

Ionos és szubsztituálatlan ciklodextrinek komplexbépzése aminosavakkal és szervesetlen savak aromás származékjaival

Doktori értekezés

Sebestyén Zita

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Barczáné Dr. Buvári Ágnes egyetemi docens, C. Sc.

Hivatalos bírálók: Dr. Kőszeginé dr. Szalai Hilda főigazgató helyettes, PhD

Prof. Dr. Szökő Éva egyetemi tanár, pharm. habil., D. Sc.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Lemberkovics Éva egyetemi tanár, C. Sc.

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Török Ilona C. Sc.

Prof. Takácsné Dr. Novák Krisztina
egyetemi tanár, D. Sc.

Budapest
2011

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. A ciklodextrinek.....	6
2.1.1. A ciklodextrinek történetének áttekintése	6
2.1.2. A ciklodextrinek szerkezete.....	8
2.1.3. A ciklodextrin-származékok.....	11
2.1.4. A ciklodextrinek komplexképzése.....	14
2.1.5. A ciklodextrinek felhasználása.....	17
2.2. A vizsgált vendégmolekulák bemutatása.....	24
2.2.1. Szervetlen savak aromás származékai	24
2.2.2. Az α -aminosavak	27
3. CÉLKITŰZÉSEK	34
4. MÓDSZEREK	36
4.1. pH-potenciometria	36
4.2. UV-látható spektrofotometria	38
4.2.1. Vizsgálatok lúgos közegben	39
4.2.2. Vizsgálatok savas közegben	42
4.3. ^1H- és ^{13}C-NMR spektroszkópia.....	43
4.4. Kísérleti körülmények	44
5. EREDMÉNYEK	48
5.1. A szervetlen savak aromás származékaira vonatkozó eredmények	48
5.2. Az aminosavak β-CD- és QA-β-CD-komplexei	51
5.2.1. A spektrofotometria eredményei	51
5.2.2. A pH-potenciometria eredményei	54
5.2.3. Az NMR-spektroszkópia eredményei	57
6. AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE (MEGBESZÉLÉS).....	63
6.1. A szervetlen savak aromás származékainak β-ciklodextrin-komplexei.....	63
6.2. Az aminosavakra vonatkozó egyensúlyi vizsgálatok eredményei.....	64
6.2.1. Az aminosavak komplexképzése β -ciklodextrinnel	64
6.2.2. A β -CD és a QA- β -CD összehasonlítása.....	66
6.2.3. Az optikai izomerek összehasonlítása	67
6.3. Az NMR spektrumokból nyerhető szerkezeti információk	68
6.3.1. Az L-fenilalanin – β -CD komplex.....	68

6.3.2. Az L-fenilalanin – QA-β-CD komplex	71
6.3.3. Az L-tirozin ciklodextrin-komplexei.....	73
7. KÖVETKEZTETÉSEK.....	74
ÖSSZEFOGLALÁS	76
SUMMARY	77
IRODALOMJEGYZÉK	78
SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE.....	89
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	90

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

2-HP- β -CD – 2-hidroxipropil- β -ciklodextrin

α -CD – α -ciklodextrin

ALL – akut limfoid leukémia

β -CD – β -ciklodextrin

β -CD-GTAC – glicidil-trimetilammónium- β -ciklodextrin

γ -CD – γ -ciklodextrin

CA – szénsav-anhidráz

CD – ciklodextrin

CM- β -CD – karboximetil- β -ciklodextrin

CTG – ciklodextrin glükózil-transzferáz

DIMEB – dimetil- β -ciklodextrin

DS – átlagos szubsztitúciós fok

GTA- β -CD – glicidil-trimetilammónium- β -ciklodextrin

QA- β -CD – (2-hidroxi-3-N,N,N-trimetilammónium)propil- β -ciklodextrin-klorid

HTAP- β -CD – 2-hidroxi-3-trimetilammónium-propil- β -ciklodextrin

HQA – hidroxipropil-kvaterner-ammónium

HQA- β -CD – 2-hidroxi-kvaterner-ammónium- β -ciklodextrin

MS – moláris szubsztitúciós fok

QA – kvaterner ammónium

QAP – kvaterner ammónium-propil

RAMEB – random metilált β -ciklodextrin

SBE- β -CD – szulfobutil-éter- β -ciklodextrin

TMA- β -CD – trimetil-ammónium- β -ciklodextrin

TRIMEB – trimetil- β -ciklodextrin

1. BEVEZETÉS

A zárványkomplexek két vagy több molekulából felépülő szupramolekuláris képződmények, melyekben a gazdamolekula részben vagy teljes egészében, kovalens kötés nélkül foglalja magában a vendégmolekulát. A komplexek kialakulása szempontjából a vendégmolekulák mérete és alakja meghatározó, hogy elhelyezkedése megfelelő legyen a gazdamolekula(-ák) üregében. A stabilizáláshoz hozzájárulnak a van der Waals erők, a hidrofób kölcsönhatás és a hidrogénkötések is. Ennek egy speciális esete a ciklodextrinekkel történő komplexképzés.

A zárványkomplexek felhasználása igen széleskörű, mivel a vendégmolekulák fizikai és kémiai tulajdonságai alapvetően megváltozhatnak a komplexképződés hatására. Például a gyógyszeriparban is jelentős a ciklodextrin szerepe, hiszen a hatóanyagok kémiai minőségének megváltoztatása nélkül növelhető a vegyületek oldhatósága, stabilitása, és a biológiai membránok átjárhatósága is. Ez szabadalmi szempontból is új lehetőségeket hozott, a szupergenerikus gyógyszerek megjelenésével.

A ma forgalomban levő hatóanyagok nagy része rossz vízoldhatósággal rendelkezik, de savas vagy bázikus csoportjain keresztül ionizálható, illetve protonáltsági állapota alkalmazás közben is változik a közeg kémhatásának függvényében. Ezért komplexképződésük szempontjából a töltések jelenlétének szerepe fontos tényező.

Az enantiomer-tiszta vegyületek előállítása nemcsak a gyógyszeriparban követelmény, az optikai tisztaság ellenőrzése a műszeres analitika egyik nagy kihívása. Mivel a ciklodextrin többpontos kölcsönhatásokon keresztül képesek különbséget tenni egyes királis vendégmolekulák optikai izomerei között, újabb származékaik szintézise az analitikai felhasználásuk lehetőségét is kibővíti.

Az ipari kutatásokban az újabb ciklodextrin-származékok előállítása és vizsgálata folyamatos, részben elválasztástechnikai, részben gyógyászati felhasználásuk érdekében. Az utóbbi időkben a szubsztituensek köre az ionizálható és permanens töltéseket hordozó csoportokkal is kibővült, így az elektrosztatikus kölcsönhatások szerepe is előtérbe került a zárványképződésben.

A komplexképződés szempontjából a vendégmolekulák ionizáltsági állapota is fontos, a különböző formák komplexeinek stabilitása alapvetően különbözhet. A komplexálódás mértéke vizes közegben a kémhatás függvényében változik.

Ezek alapján a vendégmolekulák különböző protonáltságú állapotaival képzett komplexek összehasonlítása illetve az ionos töltést hordozó ciklodextrinek komplexképző képességeinek vizsgálata indokolt, hogy a töltések szerepét tisztázhassuk a komplexképződésben.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A ciklodextrinek

2.1.1. A ciklodextrinek történetének áttekintése

A ciklodextrinek már több mint 120 éve ismert és vizsgált vegyületek. Az első publikáció a témában Villiers nevéhez fűződik [1], aki megfigyelte, hogy a burgonya rothadása során egy kristályos anyag keletkezik. A terméket cellulozinnak nevezte el, mivel a cellulózhoz hasonlóan savas közegben nem hidrolizál, és nem redukáló tulajdonságú. Meghatározta, hogy összetétele a következő képlettel írható le: $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ és valószínűleg két vegyület keveréke.

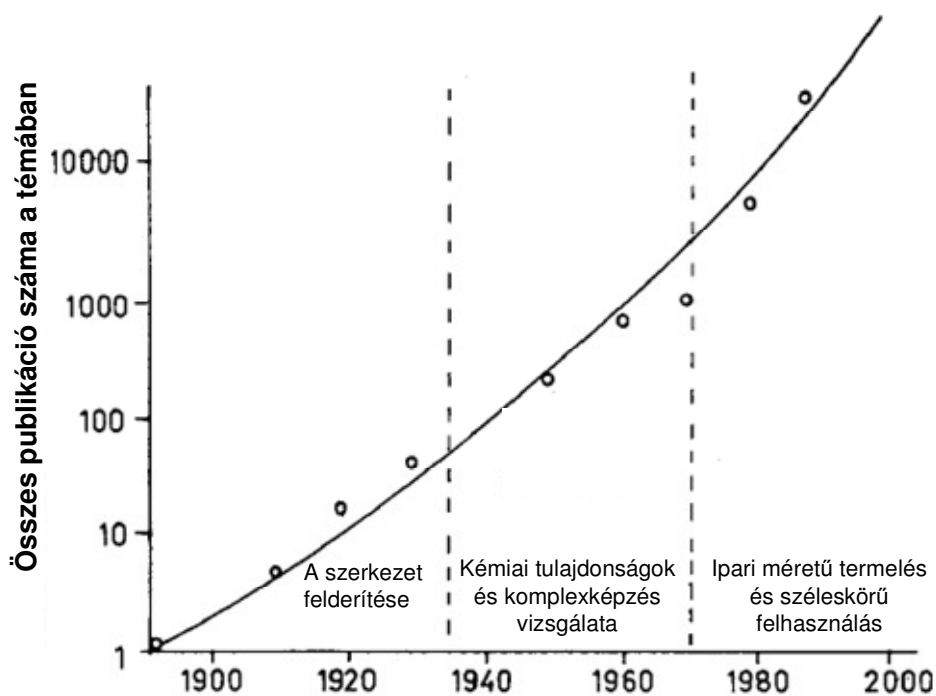
1903-ban Franz Schardinger, osztrák mikrobiológus hőrezisztens baktériumok vizsgálata közben hasonló megfigyeléseket tett. Izolálta a kristályos anyagot termelő organizmust (*Bacillus macerans*) [2], és a cellulozinokat jóddal való eltérő színreakciójuk alapján különböztette meg [3]. Ezeket a vegyületeket később az ő tiszteletére Schardinger-dextrineknek is nevezték.

Két évtizeddel később Freudenberg és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy a Schardinger-dextrinek maltóz-egységekből állnak, melyek $\alpha(1-4)$ -glikozidos kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz [4], és a molekuláknak ciklikus szerkezetet feltételeztek [5]. Az ő nevékhöz fűződik a ma γ -ciklodextrinnek nevezett vegyület felfedezése és szerkezetének tisztázása is [6].

Az 1950-es években két kutatócsoport egymással párhuzamosan tisztázta a vegyületcsalád fizikai és kémiai tulajdonságait. French nevéhez fűződik az első megjelent monográfia a témában [7], és ő volt az, aki munkatársaival bizonyította a nagyobb tagszámú ciklodextrinek létezését [8], melyre már korábbi eredmények is utaltak. Ezen 9-12 glükózegységből álló ciklodextrinek gyakorlati szempontból kevésbé jelentősek viszonylag rossz zárványképző képességük miatt.

Cramer munkacsoportja főleg a vegyületek komplexképző tulajdonságaira koncentrált. Az eredményeik alapján 1953-ban benyújtott szabadalmukban [9] már

bizonyítják azokat a hatásokat, melyeken a ciklodextrinek főbb gyógyszer technológiai alkalmazásai ma is alapulnak, például a rosszul oldható hatóanyagok oldhatóságának növelését, a védelmet a levegő oxigéntartalmával szemben vagy az illékony hatóanyagok párolgási sebességének csökkentését.



1. ábra: A ciklodextrin-technológia fejlődésének szakaszai a témában megjelent publikációk tükrében [10]

Az 1960-as évek végére az a kép alakult ki a ciklodextrinekről, miszerint sok lehetőséget rejtenek magukban, de csak kis mennyiségben állnak rendelkezésre és nagy az előállítási költségük. Ráadásul olyan állatkísérletes eredmények is napvilágot láttak, amelyek alapján ezek a vegyületek a nagy toxicitású kategóriába kerültek, így emberi felhasználásuk lehetősége korlátozottá vált. Szerencsére az 1980-as évek elejére nemcsak a költséghatékony, üzemi méretű gyártástechnológia került kidolgozásra, hanem a toxicitásukról szóló tévhiteket is sikerült eloszlatni illetve tisztázni [10]. Ennek eredményeképpen a témában megjelenő közlemények száma exponenciális emelkedésnek indult (**1. ábra**), ma már több mint negyvenkétezer publikáció - beleértve a szabadalmakat is - érhető el ezzel kapcsolatban [11]. Nehéz olyan kémiai altudományt vagy vegyipari

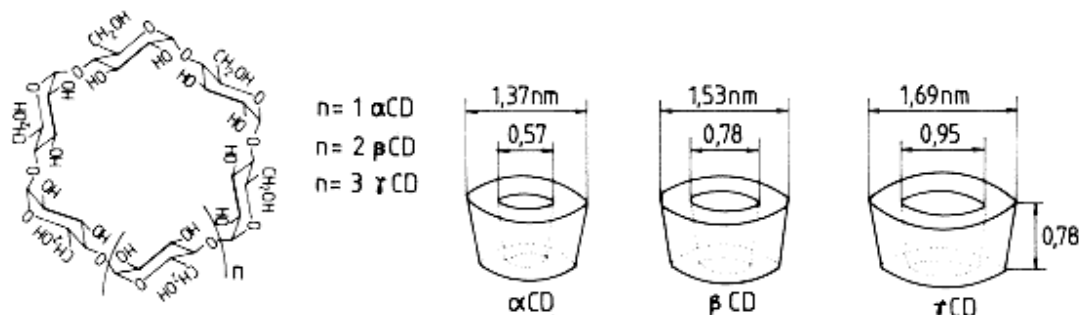
termékcsoportot találni, melyben a ciklodextrinek ne szereplnének. A nanotechnológia előretörésével párhuzamosan egyre nagyobb az igény a ciklodextrinek nyújtotta lehetőségek kiaknázására.

2.1.2. A ciklodextrinek szerkezete

A ciklodextrinek tehát gyűrűs szerkezetű oligoszacharidok. A glükopiranoz egységek síkjai a gyűrű üregének a tengelyével közel párhuzamosan helyezkednek el. A primer hidroxil-csoportok a gyűrű egyik peremén csoportosulnak, míg a szekunderek a másikon. A szekunder hidroxilok között hidrogénhidak alakulnak ki, ezzel szinte kimerevítve a peremet, a másik oldalon viszont a primer hidroxil-csoportok szabad rotációja miatt csökken az üregátmérő. Ezzel magyarázható a gyűrű alakja, melyet dézsához, amerikai fánkhoz vagy tölcsérhez szokás hasonlítani. A különböző tagszámú gyűrűk mélysége megegyezik (0,78 nm), de az átmérő jelentősen változik, akár a perem átmérőjét, akár az üregátmérőt tekintjük (**1. táblázat** és **2. ábra**). Nagyrészt ezzel tudjuk magyarázni eltérő komplexképző tulajdonságaikat is [12].

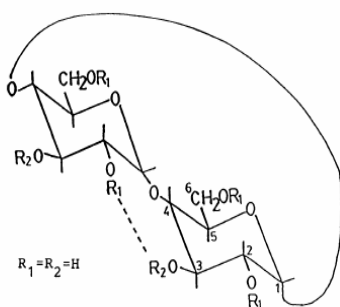
1. táblázat: Különböző tagszámú ciklodextrinek főbb jellemzői [13]

	α -CD	β -CD	γ -CD	δ -CD	ϵ -CD
Glükózegységek száma	6	7	8	9	10
Relatív molekulatömeg	972	1134	1296	1458	1620
A henger magassága (nm)	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78
A perem átmérője (nm)	1,37	1,53	1,69	1,85	1,96
Közepes üregátmérő (nm)	0,57	0,78	0,95	1,10	1,21
Fajlagos forgatóképesség	+150,5°	+162,5°	+177,4°	+191°	+197°
Oldhatóság vízben, 20 °C-on (g/100ml)	10,1	1,60	23,2	2,7	-
Trijodid-komplex színe vizes oldatban	kék	barna	sárga	színtelen	színtelen



2. ábra: Az α -, β - és γ -ciklodextrin szerkezete és molekuláris méretei [12]

A hidrogénkötések szerepéről a ciklodextringyűrűk térszerkezetének kialakításában az egyik első megállapítást dimetil-szulfoxid- d_6 -tal készült ciklodextrin-oldatok $^1\text{H-NMR}$ -spektrumai alapján tették meg [14]. A szekunder hidroxilok protonjeleihez tartozó kémiai eltolódások hőmérsékletfüggéséből arra lehet következtetni, hogy a 2-es és 3-as hidroxilcsoportok intramolekuláris hidrogénkötésekben vesznek részt (**3. ábra**), másodlagosan is összekötve a szomszédos glükózegységeket. Más protonjeleknél hőmérsékletfüggést nem tapasztaltak. Ezen kötések erőssége a gyűrűtagszám növekedésével csökken [15], részben ezzel magyarázható a γ -ciklodextrin nagyobb flexibilitása is.

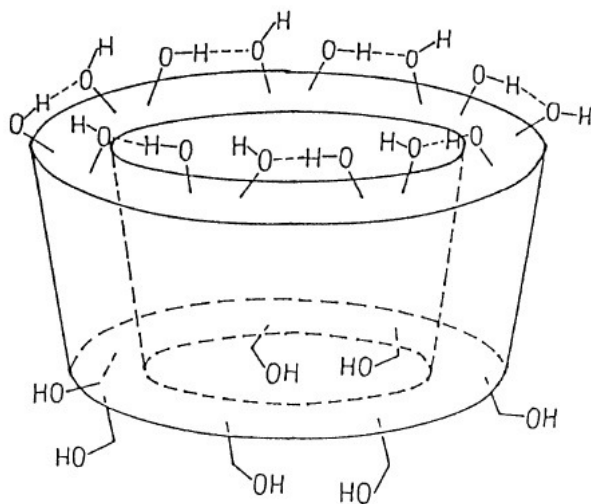


3. ábra: A szomszédos glükózegységek között kialakuló hidrogénkötés a ciklodextrinokban [15]

Saenger és munkatársai röntgen- és neutron-diffrakciós vizsgálatai is alátámasztották ezt a feltételezést, de emellett alapvető megállapításokat tettek a hidrogénkötések típusaira vonatkozóan is [16-18]. Míg az α -ciklodextrinnél jól definiálható, hogy melyik hidroxilcsoport szerepel hidrogénakceptorként vagy -donorként a kötésben (Onda és munkatársai

szerint a 3-as hidroxil-csoport a protondonor [15]), a β -ciklodextrinnél a hidrogénkötések egy részénél a protondonor és -akceptor szerepek pillanatszerűen cserélődnek a 2-es és 3-as hidroxil-csoport között [17]. A két állapot energetikailag hasonló, a közöttük kialakuló egyensúly az entrópia szempontjából kedvező. Az így létrejövő úgynevezett „flip-flop” kötések is hozzájárulnak a β -ciklodextrin-gyűrű merevségéhez [18], ugyanakkor további hidrogénkötésekben való részvételre is lehetőséget biztosítanak.

A ciklodextrinek vízdoldhatósága nem egy irányba változik a glükózegységek számának növekedésével (**1. táblázat**). Legkevésbé a β -ciklodextrin oldódik vízben, mivel a héttagú gyűrűben az intramolekuláris hidrogénkötések száma a szomszédos glükózegységek szekunder hidroxil-csoportjai között maximális, egy úgynevezett másodlagos öv jön létre a molekulán belül, ezzel tovább stabilizálva a gyűrű szerkezetét, és tovább csökkentve a vízmolekulákkal való kölcsönhatás lehetőségét (**4. ábra**).



4. ábra: A β -ciklodextrin-gyűrű vázlatos ábrázolása [19]

Az α -ciklodextrinben ez a másodlagos öv nem alakulhat ki, mivel az egyik glükózegység torzult helyzetben van, és így nem jöhet létre a maximális számú hidrogénkötés. A γ -ciklodextrin jobb vízdoldhatósága a gyengébb intramolekuláris hidrogénkötésekkel magyarázható [10,15]. Az oldhatóságban valószínűleg a gyűrűk szimmetriaviszonyai is szerepet játszanak. A páratlan gyűrűtagszámú ciklodextrinek

oldódnak legkevésbé vízben: a kilenc glükózegységből álló δ -ciklodextrin maximális koncentrációja vízben a β -ciklodextrinéhez hasonlóan kicsi (**1. táblázat**).

Az üreg belseje felé irányulnak nemkötő elektronpárjaikkal a glikozidos kötésben résztvevő oxigénatomok, az üreg „fala” ezen kívül szén- illetve hidrogénatomokból áll, ezért kevésbé hidrofil, mint a peremi részek. A glikozidos oxigének ugyanakkor nagy elektronsűrűséget eredményeznek, és Lewis-bázis karaktert kölcsönöznek az üreg belsejének [10]. A gyűrű külső és belső felszínének eltérő tulajdonságai ruházzák fel a vegyületet azokkal a különleges képességekkel, amelyeken széleskörű és változatos felhasználásuk alapszik [12].

2.1.3. A ciklodextrin-származékok

A ciklodextrin gyűrű paraméterei mind horizontálisan, mind vertikálisan változhatnak [20]. A horizontális változtatás lehetősége eléggé korlátozott, hiszen a gyűrűtagszám a keményítő hidrolízise során eldől a ciklodextrin glükozil-transzferáz (CTG) enzimek hatására. A vertikális módosításra ezzel szemben annál több lehetőség van: a peremi hidroxil-csoportok szubsztitúciójával az üreg mélysége megnövelhető, a gyűrű nagyobb vendégmolekulák befogadására válik képessé, illetve a származékképzés a komplexstabilitás változását eredményezheti. A szubsztitúció másik előnye lehet, hogy megbontja a hidroxil-csoportok között kialakult hidrogénhidak zárt rendszerét, ezzel megnövelve a vízdoldhatóságot - főleg a β -ciklodextrin esetében -, még akkor is, ha a szubsztituens kevésbé hidrofil.

A ciklodextrinek szerkezetéből adódóan a gyűrűkben glükózegységenként három olyan hidroxil-csoport található, amelyen keresztül szubsztituens kapcsolhatunk hozzájuk. Így a gyűrűtagszám növekedésével a szubsztituálható csoportok száma is egyre nagyobb. A ciklodextrinek alkoholos csoportjainak reaktivitása nem egyforma. A legkönnyebben a 2-es hidroxil-csoport deprotonálható (pK_A : α -CD: 12,332; β -CD: 12,202; γ -CD: 12,081 [10]), majd az aciditási sorban a 3-as és a 6-os következik. Ez utóbbi két csoport viszont nukleofilabb a 2-esnél. Összességében elmondható, hogy a primer alkoholos csoport a legreaktívabb, a szekunder hidroxil-csoportok közül pedig a 2-es szubsztituálható

könnyebben. Az, hogy az adott esetben mely csoportok lépnek reakcióba, erősen függ a körülményektől.

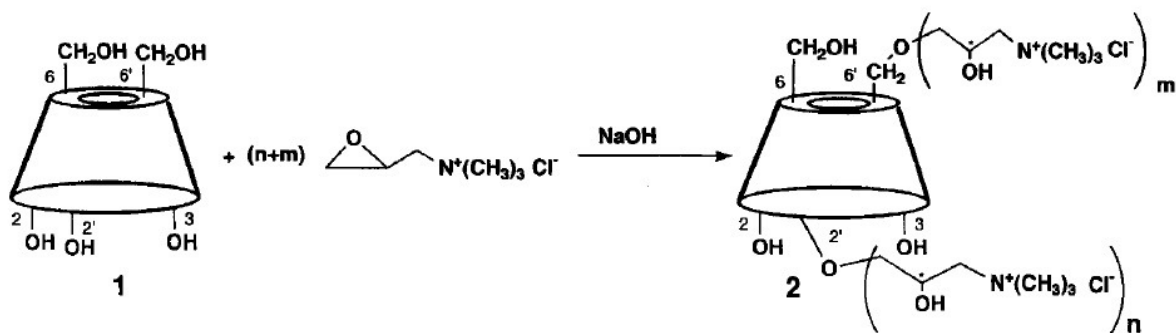
A fentiek miatt a végtermék legtöbbször nem izomertiszta, hiszen az irányított szubsztitúció nem minden esetben megoldható. A származékképző reakció eredménye gyakran konstitúciós izomerek vagy különböző szubsztitúciós fokú származékok keveréke lesz. A terméket ezekben az esetekben az átlagos szubsztitúciós fok (DS = degree of substitution) megadásával lehet a legjobban jellemezni, melynek értéke definíciótól függően az egy glükózegységre vagy egy ciklodextringyűrűre átlagosan jutó szubsztituensek számát adja meg. Előbbi esetben a DS értéke 0 és 3 között változhat. Ha a szubsztituens is tartalmaz olyan hidroxicsoportot, amely tovább szubsztituálható, a moláris szubsztitúciós fokot (MS) kell megállapítanunk, melynek értéke így meghaladhatja a 3-at [21].

