και στην περίπτωση της β-CD, όχι όμως και στην DM-β-CD, όπου η καψαϊκίνη είναι τοποθετημένη με το αλειφατικό τμήμα μέσα στην κοιλότητα και τον αρωματικό δακτύλιο έξω από την δευτεροταγή πλευρά του host. Πιθανόν, η δυνατότητα σύνδεσης του αρωματικού δακτυλίου του guest με τους γειτονικούς host μέσω δεσμών -H, αλλά και των π-π αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται μεταξύ των αρωματικών δακτυλίων των διπλανών guest, να ευνοούν αυτή την «έξοδο» του αρωματικού δακτυλίου από την κοιλότητα της DM-β-CD.

**Πίνακας 4.3.2.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Καψαϊκίνης/DM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Caps/DM-β-CD</b>
Χημικός τύπος	$Z=2, C_{74}H_{92.5}NO_{38.1}$	
Μοριακή μάζα, Μr	1604	
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, <i>P1</i>	
Θερμοκρασία (Κ)	100	
a / b / c (Å)	10,676(15) / 14,871(16) / 29,254(6)	
α / β / γ (°)	94,52(11) / 99,43(17) / 90,76(14)	
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	4566(12)	
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka	
M (mm <sup>-1</sup> )	0,808	
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II	
Tmin, Tmax	0,590 / 0,755	
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	70178 / 17391 / 11659	
Rint	0,136	
θmax (°)	49,9	
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,536	
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,124 / 0,316 / 1,308	
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	17391 / 2065 / 386	
Δrmax / Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )	1,108 / -0,480	
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,22(12) από 3101 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)	

Τα μόρια της DM-β-CD διατηρούν το επταγωνικό σχήμα, αν και όπως δείχνουν οι μετρήσεις παρουσιάζουν μια πιο «χαλαρή» δομή από εκείνη της β-κυκλοδεξτρίνης. Για παράδειγμα, οι αποστάσεις d των ατόμων O4n από το μέσο επίπεδό τους [host A: -0,136 Å (O42) έως 0,167 Å (O47), host B: -0,219 Å (O43) έως 0,186 Å (O45)], οι γωνίες Φ<sub>h</sub> που δημιουργούνται μεταξύ των γειτονικών O4n [host A: 121,63 ° (O42) έως 133,80 ° (O43), host B: 119,97 ° (O41) έως 133,26 ° (O46)] και οι γωνίες κλίσης τ που σχηματίζουν οι μονάδες γλυκόζης με το επίπεδο των ατόμων O4n [host A: 1,45 ° (Glu IV) έως 19,62 ° (Glu II), host B: 3,14 ° (Glu VII) έως 26,04 ° (Glu V)] παρουσιάζουν μεγαλύτερο εύρος από αυτές που καταγράφηκαν στο προηγούμενο προϊόν εγκλεισμού Caps/β-CD.

Τέλος, το άτομο O64 του host A είναι το μοναδικό πρωτοταγές υδροξύλιο που εμφανίζεται σε δύο θέσεις (βαθμοί κατάληψης 0,60:0,40).

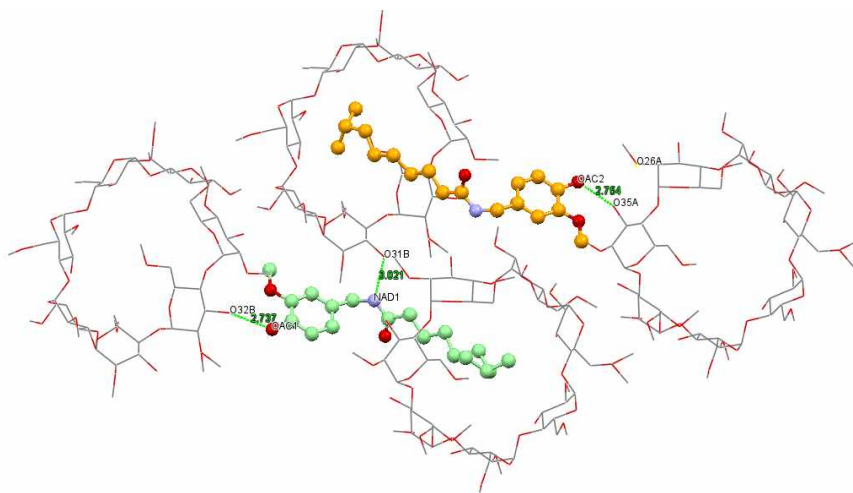


**Εικόνα 4.3.2.** (α) η ασύμμετρη μονάδα της Caps/DM-β-CD με τα μονομερή A και B, (β) η δημιουργία καναλιών κατά μήκος του άξονα b και (γ) τα κανάλια κατά μήκος του άξονα a

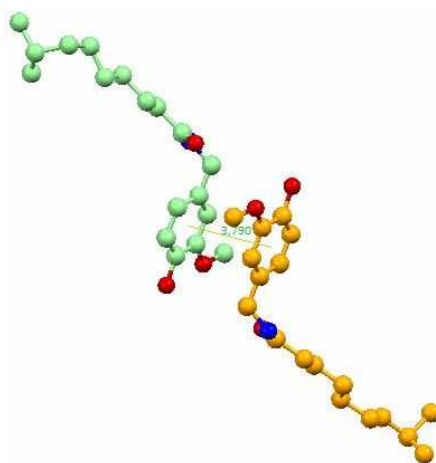
Τα μονομερή A και B δημιουργούν μεταξύ τους αντιπαράλληλα κανάλια κατά μήκος του άξονα a, αλλά αυτή η πλάγια διεύθυνση των δύο μονομερών και η μεγάλη μεταξύ τους απόσταση, έχει ως αποτέλεσμα να γίνεται λόγος για δύο ξεχωριστά κανάλια, το ένα αποτελούμενο από μονομερή A (κανάλι A) και το άλλο από B (κανάλι B) (**Εικόνα 4.3.2.β**). Παρ' όλα αυτά και στα δύο κανάλια, οι αποστάσεις που χαρακτηρίζουν δύο διαδοχικά μονομερή είναι ίδιες. Έτσι, και για τους δύο τύπους καναλιών, η απόσταση που χωρίζει δύο διαδοχικά μονομερή είναι 10,676 Å και η μετατόπιση που παρουσιάζουν είναι 5,98(3) και 6,59(2) Å για τους host A και B αντίστοιχα. Ομοίως, η ίδια απόσταση (14,870 Å) χωρίζει τόσο τα αντίστοιχα γειτονικά μονομερή A όσο και τα γειτονικά B (**Εικόνα 4.3.2.γ**).

Η απουσία μορίων νερού περιορίζει, όπως είναι αναμενόμενο, την δημιουργία δεσμών -H στον κρύσταλλο. Έτσι, πέρα από τους χαρακτηριστικούς ενδομοριακούς δεσμούς -H που σχηματίζονται μεταξύ των ατόμων O2n και O3n της δευτεροταγούς πλευράς του host, δεν υπάρχει κάποιος παρόμοιος δεσμός που να συνδέει τον guest και τον host του ίδιου μονομερούς ή να συνδέει host:host διαδοχικών ή γειτονικών μονομερών. Παρά το γεγονός αυτό, ενδιαφέροντες δεσμοί υδρογόνου παρατηρούνται μεταξύ του guest και μορίων host γειτονικών καναλιών. Συγκεκριμένα, δεσμοί υδρογόνου δημιουργούνται μεταξύ των ατόμων οξυγόνου OAC1 (guest A) και OAC2 (guest B) των βανιλικών δακτυλίων και των ατόμων O32B και O35A αντίστοιχα των γειτονικών host B και A αντίστοιχα (απόσταση OAC1... O32B: 2,737 Å και απόσταση OAC2... O35A: 2,764 Å). Επίσης, έντονο ενδιαφέρον προκαλεί ο δεσμός -H που παρατηρείται μεταξύ του ατόμου αζώτου του guest A (NAD1) και του ατόμου O31B του γειτονικού host B (απόσταση NAD1...O31B: 3,021 Å) (**Εικόνα 4.3.3.α**). Ο ιδιαίτερος προσανατολισμός των δύο guest έχει ως αποτέλεσμα να συμβαίνουν αλληλεπιδράσεις CH/π μεταξύ του ενός host και του άλλου guest (hostA-guestB και hostB-guestA). Πιο συγκεκριμένα, στην έβδομη μονάδα γλυκόζης (Glu VII) του host A, τα άτομα H27A και H77A που συνδέονται το μεν πρώτο με το δευτεροταγές άτομο C27A και το δεύτερο με το C77 της μεθοξυ-ομάδας, αλληλεπιδρούν με το π-σύστημα του guest B και στον host B το άτομο H21B του επίσης δευτεροταγούς C21B με τον δακτύλιο του guest A. Αλλά, ίσως η πιο αξιοσημείωτη αλληλεπίδραση είναι η π-π που συμβαίνει μεταξύ των βανιλικών δακτυλίων των γειτονικών guest A και B, ισχυροποιώντας ακόμα περισσότερο τη δομή του κρυστάλλου (**Εικόνα 4.3.3.β**). Οι γειτονικοί δακτύλιοι των δύο guest είναι μετατοπισμένοι ο ένας ως προς τον άλλο κατά 1,635 Å, με τα μέσα επίπεδα τους σχεδόν παράλληλα (γωνία: 1,86 °) και τα βαρύκεντρα να απέχουν 3,790 Å, ικανοποιώντας τα χαρακτηριστικά μιας π-π αλληλεπίδρασης (**Janiak 2000, Avasthi et al. 2014**).

Η δομή Caps/DM-β-CD διαφέρει από άλλες αντίστοιχες της DM-β-CD που έχουν κατά καιρούς ερευνηθεί (**Trollope et al. 2014, Bethanis et al. 2018, Fourtaka et al. 2018, Papaioannou et al. 2020**), οι οποίες ανήκουν κυρίως στην ορθορομβική ομάδα χώρου  $P2_12_12_1$ . Επίσης, οι ασύμμετρες κυψελίδες τους διαφέρουν από την αντίστοιχη της Caps/DM-β-CD, καθώς περιέχουν ένα μόριο host και ένα guest, αλλά και μόρια νερού. Τα κανάλια που δημιουργούν κατά μήκος του εκάστοτε άξονα είναι τύπου «ψαροκόκκαλου» (herring-bone), δηλαδή τα μέσα επίπεδα των ατόμων O4n των διαδοχικών μονομερών δημιουργούν τέτοιες γωνίες, ώστε δύο πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες του επόμενου host να θεωρούνται μερικώς εγκλεισμένες στην κοιλότητα του προηγούμενου host. Από τα παραπάνω, ο κρύσταλλος Caps/DM-β-CD μπορεί να χαρακτηριστεί μοναδικός και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον.



(α)

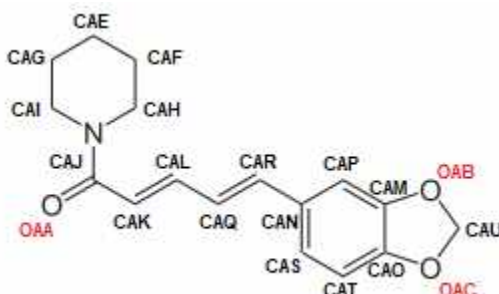


(β)

**Εικόνα 4.3.3.** (α) Χαρακτηριστικοί δεσμοί υδρογόνου μεταξύ γειτονικών host:guest. Στο μέσον ο δεσμός μεταξύ του ατόμου αζώτου του guest A (NAD1) με το δευτεροταγές υδροξύλιο του host B (O31B) και (β) η διάταξη των γειτονικών guest A και B, όπου διακρίνεται η π-π αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο βανιλικών δακτυλίων

## 4.4. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΠΙΠΕΡΙΝΗΣ

### 4.4.1. Πιπερίνη/β-CD (Pip/β-CD)



Το προϊόν πιπερίνης/β-CD σχηματίζει τρικλινή κρύσταλλο που ανήκει στην ομάδα χώρου *P1*, με την στοιχειομετρία guest:host να είναι 1:2. Συγκεκριμένα, η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει δύο μόρια β-κυκλοδεξτρίνης με τις πρωτοταγείς πλευρές τους διατεταγμένες απέναντι τη μία στην άλλη, ένα αποδιατεταγμένο μόριο πιπερίνης σε δύο θέσεις A και B με βαθμό κατάληψης 0,60 και 0,40 αντίστοιχα και, τέλος, 18,5 μόρια νερού. Η στοιχειομετρία έρχεται σε συμφωνία με μελέτες DSC που κατέληξαν ότι ευνοείται η δημιουργία συμπλόκων Pip/β-CD σε αναλογία 1:1 και 1:2 (Ezawa et al. 2016).

Στην ασύμμετρη μονάδα, τα δυο μόρια του host βρίσκονται με τις πρωτοταγείς πλευρές τους τοποθετημένες απέναντι η μία από την άλλη (διαμόρφωση διμερούς που μπορεί να χαρακτηριστεί τύπου «ουράς-ουράς») (Εικόνα 4.4.1.α) και σχεδόν παράλληλα μεταξύ τους (γωνία μεταξύ των δύο μέσων επιπέδων των ατόμων O4n: 0,86 °). Εμφανίζουν τη συνηθισμένη «στιβαρή» δομή που ομοιάζει με το σχήμα κανονικού επταγώνου, χωρίς να υπάρχει κάποια αποδιατεταγμένη θέση, με την πλειοψηφία των πρωτοταγών υδροξυλίων να έχουν κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας, υποδηλώνοντας έτσι ότι οι γωνίες στρέψης  $\tau$  μεταξύ των ατόμων O5n-C5n-C6n-O6n έχουν διαμόρφωση gauche:gauche.

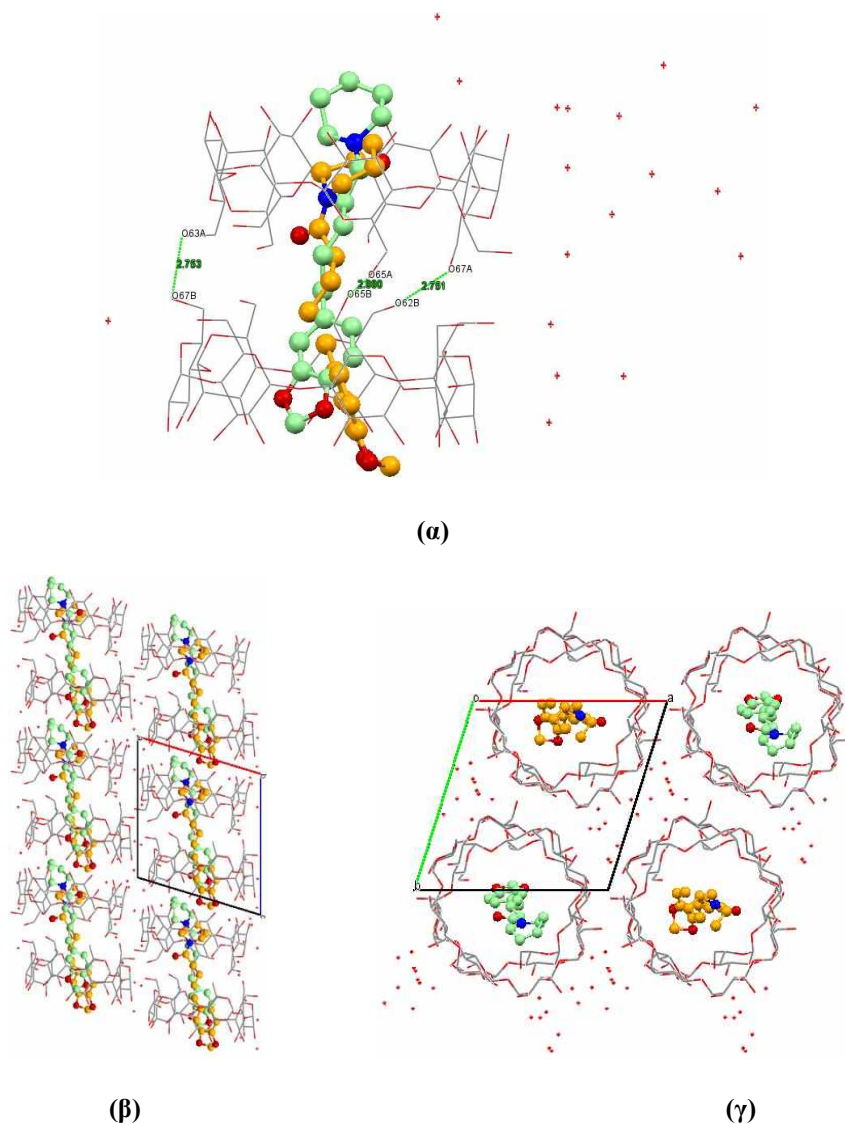
Ο guest και στις δύο θέσεις A και B βρίσκεται σε αξονική θέση μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα και διαπερνά το εσωτερικό των διαδοχικών host της ασύμμετρης μονάδας, «ξεκινώντας» από τη δευτεροταγή πλευρά του ενός και καταλήγοντας στη δευτεροταγή πλευρά του άλλου host. Οι δύο αποδιατεταγμένες θέσεις του guest έχουν την ίδια διεύθυνση, αλλά εμφανίζουν μία μικρή μετατόπιση. Στον guest A εξέχει ελαφρώς ο δακτύλιος της πιπεριδίνης από το δευτεροταγές στόμιο του host A και το τμήμα του 1,3-βενζοδιοξολίου καταλήγει στο δευτεροταγές άκρο του δεύτερου host B μεταξύ των επιπέδων των ατόμων C2n-C3n και O2n-O3n. Αντίθετα, στον guest B ενώ ο δακτύλιος της πιπεριδίνης βρίσκεται περίπου στο επίπεδο των ατόμων C2n-C3n του host A, το 1,3-βενζοδιοξολίου εξέχει ελαφρώς του δευτεροταγούς στομίου του host B. Κατά συνέπεια, όπως



εκτείνονται τα κανάλια του συμπλόκου Pip/β-CD κατά μήκος του άξονα c (Εικόνα 4.4.1.γ), δημιουργείται μια συνεχής αλληλουχία του μορίου της πιπερίνης δίνοντας την εντύπωση μιας συνεχούς στήλης, αντίστοιχη με αυτές που παρατηρείται και σε άλλες περιπτώσεις όταν ο guest είναι ένα μακρύ μόριο.

**Πίνακας 4.4.1.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Πιπερίνης/β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Pip/β-CD</b>
Χημικός τύπος		Z=2, C <sub>50.5</sub> H <sub>79.5</sub> N <sub>0.5</sub> O <sub>45.8</sub>
Μοριακή μάζα, Mr		1429,7
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου		Τρικλινές, P1
Θερμοκρασία (K)		100
a / b / c (Å)		15,435(2) / 15,452(2) / 15,502(2)
α / β / γ (°)		104,77(5) / 100,77(5) / 104,22(6)
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )		3341(1)
Τύπος ακτινοβολίας		Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )		1,117
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Περιθλασίμετρο		Bruker APEX-II
T <sub>min</sub> , T <sub>max</sub>		0,603 / 0,753
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]		53876 / 22276 / 20788
R <sub>int</sub>		0,035
θ <sub>max</sub> (°)		66,9
(sin θ/λ) <sub>max</sub> (Å <sup>-1</sup> )		0,687
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S		0,140 / 0,378 / 1,383
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)		22276 / 1865 / 953
Δr <sub>max</sub> / Δr <sub>min</sub> (eÅ <sup>3</sup> )		1,166 / -0,585
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x		0,14(14) από 8732 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)



**Εικόνα 4.4.1.** (α) Η ασύμμετρη μονάδα της Pip/β-CD με τα δύο μορία πιπερίνης να σχηματίζουν διμερές τύπου «ουράς-ουράς», όπου διακρίνονται και οι δεσμοί υδρογόνου που συνδέουν ορισμένα πρωτοταγή υδροξύλια των απέναντι μορίων της β-CD, (β) η διάταξη των διμερών κατά μήκος του άξονα a και η δημιουργία καναλιών (CH) και (γ) άποψη του προϊόντος εγκλεισμού κατά μήκος του άξονα c.

Από τα παραπάνω αποσαφηνίζεται ο προσανατολισμός του μορίου πιπερίνης, καθώς οι **Ezawa et al. (2019)** μετά από εξέταση μείγματος Pip/β-CD (1:1) που προέκυψε έπειτα από άλεση (ground mixture) σε FT-IR, υπέθεσαν ότι η είσοδος της πιπερίνης στο μόριο της β-CD γίνεται από τη δευτεροταγή πλευρά με το 1,3-βενζοδιοξόλιο να εισέρχεται στην κοιλότητα και τον εξαμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο να βρίσκεται εκτός του μορίου του host. Αντίθετα, εδώ φαίνεται ότι το 1,3-βενζοδιοξόλιο βρίσκεται μεν μέσα στην κοιλότητα της β-CD, αλλά εισέρχεται από την πρωτοταγή πλευρά της με αποτέλεσμα να προεξέχει το υπόλοιπο τμήμα του μορίου της πιπερίνης.

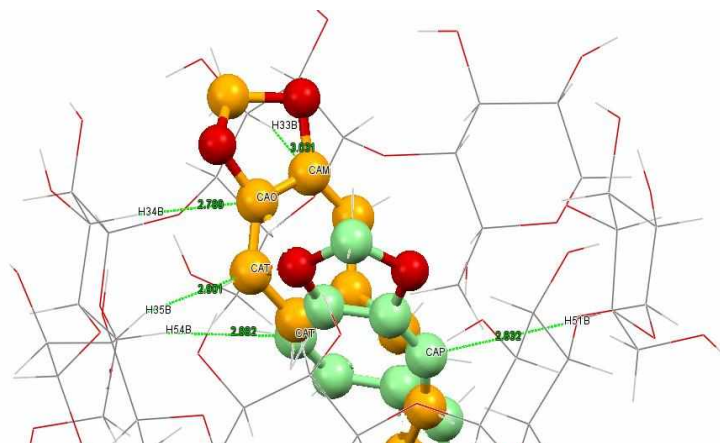
Τα προϊόντα εγκλεισμού καθώς εκτείνονται στον χώρο κατά μήκος του άξονα *c* δημιουργούν κανάλια, όπου ανά ζεύγη σχηματίζουν διμερή. Στα μόρια β-CD του ίδιου διμερούς, οι προβολές των βαρυκέντρων των μορίων β-CD των ατόμων O4n στο επίπεδο *ab* εμφανίζουν μετατόπιση 1,199 Å. Όσον αφορά τα διαδοχικά διμερή, αυτά είναι παράλληλα μεταξύ τους, με τις προβολές των βαρυκέντρων τους στο επίπεδο *ab* να παρουσιάζουν μετατόπιση 3,101 Å, με αποτέλεσμα τα σχηματιζόμενα στον χώρο κανάλια, να είναι τύπου (CH) (**Εικόνα 4.4.1.β**).

Τα γειτονικά κανάλια έχουν παράλληλη διάταξη και αποτελούνται από διμερή επίσης παράλληλα μεταξύ τους. Η απόσταση των βαρυκέντρων δύο γειτονικών διμερών είναι 15,452 Å και συγκρίνοντας αυτή την απόσταση με την αντίστοιχη των βαρυκέντρων δύο διαδοχικών διμερών του ίδιου καναλιού (15,502 Å) διαπιστώνεται ότι η διάταξη των διμερών στον χώρο προσομοιάζει την εικόνα ενός επικλινούς κύβου.

Κατά κύριο λόγο ασθενείς ελκτικές δυνάμεις μεταξύ host:guest συμμετέχουν στον εγκλεισμό της πιπερίνης. Ωστόσο, η παρουσία των αρωματικών δακτυλίων των δύο θέσεων A και B της πιπερίνης έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργούνται αλληλεπιδράσεις CH/π με άτομα υδρογόνου του host B, οι οποίες συγκρατούν τον guest μέσα στην κοιλότητα της β-CD (**Εικόνα 4.4.2**) και παρατίθενται στο Παράρτημα I-Γ (Πίνακας 3).

Στα μόρια β-CD που απαρτίζουν το διμερές παρατηρούνται, όπως είναι αναμενόμενο, δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ατόμων O2n του ενός host και O3n του άλλου. Τα διαδοχικά διμερή συγκρατώνται, επίσης με δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ ορισμένων πρωτοταγών υδροξυλίων (O63A...O67B: 2,751 Å, O65A...O65B: 2,753 Å, O67A...O62B: 2,861 Å) (**Εικόνα 4.4.1.α**). Παρόμοιοι δεσμοί, και μάλιστα περισσότεροι σε αριθμό, απαντώνται μεταξύ τόσο πρωτοταγών, όσο και δευτεροταγών υδροξυλίων των μορίων κυκλοδεξτρίνης των γειτονικών καναλιών. Τέλος, ένα ισχυρό δίκτυο δεσμών -H δημιουργείται και από την παρουσία των ατόμων νερού στον περιβάλλοντα χώρο σταθεροποιώντας τον κρύσταλλο.

Στη βάση δεδομένων CSD υπάρχουν πολλές δομές που ομοιάζουν με το εξεταζόμενο προϊόν εγκλεισμού, με τις TIBBEN (**Bethanis et al. 2013**), UYIKAP (**Kemelbekov et al. 2010**) και OFAXID (**Wang et al. 2007**) να εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ομοιότητα (97,90 %, 97,83 % και 96,87 % αντίστοιχα). Αφορούν τον εγκλεισμό της θυμόλης, της καζκαΐνης που είναι ένα τοπικό αναισθητικό και του 4-υδροξυ-δифαινυλίου σε β-CD. Ομοιάζουν με την Pip/β-CD καθώς εμφανίζουν συμμετρία χώρου *P1* και σχηματίζουν διμερή τα οποία εκτείνονται κατά μήκος του άξονα *c*. Δημιουργούν στον χώρο κανάλια (CH), ενώ η στοιχειομετρία guest:host είναι για τις TIBBEN και OFAXID 2:2 και για την OFAXID 1:2. Στην TIBBEN καταγράφονται μεταξύ host:guest αλληλεπιδράσεις τύπου CH/π όπως και στην περίπτωση της Pip/β-CD, ενώ στην OFAXID η παρουσία δύο αρωματικών δακτυλίων στο μόριο του 4-υδροξυ-δифαινυλίου οδηγεί στην δημιουργία π-π αλληλεπιδράσεων μεταξύ των δύο εγκλεισμένων μορίων του.



**Εικόνα 4.4.2.** Λεπτομέρεια από το προϊόν Pip/β-CD, όπου καταγράφονται οι αλληλεπιδράσεις CH/π μεταξύ ατόμων υδρογόνου του host B και των αρωματικών δακτυλίων των δύο θέσεων A και B της πιπερίνης (πράσινο και πορτοκαλί αντίστοιχα)..

#### 4.4.2. Πιπερίνη/DM-β-CD (Pip/DM-β-CD)

Το προϊόν εγκλεισμού κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου  $P2_1$ , που σημαίνει ότι ο κρύσταλλος είναι μονοκλινής και η μοναδιαία κυψελίδα περιστρέφεται στο χώρο κατά  $90^\circ$  παρουσιάζοντας ταυτόχρονα μία μετατόπιση, παράλληλη ως προς τον άξονα  $7^{th}$  συμμετρίας, κατά το  $\frac{1}{2}$  του μήκους της πλευράς της κυψελίδας (στη συγκεκριμένη περίπτωση της πλευράς c). Όσον αφορά, την ασύμμετρη μονάδα αποτελείται από ένα μόριο DM-β-CD, ένα μόριο πιπερίνης και ένα μόριο νερού. Τόσο το μόριο πιπερίνης, όσο και του νερού έχουν βαθμό κατάληψης 0,50, που σημαίνει ότι η αναλογία guest:host μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι 1:2.

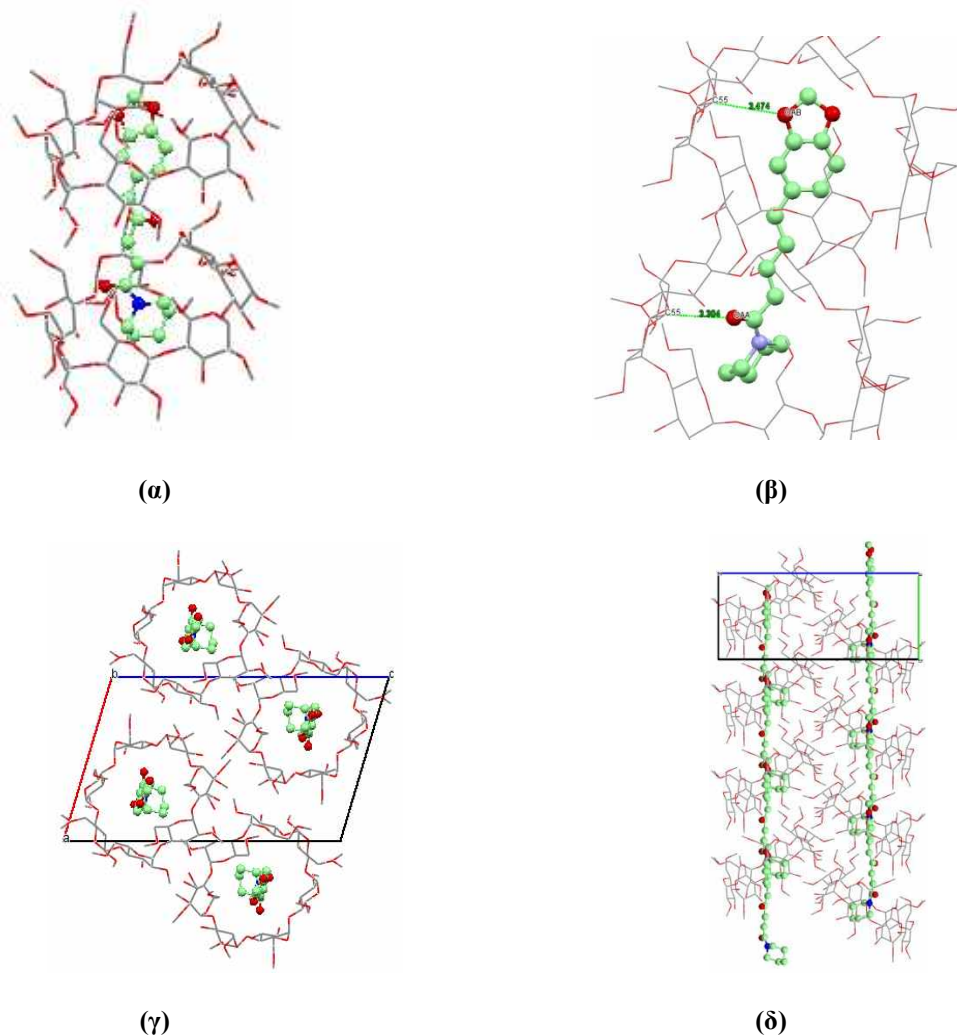
Το μόριο του guest βρίσκεται τοποθετημένο σε αξονική και ελαφρώς κεκλιμένη θέση μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα του host, καθώς το τμήμα του πιπερικού οξέος του guest σχηματίζει γωνία με το επίπεδο των ατόμων O4n του host ίση με  $51,62^\circ$ . Το τμήμα του 1,3-βενζοδιοξολίου ξεκινάει από το επίπεδο των πρωτοταγών ατόμων C6n του host και το υπόλοιπο τμήμα του μορίου της πιπερίνης «απλώνεται» μέχρι το επίπεδο των δευτεροταγών ατόμων C2n και C3n του επόμενου host (**Εικόνα 4.4.3.α**). Το μόριο της πιπερίνης δεν διατάσσεται ευθύγραμμα, αλλά εμφανίζει μία κεκλιμένη εικόνα, καθώς το τμήμα του πιπερικού οξέος και το τμήμα της πιπεριδίνης σχηματίζουν κλίση μεταξύ τους (μεταξύ τους γωνία:  $65,05^\circ$ ).

Το μόριο του host παρουσιάζει την εικόνα που αναμένεται από τη DM-β-CD, δηλαδή μία σχετικά στιβαρή δομή, με την διάταξη των O4n ατόμων να προσεγγίζει αυτή του κανονικού επταγώνου. Παρουσιάζονται ορισμένες αποδιατεταγμένες θέσεις, καθώς τρία άτομα απαντώνται σε δύο θέσεις

(το πρωτοταγές C82 και τα δευτεροταγή C76 και O36) με βαθμούς κατάληξης 0,50 σε κάθε περίπτωση. Με εξαίρεση τη 3<sup>η</sup> γλυκοζιτική μονάδα, όπου η γωνία στρέψης  $\tau$  των ατόμων O53-C53-C63-O63 έχει διαμόρφωση gauche:trans, στις υπόλοιπες μονάδες οι αντίστοιχες γωνίες είναι της μορφής gauche:gauche, με τα άτομα O6n των μεθοξυ-ομάδων να είναι προσανατολισμένα προς το εξωτερικό του μορίου. Σε συνδυασμό με τις θετικές τιμές των γωνιών κλίσης  $\tau$  [μ. όρος: 13,865 °, εύρος: 7,442 ° (glu VI) έως 23,696 ° (glu III)] φαίνεται ότι το πρωτοταγές άκρο της DM-β-CD είναι «ανοικτό» και αφήνει χώρο στο μόριο του guest για να εισέλθει στην κοιλότητά της.

**Πίνακας 4.4.2** Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Πιπερίνης/DM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Pip/DM-β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=2, C <sub>64.5</sub> H <sub>96</sub> N <sub>0.5</sub> O <sub>37</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	1470,5
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, P2 <sub>1</sub>
Θερμοκρασία (K)	100
a / b / c (Å)	14,364(4) / 10,325(2) / 25,006(5)
$\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ (°)	90,00 / 106,552(16) / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	3802,4(13)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	0,904
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Tmin, Tmax	0,352 / 0,752
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	59020 / 12372 / 10678
Rint	0,072
$\theta_{max}$ (°)	63,9
(sin $\theta$ / $\lambda$ )max (Å <sup>-1</sup> )	0,662
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )], wR(F <sup>2</sup> ), S	0,117 / 0,297 / 2,311
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	12372 / 960 / 83
$\Delta\rho_{max}$ , $\Delta\rho_{min}$ (eÅ <sup>-3</sup> )	1,626 / -0,786
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	-0,30(47) από 4211 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)



**Εικόνα 4.4.3.** (α) η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος εγκλεισμού Pip/DM-β-CD, (β) οι CH...O αλληλεπιδράσεις μεταξύ host:guest, (γ) άποψη των σχηματιζόμενων καναλιών κατά μήκος του άξονα b και (δ) η διαμόρφωση «ψαροκόκκαλου» των καναλιών όπως φαίνεται από τον άξονα a

Τα διαδοχικά μόρια της DM-β-CD διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους κατά μήκος του άξονα b (**Εικόνα 4.4.3.γ**), ακολουθώντας τη διάταξη «κεφαλής-ουράς» και ουσιαστικά τοποθετημένα το ένα κάτω από το άλλο, καθώς οι προβολές των βαρυκέντρων δύο διαδοχικών μορίων στο επίπεδο ac συμπίπτουν. Η απόσταση δύο διαδοχικών βαρυκέντρων είναι 10,325 Å, ενώ τα επίπεδα των ατόμων O4n σχηματίζουν με το επίπεδο ac γωνία 36,09 °. Τα γειτονικά μονομερή δημιουργούν πανομοιότυπα κανάλια με την πιπερίνη προσανατολισμένη στην ίδια διεύθυνση (απόσταση των βαρυκέντρων δύο μορίων DM-β-CD γειτονικών καναλιών: 13,454 Å). Παρατηρείται στο εκάστοτε κανάλι, ο επόμενος host να είναι διατεταγμένος με τέτοιο τρόπο ώστε δύο πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες του να βρίσκονται μερικώς εγκλεισμένες μέσα κοιλότητα του προηγούμενου (**Εικόνα 4.4.3.δ**). Η γωνία που

σχηματίζουν τα μέσα επίπεδα των ατόμων O4n δύο γειτονικών μονομερών είναι  $72,18^\circ$  που οφείλεται στην ιδιαίτερη διάταξη «ψαροκόκκαλου» (herring bone - HB).

Πέρα από τους αναμενόμενους ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των ατόμων O2n και O3n των γειτονικών μονάδων πυρανόζης, δεν παρατηρούνται διαμοριακοί δεσμοί -H που να συνδέουν τα διαδοχικά και γειτονικά μόρια της DM-β-CD, αλλά ούτε και μεταξύ host:guest. Η παρουσία ενός μόνο ατόμου νερού, δεν επιτρέπει τη δημιουργία υδατικού δικτύου και, επομένως, το προϊόν Pip/DM-β-CD δείχνει να συγκρατείται κατά κύριο λόγο με ασθενέστερες υδρόφοβες δυνάμεις. Παρόλα αυτά, λαμβάνουν χώρα και αλληλεπιδράσεις CH/π που συνδέουν τον αρωματικό δακτύλιο της πιπερίνης με τα άτομα H54 του πυρανοζικού δακτυλίου και H83A της αντίστοιχης πρωτοταγούς μεθοξομάδας της κυκλοδεξτρίνης. Επίσης, αλληλεπιδράσεις CH...O παρατηρούνται μεταξύ του ατόμου C55 του host με το άτομο οξυγόνου OAB του πενταμελούς δακτυλίου του 1,3-βενζοδιοξολίου (αποστάσεις: C55...OAB: 3,474 Å και H55...OAB: 2,550 Å, γωνία: C55-H55...O55:  $153,58^\circ$ ) (Εικόνα 4.4.3.β). Επίσης, καθώς το μόριο της πιπερίνης εισέρχεται στο εσωτερικό του επόμενου host κατά μήκος του καναλιού παρατηρείται παρόμοια CH...O αλληλεπίδραση μεταξύ του ατόμου H55 του host με το κετονικό οξυγόνο OAA της πιπερίνης (αποστάσεις C55...OAA: 3,304 Å, H55...OAA: 2,467 Å, γωνία: C55-H55...OAA:  $141,02^\circ$ ). Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχει μία διαδραστική σχέση μεταξύ host και guest που κατέχει σημαντικό ρόλο στον εγκλεισμό της πιπερίνης.

#### 4.4.3. Πιπερίνη/TM-β-CD (Pip/TM-β-CD)

Το κρυσταλλικό σύστημα στο οποίο ανήκει το προϊόν εγκλεισμού Pip/TM-β-CD είναι μονοκλινές και ανήκει στην ομάδα χώρου  $P2_1$ . Η ασύμμετρη μονάδα απαρτίζεται από δύο μόρια TM-β-CD και ένα μόριο πιπερίνης, με αποτέλεσμα η αναλογία guest:host να είναι 1:2, ενώ δεν υπάρχει μόριο νερού (Εικόνα 4.4.4.α).

Τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης βρίσκονται απέναντι το ένα από το άλλο δημιουργώντας ένα ιδιότυπο διμερές με τύπο διάταξης «κεφαλής-ουράς», σε αντίθεση δηλαδή με τη διάταξη των διμερών που παρατηρούνται στα προϊόντα της β-CD. Τα άτομα O4n των δύο μορίων host του διμερούς σχηματίζουν μέσα επίπεδα που παρουσιάζουν κλίση μεταξύ τους  $2,60^\circ$ , ενώ τα βαρύκεντρά τους απέχουν 10,473 Å.

Το μόριο του guest περιβάλλεται από τα δύο μόρια του host, «ξεκινώντας» με τον ετεροκυκλικό δακτύλιο του τοποθετημένο στο επίπεδο των ατόμων O4n του ενός μορίου TM-β-CD και καταλήγοντας με τον πενταμελή δακτύλιο του 1,3-διοξολίου σχεδόν στο επίπεδο των μεθοξο-ομάδων

C7n και C8n της δευτεροταγούς πλευράς του άλλου host. Βρίσκεται σε αξονική θέση, και μπορεί να χαρακτηριστεί ότι έχει μια στιβαρή δομή, χωρίς να εμφανίζει κάποια αποδιάταξη. Τα άτομα του μορίου της πιπερίνης είναι διατεταγμένα ουσιαστικά στο ίδιο επίπεδο, με τη μέγιστη καταγραφόμενη απόσταση από το μέσο επίπεδο του μορίου της πιπερίνης να την έχει το άτομο CAH του δακτυλίου πιπεριδίνης (0,827 Å).

**Πίνακας 4.4.3.** Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Pip/TM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Pip/TM-β-CD</b>
Χημικός τύπος	$Z=2, C_{143}H_{234}N_1O_{73}$	
Μοριακή μάζα, Mr	3135,4	
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, $P2_1$	
Θερμοκρασία (K)	100	
a / b / c (Å)	20,800(1) / 14,739(1) / 27,097(2)	
$\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ (°)	90,00 / 96,214(4) / 90,00	
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	8258,3(10)	
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka	
M (mm <sup>-1</sup> )	0,857	
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II	
Tmin, Tmax	0,652 / 0,750	
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	88382 / 13485 / 11232	
Rint	0,089	
$\theta_{max}$ (°)	45,8	
(sin $\theta$ / $\lambda$ )max (Å <sup>-1</sup> )	0,496	
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )], wR(F <sup>2</sup> ), S	0,124 / 0,301 / 2,248	
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	13485 / 1132 / 96	
$\Delta\rho_{max}$ , $\Delta\rho_{min}$ (eÅ <sup>-3</sup> )	0,759 / -0,590	
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,26(18) από 4078 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)	



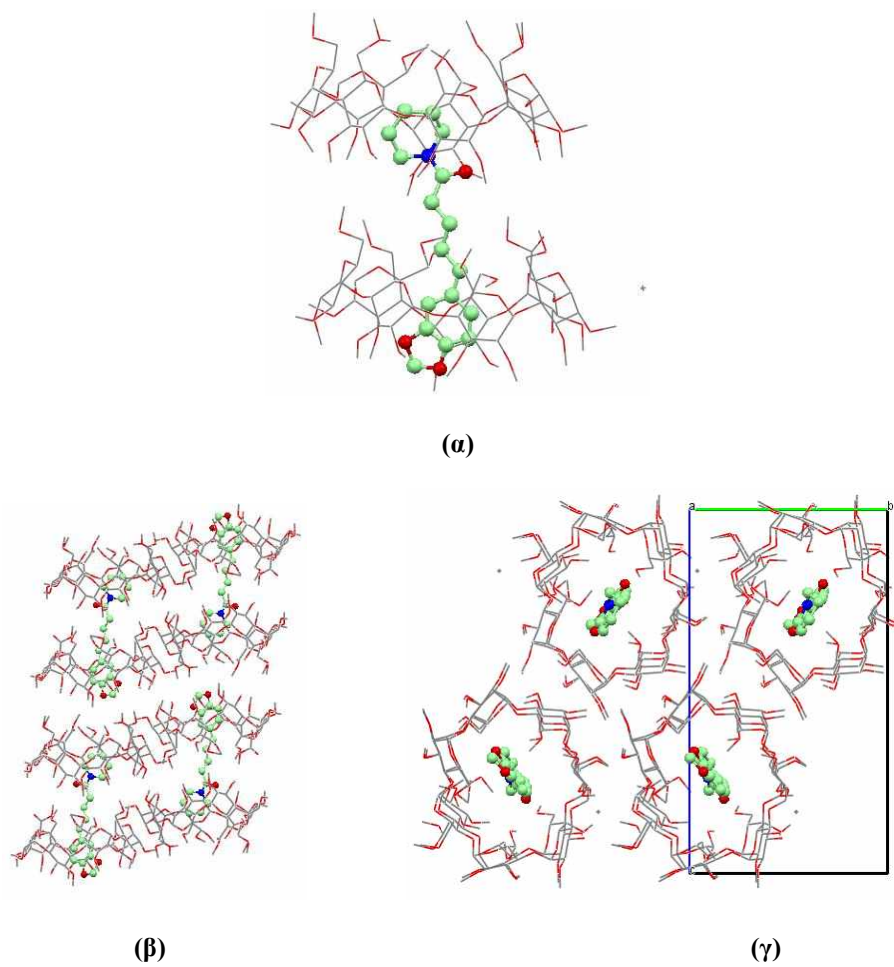
Τρεις πρωτοταγείς μεθοξυ-ομάδες του μορίου host A και δύο του host B εμφανίζουν αποδιατεταγμένες θέσεις (δύο θέσεις με βαθμούς κατάληψης που κυμαίνονται μεταξύ 0,50;0,50 και 0,70:0,30 ανά περίπτωση).

Ωστόσο, τα μόρια του διμερούς παρουσιάζουν την παραμόρφωση που συνηθίζεται στην περίπτωση της TM-β-CD, όπως φαίνεται και από τις τιμές που αναγράφονται στον **Πίνακα 4.4.3**, ενώ η πρωτοταγής πλευρά του μορίου A δημιουργεί και το χαρακτηριστικό «καπάκι». Αντιθέτως, στο μόριο B δεν παρατηρείται αντίστοιχο «καπάκι», αφού η παρουσία του μορίου της πιπερίνης αναγκάζει το πρωτοταγές στόμιο του host B να αποκτήσει μια ανοικτή διαμόρφωση. Όλα αυτά αποτυπώνονται και στις γωνίες O5n-C5n-C6n-O6n όπου στο μόριο A οι τέσσερις από τις συνολικά εννέα θέσεις έχουν διαμόρφωση τύπου gauche:trans, δηλαδή έχουν κατεύθυνση προς το εσωτερικό της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης, υποδηλώνοντας τη μορφή του «καπακιού» της πρωτοταγούς πλευράς. Εξετάζοντας τις αντίστοιχες γωνίες του μορίου B, μόνο δύο από τις επίσης εννέα συνολικά θέσεις έχουν τη διαμόρφωση gauche:trans, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη του ανοικτού στομίου.

Τα διαδοχικά διμερή διατάσσονται κατά μήκος του άξονα a παράλληλα μεταξύ τους (**Εικόνα 4.4.4.γ**), σχηματίζοντας με το επίπεδο bc γωνία 5,33 °. Δημιουργούν κανάλια μορφής κοχλία (screw channels – SC) και από τις προβολές των βαρυκέντρων τους στο επίπεδο bc φαίνεται μία μετατόπιση κατά μήκος του άξονα a ίση με 2,250 Å. Σε αντίθεση, τα διμερή δύο γειτονικών καναλιών δεν είναι παράλληλα, αλλά σχηματίζουν μεταξύ τους γωνία 4,67 ° και μετατόπιση σε σχέση με το επίπεδο bc 14,492 Å. Να σημειωθεί ότι τα γειτονικά κανάλια έχουν αντίθετο προσανατολισμό στον χώρο (**Εικόνα 4.4.4.β**).

Τέλος, η φύση της TM-β-CD, αλλά και η παντελής έλλειψη μορίων νερού, καθιστούν δύσκολη τη δημιουργία δεσμών υδρογόνου στο προϊόν εγκλεισμού. Πράγματι, το σύμπλοκο Pip/TM-β-CD δείχνει να συγκρατείται αποκλειστικά από ασθενείς ελκτικές δυνάμεις, χωρίς να παρατηρείται κάποιος δεσμός -H. Εκδηλώνεται όμως μία αλληλεπίδραση CH...O που φαίνεται ότι συγκρατεί τα διαδοχικά διμερή, καθώς συνδέει το οξυγόνο OAC του δακτυλίου 1,3-βενζοδιοξολίου της πιπερίνης με το άτομο C95C της πρωτοταγούς μεθοξυ-ομάδας του host A του επόμενου διμερούς (αποστάσεις C95C...OAC: 3,280 Å, H95E...OAC: 2,597 Å - γωνία: C95C-H95E...OAC: 126,91 °).

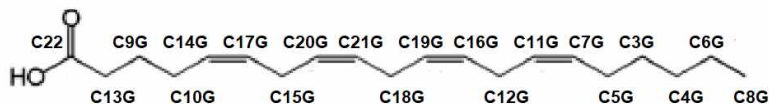
Κλείνοντας, αξίζει να αναφερθεί ότι κατά την αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD δεν βρέθηκαν παρόμοιες με τις Pip/DM-β-CD και Pip/TM-β-CD δομές που να αναφέρονται σε προϊόντα εγκλεισμού, οπότε μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι οι μοναδικές καταγεγραμμένες περιπτώσεις προϊόντων εγκλεισμού σε μεθυλωμένα παράγωγα της β-κυκλοδεξτρίνης με τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά.



**Εικόνα 4.4.4.** **(α)** η ασύμμετρη κυψελίδα της Pip/TM-β-CD με το διμερές «κεφαλής-ουράς» και η διευθέτησή του κατά μήκος **(β)** του άξονα b και **(γ)** του άξονα a

## 4.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

### 4.5.1. Αραχιδονικό οξύ/TM-β-CD (Ara/TM-β-CD)



Το προϊόν εγκλεισμού Ara/TM-β-CD κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου  $P2_12_12_1$ . Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει ένα μόριο κυκλοδεξτρίνης και ένα μόριο αραχιδονικού οξέος με συντελεστή κατάληψης 0,5, ώστε η στοιχειομετρία guest:host που προκύπτει να θεωρηθεί ότι είναι 1:2, ενώ δεν υπάρχουν μόρια νερού. Τα διαδοχικά προϊόντα Ara/TM-β-CD είναι μονομερή τύπου «κεφαλής-ουράς» που διατάσσονται κατά μήκος του άξονα b, όπου και δημιουργούν κανάλια (CH).

Το μόριο του αραχιδονικού οξέος παρουσιάζει αποδιάταξη στην καρβοξυλομάδα, η οποία καταλαμβάνει δύο θέσεις με βαθμούς κατάληψης 0,30:0,20. Το μόριο του οξέος διαπερνά δύο διαδοχικά μόρια του host, ξεκινώντας με την καρβοξυλομάδα του τοποθετημένη στο επίπεδο των ανθρακο-ατόμων των πρωτοταγών μεθοξυ-ομάδων του πρώτου μορίου TM-β-CD και το άκρο της ανθρακικής αλυσίδας του να καταλήγει στο επίπεδο της δευτεροταγούς πλευράς του δεύτερου host (**Εικόνα 4.5.1.α**). Έτσι σχηματίζεται στο χώρο μία συνεχής σειρά των μορίων του guest που δίνουν την εικόνα μίας στήλης, όπου είναι «περασμένες» οι κυκλοδεξτρίνες.

Το μόριο της TM-β-CD παρουσιάζει την τυπική εικόνα ελλειπτικού επταγώνου που συναντάται στα προϊόντα εγκλεισμού της, με σημαντικές αποκλίσεις στις μετρήσεις των χαρακτηριστικών γεωμετρικών παραμέτρων (**Πίνακας 4.5.1**). Ενδεικτικά αναφέρονται οι αποστάσεις Dk των ατόμων O4n από το αντίστοιχο βαρύκεντρό τους [μέσος όρος αποστάσεων Dk: 4,943 Å με εύρος από 4,448 Å (O47) έως 5,330 Å (O45)] και οι αποστάσεις των ατόμων O4n από το μέσο επίπεδό τους [εύρος αποστάσεων d: -0,642(1) Å (O45) έως 0,174(3) Å (O44)].

Τρεις μεθοξυ-ομάδες εμφανίζουν αποδιάταξη με κατάληψη 0,50:0,50, οπότε οι συνολικά δέκα γωνίες στρέψης  $\tau$  των ατόμων O5n-C5n-C6n-O6n (τρεις επιπλέον λόγω αποδιάταξης) ανήκουν στην πλειοψηφία τους στη διαμόρφωση gauche-gauche (επτά gg και τρεις gt). Αυτή η προτίμηση στην gg διαμόρφωση, δηλαδή οι μεθοξυ-ομάδες να είναι προσανατολισμένες προς τα «έξω», δεν επιτρέπει τον σχηματισμό του χαρακτηριστικού «καπακιού» των TM-βCD, κάτι που αποτυπώνεται και από τις γωνίες κλίσεως  $\tau$  που παρουσιάζουν διακυμάνσεις μικρότερες από τις αντίστοιχες που απαντώνται συνήθως σε προϊόντα της TM-βCD [μέσος όρος γωνιών  $\tau$ : 26,72 °, εύρος: 5,591(1) ° (Glu IV) έως 38,395(8) ° (Glu 6)].

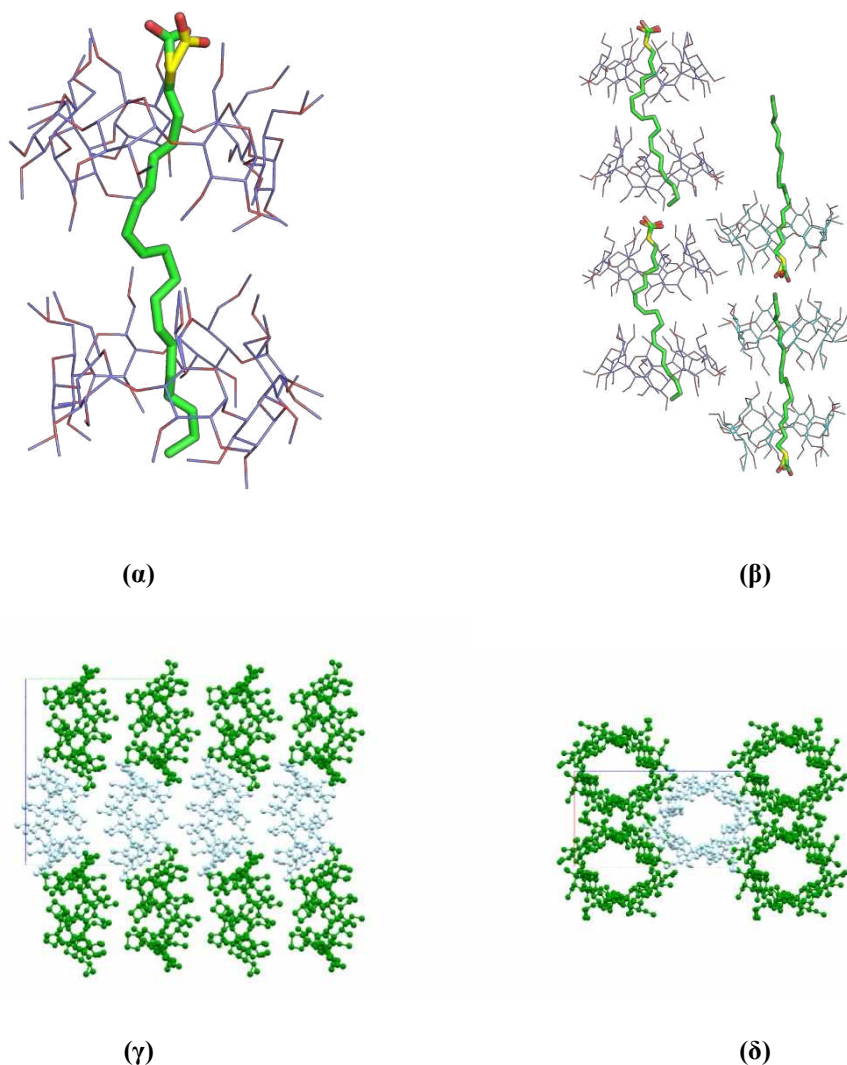
**Πίνακας 4.5.1.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Αραχιδονικού/TM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>		<b>Ara/TM-β-CD</b>
Χημικός τύπος		Z=4, C <sub>73</sub> H <sub>125,5</sub> O <sub>36</sub>
Μοριακή μάζα, Μr		1579,3
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου		Ορθορομβικό, P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Θερμοκρασία (Κ)		100
a / b / c (Å)		14,653(3) / 22,793(4) / 25,898(5)
α / β / γ (°)		90,00 / 90,00 / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )		8650(3)
Τύπος ακτινοβολίας		Cu Kα
M (mm <sup>-1</sup> )		0,813
<b>Συλλογή δεδομένων</b>		
Tmin, Tmax		0,559 / 0,751
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]		64917 / 10570 / 8474
Rint		0,067
θmax (°)		54,4
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )		0,578
<b>Βελτιστοποίηση</b>		
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S		0,064 / 0,150 / 1,065
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)		10570 / 1000 / 87
Δrmax / Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )		0,429 / -0,404
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x		0,14(6) από 3101 συντελεστές[(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

Επιπλέον, τα μέσα επίπεδα των ατόμων O4n των διαδοχικών μονομερών σχηματίζουν μια μικρή γωνία μεταξύ τους [2,379(7) °] και οι προβολές των αντίστοιχων βαρυκέντρων τους παρουσιάζουν μικρή μετατόπιση [1,457(3) Å], δείχνοντας ότι «στοιβάζονται» σε σχεδόν κάθετα, ως προς τον άξονα b, κανάλια (CH). Επίσης, τα γειτονικά μονομερή σχηματίζουν μεταξύ τους μικρή γωνία [0,422(1) °] και έχουν αντίθετο προσανατολισμό, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αντιπαράλληλα κανάλια (**Εικόνα 4.5.1.β**).

Η απουσία μορίων νερού έχει ως αποτέλεσμα και την απουσία δεσμών υδρογόνου, ώστε ο κρύσταλλος να συγκρατείται σχεδόν αποκλειστικά από ασθενείς ελκτικές δυνάμεις. Ωστόσο παρατηρούνται δύο CH...O αλληλεπιδράσεις που συνδέουν, ο πρώτος το αποδιατεταγμένο άτομο C71A της πρωτοταγούς μεθοξυ-ομάδας του host με το επίσης αποδιατεταγμένο οξυγόνο O1GA του

guest (αποστάσεις C71A...O1GA: 3,044 Å, H71A...O1GA: 2,240 Å - γωνία: C71A-H71A...O1GA: 138,53 °) και ο δεύτερος το τελικό ανθρακόατομο C8G του αραχιδονικού οξέος με το αποδιατεταγμένο οξυγόνο O1GB του επόμενου guest (αποστάσεις C8G...O1GB: 3,103 Å, H8G2...O1GB: 2,586 Å - γωνία: C8G-H8G2...O1GB: 113,02 °). Ανάλογες CH...O αλληλεπιδράσεις αναπτύσσονται και μεταξύ των γειτονικών host.

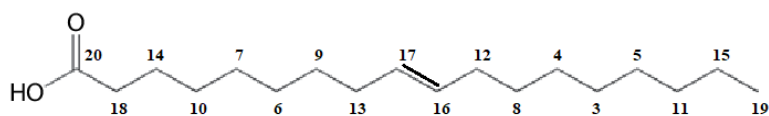


**Εικόνα 4.5.1.** (α) Στην ασύμμετρη μονάδα του συμπλόκου υπάρχουν μια κυκλοδεξτρίνη και ένα μόριο αραχιδονικού οξέος (50%). Η στοιχειομετρία μπορεί να θεωρηθεί ως 1:2. (β) Τα σύμπλοκα σχηματίζουν αντιπαράλληλα κανάλια κατά τον άξονα b (γ) Προβολή bc επιπέδου (δ) η προβολή του ac επιπέδου.

Με την βοήθεια του προγράμματος CellCheck v1.0 εντοπίστηκε μία παρόμοια δομή (ομοιότητα 99,23 %) που αφορά προϊόν εγκλεισμού της TM-β-CD και της γεφτινίμπης (gefitinib) που είναι μία ένωση που παρεμποδίζει τη δράση της κινάσης της τυροσίνης και χρησιμοποιείται στην θεραπεία κατά του καρκίνου διαφόρων οργάνων, όπως των πνευμόνων. Συγκρινόμενο με το προϊόν Ara/TM-β-

CD, πέρα από ομοιότητες, υπάρχουν και διαφορές. Αναλυτικότερα, ο κρύσταλλος παρουσιάζει συμμετρία ομάδας χώρου  $P2_1$  (μονοκλινής) και στην ασύμμετρη μονάδα υπάρχουν δύο μόρια TM-β-CD με διάταξη «κεφαλής-ουράς» και ένα μόριο γεφτινίμπης (στοιχειομετρία guest:host 1:2), όπου ο guest σταθεροποιείται μέσα στον host αποκλειστικά με διαμοριακές δυνάμεις Van der Waals. Τέλος, αντιπαράλληλα κανάλια σχηματίζονται κατά μήκος του άξονα a (Hatzigapiou et al. 2017).

#### 4.5.2. Ελαϊκό οξύ/β-CD (Oleic/β-CD)



Το προϊόν εγκλεισμού Oleic/β-CD κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου  $P1$ . Η ασύμμετρη μονάδα περιλαμβάνει δύο μόρια β-κυκλοδεξτρίνης που σχηματίζουν το κλασικό διμερές και ένα μόριο ελαϊκού οξέος αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (RESI\_1 και RESI\_2) με βαθμούς κατάληψης 0,50, ώστε η στοιχειομετρία guest:host που προκύπτει να είναι 1:2. Επίσης, περιλαμβάνονται και 21,5 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε συνολικά 25 θέσεις.

Τα δύο αποδιατεταγμένα μόρια του ελαϊκού οξέος βρίσκονται καλά εγκλωβισμένα στο εσωτερικό της κοιλότητας του διμερούς. Τα ανθρακικά άκρα τους είναι τοποθετημένα περίπου στο μέσο επίπεδο των ατόμων C5n του ενός host του διμερούς, ενώ το υπόλοιπο τμήμα των μορίων «διασχίζει» ολόκληρο το διμερές για να καταλήξουν οι καρβοξυλομάδες τους στο μέσο επίπεδο των ατόμων C6n της πρωτοταγούς πλευράς του πρώτου host του επόμενου διμερούς (Εικόνα 4.5.2.α). Έτσι, καλύπτουν όλο τον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ δύο διαδοχικών διμερών και δημιουργούν μία συνεχή στήλη παρόμοια με αυτή του αραχιδονικού οξέος στο Aga/TM-β-CD.

Τα μόρια β-κυκλοδεξτρίνης του διμερούς έχουν τον κλασικό προσανατολισμό «κεφαλής-κεφαλής» και παρουσιάζουν τη στιβαρή και άκαμπτη δομή που παρατηρείται στις β-κυκλοδεξτρίνες, δίνοντας την εικόνα ενός κανονικού επταγώνου, όπως άλλωστε προκύπτει και από τις μετρήσεις των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των μορίων του διμερούς που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5.2.

Οι κυκλοδεξτρίνες που απαρτίζουν ένα διμερές συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια δεσμών -H που προκύπτουν μεταξύ των ατόμων O2n του ενός και των O3n του άλλου host. Οι γωνίες στρέψης  $t$  των δύο host είναι αρνητικές, με αποτέλεσμα όλα τα άτομα O6n του πρωτοταγούς μέρους της κυκλοδεξτρίνης να είναι προσανατολισμένα προς την περιφέρεια των μορίων. Αυτός ο προσανατολισμός επιτρέπει τη δημιουργία δεσμών -H με άτομα οξυγόνου άλλων διμερών, ώστε κάθε διμερές τελικά να συνδέεται σταθερά με τα διπλανά διμερή τόσο του ίδιου καναλιού, όσο και των

γειτονικών. Επίσης, τα μόρια νερού συνεισφέρουν στη δημιουργία μιας πληθώρας δεσμών -H τόσο με τα άτομα οξυγόνου των κυκλοδεξτρινών, όσο και μεταξύ τους, δημιουργώντας ένα αναμενόμενο υδατικό πλέγμα (water net).

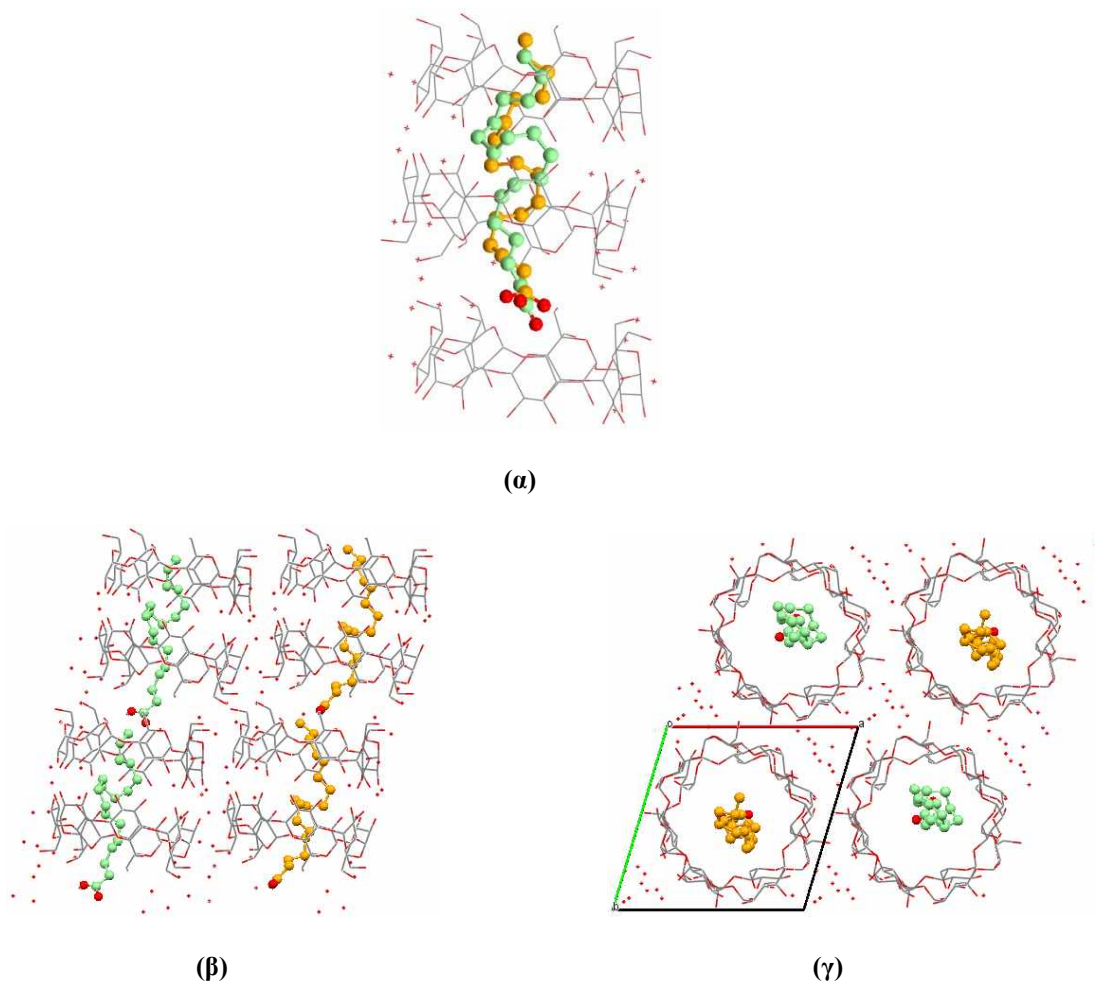
**Πίνακας 4.5.2.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Ελαϊκού/β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Oleic/β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=2, C <sub>51</sub> H <sub>69,5</sub> O <sub>46,3</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	1426,6
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Τρικλινές, P1
Θερμοκρασία (K)	100
a / b / c (Å)	14,542(7) / 15,570(6) / 15,860(10)
α / β / γ (°)	101,79(4) / 101,87(4) / 103,30(4)
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	3525(3)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	0,813
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Tmin / Tmax	0,596 / 0,754
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	72266 / 16942 / 11571
Rint	0,088
θmax (°)	54,9
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,582
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,093 / 0,235 / 1,064
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	16942 / 1775 / 151
Δrmax / Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )	0,729 / -0,500
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	

Επιπροσθέτως, δημιουργούνται σε περιορισμένο βαθμό αλληλεπιδράσεις CH...O μεταξύ των δύο μορίων host και των δύο θέσεων guest 1 και 2 του διμερούς. Πιο συγκεκριμένα, CH...O αλληλεπίδραση λαμβάνει χώρα μεταξύ του οξυγόνου O1\_1 της καρβοξυλομάδας του guest 1 και του ατόμου C33A του host A (αποστάσεις C33A...O1\_1: 3,555 Å, H33A...O1\_1: 2,623 Å - γωνία: C33A-H33A...O1\_1: 155,14 °) καθώς του οξυγόνου O1\_2 της καρβοξυλομάδας του guest 2 και του ατόμου C64B της πρωτοταγούς πλευράς του host B (αποστάσεις C64B...O1\_2: 3,103 Å,

H64B...O1\_2: 2,586 Å - γωνία: C64B-H64B...O1\_2: 113,02 °). Τα δύο αποδιατεταγμένα μόρια του guest δεν συμμετέχουν σε κάποιο δεσμό -H και πέρα από τις προαναφερόμενες αλληλεπιδράσεις CH...O, φαίνεται ότι ο εγκλεισμός τους στην κοιλότητα των μορίων β-CD οφείλεται κυρίως σε διαμοριακές δυνάμεις Van der Waals.

Τα διαδοχικά διμερή διατάσσονται κατά μήκος του άξονα c, τοποθετημένα παράλληλα μεταξύ τους, με τη μετατόπισή τους ως προς τον άξονα διάδοσης 2,488(2) Å δημιουργώντας κανάλια (CH) (Εικόνα 4.5.2.β). Όλος ο χώρος καλύπτεται από πανομοιότυπα κανάλια, καθώς τα γειτονικά διμερή είναι, επίσης, παράλληλα μεταξύ τους και με τον ίδιο προσανατολισμό (Εικόνα 4.5.2.γ).

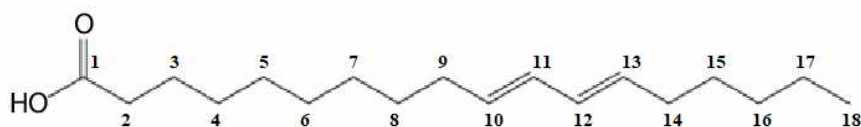


**Εικόνα 4.5.2.** (α) Άποψη του προϊόντος Oleic/β-CD κατά μήκος του άξονα b. Διακρίνεται η ασύμμετρη μονάδα που περιλαμβάνει δύο β-κυκλοδεξτρίνες και ένα μόριο ελαϊκού οξέος αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (0,50:0,50), καθώς και το μόριο host του επόμενου διμερούς. Οι δύο θέσεις του guest απεικονίζονται με πράσινο και πορτοκαλί χρώμα. (β) Η διάταξη των καναλιών κατά μήκος του άξονα a, όπου διακρίνονται και τα όρια της μοναδιαίας κυψελίδας και (γ) η άποψή τους κατά μήκος του άξονα c.



Οι **Hamilton et al. (1968)** είχαν ερευνήσει με κρυσταλλογραφία προϊόντα εγκλεισμού της β-CD με guest το m-βρωμοβενζοϊκό και το 2,5-δι-ιωδοβενζοϊκό οξύ τα οποία έχουν καταχωρηθεί στη βάση δεδομένων CSD με αντίστοιχες ονομασίες QQQAFP και HPMIB11 και έχουν δομή παρόμοια με του Oleic:β-CD (ομοιότητα 97,30 και 97,23 % αντίστοιχα). Μεταγενέστερες παρόμοιες καταχωρημένες δομές είναι η ODEJOW (**Kokkinou et al. 2001**) και η LEKGUE (**Fan et al. 2006**) όπου στην πρώτη το εγκλεισμένο μόριο είναι το β-ναφθυλοξυ-οξεϊκό οξύ (β-naphthyloxyacetic acid) που είναι μια συνθετική ένωση με δράση παρόμοια με τις φυσικές αυξίνες και στην δεύτερη η 8-νιτροκινολίνη (8-nitroquinoline.) Παρόλο που η στοιχειομετρία guest:host ποικίλει ανά περίπτωση [1:1 (QQQAFP, HPMIB11), 1:2 (ODEJOW) και 3:2 (LEKGUE)] και οι τέσσερις δομές αφορούν κρυστάλλους ομάδας χώρου C<sub>2</sub>, με τις κυκλοδεξτρίνες να δημιουργούν διμερή «κεφαλής-κεφαλής» και να σχηματίζουν κανάλια (CH).

#### 4.5.3. Λινελαϊκό οξύ/β-CD (Lin/β-CD)



Ο κρύσταλλος Lin/β-CD ανήκει στην ομάδα χώρου C<sub>2</sub>, με την ασύμμετρη μονάδα να περιλαμβάνει ένα μόριο β-κυκλοδεξτρίνης, ένα μόριο λινελαϊκού οξέος μερικής κατάληψης 0,33 καθώς επίσης και 10,5 μόρια νερού αποδιατεταγμένα σε 16 θέσεις. Το γεγονός ότι η ομάδα χώρου είναι C<sub>2</sub>, σημαίνει ότι δημιουργείται ένας επιπλέον άξονας συμμετρίας, με αποτέλεσμα στη μοναδιαία κυψελίδα να περιλαμβάνονται τρεις β-κυκλοδεξτρίνες που ανά δύο σχηματίζουν διμερές και ένα μόριο λινελαϊκού (στοιχειομετρία guest:host του διμερούς είναι 1:3).