Az 1990-es évek végére a publikált ciklodextrin-származékok száma meghaladta az 1500-at [21], a szubsztituensek köre igen széles. Az észterképződéssel előállított származékok között szervetlen és szerves savakkal alkotott vegyületeket is találhatunk, legjelentősebb képviselőik a szulfatált illetve acetilezett ciklodextrinek. Az éter típusú származékok közé alkilezett, hidroxil- vagy karboxi-alkilezett illetve szililezett vegyületek tartoznak. Mind a különböző mértékben metilezett, mind a hidroxipropil-származékok nagy gyakorlati jelentőséggel bírnak. A hidroxipropil- β -ciklodextrin például azon kevés származékok egyike, melynek ártalmatlansága parenterális adagolás esetén is bizonyított [10]. A harmadik csoportot a dezoxiciklodextrinek alkotják, ide soroljuk például a halogénezett és az aminoszármazékokat.

A származék vízdoldhatósága és komplexképző tulajdonságai miatt is fontos kérdés, hogy a molekula hordoz-e töltéseket. A nagy többséget alkotó semleges ciklodextrin-származékok mellett ismerünk olyanokat is, melyeknek szubsztituensei gyenge savas vagy bázikus tulajdonságot mutatnak, és megfelelő körülmények között ionizálhatóak. Ide tartoznak például a karboxi-alkilezett, vagy a primer aminocsoportot hordozó ciklodextrinek. Ezenkívül rendelkezésünkre áll néhány permanens töltéssel rendelkező vegyület is: itt a szulfoalkiléter-származékokat és a kvaterner ammónium-ciklodextrineket kell megemlítenünk.

A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin (QA- β -CD)

A (2-hidroxi-3-N,N,N-trimetilammónium)propil- β -ciklodextrin-klorid (QA- β -CD) szintézisét Parmerter és munkatársai írták le egy szabadalomban [22]: a 2,3-epoxi-propil-trimetilammónium-klorid lúgos közegben reagál a β -ciklodextrinnel (5. ábra).



5. ábra: A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin szintézise [23]

A szubsztituensek elhelyezkedése és eloszlása a lehetséges helyek között, illetve az átlagos szubsztitúciós fok a reakció körülményeitől függően különböző lehet a termékben [24].

Az átlagos szubsztitúciós fok meghatározására több módszer is rendelkezésünkre áll: a Kjeldahl-féle nitrogéntartalom-meghatározás, polielektrolit-titrálás (régőbbi nevén "kolloid-titrálás") [25], vagy $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópia [26,27]. Ez utóbbi módszer a legelterjedtebb, és azon alapul, hogy a 1-es helyzetű hidrogén jelének integrálértéke összehasonlítható a szubsztituenstől származó hidrogénjelek integráljával.

Wilke és Mischnick egy ennél összetettebb, de több információt adó módszert dolgozott ki: egy kémiai átalakítás után kapott semleges termék összetételét vizsgálta tömegspektrometriával kapcsolt gázkromatográfiás módszerrel [28]. Az átlagos szubsztitúciós fok meghatározására egyéb tömegspektrometriás módszereket is lehet alkalmazni [29,30], illetve kapilláris elektroforézissel is meghatározható ez az érték, nemcsak tömegspektrometriás detektálással [31], hanem indirekt UV-spektrofotometria segítségével is [32].

Az erről a származékról szóló publikációkban sajnos az átlagos szubsztitúciós fok nincs mindig egyértelműen feltüntetve. Ezenkívül a különböző körülmények között

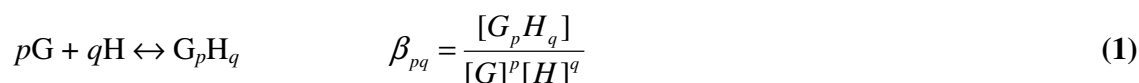
előállított termékekre vonatkozó eredményeket nehéz összehasonlítani egymással az eltérő szubsztitúciós fok és szubsztituenseloszlás miatt. A helyzetet tovább nehezíti, hogy a származék nomenklatúrája nem egzakt. Az irodalomban ugyanazt a származékot különböző elnevezésekkel említik, és más rövidítéseket használnak a jelölésükre. A kvaterner ammónium (QA-) csoport egyes nevekben részletezve szerepel - "2-hidroxi-3-trimetilammónium-propil" (HTAP- β -CD) [33,34] -, illetve a rövidítések kombinációjára (HQA- vagy QAP-) is van példa [35]. Máshol egyszerűen csak trimetil-ammónium csoportként említik (TMA- β -CD) [29], ami azért félrevezető, mert így összekeverhető a dezoxi-trimetil-ammónium-származék általánosan elfogadott jelölésével. Ugyanaz a termék egy másik megközelítéssel glicidil-trimetilammónium- β -ciklodextrinnek is nevezhető (GTA- β -CD vagy β -CD-GTAC) [26,27].

2.1.4. A ciklodextrinek komplexképzése

A ciklodextrinek legfontosabb tulajdonsága komplexképző képességük szerves és szervetlen vegyületek hosszú sorával. A gyűrű hidrofób ürege a gyűrűtagszámtól függően különböző méretű molekulákat vagy molekularészleteket képes befogadni, melyek szintén hidrofób tulajdonságúak. A hidrofilebb, esetleg töltéssel is rendelkező molekularészletek az üregeken kívül maradnak, általában a szélesebb, szekunder hidroxil-csoportok által kialakított perem közelében [36].

Az úgynevezett zárványkomplex keletkezése maximális illeszkedés esetén a legkedvezőbb, a gazda- és a vendégmolekula szterikus tulajdonságai a döntőek. A legtöbb esetben helyesebb indukált illeszkedésről beszélni, a ciklodextringyűrű ugyanis gyakran konformáció-változáson megy keresztül a komplexképződés során. A kialakult szupramolekuláris rendszert másodlagos kötőerők stabilizálják [37].

A zárványkomplex képződése oldatfázisban egyensúlyi folyamat:



melyet a megfelelő komplexstabilitási állandóval jellemezhetünk (β_{pq}). Ez utóbbi érték a komponensek egyensúlyi koncentrációjának (aktivitásának) ismeretében kiszámítható. Az (1) egyenletben p és q a komponensek sztöchiometriai mennyiségét jelöli, [G] ("guest") a vendég-, [H] ("host") a gazdamolekulák egyensúlyi koncentrációját helyettesíti.

A komplexképződés termodinamikai szempontból legfontosabb momentumai a következők [38]:

- A vendégmolekula hidrofób része behatol a gyűrű belsejébe.
- Közben a vendégmolekula részben vagy teljesen elveszti a hidrátburkot. Ez a lépés termodinamikailag annál kedvezőbb, minél inkább hidrofób a molekula.
- A szabad gazdamolekula sem "üres". Az üreget szabad állapotban kitöltő vízmolekulák egy részének is távoznia kell a zárványképződéssel egyidőben.
- A kiszabadult vízmolekulák másodlagos kötéseket alakítanak ki a többi oldószermolekulával.
- A ciklodextrin gyűrűjének konformációja az indukált illeszkedés miatt jelentősen megváltozik.
- A gazda- és a vendégmolekula között másodlagos kötőerők jönnek létre.

A szabadentalpia-változást a folyamatot kísérő entalpia- és entrópiaváltozások eredője adja. Az entrópiát az előbbi lépések alapján két ellentétes előjelű változás befolyásolja: az oldószermolekulák rendezetlensége nő, míg a vendégmolekula translációs és rotációs szabadsági foka csökken. Nemcsak ezek az ellentétes hatások egyenlíthetik ki egymást, az entalpia – entrópia viszonyában is gyakori a kompenzáció [37], összességében csekély szabadentalpia-változást eredményezve.

A zárványkomplexben kialakuló másodlagos kötőerők közti dominancia-viszonyokról megoszlanak a vélemények. Általában a vendég és a gazda között fellépő hidrofób kölcsönhatást tekintik a meghatározónak, melyre már önmagában az is bizonyíték, hogy a vendégmolekula legkevésbé hidrofil része záródik be a gyűrűbe. Ramusino és Pichini egy érdekes kísérlettel támasztották alá a hidrofób kölcsönhatás jelentőségét: a modell vendégmolekula tautomer formái között fennálló egyensúly a kevésbé hidrofil tautomer képződése felé tolódik el, ha a rendszer ciklodextrint is tartalmaz [39].

A van der Waals-féle kötőerők is jelentős szerepet játszanak a zárványkomplexek képződésében. A moláris refrakció és a komplexstabilitás között viszonylag jó korrelációt találhatunk, tehát a diszperziós erők is jelentősen hozzájárulnak a folyamathoz [40]. A ciklodextrin-gyűrű nagy dipólusmomentumának köszönhetően mind dipól – dipól, mind dipól – indukált dipól kölcsönhatások létrejöhetnek a gazda- és a vendégmolekula között [37].

A ciklodextrin-molekulák nemcsak intra-, hanem intermolekuláris hidrogénkötések kialakítására is alkalmasak [40]. A 6-os hidroxil-csoport túl flexibilis a C5–C6 kötés körüli szabad rotáció miatt, ezért a hidrogénkötések kialakulásának kisebb a valószínűsége. A viszonylag merevebb 2-es és 3-as hidroxilok viszont alkalmasak a hidrogénhidakban való részvételre, versengenek a vendégmolekula kötőhelyeiért az oldószermolekulákkal. Egyes esetekben az üreg falát alkotó hidrogének is kölcsönhatásba léphetnek a vendégmolekulák protonakceptor csoportjaival, bár ezek jóval kisebb energiájúak a hagyományos hidrogénkötésekhez viszonyítva [37].

A szubsztituálatlan ciklodextrinek esetében az elektrosztatikus kölcsönhatás hozzájárulása nem jelentős a zárványkomplex képződéséhez, bár a gyűrű polaritása miatt ion – dipól kölcsönhatások kialakulhatnak. A vendég töltésszámának növekedésével azonban nem nő a komplex stabilitása a megnövekedett vízdoldhatóság miatt [37]. A 4-nitrofenol viselkedése nem követi ezt a trendet, az anion α -ciklodextrinnel képzett komplexének stabilitása egy nagyságrenddel nagyobb a semleges molekuláénál. Ennek egyik lehetséges magyarázata a töltésátviteli kölcsönhatás, melyben a vendégmolekula viselkedik elektrondonorként [41]. Mivel sem az orto-, sem a meta-izomer nem mutatja ezt a jelenséget, valószínűbb magyarázat a para-szubsztitúció esetében, hogy ionos formában a kiterjedt delokalizáció miatt megváltozik a molekula elektronsűrűség-eloszlása, nő a polarizálhatósága, és ezzel együtt a diszperziós kölcsönhatás is, ami növeli a komplexstabilitást [42].

A származékképzés jelentősen megváltoztathatja a ciklodextrinek komplexképző tulajdonságait is. A szubsztituensek a gyűrű falának „meghosszabbításaként” megnövelhetik az üreg mélységét, de egyidejűleg rotációs szabadságuk miatt szűkíthetik annak „bejáratát”, főleg nagyobb szubsztituensek és nagyobb szubsztitúciós fok esetén. A

hidroxil-csoportok a kémiai átalakítás miatt kilépnek a hidrogénkötések rendszeréből, a gyűrű másodlagos öve felbomlik, és megnő a flexibilitása. Az így felszabaduló hidroxil-csoportok illetve a szubsztituensek is kölcsönhatásba léphetnek a vendégmolekulával.

Másrészt az elmúlt évtizedekben szintetizált új ciklodextrin-származékok között ionizálható illetve állandó töltéssel rendelkező ciklodextrineket is találhatunk [43]. Ezekben az esetekben lehetőség nyílik a Coulomb-féle kölcsönhatás kialakulására is. Ennek előnyei nemcsak a komplexstabilitásban jelentkezhetnek, hanem a királis vendégmolekulákkal szemben mutatott enantioszelektivitásban is: a hárompontos illeszkedési modellben az ellentétes töltések között fellépő vonzás is szerepet kaphat [44]. Ilyen esetekben a közeg ionerőssége is nagyobb mértékben befolyásolja a komplexképződést [45].

2.1.5. A ciklodextrinek felhasználása

A ciklodextrinek komplexképzési tulajdonságai és a komplexek különleges viselkedése szilárd- és oldatfázisban széleskörű felhasználásra nyújt lehetőséget. A vendégmolekulák kevésbé előnyös tulajdonságait maszkírozással tompítani lehet, illetve a zárványban megvédhető a környezet káros hatásaival szemben. A zárványképzéssel elérhető fontosabb hatások felsorolás szerűen:

- a vendégmolekulák reaktivitása módosul a zárványkomplexben;
- fényre- vagy oxigénre érzékeny anyagok stabilizálása;
- a komplexképzésben résztvevő molekulák katalitikus aktivitása megváltozik, a ciklodextrin mesterséges enzimként viselkedve gyorsíthat bizonyos reakcióutakat;
- kevésbé hidrofil vendégmolekulák vízoldhatósága növelhető;
- illékony anyagokat is szilárd vagy oldatfázisban lehet tartani a zárványkomplexben;
- gáz vagy folyékony halmazállapotú vegyületek molekuláris szinten diszpergálhatóak a ciklodextrin által kialakított szénhidrát-mátrixban, szilárd komplexvegyület képződése közben;
- a komplexvegyület diffúziós sebessége általában kisebb a szabad vendégmolekulához képest;
- kellemetlen ízek és szagok elfedésére;
- pigmentek, szíanyagok maszkírozására;

- a gazdamolekula megvédheti a vendéget a mikroorganizmusok degradáló hatásával szemben;

- a vendégmolekula spektrális tulajdonságai megváltoznak a bezáródás hatására [12,46].

A komplexképzés nyújtotta előnyöket és lehetőségeket számos iparág kihasználja: az élelmiszer-, gyógyszer- és vegyipari termékeken kívül ma már a mezőgazdaságban és a textiliparban is jelentős szerepe van a ciklodextrin tartalmú termékeknek. Ezenkívül a biotechnológiában és a környezetvédelemben is egyre nagyobb teret hódítanak a ciklodextrinekhez kapcsolódó technológiai megoldások. Ezzel kapcsolatban még mindig Szejtli József 1990-ben tett megállapítása érvényes, miszerint:

"Ennek a felsorolásnak nyilván van határa, de azt még nem ismerjük." [12]

Az ő kutatócsoportjához fűződik a ciklodextrin-származékok felhasználás szerinti csoportosítása is [21]. Ennek alapján megkülönböztethetünk:

- karrier-molekulákat, melyeknek stabilizáló és oldhatóságnövelő szerepe a legjelentősebb;
- enzimmodellezésre alkalmas vegyületeket;
- katalizátorokat;
- viszkozitásnövelő vagy a felületi feszültséget csökkentő adalékanyagokat;
- az elválasztástechnikában gyakorlati jelentőséggel bíró komplexáló ágenseket.

Ez utóbbi felhasználási területen kiemelt szerepük van a ciklodextrin-származékoknak, azon belül is az ionos töltést hordozó ciklodextrineknek. A rendelkezésre álló származékok szinte végtelen lehetőséget biztosítanak az elválasztási folyamatok optimalizálására.

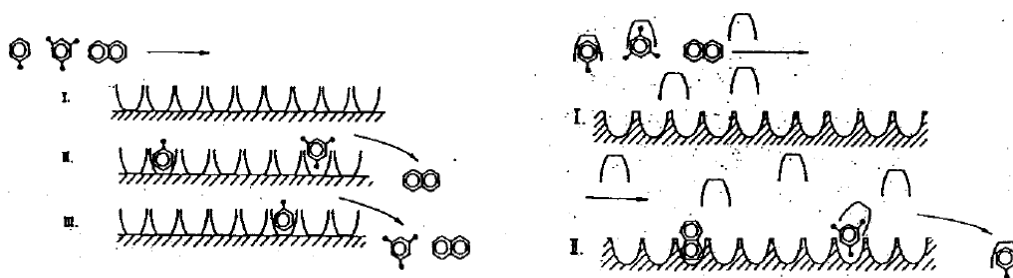
A ciklodextrinek felhasználása az elválasztástechnikában

A ciklodextrinek felhasználása mind a mikro-, mind a makroméretű elválasztási folyamatokban szóba kerülhet. Ez utóbbihoz sorolhatóak az ipari méretű extrakciós-, dialízis-, membránszeparációs- és flotációs eljárások, illetve a folyamatos áramlású elektroforézis. A másik végletet az 1 mg/óránál kisebb áteresztőképességű analitikai módszerek képviselik: a ciklodextrinek felhasználására számtalan példát találhatunk a

vékonyréteg-, gáz-, mikrofuratú vagy szuperkritikus folyadékkromatográfiás, kapilláris elektroforézis, mikrodialitikus vagy izotachoretikus rendszerekben is [47].

A ciklodextrinek kromatográfiás elválasztásra való alkalmassága a zárványkomplexek eltérő stabilitására vezethető vissza: relatíve kis eltérés a stabilitásban is eredményezheti az elválasztandó vegyületek teljes elválását a rendszer sokszorozó hatása, a gazda–vendég kölcsönhatás többszörös megismétlődése miatt.

A ciklodextrineket mind az álló-, mind a mozgó fázis tartalmazhatja (**6. ábra**). Előbbi esetben az állófázishoz kapcsolt ciklodextrinek a jobb komplexképzőket jobban visszatartják, így ezeknek a vegyületeknek a retenciós ideje megnő. Utóbbi esetben a stabilabb komplexet képező vendégmolekulák haladnak gyorsabban a lipofil állófázis mellett [48].



6. ábra: A ciklodextrinek funkciója kromatográfiás álló- illetve mozgó fázisban [48]

Az ionos ciklodextrineket is gyakran alkalmazzák királis szelektorként, főleg kapilláris elektroforézisben. Ha pozitív töltést hordozó gazdamolekulát választunk, jelentős előnyöket érhetünk el [29]:

- az anionos vendégmolekulákkal erősebb elektrosztatikus kölcsönhatás lép fel;
- ezen királis szelektor mobilitása egyszerűen befolyásolható a szubsztitúciós fok és mintázat alapján;
- a ciklodextrin-gyűrű régióspecifikus szubsztitúciója kationos csoportokkal megoldott;
- a komplexképzés és a királis felismerés átmeneti fémionok hozzáadásával tovább módosítható.

A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin egy további előnnyel rendelkezik a többi kationos ciklodextrin-származékhoz képest: pozitív töltéseinek jelenléte az alkalmazott puffer kémhatásától független, tehát szelektorként széles pH-tartományban alkalmazható [29].

A pozitív töltést hordozó ciklodextrinek könnyen kitapadhatnak a szilika-kapilláris falára, és ez az elektrooszmotikus áramlás megfordulását eredményezheti. Mindez elkerülhető bevont kapilláris alkalmazásával. Ebben az esetben csak nagyon kicsi elektrooszmotikus áramlás figyelhető meg az anód felé [29]. A kationos ciklodextrin és a kapilláris fala közötti kölcsönhatás akkor jelenthet előnyt, ha megakadályozza más kationos komponensek kitapadását [49].

A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin nemcsak anionos, hanem semleges vagy kationos vegyületek vizsgálatára is alkalmas. Töltés nélküli vizsgálandó molekulák esetén az enantiomerek közül a stabilabb komplexet képező enantiomer vándorlási sebessége lesz a nagyobb, hiszen a komplex pozitív össztöltése válik a migráció fő hajtóerejévé. Egyes enantiomerek esetében akár a migrációs sorrend is megfordulhat a kationos királis szelektor koncentráció-változásának hatására [29]. Kationos enantiomerek migrációs idejében is eltérést okozhat a kvaterner ammónium- β -ciklodextrin jelenléte a pufferban, bár azok szabad és komplexált formáinak mobilitása között nincs nagy különbség. Bevont nélküli kapilláris használata esetén az enantiomerek mozgékonyasága az elektrooszmotikus áramlással párhuzamosan csökken, így a hosszabb analízisidő miatt nő az elválasztás hatékonysága [50].

A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin nemvizes közegű kapilláris elektroforézisben is használható. Ebben az esetben az ionpárképzés válik a meghatározó kölcsönhatássá [51].

A királis szelektor elválasztási képességeit az átlagos szubsztitúciós fok is nagyban befolyásolja: a kisebb szubsztitúciós fokú kvaterner ammónium-származékot jobbnak találták a nagyobb szubsztitúciós fokú vagy a szubsztituátlan β -ciklodextrinnél [26]. A szelektor keverék jellege itt előnynek bizonyul, sőt, egyes esetekben direkt különböző származékok keverékét alkalmazzák a pufferban. A kombináció egy másik módja, ha az egyik származék a pufferban van, a másik pedig a kapilláris falához kötve található [34].

A ciklodextrinek gyógyszerészeti felhasználása

A zárványkomplex-képződés szinte minden következménye előnyös lehet gyógyszerészeti szempontból is:

- a kevésbé hidrofíli hatóanyagok vízoldhatósága komplexképződéssel növelhető;
- a biológiai membránok permeabilitása megnő ciklodextrinek jelenlétében;
- a hatóanyagok stabilitása a gyógyszerkészítményben nagyobb;
- a ható- és segédanyagok közötti kedvezőtlen kölcsönhatás megszüntethető;
- illékony hatóanyagok formulálása is megoldható;
- orális adagolás esetében a készítmény kellemetlen íze ciklodextrinokkal elfedhető;
- a hatóanyag a zárványban megvédhető a testnedvekben található enzimek degradációs hatásától;
- a hatóanyag irritáló hatása komplexálással csökkenthető a gyomor-bél-rendszerben;
- az előzetesen alkalmazott hatóanyag hatástalanítható intravénásan adagolt ciklodextrinnel (pl. BRIDION[®] 100 mg/ml oldatos injekció).

A komplexképződés együtt jár a hatóanyag oldhatósági egyensúlyának eltolódásával, ennek köszönhető a telített oldat teljes hatóanyag-koncentrációjának növekedése. Ha a komplex stabilitása nem túl nagy, a hatóanyag bármikor "mozgósítható" a komplexből (a szabad hatóanyag felszívódás miatti koncentráció-csökkenése a komplex felbomlásának irányába tolja el az egyensúlyt). A ciklodextrinek egyáltalán nem, vagy csak nagyon kis százalékban jutnak át a biológiai membránokon, és ugyanez igaz az általuk képzett komplexekre is. Emiatt a hatóanyagoknak még a felszívódás előtt fel kell szabadulniuk a komplexből. Ha nem is jutnak át a membránokon, egyes lipofil komponenseket kivonhatnak belőlük, ezzel megváltoztatva fluiditásukat és permeabilitásukat [52]. Egy másik elmélet szerint a membránpermeáció növekedését a ciklodextrinek "ioncsatorna"-szerű viselkedése okozhatja. Például a kvaterner ammónium-funkciót tartalmazó ciklodextrinek is alkalmasak lehetnek a membrán átjárhatóságának növelésére a bőrön, a szem szaruhártyáján vagy akár a tüdőhólyagocskák falán keresztül is [35].

A szájjal széteső illetve szájból felszívódó gyógyszerformák elterjedése miatt kiemelt jelentőségű a ciklodextrinek ízfedő képessége is. Ezen vegyületek édes íze nem elhanyagolható tényező, édességük a szacharózéhoz hasonlítható, de maszkírozó

hatásukban nem ez a meghatározó, hanem hogy a komplexált vegyületek nem képesek hatni az ízérzésért felelős idegvégződésekre. 1:1 arányú zárványképződést feltételezve a gazdamolekula 5-10-szeres mólféleslegét kell biztosítani az ízfedés érdekében, és egy ilyen mértékű ciklodextrin-többség a hatóanyag oldódását is jelentősen meggyorsítja. Ehhez általában nem szükséges a szilárd komplexvegyület előállítása, a komponensek fizikai keveréke is megfelel a célnak [53].

Ma már több mint negyven olyan gyógyszerkészítmény van a piacon, amely tartalmaz valamilyen ciklodextrin-származékot [54]. Az ilyen készítmények törzskönyvezésénél az egyik elsődleges szempont az alkalmazott új segédanyag toxicitása.

A ciklodextrinekkal kapcsolatban kezdetben sok tévhit látott napvilágot. French monográfiájában publikálta a ciklodextrinek toxicitására vonatkozó eredményeit, melyek aztán hosszú évekig, évtizedekig megakadályozták a vegyületcsalád gyógyszerészeti alkalmazását [7]. A mérgezést azonban valószínűleg nem a ciklodextrin, hanem az előállítás során a kicsapásához használt toluol maradványa váltotta ki.

A hibás teóriát több mint húsz évvel később sikerült csak meggyőzően megcáfolni [55]: az újabb vizsgálatokban a ciklodextrinek keveréke semmilyen patológiai elváltozást nem okozott a vizsgálati állatokon, emellett sem embriotoxikus, sem teratogén hatásokat nem tapasztaltak.

A metilezett ciklodextrinek felhasználása korlátozott a gyógyszerészeti készítményekben, mivel nagy a membránpermeációs képességük. A többi ciklodextrin-származék viszont csak elenyésző mennyiségben képes átjutni a biológiai membránokon, így a legtöbb adagolási formában nagy biztonsággal alkalmazható, kivéve az intravénás adagolást [46,56].