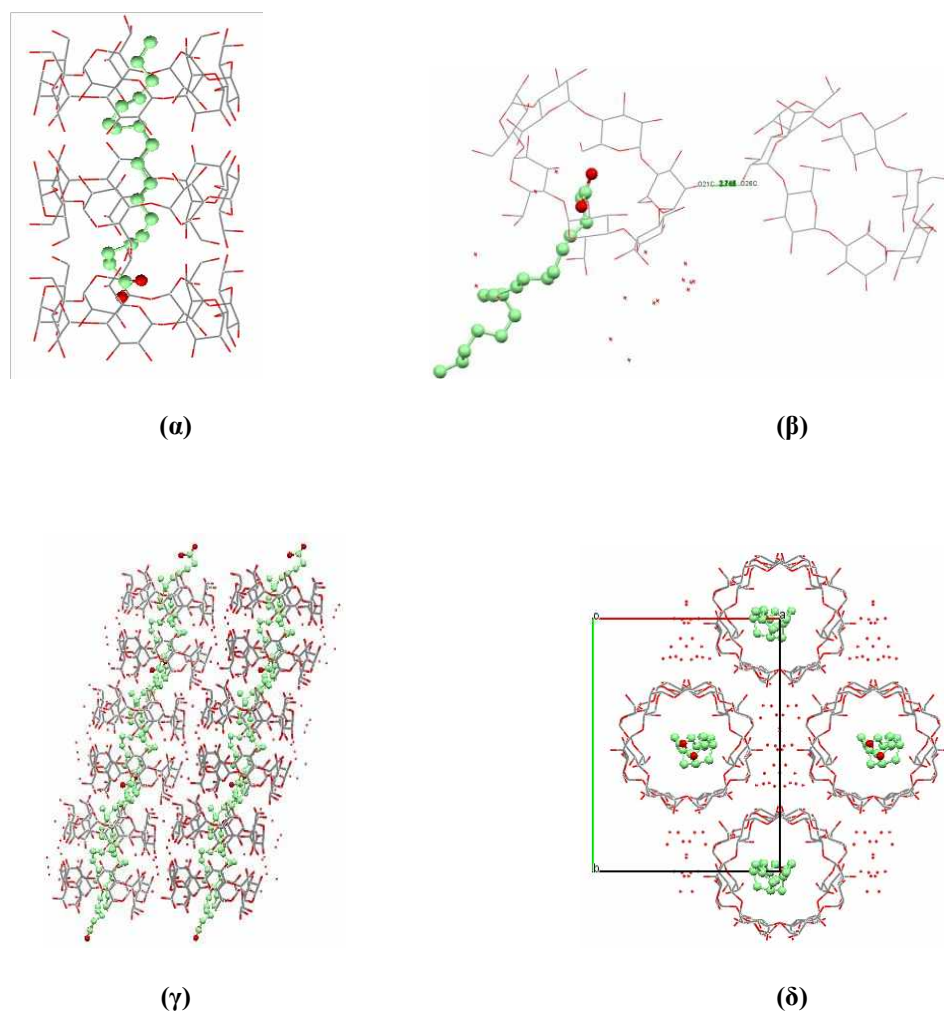
Το μόριο του οξέος βρίσκεται σε αξονική θέση, με το αλειφατικό άκρο του να ξεκινάει από το επίπεδο των ατόμων C<sub>6h</sub> του πρώτου host και το υπόλοιπο μόριο να διασχίζει όλο τον εσωτερικό χώρο που σχηματίζεται από τους τρεις διαδοχικούς host, καταλήγοντας με την καρβοξυλομάδα του τοποθετημένη μεταξύ των επιπέδων C<sub>5h</sub> και C<sub>6h</sub> του τελευταίου μορίου β-CD (**Εικόνα 4.5.3.a**). Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι το μόριο λινελαϊκού οξέος «συνδέει» τρία μόρια β-κυκλοδεξτρίνης συμπεραίνεται ότι δημιουργείται στον χώρο μια συνεχής στήλη μορίων λινελαϊκού οξέος σχηματίζοντας μια «ραχοκοκκαλιά» του guest περιβαλλόμενη από μόρια του host.

Το μόριο της β-CD έχει σχήμα κανονικού επταγώνου, όπως επιβεβαιώνεται και από τις μετρήσεις των αποστάσεων D<sub>k</sub>, D και d, καθώς και των γωνιών Φ<sub>h</sub> και τ, που παρουσιάζουν ομοιογένεια χωρίς μεγάλες αποκλίσεις (**Πίνακας 4.5.3**). Τέσσερα από τα επτά πρωτοταγή άτομα O<sub>6h</sub> εμφανίζουν αποδιάταξη, τα δύο με βαθμούς κατάληψης 0,70:0,30 (O<sub>63</sub> και O<sub>65</sub>) ενώ τα υπόλοιπα δύο με τιμές

0,60:0,40 (O66) και 0,50:0,50 (O67). Μελετώντας τις γωνίες στρέψης  $\tau$  των ατόμων O5n-C5n-C6n-O6n του πρωτοταγούς στομίου του host, διαπιστώνεται ότι από τις συνολικά 11 γωνίες, οι επτά παρουσιάζουν διαμόρφωση gauche:gauche με τα άτομα οξυγόνου να έχουν κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και οι τέσσερις gauche:trans με τα άτομα οξυγόνου να έχουν κατεύθυνση προς το εσωτερικό της.

**Πίνακας 4.5.3.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Λινελαϊκού/β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Lin/β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=8, C <sub>24</sub> H <sub>35,7</sub> O <sub>23,1</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	694,2
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, C2
Θερμοκρασία (K)	100
a / b / c (Å)	19, 087(3) / 24,429(4) / 15,778(5)
α / β / γ (°)	90,00 / 109,23(2) / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	6902(3)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	1,068
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Tmin, Tmax	0,652 / 0,752
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	38088 / 6595 / 5872
Rint	0,063
θmax (°)	49,1
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,528
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,129 / 0,306 / 1,244
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	6595 / 624 / 49
Δrmax / Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )	0,739 / -0,473
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,06(17) από 2279 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)



**Εικόνα 4.5.3.** **(α)** Η μοναδιαία κυψελίδα του Lin/β-CD, λόγω συμμετρίας  $C_2$ , περιλαμβάνει ένα μόριο λινελαϊκού οξέος και τρία μόρια β-κυκλοδεξτρίνης που σχηματίζεται (στοιχειομετρία 1:3). **(β)** Το προϊόν εγκλεισμού Lin/β-CD συγκρατείται με μια σειρά διαμοριακών δεσμών και αλληλεπιδράσεων. Εδώ διακρίνεται ο δεσμός υδρογόνου που συνδέει τα δευτεροταγή άτομα O21C και O26C γειτονικών μορίων β-CD. **(γ)** ‘Αποψη των σχηματιζόμενων καναλιών κατά μήκος του άξονα b και **(δ)** του άξονα c, όπου στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των καναλιών αναπαριστώνται τα μόρια νερού με κόκκινο χρώμα (διακρίνονται τα όρια της μοναδιαίας κυψελίδας).

Ανά δύο τα διαδοχικά μόρια της β-κυκλοδεξτρίνης παρουσιάζουν μετατόπιση  $2,580(5) \text{ \AA}$  δημιουργώντας κανάλια (CH) ως προς τον άξονα c (**Εικόνα 4.5.3.γ**). Τα σχηματιζόμενα γειτονικά κανάλια έχουν παράλληλο προσανατολισμό, με τα βαρύκεντρα των γειτονικών επιπέδων των ατόμων O4n να απέχουν μεταξύ τους  $15,501(2) \text{ \AA}$  (**Εικόνα 4.5.3.δ**).

Σε κάθε ζεύγος μορίων β-κυκλοδεξτρίνης που βρίσκονται με τις δευτεροταγείς πλευρές τους τοποθετημένες απέναντι η μία από την άλλη, αναπτύσσονται δεσμοί –H μεταξύ των απέναντι δευτεροταγών ατόμων O2n και O3n. Δεσμοί –H δημιουργούνται ωστόσο και μεταξύ ορισμένων

πρωτοταγών υδροξυλίων γειτονικών host (αποστάσεις O65A...O65A: 2,875 Å; O67A...O63B: 2,539 Å; O67B...O63B: 2,889 Å; O65B...O66B: 2,748 Å). Πέρα όμως από τους προαναφερόμενους διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου που παρατηρούνται μεταξύ των μορίων β-κυκλοδεξτρίνης, πολλοί δεσμοί -H δημιουργούνται μεταξύ των πρωτοταγών ατόμων οξυγόνου O6n του host και των γειτονικών μορίων νερού. Τα μόρια νερού συνδέονται και μεταξύ τους με πλήθος δεσμών -H, συγκρατώντας με αυτόν τον τρόπο σταθερά όλο το κρυσταλλικό πλέγμα. Ωστόσο, αντίστοιχοι δεσμοί σχηματίζονται και μεταξύ των γειτονικών host, όπως για παράδειγμα ο δεσμός μεταξύ του δευτεροταγούς ατόμου O21 ενός host με το επίσης δευτεροταγές άτομο O26 του γειτονικού host (απόσταση O21...O26: 2,745 Å), με αποτέλεσμα να συνδέονται τα γειτονικά κανάλια του συμπλόκου (**Εικόνα 4.5.3.β**).

Τα εγκλεισμένα μόρια δεν συμμετέχουν σε κάποιον δεσμό -H, και φαίνεται ότι σταθεροποιούνται μεταξύ τους με ασθενείς Van der Waals. Μέσα όμως στον εσωτερικό χώρο που σχηματίζουν οι κοιλότητες των τριών host και στον οποίο φιλοξενούνται, προκύπτουν αλληλεπιδράσεις CH...O μεταξύ guest:host. Ενδεικτικά αναφέρονται οι αλληλεπιδράσεις που συνδέουν τα ανθρακο-άτομα C2 και C5 του οξέος με τα δευτεροταγή άτομα οξυγόνου O67 και O66B της β-CD (απόσταση C2...O67: 2,934 Å, γωνία C2-H2B...O67: 171,21 °; απόσταση C5...O66B: 3,465 Å, γωνία C5-H5B...O66B: 143,50 °). Παρόμοιοι δεσμοί συμβαίνουν και μεταξύ των διαδοχικών μορίων guest, όπως για παράδειγμα μεταξύ του ανθρακο-ατόμου C16 της ανθρακικής αλυσίδας του λινελαϊκού οξέος και του καρβοξυλικού οξυγόνου O1 του επόμενου μορίου οξέος (απόσταση C16...O1: 3,149 Å, γωνία C16-H16A...O1: 100,02 °). Από τα παραπάνω διαπιστώνεται ότι στο κρυσταλλικό πλέγμα, τα μόρια του guest είναι καλά συνδεδεμένα, τόσο μεταξύ τους όσο και με τα μόρια β-κυκλοδεξτρίνης, με ένα ευρύ δίκτυο ασθενών δεσμών.

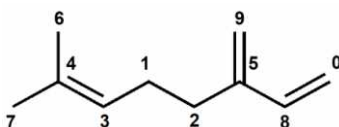
Οι **Bru et al. (1995)** εκτίμησαν ότι όταν τα πολύ-ακόρεστα λιπαρά οξέα εγκλείονται σε μόρια κυκλοδεξτρινών τότε, εφ' όσον το οξύ είναι πρωτονιωμένο, η καρβοξυλομάδα του συνδέεται με δεσμό -H με το ένα μόριο CD, ενώ η ανθρακική αλυσίδα συνδέεται μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων με το επόμενο μόριο κυκλοδεξτρίνης. Ωστόσο, στα τρία λιπαρά οξέα που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία (Ara, Oleic, Lin), η σύνδεση της καρβοξυλομάδας των οξέων με τον εκάστοτε host δεν οφείλεται σε κάποιο δεσμό -H αλλά κατά κύριο λόγο σε CH...O αλληλεπιδράσεις, ενώ ανάλογες αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται και μεταξύ host και ανθρακικής αλυσίδας των guest.

Τρεις καταγεγραμμένες δομές προϊόντων εγκλεισμού της β-CD με ονομασίες BEZCOA, NUFTUE και BURXUI παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα με το προϊόν Lin/β-CD (98,18, 98,16 και 98,00 % αντίστοιχα). Στην πρώτη δομή (BEZCOA), δύο μόρια β-CD σχηματίζουν διμερές «κεφαλής-κεφαλής» και μέσα τους εγκλείεται μια συνθετική αυξίνη, το β-ναφθυλοξεϊκό οξύ (β-naphthylacetic acid). Ο κρύσταλλος ανήκει στη συμμετρία χώρου *P1* και στην ασύμμετρη κυψελίδα περιέχονται,

πέρα από τους host και guest, και 15 μόρια νερού. Κάθε host του διμερούς φιλοξενεί ένα μόριο guest (στοιχειομετρία guest:host στο διμερές 2:2) αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις. Στο μόριο του guest υπάρχει ένα ναφθαλίνιο και η διάταξη των θέσεων των δύο μορίων β-ναφθυλοξικού οξέος μέσα στο διμερές είναι τέτοια, ώστε μεταξύ των δακτυλίων ναφθαλινίου να αναπτύσσονται αλληλεπιδράσεις π-π. Τέλος, τα διαδοχικά διμερή δημιουργούν κανάλια (CH) κατά μήκος του άξονα c (Triantafyllopoulou et al. 2013).

Οι επόμενες δύο δομές, με κωδικές ονομασίες NUFTUE και BURXUI αναφέρονται σε προϊόντα εγκλεισμού με ξενιζόμενα μόρια το αιθυλ-4-υδροξυβενζοϊκό οξύ και το τολβουταμίδιο [tolbutamide ή 1-butyl-3-(p-toluenesulfonyl)urea]. Το πρώτο ανήκει στην οικογένεια των παραγώγων του π-βενζοϊκού οξέος (parabens) που χρησιμοποιούνται ευρέως ως συντηρητικά τροφίμων και το δεύτερο είναι μια φαρμακευτική ένωση που βρίσκει εφαρμογή στην διέγερση και απελευθέρωση της ινσουλίνης από το πάγκρεας. Τα μόρια β-CD σχηματίζουν τα γνωστά διμερή «κεφαλής-κεφαλής» όπου μέσα τους εγκλωβίζονται οι guest και «επαναλαμβάνονται» στον χώρο με τη μορφή καναλιών (CH). Τα συγκεκριμένα προϊόντα εγκλεισμού μοιάζουν με το εξεταζόμενο Lin/β-CD καθώς κρυσταλλώνουν και οι δύο στην ομάδα χώρου C2 (De Vries et al. 2010, Pavlidou et al. 2010). Η στοιχειομετρία guest:host στα διμερή είναι 2:2 για τις BEZCOA και NUFTUE και 1:2 για την BURXUI και συμφωνούν με την αντίστοιχη στοιχειομετρία των «δικών μας» εξεταζομένων δομών Lin/β-CD και Oleic/β-CD (2:2 και 1:2 αντίστοιχα).

#### 4.6. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΜΥΡΚΕΝΙΟΥ/β-CD (Myrc/β-CD)



Η ασύμμετρη μονάδα του Myrc/β-CD περιλαμβάνει ένα μόριο κυκλοδεξτρίνης, ένα μόριο μυρκενίου αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις με βαθμό κατάληψης 0,50:0,50 και 10,5 μόρια νερού (**Εικόνα 4.6.1.α**). Το προϊόν εγκλεισμού κρυσταλλώνει στην ομάδα χώρου C2, κάτι που σημαίνει ότι υπάρχει ένας επιπλέον άξονας συμμετρίας, με αποτέλεσμα η μοναδιαία κυψελίδα να περιλαμβάνει την ασύμμετρη μονάδα και το είδωλο της. Επομένως, προκύπτει ένα διμερές, με τη στοιχειομετρία guest:host να είναι 2:2 και τα διαδοχικά διμερή να είναι μετατοπισμένα μεταξύ τους ως προς τον άξονα c κατά 2,563(7) και να δημιουργούν κανάλια (**Εικόνα 4.6.1.β-γ**).

Το μόριο της β-CD εμφανίζει τη δομή κανονικού επταγώνου, όπως δείχνουν και οι σχετικές γεωμετρικές μετρήσεις (**Πίνακας 4.6**). Για παράδειγμα, οι αποστάσεις των ατόμων O4n από το μέσο επίπεδό τους είναι παρόμοιες [μεταξύ -0,0386(10) Å (O42) και 0,0131(4) Å (O47)], καθώς και οι αποστάσεις τους από το κέντρο βάρους τους [μεταξύ 4,9424(12) Å (O44) και 5,122(2) Å (O42)]. Επίσης, οι μικρές γωνίες τ που σχηματίζουν οι μονάδες γλυκόζης της κυκλοδεξτρίνης με το επίπεδο των ατόμων O4n [μέσος όρος: 9,88 °, με εύρος: 5,290(2) ° (Glu VII) έως 12,997(5) ° (Glu IV)], υποδηλώνουν το «ανοικτό» πρωτοταγές στόμιο του host.

Αναφορικά με τα πρωτοταγή υδροξύλια, δύο είναι αποδιατεταγμένα (O61 και O64) με βαθμό κατάληψης 0,60:0,40 και 0,50:0,50 αντίστοιχα), ενώ παρατηρείται και μία περίπτωση που αφορά αποδιάταξη του πρωτοταγούς υδροξυλίου μαζί με το ανθρακο-άτομο που είναι συνδεδεμένο (O66-C66) με βαθμό κατάληψης 0,50:0,50. Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις παραπάνω αποδιατάξεις, προκύπτουν συνολικά δέκα θέσεις των πρωτοταγών υδροξυλίων, όπου κυριαρχεί η διαμόρφωση τύπου gauche-gauche, όπως φαίνεται και από τις τιμές των αντίστοιχων γωνιών στρέψης τ, δηλαδή με τα υδροξύλια να έχουν κατεύθυνση προς το εξωτερικό της κοιλότητας του μορίου. Τα δύο μόρια host του ίδιου διμερούς είναι σχεδόν παράλληλα καθώς σχηματίζουν γωνία 1,23 °, με τα δύο βαρύκεντρα των ατόμων O4nA και O4nB να έχουν απόσταση 6,957 Å.

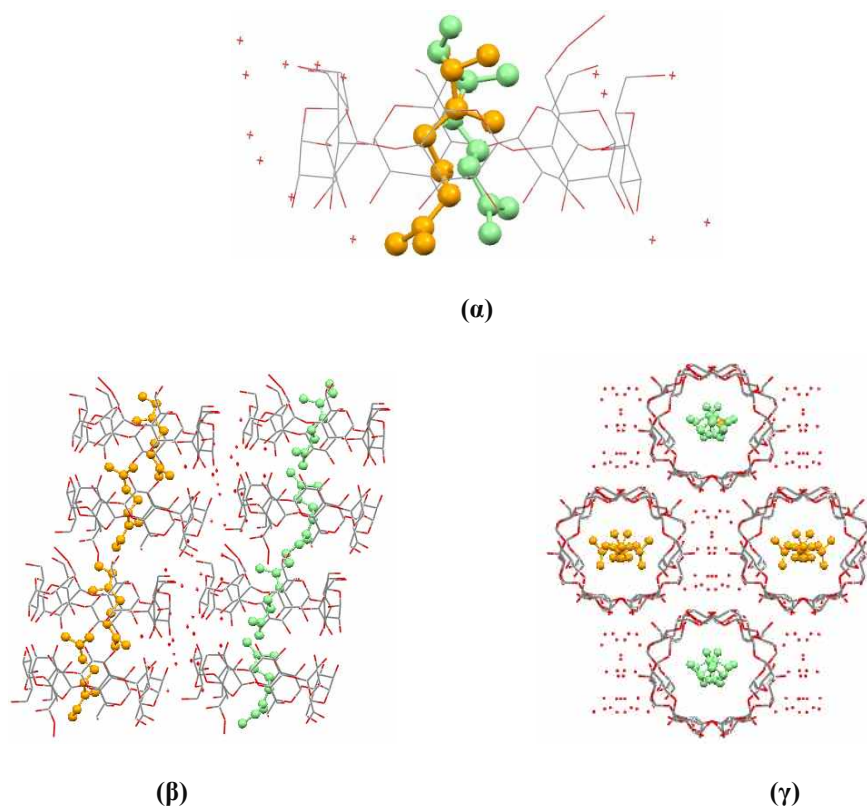
Τα διαδοχικά διμερή απέχουν μεταξύ τους 15,864(4) Å, είναι και σχηματίζουν με το επίπεδο ab γωνία 10,13 °. Τα επίπεδα των ατόμων O4n των διαδοχικών διμερών κάθε αυλού είναι παράλληλα μεταξύ τους, όπως παράλληλα είναι και τα διμερή των γειτονικών αυλών με αποτέλεσμα ο κρύσταλλος να απαρτίζεται από πανομοιότυπα κανάλια.

**Πίνακας 4.6.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Μυρκενίου/β-CD

Κρυσταλλογραφικά δεδομένα	Myrc/β-CD
Χημικός τύπος	Z=8, C <sub>25,9</sub> H <sub>32,8</sub> O <sub>23</sub>
Μοριακή μάζα, Μr	711,8
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Μονοκλινές, C2
Θερμοκρασία (Κ)	100
a / b / c (Å)	19,205(9) / 24,398(7) / 15,864(4)
α / β / γ (°)	90,00 / 109,38(3) / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	7012(4)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	1,07
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Διόρθωση απορρόφησης	Multi-scan SADABS2016/2-Bruker AXS area detector scaling and absorption correction
T <sub>min</sub> , T <sub>max</sub>	0,646 / 0,751
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	35221 / 8538 / 7788
R <sub>int</sub>	0,037
θ <sub>max</sub> (°)	54.5
(sin θ/λ) <sub>max</sub> (Å <sup>-1</sup> )	0,578
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,077 / 0,192 / 1,04
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	8538 / 934 / 67
Δr <sub>max</sub> / Δr <sub>min</sub> (eÅ <sup>3</sup> )	1,022 / -0,411
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,08(6) από 3347 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

Οι δύο αποδιατεταγμένες θέσεις των μορίων μυρκενίου βρίσκονται η μία δίπλα στην άλλη, στο μέσον της υδρόφοβης κοιλότητας της β-CD, με τη θέση Β λίγο «χαμηλότερα» από την Α. Παρουσιάζουν και οι δύο τον ίδιο προσανατολισμό, με την αιθυλομάδα του μυρκενίου τοποθετημένη στο επίπεδο των πρωτοταγών υδροξυλίων της β-CD, ενώ τα δύο μεθύλια, που αντιπροσωπεύουν το άλλο άκρο του μορίου του μυρκενίου, καταλήγουν στον ενδιάμεσο κενό χώρο που σχηματίζεται μεταξύ των δύο μορίων host του διμερούς. Το μεθύλιο C7, που είναι το πιο απομακρυσμένο ανθρακο-άτομο σε σχέση

με το μόριο της κυκλοδεξτρίνης, βρίσκεται σε απόσταση 0,916 Å (θέση A) και 1,348 Å (θέση B) «κάτω» από το επίπεδο των δευτεροταγών υδροξυλίων της β-CD.



**Εικόνα 4.6.1. (α)** Η ασύμμετρη κυψελίδα του προϊόντος εγκλεισμού Myrc/β-CD, όπου διακρίνονται με χρώμα οι δύο θέσεις του guest A (πράσινο) και B (πορτοκαλί) και η διάταξη των διμερών Myrc/β-CD στον χώρο: **(β)** κατά μήκος του άξονα a και **(γ)** κατά μήκος του άξονα b

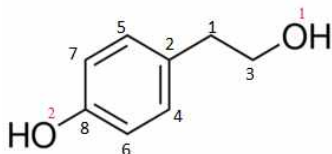
Καθώς το μυρκενίο δεν περιέχει κάποιο άτομο οξυγόνου, δεν παρατηρείται κάποιος δεσμός -H που να συγκρατεί το μυρκενίο εγκλωβισμένο μέσα στη κυκλοδεξτρίνη. Φαίνεται λοιπόν ότι οι κύριες δυνάμεις που συμβάλουν στον εγκλεισμό του μυρκενίου είναι τύπου Van der Waals. Ενδιαφέρουσα περίπτωση τέτοιας αλληλεπίδρασης, αποτελεί η σύνδεση μεταξύ των ατόμων C4\_1 και C4\_2 των ισοπροπυλικών άκρων των διαδοχικών guest του ίδιου διμερούς (απόσταση διαδοχικών C4\_1...C4\_2: 3,110 Å). Επίσης, η ύπαρξη τριών διπλών δεσμών στο μόριο του μυρκενίου (C8=C0, C5=C9 και C3=C4) και η διάταξη των δύο θέσεών του στο εσωτερικό της β-CD, υποδηλώνουν την ύπαρξη αλληλεπιδράσεων CH/π μεταξύ guest-host. Μία τέτοια αλληλεπίδραση, για παράδειγμα, αναπτύσσεται μεταξύ του ατόμου C36 του host και του ατόμου C4\_2 του guest B (αποστάσεις C36...C4\_2: 3,913 Å; H36...C4\_2: 2,986 Å και γωνία C36-H36...C4\_2: 154,54 °). Επιπλέον, λόγω της παρουσίας των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλίων της β-CD, αλλά και των μορίων νερού που περιβάλλουν το προϊόν εγκλεισμού, τα διμερή κάθε καναλιού αλλά και τα γειτονικά



κανάλια μεταξύ τους, συνδέονται με ένα πλήθος διαμοριακών δεσμών -H, υποστηριζόμενα από ένα εκτεταμένο δίκτυο αντίστοιχων δεσμών που παρατηρείται μεταξύ των μορίων νερού.

Κάνοντας μία αναζήτηση στη βάση δεδομένων CSD διαπιστώνεται ότι υπάρχει μια πληθώρα κρυστάλλων προϊόντων εγκλεισμού με host την  $\beta$ -CD, με σημαντική ομοιότητα (άνω του 96%) με τον εξεταζόμενο κρύσταλλο Myrc/ $\beta$ -CD. Ενδεικτικά αναφέρονται οι δομές με κωδικές ονομασίες HAMBZB, FERCOU και HUTKOW, όπου τα μόρια-guest είναι αντιστοίχως η 2-βρωμο-4-τερτ-βουτυλφαινόλη (2-bromo-4-tert-butylphenol), το 1,7-διοξάσπειρο(5,5)ενδεκάνιο [1,7-dioxaspiro(5,5)undecane] που είναι η κύρια φερομένη του δάκου της ελιάς και, τέλος, μία ένωση που περιέχει ουράνιο [diaqua(benzoate)chlorodioxouranium]. Οι HAMBZB και HUTKOW έχουν κοινό χαρακτηριστικό με το Myrc/ $\beta$ -CD την ομάδα χώρου (C2), σε αντίθεση με την FERCOU που ανήκει στην P1, ενώ και στις τρεις δομές σχηματίζονται κανάλια από διμερή «κεφαλής-κεφαλής» (Hamilton et al. 1981, Tsoucaris et al. 1987, Navaza et al. 2000).

#### 4.7. ΠΡΟΪΟΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΥΡΟΣΟΛΗΣ/DM- $\beta$ -CD (Tyr/DM- $\beta$ -CD)



Η ασύμμετρη μονάδα της Tyr/DM- $\beta$ -CD περιέχει ένα μόριο κυκλοδεξτρίνης, ένα μόριο τυροσόλης αποδιατεταγμένο σε δύο θέσεις (A και B) με βαθμό κατάληψης 0,50:0,50, καθώς και 3 μόρια νερού (Εικόνα 4.7.1.α). Ο κρύσταλλος ανήκει στο ορθορομβικό σύστημα και στην ομάδα χώρου  $P2_12_12_1$ . Η στοιχειομετρία guest:host που προκύπτει είναι 1:1, με διαδοχικά μονομερή να δημιουργούν κανάλια κατά μήκος του άξονα a (Εικόνα 4.7.1.β). Η μοναδιαία κυψελίδα έχει σχήμα που ομοιάζει με ορθογώνιο παραλληλόγραμμο και περιλαμβάνει τέσσερα γειτονικά μονομερή.

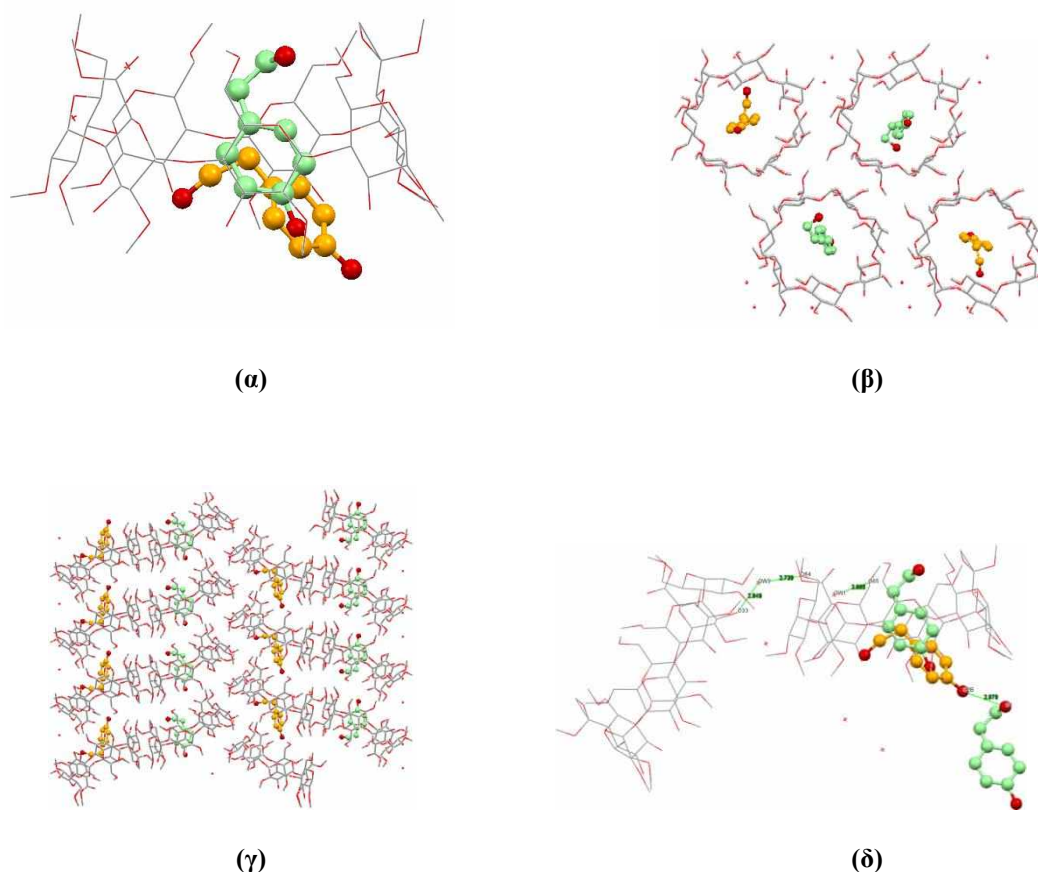
Από τα χαρακτηριστικά της δομής του μορίου της DM- $\beta$ -CD φαίνεται ότι αυτή διατηρεί το επταγωνικό σχήμα, αν και απέχει από την «στιβαρή» εικόνα που παρουσιάζει η  $\beta$ -CD στα προϊόντα της (Πίνακας 4.7). Δύο από τα συνολικά επτά πρωτοταγή υδροξύλια (O63 και O67) εμφανίζουν αποδιάταξη σε δύο θέσεις, όπου και στις δύο περιπτώσεις, η μία θέση εμφανίζει γωνία στρέψης  $t$  αρνητική, «κοιτώντας» δηλαδή προς το εξωτερικό περιβάλλον του host και η άλλη θετική, με αντίθετο προσανατολισμό (διαμορφώσεις gauche:gauche και gauche:trans αντίστοιχα). Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι οι αποδιατεταγμένες θέσεις των ατόμων οξυγόνου που έχουν αυτή τη διαμόρφωση έχουν το μικρότερο βαθμό κατάληψης (0,20 και 0,40 για τα O63B και O67B αντίστοιχα), ενώ από τα

υπόλοιπα άτομα οξυγόνου με συμπληρωμένο βαθμό κατάληψης (1,00), μόνο ένα (O62) έχει κατεύθυνση προς το εσωτερικό της περιφέρειας του μορίου της κυκλοδεξτρίνης, γίνεται αντιληπτό ότι η διαμόρφωση που κυριαρχεί στις γωνίες μεταξύ των ατόμων O5n-C5n-C6n-O6n κάθε γλυκοζιτικής μονάδας του host, είναι η gauche:gauche.

**Πίνακας 4.7.** Κρυσταλλογραφικά χαρακτηριστικά του προϊόντος εγκλεισμού Τυροσόλης/DM-β-CD

<b>Κρυσταλλογραφικά δεδομένα</b>	<b>Tyr/DM-β-CD</b>
Χημικός τύπος	Z=4, C <sub>65</sub> H <sub>85</sub> O <sub>40</sub>
Μοριακή μάζα, Mr	1506,4
Κρυσταλλικό σύστημα, ομάδα χώρου	Ορθορομβικό, P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Θερμοκρασία (K)	100
a / b / c (Å)	10,301(2) / 14,793(4) / 52,907(1)
α / β / γ (°)	90,00 / 90,00 / 90,00
Όγκος V (Å <sup>3</sup> )	8062(3)
Τύπος ακτινοβολίας	Cu Ka
M (mm <sup>-1</sup> )	0,896
<b>Συλλογή δεδομένων</b>	
Περιθλασίμετρο	Bruker APEX-II
Διόρθωση απορρόφησης	Multi-scan SADABS2016/2-Bruker AXS area detector scaling and absorption correction
Tmin, Tmax	0,650 / 0,753
Αριθμός ανακλάσεων: καταγεγραμμένων / ανεξαρτήτων / παρατηρουμένων [I>2s(I)]	64298 / 11564 / 8473
Rint	0,058
θmax (°)	59,0
(sin θ/λ)max (Å <sup>-1</sup> )	0,528
<b>Βελτιστοποίηση</b>	
R[F <sup>2</sup> >2s(F <sup>2</sup> )] / wR(F <sup>2</sup> ) / S	0,091 / 0,239 / 1,084
Αριθμός: ανακλάσεων / παραμέτρων / περιορισμών (restraints)	11564 / 1069 / 191
Δrmax / Δrmin (eÅ <sup>3</sup> )	1,022 / -0,411
Παράμετρος πλήρους δομής Flack x	0,08(6) από 2926 συντελεστές [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B 2013, 69, 249-259)

Τα μονομερή στοιβάζονται κατά μήκος του άξονα a με διαμόρφωση «κεφαλής-ουράς», παράλληλα μεταξύ τους, με τα βαρύκεντρα των ατόμων O4n δύο διαδοχικών μονομερών να απέχουν μεταξύ τους 10,301 Å και να μετατοπίζονται κατά 5,028(2) Å. Το δευτεροταγές στόμιο κάθε μορίου DM-β-CD εγκλείει μερικώς το επόμενο μόριο DM-β-CD, δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο κανάλι τύπου «ψαροκόκκαλου» (herringbone - HB) κατά μήκος του άξονα a, ενώ τα γειτονικά κανάλια που σχηματίζονται στον χώρο έχουν αντιπαράλληλο προσανατολισμό (**Εικόνα 4.7.1.γ**). Μεταξύ των επιπέδων O4n των γειτονικών μορίων DM-β-CD σχηματίζεται γωνία 10,32 °, ενώ τα γειτονικά μονομερή εμφανίζουν μετατόπιση 9,909(4) Å κατά τον άξονα εβδόμης συμμετρίας.



**Εικόνα 4.7.1.** (α) Η ασύμμετρη μονάδα του προϊόντος Tyg/DM-β-CD με τις δύο αποδιατεταγμένες θέσεις (βαθμοί κατάληψης: 0,50:0,50) του μορίου της τυροσόλης με πράσινο (host A) και πορτοκαλί (host B) χρώμα (0,50:0,50) (β) άποψη των γειτονικών καναλιών κατά μήκος του άξονα a και (γ) η διάταξη των καναλιών κατά μήκος του άξονα b. (δ) Ορισμένοι χαρακτηριστικοί δεσμοί υδρογόνου που παρατηρούνται στο προϊόν εγκλεισμού.

Και στις δύο θέσεις της τυροσόλης το φαινολικό υδροξύλιο είναι προσανατολισμένο προς το δευτεροταγές στόμιο της κυκλοδεξτρίνης. Όμως, τα αλειφατικά υδροξύλια που βρίσκονται στην άκρη της ανθρακικής αλυσίδας (O1n) παρουσιάζουν διαφορετικό προσανατολισμό. Πιο συγκεκριμένα, το υδροξύλιο O1 της θέσης A είναι στραμμένο προς τη πρωτοταγή πλευρά του host προσδίδοντας στο

μόριο της τυροσόλης μία αξονική διάταξη ως προς το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n της DM-β-CD, ενώ το αντίστοιχο υδροξύλιο O1B της θέσης B στρέφεται προς τη μεριά των δευτεροταγών υδροξυλίων με αποτέλεσμα η θέση B να έχει μία πιο κεκλιμένη διάταξη και να είναι τοποθετημένη πιο «χαμηλά» σε σχέση με τη A, προς τη δευτεροταγή πλευρά της κυκλοδεξτρίνης (απόσταση των βαρύκεντρων των δύο θέσεων τυροσόλης: 2,522 Å). Αυτή η διαφορά στον προσανατολισμό των δύο θέσεων A και B του guest αποτυπώνεται και στις γωνίες που σχηματίζουν τα μέσα επίπεδα των φαινολικών δακτυλίων τους, με το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n της DM-β-CD (72,23 ° και 58,74 ° για τις θέσεις A και B αντίστοιχα). Η θέση A καλύπτεται πλήρως από τη κυκλοδεξτρίνη, καθώς βρίσκεται βαθιά μέσα στην κοιλότητά της, ενώ αντιθέτως, στη θέση B το φαινολικό υδροξύλιό της εξέχει καθαρά από τη δευτεροταγή πλευρά και βρίσκεται τοποθετημένο στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των διαδοχικών μονομερών (απόσταση του φαινολικού ατόμου O2B του guest B από το επίπεδο των ατόμων C7n του δευτεροταγούς άκρου της DM-β-CD: 1,729 Å). Τέλος, τα μέσα επίπεδα των φαινολικών δακτυλίων των δύο θέσεων A και B της τυροσόλης σχηματίζουν γωνία μεταξύ τους γωνία 40,90 °.

Λόγω της έλλειψης ικανού αριθμού μορίων νερού δεν παρατηρούνται πολλοί δεσμοί υδρογόνου, αλλά παρόλα αυτά υπάρχουν ορισμένοι χαρακτηριστικοί, που συμβάλλουν στην διατήρηση της δομής του κρυστάλλου (Εικόνα 4.7.1.δ). Πιο αξιοσημείωτος είναι ο δεσμός -H που συνδέει τις δύο αποδιατεταγμένες θέσεις του guest στα διαδοχικά μονομερή του ίδιου αυλού και συγκεκριμένα μεταξύ του οξυγόνου O2B του φαινολικού υδροξυλίου της θέσης B και του αλειφατικού οξυγόνου O1A της θέσης A (απόσταση O2B...O1A: 2,979 Å). Άλλοι δεσμοί -H συμβαίνουν μεταξύ των πρωτοταγών ατόμων O64 και O65 της DM-β-CD με τα μόρια νερού OW3 και OW1 αντίστοιχα (αποστάσεις O64...OW3: 2,728 Å και O65...OW1: 2,865 Å), καθώς και μεταξύ των δευτεροταγών O33 και O25 με τα μόρια νερού OW3 και OW2 του γειτονικού μονομερούς (αποστάσεις O33...OW3: 2,849 Å και O25...OW2: 2,990 Å). Διαπιστώνεται δηλαδή ότι το μόριο νερού OW3 δημιουργεί ένα είδος γέφυρας, καθώς συμμετέχει σε δεσμούς υδρογόνου με δύο άτομα οξυγόνου που ανήκουν σε διαφορετικά μόρια host, συνδέοντας τα μονομερή γειτονικών αυλών. Επίσης, ένα μικρό, αλλά σημαντικό υδατικό πλέγμα δημιουργείται, καθώς και τα τρία μόρια νερού των γειτονικών μονομερών συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς -H. Επιπλέον, η ύπαρξη του αρωματικού δακτυλίου στο μόριο της τυροσόλης επιτρέπει την ανάπτυξη αλληλεπιδράσεων CH/π μεταξύ των δύο αποδιατεταγμένων θέσεων της με το μόριο του host. Για παράδειγμα, τέτοιες αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται μεταξύ των ανθρακο-ατόμων C37 (host) και C7B (guest B), αλλά και C51 (host) και C4 (guest A) συνεισφέροντας έτσι στην δημιουργία μιας «στιβαρής» κρυσταλλικής δομής.

Ο προσανατολισμός των δύο θέσεων τυροσόλης μέσα στην κοιλότητα της DM-β-CD έρχεται σε αντίθεση με τον προσανατολισμό των αντίστοιχων δύο θέσεων τυροσόλης (β. κατάληψη 0,79:0,21) που παρατήρησαν οι Aree et al. (2018) στην κοιλότητα της β-CD. Στο προϊόν εγκλεισμού Tyr/β-CD

το μόριο τυροσόλης βρίσκεται σε αξονική θέση και με αντίθετη κατεύθυνση, εισερχόμενο από τη δευτεροταγή πλευρά και το υδροξύλιο του φαινολικού δακτυλίου να εξέχει από τα πρωτοταγή υδροξύλια του host. Αυτή η διαμόρφωση πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι δημιουργείται δεσμός –H του φαινολικού υδροξυλίου με υδροξυλομάδες γειτονικών  $\beta$ -CD και με μόρια νερού. Ίσως η μεθυλιωμένη πρωτοταγής πλευρά της DM- $\beta$ -CD δεν ευνοεί τη δημιουργία αντίστοιχων δεσμών –H και γι' αυτό η τυροσόλη προσαρμόζεται σε μία διαφορετική διαμόρφωση εντός της κοιλότητας του host.

Συγκρίνοντας τη δομή της Tyr/DM- $\beta$ -CD με την αντίστοιχη του προϊόντος εγκλεισμού Ger/DM- $\beta$ -CD στο οποίο ο guest είναι το γραμμικό μόριο της γερανιόλης (3,7-διμεθυλο-2,6-οκταδιεν-8-όλη) παρατηρούνται ορισμένες ομοιότητες, αλλά και διαφορές. Για παράδειγμα, και οι δομές ανήκουν στην ίδια ομάδα χώρου ( $P2_12_12_1$ ) και έχουν την ίδια στοιχειομετρία guest:host (1:1). Τα διαδοχικά μονομερή της Ger/DM- $\beta$ -CD έχουν μεν διάταξη «κεφαλή-ουράς», αλλά απλώνονται κατά μήκος του άξονα b και δημιουργούν κανάλια (CH) (**Christoforides et al. 2020**). Από την άλλη, το προϊόν Tyr/DM- $\beta$ -CD δείχνει να ομοιάζει περισσότερο με την DINA, ένα προϊόν εγκλεισμού της DM- $\beta$ -CD μέσα στην οποία εγκλείεται το  $\alpha$ -ναφθαλενοξεϊκό οξύ ( $\alpha$ -naphthaleneacetic acid - NAA) που περιέχει στο μόριο του δακτυλίου ναφθαλινίου και βρίσκει εφαρμογή στη γεωπονία ως αυξίνη. Διαφορά παρατηρείται στην ασύμμετρη μονάδα, όπου υπάρχουν δύο μόρια DM- $\beta$ -CD και δύο μόρια NAA ώστε η αναλογία guest:host να είναι 2:2. Από εκεί και έπειτα, η DINA, όπως ακριβώς και η Tyr/DM- $\beta$ -CD, ανήκει στο ορθορομβικό σύστημα και στην ίδια ομάδα χώρου ( $P2_12_12_1$ ), με τα μονομερή της να διαδέχονται το ένα το άλλο με διάταξη «κεφαλή-ουράς», δημιουργώντας το μοτίβο του ψαροκόκαλου κατά μήκος του άξονα a (**Bethanis et al. 2018**).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτες MDs πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις εξεταζόμενες κρυσταλλικές δομές εκτός της Tyr/DM-β-CD. Επισημαίνεται ότι η σύγκριση που προκύπτει μεταξύ των ενεργειών  $\Delta G_{GB}$  των προϊόντων εγκλεισμού, γίνεται με βάση της απόλυτες τιμές τους.

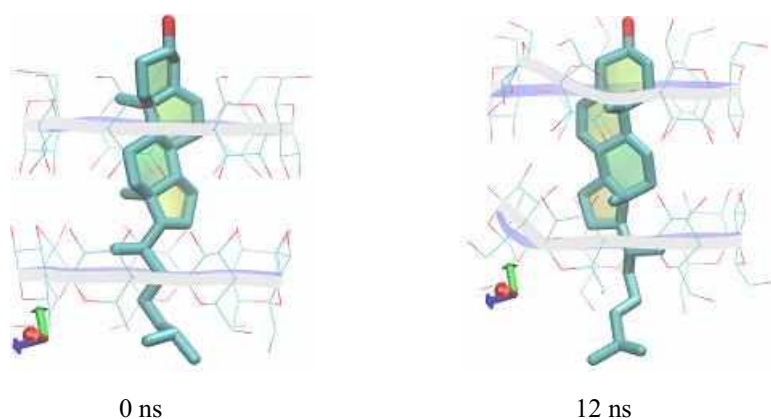
Ξεκινώντας από το σύμπλοκο Chol/β-CD με στοιχειομετρία 1:2, οι προσδιορισμένες μέσω κρυσταλλογραφίας ατομικές συντεταγμένες του, υποβλήθηκε σε εξισορρόπηση και μετέπειτα σε προσομοίωση μοριακής δυναμικής στους 300 και 340 K σε υδατικό περιβάλλον για περίπου 12 ns.

Παρατηρώντας τα καταγεγραμμένα στιγμιότυπα (frames) των προσομοιώσεων, διαπιστώνεται ότι στην περίπτωση της Chol/β-CD το μόριο της χοληστερόλης μετατοπίζεται από την αρχική θέση του προς την ενδιάμεση περιοχή του διμερούς και στις δύο θερμοκρασίες, με το στερολικό τμήμα του μορίου της χοληστερόλης να παραμένει εγκλεισμένο μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα του διμερούς και την αλειφατική αλυσίδα να προεξέχει από το πρωτοταγές στόμιο του host B (**Εικόνα 5.1**). Αυτή η μετατόπιση εννοείται από την απουσία οποιασδήποτε επαφής μεταξύ της υδροξυλομάδας του guest και των γειτονικών σχηματισμών Chol/β-CD της κρυσταλλικής δομής και γενικά φαίνεται ότι οι διαμοριακές δυνάμεις Van der Waals είναι ο κυρίαρχος τύπος αλληλεπιδράσεων που διατηρεί την σταθερότητα του προϊόντος εγκλεισμού στο υδατικό διάλυμα. Όσον αφορά το διμερές της β-CD, διατηρεί στους 300 K τη μορφή του χωρίς να παρατηρούνται ιδιαίτερες μετατοπίσεις, ενώ στους 340 K η διαμόρφωσή του μεταβάλλεται αρκετά πιο έντονα, χωρίς ωστόσο να καταστρέφεται κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.

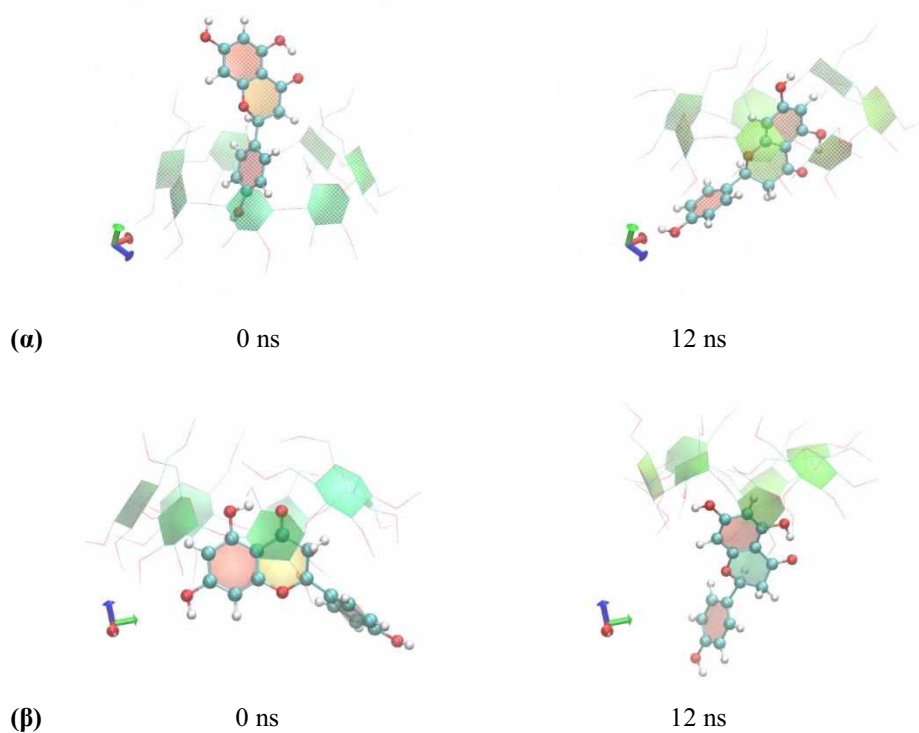
Οι υψηλές απόλυτες τιμές  $\Delta G_{GB}$  τόσο στους 300 K όσο και στους 340 K (-42,5 kcal/mole και -41,3 kcal/mole αντίστοιχα), όπως αυτές προκύπτουν από τους υπολογισμούς των ελκτικών δυνάμεων μέσω της μεθόδου MM/GBSA, υποδηλώνουν ένα πολύ σταθερό προϊόν εγκλεισμού ακόμα και σε υψηλές θερμοκρασίες.

Στην περίπτωση της Nar/DM-β-CD, η οπτική μελέτη των στιγμιότυπων προσομοίωσης αποκαλύπτει τη διείσδυση της ναριγγεΐνης στην πρωτοταγή πλευρά του host και την μετακίνησή της σε νέα θέση, με τους δακτυλίους χρωμόνης προσανατολισμένους αξονικά στην υδρόφοβη κοιλότητα της DM-β-CD και τον δακτύλιο φαινυλίου (δακτύλιος B) να εξέχει αρκετά από την δευτεροταγή πλευρά του host, εκτεθειμένος στον διαλύτη (**Εικόνα 5.2.α**). Η συγκεκριμένη διαμόρφωση διατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια της προσομοίωσης. Το μόριο της DM-β-CD μέσα στο υδατικό διάλυμα «χάνει» το άκαμπτο σχήμα που έχει στην κρυσταλλική κατάσταση λόγω αλληλεπιδράσεων με τα περιβάλλοντα μόρια νερού, με αποτέλεσμα να παραμορφώνεται και να σχηματίζεται στο πρωτοταγές άκρο ένα «καπάκι» αντίστοιχο με αυτό που συνήθως παρατηρείται στη TM-β-CD. Αυτό το καπάκι ωθεί τους δακτυλίους χρωμόνης να μετακινηθούν προς τη δευτεροταγή πλευρά του host. Αν και το βάθος

μετακίνησης των δακτυλίων A και C μέσα στην κοιλότητα μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης, ο αξονικός προσανατολισμός τους παραμένει.



**Εικόνα 5.1.** Αντιπροσωπευτικά στιγμιότυπα του προϊόντος εγκλεισμού Chol/β-CD στα 0 ns **(α)** και 12 ns **(β)** στους 300 K. Τα μόρια νερού έχουν παραληφθεί για λόγους ευκρίνειας. Διακρίνεται η μετατόπιση του στερολικού τμήματος της Chol προς τον ενδιάμεσο χώρο του διμερούς.



**Σχήμα 5.2.** Αντιπροσωπευτικά στιγμιότυπα της μοριακής δυναμικής στα 0 (αριστερά) και 12 ns (δεξιά), για τα προϊόντα εγκλεισμού **(α)** της Nar/DM-β-CD, όπου η ναριγγενίνη από την αρχική αξονική θέση καταλήγει σε ισημερινή και **(β)** Nar/TM-β-CD, όπου αντίθετως, η ναριγγενίνη από την ισημερινή θέση υιοθετεί αξονική θέση με το μεγαλύτερο μέρος της εκτεθειμένο στον περιβάλλοντα χώρο

Στο προϊόν εγκλεισμού Nar/TM-β-CD το χαρακτηριστικό «καπάκι» της πρωτοταγούς πλευράς διατηρείται κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης και αναγκάζει τους δακτυλίους χρωμόνης του guest να παραμένουν «χαμηλά» στο δευτεροταγές άνοιγμα του host. Αυτό που αλλάζει είναι η διάταξη της ναριγγενίνης που από ισημερινή στην αρχή της προσομοίωσης καταλήγει σε αξονική, με τον δακτύλιο C να εξέρχει από το ευρύ άνοιγμα της TM-β-CD (Εικόνα 5.2.β).

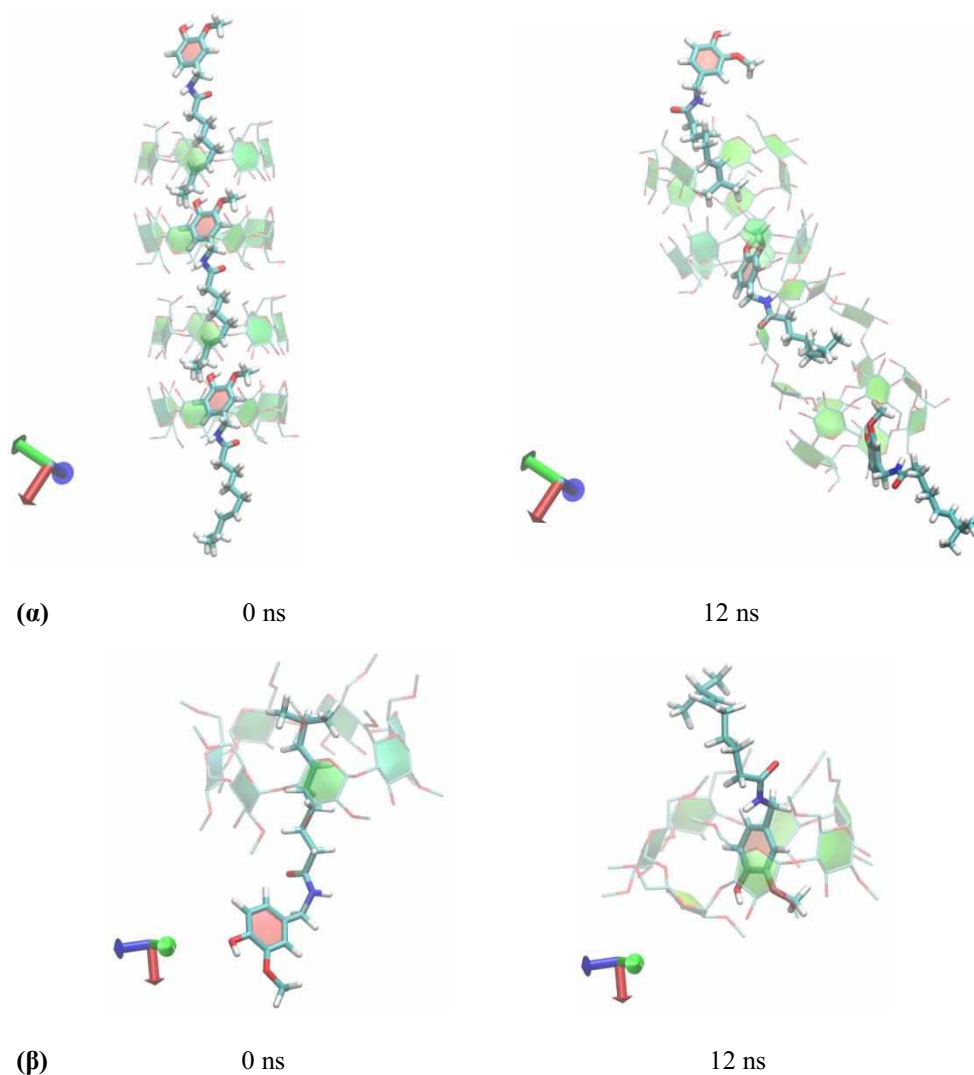
Συγκρίνοντας τις ενέργειες πρόσδεσης ( $\Delta G_{GB}$ ) που προκύπτουν από τις τιμές των μετρήσεων μέσω MM/GBSA, είναι φανερό ότι η αρνητική τιμή  $\Delta G_{GB}$  της Nar/DM-β-CD είναι αρκετά μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της Nar/TM-β-CD (-22,93 έναντι -14,69 kcal/mol) υποδεικνύοντας ένα σταθερότερο προϊόν.

Η προσομοίωση της Caps/β-CD πραγματοποιήθηκε σε δύο διαδοχικά διμερή, που περικλείουν τρία μόρια καψαϊκίνης (στοιχειομετρία guest:host 3:4), προκειμένου να διαπιστωθεί εάν μπορούν διατηρήσουν τη διαμόρφωσή τους. Στο τέλος των 12 ns προσομοίωσης, διαπιστώνεται ότι τα διμερή αν και δεν διατηρούν την κατακόρυφη διάταξη, παραμένουν «συνδεδεμένα», καθώς το μεσαίο μόριο καψαϊκίνης έχει το ρόλο συνδέσμου που προσαρμόζεται στις μετατοπίσεις των διμερών. Επιπλέον, το μόριο του guest δείχνει σε γενικές γραμμές να διατηρεί τη διαμόρφωσή του τόσο στις δύο ακραίες θέσεις, όσο και στη μεσαία η οποία βρίσκεται στο σημείο «στρέβλωσης» του καναλιού των δύο διμερών. Ειδικά το δεύτερο διμερές δείχνει να ταλαιπωρείται αρκετά από τις αλληλεπιδράσεις με το υδατικό διάλυμα και φαίνεται ότι εάν απουσίαζε το μεσαίο μόριο του guest ίσως αποκοβόταν από το άλλο διμερές. Ενδεχομένως, το μάκρος του μορίου της καψαϊκίνης από τη μία και η αλληλεπίδραση CH/π μεταξύ guest και host που παρατηρήθηκε στην κρυσταλλική δομή από την άλλη να συγκρατούν το όλο σύστημα και να μην επιτρέπουν την αποκοπή των διαδοχικών διμερών.

Στη Caps/DM-β-CD το μόριο του guest ενώ αρχικά είναι τοποθετημένο με την αλειφατική αλυσίδα μέσα στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, μετά το τέλος της προσομοίωσης «ανεβαίνει» με τον βανιλικό δακτύλιο να βρίσκεται πλέον μέσα στην κοιλότητα της DM-βCD και την αλειφατική αλυσίδα να διαπερνά το πρωτοταγές άκρο της, εκτεθειμένη στον περιβάλλοντα χώρο. Στην περίπτωση του κρυστάλλου, οι παρατηρούμενες αλληλεπιδράσεις τύπου π-π μεταξύ των βανιλικών δακτυλίων των guest γειτονικών μονομερών του κρυστάλλου αναγκάζουν τους δακτυλίους της καψαϊκίνης να βρίσκονται στον ενδιάμεσο χώρο, έξω από την κοιλότητα του host. Όταν όμως το μονομερές βρεθεί μόνο του σε υδατικό περιβάλλον, ο δακτύλιος της καψαϊκίνης βρίσκει «καταφύγιο» μέσα στην κοιλότητα της DM-βCD.

Συγκρίνοντας τις τιμές  $\Delta G_{GB}$  των δύο προϊόντων της καψαϊκίνης διαπιστώνεται ότι παρά τη στρέβλωση που εμφανίζουν τα κανάλια της Caps/β-CD το προϊόν είναι σταθερότερο από το Caps/DM-β-CD (-37,05 και -23,34 kcal/mol αντίστοιχα).





**Εικόνα 5.3.** (α) Το ενδιάμεσο μόριο της καψαϊκίνης φαίνεται να διατηρεί συνδεδεμένα τα διαδοχικά διμερή της Caps/β-CD μετά το πέρας της προσομοίωσης και Caps/DM-β-CD. (β) Στην περίπτωση του μονομερούς Caps/DM-β-CD η καψαϊκίνη παραμένει σε αξονική θέση, αλλά μεταπισμένο με τον βανιλλικό δακτύλιο μέσα στην εσωτερική κοιλότητα του host

Στην Pip/β-CD υποβλήθηκαν σε προσομοίωση δύο διμερή «ουράς-ουράς» τα οποία περιέχουν συνολικά δύο μόρια guest (στοιχειομετρία guest:host 2:4), προκειμένου να εξακριβωθεί η συμπεριφορά αυτής της ιδιότυπης διαμόρφωσης του διμερούς. Διαπιστώνεται ότι η εικόνα που προκύπτει μετά το πέρας των 12ns, ομοιάζει με τη συμπεριφορά του προϊόντος Caps/β-CD. Πράγματι, οι εκατέρωθεν ακραίοι host καταλήγουν σε πλάγια θέση, μερικώς αποσπασμένοι από τα δύο ενδιάμεσα μόρια β-CD. Παρόλα αυτά, κάθε ακραίος host παραμένει μερικά συνδεδεμένος με τον αντίστοιχο διπλανό του, ενδεχομένως λόγω δεσμών -H που αναπτύσσονται μεταξύ ορισμένων υδροξυλίων των απέναντι πρωτοταγών πλευρών. Επίσης, οι αλληλεπιδράσεις CH/π που

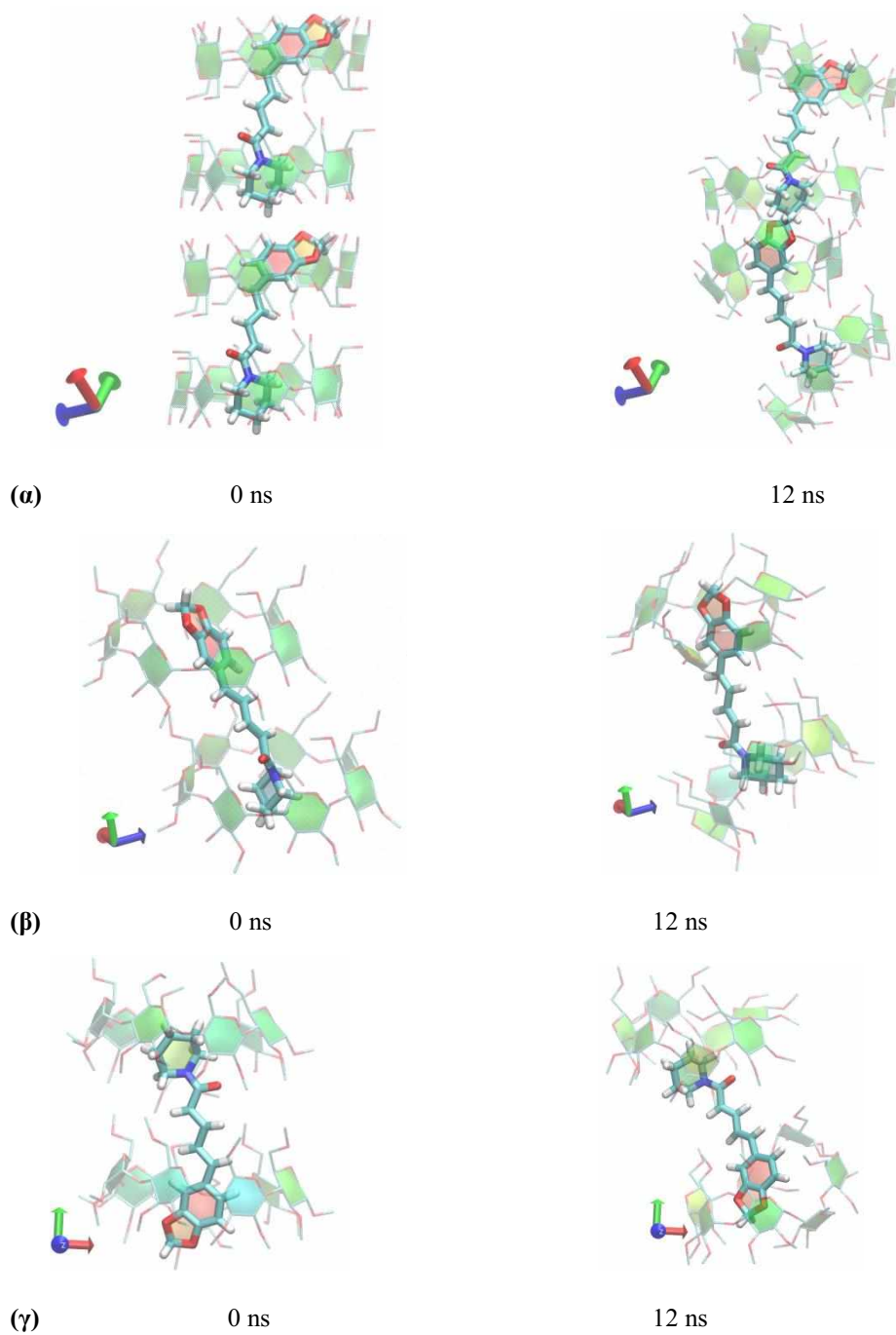
αναπτύσσονται μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα του host μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου της πιπερίνης και της  $\beta$ -CD πιθανόν συνεισφέρουν στο να μην αποκοπούν τελικά τα δύο ακραία μόρια  $\beta$ -κυκλοδεξτρίνης από το υπόλοιπο οικοδόμημα. Οι μετατοπίσεις τους όμως δείχνουν να συμπιέζουν τα δύο ενδιάμεσα μόρια  $\beta$ -CD καθώς πλησιάζουν το ένα το άλλο, ελαφρώς μετατοπισμένα μεταξύ τους, χωρίς την παράλληλη διάταξη που είχαν στην αρχή της προσομοίωσης.

Συγκρίνοντας τα προϊόντα της πιπερίνης με τις μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, η εικόνα που προκύπτει στα 12 ns είναι σχεδόν η ίδια και στις δύο περιπτώσεις. Δύο μόρια της DM- $\beta$ -CD ή της TM- $\beta$ -CD φιλοξενούν από ένα μόριο πιπερίνης το οποίο παραμένει μέσα στις κοιλότητες των δύο host κατά τη διάρκεια των 12 ns, παρά τις μετατοπίσεις που παρουσιάζουν οι τελευταίοι και στα δύο σύμπλοκα.

Η πρωτοταγής πλευρά του ενός μορίου DM- $\beta$ -CD γίνεται πιο στενή, δημιουργώντας ένα καπάκι που αναγκάζει την πιπερίνη να μετατοπισθεί χαμηλότερα, με το σύστημα 1,3-βενζοδιοξολίου να είναι καλά κλεισμένο στην κοιλότητα του host, ενώ στην άλλη άκρη ο ετεροκυκλικός δακτύλιος της πιπεριδίνης δείχνει να «σπρώχνει» τον host B, με αποτέλεσμα ο τελευταίος να αποκτά μία κεκλιμένη διάταξη. Στην πραγματικότητα δεν μπορεί να ειπωθεί με βεβαιότητα εάν η διαμόρφωση του host οφείλεται στον guest ή το αντίθετο, καθώς φαίνεται ότι μάλλον πρόκειται για μια αμφίδρομη σχέση μεταξύ των δύο.

Με παρόμοιο τρόπο ο host A της TM- $\beta$ -CD παραμορφώνεται τόσο, ώστε το πρωτοταγές στόμιό του να δημιουργεί επίσης καπάκι, το οποίο μετατοπίζει το πιπεριδινικό άκρο του guest στο επίπεδο της δευτεροταγούς πλευράς της TM- $\beta$ -CD, ενώ το άλλο άκρο του 1,3-βενζοδιοξολίου βρίσκεται κλεισμένο μέσα στην κοιλότητα του host B. Τόσο στη DM- $\beta$ -CD όσο και στη TM- $\beta$ -CD φαίνεται ότι οι αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  που αναπτύσσονται μεταξύ του εκάστοτε host και του αρωματικού δακτυλίου του guest διατηρούνται κατά τη διάρκεια των 12 ns και συγκρατούν τη συνοχή των δύο προϊόντων εγκλεισμού.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις τιμές  $\Delta G_{GB}$  των τριών προϊόντων της πιπερίνης [-40,87 kcal/mol (Pip/ $\beta$ -CD), -41,31 kcal/mol (Pip/DM- $\beta$ -CD) και -38,06 kcal/mol (Pip/TM- $\beta$ -CD)] δίνεται η εντύπωση ότι πρόκειται για σταθερά προϊόντα. Ενδεχομένως, οι αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  και CH...O που αναπτύσσονται μεταξύ του εκάστοτε host και του αρωματικού δακτυλίου του guest στον κρύσταλλο, να διατηρούνται και στο διάλυμα και να συγκρατούν σταθερά την πιπερίνη και στα τρία είδη κυκλοδεξτρινών. Επίσης, σημαντικό φαίνεται και το γεγονός ότι τα μόρια της πιπερίνης είναι και στα τρία προϊόντα προστατευμένα από μεγαλύτερο αριθμό μορίων host.



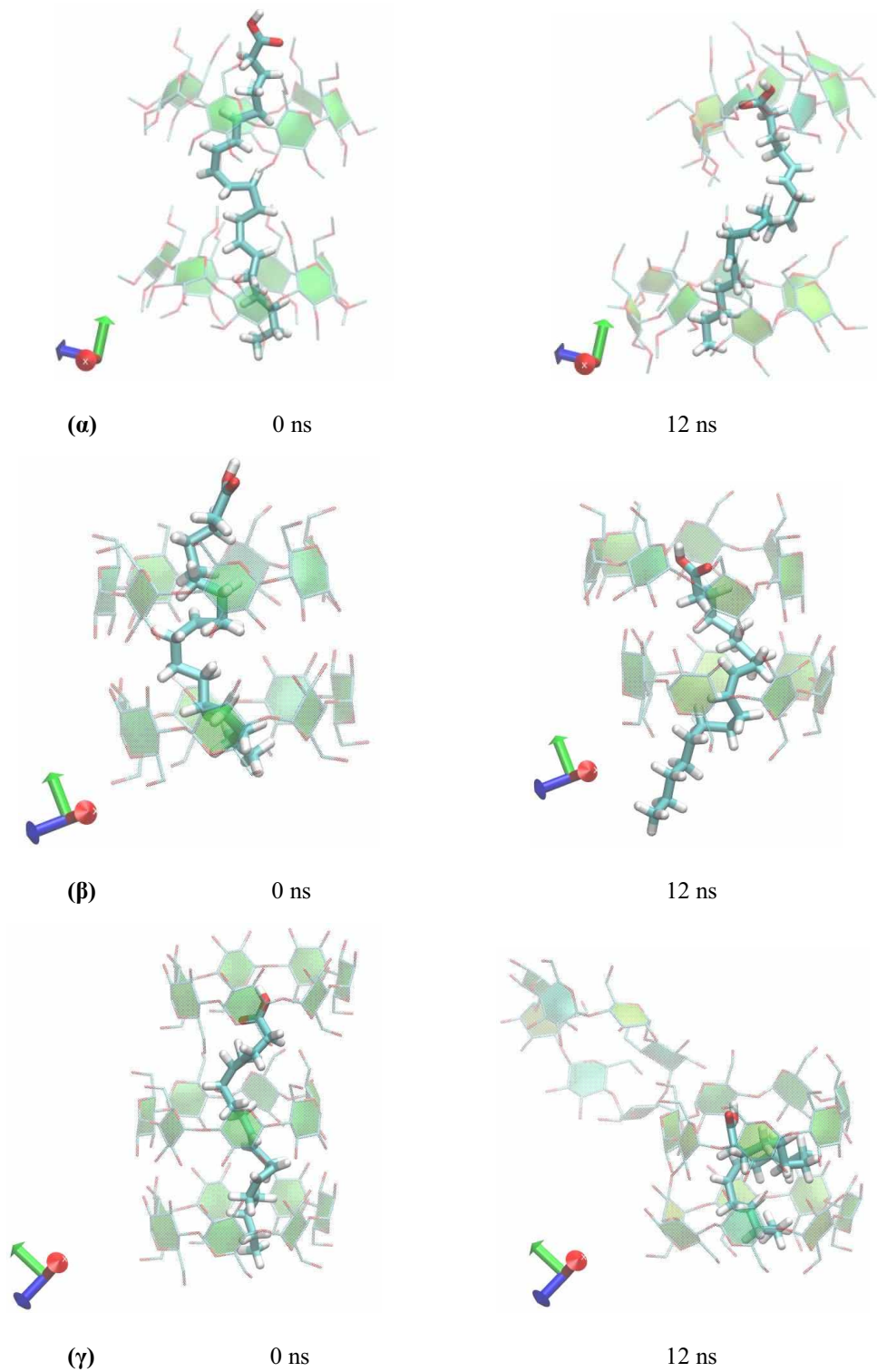
**Εικόνα 5.4.** (α) Η ανάπτυξη δεσμών  $-H$  μεταξύ των ακραίων και των ενδιάμεσων μορίων  $\beta$ -CD και οι αλληλεπιδράσεις  $CH/\pi$  μεταξύ guest:host φαίνεται ότι αποτρέπουν την αποκοπή των δύο διμερών Pip: $\beta$ -CD. Παρά τη μετακίνηση που παρουσιάζουν τα μόρια των host, τα προϊόντα Pip/DM- $\beta$ -CD (β) και Pip/TM- $\beta$ -CD (γ) τα προϊόντα διατηρούν τη συνοχή τους μετά την ολοκλήρωση της προσομοίωσης.