Az injekciós és infúziós készítmények esetében több nemkívánt hatással is kell számolni. Ennek ellenére több ciklodextrin is biztonságosan felhasználható ezek formulálásánál (például γ -CD, szulfatált β -CD, SBE- β -CD, 2-HP- β -CD) [46,56]. Utóbbi két származék valóban megtalálható forgalomban levő parenterális készítményekben (ABILIFY[®] 7,5 mg/ml oldatos injekció; VFEND[®] 200 mg por oldatos infúzióhoz; VIBATIV[®] 250 mg por oldatos infúzióhoz való koncentrátumhoz).

A ciklodextrinek közvetlenül az érpályába adva hemolízist okozhatnak, és ez a hatásuk jól korrelál más sejtekkel szemben mutatott toxicitásukkal. Mindez a koleszterin-molekulákkal képzett zárványkomplexek képződésére vezethető vissza. A ciklodextrinek mintegy kivonják a sejtmembrán koleszterintartalmát, ennek hatására esnek szét a vörösvértetek. A különböző ciklodextrin-származékok citotoxicitása tehát kapcsolatba hozható koleszterin-komplexük stabilitásával, és ilyen módon előre jelezhető [57].

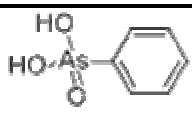
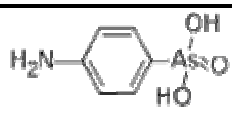
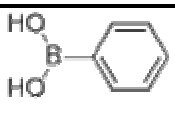
A gazdamolekula metilcsoportjai számának növekedésével együtt a metil-származék toxikus hatása is növekszik, visszaesést egyedül a trimetil- β -ciklodextrinnél tapasztalhatunk. Az ionos szubsztituensek megjelenésével a citotoxicitás is csökken, főleg a metilezett származékokhoz viszonyítva, akár kationos, akár anionos ciklodextrinről legyen szó [57]. Ennek megfelelően a permanens töltésekkel rendelkező ciklodextrinek a citotoxicitási sor végén találhatóak: DIMEB > TRIMEB > RAMEB > QA- β -CD > CM- β -CD [58].

2.2. A vizsgált vendégmolekulák bemutatása

2.2.1. Szervetlen savak aromás származékai

A szervetlen savak esetében a fenil-szubsztitúció miatt a sav-bázis tulajdonságok is módosulnak. Az arzanilsavnál tovább árnyalja a képet a para-helyzetű aminocsoport, mely amfoter jelleget kölcsönöz a molekulának. A kiválasztott vegyületek képleteit és savi disszociáció-állandóit a **2. táblázat**ban foglaltam össze. Különböző disszociációs állapotaik komplexképzésének vizsgálata hozzájárulhat a töltéssel rendelkező molekularészletek szerepének jobb megismeréséhez a zárvány kialakulásában.

2. táblázat: A kiválasztott szervetlen savak aromás származékainak szerkezete és saverőssége [59,60]

	Fenilarzonsav	Arzanilsav	Fenilbórsav
Szerkezeti képlet			
pK _A -értékek	pK _{A1} = 3,5 pK _{A2} = 8,5	pK _{A1} = 2,0 pK _{A2} = 4,02 pK _{A3} = 8,62	pK _A = 8,86

A fenilarzonsav

A fenilarzonsav arzén(V)-öt tartalmazó, kétértékű szerves sav (**2. táblázat**). Az ón(IV)-gyel és a titán(IV)-gyel is egyaránt csapadékot képez, ezen alapul analitikai reagensként való felhasználása [61]. Számos vegyület prekurzora, például a Roxarsone® néven forgalomba hozott állati táplálékkiegészítő fő komponensének, a 3-nitro-4-hidroxi-fenilarzonsavnak.

A fenilarzonsav a fenilbórsavval együtt farmakológiai vizsgálatok tárgya a szénsav-anhidráz (CA) enzim inhibitorainak kutatásában. Ez az enzim a szénsav disszociációját katalizálja, nagy szerepet játszik a légzésben, az iontranszportban, a pH-homeosztázis fenntartásában és a hidrogénkarbonát-anion szekrécijában is. Az enzim különböző osztályainak gátolhatósága jelentősen különbözik. A két említett sav kiváló inhibitoroknak

bizonyult a humán CA IV. enzimmel szemben. A *Methanobacterium thermoautotrophicum* fajban végzett vizsgálatok alapján megállapították, hogy míg az α -CA osztállyal szemben csak gyenge aktivitást mutatnak, β -CA osztályba tartozó CAb-enzimek és a γ -CA osztály legjobb gátlószerei közé sorolják őket [62-64].

Az arzanilsav (p-amino-fenilarzonsav)

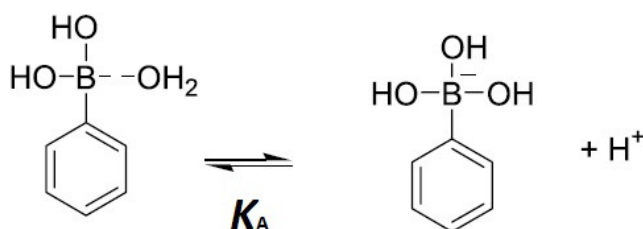
Az arzanilsav a fenilarzonsavtól a 4-es szénatomon kapcsolódó aminocsoportban különbözik (**2. táblázat**). Ezt a vegyületet is használjuk az analitikában: nátriumsójának vizes oldatát reagensként tartjuk számon a gravimetriában. A Zr^{4+} ionok kvantitatív analízise során 0,25 M kénsavas közegben arzanilsav hatására csapadék keletkezik, melyet tömegállandóságig izzítva ZrO_2 -t nyerünk, és tömegméréssel következtethetünk a minta Zr^{4+} -tartalmára [65].

Az arzanilsav hatástani szempontból a kemoterápiás szerek közé tartozik, előállítása Ehrlich nevéhez fűződik. Ekkor már ismert volt az arzéntartalmú vegyületek tripanoszómák elleni hatásossága és toxicitása is, ami a szerves arzénvegyületek esetében mérsékeltebb. A vegyület nátriumsóját 1904-ben hozták forgalomba Atoxyl néven előbb roborálószerként, majd az álomkór elleni indikációval. Bár neve épp az ellenkezőjére utalt, súlyos mérgezéseket okozott. Ez ösztönözte Ehrlichet újabb vegyületek keresésére. Ez a kutatás végül a gyógyszerészet egyik sikertörténete lett: az 1909-ben megszintetizált 606. vegyület bizonyult a leghatékonyabbnak és a legkevésbé ártalmasnak, és később Salvarsan néven vált ismertté [66].

Ma az arzéntartalmú vegyületek reneszánszukat élik a rákkutatásban, ahol citotoxicitásuk előnnyé válik, még súlyos mellékhatásaik ellenére is. Leginkább az akut limfoid leukémia (ALL) kezelésében került előtérbe az arzanilsav: a Parker Hughes Cancer Center kutatói négy alapvegyülethez többféleképpen próbálták arzéntartalmú csoportokat kapcsolni: a 6-kloropurinhoz, a 4-klór-2-metiltiopirimidinhez, a 4-klór-6,7-dimetoxikinazolinhoz és a 4-klór-2-triklór-metilkinazolinhoz. Az egyik próbálkozás alapja arzanilsav azokötékes kapcsolása az alapvegyület megfelelő amino-csoportjához. Az arzéntartalmú származékok biztató farmakológiai eredményeket mutatnak [67].

A fenilbórsav

A boronsavak általában Lewis-savak, és hidrogén-donorként vesznek részt a kölcsönhatásokban. A bórsav szubsztituenseitől függ a polaritásuk [68].



7. ábra: A fenilbórsav disszociációs egyensúlya

A fenilbórsav a bórsavhoz hasonlóan egyértékű savnak tekinthető. A semleges molekula bóratomjához egy vízmolekula kapcsolódik koordinatív kötéssel, amely aztán protont ad le, így keletkezik a tetraédes szerkezetű, egyszeresen negatív ion (**7. ábra**). A 2004-ben publikált cukorszensor-kutatások során újra elvégzett potenciometriás mérések alapján a savi disszociáció a következő értékekkel jellemezhető [69]:

$$(I = 0,05 \text{ M NaCl}) \quad pK_A = 8,78 \pm 0,06$$

$$(I = 0,1 \text{ M NaCl}) \quad pK_A = 8,79 \pm 0,05$$

A fenilbórsav felhasználásának egyik alapvető pillére az 1979-ben publikált úgynevezett "Suzuki-reakció", melyben a fenilbórsav aril-halogenidekkel reagál biaril vegyületek keletkezése közben [70]. Így számos vegyület szintéziséhez válik nélkülözhetetlenné.

Biológiai szempontból a fenilbórsavnál és származékainál a már említett enziminhibítor-hatáson és a különböző cukormolekulákkal szemben mutatott szelektivitáson kívül egyéb funkciókkal is számolni kell. Antimikrobiális hatással is rendelkeznek, meggyorsíthatják egyes vegyületek membrántranszportját, illetve bizonyos fehérjék megjelölhetőek ezekkel a vegyületekkel konjugátumok létrehozásán keresztül. A bór neutronbefogásán alapuló sugárterápiában való szerepük is jelentős [68].

Komplekxképzés szervesen savak aromás származékaival

A benzooesavhoz és a fenolhoz hasonlóan a szervesen savak aromás származékai is képezhetnek zárványkompleket ciklodextrinekkel a benzolgyűrű bezáródása révén.

A kutatócsoportunkban korábban Máthé Katalin vizsgálta a fenilfoszfonsav és a β -ciklodextrin kölcsönhatását. A molekula protonáltsági állapotai közül a semleges forma képezi a legstabilabb komplexet [71], összhangban a ciklodextrinek zárványkomplexeivel kapcsolatban eddig megfigyelt általános trendekkel [43,72].

A fenilfoszfonsavhoz hasonló szerkezetű aromás aminofoszfónátok esetében a zárványképződés enantioszelektív jellegének van nagy gyakorlati jelentősége: az optikai izomerek elválasztását és a vegyületek izomertisztaságának meghatározását oldották meg sikeresen ciklodextrinek segítségével [73].

Az általam választott aromás savszármazékok ciklodextrin-komplexeivel kapcsolatban csak kevés irodalmi előzmény áll rendelkezésre. A fenilbórsav–ciklodextrin komplexek stabilitására vonatkozóan sem találhatóak adatok, annak ellenére sem, hogy a bórsavszármazékok szénhidrátokkal való kölcsönhatása hosszú idő óta részletes kutatások tárgya. A bórsavhoz hasonlóan a fenilbórsav is képes különbséget tenni a különböző szerkezetű cukormolekulák között. De míg a bórsav a ciklodextrinekkel csak elhanyagolható mértékben lép kölcsönhatásba [74], a fenilbórsavnál van lehetőség a zárványképződésre. A fenilbórsav-származékok nemcsak szabad formában, hanem ciklodextrinekkel alkotott komplexvegyületeikben is részt vehetnek a cukormolekulák felismerésében [75].

2.2.2. Az α -aminosavak

Az α -amino-karbonsavak kémiai tulajdonságait az α -szénatomhoz kapcsolódó különböző oldalláncok határozzák meg. Ez a szénatom egyben kiralitáscentrum is, kivéve a glicin esetében. Az L-aminosavak a fehérjék építőkövei, és biológiai szempontból nemcsak poli-, hanem oligopeptidjeik is fontosak.

Az aminosavak amfoter vegyületek, izoelektromos pontjukon oldhatóságuk lecsökken. A disszociációs makroállandók (**3. táblázat**) segítségével kiszámítható az átlagos protonáltság az adott pH-n.

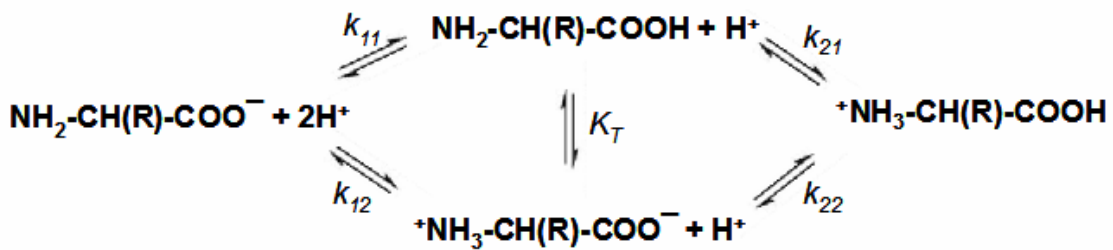
3. táblázat: A természetes aminosavak disszociáció-állandói [76]

Név	Röv. I.	Röv. II.	pK ₂ (COOH)	pK ₁ (COOH)	IEP	pK ₁ (NH ₂)	pK ₂ (NH ₂)
Alanin	Ala	A		2,30	6,10	9,90	
Arginin	Arg	R		2,81	11,76	9,09	13,2
Aszparagin	Asn	N		2,02	5,41	8,80	
Aszparaginsav	Asp	D	3,65	1,88	2,85	9,60	
Cisztein	Lys	C	8,33*	1,71	5,05	10,78	
Glutamin	Gln	Q		2,17	5,65	9,13	
Glutaminsav	Glu	E	4,25	2,19	3,22	9,67	
Glicin	Gly	G		2,21	5,97	9,15	
Hisztidin	His	H		1,78	7,47	8,97	5,97
Izoleucin	Ile	I		2,32	5,94	9,76	
Leucin	Leu	L		2,40	5,98	9,60	
Lizin	Lys	K		2,20	9,59	8,90	10,28
Metionin	Met	M		2,28	5,74	9,21	
Fenilalanin	Phe	F		2,58	5,84	9,24	
Prolin	Pro	P		1,99	6,30	10,60	
Szerin	Ser	S		2,21	5,68	9,15	
Treonin	Thr	T		2,10	5,60	9,12	
Triptofán	Trp	W		2,15	5,64	9,12	
Tirozin	Tyr	Y	10,07**	2,20	5,66	9,11	
Valin	Val	V		2,30	5,96	9,60	

*tiolcsoport

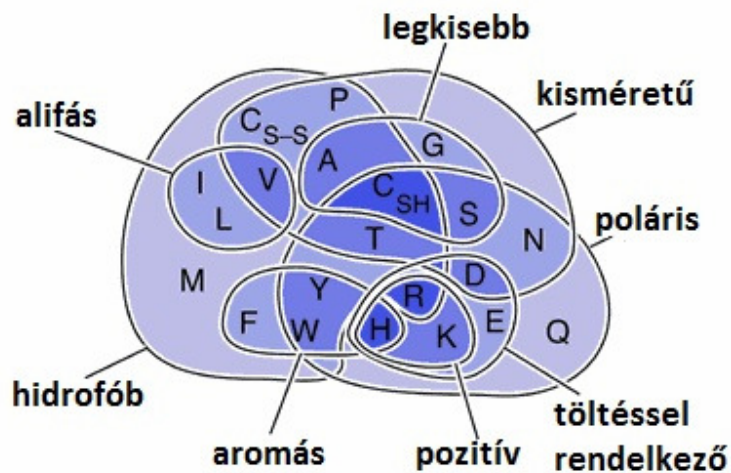
**fenolos hidroxi-csoport

Az azonos protonáltsági fokú, különböző szerkezetek pontos arányának megállapításához a mikroállandókat is ismernünk kell (**8. ábra**). Ezek figyelembevételével kiderül, hogy az izoelektromos pontban a részecskék döntő többsége nem töltés nélküli, hanem ikerionos állapotban van [77].



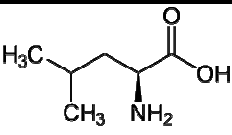
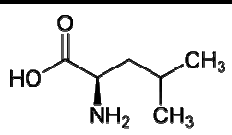
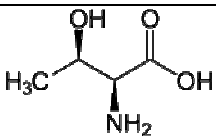
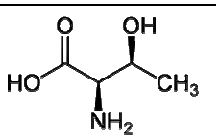
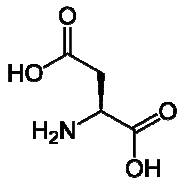
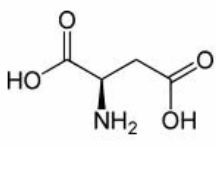
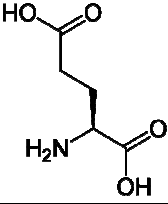
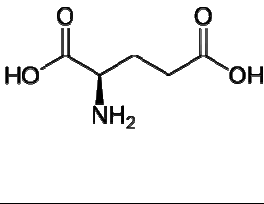
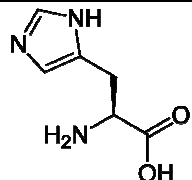
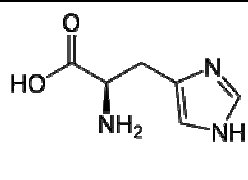
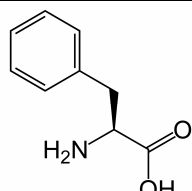
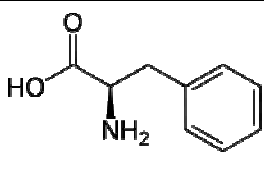
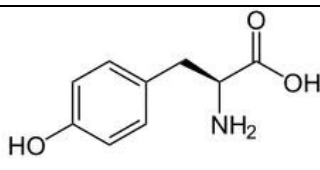
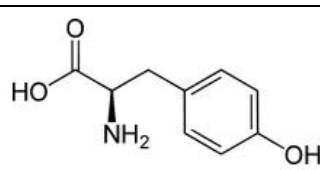
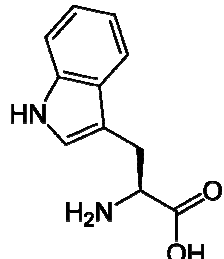
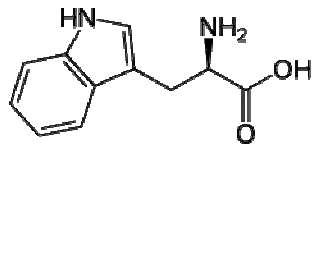
8. ábra: A nem ionizálható oldalláncot tartalmazó aminosavak disszociációs sémája [77]

Mivel az aminosavak szerkezeti változatossága nagy, többféleképpen csoportosíthatjuk őket (**9. ábra**). Az általunk vizsgált nyolc aminosav úgy került kiválasztásra, hogy a különböző szempontokat figyelembe véve minden típus képviselve legyen a vizsgálatok során. A kiválasztott L- és D-enantiomerek szerkezetét a **4. táblázat**ban tüntettem fel.



9. ábra: Az aminosavak csoportosítása különböző szempontok szerint (a rövidítések magyarázata a **3. táblázat**ban) [76]

4. táblázat: A kiválasztott aminosavak szerkezete

	L-enantiomer	D-enantiomer
Leucin		
Treonin		
Aszparaginsav		
Glutaminsav		
Hisztidin		
Fenilalanin		
Tirozin		
Triptofán		

Komplekképzés aminosavakkal

A természetes aminosavak biológiai jelentőségéből adódóan ciklodextrin-komplexeik tulajdonságainak megismerése nemcsak elméleti szempontból fontos. Az oldaláncaik különbözőségéből adódóan eltérő zárványkomplex-képzési hajlam jósolható a vegyületsalád tagjaira vonatkozóan. A molekulák hidrofób része beléphet a ciklodextrin üregébe, míg az aminosav-rész erősen hidratált funkciós csoportjai kívül maradnak, és ionizáltsági állapotuktól függően különböző elektrosztatikus kölcsönhatásokban és hidrogénkötésekben vehetnek részt. Tovább árnyalhatja a képet, hogy több esetben az oldalláncon is található ionizálható csoport. Az aminosavak L- és D-enantiomerjei kézenfekvő lehetőséget nyújtanak az optikai izomerek összehasonlítására is.

Az aminosav–ciklodextrin komplexekkel illetve az enantiomer-szelekcióval számos korábbi közlemény foglalkozott már, de ezek jó részében tulajdonképpen aminosav-származékokról van szó, mivel így egyszerűbb a detektálás, főleg a kromatográfias módszerek esetében.

A komplexekben a vendégmolekula : ciklodextrin arány az egyéb hasonló méretű vegyületekéhez hasonlóan 1:1, amint azt Ramathan és munkatársai tömegspektrometriás vizsgálatai is bizonyították [78].

A különböző vizsgálatokból származó stabilitási állandók összehasonlítását nagyon megnehezíti, hogy azok eltérő módszerekből származnak, és eltérő körülményekre vonatkoznak. Néhány tanulságos példát az **5. táblázat**ban foglaltam össze. Mivel egy adott pH-értéken különböző protonáltságú formák lehetnek jelen egyszerre, és így a kapott eredmények valójában átlagértékek: eltérő pH-kon teljesen más részecskékkel kell számolni. Ugyanakkor az L-fenilalanin semleges (ikerionos) formájának β -ciklodextrinnel képzett komplexére vonatkozóan 3 ± 7 és $85 \pm 7 \text{ M}^{-1}$ értékek között találhatunk eredményeket (**5. és 6. táblázat**).

A fluoreszcenciás mérésekből adódó eredmények rendszeresen nagyobbak a más módszerekből származóaknál [79-81]. Ezt az okozhatja, hogy gerjesztett állapotban módosulhatnak a kölcsönhatások a zárványkomplexben.

5. táblázat: Az L-tirozin és L-fenilalanin β -ciklodextrin komplexeire vonatkozó stabilitási állandók az irodalomban

L-tirozin	$T = 283 \text{ K}$	$T = 293 \text{ K}$	$T = 298 \text{ K}$	$T = 303 \text{ K}$	$T = 313 \text{ K}$
pH = 11,3			147 ^a		
pH = 9,0			10700 ^b		
pH = 7,4			33 ^c		
pH = 7,0	47±8 ^d	48±5 ^d 50±4 ^e		51±9 ^d 60,25 ^{f1} 119,94 ^{f2}	33±6 ^d
pH = 5,6 – 6,0		38,6-66,3 ^g			
L-fenilalanin		$T = 293 \text{ K}$	$T = 298 \text{ K}$	$T = 300 \text{ K}$	
pH = 11,3			106 ^a		
pH = 11,0			93,3 ^h		
pD = 7,6				25,5 ⁱ	
pH = 7,0			18 ^a		
pH = 5,6 – 6,0		10,5±6,2 ^g			
pH = 5,01			3±7 ^j		

^a kalorimetria [82]^b fluoreszcencia spektroszkópia [83]^c mikrokolorimetria [84]^d fluoreszcencia spektroszkópia [85]^e fluoreszcencia spektroszkópia [81]^{f1} UV-látható spektroszkópia [80]^{f2} fluoreszcencia spektroszkópia [80]^g fluoreszcencia spektroszkópia [79]^h ultraszűrés [86]ⁱ ¹H-NMR [87]^j mikrokolorimetria [88]

Kahle és munkatársai végeztek következetes vizsgálatsorozatot potenciometriás módszerrel, ami lehetővé teszi a különböző protonáltságú formák komplexstabilitási állandóinak meghatározását [89]. A többi irodalmi eredményhez viszonyítva többnyire kiemelkedően nagy egyensúlyi állandókat kaptak (**6. táblázat**). Erre egyrészt az szolgálhat magyarázattal, hogy a kiértékelésben az adott körülmények között nem érvényes közelítést alkalmaztak az egyensúlyi ciklodextrin-koncentráció kifejezésére. Másrészt mivel a pH-változás az egy protonban különböző formák komplexstabilitásának a viszonyától függ, egy potenciometriától független módszerrel ajánlatos kiegészíteni a vizsgálatot, hogy kiindulópontot szolgáltasson a kiértékeléshez. Részben ez lehet az oka annak is, hogy számos aminosav esetében nem találtak kimutatható asszociációt (például az alanin, valin,

hisztidin enantiomerjeivel), illetve ezzel magyarázható a leucin és izoleucin komplexstabilitása között tapasztalt drasztikus különbség is (**6. táblázat**).

6. táblázat: Potenciometriás mérésekből származó stabilitási állandók [89]

	$A^{2-} \cdot D$	$A^- \cdot D$ ($HA^- \cdot D$)*	$HA^{(+/-)} \cdot D$ ($H_2A^{(+/-)} \cdot D$)*
L-Izoleucin		-	-
D-Izoleucin		-	-
L-Leucin		301±273	258±248
D-Leucin		234±84	196±77
L-Tirozin*	180±11	41±9	
D-Tirozin*	233±23	66±16	
L-Fenilalanin		154±8	85±7
D-Fenilalanin		164±23	83±20
L-Triptofán		571±102	447±83
D-Triptofán		140±18	88±17

Az **5.** és **6. táblázat**ban közölt adatok oly módon vehetőek össze, hogy az erősen lúgos (pH ~ 11) közegben végzett méréseknél a kapott értékek a teljesen disszociált formák komplexstabilitásának felelnek meg, míg közel semleges közegben (pH = 5–7) az ikerionos formák vannak többségben. A köztes pH-értékeken kapott eredményeket pedig különböző protonáltságú formákra vonatkozó átlagértékeként kell kezelnünk. A tirozin esetén a legtöbb eredmény jó hasonlóságot mutat, a fenilalanin esetében viszont már nagyobbak az eltérések, bár a megfelelő értékek hasonló trendet követnek.

Chisholm és Wenzel kvaterner ammónium- β -ciklodextrin-származékok kölcsönhatását vizsgálták aromás aminosavakkal, különös tekintettel a szubsztitúciós fok hatására az enantiomerszelekcióban [27]. Az NMR-mérések eredményeiből arra következtettek, hogy a zárványkomplex ezekben az esetekben is létrejön, bár a jelek változását a szubsztitúció miatt nehéz nyomonkövetni. Az enantiomerek közötti különbség a komplexképzésben minden származékkal nagyobb volt, mint a szubsztituálatlan ciklodextrinnel. A maximumot a komplexképződésben 1,5-ös átlagos szubsztitúciós foknál állapították meg, mely itt az átlagosan egy glükózegységen lévő szubsztituensek számát jelenti. A publikációban komplexstabilitási állandókat nem közöltek.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Az ionos töltések jelenléte a vendégmolekulán általában nem jelent előnyt a zárványképződés szempontjából, a töltések körül kialakuló hidrátburok miatt. A különböző ionizálható vagy permanens töltést hordozó ciklodextrin-származékok esetében azonban az elektrosztatikus kölcsönhatás, mint a komplexképződésben szerepet játszó másodlagos kötőerő pozitív hozzájárulást jelenthet. Ebből a szempontból még nagyobb a jelentősége a vendégmolekulák pH-tól függő különböző ionizáltságának.

Munkám előzményeinek az ELTE Kémiai Intézetében, a Kolloid és Szupramolekuláris Rendszerek Laboratóriumán belül működő koordinációs kémiai csoport által elért eredményeket tekintem. A csoport egyik kiemelt témája a hidrogénkötés komplexstabilizáló szerepe, melynek során bizonyítást nyert, hogy ha a vendégmolekula egy-egy csoportja hidrogénkötést létesíthet a ciklodextrin peremén lévő hidroxicsoportokkal, ez jelentősen hozzájárulhat a komplexstabilitáshoz [40]. Máthé Katalin szakdolgozatában egy szerves sav aromás származékának, a fenilfoszfonsavnak és a β -ciklodextrinnek a zárványkomplekképzését jellemzi [71]. Csernák Orsolya disszertációjában részletesen tárgyalja a protonálódás hatását a ciklodextrin zárványkomplexek stabilitására a dikarbonsavak és alkaloidbázisok vizsgálatán keresztül [90]. Ezenkívül a kutatócsoport publikált eredményeket a fenolftalein, a metilnarancs és egyéb azobenzol-származékok és különböző ciklodextrinek közötti komplexképzésről, és ennek felhasználásáról más vendégmolekulákkal alkotott komplexek stabilitásának meghatározásában [91-94].

Doktori munkám során a töltések zárványkomplex-képződésben betöltött szerepét kívántam vizsgálni szubsztituátlan és ionos ciklodextrinekkel, tekintetbe véve újabb hidrogénkötések kialakulásának lehetőségét és a szubsztituensek jelenléte miatt megváltozott szterikus viszonyokat is. Kiemelten a Cyclolab Kft. által rendelkezésemre bocsátott (2-hidroxi-3-N,N,N-trimetilammónium)propil- β -ciklodextrin-kloridot vizsgáltam.

Vizsgálendő vendégmolekulákként két vegyületcsaládot választottam: Máthé Katalin témáját folytatva egyéb szerves savak aromás származékait, illetve aminosavak

L- és D-enantiomerjeit, melyek biológiai jelentőségük mellett jó lehetőséget biztosítanak a különböző vendégmolekula-típusok modellezésére és a komplexképzés enantioszelektív jellegének vizsgálatára.

Az első csoportba tartozó fenilarzonsav és fenilbórsav esetében a szerves savak egyik hidroxil-csoportját egy benzolgyűrű helyettesíti. A benzolgyűrű ciklodextrinbe záródása mellett a szerves savak csoportok szerepe tanulmányozható a komplexképződésben eltérő protonáltsági állapotokban. Az arzanilsav a fenilarzonsav para-aminoszármazéka, ahol a szubsztituens is protonálható, így mind a szubsztitúció, mind a protonálódás szerepe tanulmányozható ebben az esetben.

A második csoportot néhány aromás, illetve különböző méretű alifás oldalláncot tartalmazó aminosav képezi. Az oldalláncok különbözősége miatt eltérő zárványkomplekképzési hajlam jósolható, részben az aminosav-molekulák méretéből, részben az eltérő funkcionális csoportokból adódóan. A vegyületek amfoter jellege lehetővé teszi az eltérő protonáltságú állapotok vizsgálatát, ráadásul egyes esetekben az oldalláncon is található ionizálható csoport. Az aminosavak enantiomerjei kézenfekvő lehetőséget biztosítanak az optikai izomerek összehasonlítására is.

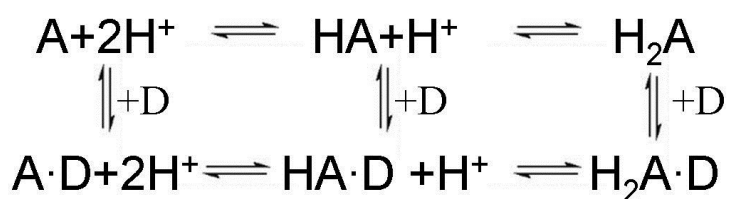
A komplexstabilitások pH függvényében történő meghatározása és összehasonlítása mellett célom volt néhány nagyobb stabilitású komplex szerkezetének részletesebb megismerése is, melyre ^1H és ^{13}C -NMR-mérések elvégzése nyújtott lehetőséget.

4. MÓDSZEREK

Célkitűzésem szerint az ionos töltéseknek a ciklodextrin-zárványkomplexek stabilitására gyakorolt hatását kívántam tanulmányozni. Ennek vizsgálatára a potenciometriás titrálást választottam, hogy a vendégmolekulák különböző mértékben protonált formáinak komplexképzéséről képet kapjak. A kísérleti adatok egy Barcza Lajos tanár úr által írt iteratív számítógépes programmal kerültek kiértékelésre. A pH-potenciometriás titrálásokon túl UV-látható spektrofotometriás méréseket is végeztem. Annak érdekében, hogy a komplexek szerkeztéről információt nyerjek, egyes esetekben ^1H - és ^{13}C -NMR felvételek is készültek.

4.1. pH–potenciometria

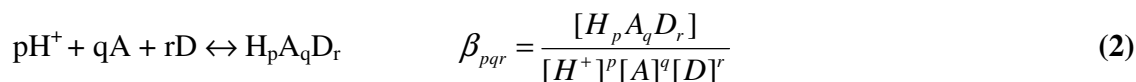
Az egyensúlyi rendszerben lehetséges részecskék közti kapcsolatokat egy általános sémán (**10. ábra**) tüntettem fel a töltések jelölése nélkül, maximálisan kétlépéses protonálódást és 1:1 arányú komplexek létrejöttét feltételezve. Az ábrán "A" szimbolizálja a vendégmolekula teljesen deprotonált formáját, "D" pedig a gazdamolekulát. A legtöbb általam vizsgált vendégmolekula komplexképződési egyensúlyrendszerét jól leírja ez a kép, például a fenilarszonsavét, a leucinét vagy a fenilalaninét.



10. ábra: A protonálódási és komplexképződési egyensúlyok összefüggései

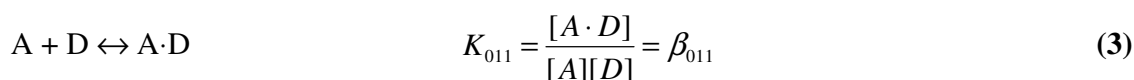
Ahogy az **10. ábrán** is látszik, a komplexképző jelenléte befolyásolja a sav-bázis egyensúlyokat: ha a protonált és deprotonált formák komplexstabilitása nem egyezik meg, a vendégmolekulák szabad illetve komplexált formáinak protonálódási állandói is különbözőek lesznek [95]. Tehát az adott mérőoldatfolyáshoz tartozó egyensúlyi hidrogénion-koncentráció eltér a ciklodextrin nélküli titrálásban mérttől.

Egy tetszőleges sztöchiometriájú komplex képződési állandóját általánosságban a következőképpen definiálhatjuk:

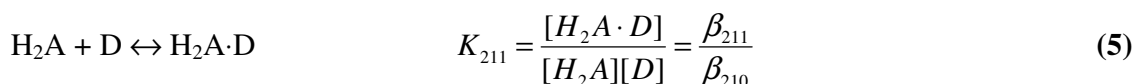
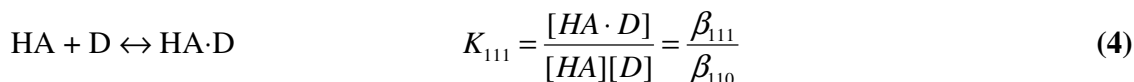


A szögletes zárójelek jelzik az adott részecske egyensúlyi koncentrációját mol/dm³-ben, "A"-val a vendégmolekulák teljesen deprotonált formáját, "D"-vel a ciklodextrineket jelölve. Az irodalmi előzmények és saját megfigyeléseim is azt támasztják alá, hogy a gazda-vendég arány 1:1 a komplexekben, tehát $q = r = 1$.

Ezek alapján β_{011} a teljesen deprotonált forma komplexének képződési állandóját írja le:



A további formák esetében a komplexképződést a megfelelő kumulatív állandók arányával jellemezhetjük:



A komponensek összkoncentrációit az anyagmérlegek segítségével a következőképpen fejezhetjük ki:

$$c_{\text{H}} = [\text{H}^+] + [\text{HA}] + 2[\text{H}_2\text{A}] + [\text{HA} \cdot \text{D}] + 2[\text{H}_2\text{A} \cdot \text{D}] = \\ = [\text{H}^+] + \beta_{110}[\text{H}^+][\text{A}] + 2\beta_{210}[\text{H}^+]^2[\text{A}] + \beta_{111}[\text{H}^+][\text{A}][\text{D}] + 2\beta_{211}[\text{H}^+]^2[\text{A}][\text{D}] \quad (6)$$

$$c_{\text{D}} = [\text{D}] + [\text{A} \cdot \text{D}] + [\text{HA} \cdot \text{D}] + [\text{H}_2\text{A} \cdot \text{D}] = \\ = [\text{D}] + \beta_{011}[\text{A}][\text{D}] + \beta_{111}[\text{H}^+][\text{A}][\text{D}] + \beta_{211}[\text{H}^+]^2[\text{A}][\text{D}] \quad (7)$$

$$c_{\text{A}} = [\text{A}] + [\text{HA}] + [\text{H}_2\text{A}] + [\text{A} \cdot \text{D}] + [\text{HA} \cdot \text{D}] + [\text{H}_2\text{A} \cdot \text{D}] = \\ = [\text{A}] + \beta_{110}[\text{H}^+][\text{A}] + \beta_{210}[\text{H}^+]^2[\text{A}] + \beta_{011}[\text{D}][\text{A}] + \beta_{111}[\text{H}^+][\text{A}][\text{D}] + \beta_{211}[\text{H}^+]^2[\text{A}][\text{D}] \quad (8)$$

Néhány esetben ki lehet egészíteni az egyenletrendszert egy harmadik protonálódási lépéssel is, például az arzanilsavnál, a glutaminsavnál, az aszparaginsavnál vagy a hisztidinnél. A tirozinnál ezt elhagyhatjuk, mivel semleges/ikerionos formájának olyan kicsi az oldhatósága, hogy mielőtt az átlagosan kötött hidrogének száma elérné a 2,00-t, a tirozin kicsapódik az oldatból, tehát a kisebb pH-tartományokból nem rendelkezünk mérési pontokkal. A tirozin teljesen protonált formájának komplexképződési állandóit ezért ezzel a módszerrel nem lehet meghatározni.

Az összkoncentrációk ismeretében egy iteratív számítógépes program segítségével számolhatjuk ki a megfelelő képződési állandók értékét, a **(3)-(8)** egyenletek alapján. A program az analitikai koncentrációkból kiindulva, a mért pH-ból és a becsült egyensúlyi állandók (változtatható) értékeiből számolt kötött hidrogénion-koncentrációk közötti eltérést minimalizálja.

A potenciometriás titrálások kiértékelésénél különböző előzményeket vettem alapul: egyrészt az irodalomban található, hasonló körülmények között meghatározott protonálódási állandókat [96], melyekből kiindulva a ciklodextrin nélküli titrálásokban meghatároztam az alkalmazott körülményeknek megfelelő értékeket. Másrészt a spektrofotometriás mérések során kapott eredményeket, melyek figyelembe vételére azért volt szükség, mert – ahogyan a **10. ábrán** is látható - a protonálódási egyensúly eltolódása a különböző mértékben protonált formák komplexképződési állandóinak arányától függ. Így a mért értékek felhasználásával csak akkor kaphatunk reális képet, ha legalább az egyik protonáltsági forma komplexstabilitását egy potenciometriától független módszerrel meghatározzuk.

4.2. UV-látható spektrofotometria

A kompetíciós spektrofotometria lényege, hogy a választott indikátor az adott pH-n megfelelő stabilitású komplexet képezzen a ciklodextrinnel, és ez a komplexképződés spektrofotometriásan is követhető legyen. Tehát a szabad indikátor és az indikátor-komplex abszorpciós tulajdonságainak különböznie kell. Legegyszerűbb esetben van olyan

hullámhossz, ahol csak az egyik részecske abszorbanciáját mérjük. Egy második vendégmolekula jelenlétében a növekvő ciklodextrin-koncentráció hatására bekövetkező abszorbancia-változás csökken a kompetíció miatt, ebből lehet következtetni a meghatározni kívánt komplexstabilitásra.

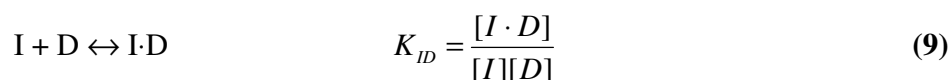
Különböző kémhatású oldatokban végeztem méréseket: pH=10,5-nél fenolftaleint, pH=1-nél metilnarancsot alkalmazva indikátorként, hogy a vendégmolekuláknak az adott pH-n domináns protonáltságú formájára jellemző komplexstabilitást meghatározhattam.

4.2.1. Vizsgálatok lúgos közegben

A fenolftalein egy alapvető és széles körben alkalmazott sav-bázis indikátor. Oldata savas közegben színtelen, lúgos közegben (pH > 9) pedig liláspirosra színeződik, mivel a disszociáció után a mezomer átalakulások miatt kinoidális szerkezetű formák jelennek meg [42].

β -ciklodextrin jelenlétében a fenolftalein anionjának komplexált formája nem mutat fényelnyelést a látható tartományban, mivel a komplexképződés hatására átrendeződés következik be az elektronszerkezetében, és megszakad a több aromás gyűrűre kiterjedő konjugáció. Ezt a jelenséget [94,97] használjuk ki más vendégmolekulák lúgos közegben történő vizsgálatánál (pH=10,5), melyek versengenek a β -ciklodextrinért a fenolftaleinnel. A komplexképződés miatt tapasztalt színintenzitás-változás spektrofotometriásan követhető a fenolftalein elnyelési maximumának helyén ($\lambda = 550$ nm).

Az indikátorkomplex stabilitási állandóját a következőképpen lehet megkapni a kétkomponensű rendszert vizsgálva, 1:1 arányú komplexképződést feltételezve:



"I"-vel az indikátormolekulát, "D"-vel a ciklodextrint, K_{ID} -vel az indikátor-komplex stabilitási állandót jelölve. Mivel a komplex színtelen, a mért abszorbancia csak a szabad indikátortól származik:

$$A = \varepsilon [I] \qquad (10)$$

ebből a szabad indikátor egyensúlyi koncentrációja közvetlenül kiszámítható:

$$[I] = \frac{A}{\varepsilon} \quad (11)$$

A fenolftalein moláris abszorpciós koefficiensét (ε) – az esetleges hibák kiejtése érdekében (például az időbeli változás ellenőrzésére) – minden méréssorozatnál külön meghatároztam a sorozat első és utolsó tagját alkotó, ciklodextrint és más vendégmolekulát nem tartalmazó oldat abszorbanciájából a bemért fenolftalein-koncentrációt figyelembe véve. (Egy méréssorozatban belül az indikátor-koncentráció állandó volt a mintaoldatokban.)

$$\varepsilon = \frac{A}{c_I} \quad (12)$$

Az indikátor komplexének stabilitási állandóját a másik vendégmolekulát nem tartalmazó méréssorozatban meghatározott egyensúlyi indikátor-koncentrációkból számoltam a **(9-11)** egyenletek és a két komponens anyagmérlege segítségével **(13-14)**.

$$c_I = [I] + [I \cdot D] \quad [I \cdot D] = c_I - [I] \quad (13)$$

$$c_D = [D] + [I \cdot D] \quad [D] = c_D - [I \cdot D] \quad (14)$$

$$[D] = c_D - (c_I - [I]) \quad (15)$$

$$K_{ID} = \frac{c_I - [I]}{(c_D - (c_I - [I]))[I]} \quad (16)$$

Háromkomponensű rendszer esetén a β -ciklodextrin-molekulák egy része a másik potenciális vendégmolekulával képez komplexet. Az anyagmérlegek a következőképpen módosulnak:

$$c_I = [I] + [I \cdot D] \quad (17)$$

$$c_D = [D] + [I \cdot D] + [A \cdot D] \quad (18)$$

$$c_A = [A] + [A \cdot D] \quad (19)$$

ahol "A" a második vendégmolekula adott közegben létező formáját jelöli, melynek komplexére vonatkozó stabilitási állandót a **(3)** egyenlethez hasonlóan fejezhetjük ki:

$$K_{AD} = \frac{[A \cdot D]}{[A][D]} \quad (20)$$

Az anyagmérlegek módosulása miatt a (16) egyenlettel számolva egy látszólagos stabilitási állandót kapunk az indikátor-komplexre (K_{ID}'), melyet a (17)-(18) egyenletek alapján továbbalakíthatunk, és a komplexek egyensúlyi koncentrációit a megfelelő képződési állandókkal is kifejezhetjük.

$$K_{ID}' = \frac{[I \cdot D]}{([D] + [A \cdot D])[I]} \quad (21)$$

$$[I \cdot D] = K_{ID} [I][D] \quad (22)$$

$$[A \cdot D] = K_{AD} [A][D] \quad (23)$$

$$K_{ID}' = \frac{K_{ID}[I][D]}{([D] + K_{AD}[A][D])[I]} = \frac{K_{ID}}{1 + K_{AD}[A]} \quad (24)$$

Mivel a második vendégmolekula ciklodextrinnel alkotott komplexének stabilitása általában sokkal kisebb a fenolftaleinénál, és nagy feleslegben alkalmazzuk a rendszerben a ciklodextrinekhez képest, a szabad vendégmolekula egyensúlyi koncentrációját jó közelítéssel azonosnak vehetjük az összkoncentrációjával.

$$[A] \cong c_A, \text{ így} \quad (25)$$

$$K_{AD} = \frac{K_I - K_I'}{K_I' c_A} \quad (26)$$

Ha valóban csak 1:1 komplex képződik, a vendégmolekula bemérésének, illetve az indikátorkomplex kísérleti úton meghatározott valódi és látszólagos stabilitási állandójának a felhasználásával a szóráson belül állandó értéket kell kapnunk a K_{AD} értékére változó koncentrációarányok mellett is.

4.2.2. Vizsgálatok savas közegben

A metilnarancs indikátor oldata pH=3,5-nél savasabb közegben vörös, magasabb pH-értékeknél pedig sárga színű. Kémiai szerkezetét tekintve az azovegyületek közé tartozik. Ha az azocsoport egyik nitrogénje protonált, az indikátor-kation két mezomer határszerkezettel írható le. Vizes oldatban az egyensúly az azónium-kinoidális szerkezet felé tolódik el, mely a színért is felelős, az ammónium típusú forma színtelen.

A metilnarancs is 1:1 arányú komplexet alkot a β -ciklodextrinnel. A gazdamolekula jelenlétében az egyensúly az ammónium forma javára tolódik el, mivel a komplexképződés gátolja az azocsoport protonálódását. De mivel a tautomer egyensúly eltolódása nem teljes, az oldat nem válik teljesen színtelenné [92].

A más vendégmolekulát nem tartalmazó mérőszorozatokban állandó indikátor-koncentráció mellett $\lambda_1 = 506$ nm-en szignifikánsan csökkenő, $\lambda_2 = 319$ nm-en pedig növekedő fényelnyelést észlelünk.

Az indikátor-komplex stabilitási állandója és az anyagmérlegek hasonlóképpen fejezhetőek ki, mint a fenolftalein esetében (9), (13)-(14), különbség csak az egyes részecskék protonáltságában van. A mért abszorbancia viszont két tagból tevődik össze:

$$A = \varepsilon_I [I] + \varepsilon_{ID} [I \cdot D] = \varepsilon_I [I] + \varepsilon_{ID} K_I [I][D] \quad (27)$$

A ciklodextrin korlátozott oldhatósága miatt nem tudunk 100%-os komplexképződést elérni, ezért a komplex moláris abszorpciós koefficiense (ε_{ID}) nem határozható meg olyan egyszerűen, ahogy a szabad indikátoré.

Mivel a ciklodextrin relatíve nagy feleslegben van az indikátorhoz képest, ezért a $[D] \cong c_D$ egyszerűsítéssel élhetünk. Különböző ciklodextrin-koncentrációknál és két hullámhosszon mérve az abszorbanciákat a potenciometriás kiértékelésnél alkalmazotthoz hasonló számítógépes programmal a moláris abszorpciós koefficiensek és a komplexstabilitási állandók egyidejű meghatározása lehetséges.

Háromkomponensű rendszerben a másik vendégmolekula versenghet a metilnarancs molekulájával a ciklodextrin üregéért. Ebben az esetben $\lambda_1 = 506$ nm-en az abszorbancia

kevésbé csökken, $\lambda_2 = 319$ nm-en pedig kevésbé növekszik, mint a kétkomponensű indikátor-ciklodextrin rendszernél. A számítógépes kiértékelésnél az alkalmazott anyagmérlegek a fenolftaleines módszerhez hasonlóan módosulnak (17)-(19).

4.3. ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópia

A komplexképződés viszonylag gyors folyamat az NMR időskálájához képest, ezért a szabad és a komplexált molekula jelei összeolvadnak, és egy átlagos kémiai eltolódásértéknél jelentkeznek.

A ciklodextrin-komplexek spektrumairól általánosságban megállapítható, hogy abban az esetben, ha aromás vendégmolekula záródik a gyűrűbe, a ciklodextrin 3-as és 5-ös hidrogénjeinek kémiai eltolódása csökken ($\Delta\delta = \delta_{\text{átl.}} - \delta_{\text{szabad}}$, értéke ebben az esetben negatív) [98,99]. Ugyanakkor a vendégmolekula protonjelei különbözőképpen változhatnak azok helyzetétől függően: az üreg falához közel elhelyezkedő hidrogének kémiai eltolódása nő, míg az üreg közepén elhelyezkedőké inkább csökken. A peremi részekhez közeli hidrogéneknél pozitív kémiai eltolódás-változást tapasztalhatunk [100]. Ezek a változások azonban gyakran túl kicsik ahhoz, hogy messzemenő következtetéseket vonjunk le belőle [99,101].

A ^{13}C -NMR spektrumok elsősorban a komplexet alkotó molekulák konformáció-változásaira utalnak. Mégis a mélyebb penetráció az üregben általában negatív kémiai eltolódás-változást eredményez a vendégmolekula szénjeleiben, míg a szekunder hidroxicsoporthoz való közelség hatására nagyobb ppm-értékek felé tolódnak el a jelek. Általában ezek a változások is viszonylag kismértékűek. Az aromás és más hasonlóan nagy elektronsűrűséggel rendelkező csoportok közelében lévő ciklodextrin-szénatomok jeleinél nagy negatív kémiai eltolódás-változás figyelhető meg [102]. A ciklodextrin szénatomjainak azonosítása a ^{13}C -NMR spektrumokon azonban nem egyértelmű az irodalomban: az egyes szénjelek kémiai eltolódás szerinti csökkenő sorrendjéről többféle véleményt is találunk: Deratani és munkatársai szerint: $\text{C3} \gg \text{C5} > \text{C2}$ [24]; Schneider és

munkatársai ezzel szemben a következőt feltételezték: C3 >> C2 > C5 [99]; Yoshida és munkatársai pedig a következő sorrendet állapították meg: C2 >> C3 > C5 [102].

A ^1H - és ^{13}C -NMR-spektrumokból tehát következtethetünk a zárvány létrejöttére illetve a vendégmolekula kölcsönhatásaira és orintációjára az üregben.

4.4. Kísérleti körülmények

A felhasznált anyagok

A ciklodextrineket a Cyclolab Kft. bocsátotta rendelkezésünkre kutatási célokra egy együttműködés keretein belül. A β -ciklodextrint kétszeri átkristályosítással tisztítottuk, és a légszáraz anyag víztartalmát tömegállandóságig történő szárítással határoztuk meg. A (2-hidroxi-3,N,N,N-trimetilamino)propil- β -ciklodextrin-klorid átlagos szubsztitúciós fokát a Cyclolab Kft. határozta meg ^1H -NMR módszerrel, melynek értéke $3,6 \pm 0,3$ -nak adódott. Az általam használt ciklodextrinek néhány jellemzőjét a **7. táblázatban** hasonlítottam össze.