Στην περίπτωση του Ara/TM-β-CD (στοιχειομετρία guest:host 1:2), ο host A δημιουργεί στην πρωτοταγή πλευρά το «καπάκι» που παρατηρείται και στα προηγούμενα σύμπλοκα της TM-β-CD, εγκλωβίζοντας την καρβοξυλομάδα του οξέος στην εσωτερική κοιλότητα. Το μόριο αραχιδονικού οξέος περιελίσσεται, με την υπόλοιπη ανθρακική αλυσίδα να καταλήγει στο εσωτερικό του host B. Το μόριο του host B παραμορφώνεται κατά την προσομοίωση, με αποτέλεσμα το πρωτοταγές στόμιο του να γίνεται ευρύ και να υποδέχεται το αλειφατικό άκρο του οξέος. Οι δύο host μετατοπίζονται ελαφρώς μεταξύ τους, αλλά το σύμπλοκο σε καμμία περίπτωση δεν χάνει τη συνοχή του.

Στο διμερές Oleic/β-CD (στοιχειομετρία guest:host 1:2), αυτό που παρατηρείται με μια πρώτη ματιά είναι η μετατόπιση του guest προς τα «κάτω». Πιο συγκεκριμένα, ενώ σύμφωνα με τις ατομικές συντεταγμένες που προέκυψαν από την κρυσταλλογραφία, η καρβοξυλομάδα του ελαϊκού οξέος προεξέχει του επιπέδου των πρωτοταγών υδροξυλίων του host A, μετά το πέρας των 12 ns είναι τοποθετημένη μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα. Αντιθέτως, το αλειφατικό άκρο της καταλήγει να βρίσκεται εκτεθειμένο στο υδατικό περιβάλλον αρκετά έξω από την πρωτοταγή πλευρά του δεύτερου host του διμερούς, παρά το «δίπλωμα» που εμφανίζει η ανθρακική αλυσίδα του. Το ελαϊκό οξύ είναι μια αρκετά υδρόφοβη ένωση και φαίνεται ότι προκειμένου να βρεθεί ανάμεσα στα μόρια νερού, προτιμά να αλλάξει τη θέση του ώστε η καρβοξυλομάδα να βρεθεί εντός της κοιλότητας της β-CD, όπου είναι πιθανόν να αναπτυχθούν παρόμοιες αλληλεπιδράσεις CH...O μεταξύ guest-host με αυτές που παρατηρήθηκαν στην κρυσταλλική δομή και που θα το συγκρατήσουν μέσα στον εσωτερικό χώρο του διμερούς. Μετά το πέρας των 12 ns, οι δύο host είναι μετατοπισμένοι μεταξύ τους, διατηρούν όμως το σχήμα τους και γενικά το διμερές δείχνει ότι παραμένει στιβαρό.

Ιδιαίτερη περίπτωση αποτελεί ο κρύσταλλος Lin/β-CD (στοιχειομετρία guest:host 1:3), καθώς διαπιστώνεται ότι ο ένας host «αποκόπτεται» από την υπόλοιπη δομή, υποδηλώνοντας ότι σε υδατικό διάλυμα μόνο με τη μορφή διμερους μπορεί το προϊόν εγκλεισμού να διατηρήσει τη συνοχή του. Εντύπωση προκαλεί και η διευθέτηση του λινελαϊκού οξέος, το οποίο «κουλουριάζεται» ώστε να βρεθεί ολόκληρο, προστατευμένο μέσα στον εσωτερικό χώρο του διμερούς. Αυτή η διαμόρφωση του λινελαϊκού οξέος επιτρέπει στους δύο host να διατηρούν σε γενικές γραμμές τη δομή και τη θέση τους και το διμερές να παραμένει συμπαγές.

Συγκρίνοντας τη διαμόρφωση που υιοθετούν τα τρία οξέα, φαίνεται ότι το αραχιδονικό οξύ (C20:4) είναι το πιο άκαμπτο. Ενδεχομένως οι τέσσερις διπλοί δεσμοί να μην επιτρέπουν ιδιαίτερη ευλυγισία στο μόριό του, ενώ ούτως ή άλλως τα άκρα του μορίου του προφυλάσσονται μεταξύ των δύο μορίων TM-βCD. Από την άλλη, το ελαϊκό (C18:1) και το λινελαϊκό οξύ (C18:2) με λιγότερους διπλούς δεσμούς, όπως επίσης και δύο ανθρακοάτομα λιγότερα, φαίνεται ότι



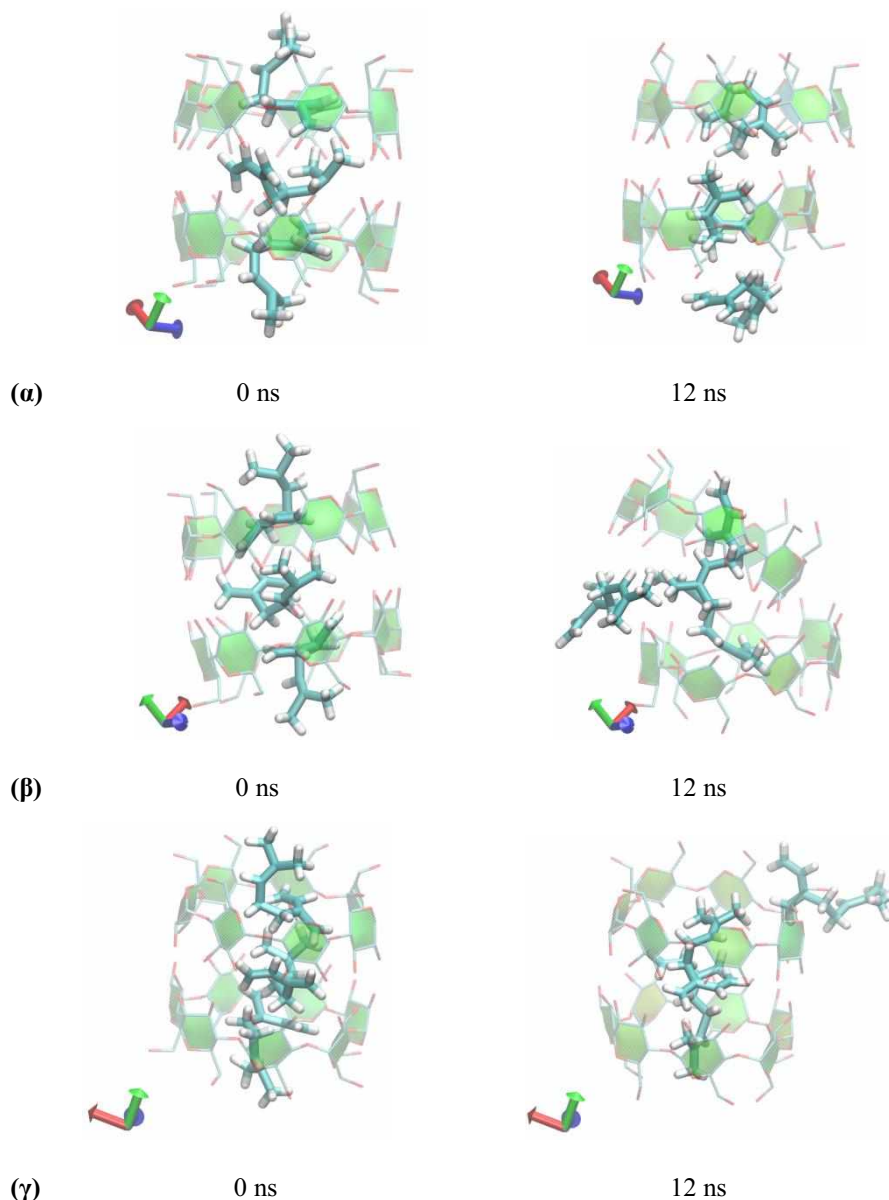
**Εικόνα 5.5.** (α) Ara/TM-β-CD: Το μόριο αραχιδονικού οξέος μετακινείται ώστε η καρβοξυλομάδα του να βρεθεί μέσα στο εσωτερικό του host A. Διακρίνεται και το «καπάκι» που δημιουργεί η πρωτοταγής πλευρά του συγκεκριμένου host. (β) Oleic/β-CD: με παρόμοιο τρόπο το ελαϊκό οξύ μετακινείται και η καρβοξυλομάδα του καταλήγει μέσα στην υδρόφοβη κοιλότητα του host A. (γ) Lin/TM-β-CD: το λινελαϊκό οξύ τυλίγεται ώστε να παραμείνει εγκλεισμένο στον εσωτερικό χώρο που δημιουργούν δύο μόρια β-CD, ενώ ο τρίτος host αποκόπτεται από την υπόλοιπη δομή.

προσαρμόζονται πιο εύκολα στις νέες συνθήκες που προκύπτουν μέσα στον περιορισμένο εσωτερικό χώρο του διμερούς. Οι  $\Delta G_{GB}$  και των τριών συμπλόκων των λιπαρών οξέων είναι παραπλήσιες (Ara/TM- $\beta$ -CD: -38,91 kcal/mol, Oleic/ $\beta$ -CD: -33,28 kcal/mol, Lin/ $\beta$ -CD: -35,16 kcal/mol) και επιβεβαιώνουν ότι πρόκειται για σταθερούς σχηματισμούς.

Τέλος, η περίπτωση του Myrc/ $\beta$ -CD παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Κατά τις αρχικές προσπάθειες επίλυσης της κρυσταλλικής δομής, μία από τις πιθανές «λύσεις» ήταν ο εγκλεισμός εντός της κοιλότητας της  $\beta$ -CD ενός μορίου μυρκενίου ( $\beta$ . κατάληψης 1,0) προσανατολισμένο σε αξονική θέση και ενός δευτέρου ( $\beta$ . κατάληψης 0,5) διατεταγμένο σε ισημερινή θέση στον κενό χώρο κάτω από το επίπεδο των δευτεροταγών ατόμων οξυγόνου O2n και O3n του host. Επομένως, η στοιχειομετρία guest:host της ασύμμετρης κυψελίδας που προέκυπτε ήταν 1,5:1, ενώ λόγω συμμετρίας της ομάδας χώρου C2, η αντίστοιχη στοιχειομετρία της μοναδιαίας κυψελίδας ήταν 3:2. Το «ισημερινό» μυρκενίο βρισκόταν ανάμεσα σε δύο μόρια  $\beta$ -CD και περιστοιχισμένο εκατέρωθεν από δύο επιπλέον μόρια μυρκενίου τοποθετημένα σε αξονική θέση μέσα στις κοιλότητες των δύο host. Αυτή η αρχική επίλυση της δομής χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη MDs σε θερμοκρασίες 300, 308 και 318 K.

Παρατηρώντας την τελική διαμόρφωση του συμπλόκου και στις τρεις θερμοκρασίες, διαπιστώνεται ότι στο τέλος ένα από τα τρία μόρια μυρκενίου «αποβάλλεται» και καταλήγει εκτός της κοιλότητας του διμερούς. Το διμερές δεν μπορεί να φιλοξενήσει στο εσωτερικό του τα τρία μόρια μυρκενίου, καθώς αυτά «στριμώνονται» και απωθούν το ένα το άλλο. Σε συνδυασμό με το μικρό γραμμικό σχήμα τους, το ένα μόριο βρίσκει τρόπους διαφυγής και τελικά καταλήγει στο εξωτερικό περιβάλλον, ώστε η κατάλληλη στοιχειομετρία guest:host του διμερούς να φαίνεται ότι είναι η 2:2. Ενδιαφέρον έχει η ενδιάμεση θερμοκρασία των 308 K, όπου τα δευτεροταγή στόμια των δύο host παρουσιάζουν την τάση να απομακρύνονται μεταξύ τους, με το διμερές τελικά να «ανοίγει» από την μία πλευρά και το «πλεονάζον» μόριο μυρκενίου να εξέρχεται από το πλάι στο υδατικό διάλυμα.

Αυτή η «εύθραστη» κατάσταση των 308 K φαίνεται και από την τιμή  $\Delta G_{GB}$  (-11,42 kcal/mol) που είναι χαμηλότερη από τις αντίστοιχες τιμές που καταγράφονται στις άλλες δύο θερμοκρασίες (-19,71 και -17,84 kcal/mol στους 300 και 318 K αντίστοιχα). Πράγματι, στις υπόλοιπες δύο θερμοκρασίες, παρά τις όποιες μεταβολές που παρουσιάζουν οι host κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης, αυτοί παραμένουν συνδεδεμένοι μεταξύ τους με τους γνωστούς διαμοριακούς δεσμούς -H μεταξύ των απέναντι δευτεροταγών ατόμων O2n και O3n, ώστε τα διμερή να διατηρούνται σταθερά και η έξοδος του τρίτου μυρκενίου να γίνεται από το πρωτοταγές στόμιο του ενός host. Ωστόσο, ανεξάρτητα από την εφαρμοζόμενη θερμοκρασία, οι  $\Delta G_{GB}$  του Myrc/ $\beta$ -CD χαρακτηρίζονται χαμηλές, ειδικά εάν συγκριθούν με τις αντίστοιχες τιμές των υπόλοιπων εξεταζόμενων συμπλόκων της  $\beta$ -CD, υποδηλώνοντας μία χαλαρή σύνδεση μεταξύ guest και host.



**Εικόνα 5.6.** Και στις τρεις εξεταζόμενες θερμοκρασίες (300 K **(α)**, 308 K **(β)** και 318 K **(γ)**, ένα μόριο μυρκενίου εξέρχεται στο εξωτερικό περιβάλλον, με αποτέλεσμα η τελική στοιχειομετρία που προκύπτει στο προϊόν Myrc/β-CD να είναι 2:2.

Η απουσία από το μόριο του guest κάποιου ατόμου οξυγόνου που θα μπορούσε να συμμετάσχει σε ενδεχόμενο δεσμό –H ή έστω κάποια αλληλεπίδραση CH...O με την β-CD, ίσως να είναι η αιτία που το μυρκένιο δεν συγκρατείται ισχυρά στο εσωτερικό του διμερούς, καθώς οι τρεις διπλοί δεσμοί που υπάρχουν στο μόριό του δεν είναι αρκετά ικανοί για την ανάπτυξη ιδιαίτερων υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Από τα αποτελέσματα της μελέτης μοριακής δυναμικής, επιβεβαιώνεται επίσης, ότι η αναλογία G:H (2:2) της τελικής επίλυσης της κρυσταλλικής δομής Myrc/β-CD, όπως αυτή περιγράφηκε στην αντίστοιχη ενότητα 4.6, ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα, καθώς είναι αυτή που προκύπτει κατά το τέλος της προσομοίωσης των 12ns.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ

Η καμπύλη αναφοράς που προέκυψε από τα πρότυπα διαλύματα πιπερίνης (0,00125 - 0,02 mM) ήταν γραμμική ( $R^2 = 0,9999$ ) με εξίσωση “ $y = 39,19x + 0,0009$ ”. Ομοίως, η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς του μυρκενίου πραγματοποιήθηκε σε εύρος συγκεντρώσεων 0,161 - 2,683 mM, και η εξίσωσή της ήταν “ $y = 0,6327x + 0,0104$ ” με συντελεστή γραμμικότητας  $R^2 = 0,9983$ .

Παρατηρώντας το διάγραμμα που αφορά το σύμπλοκο Pip/β-CD διαπιστώνεται ότι η διαλυτότητα της πιπερίνης αρχικά αυξάνει γραμμικά με αύξηση της συγκέντρωσης της β-CD μέχρι ενός ανώτατου σημείου (3mM), όπως χαρακτηριστικά συμβαίνει στα διαγράμματα τύπου Bs (**Εικόνα 6.1.β**). Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης της β-CD δεν συνοδεύεται με αύξηση της συγκέντρωσης της διαλυτοποιημένης πιπερίνης, η οποία παραμένει ουσιαστικά σταθερή, με αποτέλεσμα η καμπύλη να είναι περίπου παράλληλη στον άξονα των x. Η κλίση του αρχικού «ανοδικού» ευθύγραμμου τμήματος της καμπύλης (0-3mM) είναι μικρότερη της μονάδας και επομένως η αναλογία guest:host που υποδεικνύει το διάγραμμα είναι 1:1 (**Loftsson et al. 2004**). Παρατηρείται λοιπόν μια διαφορά στην στοιχειομετρία guest:host στο διάλυμα, με την αντίστοιχη που προκύπτει στον κρύσταλλο Pip/β-CD (1:2), η οποία πιθανώς οφείλεται στην διαφορετική συμπεριφορά εγκλεισμού της πιπερίνης στο διάλυμα συγκριτικά με τον κρύσταλλο. Ενδεχομένως στον κρύσταλλο η πρόσδεση που δημιουργείται μεταξύ πιπερίνης και β-κυκλοδεξτρίνης είναι τόσο ισχυρή, που δεν επιτρέπει να εισχωρήσει στην κοιλότητα της β-CD και δεύτερο μόριο πιπερίνης, ώστε η στοιχειομετρία να γίνει 1:1.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι το συγκεκριμένο τμήμα της καμπύλης προσομοιάζει με την καμπύλη που προκύπτει από το διάγραμμα διαλυτότητας τύπου  $A_L$ , χρησιμοποιήθηκαν για το διάστημα συγκεντρώσεων 0-3mM της β-CD, οι σχέσεις (4) και (5) για την εκτίμηση της σταθεράς σύνδεσης  $K_c$  μεταξύ πιπερίνης και β-κυκλοδεξτρίνης ( $K_{Pip/\beta CD}$ :  $1845 M^{-1}$ ) και η απόδοση συμπλοκοποίησης CE ( $CE_{Pip/\beta CD}$ : 6,97 %) η οποία είναι παραπλήσια με την τιμή 7,4 % που υπολόγισαν για το ίδιο σύμπλοκο (Pip/β-CD) οι **Ezawa et al. (2018)**.

Από την άλλη, στα διαγράμματα των προϊόντων εγκλεισμού της πιπερίνης με τις RM-β-CD και HP-β-CD οι καμπύλες είναι ευθύγραμμες με θετική κλίση σε όλη την έκτασή τους, επομένως ανήκουν και οι δύο στον τύπο  $A_L$ , με υποδεικνυόμενη στοιχειομετρία guest:host 1:1 (**Εικόνα 6.1.α**).

Οι καμπύλες όμως των RM-β-CD και HP-β-CD, όπως προκύπτουν από τα διαγράμματα, αντιπροσωπεύονται από εξισώσεις με αρνητική τιμή τεταγμένης επί την αρχή ( $S_0$ ), κάτι που δεν επιτρέπει, βάσει του τύπου (4), τον υπολογισμό της σταθεράς σύνδεσης  $K_c$ . Η πιπερίνη ανήκει στις δυσδιάλυτες ενώσεις που χαρακτηρίζονται από χαμηλή υδατοδιαλυτότητα ( $S_{int}$ ) και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία κυμαίνεται μεταξύ 0,0229 mM (**Ezawa et al. 2018**) και 0,14 mM (**pubchem.ncbi.nlm.nih.gov**). Από το αντίστοιχο διάγραμμα της Pip/β-CD (**Εικόνα 6.1.β**) και



σύμφωνα με την εξίσωση της καμπύλης, η  $S_0$  έχει τιμή 0,0378 mM. Κάνοντας λοιπόν την παραδοχή ότι η συγκεκριμένη τιμή (0,0378 mM) αντιστοιχεί στην υδατοδιαλυτότητας της πιπερίνης, χρησιμοποιήθηκε στον τύπο (4) για την εκτίμηση της  $K_c$  και για τα τρία προϊόντα εγκλεισμού.

**Πίνακας 6.1.** Οι τιμές  $K_c$  και CE για τα προϊόντα της πιπερίνης με τις  $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD και RM- $\beta$ -CD

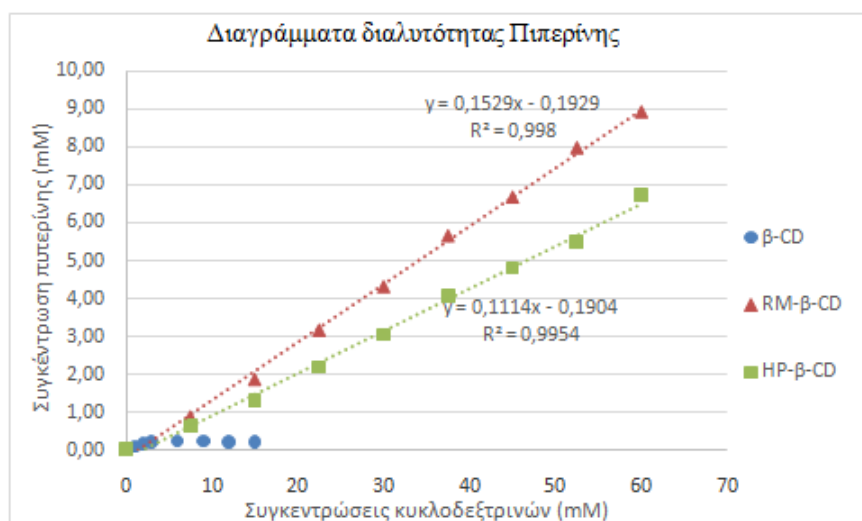
Host	$K_c$ ( $M^{-1}$ )	CE (%)
$\beta$ -CD	1845	6,97
HP- $\beta$ -CD	3317	12,54
RM- $\beta$ -CD	4775	18,05

Έτσι, οι σταθερές σύνδεσης  $K_c$  αποκτούν τιμές 4775  $M^{-1}$  (Pip/RM- $\beta$ -CD) και 3317  $M^{-1}$  (Pip/HP- $\beta$ -CD), ενώ οι αποδόσεις συμπλοκοποιήσεως CE είναι για τη μεν Pip/RM- $\beta$ -CD 18,05 % και για τη δε Pip/HP- $\beta$ -CD 12,54 %. Συνοπτικά δηλαδή και με φθίνουσα σειρά, οι σταθερές κατατάσσονται ως  $K_{Pip/RM\beta CD} > K_{Pip/HP\beta CD} > K_{Pip/\beta CD}$  και οι αποδόσεις  $CE_{Pip/RM\beta CD} > CE_{Pip/HP\beta CD} > CE_{Pip/\beta CD}$  (**Πίνακας 6.1**). Δηλαδή οι καλύτερες προοπτικές συμπλοκοποίησης της πιπερίνης προκύπτουν χρησιμοποιώντας ως host τη RM- $\beta$ -CD, ενώ η  $\beta$ -CD υπολείπεται συγκριτικά με τις δύο άλλες παράγωγες  $\beta$ -κυκλοδεξτρίνες. Τα αποτελέσματα αυτά κρίνονται αναμενόμενα, καθώς ίδια σειρά κατάταξης για τους συγκεκριμένους host ( $K_{RM\beta CD} > K_{HP\beta CD} > K_{\beta CD}$ ), είχε προκύψει έπειτα από ανάλογα πειράματα με τη ναριγγενίνη (**Tommassini et al. 2004**). Λαμβάνοντας δε υπ' όψιν ότι οι καταγραφόμενες τιμές των τριών σταθερών  $K_{RM\beta CD}$ ,  $K_{HP\beta CD}$  και  $K_{\beta CD}$  κυμαίνονται μεταξύ 1000-5000  $M^{-1}$  τα προϊόντα της πιπερίνης χαρακτηρίζονται από σύνδεση μέτριας ισχύος (**Takahashi et al. 2012**).

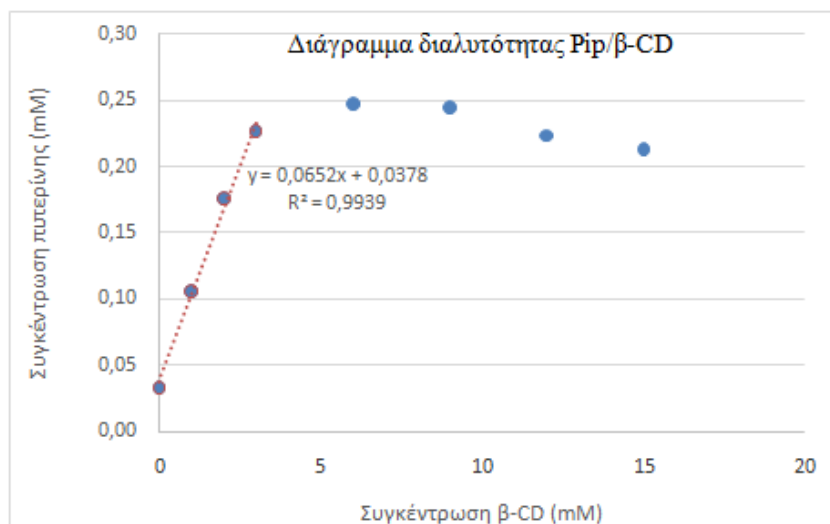
Αναφορικά με το Myrc/ $\beta$ -CD, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι καμπύλες διαγραμμάτων διαλυτότητας και στις τρεις θερμοκρασίες ανήκουν στον τύπο Bs. Αρχικά η αύξηση της συγκέντρωσης της  $\beta$ -CD συνοδεύεται με αύξηση της συγκέντρωσης μυρκενίου, με αποτέλεσμα η καμπύλη να παρουσιάζει ανοδική κλίση μέχρι η συγκέντρωση της  $\beta$ -CD να φθάσει τα 6mM. Η συγκέντρωση του μυρκενίου παραμένει ουσιαστικά αμετάβλητη με περαιτέρω αύξηση της  $\beta$ -κυκλοδεξτρίνης, ώστε η καμπύλη να είναι σχεδόν παράλληλη στον άξονα των τετμημένων. Επομένως, στο διάστημα μεταξύ 0-6mM  $\beta$ -CD, η αναλογία guest:host του συμπλόκου στο διάλυμα μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι 1:1.

Εφαρμόζοντας λοιπόν τις εξισώσεις (4) και (5) σε αυτό το τμήμα της καμπύλης υπολογίσθηκαν η σταθερά σύνδεσης  $K_c$  και η απόδοση εγκλεισμού CE σε κάθε θερμοκρασία. Συγκρίνοντας τα διαγράμματα (**Εικόνα 6.2**), όσο αυξάνεται η θερμοκρασία μειώνεται η διαλυτοποίηση του μυρκενίου στο διάλυμα, όπως επίσης οι τιμές των  $K_c$  και CE (**Πίνακας 6.2**). Σύμφωνα με τους **Mourtzinis et al. (2008)** η μείωση της σταθεράς  $K_c$  με την αύξηση της θερμοκρασίας είναι κάτι αναμενόμενο στις

εξώθερμες διαδικασίες. Στο εξεταζόμενο σύμπλοκο, οι τιμές  $K_c$  κυμαίνονται από  $478 \text{ M}^{-1}$  ( $25^\circ\text{C}$ ),  $405 \text{ M}^{-1}$  ( $35^\circ\text{C}$ ) και  $305 \text{ M}^{-1}$  ( $45^\circ\text{C}$ ), ενώ η CE έχει τιμές 8,11 % ( $25^\circ\text{C}$ ), 5,69 % ( $35^\circ\text{C}$ ) και 3,34 % ( $45^\circ\text{C}$ ). Από τα παραπάνω, διαπιστώνεται ότι και στις τρεις θερμοκρασίες οι σταθερές  $K_c$  είναι μικρότερες των  $500 \text{ M}^{-1}$ , οπότε η σύνδεση του μυρκενίου με τη  $\beta$ -CD χαρακτηρίζεται αρκετά ασθενής (Takahashi et al. 2012).



(α)



(β)

**Εικόνα 6.1.** Τα διαγράμματα διαλυτότητας φάσεων των προϊόντων πιπερίνης: (α) με τις τρεις κυκλοδεξτρίνες ( $\beta$ -CD, RM- $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD) και (β) μόνο με τη  $\beta$ -CD, όπου το διάγραμμα παρουσιάζεται σε μεγέθυνση για καλύτερη ευκρίνεια

Βάσει των παραπάνω διαγραμμάτων και των υπολογιζομένων τιμών των σταθερών σύνδεσης, μπορεί να δημιουργηθεί ένα διάγραμμα Van't Hoff με το οποίο γίνεται δυνατή η εκτίμηση των θερμοδυναμικών παραμέτρων που συμμετέχουν στην διαδικασία σχηματισμού του προϊόντος εγκλεισμού Myrc/β-CD. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμόζοντας τον τύπο (6) υπολογίζονται οι μεταβολές της ενθαλπίας ( $\Delta H$ ) και της εντροπίας ( $\Delta S$ ), ενώ ο υπολογισμός της ελεύθερης ενέργειας του Gibbs ( $\Delta G$ ) πραγματοποιείται με τη βοήθεια του τύπου (7). Οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων αναφέρονται στον **Πίνακα 6.3**.

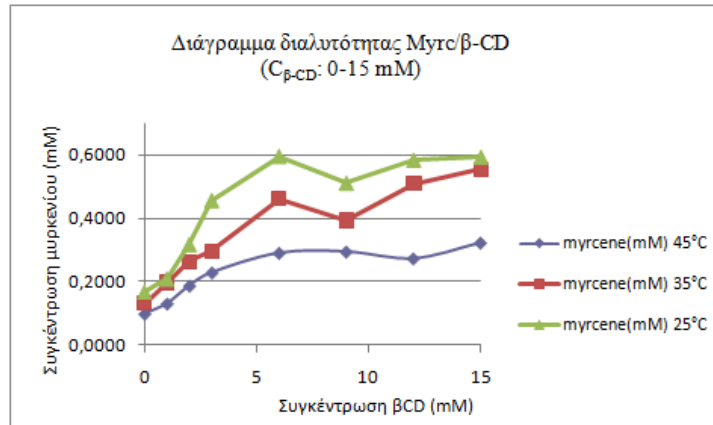
**Πίνακας 6.2.** Οι τιμές σταθεράς σύνδεσης  $K_s$  και απόδοσης εγκλεισμού CE του Myrc/β-CD στις τρεις εξεταζόμενες θερμοκρασίες

T (K)	$K_s$ ( $M^{-1}$ )	CE (%)
25°C	478	8,11
35°C	405	5,69
45°C	305	3,34

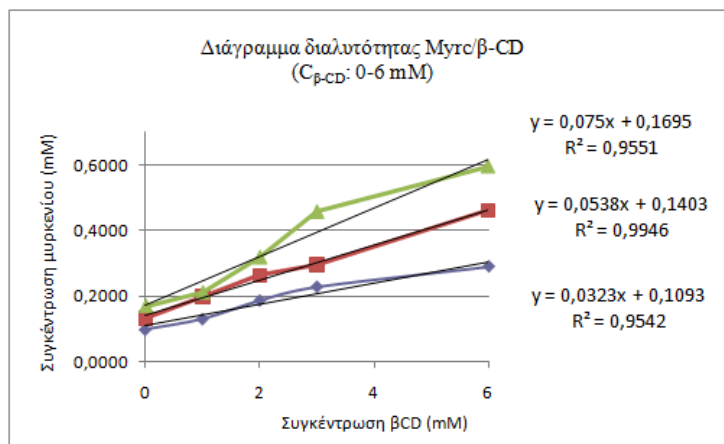
**Πίνακας 6.3.** Οι θερμοδυναμικές παράμετροι του προϊόντος Myrc/β-CD βάσει του διαγράμματος Van't Hoff

Ενθαλπία $\Delta H$ (kJ/mol)	Εντροπία $\Delta S$ (J/mol·K)	Ενέργεια $\Delta G$ (kJ/mol)
-17,623	-7,66	-15,340 (25 °C)
		-15,263 (35 °C)
		-15,187 (45 °C)

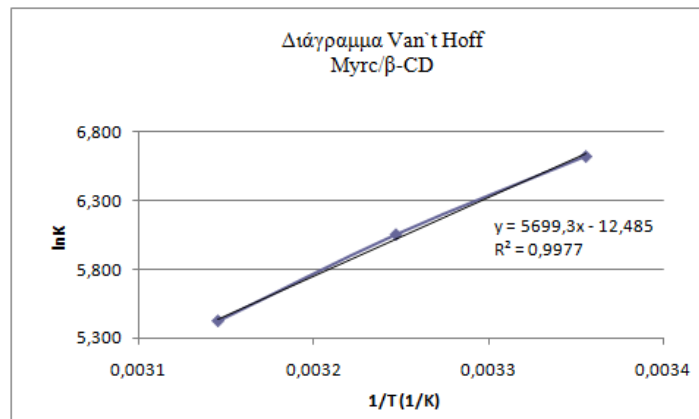
Η αρνητική τιμή της  $\Delta H$  υποδεικνύει ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ guest και host είναι μία εξώθερμη διαδικασία. Το μέγεθος της τιμής  $\Delta H$  αποτελεί ένδειξη διαφόρων αλληλεπιδράσεων χαμηλής ενέργειας, όπως είναι: α) οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις που προκύπτουν εξ' αιτίας της απομάκρυνσης των μορίων νερού από την εσωτερική κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, β) η ανάπτυξη διαμοριακών αλληλεπιδράσεων Van der Waals και γ) η δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Η αρνητική τιμή της  $\Delta S$  υποδηλώνει την δημιουργία ενός συστήματος που χαρακτηρίζεται από μικρότερη αταξία, η οποία οφείλεται στη μείωση των βαθμών ελευθερίας λόγω περιορισμού της μετατόπισης και περιστροφής των εμπλεκόμενων μορίων του συμπλόκου συγκριτικά με την ελεύθερη κατάστασή τους. Τέλος, οι αρνητικές τιμές της  $\Delta G$  στις τρεις θερμοκρασίες υποδηλώνουν ότι τα σύμπλοκα δημιουργούνται ως αποτέλεσμα αυθόρμητων διαδικασιών (Tommasini 2004, Mourtzinis 2008 και Dos Santos 2011).



(α)



(β)



(γ)

**Εικόνα 6.2.** Τα διαγράμματα διαλυτότητας φάσεων του Myrc/β-CD στις τρεις θερμοκρασίες (25°C, 35°C, 45°C) για συγκεντρώσεις β-CD: **(α)** 0-15mM και **(β)** 0-6mM και **(γ)** το διάγραμμα Van't Hoff

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνολικά στην παρούσα διδακτορική διατριβή εξετάστηκαν δεκατρία προϊόντα εγκλεισμού συστατικών τροφίμων σε κυκλοδεξτρίνες (**Πίνακας 7.1**). Από αυτά, τα 6 αφορούν προϊόντα εγκλεισμού σε  $\beta$ -CD με guest τη χοληστερόλη, την καψαϊκίνη, την πιπερίνη, το ελαϊκό, το λινελαϊκό οξύ και το μυρκένιο. Η στοιχειομετρία guest:host εμφανίζει ποικιλία, καθώς κυμαίνεται μεταξύ 1:1 (rip, myrc), 1:2 (chol, caps, oleic) και 1:3 (lin). Η  $\beta$ -CD δείχνει προτίμηση στη δημιουργία τρικλινών και μονοκλινών κρυστάλλων που ανήκουν στις ομάδες χώρου  $P1$  (chol, rip, oleic) και  $C2$  (caps, lin, myrc) αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι και στις 6 κρυσταλλικές δομές, τα σύμπλοκα εγκλεισμού διευθετούνται έτσι ώστε ο άξονας 7<sup>ης</sup> τάξης της μοριακής συμμετρίας των ξενιστών ( $\beta$ -CD) να είναι παράλληλος με τον κρυσταλλογραφικό άξονα  $c$ . Ο συνηθέστερος τύπος στοίβαξης (packing mode) είναι οι αυλοί καναλιών (CH) αφού απαντώνται σε πέντε κρυστάλλους (caps, rip, oleic, lin, myrc) ενώ μόνο στην περίπτωση της χοληστερόλης (chol) παρατηρούνται κανάλια ενδιάμεσου τύπου (IM). Σε τρία σύμπλοκα (chol, caps, lin) δεν παρατηρήθηκε έντονη αποδιάταξη του guest, ενώ στα υπόλοιπα τρία (rip, oleic, myrc) ο guest εμφανίζεται σε δύο αποδιατεταγμένες θέσεις, με βαθμούς κατάληψης 0,5:0,5 (oleic, myrc) και 0,6:0,4 (rip). Σε όλες τις κρυσταλλικές δομές συμπλόκων εγκλεισμού σε  $\beta$ -CD, παρατηρούνται αρκετά μόρια νερού στο χώρο μεταξύ των συμπλόκων, τα οποία συμμετέχουν στις κρυσταλλικές επαφές. Στην ασύμμετρη μονάδα αυτών των κρυσταλλικών δομών, το πλήθος των μορίων νερού κυμαίνεται από 10,5 (lin, myrc) έως 22 μόρια (chol). Τέλος, τα διαδοχικά μόρια  $\beta$ -CD σχηματίζουν διμερή «κεφαλής-κεφαλής» που συνδέονται κατά κύριο λόγο με διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των δευτεροταγών ατόμων O2n του ενός μορίου με τα επίσης δευτεροταγή άτομα O3n του άλλου μορίου.

Αναφορικά με την DM- $\beta$ -CD, μελετήθηκαν συνολικά 4 προϊόντα εγκλεισμού, με ξενιζόμενα μόρια τη ναριγγενίνη, την καψαϊκίνη, την πιπερίνη και την τυροσόλη. Η στοιχειομετρία guest:host στην ασύμμετρη μονάδα της κρυσταλλικής δομής είναι 1:1 (nar, tyr), 1:2 (rip) και 2:2 (caps). Οι τέσσερις κρύσταλλοι ανήκουν σε τρεις ομάδες χώρου, την τρικλινή  $P1$  (caps), την μονοκλινή  $P2_1$  (rip) και την ορθορομβική  $P2_12_12_1$  (nar, tyr). Ο συνηθέστερος άξονας κατά μήκος του οποίου «πακετάρονται» οι ασύμμετρες μονάδες είναι ο  $a$  καθώς απαντάται σε 3 προϊόντα (nar, caps, tyr), ενώ στο εναπομείναν σύμπλοκο (rip) ο αντίστοιχος άξονας είναι ο  $b$ . Αν και στην περίπτωση της καψαϊκίνης τα προϊόντα στοιβάζονται σε κανάλια (CH), εντούτοις ο τύπος herring-bone (HB) φαίνεται να ταιριάζει περισσότερο στην DM- $\beta$ -CD αφού παρατηρείται στα υπόλοιπα τρία προϊόντα (nar, rip, tyr). Ανεξαρτήτως τύπου «στοίβαξης» τα διαδοχικά μόρια DM- $\beta$ -CD έχουν συνήθως τη μορφή μονομερών «κεφαλής-ουράς» (nar, caps, tyr) ενώ η πιπερίνη εγκλείεται από δύο μόρια DM- $\beta$ -CD δίνοντας την εντύπωση διμερούς. Αποδιάταξη του guest παρατηρήθηκε μόνο στην περίπτωση της τυροσόλης, ενώ το πλήθος των μορίων νερού στις κρυσταλλικές δομές είναι σαφώς περιορισμένο,

αφού σε τρεις περιπτώσεις κυμαίνεται από 1 (pip) έως 4,6 (nar), ενώ στην τέταρτη (caps) δεν υπάρχουν μόρια H<sub>2</sub>O.

Τέλος, μελετήθηκαν και 3 προϊόντα εγκλεισμού της TM-β-CD, με ξενιζόμενα μόρια τη ναριγγενίνη, την πιπερίνη και το αραχιδονικό οξύ. Στην πρώτη περίπτωση (nar) η στοιχειομετρία guest:host στην κρυσταλλική κατάσταση είναι 1:1, ενώ στις άλλες δύο (ara, pip) 1:2. Οι τρεις εξεταζόμενοι κρύσταλλοι εμφανίζουν συμμετρία στο ορθορομβικό  $P2_12_12_1$  (ara) και στο μονοκλινές  $P2_1$  (nar, pip). Ενώ η ασύμμετρη μονάδα του συμπλόκου εγκλεισμού nar:TM-β-CD αποκαλύπτει τον σχηματισμό μονομερών συμπλόκων, στις περιπτώσεις των συμπλόκων εγκλεισμού του αραχιδονικού οξέος αλλά και της πιπερίνης σε TM-β-CD, η ασύμμετρη μονάδα των κρυσταλλικών δομών αποκαλύπτει ότι αυτά τα μεγάλου μήκους, γραμμικά ξενιζόμενα μόρια συγκρατούν, μέσω του εγκλεισμού τους, δύο μόρια ξενιστή με προσανατολισμό «κεφαλής-ουράς», χωρίς όμως να παρατηρείται άλλο «δέσιμο» με διαμοριακούς δεσμούς μεταξύ αυτών των δύο ξενιστών, όπως συμβαίνει π.χ. κατά τον σχηματισμό διμερών β-CD. Η διαδοχή των ασύμμετρων μονάδων στο χώρο πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα *a* (pip) ή του *b* (nar, ara). Ο τρόπος στοιβάζισης είναι διαφορετικός για κάθε σύμπλοκο, με το αραχιδονικό οξύ να έχει τη μορφή καναλιών (CH), τη ναριγγενίνη να είναι τύπου κλωβού (cage type – CT) και την πιπερίνη τύπου αυλών κοχλία (SC). Όσον αφορά τις θέσεις των ξενιζομένων μορίων, αποδιάταξη παρουσιάζει μόνο η ναριγγενίνη (β. κατάληψης: 0,5:0,5), ενώ και στα τρία προϊόντα εγκλεισμού απουσιάζουν τα μόρια νερού.

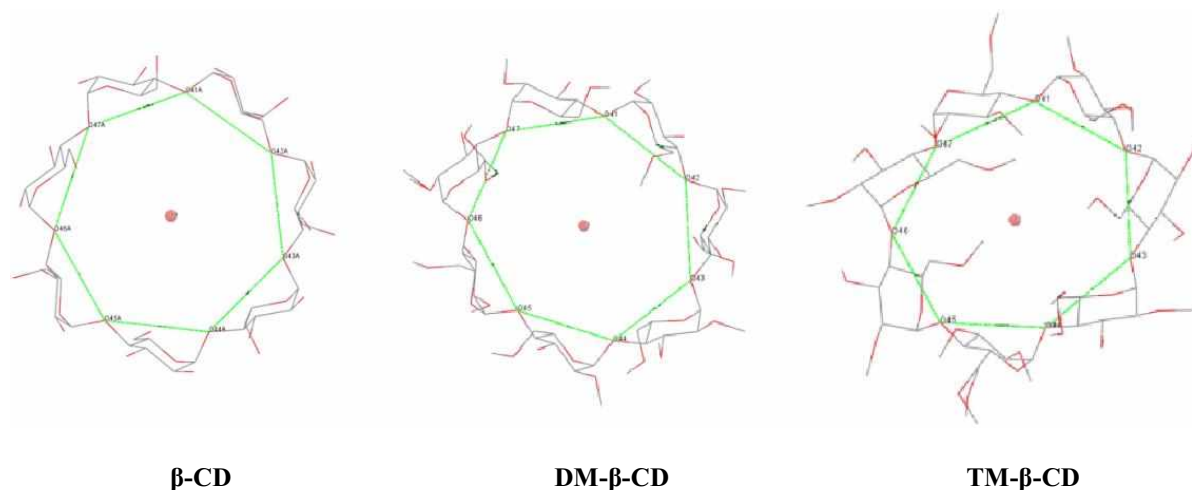
**Πίνακας 7.1.** Χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων προϊόντων εγκλεισμού

Guest	Host	G:H	Ομάδα Χώρου	Άξονας στοιβάζισης	Τύπος στοιβάζισης	Αποδιάταξη guest	Μόρια νερού
Chol	β-CD	1:2	$P1$	c	IM	-	22
Nar	DM-β-CD	1:1	$P2_12_12_1$	a	HB	-	4,6
	TM-β-CD	1:1	$P2_1$	b	CT	0,5:0,5	-
Caps	β-CD	1:2	$C2$	c	CH	-	23
	DM-β-CD	2:2	$P1$	a	CH	-	-
Pip	β-CD	1:2	$P1$	c	CH	0,6:0,4	18,5
	DM-β-CD	0,5:1	$P2_1$	b	HB	-	1
	TM-β-CD	1:2	$P2_1$	a	SC	-	-
Ara	TM-β-CD	0,5:1	$P2_12_12_1$	b	CH	-	-
Oleic	β-CD	1:2	$P1$	c	CH	0,5:0,5	21,5
Lin	β-CD	1:3	$C2$	c	CH	-	21
Myrc	β-CD	2:2	$C2$	c	CH	0,5:0,5	21
Tyr	DM-β-CD	1:1	$P2_12_12_1$	a	HB	0,5:0,5	3

Συγκρίνοντας τις κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων εγκλεισμού βάσει των τριών διαφορετικών ξενιστών μορίων που χρησιμοποιήθηκαν (β-CD, DM-β-CD και TM-β-CD), μπορεί να ειπωθεί ότι η ύπαρξη των υδροξυλίων στα δύο άκρα του μορίου της φυσικής β-CD, συγκρατεί μέσω δεσμών υδρογόνου πολλά μόρια νερού, που καταλαμβάνουν τον περιβάλλοντα χώρο του συμπλόκου και με

τη σειρά τους συνδέουν με δεσμούς υδρογόνου γειτονικά μόρια  $\beta$ -CD, γεφυρώνοντας τα γειτονικά κανάλια συμπλόκων και σταθεροποιώντας το κρυσταλλικό πλέγμα. Με τη μεθυλίωση των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλίων της  $\beta$ -CD, είτε μειώνονται τα διαθέσιμα υδροξυλία του ξενιστή (DM- $\beta$ -CD) είτε απουσιάζουν εντελώς (TM- $\beta$ -CD), με αποτέλεσμα να μειώνεται αντίστοιχα και ο αριθμός των εγκλωβισμένων μορίων νερού και να περιορίζεται σημαντικά το πλήθος των παρατηρούμενων δεσμών υδρογόνου.

Από την ανάλυση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών σχετικά με τη διαμόρφωση των τριών ξενιστών, στις κρυσταλλικές δομές των δεκατριών προϊόντων εγκλεισμού που προσδιορίστηκαν, επιβεβαιώνεται ότι το μόριο της φυσικής  $\beta$ -CD προσομοιάζει περισσότερο στο σχήμα κανονικού επταγώνου ενώ, αντίθετα, η TM- $\beta$ CD εμφανίζει τη μεγαλύτερη απόκλιση (**Εικόνα 7.1**). Ο μέσος όρος της γωνίας  $\Phi$  που σχηματίζουν ανά τρία τα άτομα O4n της  $\beta$ -CD είναι  $128,56^\circ$  (γωνία κανονικού επταγώνου:  $128,57^\circ$ ) όταν οι αντίστοιχοι μέσοι όροι των άλλων δύο host είναι  $128,41^\circ$  (DM- $\beta$ -CD) και  $126,96^\circ$  (TM- $\beta$ -CD). Παρομοίως, τα άτομα O4n της  $\beta$ -CD προσεγγίζουν περισσότερο τη συνεπιπεδότητα, αφού εμφανίζουν τις μικρότερες αποστάσεις d από το μέσο επίπεδό τους (από -0,085 έως 0,096 Å). Τις μεγαλύτερες αποκλίσεις από το μέσο επίπεδο των γλυκοζιτικών ατόμων οξυγόνου (O4n) παρουσιάζει το μόριο της TM- $\beta$ -CD (εύρος τιμών d: από -0,805 έως 0,625 Å), η οποία έχει και τον υψηλότερο μέσο όρο διεδρων γωνιών  $\tau$  (tilt angles) που σχηματίζουν τα επίπεδα C4n-1-C1n-C4n-O4n των επτά μονάδων D-γλυκοκυρανόζης με το μέσο επίπεδο των ατόμων O4n ( $40,44^\circ$ ) υποδηλώνοντας ένα στενό πρωτοταγές και ένα ευρύ δευτεροταγές στόμιο, λόγω του «καπακιού» που δημιουργείται κατά τον εγκλεισμό των ξενιζομένων μορίων (**Πίνακας 7.2 A**).



**Εικόνα 7.1.** Άποψη των μορίων των τριών κυκλοδεξτρινών: όσο αυξάνεται ο βαθμός μεθυλίωσης των υδροξυλίων, το σχήμα της κυκλοδεξτρίνης αποκλίνει από το σχήμα κανονικού επταγώνου με το πρωτοταγές στόμιο να γίνεται στενότερο και το δευτεροταγές ευρύτερο

Η πλειοψηφία των γωνιών στρέψης  $t$  (διέδρες γωνίες που σχηματίζουν τα άτομα O5n-C5n-C6n-O6n) έχει θετικές τιμές (διαμόρφωση gauche:gauche), επομένως τα O6n άτομα προσανατολίζονται προς την εξωτερική περιφέρεια του μορίου των κυκλοδεξτρινών (Πίνακας 7.2 B). Στα σύμπλοκα εγκλεισμού σε  $\beta$ -CD, από τις συνολικά 75 γωνίες  $t$  που μετρήθηκαν (συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που προκύπτουν λόγω των αποδιατάξεων των ατόμων O6n), οι 65, δηλαδή ποσοστό 80%, υιοθετούν τη διαμόρφωση gauche:gauche. Η συχνή εμφάνιση αυτής της διαμόρφωσης οφείλεται κατά κύριο λόγο στη συμμετοχή των πρωτοταγών ατόμων O6n σε διαμοριακούς δεσμούς -H με τα γειτονικά μόρια host και τα μόρια νερού, διευκολύνοντας έτσι την είσοδο των ξενιζομένων μορίων στο εσωτερικό της  $\beta$ -CD. Στα σύμπλοκα εγκλεισμού σε μεθυλιωμένα παράγωγά της  $\beta$ -CD, οι γωνίες  $t$  που αντιστοιχούν σε διαμόρφωση gauche:gauche των πρωτοταγών μεθόξυ-ομάδων, εξακολουθούν να υπερισχύουν, αλλά σε μικρότερο ποσοστό (περίπου 66%). Αυτό οφείλεται στη μεθυλίωση των πρωτοταγών υδροξυλίων των κυκλοδεξτρινών και στη συνεπαγόμενη μικρότερη παρουσία μορίων νερού (ή ακόμα και στην παντελή απουσία τους) συγκριτικά με τις κρυσταλλικές δομές συμπλόκων εγκλεισμού σε φυσική  $\beta$ -CD. Το αποτέλεσμα είναι να καθίσταται πλέον δύσκολη η συμμετοχή των ατόμων O6n σε διαμοριακούς δεσμούς -H, επομένως η περιστροφή τους είναι πιο ελεύθερη και κατ'επέκταση αυξάνεται το ποσοστό τους με προσανατολισμό προς το εσωτερικό του μορίου του host (διαμόρφωση gauche:trans).

**Πίνακας 7.2.** Σύγκριση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της διαμόρφωσης των μορίων-ξενιστών στα εξεταζόμενα προϊόντα εγκλεισμού: (A) των μέσων όρων και (B) των ελάχιστων και μέγιστων τιμών

**A.**

Host	Dk (Å)	D (Å)	$\Phi$ (°)	$\tau$ (°)
$\beta$ -CD	5,027	4,370	128,56	9,22
DM- $\beta$ CD	5,045	4,384	128,41	13,24
TM- $\beta$ CD	4,950	4,349	126,96	40,44

**B.**

Host	Dk (Å)		D (Å)		d (Å)		$\Phi$ (°)		$\tau$ (°)		t
	ελάχ.	μέγ.	ελάχ.	μέγ.	ελάχ.	μέγ.	ελάχ.	μέγ.	ελάχ.	μέγ.	
$\beta$ -CD	4,497	5,262	4,232	4,546	-0,085	0,096	123,05	132,64	1,47	16,46	60:15
DM- $\beta$ CD	4,709	5,377	4,243	4,540	-0,246	0,264	119,97	134,99	1,45	26,04	26:13
TM- $\beta$ CD	4,338	5,458	4,150	4,584	-0,805	0,625	114,35	142,25	5,59	164,07	25:13

Η κρυσταλλική δομή των εξεταζόμενων συμπλόκων αποκαλύπτει επίσης, το σημαντικό ρόλο που παίζει το μέγεθος, το σχήμα και οι χαρακτηριστικές ομάδες του ξενιζομένου μορίου στον εγκλεισμό του στην υδρόφοβη κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών. Η παρουσία αρωματικών δακτυλίων ή/και



ατόμων οξυγόνου στο ξενιζόμενο μόριο ευνοεί την ανάπτυξη διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, ισχυρότερων των van der Waals, που σταθεροποιούν σημαντικά το σύμπλοκο και ενισχύουν τη διευθέτηση των μονάδων συμπλόκου στην κρυσταλλική κατάσταση. Για παράδειγμα, η ύπαρξη αρωματικού δακτυλίου στα μόρια της ναριγγενίνης, της πιπερίνης και της τυροσόλης σχετίζεται με την ανάπτυξη CH/π αλληλεπιδράσεων μεταξύ ξενιζομένου-ξενιστή τόσο της ίδιας ασύμμετρης μονάδας όσο και μεταξύ των γειτονικών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η π-π αλληλεπίδραση που αναπτύσσεται μεταξύ των αρωματικών δακτυλίων των γειτονικών μορίων ναριγγενίνης στο προϊόν Nar/DM-β-CD. Έπειτα, η παρουσία υδροξυλίων στα μόρια των εξεταζόμενων guest (εκτός του μυρκενίου), έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη σημαντικών CH...O αλληλεπιδράσεων ή ακόμα και χαρακτηριστικών δεσμών -H μεταξύ guest:host και guest:guest, όπως συμβαίνει στις περιπτώσεις των Tyr/DM-β-CD και Nar/DM-β-CD. Επιπλέον, αξιωσημείωτος δεσμός -H λαμβάνει χώρα στη Caps/DM-β-CD, μεταξύ του ατόμου αζώτου της καψαϊκίνης (NAD) με το γειτονικό μόριο DM-β-CD, καθώς είναι ο μοναδικός δεσμός τέτοιου είδους με συμμετοχή ατόμου N στα σύμπλοκα που μελετήθηκαν. Αλλά και η παρουσία διπλών δεσμών επηρεάζει την πρόσδεση guest:host, όπως συμβαίνει στην περίπτωση του μυρκενίου, όπου η ύπαρξη τριών διπλών δεσμών στο μόριό του επιτρέπει την ανάπτυξη CH/π αλληλεπιδράσεων με το μόριο β-CD.

**Πίνακας 7.3.** Οι θερμοδυναμικές παράμετροι των προϊόντων εγκλεισμού όπως προέκυψαν κατά τις μελέτες Μοριακής Δυναμικής

Guest	Host	Αναλογία G:H	T (K)	$\Delta G_{GB}$ (kcal)	std	T· $\Delta S$	std	$\Delta G_{bind}$	Std
Chol	β-CD	1:2	300	-42,5	2,96	-23,0	3,6	-19,5	4,4
			340	-41,3	2,8	-22,00	3,9	-19,3	4,8
Nar	DM-β-CD	1:1	300	-22,93	2,75	-18,19	1,16	-4,74	2,98
	TM-β-CD	1:1		-14,69	3,94	-17,69	1,71	3,00	4,30
Caps	β-CD	3:4	300	-37,05	3,82	-24,54	6,12	-12,51	7,21
	DM-β-CD	1:1		-23,34	3,08	-20,94	1,52	-2,40	3,44
Pip	β-CD	2:4	300	-40,87	4,60	-20,43	3,76	-20,43	5,94
	DM-β-CD	1:2		-41,31	2,94	-16,51	4,16	-24,80	5,10
	TM-β-CD	1:2		-38,06	3,20	-17,61	3,78	-20,45	4,96
Ara	TM-β-CD	1:2	300	-38,91	3,77	-23,84	4,69	-15,07	6,01
Oleic	β-CD	1:2	300	-33,28	2,81	-22,30	2,43	-10,98	3,71
Lin	β-CD	1:3	300	-35,16	3,81	-24,17	4,02	-10,99	5,54
Myrc	β-CD	3:2	300	-19,71	3,35	-16,17	6,77	-3,54	7,55
			308	-11,42	7,14	-12,23	7,24	0,81	10,17
			318	-17,84	3,79	-14,29	4,72	-3,54	6,05

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής, διαπιστώνεται ότι τα προϊόντα εγκλεισμού που έχουν τη μορφή διμερούς ή που ο guest είναι εγκλεισμένος σε δύο μόρια host [στοιχειομετρία G:H (1:2)], είναι σταθερότερα από τα μονομερή [στοιχειομετρία G:H (1:1)]. Επίσης, η ύπαρξη στο μόριο του guest αρωματικών δακτυλίων ή ατόμων οξυγόνου βοηθά στην δημιουργία αλληλεπιδράσεων CH/π και CH...O μεταξύ guest και host που σταθεροποιούν το σύμπλοκο. Όλα τα παραπάνω αποτυπώνονται στις τιμές  $\Delta G_{GB}$  των προϊόντων εγκλεισμού (**Πίνακας 7.3**).

Έτσι, τα διμερή σύμπλοκα εγκλεισμού σε  $\beta$ -CD έχουν γενικά υψηλές απόλυτες τιμές  $\Delta G_{GB}$  [από -33,28 (Oleic/ $\beta$ -CD) έως -42,5 kcal/mol (Chol/ $\beta$ -CD)]. Εξάιρεση αποτελεί το προϊόν Myrc/ $\beta$ -CD που εμφανίζει χαμηλή ενέργεια πρόσδεσης (μέγιστη τιμή  $\Delta G_{GB}$ : -19,71 kcal/mol στους 300 K), κάτι που οφείλεται αφ' ενός στην αποσταθεροποιητική τάση του ενός μορίου μυρκενίου στην προσπάθειά του να εγκαταλείψει το διμερές και να περάσει στο υδατικό περιβάλλον και αφετέρου στην απουσία ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ guest και host.

Ομοίως, τα σύμπλοκα εγκλεισμού σε μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες που έχουν την εικόνα διμερούς (Pip/DM- $\beta$ -CD, Pip/TM- $\beta$ -CD και Ara/TM- $\beta$ -CD) χαρακτηρίζονται από υψηλές απόλυτες τιμές  $\Delta G_{GB}$  [από -38,06 (Pip/TM- $\beta$ -CD) έως -41,31 kcal/mol (Pip/DM- $\beta$ -CD)]. Αντιθέτως, για τα μονομερή σύμπλοκα (Nar/DM- $\beta$ -CD, Nar/TM- $\beta$ -CD και Caps/DM- $\beta$ -CD) καταγράφεται αρκετά μικρότερη σταθερά πρόσδεσης κατά απόλυτη τιμή [από -14,69 (Nar/TM- $\beta$ -CD) έως -23,34 kcal/mol (Caps/DM- $\beta$ -CD)]. Τα μονομερή είναι περισσότερο ευάλωτα στις αλληλεπιδράσεις που προκύπτουν με το υδατικό περιβάλλον και οι guest εμφανίζουν έντονη κινητικότητα ώστε να βρουν τη κατάλληλη διαμόρφωση που θα τους επιτρέψει να παραμείνουν εγκλεισμένοι στον host, με αποτέλεσμα η μέση χρονικά μεταξύ τους πρόσδεση τους να είναι χαλαρότερη. Σε κάθε περίπτωση όμως, δεν παρατηρείται «αποσύνθεση» των προϊόντων εγκλεισμού στα επιμέρους μόρια κατά τη διάρκεια των 12 ns της προσομοίωσης.

Πάντως, γίνεται φανερό ότι οι αλληλεπιδράσεις τόσο μεταξύ των επιμέρους μορίων του συμπλόκου, όσο και με τα μόρια νερού του περιβάλλοντος, επηρεάζουν τον τρόπο εγκλεισμού, τον προσανατολισμό του ξενιζόμενου μορίου μέσα στην κοιλότητα του ξενιστή και τις διαμορφώσεις που αποκτούν ο ξενιστής και το ξενιζόμενο κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης, ακολουθώντας το γνωστό μηχανισμό «επαγόμενου ταιριάσματος» (induce-fit mechanism) στη δημιουργία συμπλόκων (**Koshland 1973; Aree 2021**).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε η περίπτωση της προσομοίωσης μοριακής δυναμικής του Myrc/ $\beta$ -CD, η οποία έγινε χρησιμοποιώντας ως αρχικό μοντέλο μια λάθος προσδιορισμένη κρυσταλλική δομή με στοιχειομετρία guest:host 3:2. Η δομή αυτή δεν ήταν ευσταθής κατά τη διάρκεια των προσομοιώσεων και κατάληξε μετά από λίγα ns σε μια δομή με στοιχειομετρία guest:host 2:2, η οποία επαληθεύτηκε αργότερα και από τον ορθό κρυσταλλογραφικό προσδιορισμό της. Η περίπτωση

αυτή είναι ενδεικτική του γεγονότος ότι η κρυσταλλογραφία και οι μελέτες MD μπορούν να αποτελέσουν δύο μεθόδους που μπορούν να συμπληρώσουν και να επιβεβαιώσουν η μία την άλλη. Τέλος, μελετήθηκε η διαλυτότητα της πιπερίνης σε υδατικά διαλύματα τριών διαφορετικών host ( $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD και RM- $\beta$ -CD) σε σταθερή θερμοκρασία (25°C), ενώ αντιθέτως, το μυρκενίο διαλυτοποιήθηκε σε υδατικά διαλύματα του ίδιου host ( $\beta$ -CD) αλλά σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 35 και 45°C). Ο προσδιορισμός των σταθερών σύνδεσης  $K_c$  από τα διαγράμματα διαλυτότητας εξαρτάται σημαντικά από τη χαμηλή υδατοδιαλυτότητα τόσο της πιπερίνης (0,14 mM) όσο και του μυρκενίου (0,04 mM) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Είναι πιο ασφαλές για τη σύγκριση της πρόσδεσης των δύο guest με τους αντίστοιχους host, να χρησιμοποιηθούν τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της απόδοσης συμπλοκοποίησης CE. Η CE είναι ανεξάρτητη τόσο της «πειραματικής» διαλυτότητας ( $S_o$ ), όσο και της φυσικής ( $S_{im}$ ), καθώς υπολογίζεται αποκλειστικά από την κλίση της καμπύλης και εκφράζει την αναλογία συγκέντρωσης μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης του συμπλόκου και της ελεύθερης κυκλοδεξτρίνης.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ισχύς της σταθεράς πρόσδεσης  $K_c$  και η απόδοση συμπλοκοποίησης CE εξαρτώνται τόσο από τον host, όσο και από τη θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της πιπερίνης η σειρά της ισχύος πρόσδεσης είναι για τους αντίστοιχους host: RM- $\beta$ -CD > HP- $\beta$ -CD >  $\beta$ -CD. Για το σύμπλοκο μυρκενίου/ $\beta$ -CD στις εξετασθείσες θερμοκρασίες προέκυψε ότι κατά φθίνουσα ισχύ πρόσδεσης: 25°C > 35°C > 45°C. Τα αποτελέσματα αυτά, βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχες μελέτες της βιβλιογραφίας. Συγκρίνοντας τις τιμές  $K_c$  των δύο ξενιζομένων μορίων με host τη φυσική  $\beta$ -κυκλοδεξτρίνη στην ίδια θερμοκρασία (25 °C), διαπιστώνεται ότι η συμπλοκοποίηση στην Pip/ $\beta$ -CD είναι σαφώς ισχυρότερη (1845 έναντι 478 M<sup>-1</sup>). Αυτό πιθανώς οφείλεται στις ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις CH/ $\pi$  που αναπτύσσονται μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου της πιπερίνης με τη  $\beta$ -CD, σε σχέση με τις αντίστοιχες που αναπτύσσονται μεταξύ των διπλών δεσμών του μυρκενίου και του host. Η ισχύς πρόσδεσης των συγκεκριμένων μορίων με τη  $\beta$ -CD κρίνεται από αρκετά ασθενής ( $K_{myrc} < 500$  M<sup>-1</sup>) έως μέτρια ( $K_{pip} < 5000$  M<sup>-1</sup>) κάτι που στην περίπτωση των τροφίμων μπορεί να είναι επιθυμητό καθώς τα εγκλειόμενα μόρια μπορεί να «απελευθερωθούν» σχετικά εύκολα από τον host και να αποδώσουν τις θετικές ιδιότητές τους. Πάντως, παρά τη χαμηλή  $K_{myrc}$  οι τιμές των  $\Delta H$  και  $\Delta G$ , όπως αυτές προκύπτουν από το διάγραμμα Van't Hoff υποδηλώνουν ότι ο εγκλεισμός του μυρκενίου σε  $\beta$ -CD αποτελεί εξώθερμη, αυθόρμητη διαδικασία.

Από την άλλη, η CE του μυρκενίου είναι ελαφρώς υψηλότερη (8,11 έναντι 6,97 % της πιπερίνης) ίσως επειδή το ογκώδες μόριο της πιπερίνης εμφανίζει μεγαλύτερη δυσκολία να εγκλειστεί στην «σφιχτή» κοιλότητα της  $\beta$ -CD. Πάντως, τα εύκαμπτα μόρια των παράγωγων  $\beta$ -κυκλοδεξτρινών προσαρμόζονται ευκολότερα στις απαιτήσεις του ξενιζομένου μορίου, με αποτέλεσμα να είναι πιο αποδοτικός ο εγκλεισμός της πιπερίνης. Πράγματι, οι αντίστοιχες τιμές των προϊόντων Pip/HP- $\beta$ -CD

(12,54 %) και Pip/RM-β-CD (18,05 %) είναι σχεδόν διπλάσιες και τριπλάσιες αντίστοιχα, συγκρινόμενες με την τιμή της  $CE_{Pip/\beta-CD}$ .

Κατά την αναζήτηση που πραγματοποιήθηκε στη βάση δεδομένων CSD παρατηρείται ότι υπάρχει μια πληθώρα καταχωρημένων κρυσταλλικών δομών που αφορούν προϊόντα εγκλεισμού σε β-CD, τα οποία αν και αφορούν εγκλεισμό μορίων που μπορεί να διαφέρουν σημαντικά στη δομή και στις χαρακτηριστικές ομάδες που περιέχουν, παρουσιάζουν παρόμοια κρυσταλλικά χαρακτηριστικά (γεωμετρία, συμμετρία, τύπος στοιβαξης κ.α.) ε σε ποσοστά άνω του 95%. Μεγάλη ομοιότητα εμφανίζουν και οι κρύσταλλοι που αφορούν εγκλεισμό ενώσεων με ξενιστές τις μεθυλιωμένες DM-β-CD και TM-β-CD, αλλά ο αριθμός των δομών είναι σαφώς μικρότερος και φαίνεται ότι τα προϊόντα εγκλεισμού αυτών των δύο host αποτελούν έναν τομέα που επιτρέπει περαιτέρω ανάπτυξη και έρευνα.

Κλείνοντας, τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την παραγωγή τροφίμων και προϊόντων με ιδιαίτερες ιδιότητες, όπως είναι τα διατροφo-φαρμακευτικά (nutraceuticals), τα λειτουργικά τρόφιμα (functional foods) και τα συμπληρώματα διατροφής (dietary supplements). Πρόκειται για κατηγορίες τροφίμων και συστατικών τους, που πέρα από τη διατροφική αξία τους παρουσιάζουν και ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία, ακόμα και στη θεραπεία διαφόρων παθήσεων και πλεονεκτούν έναντι των συμβατικών φαρμακευτικών αγωγών επειδή δεν συνδέονται με παρενέργειες και είναι φθηνότερα. Επομένως, η δυνατότητα εγκλεισμού ενός ευρέος φάσματος χημικών ενώσεων που συνδέονται (θετικά ή ακόμα και αρνητικά) με την υγεία και τη διατροφή του ανθρώπου σε κυκλοδεξτρίνες και η εφαρμογή τους στα τρόφιμα, αποτελεί αντικείμενο ταχέως αναπτυσσόμενης έρευνας.

Για παράδειγμα, ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα μονο-ακόρεστα (MUFA) και πολύ-ακόρεστα (PUFA) λιπαρά οξέα, κυρίως τα ωμέγα-3 και ωμέγα-6 [π.χ. εικοσαπεντεανοϊκό οξύ (EPA C20:5) εικοσιδυαεξαενοϊκό οξύ (DHA C22:6) και συζυγές λινελαϊκό οξύ (cis9-trans11 C18:2)] που σχετίζονται με τη μείωση των καρδιαγγειακών παθήσεων και των μεταβολικών συνδρόμων, και ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Επιπλέον, το DHA βοηθάει στη διατήρηση της μνήμης κάνοντας ηπιότερα τα συμπτώματα της νόσου Alzheimer (**Da Costa 2017**). Επίσης, ενδιαφέρον έχει ο ενδεχόμενος εγκλεισμός κορεσμένων οξέων, όπως το παλμιτικό (C16:0) η υψηλή πρόσληψή του οποίου έχει συνδεθεί με την επιθετικότητα του καρκίνου (**Pascual et al. 2021**)

Άλλες ενώσεις που αξίζει να ερευνηθεί ο εγκλεισμός τους, είναι οι βιταμίνες (π.χ. οι λιποδιαλυτές D, E και K), τα αμινοξέα με τις ποικίλες θετικές ιδιότητες και ενώσεις που κατέχουν σημαντικό ρόλο στις βιοχημικές διεργασίες του οργανισμού όπως είναι η κρεατίνη. Επιπρόσθετα, διάφορα βιο-ενεργά φυτικά συστατικά, όπως είναι οι πολυφαινόλες με την ισχυρή αντι-οξειδωτική δράση και τις αντικαρκινικές και αντικαρδιαγγειακές ιδιότητες, καθώς και η καφεΐνη και τα φλαβονοειδή (π.χ. κερκετίνη) που σχετίζονται με την αντιμετώπιση συμπτωμάτων κατάθλιψης (**Alvarez-Mon et al.**

**2021; Daliri et al. 2015).** Αυξημένο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η κανναβιδιόλη, την οποία όλο και περισσότεροι ερευνητές θεωρούν πλέον πέρα από φαρμακευτική ουσία και nutraceutical, λόγω των αντικαταθλιπτικών, αντι-επιληπτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων και γενικότερα των πολλαπλών θετικών επιδράσεων στον εγκέφαλο και σε διάφορους ιστούς του σώματος (**Alvarez-Mon et al. 2021**).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις δομές που μελετήθηκαν σε αυτή την εργασία και τα αποτελέσματα που προέκυψαν, καθώς επίσης ότι τα ξενιζόμενα μόρια αντιπροσωπεύουν διάφορες κατηγορίες χημικών ενώσεων που σχετίζονται άμεσα με την ποιότητα των τροφίμων και τη διατροφή, εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο μικρο-εγκλεισμός μορίων σε κυκλοδεξτρίνες, αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη τεχνική για μελλοντικές εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων, με σημαντικά οφέλη για την υγεία των καταναλωτών.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abe K., Irie T., Uekama K.: Enhanced nasal delivery of luteinizing hormone releasing hormone agonist busserelin by oleic acid solubilized and stabilized in hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (1995) 43 (12) 2232-2237

Adaszek L., Gadomska D., Mazurek L., Łyp P., Madany J., Winiarczyk S.: Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine, *Research in Veterinary Science* 123 (2019) 14–19

Alberca R.W., Teixeira F.M.E., Beserra D.R., de Oliveira E.A., de Souza Andrade M.M., Pietrobon A.J., Sato M.N.: Perspective: The Potential Effects of Naringenin in COVID-19, *Frontiers in Immunology*, (2020) Vol. 11, Article 570919

Almenar E., Auras R., Rubino M., Harte B.: A new technique to prevent the main post harvest diseases in berries during storage: inclusion complexes  $\beta$ -cyclodextrin-hexanal, *International Journal of Food Microbiology* 118 (2007) 164–172

Alonso L., Cuesta P., Fontecha J., Juarez M., Gilliland S.E.: Use of beta-cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat, *Journal of Dairy Science* 92 (2009) 863–869. doi:10.3168/jds.2008-1452

Alshehri S., Haq N., Shakeel F.: Solubility, molecular interactions and mixing thermodynamic properties of piperine in various pure solvents at different temperatures, *Journal of Molecular Liquids* 250 (2018) 63-70

Alvarez-Mon M.A., Ortega M.A., García-Montero C., Fraile-Martinez O., Monserrat J., Lahera G., Mora F., Rodriguez-Quiroga A., Fernandez-Rojo S., Quintero J., Alvarez-Mon M.: Exploring the Role of Nutraceuticals in Major Depressive Disorder (MDD): Rationale, State of the Art and Future Prospects, *Pharmaceuticals* 14 (2021) 821. <https://doi.org/10.3390/ph14080821>

Aree T.:  $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes with Catechol-Containing Antioxidants Protocatechuic Aldehyde and Protocatechuic Acid—An Atomistic Perspective on Structural and Thermodynamic Stabilities, *Molecules* 26 (2021) 3574. <https://doi.org/10.3390/molecules26123574>

Aree T., Jongrungruangchok S.: Structure-antioxidant activity relationship of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes with olive tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein: Deep insights from X-ray analysis, DFT calculation and DPPH assay, *Carbohydrate Polymers* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.019>

Aree T., Saenger W., Leibnitz P., Hoier H.: Crystal structure of heptakis(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin dihydrate: A water molecule in an apolar cavity, *Carbohydrate. Res.* 315 (199) 199–205.