7. táblázat: A β - és kvaterner ammónium- β -ciklodextrin néhány jellemzője

	β-CD	QA-β-CD
R-	H-	$(\text{CH}_3)_3\text{-N}^+\text{-CH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{-}$
M_t(átlag)	1135 g/mol	1742 g/mol
DS (^1H-NMR)	0	$3,6 \pm 0,3$
Víztartalom	13,9 m/m%	8,7 m/m%
Oldhatóság	$\sim 2 \text{ g}/100\text{cm}^3$	$>25 \text{ g}/100\text{cm}^3$

A vendégmolekulák analitikai tisztaságban álltak rendelkezésre (fenilbórsav és p-amino-fenilarzonsav (Sigma-Aldrich), fenilarzonsav (Merck), L- (Serva) és D-aminosavak (Sigma-Aldrich), úgymint leucin, treonin, aszparaginsav, glutaminsav, hisztidin, fenilalanin, tirozin, triptofán), további tisztítási lépésre nem volt szükség.

Az NMR-spektrumok felvételéhez használt deutérium-oxid (Sigma-Aldrich) tisztasága 99,9% volt. A fenolftalein kétszeres, etanol–víz elegyből történő átkristályosítás után került felhasználásra. A további anyagok, amiket felhasználtam, analitikai tisztaságúak voltak, további tisztítás nem volt szükséges.

A karbonátmentes lúgoldatok a Sørensen-módszer alapján 50,0 m/m %-os nátrium-hidroxid-oldat hígításával készültek. Minden oldatot újradesztillált és frissen kiforralt vízzel készítettem el.

Potenciometria

A potenciometriás titrálásokat Radiometer VIT90 típusú videó titrátor és Radiometer ABU93 típusú automata büretta segítségével hajtottam végre, a rendszerhez Radiometer pH2701-7 típusú kombinált üvegelektrodót csatlakoztatva. A levegő széndioxid-tartalmának hatását nitrogén-átáramoltatással küszöböltem ki, ami a megfelelő keveredést is biztosította a titrálások során, melyeket $25 \pm 0,5$ °C-ra termosztált edényben végeztem.

A szervesetlen savak aromás származékainál a vendégmolekulák törzsoldatának pontosan mért részletét (melynek koncentrációja $5 \cdot 10^{-3}$ és $2 \cdot 10^{-2}$ M között változott) titráltam 0,2 M koncentrációjú karbonátmentes nátrium-hidroxid-oldattal, β -ciklodextrin jelenlétében ($5 \cdot 10^{-3}$ – $1,4 \cdot 10^{-2}$ M) vagy anélkül. Minden esetben legalább két különböző gazda–vendég koncentrációarányánál történtek mérések. A pozitív töltésű ionok összkoncentrációjának állandóságát (0,2 M) számított mennyiségű nárium-klorid bemérésével biztosítottam a vendégmolekulák törzsoldatának készítésekor. A kalibrálást $20,00 \text{ cm}^3$ 0,02 M (nátrium-kloriddal beállított ionerősségű) sósavoldat nátrium-hidroxid-mérőoldattal való titrálásával végeztem.

Egyes aminosavak rossz oldhatósága miatt munkám második felében a titrálásokat a lúgos tartományból indulva 0,25 M sósav mérőoldattal végeztem. Minden aminosav-törzsoldat frissen készült számított mennyiségű nátrium-hidroxid-oldat és nátrium-klorid hozzáadásával, a vendégmolekulák koncentrációja $1,8 \cdot 10^{-2}$ és $1 \cdot 10^{-1}$ M között változott. A ciklodextrint is tartalmazó oldatokban a β -ciklodextrin koncentrációja 0,01 M, a QA- β -CD koncentrációja 0,01 vagy 0,025 M volt. Minden aminosav esetében legalább két különböző

gazda–vendég koncentrációarányánál végeztem titrálást. Az aszparaginsav és glutaminsav esetében a savas tartományra külön titrálásokat végeztem, félig semlegesített állapotból kiindulva, így elkerültem a túlzott hígulást és az ionerősség túlzott változását. A pozitív töltésű ionok összkoncentrációját 0,25 M-re egészítettem ki számított mennyiségű nátrium-klorid hozzáadásával. A mérőrendszer kalibrálását három különböző pH-értékű pufferoldattal végeztem ($\text{pH}_1=2,05$; $\text{pH}_2=7,07$; $\text{pH}_3=9,13$).

Spektrofotometria

A spektrofotometriás méréseket Camspec M 330 és Spectromom 195D típusú spektrofotométereken hajtottam végre, 10 mm-es küvettát használva. A hőmérséklet a vizsgálatok ideje alatt $25\pm 0,5$ °C volt, amit a mintaoldatok termosztálásával biztosítottam.

A lúgos közegben végzett méréseknél fenolftalein indikátort használtam 3×10^{-5} M koncentrációban. A szükséges kémhatást ($\text{pH}=10,5$) 0,02 M nátrium-karbonát biztosította, az állandó ionerősséget (0,2 illetve 0,25 M) pedig nátrium-klorid segítségével állítottam be. A ciklodextrinek koncentrációja 0 és $2,4 \cdot 10^{-4}$ M között változott, egy-egy méréssorozaton belül legalább öt–tíz pontban. A savakból először a teljes deprotonálódásnak megfelelő sztöchiometriai arányra számított mennyiségű nátrium-hidroxid hozzáadásával törzsoldatot készítettem, melynek különböző, de egy-egy sorozaton belül állandó részleteit használtam a mérendő oldatok elkészítéséhez. Legalább három különböző vendégmolekula-koncentrációval végeztem méréssorozatot, a végső koncentrációk 0 és $6 \cdot 10^{-2}$ M között változtak. A mintaoldatok abszorbanciáját $\lambda = 550$ nm-en mértem.

A vendégmolekulák protonált formáinak vizsgálatánál a metilnarancs volt a választott indikátor, a szükséges kémhatást ($\text{pH}=1,0$) sósav hozzáadásával állítottam be, melynek végső koncentrációja 0,10 M, az indikátoré pedig $2 \cdot 10^{-5}$ M volt. A metilnarancssal végzett vizsgálatoknál nagyobb ciklodextrin-koncentrációkat kellett alkalmazni, mivel az indikátor-komplex stabilitása ebben az esetben jóval kisebb, mint a fenolftaleinnél. A β -ciklodextrin koncentrációja 0 és $9 \cdot 10^{-3}$ M között változott 12 pontban, a vendégmolekuláké pedig 0 és $2 \cdot 10^{-2}$ M között. Legalább három különböző vendégmolekula-koncentrációval végeztem méréssorozatot. A mintaoldatok abszorbanciáját $\lambda_1 = 506$ nm és $\lambda_2 = 319$ nm hullámhosszokon mértem.

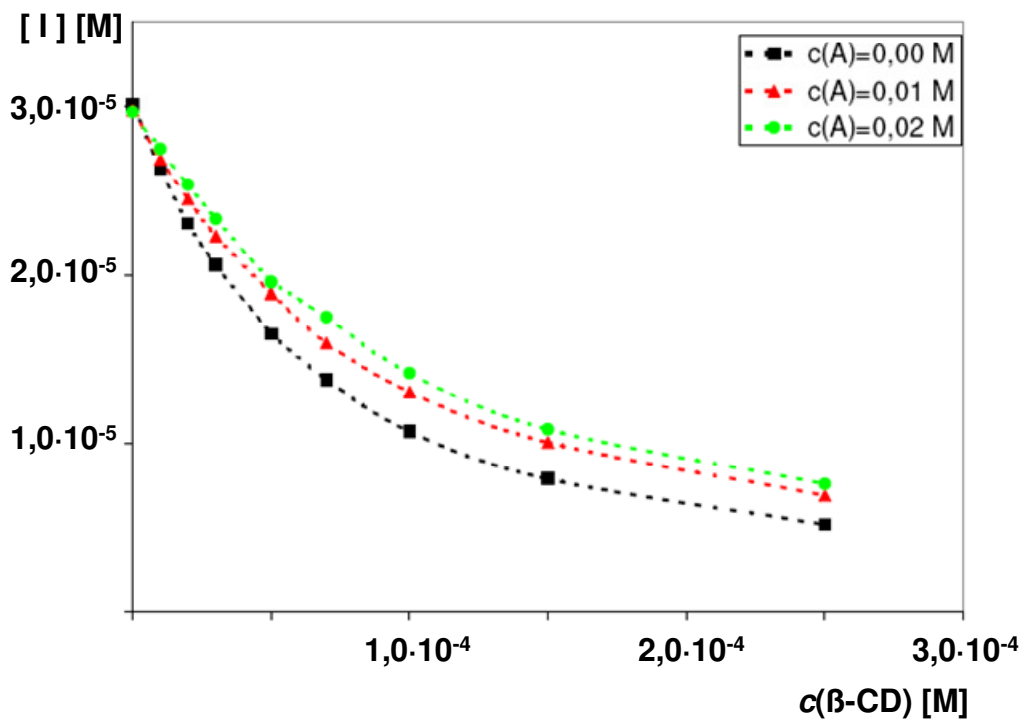
¹H- és ¹³C-NMR spektroszkópia

A szárított ciklodextrin illetve az L-fenilalanin és L-tirozin pontosan mért tömegeit deutérium-oxidban oldottam, a következő koncentráció-tartományoknak megfelelően: β -CD: 0,01 M, QA- β -CD: 0,05 M, L-Phe és L-Tyr: 0,01–0,04 M és 0,025–0,100 M. Így az alkalmazott vendég–gazda arányok a β -CD esetében 0:1; 1:1; 2:1; 4:1 és 1:0 voltak, a QA- β -CD esetében 0:1; 0,5:1; 1:1; 2:1 és 1:0. A spektrumokat Bruker DRX 500 típusú spektrométeren vettük fel 300±0,1 K hőmérsékleten, semleges és 0,02 M nátrium-karbonáttal lúgosított oldatokból.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A szerves savak aromás származékaira vonatkozó eredmények

A fenolftaleinnel végzett kompetíciós spektrofotometriás vizsgálatok során az indikátor fényelnyelése következetesen csökkent a β -ciklodextrin koncentrációjának növekedésével. A fenolftalein- β -CD komplex stabilitási állandója $K_{ID}=(2,38\pm 0,09)\cdot 10^4$ M⁻¹-nek adódott. Ha egy második vendégmolekula is jelen volt a rendszerben, ez a csökkenés kisebb mértékűvé vált (**11. ábra**).

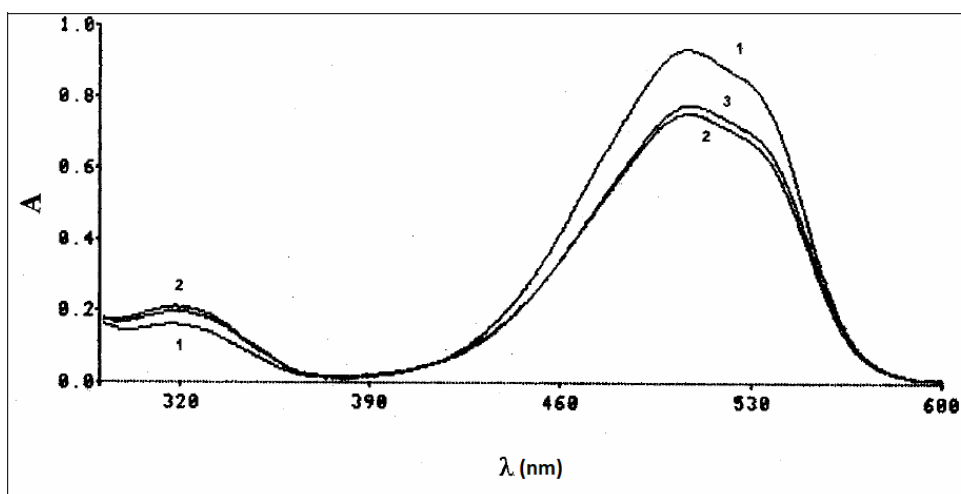


11. ábra: A β -ciklodextrin hatása a fenolftalein egyensúlyi koncentrációjára növekvő mennyiségű fenilbórsav jelenlétében (pH=10,5; $\lambda=550$ nm)

A pH=10,5-ös közegben a vizsgált savak anionjai vannak jelen (a fenilarzonsavnál és az arzanilsavnál A^{2-} , a fenilbórsavnál H_2AOH^-), így a fenolftaleinnel végzett mérésekből nyert komplexstabilitások a teljesen deprotonált vendégmolekulák β -ciklodextrin-komplexeinek képződési állandóinak tekinthetők.

Hasonló módon az alkalmazott savas közegben (pH=1,0) a teljesen protonált formák dominálnak. A legnagyobb eltérést az arzanilsav esetében találjuk, ahol a részecskéknek közel 10%-a semleges formában van jelen, de az itt kapott érték is jó közelítést jelent a teljesen protonált forma komplexstabilitását illetően.

Savas közegben a két vizsgált hullámhosszon ellentétesen változott a metilnarancs-oldat abszorbanciája a növekvő ciklodextrin-koncentráció hatására. A változás mértéke mindkét hullámhosszon csökkent, ha egy második vendégmolekula is jelen volt a rendszerben (**12. ábra**).



12. ábra: A β -ciklodextrin és a fenilarzonsav hatása a metilnarancs spektrumára savas közegben: 1.) $2,25 \cdot 10^{-3}$ M metilnarancs;
2.) $2,25 \cdot 10^{-3}$ M metilnarancs + $2,50 \cdot 10^{-3}$ M β -CD;
3.) $2,25 \cdot 10^{-3}$ M metilnarancs + $2,50 \cdot 10^{-3}$ M β -CD + $1,00 \cdot 10^{-2}$ M fenilarzonsav/

A teljesen protonált illetve teljesen disszociált formák β -ciklodextrinnel képzett komplexeinek stabilitási állandóit a **8. táblázat** foglalja össze.

8. táblázat: A szerves savak aromás származékainak β -ciklodextrinnel képzett komplexeit jellemző komplexstabilitási állandók (M^{-1}) a spektrofotometriás mérések alapján

	$A^{2-} \cdot D$	$HA^{-} \cdot D$ ($H_2AOH^{-} \cdot D$)*	$H_2A \cdot D$	$H_3A^{+} \cdot D$
Fenilbórsav		23,5±2,5	320±36	
Fenilarzonsav	12,5±1,5		110±30	
Arzanilsav	16±5			36±7**

* fenilborát-anion

** kb. 90% H_3A^{+} és 10% H_2A

A fenilbórsav esetében a spektrofotometriás körülmények mindkét protonáltsági forma komplexstabilitásának (lásd **(3)**–**(4)** egyenlet) meghatározását lehetővé tették. Mivel a másik két vegyületnél ez csak a teljesen protonált illetve deprotonált formák jellemzésére volt elégséges, a közbülső állapotok komplexképződésének a vizsgálatára más mérési módszer bevonása is szükségessé vált. Erre a célra a pH-potenciometria jelen esetben megfelelőnek bizonyult.

A ciklodextrint nem tartalmazó mintaoldatok pH-potenciometriás titrálása során regisztrált mérési pontok alapján meghatározott protonálódási állandók az irodalmi értékekkel [59,60] jó összhangban vannak. Ezeket és a spektrofotometriában kapott eredményeket felhasználva kiindulópontként, az iteratív számítógépes kiértékelés után a **9. táblázatban** összefoglalt stabilitási állandókat kaptam.

9. táblázat: A szerves savak aromás származékainak β -ciklodextrinnel képzett komplexeit jellemző komplexstabilitási állandók (M^{-1}) a pH-potenciometriás mérések alapján

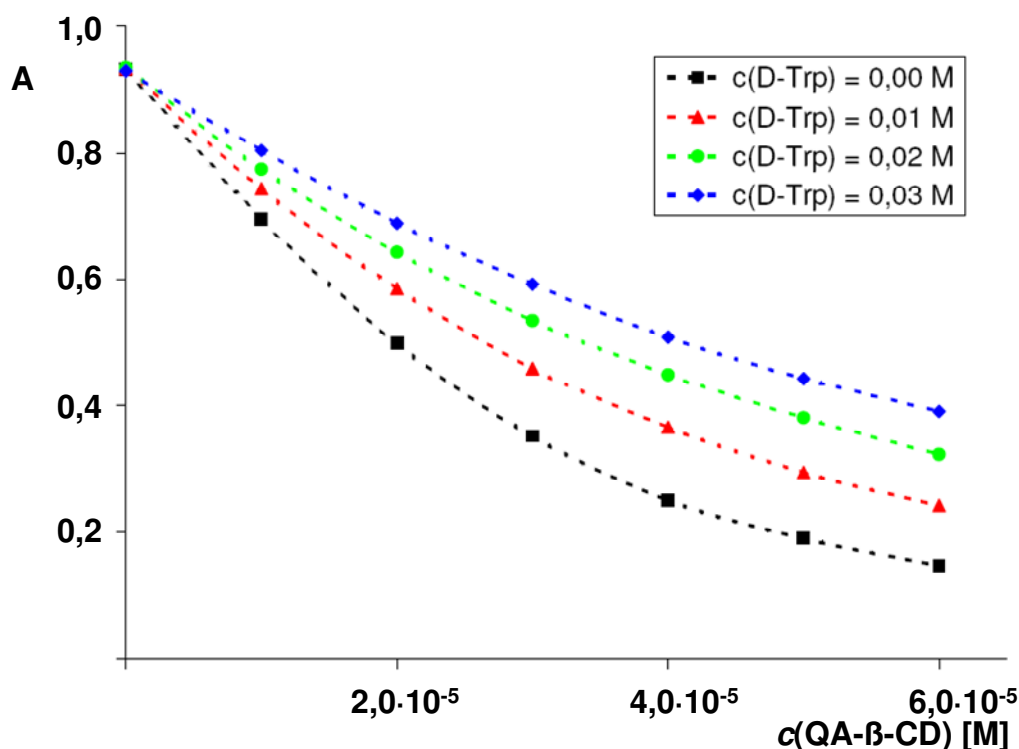
	$A^{2-} \cdot D$	$HA^{-} \cdot D$	$H_2A \cdot D$	$H_3A^{+} \cdot D$
Fenilarzonsav	33±2,4	6,3±1,5	97±4	
Arzanilsav	9±2	17±4	107±10	30±5

5.2. Az aminosavak β -CD- és QA- β -CD-komplexei

5.2.1. A spektrofotometria eredményei

Az aminosavakkal végzett kompetitív spektrofotometriás mérésekben gazdamolekulaként a β -CD-t és a QA- β -CD-t is vizsgáltam lúgos közegben, fenolftalein indikátor segítségével. A QA- β -CD a β -CD-hez hasonlóan csökkenti az indikátoroldat abszorbanciáját (**13. ábra**).

A fenolftalein QA- β -CD-vel alkotott komplexének stabilitását a (9), (13)–(16) egyenletek alapján határoztam meg. A különböző koncentrációarányoknál kapott eredmények jó egyezést mutattak 1:1 gazda:vendég sztöchiometriát feltételezve. Ezek alapján a stabilitási állandó értéke $K_{ID} = (1,42 \pm 0,06) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$.



13. ábra: A fenolftalein abszorbanciájának ($\lambda = 550 \text{ nm}$, $\text{pH} = 10,5$) változása QA- β -CD hatására különböző koncentrációjú D-triptofán jelenlétében

Az alkalmazott közegben (pH=10,5) a vizsgált aminosavak molekulái döntő többségben ($\geq 88\%$) teljesen disszociált formában vannak jelen. Ez alól kivételt csak a tirozin képez, ahol a részecskék kb. 68 %-a dianion, 31%-a egyszeresen negatív töltésű és 1%-a az ikerionos forma. Így míg minden más esetben megfeleltethető a kapott komplexstabilitás a teljesen deprotonált forma komplexképződési állandójának, a tirozin esetében csak egy átlagos komplexstabilitásról beszélhetünk.

A spektrofotometriából számított állandók értékeit a **10. táblázat** foglalja össze.

10. táblázat: A választott aminosavak teljesen disszociált formáinak komplexstabilitási állandói (M^{-1}) β -CD-nel és QA- β -CD-nel

	β -CD	QA- β -CD
L-Fenilalanin	107 \pm 6	93 \pm 8
D-Fenilalanin	100 \pm 9	94 \pm 5
L-Tirozin*	105 \pm 4	180 \pm 10
D-Tirozin*	111 \pm 6	180 \pm 10
L-Triptofán	85 \pm 3	112 \pm 8
D-Triptofán	88 \pm 6	118 \pm 12
L-Leucin	21,5 \pm 3,5	17,5 \pm 3,0
D-Leucin	24 \pm 4	23,5 \pm 3,0
L-Hisztidin	2,8 \pm 0,5	3,7 \pm 1,0
D-Hisztidin	4,5 \pm 1,0	4,8 \pm 0,9
L-Treonin	2,1 \pm 0,5	2,1 \pm 0,7
D-Treonin	~0	2,1 \pm 0,3

* kb. 68% A^{2-} , 31% HA^{-} és 1% H_2A^{\pm}

A két karboxilcsoportot tartalmazó alifás savakra vonatkozó eredményeknek a **4.2.1. fejezetben** felvázolt modellel történő kiértékelése során néhány esetben szokatlan trend mutatkozott a kapott stabilitási állandókban a növekvő aminosav-koncentráció

hatására. Ennek magyarázata a terner (ciklodextrin – indikátor – savanion) komplexek képződésének lehetősége, melyet néhány más esetben is tapasztaltak [95,103].



Ezek figyelembe vételével a kísérleti adatok kielégítő módon leírhatók. A **11. táblázat**ban összegyűjtött stabilitási állandókat kaptam a kérdéses aminosavakra vonatkozóan.

11. táblázat - Az aszparaginsav és a glutaminsav binér és terner komplexeire vonatkozó stabilitási állandók a spektrofotometria eredményei alapján (pH=10,5)

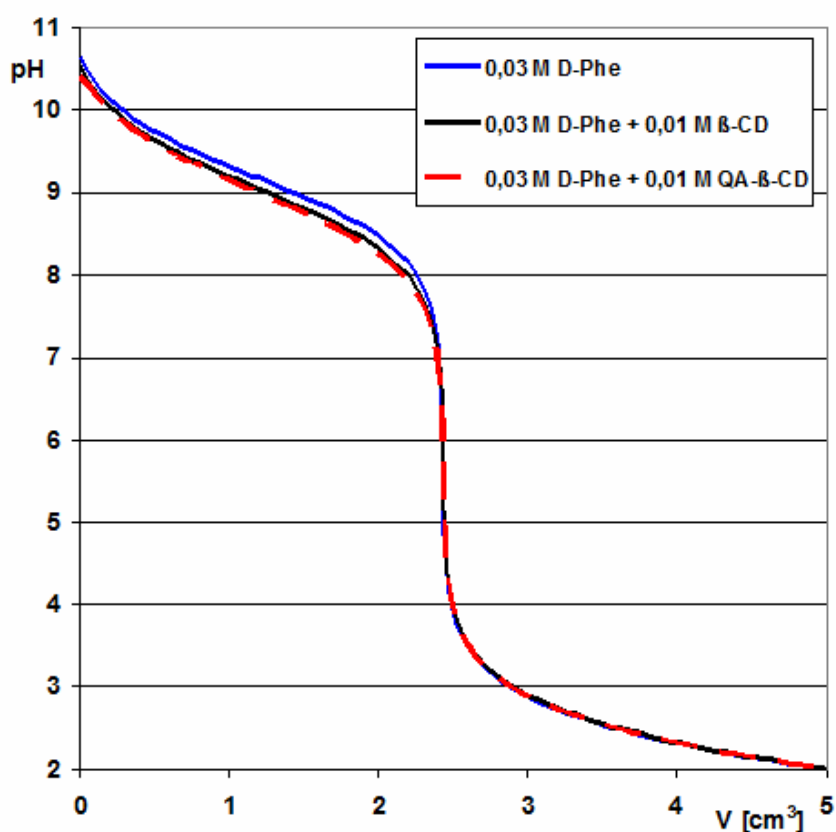
	β-CD		QA-β-CD	
	$K_{AD} [M^{-1}]$	$K_{IDA} [M^{-2}]$	$K_{AD} [M^{-1}]$	$K_{IDA} [M^{-2}]$
L-Aszparaginsav	4,0±0,7		37±10	30±8
D-Aszparaginsav	4,0±0,4		5,3±1,3	
L-Glutaminsav	6,0±2,0	2±0,7	30±10	26±9
D-Glutaminsav	2,5±1,3		3,0±1,5	

5.2.2. A pH-potenciometria eredményei

A ciklodextrint nem tartalmazó mintaoldatok pH-potenciometriás titrálása alapján meghatározott protonálódási állandók az irodalmi értékekkel [96] jó egyezést mutattak.

A zárványképző gazdamolekulák jelenlétében az aminosavak titrálási görbéi az alacsonyabb pH-értékek felé tolódtak, jelezve ezzel, hogy komplexképződés közben nőtt az aminosavak aciditása, vagyis a kevésbé protonált formák képeznek nagyobb stabilitású komplexet.

Ahogy a **14. ábrán** is látható, ez a pH-eltolódás kicsi, mivel a β -CD rossz vízoldhatósága miatt nem tudunk nagyobb ciklodextrin-felesleget biztosítani.