Astray G., Mejuto J.C., Morales J., Rial-Otero R., Simal-Gándara J.: Factors controlling flavors binding constants to cyclodextrins and their applications in foods, *Food Research International* 43 (2010) 1212-1218

Astray G., Gonzalez-Barreiro C., Mejuto J.C., Rial-Otero R., Simal-Gándara J.: A review on the use of cyclodextrins in foods, *Food Hydrocolloids* 23 (2009) 1631-1640

Avasthi K., Shukla L., Kant R., Ravikumar K.: Folded conformations due to arene interactions in dissymmetric and symmetric butylidene-linker models based on pyrazolo[3,4-d]pyrimidine, purine and 7-deazapurine, *Acta Crystallographica* (2014) C70, 555–561

Ayala-Zavala J.F., Del-Toro-Sánchez L., Álvarez-Parrilla E., González-Aguilar G.A.: High relative humidity in-package of fresh-cut fruits and vegetables: advantage or disadvantage considering microbiological problems and antimicrobial delivering systems? *Journal of Food Science* 73(4) (2008) R41–R47

Bae H.Y., Kim S.Y., Kwak H.S.: Comparison of cholesterol-reduced Camembert cheese using cross-linked  $\beta$ -cyclodextrin to regular Camembert cheese during storage, *Milchwissenschaft* 63(2) (2008) 153–156

Behr A., Johnen L.: Myrcene as a Natural Base Chemical in Sustainable Chemistry: a Critical Review, *ChemSusChem* (2009) 2, 1072-1095

Berger S., Raman G., Vishwanathan R., Jacques P.F., Johnson E.J.: Dietary cholesterol and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis, *The American Journal of Clinical Nutrition* 102 (2015) 276–294. doi:10.3945/ajcn.114.100305

Bethanis K., Christoforides E., Tsorteki F., Fourtaka K., Mentzafos D.: Structural studies of the inclusion compounds of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid in heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- $\beta$ -Cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-*O*-methyl)- $\beta$ -Cyclodextrin by X-ray crystallography and molecular dynamics, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2018) 92:157–171

Bethanis K., Tzamalís P, Tsorteki F., Kokkinou A., Christoforides E., Mentzafos D.: Structural study of the inclusion compounds of thymol, carvacrol and eugenol in  $\beta$ -cyclodextrin by X-ray crystallography, *Journal of Inclusion Phenomena* (2013) 77 (1-4)

Bill I., Miller J., Dwight Mc Gee J.T., Swails J.M., Homeyer N., Gohlke H., Roitberg A.E.: MMPBSA.py: an efficient program for end-state free energy calculations, *Journal of Chemical Theory and Computation* 8 (2012) 3314-3321

Blow D.: *Outline of Crystallography for Biologists*, Oxford University Press (2002)

Bonamin F., Moraes T.M., dos Santos R.C., Kushima H., Faria F.M., Silva M.A., Junior I.V., Nogueira L., Bauab T.M., Souza Brito A.R.M., da Rocha L.R.M., Hiruma-Lima C.A.: The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: the role of  $\beta$ -myrcene in preventing peptic ulcer disease, *Chemico-Biological Interactions* 212 (2004) 11-19

Bousquet J., Czarlewski W., Zuberbier T., Mullol J., Blain H., Cristol J.P., De La Torre R., Le Moing V., Lozano N.P., Bedbrook A., Agache I., Akdis C.A., Canonica G.W., Cruz A.A., Fiocchi A., Fonseca J.A., Fonseca S., Gemicioğlu B., Haahtela T., Iaccarino G., Ivancevich J.C., Jutel M., Klimek L., Kuna P., Larenas-Linnemann D.E., Melen E., Okamoto Y., Papadopoulos N.G., Pfaar O., Reynes J., Rolland Y., Rouadi P. W., Samolinski B., Sheikh A., Toppila-Salmi S., Valiulis A., Choi H.J., - Kim H.J., Anto J.M.: Spices to Control COVID-19 Symptoms: Yes, but Not Only..., *International Archives of Allergy and Immunology* (2021) 182: 489-495

- Brewster M.E., Loftsson T.: Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 645-666
- Brown A., Patel S., Ward C., Lorenz A., Ortiz M., DuRoss A., Wiegardt F., Esch A., Otten E.G., Heiser L.M., Korolchuk V.I., Sun C., Sarkar S., Sahay G.: PEG-lipid micelles enable cholesterol efflux in Niemann-Pick Type C1 disease-based lysosomal storage disorder, *Scientific Reports* 6 (2016) No. 31750. doi:10.1038/srep31750
- Bru R., López-Nicolás J.M., García-Carmona F.: Aggregation of polyunsaturated fatty acids in the presence of cyclodextrins, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 97 (1995) 263-269
- Caira M.R., Griffith V.J., Nassimbeni L.R., Oudtshoorn B.V.: X-ray structures of 1:1 complexes of (L)-menthol with  $\beta$ -cyclodextrin and permethylated  $\beta$ -cyclodextrin, *Supramol. Chem.* 7 (1996) 119–124
- Case D.A., Cheatham T.E., Darden T., Gohlke H., Luo R., Merz K.M., Onufriev A., Sinnerling C., Wang B., Woods R.J.: The Amber biomolecular simulation programs, *Journal of Computational Chemistry* 26 (2005)1668-1688
- Cezard C., Trivelli X., Aubry F., Djedaini-Pilard F., Dupradeau F.Y.: Molecular dynamics studies of native and substituted cyclodextrins in different media: 1. Charge derivation and force field performances, *Physical Chemistry Chemical Physics* 13 (2011) 15103-15121
- Chandrasekharan J.A., Marginean A., Sharma-Walia N.: An insight into the role of arachidonic acid derived lipid mediators in virus associated pathogenesis and malignancies, *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 126 (2016) 46–54
- Chang C., Nickerson M.T.: Encapsulation of omega 3-6-9 fatty acids-rich oils using proteinbased emulsions with spray drying, *Journal of Food Science and Technology* (2018) 55(8):2850–2861
- Chang T.-Y., Reid P.C., Sugii S., Ohgami N., Cruz J.C., Chang C.C.Y.: Niemann-Pick type C disease and intracellular cholesterol trafficking, *Journal of Biological Chemistry* 280 (2005) 20917–20920. doi:10.1074/jbc.R400040200
- Christoforides E., Fourtaka K., Andreou A., Bethanis K.: X-ray crystallography and molecular dynamics studies of the inclusion complexes of geraniol in  $\beta$ -cyclodextrin, heptakis (2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin and heptakis (2,3,6-tri-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of Molecular Structure*, Vol. 1202 (2020) 127350
- Clementi N., Scagnolari C., D'Amore A., Palombi F., Criscuolo E., Frasca F., Pierangeli A., Mancini N., Antonelli G., Clementi M., Carpaneto A., Filippini A.: Naringenin is a powerful inhibitor of SARS-CoV-2 infection in vitro, *Pharmacological Research* (2021) Jan;163:105255. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105255.
- Cloudy P., Létoffé J.M., Germain P., Bastide J.P., Bayol A., Blasquez S., Rao R.C., Gonzalez B.: Physicochemical characterization of cholesterol-beta cyclodextrin inclusion complexes *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 37 (1991) 2497–2506. doi:10.1007/BF01912796



Couto V.M., de Oliveira-Nascimento L., Cabeça L.F., Geraldes D.C. , Costa J.S.R. , Riske K.A., Franz-Montan M., Yokaychiya F., Franco M.K.K.D., de Paula E.: Capsaicin-Cyclodextrin Complex Enhances Mepivacaine Targeting and Improves Local Anesthesia in Inflamed Tissues, *International Journal of Molecular Sciences* 21 (2020) 5741; doi:10.3390/ijms21165741

Da Costa J.P.: A current look at nutraceuticals - Key concepts and future prospects, *Trends in Food Science & Technology*, 62 (2017) 68e78

Daliri E., Lee B.: Current Trends and Future Perspectives on Functional Foods and Nutraceuticals, Chapter · January 2015, Editor Min-Tze Liong, Universiti Sains Malaysia, School of Industrial Technology Penang, Malaysia DOI: 10.1007/978-3-319-23177-8\_10

Danthi P., Chow M.: Cholesterol Removal by Methyl- $\beta$ -Cyclodextrin Inhibits Poliovirus Entry, *Journal of Virology* 78 (2004) 33–41. doi:10.1128/JVI.78.1.33-41.2004

Davidson C., Fishman Y., Puskas I., Szeman J., Sohajda T., Sikora J., Vanier M.T., Szente L., Walkley S.U., Dobrenis K.: *Molecular Genetics and Metabolism* (2016) 117, S38. doi:10.1016/j.ymgme.2015.12.232

Das S.K., Rajabalaya R., David S., Gami N., Khanam J., Nanda A.: Cyclodextrins - the molecular container, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol.4 (2013) 1694-1720

Debnath S., Mishra J.: Understanding the intrinsic fluorescence of piperine in microheterogeneous media: partitioning and loading studies, *New Journal of Chemistry* 44 (2020) 8317-8324

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

De Vries E.J.C., Caira M.R., Bogdan M., Farcas S.I., Bogdan D.: Inclusion of parabens in *b*-cyclodextrin: A solution NMR and X-ray structural investigation, *Supramolecular Chemistry* Vol. 21, No. 5, July–August 2009, 358–366

Dias H.M.A.M., Berbicz F., Pedrochi F., Baesso M.L., Matioli G.: Butter cholesterol removal using different complexation methods with beta-cyclodextrin, and the contribution of photoacoustic spectroscopy to the evaluation of the complex, *Food Research International* 43 (2010) 1104–1110. doi:10.1016/j.foodres.2010.02.002

Di Benedetto R., Vari R., Scazzocchio B., Filesi C., Santangelo C., Giovannini C., Matarrese P., D'Archivio M., Roberta Masella R.: Tyrosol, the major extra virgin olive oil compound, restored intracellular antioxidant defences in spite of its weak antioxidative effectiveness, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2007) 17, 535-545

Dodziuk H.: *Cyclodextrins and their complexes*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2006)

Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. Howard J.A.K., Puschmann H.: OLEX2: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program, *Journal of Applied Crystallography* (2009) 42 (2), 339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>

Dos Santos C., Buera M.P., Mazzobre M.F.: Phase solubility studies of terpineol with  $\beta$ -cyclodextrins and stability of the freeze-dried inclusion complex, *Procedia Food Science* 1 (2011) 355 – 362

Dos Santos C., Buera P., Mazzobre F.: Novel trends in cyclodextrins encapsulation. Applications in food science, *Food Science* 16 (2017) 106-113

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to linoleic acid and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 489) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006, *EFSA Journal* 2009; 7(9):1276

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to oleic acid intended to replace saturated fatty acids (SFAs) in foods or diets and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 673, 728, 729, 1302, 4334) and maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 673, 4334) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006, *EFSA Journal* 2011;9(4):2043

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS): Scientific Opinion: Re-evaluation of  $\beta$ -cyclodextrin (E459) as a food additive, *EFSA Journal* 2016; 14(12):4628

Elshahawy K.E.M.: Using Covid 19 Oleic Acids (COA19) Compound and Covid 19 Hyena Vaccine (CHV19) to Stop Covid19: A Systematic Review, *Journal of Pharmacy*, (2020) 10 (7) 11-22

Emsley P., Lohkamp B., Scott W.G., Cowtan K.: Features and development of Coot, *Acta Crystallographica D Biological Crystallography* (2010) 486-501

Ezawa T., Inoue Y., Tunvichien S., Suzuki R., Kanamoto I.: Changes in the Physicochemical Properties of Piperine/ $\beta$ -Cyclodextrin due to the Formation of Inclusion Complexes, *International Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 2016, Art. ID 8723139, 9 pages

Ezawa T., Inoue Y., Murata I., Takao K., Sugita Y., Kanamoto I.: Characterization of the Dissolution Behavior of Piperine/Cyclodextrins Inclusion Complexes, *AAPS PharmSciTech*, Vol. 19, No. 2 (2018) 923-934

Ezawa T., Inoue Y., Murata I., Takao K., Sugita Y., Kanamoto I.: Evaluation of the Molecular State of Piperine in Cyclodextrin Complexes by Near-Infrared Spectroscopy and Solid-State Fluorescence Measurements, *International Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 2019, Art. ID 7530480, <https://doi.org/10.1155/2019/7530480>

Fan Z., Diao C.H., Yu M., Jing Z.L., Chen X., Deng Q.L.: An Investigation of the Inclusion Complex of  $\beta$ -Cyclodextrin with 8-Nitro-Quinoline in the Solid State, *Supramolecular Chemistry*, January–February (2006) 18 (1) 7–11

Fernández-Alonso A., Bravo-Díaz C.: Cyclodextrin induced switch between heterolytic and hemolytic dediazonation mechanisms, *Journal of Colloid and Interface Science* 368 (2012) 301-309

Fourtaka K., Christoforides E., Mentzafos D., Bethanis K.: Crystal structures and molecular dynamics studies of the inclusion compounds of  $\beta$ -citronellol in  $\beta$ -cyclodextrin, heptakis(2,6-di-O-methyl)  $\beta$ -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)  $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of Molecular Structure* (2018) doi: 10.1016/j.molstruc.2018.02.037

García-Padial M., Martínez-Ohárriz M.C., Isasi J.R., Vélaz I., Zornoza A.: Complexation of tyrosol with cyclodextrins, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, (2012) doi: 10.1007/s10847-011-0095-3

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

Ghaffari S., Roshanravan N., Tutunchi H., Ostadrahimi A., Pouraghaei M., Behnam Kafil B.: Oleoylethanolamide, A Bioactive Lipid Amide, as A Promising Treatment Strategy for Coronavirus/COVID-19, *Archives of Medical Research* 51 (2020) 464-467

Goc A., Niedzwiecki, A., Rath M.: Polyunsaturated  $\omega$ -3 fatty acids inhibit ACE2-controlled SARS-CoV-2 binding and cellular entry, *Scientific Reports* (2021) 11:5207

Goyens P.L., Mensink R.P.: The dietary alpha-linolenic acid to linoleic acid ratio does not affect the serum lipoprotein profile in humans, *The Journal of Nutrition* 135 (2005) 2799-2804.

Grein J., Ohmagari N., Shin D., Diaz G., Asperges E., Castagna A., Feldt T., Green G., Green M.L., Lescure F.-X., Nicastrì E., Oda R., Yo K., Quiros-Roldan E., Studemeister A., Redinski J., Ahmed S., Bernett J., Chelliah D., Chen D., Chihara S., Cohen S.H., Cunningham J., D'Arminio Monforte A., Ismail S., Kato H., Lapadula G., L'Her E., Maeno T., Majumder S., Massari M., Mora-Rillo M., Mutoh Y., Nguyen D., Verweij E., Zoufaly A., Osinusi A.O., DeZure A., Zhao Y., Zhong L., Chokkalingam A., Elboudwarej E., Telep L., Timbs L., Henne I., Sellers S., Cao H., Tan S.K., Winterbourne L., Desai P., Mera R., Gaggari A., Myers R.P., Brainard D.M., Childs R., Flanigan T.: Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19, *The New England Journal of Medicine* 382;24 (2020) 2327-2336

Groom C.R., Bruno I.J., Lightfoot M.P., Ward S.C.: The Cambridge Structural Database, *Structural Science Crystal Engineering Materials*, 72 (2016) 171-179

Hădărugă N.G., Hădărugă D.I., Păunescu V., Tatu C., Ordodi V.L., Bandur G., Lupea A.X.: Thermal stability of the linoleic acid/a- and b-cyclodextrin complexes, *Food Chemistry* 99 (2006) 500–508

Hamilton J.A., Sabesan M.N., Steinrauf L.K.: Structure of cycloheptaamylose inclusion complexes crystal structure of substituted benzoic acid and phenol derivatives, *Carbohydrate Research* 89 (1981) 33-53

Hamilton J.A., Steinrauf L.K.: Interrelated space groups observed for complexes of cycloheptaamylose with small organic molecules, *Acta Crystallographica* (1968) B24 1560

Hanna V.S., Hafez E.A.A.: Synopsis of arachidonic acid metabolism: a review, *Journal of Advanced Research* 11 (2018) 23–32

Harauma A., Yasuda H., Hatanaka E., Nakamura M.T., Salem N. Jr., Moriguchia T.: The essentiality of arachidonic acid in addition to docosahexaenoic acid for brain growth and function, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 116 (2017) 9–18

Hartsel J.A., Eades J., Hickory B., Makriyannis A.: Chapter 53 – Cannabis sativa and Hemp, *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*, Academic Press (2016) 735-754

Hatziagapiou K., Bethanis K., Lambrou G.I., Yannakopoulou K., Karpusas M., Braoudaki M., Christoforides E., Tsorteki F., Milionis V., Kavantzas N., Tzortzatos-Stathopoulou F., Gemou-Engesaeth V.: Enhanced Gefitinib Cytotoxicity in the Presence of Cyclodextrins: In-Vitro and Biophysical Studies Towards Potential Therapeutic Interventions for Cancer, *Journal of Biomedical Nanotechnology* (2017) 13, 522. doi: 10.1166/jbn.2017.2374

Hayman M., Kam P.C.A.: Capsaicin: A review of its pharmacology and clinical applications, *Current Anaesthesia & Critical Care* 19 (2008) 338-343

Higuchi T., Connors K.A.: Phase-solubility techniques. In: Reilly CN (Ed.), *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*. Vol. 4, New York, Interscience (1965) 117-212

Huang Z., Xu R., Ge X., Cheng J.: Complexation of capsaicin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and its analytical application, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 223 (2019) 117278

Hübschle C. B., Sheldrick G. M., Dittrich B.: It ShelXle: A Qt Graphical User Interface for It SHELXL, *Journal of Applied Crystallography* (2011) 44 (6) 1281–1284, <https://doi.org/10.1107/S0021889811043202>.

Hugh Y.D.: Πανεπιστημιακή Φυσική, Τόμος Β', Εκδόσεις Παπαζήση (1994) 1059-1061

Humphrey W., Dalke A., Schulten K.: VMD: visual molecular dynamics, *Journal of Molecular Graphics* 14 (1996) 33-38

Ikonen E.: Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization, *Natural Reviews Molecular Cell Biology*, 9 (2008) 125–138. doi:10.1038/nrm2336

Janiak C.: A critical account on  $\pi$ - $\pi$  stacking in metal complexes with aromatic nitrogen-containing ligands, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* (2000) 3885–3896

Jeong H.J., Sun H., Chogsom C., Kwak H.S.: Cholesterol removal from whole egg by crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27 (2014) 537-542

Jung T.H., Ha H.J., Ahn J., Kwak H.S.: Development of cholesterol-reduced mayonnaise with crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin and added phytosterol, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 28(2) (2008) 211–217

Jung T.H., Kim J.J., Yu S.H., Ahn J., Kwak, H.S.: Properties of cholesterol-reduced butter and effect of gamma linolenic acid added butter on blood cholesterol, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18(11) (2005) 1646–1654

Karim N., Jia Z., Zheng X., Cui S., Chen W.: A Recent Review of Citrus Flavanone Naringenin on Metabolic Diseases and Its Potential Sources for High Yield-Production. *Trends in Food Science and Technology* 79 (2018) 35–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.012>.

Kaur N., Chugh V., Gupta A.K.: Essential fatty acids as functional components of foods - a review, *Journal of Food Science and Technology* (2014) 51 (10) 2289–2303

Kemelbekov U.S., Hagenbach A., Lentz D., Imachova S.O., Pichkhadze G.M., Rustembekov Z.I., Beketov K.M., Praliev K.D., Gabdulkhakov A., Guskov A., Saenger W.: Pharmacology and structures

of the free base of the anaesthetic kazcaine and its complex with  $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 68 (2010) 323–330

Kim S.H., Kim H.Y., Kwak H.S.: Cholesterol removal from lard with crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20(9) (2007) 1468–1472

Kirshner K.N., Yongye A.B., Tschampel S.M., Conzález-Outeiriño J., Daniels C.R., Foley B.L., Woods R.J.: GLYCAM06: a generalizable biomolecular force field, *Carbohydrates, Journal of Computational Chemistry* 29 (2008) 622-655

Kokkinou A., Yannakopoulou K., Mavridis I.M., Mentzafos D.: Structure of the complex of  $\beta$ -cyclodextrin with  $\beta$ -naphthoxyacetic acid in the solid state and in aqueous solution, *Carbohydrate Research* 332 (2001) 85–94

Koshland D.E.: Protein Shape and Biological Control, *Scientific American* 229 (1973) 4 52-67

Kräutler V., van Gunsteren W.F., Hünenberger P.H.: A fast SHAKE algorithm to solve distance constraint equations for small molecules in molecular dynamics simulations, *Journal of Computational Chemistry* 22 (2001) 501-508

Kwak H.S., Kim S.H., Kim J.H., Choi H.J., Kang J.: Immobilized  $\beta$ -cyclodextrin as a simple and recyclable method for cholesterol removal in milk, *Archives of Pharmacal Research* 27 (8) (2004) 873–877

Kwak H.S., Jung C.S., Shim S.Y., Ahn J.: Removal of Cholesterol from Cheddar Cheese by  $\beta$ -Cyclodextrin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (2002) 7293–7298. doi:10.1021/jf020568m

Le Bas G., de Rango C., Rysanek N., Tsoucaris G.: Chiral conformations induced by cyclodextrin, *Journal of Inclusion Phenomena* 2 (1984) 861-867

Li G.M., Li Y.G., Yamate M., Li S.M., Ikuta K.: Lipid rafts play an important role in the early stage of severe acute respiratory syndrome-coronavirus life cycle, *Microbes and Infection* 9 (2007) 96–102.

Li J., Guasch-Ferré M., Li Y., Hu F.B.: Dietary intake and biomarkers of linoleic acid and mortality: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies, *American Journal of Clinical Nutrition* 112 (2020) 150–167

Liu B.: Therapeutic potential of cyclodextrins in the treatment of Niemann-Pick type C disease, *Clinical Lipidology* 7 (2012) 289–301

Liu K., Liu H., Li Z., Li W., Li L.: In vitro dissolution study on inclusion complex of piperine with ethylenediamine-  $\beta$ - cyclodextrin, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 96 (2020) (3-4): 233-24. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-00980-5>

Liu Y., Fan Z., Zhang H.Y., Yang Y.W., Ding F., Liu S.X., Wu X., Wada T., Inoue Y.: Supramolecular Self-Assemblies of  $\beta$ -Cyclodextrins with Aromatic Tethers: Factors Governing the Helical Columnar versus Linear Channel Superstructures, *Journal of Organic Chemistry* 68 (2003) 8345-8352

Loftsson T., Magnúsdóttir A., Másson M., Sigurjónsdóttir J.F.: Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 91 (2002) 2307–2316. doi:10.1002/jps.10226

Loftsson T., Másson M., Brewster M.E.: Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes, *Journal of Pharmaceutical Science* (2004) 93:1091–9.

López C.A., de Vries A.H., Marrink S.J.: Molecular Mechanism of Cyclodextrin Mediated Cholesterol Extraction, *PLoS Computational Biology* 7 (2011) e1002020. doi:10.1371/journal.pcbi.1002020

López C.A., de Vries A.H., Marrink S.J.: Computational microscopy of cyclodextrin mediated cholesterol extraction from lipid model membranes, *Scientific Reports* 3 (2013) No. 2071. doi:10.1038/srep02071

López-García M.A., López O., Maya I., Fernández-Bolaños J.G.: Complexation of hydroxytyrosol with  $\beta$ -cyclodextrins. An efficient Photoprotection, *Tetrahedron* 66 (2010) 8006-8011

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., Wood P.A.: It Mercury CSD 2.0 – New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures, *Journal of Applied Crystallography* (2008) 41 (2), 466–470. <https://doi.org/10.1107/S0021889807067908>.

Mahammad S., Parmryd I.: Cholesterol Depletion Using Methyl- $\beta$ -cyclodextrin. In *Methods in Membrane Lipids. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*; Owen D. Ed.; Humana Press: New York 1232 (2015) 91–102. doi:10.1007/978-1-4939-1752-5\_8

Marquez H.M.C.: A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles, *Flavour and Fragrance Journal* 25 (2010) 313-326

Maurya V.K., Kumar S., Prasad A.K., Bhatt M.L.B., Saxena S.K.: Structure-based drug designing for potential antiviral activity of selected natural products from Ayurveda against SARS-CoV-2 spike glycoprotein and its cellular receptor, *VirusDisease* (April–June 2020) 31(2):179–193

Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D., Katan M.B.: Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials, *American Journal of Clinical Nutrition* 77 (2003) 1146-1155.

Mentzafos, D., Mavridis I.M., Le Bas G., Tsoucaris G.: Structure of the 4-*tert*-butylbenzyl alcohol- $\beta$ -cyclodextrin complex. Common features in the geometry of  $\beta$ -cyclodextrin dimeric complexes, *Acta Crystallographica, Sect. B* 47 (1991) 746–757. doi:10.1107/S010876819100366X

Mine Y., Bergognoux M.: Absorption properties of cholesterol-reduced egg yolk low-density lipoprotein at oil-in-water interfaces, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (1998) 2153–2158

Motoyama K., Nishiyama R., Maeda Y., Higashi T., Ishitsuka Y., Kondo Y., Irie T., Era T., Arima H.: Synthesis of multi-lactose-appended  $\beta$ -cyclodextrin and its cholesterol-lowering effects in Niemann–Pick type C disease-like HepG2 cells, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 13 (2017) 10–18. doi:10.3762/bjoc.13.2

Mourtzinou I., Kalogeropoulos N., Papadakis S.E., Konstantinou K., Karathanos V.T.: Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in  $\beta$ -cyclodextrin and modified starch, *Journal of Food Science* 73 (2008) Nr.1 89-94

Mukherjee S., Lekli I., Gurusamy N., Bertelli A.A.A., Das D.K.: Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol, *Free Radical Biology & Medicine* 46 (2009) 573–578

Müller P., Herbst-Irmer R., Spek A.L., Schneider T.R., Sawaya M.R.: *Crystal Structure Refinement: a crystallographer's guide to SHELXL*, International Union of Crystallography, Oxford Science Publications (2006)

Mura P.: Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: a review, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113 (2015) 226-238

Navaza A., Iroulart M.G., Navaza J.: Monomeric Uranyl Hydroxide System Obtained by Inclusion in the  $\beta$ -Cyclodextrin Cavity, *Journal of Coordination Chemistry* 51 (2000) 153-168

Nishijo J., Moriyama S., Shiota S.: Interactions of cholesterol with cyclodextrins in aqueous solution, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51 (2003) 1253–1257. doi:10.1248/cpb.51.1253

Papaioannou A., Christoforides E., Bethanis K.: Inclusion Complexes of Naringenin in Dimethylated and Permethylated  $\beta$ -Cyclodextrins: Crystal Structures and Molecular Dynamics Studies, *Crystals* (2020) 10, 10; doi:10.3390/cryst10010010

Pascual G., Domínguez D., Elosúa-Bayes M., Felipe Beckedorff F., Laudanna C., Bigas C., Douillet D., Greco C., Symeonidi A., Hernández I., Gil S.R., Prats N., Bescós C., Shiekhattar R., Amit M., Heyn H., Shilatifard A., Benitah S.A.: Dietary palmitic acid promotes a prometastatic memory via Schwann cells, *Nature* 599 (2021) 485 – 490

Patel K., Gadewar M., Tahilyani V., Patel D.K.: A Review on Pharmacological and Analytical Aspects of Diosgenin: A Concise Report. *Natural Products and Bioprospecting* (2012) 2 (2), 46–52. <https://doi.org/10.1007/s13659-012-0014-3>.

Paulo F., Santos L.: Encapsulation of the Antioxidant Tyrosol and Characterization of Loaded Microparticles: an Integrative Approach on the Study of the Polymer-Carriers and Loading Contents, *Food and Bioprocess Technology* 13 (2020) 764-785. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02407-y>

Pavlidou A., Maffeo D., Yannakopoulou K., Mavridis I.M.: Similar modes of inclusion in complexes of  $\beta$ -cyclodextrin with sulfonylurea hypoglycemic drugs, *CrystEngComm* 12 (2010) 517–525

Pawlos A., Mateusz Niedzielski M., Gorzelak-Pabiś P., Marlena Broncel M., Woźniak E.: Covid-19: Direct and Indirect Mechanisms of Statins, *International Journal of Molecular Sciences* (2021) 22, 4177. <https://doi.org/10.3390/ijms22084177>

Pinho E., Grootveld M., Soares G., Henriques M.: Review: Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds, *Carbohydrate Polymers*, 101 (2014) 121-135

Pontillo A.R.N., Konstanteli E., Bairaktari M.M., Detsi A.: Encapsulation of the Natural Product Tyrosol in Carbohydrate Nanosystems and Study of Their Binding with ctDNA, *Polymers* (2021) 13, 87

Poulson B.G. , Alsulami Q.A., Sharfalddin A., El Agammy E.F., Mouffouk F., Emwas A.H. , Jaremko L., Jaremko M.: Cyclodextrins: Structural, Chemical and Physical Properties, and Applications, Polysaccharides 3 (2022) 1–31

Qi, Z.H., Hedges A.R.: Use of cyclodextrins for flavours. In C.T. Ho, C.T. Tan, C.H. Tong (Eds.), Flavour technology: Physical chemistry, modification and process, ACS symposium series 610 (1995) 231–243. Washington DC: American Chemical Society.

Quilaqueo M., Millao S., Luzardo-Ocampo I., Campos-Vega R., Acevedo F., Shene C., Rubilar M.: Inclusion of piperine in  $\beta$ -cyclodextrin complexes improves their bioaccessibility and *in vitro* antioxidant capacity, Food Hydrocolloids, 91 (2019) 143-152

Rao P.V., Kiran S., Rohini P., Bhagyasree P.: Flavonoid: A Review on Naringenin. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry (2017) 6 (5), 2778–2783.

Ravichandran R., Divakar S.: Inclusion of Ring A of Cholesterol Inside the  $\beta$ -Cyclodextrin Cavity: Evidence from Oxidation Reactions and Structural Studies, Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry 30 (1998) 253–270. doi:10.1023/A:1007912809965

Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012: laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council, 20.07.2022  
Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012: establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health, 22.08.2017

Regulation (EC) No 1333/2008 of 16 December 2008: on food additives, 20.07.22

SAINT, Bruker-AXS: SAINT Version 8.34A, Madison, Wisconsin, USA, 2013; 2013.

Salehi B., Fokou P.V.T., Sharifi-Rad M., Zucca P., Pezzani R., Martins N., Sharifi-Rad J.: The Therapeutic Potential of Naringenin: A Review of Clinical Trials. Pharm. Basel Switz. (2019) 12 (1), 11. <https://doi.org/10.3390/ph12010011>.

Sales-Campos H., Patrícia Reis de Souza P.R., Peghini B.C., da Silva J.S., Cardoso C.R.: An Overview of the Modulatory Effects of Oleic Acid in Health and Disease, Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 13 (2013) 000-000

Sangpheak W., Khuntawee W., Wolschann P., Pongsawasdi P., Rungrotmongkol T.: Enhanced Stability of a Naringenin/2,6-Dimethyl Beta-Cyclodextrin Inclusion Complex: Molecular Dynamics and Free Energy Calculations Based on MM- And QM-PBSA/GBSA. Journal of Molecular Graphics and Modelling 50 (2014) 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2014.03.001>.

Sangpheak W., Kicuntod J., Schuster R., Rungrotmongkol T., Wolschann P., Kungwan N., Viernstein H., Mueller M., Pongsawasdi P.: Physical Properties and Biological Activities of Hesperetin and Naringenin in Complex with Methylated  $\beta$ -Cyclodextrin. Beilstein Journal of Organic Chemistry 11 (2015) 2763–2773. <https://doi.org/10.3762/bjoc.11.297>.

Schmidt N.M., Wing P.A.C., McKeating J.A., Maini M.K.: Cholesterol-modifying drugs in Covid-19, Oxford Open Immunology (2020) 1(1): iqaa001

Schrödinger L., Delano W.: PyMOL (2020), <http://www.pymol.org/pymol>



Schüttelkopf A.W., van Aalten D.M.F.: PRODRG : A Tool for High-Throughput Crystallography of Protein–Ligand Complexes, *Acta Crystallographica D Biological Crystallography* (2004) 60 (8), 1355–1363. <https://doi.org/10.1107/S0907444904011679>.

Semalty A., Tanwar Y.S., Semalty M.: Preparation and Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complex of Naringenin and Critical Comparison with Phospholipid Complexation for Improving Solubility and Dissolution. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (2014) 115 (3), 2471–2478. <https://doi.org/10.1007/s10973-013-3463-y>.

Sharma N., Baldi A.: Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview, *Drug Delivery*, (2016) 23(3): 729–747

Sheldrick G.M.: SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination, *Acta Crystallographica Sect. A* 71 (2015) 3–8. doi:10.1107/S2053273314026370

Sheldrick G.M., SADABS: SADABS Version 2012/1, 1, Bruker-AXS, Madison, Wisconsin, USA, 2012; 2012.

Shen C., Yang X., Wang Y., Zhou J., Chen C.: Complexation of capsaicin with b-cyclodextrins to improve pesticide formulations: effect on aqueous solubility, dissolution rate, stability and soil adsorption, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2012) 72:263–274

Shim S.Y., Ahn J., Kwak H.S.: Functional properties of cholesterol removed whipping cream treated by b-cyclodextrin, *Journal of Dairy Science* 86 (2003) 2767–2772

Shoieb S.M., El-Ghiaty M.A., El-Kadi A.O.S.: Targeting arachidonic acid–related metabolites in COVID-19 patients: potential use of drug-loaded nanoparticles, *Emergent Materials* 4 (2020) 265–277 <https://doi.org/10.1007/s42247-020-00136-8>

Shulman M., Cohen M., Soto-Gutierrez A., Yagi H., Wang H., Goldwasser J., Lee-Parsons C.W., Benny-Ratsaby O., Yarmush M.L., Nahmias Y.: Enhancement of Naringenin Bioavailability by Complexation with Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. [Corrected]. *PloS One* (2011) 6 (4), e18033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018033>.

Sieber R.: Cholesterol removal from animal food-Can it be justified? *LWT-Food Sci. Technol.* 26 (1993) 375–387. doi:10.1006/fstl.1993.1076

Singh M., Sharma R., Banerjee U.C.: Biotechnological applications of cyclodextrins, *Biotechnology Advances* 20 (2002) 341–359.