14. ábra: $3,0 \cdot 10^{-2}$ M D-fenilalanin egy ekvivalens nátrium-hidroxiddal készült oldatainak (bemérési térfogat: $20,00 \text{ cm}^3$) titrálási görbéi a ciklodextrinek jelenlétében és anélkül, $0,25 \text{ M}$ sósav mérőoldattal

A különböző gazda–vendég arányoknál elvégzett titrálások eredményeiből a **12. és 13. táblázatban** feltüntetett komplexstabilitási állandókat kaptam.

12. táblázat: Az aminosavak különböző protonáltságú formáinak β -CD-nel képzett komplexeihez tartozó stabilitási állandók (M^{-1}) a pH-potenciometriás titrálások alapján (a rövidítések magyarázatát lásd a **3. táblázatban**)

	$A^{2-} \cdot D$	$A^{-} \cdot D$ ($HA^{-} \cdot D$)*	$HA^{\pm} \cdot D$ ($H_2A^{\pm} \cdot D$)*	$H_2A^{+} \cdot D$ ($H_3A^{+} \cdot D$)*	$H_3A^{2+} \cdot D$
L-Phe		116±12	10±3	6±4	
D-Phe		103±14	10±3	11±5	
L-Tyr	102±10	84±19	4,5±2,5		
D-Tyr	108±12	120±18	30±9		
L-Trp		86±11	7±3	2,5±2,0	
D-Trp		94±13	19±9	8±7	
L-Leu		21±2	5±4	3±1,5	
D-Leu		28±3,5	~0	0,9±0,4	
L-Asp	3,4±0,2	14±1,5	11±6	~0	
D-Asp	11,3±2,0	4,6±0,3	1,5±0,6	~0	
L-Glu	5,7±0,3	19±2	13±7	~0	
D-Glu	2,7±0,1	2±1	1,1±0,2	~0	
L-His		3,3±0,2	1,2±0,5	0,6±0,3	~0
D-His		5±1	5±1	0,4±0,1	~0
L-Thr		2±1	2±1,5	2,5±1,1	
D-Thr		2,8±0,6	0,9±0,5	2,0±1,2	

*tirozin, aszparaginsav, glutaminsav

13. táblázat: Az aminosavak különböző protonáltságú formáinak QA- β -CD-nel képzett komplexeihez tartozó stabilitási állandók (M^{-1}) a pH-potenciometriás titrálások alapján (a rövidítések magyarázatát lásd a **3. táblázatban**)

	$A^{2-}\cdot D$	$A^{-}\cdot D$ ($HA^{-}\cdot D$)*	$HA^{\pm}\cdot D$ ($H_2A^{\pm}\cdot D$)*	$H_2A^{+}\cdot D$ ($H_3A^{+}\cdot D$)*	$H_3A^{2+}\cdot D$
L-Phe		100 \pm 7	0,9 \pm 0,5	3 \pm 2	
D-Phe		107 \pm 9	1,5 \pm 1,5	1 \pm 1	
L-Tyr	188 \pm 22	126 \pm 9	8 \pm 3		
D-Tyr	190 \pm 16	140 \pm 6	9 \pm 3		
L-Trp		107 \pm 16	6,5 \pm 1,5	2,5 \pm 2	
D-Trp		105 \pm 14	11 \pm 7	2 \pm 2	
L-Leu		21 \pm 4	~0	~0	
D-Leu		27,5 \pm 3,5	~0	0,6 \pm 0,4	
L-Asp	37,5 \pm 3,0	31 \pm 9	3 \pm 2	~0	
D-Asp	10,2 \pm 0,8	8,8 \pm 0,7	11,4 \pm 1,0	1,2 \pm 0,5	
L-Glu	30 \pm 5	23 \pm 5	18 \pm 5	~0	
D-Glu	3,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	~0	~0	
L-His		3,1 \pm 0,3	4 \pm 2	3,5 \pm 2	~0
D-His		5,0 \pm 0,3	0,9 \pm 0,1	0,7 \pm 0,5	0,7 \pm 0,2
L-Thr		8,0 \pm 1,5	4,8 \pm 0,7	0,6 \pm 0,6	
D-Thr		5,8 \pm 1,4	4,1 \pm 0,7	0,7 \pm 0,1	

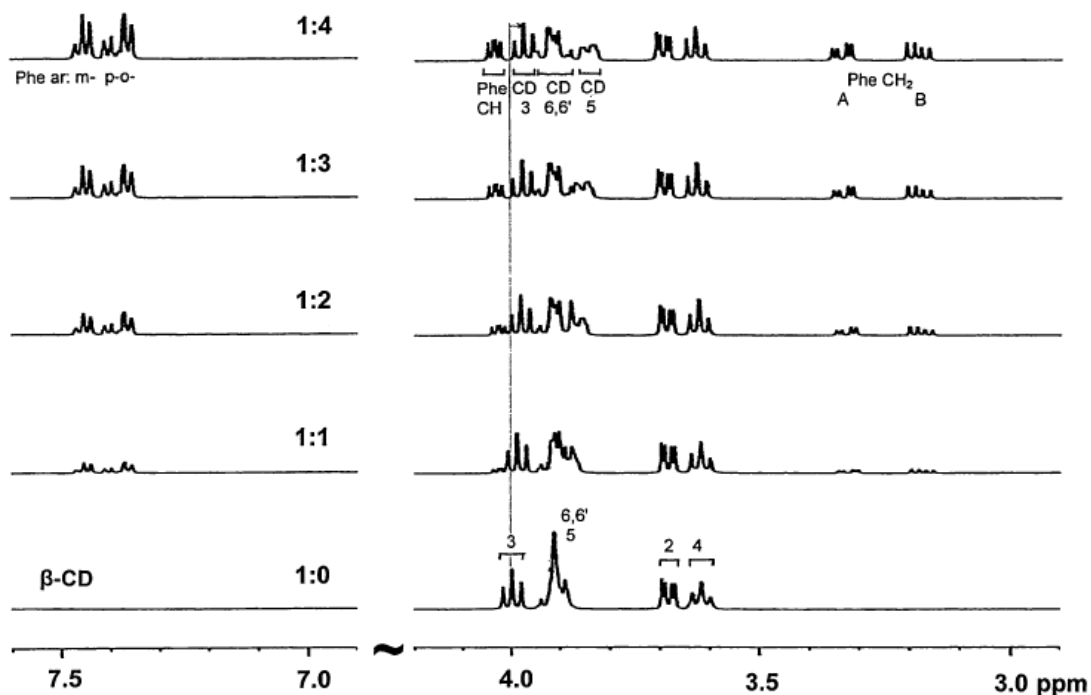
*tirozín, aszparaginsav, glutaminsav

5.2.3. Az NMR-spektroszkópia eredményei

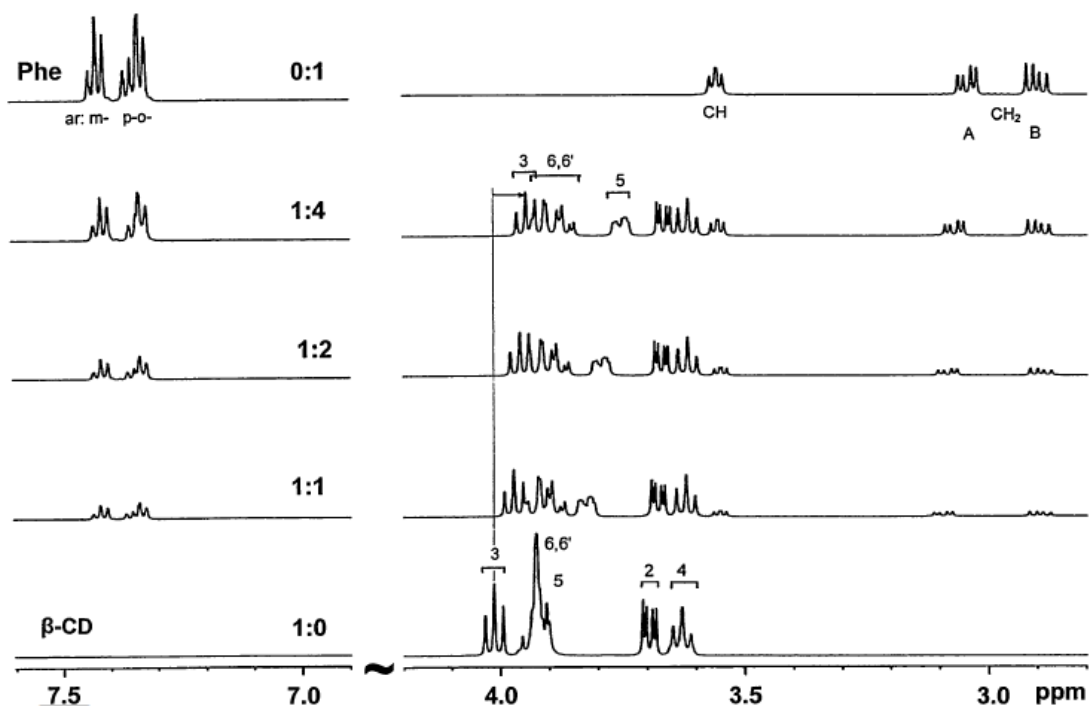
Az L-fenilalanin – β -CD komplex

A semleges közegben felvett ^1H -NMR spektrumokon (**15. ábra**) jól megfigyelhető a β -ciklodextrin 3-as hidrogénjének negatív kémiai eltolódás-változása, illetve az 5-ös hidrogén is egyre jobban kiválik a jelcsoportból a kisebb ppm értékek irányába, növekvő L-fenilalanin-koncentráció hatására, ami megerősíti azt a feltételezést, hogy az aromás gyűrű a ciklodextrin üregébe záródik.

Hasonló tendencia figyelhető meg a lúgos közegben felvett spektrumokon is (**16. ábra**), de a megfelelő jelek eltolódás-változásai jóval nagyobbak, ami bizonyítja a vendégmolekula anionos formájával képzett komplex nagyobb stabilitását, összhangban a pH-potenciometriás eredményekkel.



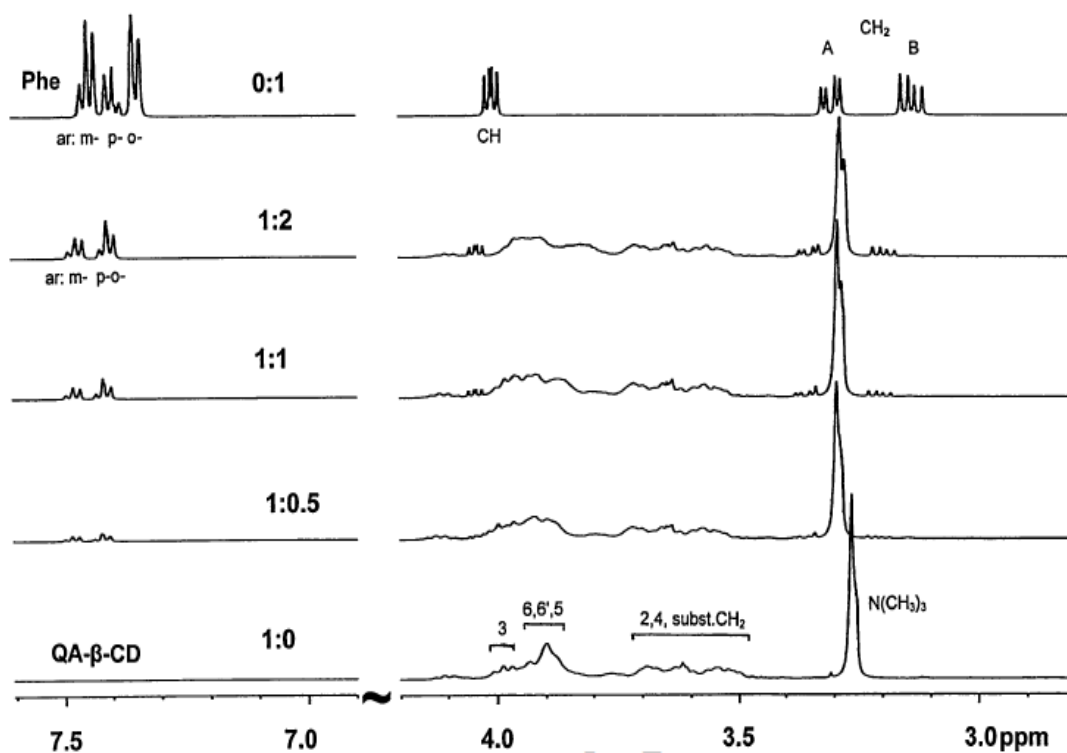
15. ábra: L-fenilalanin és β -CD különböző molarányú semleges oldataiban felvett ^1H -NMR spektrumok részletei (a molarányok a megfelelő spektrumok mellett jelölve)



16. ábra: L-fenilalanin és β -CD különböző molarányú lúgos oldataiban felvett $^1\text{H-NMR}$ spektrumok részletei (a molarányok a megfelelő spektrumok mellett jelölve)

Az *L*-fenilalanin – QA- β -CD komplex

A QA- β -CD-nel felvett ^1H -NMR spektrumok értékelése és összehasonlítása a β -ciklodextrinnel nem egyszerű, mivel ez a ciklodextrin-származék különböző szubsztitúciós fokú molekulák keveréke, ahol az azonos szubsztitúciós fokúak között is lehetnek konstitúciós izomerek. A szubsztitúció miatt új jelekkel bővül a spektrum (**17. ábra**), a H3-H4 régió igen bonyolulttá válik, és átfed a szubsztituens CH_2 -jeleivel. Az mindenesetre megállapítható, hogy a QA- β -CD 3-as hidrogén-jeleinek eltolódás-változása hasonlít a β -ciklodextrinéhez, az 5-ös hidrogéneké viszont nem olyan jelentős. A ^{13}C -spektrum is új jelekkel gazdagodik, és jelszélesedés is megfigyelhető.



17. ábra: *L*-fenilalanin és QA- β -CD különböző molarányú semleges oldataiban felvett ^1H -NMR spektrumok részletei (a molarányok a megfelelő spektrumok mellett jelölve)

A ^{13}C -spektrumok jellemző adatait a **14. táblázat** foglalja össze.

14. táblázat: Az L-fenilalanin ^{13}C -NMR spektrumán látható kémiai eltolódások (ppm)

Pozíció	Közeg	δ_{szabad}	$\delta_{\text{átlag}} - \delta_{\text{szabad}}$					
			L-Phe : β -CD			L-Phe : QA- β -CD		
			4:1	2:1	1:1	2:1	1:1	0,5:1
COO ⁻	semleges	174,33	-0,06	-0,07	*	-0,145	-0,150	-0,100
	lúgos	182,65	-0,26	-0,33	-0,41	-0,92	-1,06	-1,18
CH ₂	semleges	36,74	+0,05	+0,09	*	+0,23	+0,29	+0,35
	lúgos	41,03	+0,22	+0,37	+0,42	+0,52	+0,85	+0,94
CH	semleges	56,42	+0,005	+0,010	+0,015	+0,11	+0,13	+0,14
	lúgos	57,82	+0,05	+0,10	+0,12	+0,11	+0,24	+0,29
C1	semleges	135,50	+0,025	+0,035	*	+0,22	+0,23	+0,29
	lúgos	138,65	+0,015	+0,045	+0,060	+0,16	+0,31	+0,35
C2,6	semleges	129,75	+0,010	+0,005	+0,005	+0,10	+0,09	+0,08
	lúgos	129,84	-0,06	-0,12	-0,14	-0,16	-0,26	-0,29
C3,5	semleges	129,50	-0,040	-0,050	-0,055	-0,01	-0,03	-0,05
	lúgos	129,01	-0,03	-0,07	-0,08	-0,04	-0,06	-0,07
C4	semleges	128,08	-0,020	-0,030	-0,035	-0,02	-0,02	-0,03
	lúgos	127,06	~0	~0	+0,01	+0,07	+0,07	+0,09

* a jelek túl kicsik ahhoz, hogy a kémiai eltolódás meghatározható legyen

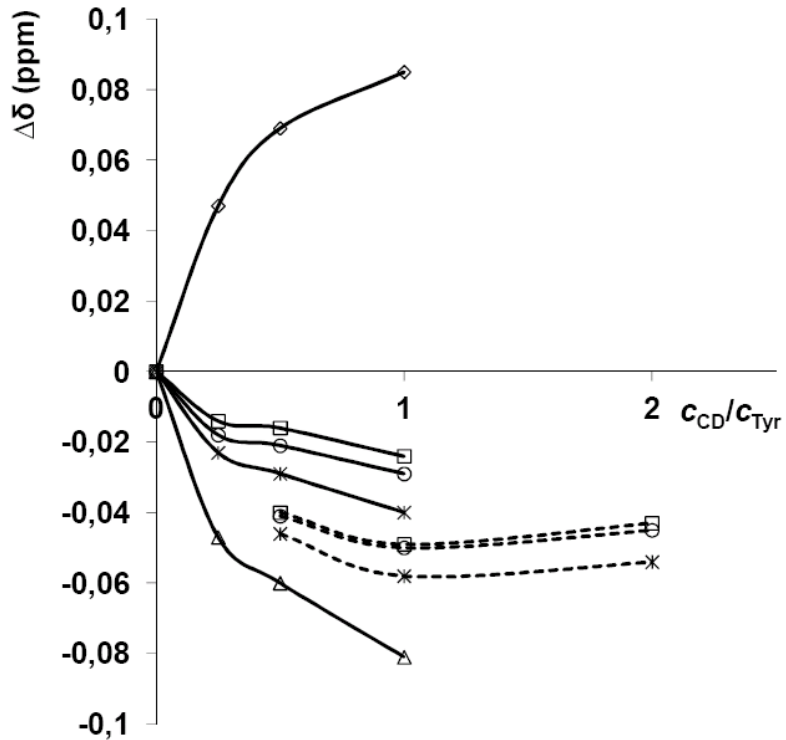
Az L-tirozin ciklodextrin-komplexei

Mivel a tirozin oldhatósága semleges közegben kicsi, csak lúgos közegben készültek NMR-felvételek.

A ciklodextrin hidrogén- és szén-jeleit tekintve hasonló tendenciákat találunk, mint a fenilalanin jelenlétében, de a kémiai eltolódás-változások mértéke valamivel nagyobb a C(1)H, C(2)H és C(4)H jelek esetében. Jelentős a különbséget a primer hidroxil-csoportokhoz kapcsolódó C(6)H₂ jelekben találtunk.

A tirozin hidrophil aminosav-részének ^1H - és ^{13}C -jeleihez tartozó eltolódások változása is nagyon hasonló a fenilalaninnál megfigyelt tendenciákhoz, de a változások itt is nagyobbak, főleg a QA- β -CD hatására (**18. ábra** és **15. táblázat**). Jelentős különbség, hogy szemben a fenilalaninnal tapasztaltakkal, a tirozin aromás szén- és hidrogénjeleiben

szignifikáns negatív kémiai eltolódás-változás figyelhető meg, kivéve a C(1)-szénatomot, mely a CH₂-vel kapcsolódik. Ez a változás kiemelkedő mértékű a para helyzetű szénatom jeleinél.



18. ábra: Az L-tirozin fontosabb ¹H-jeleihez tartozó kémiai eltolódások változása lúgos közegben növekvő CD-arány mellett (*folytonos vonal:* β-CD; *szaggatott vonal:* QA-β-CD; *csúcsára állított négyzet:* CH₂A; *háromszög:* CH₂B; *ж:* CH; *kör:* orto helyzetű aromás H; *négyzet:* meta helyzetű aromás H). A CH₂-protonok kémiai eltolódása QA-β-CD mellett kívül esik a grafikon tartományán.

15. táblázat: Az L-tirozin lúgos közegből felvett ^{13}C -NMR spektrumán látható kémiai eltolódások (ppm)

Jel	δ_{szabad}	$\delta_{\text{átlag}} - \delta_{\text{szabad}}$					
		L-Tyr : β -CD			L-Tyr : QA- β -CD		
		4:1	2:1	1:1	2:1	1:1	0,5:1
COO^-	183,0	-0,42	-0,55	-0,65	-1,0	-1,35	-1,5
CH_2	40,12	+0,36	+0,53	+0,71	+1,05	+1,41	+1,57
CH	57,96	+0,14	+0,21	*	+0,43	+0,58	+0,65
C1	124,7	~0	~0	~0	+0,22	+0,23	+0,29
C2,6	131,10	-0,16	-0,24	-0,31	-0,49	-0,65	-0,72
C3,5	118,7	-0,15	-0,25	-0,25	-0,18	-0,28	-0,40
C4	163,9	-0,20	-0,40	-0,25	-0,2	-0,4	-0,65

* a jel túl kicsi ahhoz, hogy a kémiai eltolódás meghatározható legyen

6. AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE (MEGBESZÉLÉS)

6.1. A szervesen savak aromás származékainak β -ciklodextrin-komplexei

A szervesen savak aromás származékaira vonatkozó eredmények alapján egyhangúan megállapítható, hogy a legnagyobb komplexstabilitást a semleges formák esetében tapasztalhatjuk, és ezek értéke mindhárom sav esetében hasonló nagyságrendű. Tehát a komplexképződésben az aromás rész bezáródása a meghatározó, a hidrofíli részek hozzájárulása a kölcsönhatáshoz nem jelentős. Amint az más esetekben is általános, a töltések jelenléte csökkenti a komplexképződést: a nagy hidratáltság gátolja az apoláris üregbe való bezáródást.

A vizsgált vegyületek közül a fenilbórsav a legkevésbé savas tulajdonságú, a semleges formájának komplexstabilitása viszont lényegesen nagyobb a másik két savhoz viszonyítva. Ezenkívül értéke közelebb esik más gyengén savas aromás vegyületekre, például a benzoésavra vonatkozó stabilitási állandókhoz [104]. Erre az szolgálhat magyarázattal, hogy az erősebb savak megnövekedett hidratációja jobban gátolja az aromás gyűrű mélyebb bezáródását az üregbe. Mindez jó összhangban van azzal a megfigyeléssel, miszerint a vendégmolekulák vízzoldhatósága és komplexképző képessége ellentétes trendet követ [105].

A p-amino-fenilarszonsav esetében a teljesen protonált illetve teljesen deprotonált forma komplexstabilitását összehasonlítva úgy tűnik, hogy a protondonor csoportok jelenléte kedvezőbb a komplexképződés szempontjából.

6.2. Az aminosavakra vonatkozó egyensúlyi vizsgálatok eredményei

6.2.1. Az aminosavak komplexképzése β -ciklodextrinnel

A vizsgált aminosavakat β -ciklodextrinnel képzett komplexeik stabilitása alapján három csoportba lehet sorolni. A legnagyobb értékeket a várakozásnak megfelelően az aromás aminosavaknál kaptam, ami szintén az aromás csoportok zárványképződésben betöltött elsődleges szerepét támasztja alá. Számottevő stabilitású komplexeket ezenkívül a leucinnál lehetett kimutatni. A legkisebb stabilitást az aszparaginsav, a glutaminsav, a hisztidin és a treonin komplexeinél találtam.

Az aromás aminosavak β -ciklodextrinnel alkotott komplexeinek stabilitási állandói nagyságrendileg megegyeznek a szervetlen savak aromás származékaihoz tartozó értékekkel, de meglepő különbség ezekben az esetekben az arány megfordulása: a teljesen deprotonált formák komplexeinek stabilitása a legnagyobb, míg a látszólag semleges formáké sokkal kisebb. Más aromás vegyületekhez hasonlítva is jelentős a különbség. A látszólag semleges formák komplexstabilitása lényegesen kisebb a benzooesavhoz vagy a fenolhoz viszonyítva, míg az anionos formák stabilitási állandói jóval nagyobbak a benzoát- vagy fenolátionokéhoz képest [40,42]. Ez a tapasztalat ellentétes a ciklodextrinek zárványkomplexeivel kapcsolatban eddig megfigyelt általános trendekkel [43,72], bár néhány irodalmi előzményben találhatunk hasonló eredményeket [44,82,89], ahol semleges közegben kicsi, lúgos közegben pedig jelentős komplexstabilitást mértek, bár az abszolút értékek eltérnek az általam kapott eredményektől a **2.2.2. fejezetben** tárgyalt okok miatt.

A jelenség értelmezéséhez össze kell hasonlítanunk a különböző formákat a ciklodextrin peremével és a vizes közeggel való kölcsönhatásaik szempontjából. Ha az aminosav-molekulák protonálódását a mikroállandók tükrében vizsgáljuk, kiderül, hogy a látszólag semleges forma valójában nagyrészt ikerionos [77]. Ezt megerősíti az a megfigyelés is, hogy például a fenilalanin oldhatósága sem csökken le drasztikusan az izoelekromos pont közelében. Ebből arra következtethetünk, hogy az ammónium- és a

karboxilát-csoport jelenléte kedvező a hidratáció szempontjából, ez viszont a zárványképződés ellen hat.

Kiegészíthetjük a képet Shanmugam és munkatársai feltételezésével is, miszerint a karboxilát- és ammónium-csoportok között intramolekuláris hidrogénhid alakulhat ki β -ciklodextrin jelenlétében, így ezek a csoportok kevésbé lépnek kölcsönhatásba a gazdamolekula szekunder hidroxiljaival [80]. Ezzel szemben a teljesen deprotonált forma esetében hasonló intramolekuláris gyűrű nem jöhet létre, a protonakceptor csoportok a ciklodextrin peremi hidroxil-csoportjaival alakíthatnak ki hidrogénkötéseket. Így kétpontos kölcsönhatás jön létre a ciklodextrin és az aminosavrész funkciós csoportjai között.