Singleton M.L., Reibenspies J.H., Darensbourg M.Y.: A cyclodextrin host/guest approach to a hydrogenase active site biomimetic cavity, *Journal of the American Chemical Society* 132 (2010) 8870–8871. doi:10.1021/ja103774j

Siró I., Fenyvesi É ., Szente L., De Meulenaer B., Devlieghere F., Orgoványi J. et al.: Release of alpha-tocopherol from antioxidative low-density polyethylene film into fatty food simulant: influence of complexation in betacyclodextrin, *Food Additives and Contaminants* 23(8) (2006) 845–853

Steiner T., Saenger W.: Crystal structure of anhydrous heptakis-(2,6-di-O-methyl) cyclomaltoheptaose (dimethyl-β-cyclodextrin), *Carbohydr. Res.* 275 (1995) 73–82

Stojanović-Radić Z., Pejčić M., Dimitrijević M., Aleksić A., Kumar N.V.A., Salehi B., C. Cho W.C., Sharifi-Rad J.: Piperine-A Major Principle of Black Pepper: A Review of Its Bioactivity and Studies, *Applied Sciences*, 9 (2019) 4270; doi:10.3390/app9204270

Szejtli J.: Past, present, and future of cyclodextrin research, *Pure and Applied Chemistry*, 76 (2004) 10, 1825–1845

Takahashi H., Tsuboyama S., Umezawa Y., Hondac K., Nishio M.: CH/p Interactions as Demonstrated in the Crystal Structure of Host/Guest Compounds. A Database Study, *Tetrahedron* 56 (2000) 6185-6191

Takahashi A.I., Veiga F.J.B., Ferraz H.G.: A Literature Review of Cyclodextrins Inclusion Complexes Characterization – Part I: Phase Solubility Diagram, Dissolution and Scanning Electron Microscopy, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, Vol. 12, Iss. 1, January – February 2012; Art.-001

Tallima H., El Ridi R.: Arachidonic acid: physiological roles and potential health benefits – a review, *Journal of Advanced Research* 11 (2018) 33–41

Tamura A., Yui N.: Lysosomal-specific Cholesterol Reduction by Biocleavable Polyrotaxanes for Ameliorating Niemann-Pick Type C Disease, *Scientific Reports* 4 (2014) No. 4356. doi:10.1038/srep04356

Tiwari A., Mahadik K.R., Gabhe S.Y.: Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties, *Medicine in Drug Discovery* 7 (2020) 100027

Toelzer C., Gupta K., Yadav S.K.N., Borucu U., Davidson A.D., Williamson M.K., Shoemark D.K., Garzoni F., Stauer O., Milligan R., Capin J., Mulholland A.J., Spatz J., Fitzgerald D., Berger I., Schaffitzel C.: Free fatty acid binding pocket in the locked structure of SARS-CoV-2 spike protein, *Science* 370 (2020) 725–730

Tommasini S., Raneri D., Ficarra R., Calabrò M.L., Stancanelli R., Ficarra P.: Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with  $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35 (2004) 379–387

Triantafyllopoulou V., Tsorteki F., Mentzafos D., Bethanis K.: Inclusion compounds of plant growth regulators in cyclodextrins, part VII: study of the crystal structures of 2-naphthylacetic acid encapsulated in  $\beta$ -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin complexes by X-ray crystallography, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 75 (2013) 303–310

Trollope L., Cruickshank D.L., Noonan T., Bourne S.A., Sorrenti M., Catenacci L., Caira M.R.: Inclusion of *trans*-resveratrol in methylated cyclodextrins: synthesis and solid-state structures, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 10 (2014) 3136–3151.

Tsoucaris G., Le Bas G., Rysanek N., Villain F.: Conformational and enantiomeric discrimination in cyclodextrin inclusion compounds, *Journal of Inclusion Phenomena* 5 (1987) 77-84

Tutunchi H., Naeini F., Ostadrahimi A., Hosseinzadeh-Attar M.J.: Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19, *Phytotherapy Research*. 34 (2020) 3137–3147.

Uekama K., Hirayama F., Irie T.: Cyclodextrin drug carrier systems, *Chemical Reviews* 98 (1998) 2045-2076

Vance J.E., Peake K.B.: Function of the Niemann-Pick type C proteins and their bypass by cyclodextrin, *Current Opinion in Lipidology* 22 (2011) 204–209. doi:10.1097/MOL.0b013e3283453e69

Vance J.E., Karten B.: Niemann-Pick C disease and mobilization of lysosomal cholesterol by cyclodextrin, *Journal of Lipid Research* 55 (2014) 1609–1621. doi:10.1194/jlr.R047837

Venkataswamy G., Meena N.k., Naik K.K., Harohally N.: Capsaicin Entrapment in Metal-Organic Framework Material Derived from  $\gamma$ -Cyclodextrin, *ChemRxiv*. (2019) <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.10484192.v1>

Wang E.J., Yan Z., Cai J.: Crystal structure of a cyclomaltoheptaose–4-hydroxybiphenyl inclusion complex, *Carbohydrate Research* 342 (2007) 1530–1534

Wang J., Morin P., Wang W., Kollman P.A.: Use of MM-PBSA in Reproducing the Binding Free Energies to HIV-1 RT of TIBO Derivatives and Predicting the Binding Mode to HIV-1 RT of Efavirenz by Docking and MM-PBSA. *Journal of the American Chemical Society* (2001) 123 (22), 5221–5230. <https://doi.org/10.1021/ja003834q>.

Wen J., Liu B., Yuan E., Ma Y., Zhu Y.: Preparation and Physicochemical Properties of the Complex of Naringenin with Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. *Mol. Basel Switz.* (2010) 15 (6), 4401–4407. <https://doi.org/10.3390/molecules15064401>.

Xu X., Yu H., Hang L., Shao Y., Ding S., Yang X.: Preparation of Naringenin/ Beta-Cyclodextrin Complex and Its More Potent Alleviative Effect on Choroidal Neovascularization in Rats. *BioMed Research International*, (2014) 623509. <https://doi.org/10.1155/2014/623509>.

Yang L.-J., Ma S.-X., Zhou S.-Y., Chen W., Yuan M.-W., Yin Y.-Q., Yang X.-D.: Preparation and Characterization of Inclusion Complexes of Naringenin with Beta-Cyclodextrin or Its Derivative. *Carbohydrate Polymers* (2013) 98 (1), 861–869. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.010>.

Yannakopoulou K., Ripmeester J.A., Mavridis I.M.: Release of the *Prays oleae* pheromone as a consequence of supramolecular structure: study of the  $\beta$ -cyclodextrin-(*Z*)-tetradec-7-en-1-al complex by X-ray crystallography and NMR spectroscopy in the solid state and in solution, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* (2002) 1639–1644

Yee E.M.H., Hook J.M., Bhadbhade M.M., Vittorio O., Kuchel R.P., Brandl M.B., Tilley R.D., Black D.S., Kumar N.: Preparation, characterization and *in vitro* biological evaluation of (1:2) phenoxodiol- $\beta$ -cyclodextrin complex, *Carbohydrate Polymers* 165 (2017) 444–454. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.081

Yu Y., Chipot C., Cai W., Shao X.: Molecular Dynamics Study of the Inclusion of Cholesterol into Cyclodextrins, *Journal of Physical Chemistry B* 110 (2006) 6372–6378. doi:10.1021/jp056751a

Zaidun N.H., Thent Z.C., Latiff A.A.: Combating Oxidative Stress Disorders with Citrus Flavonoid: Naringenin. *Life Sciences* 208 (2018) 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.07.017>.

Zeiger E.:  $\beta$ -Myrcene[123-35-3], review of toxicological literature, Integrated Laboratory Systems, January 1997

Zeng W., Jin L., Zhang F., Zhang C., Liang W.: Naringenin as a Potential Immunomodulator in Therapeutics. *Pharmacological Research* 135 (2018) 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.002>.

Zhao Y., Sun C., Shi F., Firempong C.K., Yu J., Xu X., Zhang W.: Preparation, characterization, and pharmacokinetics study of capsaicin via hydroxypropyl-beta-cyclodextrin encapsulation, *Pharmaceutical Biology* (2016) 54(1): 130-13

Zidovetzki R., Levitan I.: Use of cyclodextrins to manipulate plasma membrane cholesterol content: Evidence, misconceptions and control strategies, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1768 (2007) 1311–1324. doi:10.1016/j.bbamem.2007.03.026

Zimmer S., Grebe A., Bakke S.S., Bode N., Halvorsen B., Ulas T., Skjelland M., De Nardo D., Labzin L.I., Kerksiek A., Hempel C., Heneka M.T., Hawxhurst V., Fitzgerald M.L., Trebicka J., Björkhem I., Gustafsson J.-Å., Westerterp M., Tall A.R., Wright S.D., Espevik T., Schultze J.L., Nickenig G., Lütjohann D., Latz E.: Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming, *Science Translational Medicine* 8 (2016) 333ra50. doi:10.1126/scitranslmed.aad6100

#### ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

<http://pd.chem.ucl.ac.uk/pdnn/symm1/trans1.htm>

<http://xray0.princeton.edu/~phil/Facility/Guides/XrayDataCollection.html>

[https://www.researchgate.net/figure/Braggs-law-A-two-dimensional-crystal-lattice-and-a-set-of-imaginary-planes-is\\_fig10\\_47418334](https://www.researchgate.net/figure/Braggs-law-A-two-dimensional-crystal-lattice-and-a-set-of-imaginary-planes-is_fig10_47418334)

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myrcene>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/638024>

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### I. ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ

#### Α. Γενικά Χαρακτηριστικά Κρυστάλλων

<b>1. Chol/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2
Ομάδα χώρου	$P1$
Διμερή σε κανάλια (IM)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>2. Nar/DM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:1
Ομάδα χώρου	$P2_12_12_1$
Μονομερή σε herring-bone (HB)	Κατά μήκος του άξονα a

<b>3. Nar/TM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:1
Ομάδα χώρου	$P2_1$
Μονομερή σε cage-type (CT)	Κατά μήκος του άξονα b

<b>4. Caps/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2 (0,5:1)
Ομάδα χώρου	$C2$
Μονομερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>5. Caps/DM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	2:2
Ομάδα χώρου	$P1$
Διμερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα a

<b>6. Pip/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2
Ομάδα χώρου	$P1$
Μονομερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>7. Pip/DM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	0,5:1
Ομάδα χώρου	$P2_1$
Μονομερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα b

<b>8. Pip/TM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2
Ομάδα χώρου	$P2_1$
Μονομερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα a

<b>9. Ara/TM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2 (0,5:1)
Ομάδα χώρου	$P2_12_12_1$
Μονομερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα b

<b>10. Oleic/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:2
Ομάδα χώρου	$P1$
Διμερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>11. Lin/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:3
Ομάδα χώρου	$C2$
Διμερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>12. Myrc/β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	2:2
Ομάδα χώρου	$C2$
Διμερή σε κανάλια (CH)	Κατά μήκος του άξονα c

<b>13. Tyr/DM-β-CD</b>	
Στοιχειομετρία (Guest:Host)	1:1
Ομάδα χώρου	$P2_12_12_1$
Μονομερή σε herring-bone (HB)	Κατά μήκος του άξονα a

## B. Χαρακτηριστικές αποστάσεις και γωνίες

<b>1. Chol/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Διμερή γειτονικών αυλών	Host A και B του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	18,31(4)	15,60(3)	7,036 (16)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,15(4)	1,676(4)	7,035 (16)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,000(16)	0,0(2)	1,011(3)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	10,27(5)	15,51(3)	0,003(17)

<b>2. Nar/DM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	8,997(2)	16,364(2)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	4,925(4)	5,935(7)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	53,14(5)	45,81(5)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	7,529(3)	16,333(3)

<b>3. Nar/TM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	12,913(2)	13,017(3)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	10,749(3)	11,015(3)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00(18)	67,31(4)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	7,156(4)	13,014(3)

<b>4. Caps/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Διμερή γειτονικών αυλών	Host A και B του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	15,760(4)	15,578(3)	6,856(2)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,590(4)	1,941(1)	6,855(2)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00(4)	0,00(3)	1,657(6)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	2,313(7)	15,457(3)	0,108(1)

<b>5.α Caps/DM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών
<b>Host A</b>		
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	10,676(15)	14,870(16)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	8,845(17)	1,757(3)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00	0,00(16)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	5,98(3)	14,766(16)
<b>Host B</b>		
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	10,676(15)	14,870(16)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	8,398(17)	2,173(4)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0(3)	0,00
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	6,59(2)	14,711(16)

<b>5.β Caps/DM-β-CD</b>	Host A και B της ασύμμετρης μονάδας
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	14,52(3)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	7,808(15)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	4,150(12)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα a (Å) – host A	12,24(3)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα a (Å) – host B	11,71(3)

<b>6. Pip/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Διμερή γειτονικών αυλών	Host A και B του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	15,502(2)	15,435(2)	7,0256(10)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,189(2)	1,3969(2)	7,0254(10)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,000(16)	0,000(16)	0,862(2)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	3,1015(17)	15,371(2)	0,0517(6)



<b>7. Pip/DM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	10,3253(16)	15,364(4)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	8,3437(11)	2,4870(3)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00(9)	0,000(11)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	6,0823(18)	15,161(4)

<b>8. Pip/TM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών	Host A και B του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	20,8000(14)	17,6386(9)	10,4695(7)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	20,4006(14)	5,6334(4)	10,2428(7)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00	4,7870(5)	2,5781(2)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	4,0568(14)	16,7148(9)	2,1665(7)

<b>9. Ara/TM-β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή βCD ίδιου αυλού	Διμερή βCD γειτονικών αυλών
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	11,493(2)	15,523(2)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	11,400(2)	4,177(8)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	2,379(7)	0,422(1)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	1,457(3)	14,950(2)

<b>10. Oleic/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Μόρια βCD γειτονικών αυλών	Host του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	15,860(10)	15,542(7)	6,917(5)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,664(10)	1,569(1)	6,916(5)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00(4)	0,00(5)	1,467(1)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	2,488(2)	15,463(0)	0,099(5)

<b>11. Lin/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Διμερή γειτονικών αυλών	Host του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	15,678(5)	15,501(2)	6,957(2)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,464(5)	1,531(5)	6,957(2)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00(2)	0,00(1)	0,814(3)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	2,580(5)	15,425(2)	0,051(5)

<b>12. Myrc/β-CD</b>	Διαδοχικά διμερή ίδιου αυλού	Διμερή γειτονικών αυλών	Host A και B του ίδιου διμερούς
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	15,864(4)	15,525(4)	6,957(2)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	15,656(4)	1,555(6)	6,957(2)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00	0,00	1,221(5)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	2,563(7)	15,447(4)	0,076(7)

<b>13. Tyr/DM-β-CD</b>	Διαδοχικά μονομερή ίδιου αυλού	Μονομερή γειτονικών αυλών
Απόσταση βαρυκέντρων O4n (Å)	10,301(2)	15,004(3)
Απόσταση βαρύκεντρο-επιπέδου O4n (Å)	8,991(1)	11,266(2)
Γωνία επιπέδων O4n (°)	0,00	58,433(14)
Μετατόπιση σε σχέση με τον άξονα c (Å)	5,028(2)	9,909(4)

### Γ. Γεωμετρικά χαρακτηριστικά παρατηρούμενων αλληλεπιδράσεων CH/π

#### 1. Caps/β-CD

C-H	Σύστημα π	θ (°)	Datm (Å)	Dpln (Å)	ω (°)
C31-H31	CAS	16,62	2,903	2,619	65,37

#### 2. Caps/DM-β-CD

C-H	Σύστημα π	θ (°)	Datm (Å)	Dpln (Å)	ω (°)
C27A-H27A	CAQ2	33,73	2,915	2,906	83,98
C77A-H77A	CAR2	42,49	2,973	2,911	81,58
C21B-H21B	CAQ1	23,43	2,798	2,496	66,64

#### 3. Pip/β-CD (Guest B)

C-H	Σύστημα π	θ (°)	Datm (Å)	Dpln (Å)	ω (°)
C51B-H51B	CAP_A	5,67	2,832	2,387	24,76
C54B-H54B	CAT_A	13,71	2,882	3,250	4,55
C33B-H33B	CAM_B	12,07	3,031	2,749	64,98
C34B-H34B	CAO_B	15,25	2,789	2,509	65,10
C35B-H35B	CAT_B	14,30	2,901	0,379	73,15

#### 4. Pip/DM-β-CD

C-H	Σύστημα π	θ (°)	Datm (Å)	Dpln (Å)	ω (°)
C54-H54	CAP	28,03	3,008	2,585	59,66
C83-H83A	CAO	26,07	2,934	2,880	77,80

#### 5. Tyr/DM-β-CD

C-H	sp <sup>2</sup> C <sub>1</sub> /C <sub>2</sub>	θ (°)	Datm (Å)	Dpln (Å)	ω (°)
C37-H37	C7B / C5B	16,52	2,372	1,893	53,54
C51-H51	C4 / C6	6,86	2,885	2,490	60,95

C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub>: το κοντινότερο και το δεύτερο κοντινότερο sp<sup>2</sup> άτομο άνθρακα αντιστοίχως, ως προς το άτομο H

θ: γωνία HCC<sub>1</sub>

Datm: απόσταση μεταξύ H...C<sub>1</sub>

Dpln: απόσταση μεταξύ H...επιπέδου π

ω: δίεδρη γωνία μεταξύ του φαινολικού δακτυλίου του guest και του επιπέδου HC<sub>1</sub>C<sub>2</sub>

## II. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΣΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Chol/β-CD

Host A	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,930(7)	4,331(9)	-0,010(2)	130,04(11)	6,57(2)	-64,23(13)	gg
n=2	5,116(11)	4,370(7)	-0,013(3)	127,46(12)	2,59(8)	-68,14(10)	gg
n=3	5,149(11)	4,293(8)	0,014(3)	126,28(11)	8,73(3)	-62,06(14)	gg
						(A: 0,6)	
						78,25(14)	gt
						(B: 0,4)	
n=4	4,909(8)	4,546(10)	-0,003(7)	130,90(11)	3,28(1)	-67,93(14)	gg
n=5	4,966(9)	4,269(8)	0,005(1)	130,92(11)	11,89(3)	-64,38(16)	gg
n=6	5,260(11)	4,338(7)	-0,022(5)	123,09(12)	8,17(3)	-66,19(17)	gg
n=7	4,957(9)	4,484(9)	0,029(7)	131,28(11)	7,66(2)	-60,67(12)	gg

Host B	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,937(9)	4,381(8)	0,007(2)	130,83(12)	5,98(2)	-54,90(9)	gg
						(A: 0,8)	
						85,19(11)	gt
						(B: 0,2)	
n=2	5,262(11)	4,232(7)	0,013(3)	123,05(12)	8,58(3)	48,01(9)	gt
						(A: 0,4)	
						-63,59(13)	gg
						(B: 0,6)	
n=3	4,987(9)	4,469(9)	-0,015(3)	130,28(11)	6,46(2)	-68,49(13)	gg
n=4	4,836(8)	4,347(9)	0,001(2)	132,57(11)	11,79(3)	-67,57(16)	gg
n=5	5,145(10)	4,369(7)	0,006(1)	125,56(12)	9,20(3)	-66,19(17)	gt
n=6	5,153(11)	4,279(8)	-0,009(2)	126,59(12)	10,37(3)	-65,93(13)	gg
n=7	4,900(8)	4,498(10)	-0,019(4)	131,12(10)	6,08(2)	-64,92(14)	gg

**Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Nar/DM-β-CD**

Host	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	4,990(3)	4,385(5)	0,029(3)	131,33(10)	2,7(2)	71,8(5)	gt
n=2	5,357(3)	4,370(5)	0,027(3)	121,32(11)	15,6(3)	-70,8(6)	gg
n=3	4,986(3)	4,510(5)	-0,008(3)	132,06(11)	24,8(3)	83,4(6) (A: 0,7)	gt
						120,8(13) (B: 0,3)	gt
n=4	4,947(3)	4,354(5)	-0,082(3)	130,45(11)	4,3(3)	-64,9(6)	gg
n=5	5,165(3)	4,435(5)	0,112(3)	126,87(11)	18,9(3)	71,5(6)	gt
n=6	5,198(3)	4,292(5)	-0,033(3)	125,87(11)	10,7(3)	-62,0(6)	gg
n=7	4,923(3)	4,540(5)	-0,045(3)	131,77(11)	13,2(3)	-60,7(6)	gg

**Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Nar/TM-β-CD**

Host	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	4,996(2)	4,281(3)	0,460(2)	123,90(7)	164,07(15)	-68,6(3)	gg
n=2	5,310(2)	4,357(3)	-0,410(2)	121,54(7)	24,97(14)	-79,8(3)	gg
n=3	4,936(2)	4,487(3)	-0,392(2)	125,92(7)	141,72(16)	66,4(4)	gt
n=4	4,550(2)	4,356(4)	0,625(2)	134,90(7)	147,60(16)	-70,7(5) (A: 0,6)	gg
						10,6(12) (B: 0,2)	gt
						-68,3(6) (C: 0,2)	gg
n=5	5,177(2)	4,185(4)	0,157(2)	122,58(7)	17,27(16)	-79,4(4) (A: 0,7)	gg
						-63,9(5) (B: 0,3)	gg
n=6	5,204(2)	4,325(3)	-0,805(2)	115,90(7)	38,66(15)	72,6(5)	gt
n=7	4,398(2)	4,452(3)	0,364(2)	140,25(7)	47,64(15)	134,8(3)	gt

**Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Caps/β-CD**

Host	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,8578(9)	4,3136(11)	0,0068(2)	132,643(15)	16,457(5)	72,330(3) (A:0,5)	gt
						-65,239(17) (B: 0,5)	gg
n=2	5,1880(2)	4,3640(9)	-0,0297(8)	124,931(18)	13,752(5)	-56,660(19)	gg
n=3	5,1281(16)	4,3486(14)	0,0208(6)	127,296(7)	11,297(6)	-44,098(13) (A:0,5)	gg
						172,970(1) (B: 0,5)	gt
n=4	4,8998(10)	4,4637(17)	-0,0061(2)	131,150(2)	6,921(2)	-67,789(9)	gg
n=5	4,9828(13)	4,3724(8)	0,0143(4)	130,006(6)	11,605(4)	-60,700(2)	gg
n=6	5,2430(20)	4,2316(9)	-0,0341(9)	124,120(2)	13,488(6)	-65,659(11)	gg
n=7	4,9902(10)	4,5396(19)	0,0280(8)	129,801(11)	8,799(3)	-60,630(2)	gg

**Πίνακας 5. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Caps/DM-β-CD**

Host A	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5,055(7)	4,300(5)	-0,0184(4)	128,56(9)	1,874(5)	-63,20(10)	gg
n=2	5,319(10)	4,261(5)	-0,1361(3)	121,63(11)	19,62(5)	66,55(11)	gt
n=3	4,832(7)	4,525(8)	0,0538(1)	133,80(8)	19,14(5)	-69,15(12)	gg
n=4	4,862(6)	4,381(7)	0,1363(3)	131,21(9)	1,454(4)	54,11(11) (A: 0,6)	gt
						-58,41(10) (B: 0,4)	gg
n=5	5,282(9)	4,227(5)	-0,1302(3)	123,15(10)	13,34(4)	75,54(2)	gt
n=6	5,097(9)	4,443(7)	-0,0719(2)	127,85(9)	12,33(4)	-69,69(13)	gg
n=7	4,774(5)	4,468(8)	0,1665(3)	133,07(9)	12,84(3)	-60,10(12)	gg

Host B	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5,377(10)	4,299(5)	0,1554(3)	119,97(11)	15,08(4)	-75,08(11)	gg
n=2	4,913(7)	4,512(8)	0,0282(7)	133,08(18)	25,72(8)	67,84(12)	gt
n=3	4,869(5)	4,390(7)	-0,2190(4)	130,69(9)	7,25(2)	-68,73(12)	gg
n=4	5,190(9)	4,317(5)	0,0970(19)	126,03(9)	8,38(2)	-65,86(10)	gg
n=5	5,206(9)	4,351(7)	0,1858(4)	124,52(10)	26,04(7)	71,02(13)	gt
n=6	4,799(6)	4,489(8)	-0,2161(4)	133,26(9)	14,84(4)	-68,57(11)	gg
n=7	4,961(7)	4,351(6)	-0,0314(6)	130,99(9)	3,144(9)	-68,24(12)	gg

**Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Pip/β-CD**

Host A	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	5,1887(7)	4,3784(6)	-0,0464(7)	125,032(6)	13,656(3)	-61,444(10)	gg
n=2	4,9393(7)	4,3850(6)	-0,0061(9)	131,618(8)	7,992(2)	-62,495(8)	gg
n=3	4,9806(6)	4,3535(7)	0,0416(6)	128,537(8)	9,906(2)	-71,873(9)	gg
n=4	5,0607(7)	4,3741(5)	0,0026(4)	128,943(7)	9,981(2)	-65,507(10)	gg
n=5	5,1423(8)	4,2765(6)	-0,0657(1)	125,439(10)	8,628(2)	61,263(7)	gt
n=6	4,8951(6)	4,5475(7)	0,0508(8)	132,336(5)	1,813(4)	-63,052(10)	gg
n=7	5,0502(8)	4,2892(5)	0,0231(3)	127,988(10)	9,000(2)	65,766(8)	gt

Host B	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	5,0458(7)	4,4299(5)	-0,0354(5)	127,811(7)	7,882(2)	-61,855(9)	gg
n=2	5,0304(8)	4,3163(7)	0,0878(1)	129,032(9)	9,731(2)	-70,052(6)	gg
n=3	5,0563(6)	4,3896(6)	-0,0010(2)	127,534(5)	4,327(1)	-68,521(10)	gg
n=4	4,9805(8)	4,3852(6)	-0,0779(1)	130,376(10)	8,667(2)	-62,416(5)	gg
n=5	5,0874(7)	4,3552(6)	0,0152(2)	126,887(5)	11,287(2)	67,812(7)	gt
n=6	5,0393(7)	4,4101(6)	0,0959(1)	128,481(9)	7,610(2)	-66,944(8)	gg
n=7	4,9975(7)	4,2993(6)	-0,0846(1)	129,608(7)	10,217(2)	-65,807(9)	gg

**Πίνακας 7. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Pip/DM-β-CD**

Host	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	4,9886(10)	4,3465(8)	0,2228(3)	128,835(11)	9,878(2)	-71,754(9)	gg
n=2	5,0725(7)	4,4001(10)	-0,0931(1)	127,662(12)	8,976(1)	-66,799(12)	gg
n=3	5,0751(8)	4,3515(7)	-0,1333(2)	128,064(11)	23,696(4)	66,825(11)	gt
n=4	5,0228(11)	4,4199(7)	0,1058(1)	128,367(11)	13,722(3)	-62,826(13)	gg
n=5	4,9822(9)	4,3817(9)	0,1176(2)	130,104(10)	10,436(3)	-65,657(15)	gg
n=6	5,1202(7)	4,2895(8)	-0,1701(2)	126,026(12)	7,442(5)	-74,087(15)	gg
n=7	5,0010(10)	4,4381(6)	-0,0496(7)	129,831(10)	22,904(7)	-79,753(13)	gg

**Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Pip/TM-β-CD**

Host A	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	5,2909(3)	4,2564(3)	-0,2343(2)	118,311(1)	14,997(1)	-82,604(4) (A=0,7)	gg
						64,266(2) (B=0,3)	gt
n=2	5,2793(3)	4,3022(2)	0,5604(4)	120,715(4)	41,101(3)	-66,675(3)	gg
n=3	4,5768(3)	4,5422(3)	-0,0310(3)	137,944(3)	34,917(3)	75,550(1)	gt
n=4	4,9055(3)	4,3938(2)	-0,4772(3)	127,443(2)	10,068(9)	-66,193(4)	gg
n=5	5,3908(4)	4,2358(3)	0,1910(1)	120,663(4)	12,645(1)	74,553(2)	gt
n=6	5,0298(2)	4,4192(3)	0,4709(3)	123,452(9)	23,748(2)	-72,308(5)	gg
n=7	4,3512(3)	4,4074(3)	-0,4799(3)	142,250(3)	43,689(3)	55,213(3) (A=0,5)	gt
						-76,411(2) (B=0,5)	gg

Host B	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	5,3972(3)	4,2930(3)	0,4141(3)	114,350(7)	31,248(2)	-76,461(5)	gg
n=2	4,3799(3)	4,4316(3)	-0,5775(4)	139,595(3)	35,987(2)	0,861(7) (A=0,5)	gt
						-74,032(3) (B=0,5)	gg
n=3	4,7712(3)	4,2511(3)	-0,0952(7)	130,806(9)	25,883(2)	-80,836(3)	gg
n=4	5,4526(3)	4,1968(2)	0,5352(4)	114,659(4)	39,455(3)	81,589(4) (A=0,7)	gt
						-35,568(1) (B=0,3)	gg
n=5	4,8512(3)	4,4928(3)	-0,1265(4)	132,884(3)	27,665(2)	-60,231(3)	gg
n=6	4,6330(2)	4,5094(2)	-0,4244(3)	131,800(2)	6,936(6)	-63,744(5)	gg
n=7	5,1418(3)	4,2054(3)	0,2743(2)	126,381(4)	14,945(1)	-71,265(2)	gg



**Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Ara/TM-β-CD**

Host	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5,2440(7)	4,2780(7)	-0,4424(9)	118,197(2)	34,986(6)	75,416(10)	gt
						(A: 0,5)	
n=2	5,2843(10)	4,4383(6)	-0,2878(6)	122,090(12)	29,837(6)	-74,765(6)	gg
						(B: 0,5)	
n=3	4,6840(7)	4,5843(9)	-0,4443(9)	131,795(7)	16,456(4)	70,361(4)	gt
n=4	4,7651(8)	4,2248(6)	0,1735(3)	133,155(9)	5,591(1)	-66,013(12)	gg
n=5	5,3903(10)	4,1499(7)	-0,6419(12)	115,677(11)	32,752(7)	-62,714(9)	gg
n=6	4,8944(8)	4,4558(8)	0,1695(3)	127,586(2)	38,395(8)	43,551(10)	gt
						(A: 0,5)	
n=7	4,3377(8)	4,2561(8)	0,5847(11)	139,995(9)	29,003(7)	-41,673(3)	gg
						(B: 0,5)	
n=7	4,3377(8)	4,2561(8)	0,5847(11)	139,995(9)	29,003(7)	-80,157(9)	gg
						(A: 0,5)	
n=7	4,3377(8)	4,2561(8)	0,5847(11)	139,995(9)	29,003(7)	-78,324(9)	gg
						(B: 0,5)	

**Πίνακας 10. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Oleic/β-CD**

Host A	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,947(2)	4,429(2)	0,0109(7)	130,29(3)	4,973(4)	-66,98(4)	gg
n=2	4,995(2)	4,384(2)	0,0134(9)	129,45(3)	8,330(6)	-78,69(3)	gg
n=3	5,166(3)	4,256(2)	-0,0418(3)	125,82(3)	1,468(1)	-64,32(4)	gg
n=4	5,010(2)	4,504(3)	0,0290(2)	129,06(3)	7,913(6)	-58,00(4)	gg
n=5	4,910(2)	4,292(2)	0,0115(8)	131,31(3)	14,915(11)	-51,79(4)	gg
n=6	5,117(3)	4,375(1)	-0,0251(2)	126,61(3)	12,508(10)	-57,65(4)	gg
n=7	5,098(3)	4,348(2)	0,0022(2)	127,42(3)	10,558(9)	-57,92(3)	gg

Host B	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	5,003(2)	4,388(2)	-0,0025(2)	128,92(3)	8,490(7)	-77,92(3)	gg
n=2	5,157(3)	4,248(2)	0,0312(2)	126,19(3)	12,985(11)	-65,74(4)	gg
n=3	5,015(2)	4,500(3)	-0,0328(2)	128,94(3)	7,839(6)	-56,84(4)	gg
n=4	4,912(2)	4,311(2)	0,0014(9)	131,29(3)	14,481(11)	-61,50(4)	gg
n=5	5,120(3)	4,380(2)	0,0203(1)	126,45(3)	13,139(11)	-54,60(4)	gg
n=6	5,099(2)	4,319(2)	-0,0081(5)	127,41(3)	10,310(9)	-57,61(3)	gg
n=7	4,934(2)	4,438(2)	-0,0095(6)	130,76(3)	5,177(4)	-66,14(3)	gg

**Πίνακας 11. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Lin/β-CD**

Host	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,9285(7)	4,4715(8)	-0,0033(1)	131,013(10)	3,969(1)	-67,507(8)	gg
n=2	4,9806(6)	4,3407(6)	0,0536(2)	129,383(7)	10,583(4)	-63,280(11)	gg
n=3	5,1607(9)	4,3120(5)	-0,0398(1)	125,733(11)	12,472(4)	-63,493(9) (A: 0,7)	gg
						35,024(7) (B: 0,3)	gt
n=4	5,0172(6)	4,4307(8)	-0,0204(7)	129,181(6)	8,690(3)	-63,750(11)	gg
n=5	4,9275(6)	4,3512(5)	0,0406(1)	130,399(8)	10,027(4)	-66,750(12) (A: 0,7)	gg
						28,514(5) (B:0,3)	gt
n=6	5,0647(9)	4,3665(6)	0,0015(5)	127,981(9)	11,478(4)	-55,364(12) (A:0,6)	gg
						75,305(5) (B: 0,4)	gt
n=7	5,1297(7)	4,2856(6)	-0,0322(1)	126,238(4)	11,016(4)	61,287(12) (A: 0,5)	gt
						-52,670(9) (B: 0,5)	gt

**Πίνακας 12. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Tyr/DM-β-CD**

Host	D <sub>k</sub> (Å)	D (Å)	d (Å)	Φ <sub>n</sub> (°)	τ (°)	t (°)	C
n=1	4,8516(8)	4,5035(8)	0,0907(13)	133,267(3)	18,140(4)	-71,993(14)	gg
n=2	4,8682(12)	4,3846(7)	0,2051(3)	130,636(13)	7,781(2)	75,678(17)	gt
n=3	5,2325(8)	4,2666(11)	-0,1770(2)	124,895(8)	8,922(9)	-66,837(16) (A:0,6)	gg
						64,408(5) (B: 0,4)	gt
n=4	5,1674(9)	4,3838(6)	-0,1466(2)	124,824(9)	20,866(1)	-69,090(9)	gg
n=5	4,7085(11)	4,4962(9)	0,2638(4)	134,987(11)	15,591(2)	-66,592(6)	gg
n=6	5,0363(9)	4,2426(9)	0,0103(2)	128,516(6)	5,479(1)	-68,825(15)	gg
n=7	5,3382(10)	4,3441(9)	-0,2462(4)	120,982(16)	18,221(4)	-74,390(5) (A:0,8)	gg
						54,497(10) (B: 0,2)	gt

**Πίνακας 13. Χαρακτηριστικά διαμόρφωσης του host στο προϊόν εγκλεισμού Myrc/β-CD**

Host	$D_k$ (Å)	D (Å)	d (Å)	$\Phi_n$ (°)	$\tau$ (°)	t (°)	C
n=1	5,006(1)	4,378(1)	0,011(3)	128,93(1)	8,87(3)	-52,34(2) (A: 0,6)	gg
						54,48(1) (B: 0,4)	gt
n=2	5,122(2)	4,280(1)	-0,039(1)	126,62(2)	12,50(6)	-65,14(1)	gg
n=3	5,007(1)	4,460(2)	-0,029(7)	129,04(1)	7,83(3)	-57,94(2)	gg
n=4	4,942(1)	4,297(1)	0,005(2)	130,49(2)	13,00(5)	-76,06(2) (A: 0,5)	gg
						29,66(1) (B: 0,5)	gt
n=5	5,086(2)	4,397(1)	-0,015(4)	127,24(2)	11,88(5)	-56,88(2)	gg
n=6	5,083(2)	4,328(2)	-0,004(1)	127,40(9)	9,82(5)	-46,98(2) (A: 0,5)	gg
						-85,55(3) (B: 0,5)	gg
n=7	4,958(1)	4,412(2)	0,013(4)	130,25(2)	5,29(2)	-67,62(1)	gg

**$D_k$ :** αποστάσεις των ατόμων  $O_{4n}$  από το βαρύκεντρο K του επταγώνου τους

**D:** οι αποστάσεις μεταξύ των ατόμων  $O_{4n} \dots O_{4n+1}$

**d:** οι αποκλίσεις των ατόμων από μέσο επίπεδό τους

**$\Phi_n$ :** οι γωνίες  $O_{4n-1} \dots O_{4n} \dots O_{4n+1}$

**$\tau$ :** γωνίες κλίσης μεταξύ του επιπέδου των ατόμων  $O_{4n}$  και των μέσων επιπέδων των ατόμων

$O_{4n-1} \dots C_{1n} \dots C_{4n} \dots O_{4n}$

**t:** οι γωνίες στρέψης  $O_{5n} \dots C_{5n} \dots C_{6n} \dots O_{6n}$

**C:** η διαμόρφωση των πρωτοταγών υδροξυλίων