A szervetlen savak aromás származékaival való összehasonlításban meg kell említeni az aromás aminosavak azon szerkezeti sajátosságát is, hogy a metilén-csoport elegendő távolságot biztosít az aromás és az aminosav-rész között ahhoz, hogy a hidrofób gyűrű az üregbe záródhasson a poláris csoport teljes dehidratálódása nélkül. Ezek a hatások együttesen járulnak hozzá a stabilabb zárványkomplex létrejöttéhez a disszociált formák esetében.

A tirozin dianionos formája a HA^- -hoz és a fenilalanin A^- formájához is meglehetősen hasonlóan viselkedik a komplexben, ami arra utal, hogy a para helyzetű hidroxil-csoport az aromás gyűrűn nem változtatja meg jelentősen a β -ciklodextrinnel képzett komplex stabilitását.

Mivel a potenciometriás titrálások során elért legalacsonyabb pH-n az aminosav-kationok még nem kerülnek többségbe, ez a módszer kevésbé érzékeny ezen formák komplexképzésére, illetve a kapott értékek bizonytalansága nagyobb. Ennek ellenére megállapítható, hogy az aromás aminosavak teljesen protonált formái csak kis stabilitású komplexeket képeznek a β -ciklodextrinnel.

Az aromás aminosavakon kívül a spektrofotometriás eredmények alapján a leucinnál számíthatunk számottevő komplexképződésre β -ciklodextrinnel. Az α -szénatomhoz kapcsolódó izobutil-csoport hidrofobicitása és térigénye magyarázattal szolgálhat erre: az elágazó oldallánc legalább részlegesen kitölti az üreget. Ebben az esetben is az anionos formák komplexstabilitása a legnagyobb, amely hasonló okokra vezethető vissza, mint az aromás aminosavak esetében.

Az alkalmazott módszerek eredményei nem utalnak számottevő komplexképződésre a treonin és a β -ciklodextrin között, az aminosav egyetlen protonáltsági formájában sem, ami érthető annak kis mérete miatt.

Az aszparaginsav és a glutaminsav komplexei a vendégmolekula kis mérete és hidrofilitása miatt szintén a kis stabilitású csoportba tartoznak. Érdekes összehasonlítani a hozzájuk tartozó eredményeket az aromás aminosavak látszólag semleges formáira meghatározott értékekkel, melyek hasonló tartományban mozognak. Az erős hidratáció hatása mindkét esetben hasonló, és míg az egyik csoportnál az aromás gyűrű bezáródásáról beszélünk, a másiknál azt kell feltételeznünk, hogy a karboxil- vagy karboxilátcsoportok kölcsönhatásba léphetnek a peremi hidroxil-csoportokkal akár a ciklodextrin mindkét oldalán, főleg a glutaminsav esetében. Az aromás gyűrű hiányában a poláris csoportok kölcsönhatásai válnak dominánssá.

6.2.2. A β -CD és a QA- β -CD összehasonlítása

Az aminosavak kölcsönhatását a QA- β -CD-nel vizsgálva meglepő tapasztalat volt, hogy a β -ciklodextrinéhez nagyon hasonló stabilitási állandókat kaptam, még az anionos formák esetében is. A várakozással ellentétben az ellentétes töltések együttes jelenléte nem növelte a komplexstabilitást. A létrejövő elektrosztatikus kölcsönhatást ezek szerint valami ellensúlyozza: valószínűleg a QA- β -CD szubsztituensei által okozott sztérikus gátlás, hiszen azok méretét és számát nem lehet figyelmen kívül hagyni. Egy gyűrűhöz akár négy szubsztituens is kapcsolódhat, ami már jelentős akadályt jelent a zárványképződésben. További magyarázattal szolgálhat, hogy mivel a ciklodextrin-gyűrű intramolekuláris hidrogénkötésekből álló másodlagos öve a szubsztitúció miatt nem alakulhat ki, a flexibilitása megnő. Ez a szubsztituensek számára is több konformációs lehetőséget jelent, csökkentve sztérikus gátló hatásukat, de az üreg és vendégmolekula között kialakuló van der Waals kölcsönhatásokat is.

Jelentős különbség a szubsztituátlan és az ionos ciklodextrinnel való komplexképzés között csak néhány aminosav esetében tapasztalható: az L- és D- tirozin, az L-aszparaginsav és az L-glutaminsav anionos formáinál. Magyarázatul szolgálhat, hogy az

aminosav-rész és az oldallánc funkciós csoportjainak távolsága lehetővé teszi, hogy a ciklodextrin mindkét peremével elektrosztatikus kölcsönhatás vagy hidrogénkötések alakuljanak ki. (A ciklodextrinek primer hidroxil-csoportjai is szerepelhetnek protondonorként.) Ez a többpontos kölcsönhatás képes kompenzálni a szubsztituensek okozta gátlást is, elősegíti a mélyebb behatolást az üregbe, és megnövekedett komplexstabilitást eredményez. A legstabilisabb komplexet az aromás oldalláncnak köszönhetően a tirozin kétszeresen negatív töltésű anionja képezi a QA- β -CD-nel.

A szubsztituálatlan ciklodextrinhez hasonlóan a QA- β -CD is csak kis stabilitású komplexeket képez az aminosavak ikerionos és kationos formáival. Ez érthető, hiszen a pozitív töltések taszító hatása megakadályozza az erősebb zárványképződést.

6.2.3. Az optikai izomerek összehasonlítása

Az aminosavak L- és D-enantiomereit összehasonlítva nem találtam jelentős különbséget sem β -CD-nel, sem QA- β -CD-nel képzett komplexeik stabilitásában, még a triptofán esetében sem, ellentétben a korábban Kahle és Holzgrabe által közölt eredményekkel [89]. A szerzők a pH-potenciometriás mérések alapján mintegy 4-5-szörös különbséget állapítottak meg az L- és D-triptofán megfelelő protonáltságú formáinak komplexstabilitási állandói között. Az adott vegyületre vonatkozóan nem található hasonló nagyságrendű enantiomerszelekcióról beszámoló más irodalmi előzmény.

Kisebbségi eltéréseket viszont találtam az enantiomerek komplexstabilitása között a tirozin HA^- és H_2A^+ és a triptofán HA^+ formája esetében β -CD-nel, de ezek a mérések hibahatáránál nem nagyobbak, kivéve a tirozin ikerionos formáját. Hasonlóan kis enantioszelektivitást közöltek acetilezett aminosavakra vonatkozóan β - és ammónium- β -ciklodextrinrel, illetve aminosavak metilésztereire vonatkoztatva 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrinnel [44,106,107].

Chisholm és munkatársai a szubsztituálatlan β -ciklodextrin és egy nagy szubsztitúciós fokú kvaterner ammónium-származékának komplexképző képességét hasonlították össze, különböző aminosavakat vizsgálva vendégmolekulaként [27]. Az NMR

spektrumok alapján csak a fenilalanin és a tirozin metilidén-csoportjához tartozó hidrogénjel kémiai eltolódás-változásai között találtak számottevő különbséget, és azt is csak QA- β -CD jelenlétében.

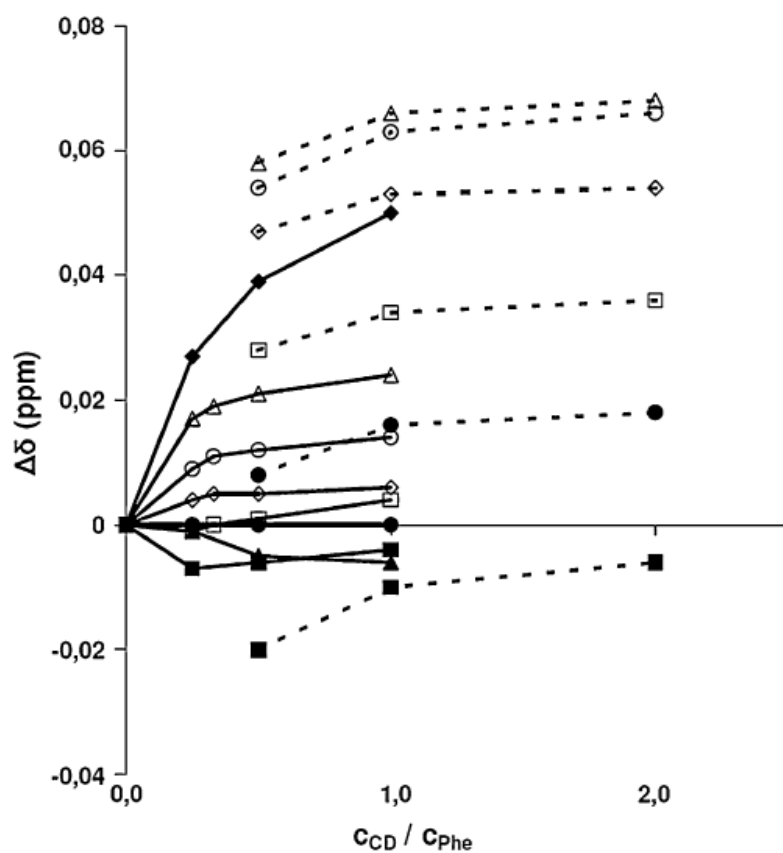
Az aszparaginsav és a glutaminsav esetében is szignifikáns különbségeket találtam az enantiomerek komplexképzési tulajdonságai között, mindkét ciklodextrinre vonatkozóan: a két karboxilcsoportot tartalmazó aminosavakkal szemben a QA- β -CD egyértelmű L-preferenciát mutat. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az enantiomerszelektív hatás szempontjából a funkciós csoportok és a ciklodextrin peremi részei között kialakuló többpontos kölcsönhatásoknak van számottevő szerepe. Jelentős különbséget egy aminosav–ciklodextrin komplex esetében sem tudtam kimutatni az enantiomerek között.

Mindezek ellenére a ciklodextrin-származékokat sikeresen alkalmazzák az elválasztástechnika különböző ágaiban, mivel a kromatográfiai rendszerek felépítéséből adódóan a kis különbségek megsokszorozódnak, megfelelő elválasztást eredményezve.

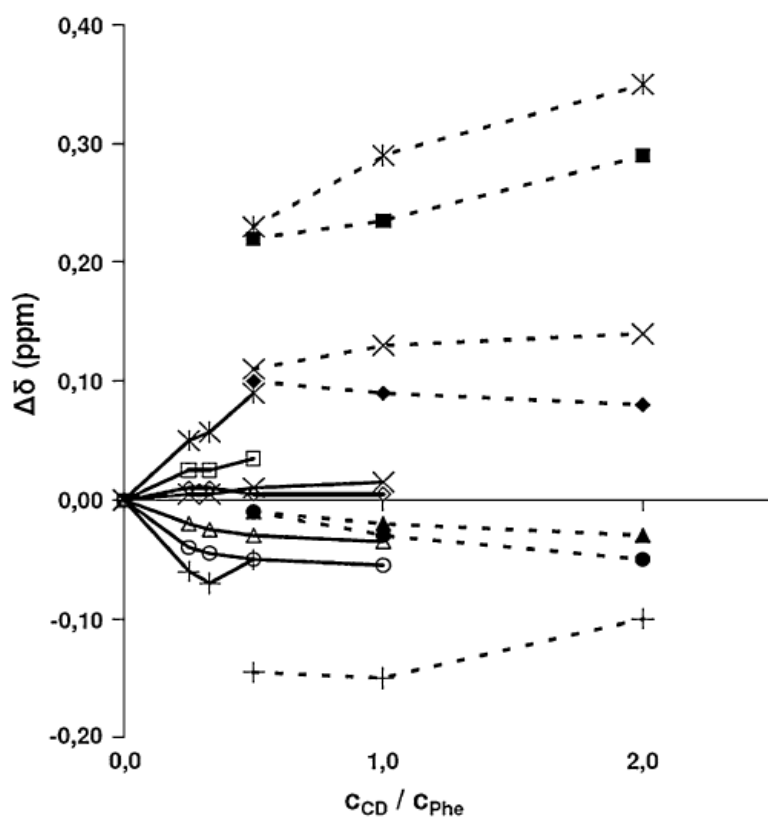
6.3. Az NMR spektrumokból nyerhető szerkezeti információk

6.3.1. Az L-fenilalanin – β -CD komplex

A NMR-eredmények egyértelműen bizonyítják, hogy a fenilalanin amino- és karboxil-csoportjának is jelentős a szerepe a komplexképződésben. Viszonylag nagy kémiai eltolódás-változások figyelhetők meg a CH₂-csoport ¹H- és ¹³C-jeleiben (**19. és 20. ábra**), illetve a CH- és COO⁻-csoportoknak megfelelő ¹³C-jeleknél (**20. ábra és 14. táblázat**).



19. ábra: Az L-fenilalanin fontosabb ^1H -jeleihez tartozó kémiai eltolódások változása növekvő CD-arány mellett (*üres jelek:* semleges közeg; *tömör jelek:* lúgos közeg; *folytonos vonal:* β -CD; *szaggatott vonal:* QA- β -CD; *csúcsára állított négyzet:* CH_2A ; *háromszög:* CH_2B ; *kör:* orto helyzetű aromás H; *négyzet:* meta helyzetű aromás H) A CH_2 -protonok kémiai eltolódása lúgos közegben QA- β -CD mellett kívül esik a grafikon tartományán.



20. ábra: Az L-fenilalanin fontosabb ^{13}C -jeleihez tartozó kémiai eltolódások változása növekvő CD-arány mellett, semleges közegben (üres jelek folytonos vonallal: β -CD; tömör jelek szaggatott vonallal: QA- β -CD; +: COO^- ; x: CH; ж: CH_2 ; négyzet: aromás C1; csúcsára állított négyzet: C2,6; kör: C3,5; háromszög: C4)

Az L-fenilalanin CH_2 -protonjai a nem teljesen szabad forgás miatt nem ekvivalensek (semleges közegben $\delta_{\text{szabad A}} = 3,308$ ppm, $\delta_{\text{szabad B}} = 3,141$ ppm), az aminos- vagy a karboxilcsoport eltérően befolyásolja a kémiai környezetüket. Ha semleges közegben növeljük a ciklodextrin arányát a fenilalaninhoz képest, a két hidrogén különbözősége csökken (a két jel közeledik egymáshoz), míg lúgos közegben éppen ellenkező tendencia figyelhető meg (**15. és 16. ábra**). Ez összhangban van Shanmugam és munkatársainak feltételezésével, amely szerint semleges közegben intramolekuláris hidrogénkötés jöhet létre az ammónium- és a karboxilcsoport között (közvetlenül vagy egy vízmolekula közvetítésével), ezt a ciklodextrinnel való kölcsönhatás még inkább elősegítheti [80]. Lúgos közegben viszont az aminos- és a karboxilát-csoportok által a

ciklodextrin peremi hidroxci-csoportjaival létesített hidrogénkötések miatt a rotáció gátolttá válik.

A karboxilát-csoport ^{13}C -jeleinek változása is ezt támasztja alá: lúgos közegben jelentős negatív kémiai eltolódás-változás tapasztalható növekvő β -ciklodextrin-arány hatására. Ugyanez a változás semleges közegben sokkal kisebb (**14. táblázat**). A karboxil-csoportok kémiai környezetének megváltozását az okozhatja, hogy a hidrofíl aminosav-rész kölcsönhatásba lép a ciklodextrin szekunder hidroxci-csoportjaival.

6.3.2. Az L-fenilalanin – QA- β -CD komplex

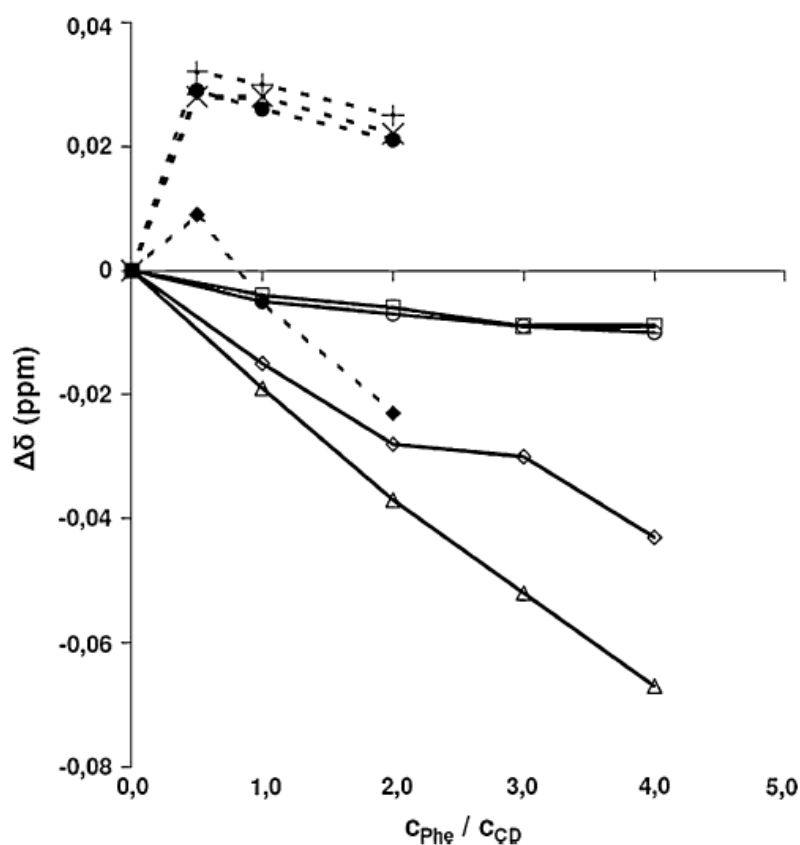
Az L-fenilalanin kémiai eltolódásai mind az ^1H -, mind a ^{13}C -NMR spektrumokban nagyon hasonló jellegű változásokat mutatnak a különböző ciklodextrinek hatására, de nem egyforma mértékben (**19. és 20. ábra**). Ez igazolja a zárványkomplex létrejöttét a QA- β -CD esetében is. Látszólag ellentmond a potenciometria eredményeinek, hogy az aromás gyűrű C1-szénatomjához és az aminokarbonsav szubsztituenshez tartozó szén- és hidrogénjelek kémiai eltolódása határozottabban változik a QA- β -CD hatására. A többi aromás jelnél a különbségek csak kismértékűek, és a meta- illetve para-helyzetű szénatomok jeleinek negatív eltolódása is kisebb QA- β -CD hatására semleges közegben (**20. ábra**). A ciklodextrinek jeleinek a változásával együtt ebből arra lehet következtetni, hogy ebben az esetben a komplexképződés elsősorban a gazdamolekula szekunder oldalhoz közeli részét érinti.

A CH_2 -, CH - és COO^- -jelek nagymértékű eltolódás-változása a ^{13}C -NMR spektrumon a szubsztituens sztérikus hatásának és a pozitív töltések közelségének köszönhető. Bár a hidrofíl csoportok erősebb kölcsönhatásba lépnek a QA- β -CD szubsztituenseivel, a behatolás kevésbé mély az üregben, és ennek a két hatásnak az eredőjeként a komplexstabilitás a β -ciklodextrinéhez hasonló marad.

A kvaterner ammónium-csoportoz tartozó szén- és hidrogénjelek szinte alig változnak lúgos közegben az anionos vendégmolekula növekvő koncentrációjának hatására. Ez a meglepő tapasztalat azzal magyarázható, hogy egyrészt a metilcsoportok erősen árnyékolják az ellentétes töltések közti kölcsönhatást, másrészt lúgos közegben más

vendégmolekula hiányában a kvaterner ammónium-csoportokat ellenionok veszik körül (klorid-, hidroxid-, karbonátion). A komplexképződés során ezek cserélődnek ki részben a karboxilát-csoportra, így a kémiai környezet hasonló marad.

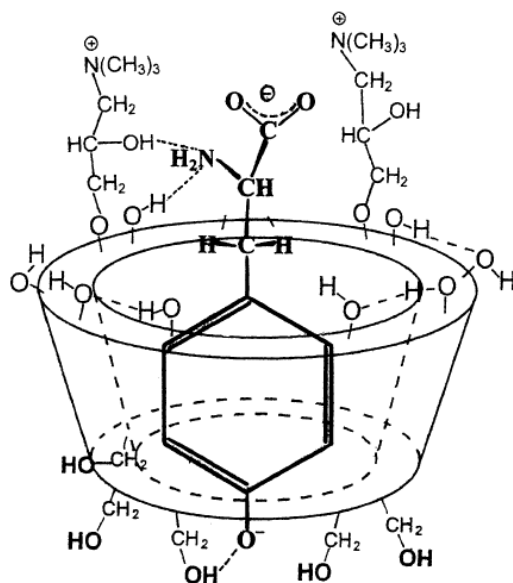
A QA- β -CD és az L-fenilalanin semleges közegben történő vizsgálatánál több, a gazdamolekulához tartozó hidrogénjel esetében tapasztaltuk, hogy a kémiai eltolódás-változások nem monoton változnak a növekvő vendégmolekula-arány hatására (**21. ábra**), és 2:1 gazda-vendég aránynál maximumot mutatnak. Ebből a 2:1 gazda-vendég sztöchiometriájú komplexek jelenlétére lehet következtetni ciklodextrin-felesleg mellett. A potenciometriás és spektrofotometriás méréseknél alkalmazott 1:1 sztöchiometriájú modellt ez nem befolyásolja, hiszen ezen mérések során minden esetben az aminosavak voltak feleslegben.



21. ábra: A ciklodextrinek fontosabb ^1H -jeleihez tartozó kémiai eltolódások változása növekvő L-fenilalanin-arány mellett lúgos közegben (üres jelek folytonos vonallal: β -CD; tömör jelek szaggatott vonallal: QA- β -CD; kör: H1; négyzet: H2; csúcsára állított négyzet: H3; háromszög: H5; x: a kvaterner ammónium-szubsztituens CH-ja; +: NMe)

6.3.3. Az L-tirozin ciklodextrin-komplexei

Az eredmények mind arra mutatnak, hogy a tirozin lúgos közegben mélyebb penetrációra képes a β -CD, és még inkább a QA- β -CD üregében, és nemcsak az aminosav-rész funkciós csoportjai léphetnek kölcsönhatásba a szélesebb perem hidroxil-csoportjával, hanem a fenolát-funkció és a primer hidroxilok között is létrejöhet hidrogénkötés. Az L-tirozin – QA- β -CD komplex egy lehetséges szerkezetét a **22. ábrán** vázoltam fel.



22. ábra: Egy lehetséges szerkezet a (teljesen deprotonált) L-tirozin – QA- β -CD komplex leírására (az átláthatóság kedvéért az ábrán csak két szubsztituens szerepel, illetve néhány peremi hidroxil-csoport a teljesség igénye nélkül)

Az aminosavakhoz hasonló vegyületek esetében más szerzők is tárgyalták a kialakuló hidrogén-kötések jelentőségét a vendégmolekula hidrofíl csoportjai és a ciklodextrin-gyűrű szekunder hidroxil-csoportjai között [27,108]. Sompornpisut és munkatársai molekula-modellezési módszerekkel hasonlították össze a különböző elrendeződések valószínűségét az L-fenilalanin – β -ciklodextrin komplex esetében [87], és az ellentétes orientáció lehetőségét sem tudták kizárni, ahol az aminosav funkciós csoportjai a ciklodextrin primer oldalával alakítanak ki kölcsönhatásokat. A szűkebb peremi rész hidroxil-csoportjai is részt vehetnek protondonorként a hidrogénkötés létrehozásában.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Szervetlen savak aromás származékainak vizsgálata

Meghatároztam a fenilbórsav, a fenilarzonsav és az arzanilsav különböző protonáltsági állapotaiban a β -ciklodextrinnel kialakuló komplexek stabilitási állandóit. Eredményeim alapján az alábbi megállapításokat teszem:

1.1. Megállapítottam, hogy a vizsgált savak 1:1 arányú komplexeket képeznek β -ciklodextrinnel.

1.2. A vendégmolekula aromás része és a ciklodextrin ürege közötti illeszkedés dominanciájára utal, hogy a vizsgált savak megfelelő protonáltságú formái hasonló nagyságrendű komplexstabilitást mutatnak.

1.3. A töltések jelenléte a vendégmolekulán csökkenti a kialakuló komplex stabilitását a megnövekedett hidratáció miatt, ugyanakkor a szervetlen rész savasságának csökkenésével a komplexstabilitás megnő, mivel a vendégmolekula kevésbé hidratált az erősebb savakhoz képest.

2. Az α -aminosavak vizsgálata

Nyolc aminosav L- és D-enantiomerjének különböző protonáltsági állapotokra vonatkozó komplexstabilitási állandóit határoztam meg β -ciklodextrinnel és kvaterner ammónium- β -ciklodextrinnel, illetve egyes aminosavak esetében a komplexek szerkezetét is vizsgáltam. A komplexstabilitási és a spektrális eredményekből az alábbi következtetések vonhatóak le:

2.1. Az aromás aminosavak esetében a hidrofób gyűrű bezáródása a meghatározó a komplexképződés szempontjából, mindamelllett az aminosav rész protonáltsági állapota is jelentős szerepet játszik. Az aromás gyűrűt nem tartalmazó aminosavak esetében a hidrofil funkciók csoportok válhatnak dominánssá a kölcsönhatásokban.

2.2. Az aminosavak ikerionos formái csak kis stabilitású komplexet képeznek a ciklodextrinnekkel, feltehetően a megnövekedett hidratáltság és az intramolekuláris hidrogénkötés kialakulásának lehetősége miatt.

2.3. A teljesen deprotonált aminosav-anionok komplexeinek a stabilitása meglepően nagy. Ez arra utal, hogy az intramolekuláris gyűrű kialakulására nincs lehetőség, a ciklodextrin peremi hidroxil-csoportjaival való kölcsönhatás viszont előnyösebb.

2.4. A teljesen protonált formák csak kis stabilitású komplexeket képeznek a β -ciklodextrinnel, és ez még kifejezettebben igaz a kvaterner ammónium- β -ciklodextrinre: az azonos töltések között létrejövő taszítás megakadályozza a stabilisabb komplexek kialakulását.

2.5. A kvaterner ammónium- β -ciklodextrin pozitív töltései nem jelentenek előnyt az anionokkal való komplexképzésben, csak akkor, ha a vendégmolekula a ciklodextrin mindkét peremén hidrogénhidakat tud kialakítani a hidroxil-csoportokkal, és ez a többpontos kölcsönhatás legyőzheti a szubsztituensek sztérikus gátlását.

2.6. Mivel az enantiomerek megfelelő komplexstabilitási állandói között nem találtam jelentős különbséget egyik ciklodextrin esetében sem, megállapítható, hogy a töltések jelenléte ezen a gazdamolekulán nem növeli nagymértékben az enantioszelektivitást.

ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám során a töltések zárványkomplex-képződésben betöltött szerepét vizsgáltam szubsztituálatlan és ionos ciklodextrinokkal, kitérve újabb hidrogénkötések kialakulásának lehetőségére és a szubsztituensek jelenléte miatt megváltozott sztérikus viszonyokra is.

Két vegyületcsaládot vizsgáltam: szervesen savak aromás származékainak komplexképzését β -ciklodextrinnel, és az aminosavak L- és D-enantiomerjeinek kölcsönhatásait β -ciklodextrinnel és egy kvaterner-ammónium származékával, az összes protonáltsági formát tekintetbe véve. A vizsgálati módszer kompetitív spektrofotometria (savas- és lúgos közegben) és pH-potenciometria volt, ezenkívül ^1H - és ^{13}C -NMR méréseket is végeztem.

A szervesen savak aromás származékainál a legnagyobb komplexstabilitást β -ciklodextrinnel a semleges formák esetében tapasztaltam. A komplexképződésben az aromás rész bezáródása a meghatározó, a hidrofil részek kémiai minősége nem befolyásolja a kölcsönhatást jelentősen. A töltések jelenléte csökkenti a komplexképződést: a nagy hidratáltság gátolja az apoláris üregbe való bezáródását.

Az aminosavak esetében β -ciklodextrinnel az ikerionos formák csak kis stabilitású komplexet képeznek: a töltéssel rendelkező csoportok hidratáltsága és esetleg intramolekuláris hidrogénkötések kialakulása miatt csökken a penetráció és a kölcsönhatás a ciklodextrin peremével. Ezzel szemben a teljesen deprotonált aminosav-molekulák esetében a protonakceptor csoportok által létrehozott intermolekuláris hidrogénhidak stabilizálják a komplexet.

A szubsztituálatlan és a kvaterner ammónium- β -ciklodextrin komplexeit összehasonlítva megállapítható, hogy a legnagyobb stabilitásnövekedést azoknak az aminosavaknak az anionjainál találunk, amelyek szerkezetüknél fogva egyszerre tudnak kapcsolatba lépni a ciklodextrin primer és szekunder peremével. Ellenkező esetben az elektrosztatikus kölcsönhatást a szubsztituensek sztérikus gátlása kompenzálja.

Sem a β -ciklodextrinnél, sem a kvaterner ammónium- β -ciklodextrin esetében nem tudtam jelentős enantiomerszelekciót kimutatni. A kationos szubsztituens bevitele nem befolyásolja számottevően a ciklodextrin enantioszelektív tulajdonságait.

SUMMARY

In the present work, the role of charges in the inclusion complex formation of β -cyclodextrin and its ionic derivative (quaternary ammonium β -cyclodextrin) was investigated with respect to the electrostatic interactions, hydrogen bonding and steric effects between the host and the guest molecules.

For this purpose, the interactions of differently protonated forms of the following acids has been investigated with β -cyclodextrin: phenylarsonic acid, 4-aminophenylarsonic acid and phenylboronic acid. On the other hand the complex formation of β -cyclodextrin and quaternary ammonium β -cyclodextrin with L- and D-enantiomers of various amino acids in different ionization states was studied. Individual stability constants for the complexes have been determined by spectrophotometric and pH-potentiometric methods. The results are supported by ^1H and ^{13}C NMR measurements.

The stability constants of the phenyl derivatives of inorganic oxoacids with β -cyclodextrin are always the highest with the neutral, undissociated forms, and the values are of the similar order of magnitude for the three acids. This fact shows that the complex formation is mainly governed by the inclusion of the aromatic ring, while it is hindered by the strong hydration of polar groups.

The stability of the apparently neutral forms of amino acids is unexpectedly low both with β -cyclodextrin and with quaternary ammonium β -cyclodextrin. The explanation can be the strong hydration of the zwitterionic species and the possibility of intramolecular hydrogen bonding within the guest. More stable complexes are formed with the anions: the amino acid moiety plays an important part in the interactions via hydrogen bonding with the alcoholic groups of the cyclodextrin.

In the case of quaternary ammonium β -cyclodextrin the electrostatic attraction of opposite charges is compensated for by steric hindrance and decreased van der Waals interaction owing to less deep penetration in the cavity and higher flexibility of the host, unless hydrogen bonding or electrostatic interactions are possible with both rims of the cyclodextrin at the same time.

No major difference can be found between the complex formation of L- and D-enantiomers with β -cyclodextrin or quaternary ammonium β -cyclodextrin.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Villiers A. (1891) Sur la transformation de la fécule en dextrine par le ferment butyrique. C. R. Acad. Sci. 112: 435–438.
2. Schardinger F. (1903) Über thermophile Bakterien aus verschiedenen Speisen und Milch sowie über einige Umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen Nährlösungen, darunter kristallisierte Polysaccharide (Dextrine) aus Stärke. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs und Genußmittel 6: 865–880.
3. Schardinger F. (1911) Bildung kristallisierter Polysaccharide (Dextrine) aus Stärkekleister durch Mikroben. Zentr. Bacteriol. Parasitenk. Abt. II, 29: 188–197.
4. Freudenberg K, Rapp W. (1936) Zur Kenntnis der Stärke und der Schardinger-Dextrine. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 69(9): 2041–2045.
5. Freudenberg K, Blomqvist G, Ewald L, Soff K. (1936) Hydrolyse und Acetolyse der Stärke und der Schardinger-Dextrine. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 69(6): 1258–1266.
6. Freudenberg K, Cramer F. (1948) Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ . Z. Naturforsch. B 3: 464–468.
7. French D. (1957) The Schardinger dextrans. Adv. Carbohydr. Chem. 12: 189–260.
8. French D, Pulley AO, Effenberger JA, Rougvié MA, Abdullah M. (1965) Studies on the Schardinger dextrans: XII. The molecular size and structure of the δ -, ϵ -, ζ -, η -dextrans. Arch. Biochem. Biophys. 111(1): 153–160.
9. Freudenberg K, Cramer F, Plieninger H. (1953) Verfahren zur Herstellung von Einschlussverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindungen. German Patent No. 895 769.
10. Szejtli J. (1998) Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. Chem. Rev. 98: 1743–1753.

11. <http://www.cyclolab.hu/database.html>
12. Szejtli J. (1990) Ciklodextrinek és zárványkomplexeik a biotechnológiában és a vegyiparban. *Magyar Kémikusok Lapja* 45(3–4): 98–106.
13. Robyt JF. *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. Springer-Verlag, New York, 1998: 248.
14. St-Jacques M, Sundararajan PR, Taylor KJ, Marchessault RH. (1976) Nuclear magnetic resonance and conformational studies on amylose and model compounds in dimethyl sulfoxide solution. *J. Am. Chem. Soc.* 98(15): 4386–4391.
15. Onda M, Yamamoto Y, Inoue Y, Chûjô R. (1988) ^1H NMR study of intramolecular hydrogen bonding interaction in cyclodextrins and their di-O-methylated derivatives. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 61(11): 4015–4021.
16. Lindner K, Saenger W. (1982) Crystal and molecular structure of cyclohepta-amylose dodecahydrate. *Carbohydr. Res.* 99(2): 103–115.
17. Saenger W, Betzel Ch, Hingerty B, Brown GM. (1982) Flip-flop hydrogen bonding in a partially disordered system. *Nature* 296(5857): 581–583.
18. Betzel C, Saenger W, Hingerty BE, Brown GM. (1984) Topography of cyclodextrin inclusion complexes, part 20. Circular and flip-flop hydrogen bonding in beta-cyclodextrin undecaahydrate: a neutron diffraction study. *J. Am. Chem. Soc.* 106(24): 7545–7557.
19. Buvári-Barcza Á, Barcza L. (1999) Influence of the guests, the type and degree of substitution on inclusion complex formation of substituted beta-cyclodextrins. *Talanta* 49(3): 577–585.
20. Pitha J. Cyclodextrin derivatives with enhanced solubility power and lower toxicity. In: Torres LJJ. (Ed.) *Proceedings of 9th International Symposium on Cyclodextrins*, Santiago de Compostela, Spain, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 1998: 210–215.

21. Szente L, Szejtli J. (1999) Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 17–28.
22. Parmeter SM, Allen EE, Hull GA. (1969) U. S. Patent 3, 426, 001 A; *Chem. Abstr.* 71, 13331z.
23. Jakubetz H, Juza M, Shurig V. (1997) Electrokinetic chromatography employing an anionic and a cationic beta-cyclodextrin derivative. *Electrophoresis* 18(6): 897–904.
24. Deratani A, Lelievre G, Maraldo T, Sebille B. (1989) 2-hydroxy-3-trimethylammonioethyl derivatives of cyclomaltoheptaose as phase-transfer catalysts *Carbohydr. Res.* 192: 215–222.
25. Tanaka H, Sakamoto Y. (1993) Polyelectrolyte titration using fluorescent indicator. I. Direct titration of anionic and cationic polyelectrolytes with $10^{-4}N$ standard solutions *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 31(11): 2687–2691.
26. Zhao MG, Hao AY, Li J, Lin XL. (2006) 6-O-(hydroxypropyltrimethylammonia)-beta-cyclodextrin with low degree of substitution: convenient preparation and its application as a chiral selector in capillary electrophoresis. *Chin. Chem. Lett.* 17(3): 407–410.
27. Chisholm CD, Wenzel TJ. (2011) Enantiomeric discrimination of aromatic-containing anionic substrates using cationic cyclodextrins. *Tetrahedron: Asymmetry* 22(1): 62–68.
28. Wilke O, Mischnick P. (1995) Analysis of cationic starches: determination of the substitution pattern of O-(2-hydroxy-3-trimethylammonium)propyl ethers. *Carbohydr. Res.* 275(2): 309–318.
29. Schulte G, Chankvetadze B, Blaschke G. (1997) Enantioseparation in capillary electrophoresis using 2-hydroxypropyltrimethylammonium salt of β -cyclodextrin as a chiral selector. *J. Chromatogr. A* 771(1–2): 259–266.
30. Liu Q, Inoue T, Kirchhoff JR, Huang C, Tillekeratne LMV, Olmstead K, Hudson RA. (2004) Chiral separation of highly negatively charged enantiomers by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* 1033(2): 349–356.

31. Tanaka Y, Kishimoto Y, Terabe S. (1998) Analysis of charged cyclodextrin derivatives by on-line capillary electrophoresis-ionspray-mass spectrometry. *Anal. Sci.* 14(2): 383–388.
32. Tanaka Y, Terabe S. (1997) Enantiomer separation of acidic racemates by capillary electrophoresis using cationic and amphoteric beta-cyclodextrins as chiral selectors. *J. Chromatogr. A* 781(1–2): 151–160.
33. Chankvetadze B, Endresz G, Blaschke G, Juza M, Jakubetz H, Schurig V. (1996) Analysis of charged cyclomalto-oligosaccharides (cyclodextrin) derivatives by ion-spray, matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight and fast-atom bombardment mass spectrometry, and by capillary electrophoresis. *Carbohydr. Res.* 287(2): 139–155.
34. Jakubetz H, Juza M, Shurig V. (1998) Dual chiral recognition system involving cyclodextrin derivatives in capillary electrophoresis II. Enhancement of enantioselectivity. *Electrophoresis* 19(5): 738–744.
35. Schoch C, Bizec J-C, Kis G. (2007) Cyclodextrin derivatives and cyclofructan as ocular permeation enhancers: Results with different model compounds. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 57(1-4): 391–394.
36. Szejtli J. Cyclodextrin and their inclusion complexes. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1982: 95–140.
37. Liu L, Guo Q-X. (2002) The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 42(1–2): 1–14.
38. Rekharsky MV, Inoue Y. (1998) Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chem. Rev.* 98(5): 1875–1917.
39. Ramusino MC, Pichini S. (1994) A ^1H NMR study of inclusion complex formation between β -cyclodextrin and monohydroxypyridines. *Carbohydr. Res.* 259(1): 13–19.
40. Buvári Á, Barcza L. (1989) The effect of hydrogen bonds on the inclusion complex formation of β -cyclodextrin. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 126: 455–462.

41. Liu L, Song K-S, Li X-S, Guo Q-X. (2001) Charge-transfer interaction: a driving force for cyclodextrin inclusion complexation. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 40(1–2): 35–39.
42. Buvári Á, Barcza L. (1988) Complex formation of phenol, aniline and their nitro derivatives with β -cyclodextrin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 1988: 543–545.
43. Loftsson T, Brewster ME. (1996) Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* 85(10): 1017–1025.
44. Kitae T, Nakayama T, Kano K. (1998) Chiral recognition of α -amino acids by charged cyclodextrins through cooperative effects of Coulomb interaction and inclusion. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 1998: 207–212.
45. Zia V, Rajewski RA, Stella VJ. (2001) Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: comparison of (SBE)_{7M}- β -CD to HP- β -CD. *Pharm. Res.* 18(5): 667–673.
46. Del Valle EMM. (2004) Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* 39(9): 1033–1046.
47. Schneiderman E, Stalcup AM. (2000) Cyclodextrins: a versatile tool in separation science. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 745(1): 83–102.
48. Szejtli J. (1998) Ciklodextrinek alkalmazása vegyipari termékekben és eljárásokban. *Magyar Kémikusok Lapja* 53(6): 271–282.
49. Wang F, Loughlin T, Dowling T, Bicker G, Wyvratt J. (2000) Enantiomeric separation of enzymatic hydrolysis products of dihydropyrimidinone methyl ester with cationic cyclodextrin by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* 872(1–2): 279–288.
50. Bunke A, Jira T. (1998) Use of cationic cyclodextrin for enantioseparation by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A* 798: 275–280.
51. Wang F, Khaledi MG. (1998) Nonaqueous capillary electrophoresis chiral separations with quaternary ammonium β -cyclodextrin. *J. Chromatogr. A* 817(1–2): 121–128.

52. Loftsson T, Masson M. (2001) Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *Int. J. Pharm.* 225(1–2): 15–30.
53. Szejtli J, Szente L. (2005) Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 61(1–2): 115–125.
54. <http://www.cyclolab.hu/cyclo2010.html>
55. Szejtli J, Sebestyén G. (1979) Resorption, metabolism and toxicity studies on the peroral application of beta-cyclodextrin. *Stärke* 31(11): 385–389.
56. Loftsson T, Duchêne D. (2007) Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 329: 1–11.
57. Kiss T, Fenyvesi F, Bácskay I, Váradi J, Fenyvesi É, Iványi R, Szente L, Tósaki Á, Vecsernyés M. (2010) Evaluation of the cytotoxicity of β -cyclodextrin derivatives: Evidence for the role of cholesterol extraction. *Eur. J. Pharm. Sci.* 40(4): 376–380.
58. Kiss T, Fenyvesi F, Pasztor N, Feher P, Varadi J, Kocsan R, Szente L, Fenyvesi E, Szabo G, Vecsernyes M, BacsKay I. (2007) Cytotoxicity of different types of methylated β -cyclodextrins and ionic derivatives. *Pharmazie* 62(7): 557–558.
59. Kortüm G, Vogel W, Andrussow K. Dissociation constants of organic acids in aqueous solution. Butterworths, London, 1961
60. Perrin DD. Dissociation constants of organic bases in aqueous solution. Butterworths, London, 1965
61. Buvári-Barcza, Á, Barcza L. A minőségi kémiai analízis alapjai. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2001: 157
62. Innocenti A, Zimmerman S, Ferry JG, Scozzafava A, Supuran CT. (2004) Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the beta-class enzyme from the methanoarchaeon *Methanobacterium thermoautotrophicum* (Cab) with anions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14(17): 4563–4567.

63. Innocenti A, Firnges MA, Antel J, Wurl M, Scozzafava A, Supuran CT. (2004) Carbonic anhydrase inhibitors: inhibition of the membrane-bound human isozyme IV with anions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14(23): 5769–5773.
64. Strop P, Smith KS, Iverson TM, Ferry JG, Rees DC. (2001) Crystal structure of the "cab"-type beta class carbonic anhydrase from the Archaeon *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *J. Biol. Chem.* 276: 10299–10305.
65. Burger K. *Az analitikai kémia alapja (Kémiai és műszeres elemzés)*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 1999: 246–252
66. Takács M. *Kemoterápiás szerek* in: Szász Gy. (Ed), *Gyógyszerészi kémia*. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1983:1076–1109
67. Liu X-P, Narla RK, Uckun FM. (2003) Organic phenyl arsonic acid compounds with potent antileukemic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13(3): 581–583.
68. Hall DG. Structure, properties, and preparation of boronic acid derivatives. Overview of their reactions and applications. in: Hall DG. (Ed), *Boronic acids*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2005: 1–99
69. Bosch LI, Fyles TM, James TD. (2004) Binary and ternary phenylboronic acid complexes with saccharides and Lewis bases. *Tetrahedron* 60(49): 11175–11190.
70. Miyaura N, Suzuki A. (1979) Stereoselective synthesis of arylated (*E*)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1979: 866–867.
71. Máthé K. β -ciklodextrin kölcsönhatásai fenilfoszfonsavval (szakdolgozat). ELTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Budapest, 2003
72. Inoue Y, Hakushi T, Liu Y, Tong LH, Shen BJ, Jin DS. (1993) Thermodynamics of molecular recognition by cyclodextrins. 1. Calorimetric titration of inclusion complexation of naphthalenesulfonates with alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins: enthalpy–entropy compensation. *J. Am. Chem. Soc.* 115(2): 475–481.

73. Dzygiel P, Rudzińska E, Wieczorek P, Kafarski P. (2000) Determination of optical purity of phosphonic acid analogues of aromatic amino acids by capillary electrophoresis with α -cyclodextrin. *J. Chromatogr. A*, 895: 301–307.
74. Paál TL, Szejtli J. (1981) Study of interactions in aqueous solutions containing cyclodextrin, glucose and borate. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 106: 9–15.
75. Yamauchi A, Suzuki I, Hayashita T. Saccharide recognition by boronic acid fluorophore/cyclodextrin complexes in water. in: Geddes CD, Lakowicz JR. (Eds), *Glucose sensing. Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. XI.* Springer, New York, 2006: 237–258.
76. Taylor WR. (1986) The classification of amino acid conservation. *J. Theor. Biol.* 119(2): 205–218.
77. Doğan A, Kılıç E. (2007) Tautomeric and microscopic protonation equilibria of some α -amino acids. *Anal. Biochem.* 365: 7–13.
78. Ramanathan R, Prokai L. (1995) Electrospray ionization mass spectrometric study of encapsulation of amino acids by cyclodextrins. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 6: 866–871.
79. Mrozek J, Barnecki B, Karolczak J, Wiczak W. (2005) Influence of the separation of the charged groups and aromatic ring on interaction of tyrosine and phenylalanine analogues and derivatives with β -cyclodextrin. *Biophys. Chem.* 116: 237–250.
80. Shanmugam M, Ramesh D, Nagalakshmi V, Kavitha R, Rajamohan R, Stalin T. (2008) Host-guest interaction of L-tyrosine with β -cyclodextrin. *Spectrochim. Acta A* 71: 125–132.
81. Wick W, Mrozek J, Szabelski M, Karolczak J, Guzow K, Malicka J. (2001) Determination of stoichiometry and equilibrium constants of complexes of tyrosine with cyclodextrins by time-resolved fluorescence spectroscopy and global analysis of fluorescence decays. *Chem. Phys. Lett.* 341: 161–167.

82. Castronuovo G, Elia V, Fessas D, Giordano A, Velleca F. (1995) Thermodynamics of the interaction of cyclodextrins with aromatic and α , ω - amino acids in aqueous solutions: a calorimetric study at 25 °C. *Carbohydr. Res.* 272(1): 31–39.
83. Zhu X, Xu S. (2010) Determination of L-tyrosine by beta-cyclodextrin sensitized fluorescence quenching method. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 77: 566–571.
84. Matsuyama K, El-Gizawy S, Perrin JH. (1987) Thermodynamics of binding of aromatic amino acids to α -, β - and γ -cyclodextrins. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 13(15): 2687–2691.
85. Bekos EJ, Gardella Junior JA, Bright FV. (1996) The binding of free oligopeptides to cyclodextrins: The role of the tyrosine group. *J. Incl. Phenom. and Molecular Recognition in Chemistry* 26(4): 185–195.
86. Yudiarto A, Dewi E, Kokugan T. (2000) Separation of isomers by ultrafiltration using modified cyclodextrins. *Separation and Purification Technology* 19: 103–112.
87. Sompornpisut P, Deechalao N, Vongsvivut J. (2002) An inclusion complex of β -cyclodextrin – L-phenylalanine: ¹H NMR and molecular docking studies. *Science Asia* 28: 263–270.
88. Rekharsky MV, Schwarz FP, Tewari YB, Goldberg RN. (1994) A thermodynamic study of the reactions of cyclodextrins with primary and secondary aliphatic alcohols, with D- and L-phenylalanine, and with L-phenylalanineamide. *J. Phys. Chem.* 98: 10282–10288.
89. Kahle C, Holzgrabe U. (2004) Determination of binding constants of cyclodextrin inclusion complexes with amino acids and dipeptides by potentiometric titration. *Chirality* 16: 509–515.
90. Csernák O. A protonálódás hatása ciklodextrin zárványkomplexek stabilitására (disszertáció). ELTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Budapest, 2008
91. Barcza L, Szejtli L, Buvári Á. (1980) Spectrophotometric determination of stability constants of cyclodextrin complexes. *Ann. Univ. Sci. Eötvös, Sec. Chim.* 16: 11–18.

92. Buvári Á, Barcza L. (1989) Colour change and tautomerism of some azo-indicators on complex formation with cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. and Molecular Recognition in Chemistry*. 7(3): 313–320.
93. Buvári-Barcza, Á, Bodnár-Gyarmathy D, Barcza L. (1994) Hydroxy-propyl- β -cyclodextrins: correlation between the stability of their inclusion complexes with phenolphthalein and the degree of substitution. *J. Incl. Phenom. and Molecular Recognition in Chemistry* 18: 301–306.
94. Buvári-Barcza Á, Barcza L. (1998) The interaction between phenolphthalein and 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: on the determination of the formation constants of cyclodextrin inclusion complexes. *Anales de Química International Edition* 94(2): 98–100.
95. Csernák O, Buvári-Barcza Á, Samu J, Barcza L. (2005) Uncommon interactions of aliphatic dicarboxylic acids with cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 51: 59–63.
96. Martell AE, Smith RM. *Critical Stability Constants*. Plenum Press, New York, 1974
97. Taguchi K. (1986) Transient binding mode of phenolphthalein-beta-cyclodextrin complex: An example of induced geometrical distortion. *J. Am. Chem. Soc.* 108: 2705–2709.
98. Djedaïni F, Perly B. Nuclear magnetic resonance of cyclodextrins, derivatives and inclusion compounds. In: Duchêne D. (ed.) *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*. Edition de Santé, Paris 1991: 215–247.
99. Schneider H-J, Hacket F, Rüdiger V, Ikeda H. (1998) NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Chem. Rev.* 98: 1755–1785.
100. Bekers O, van den Bosch Kettenes JJ, Van Helden SP, Seijkens D, Beijnen JH, Bult A, Underberg WJM. (1991) Inclusion complex-formation of anthracycline antibiotics with cyclodextrins; a proton nuclear magnetic resonance and molecular modelling study. *J. Incl. Phenom. and Molecular Recognition in Chemistry* 11: 185–193.

101. Lin M, Jayawickrama DA, Rose RA, Del Viscio JA, Larive CK. (1995) Nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of the selective complexation of the cis and trans isomers of phenylalanylproline by β -cyclodextrin. *Anal. Chim. Acta* 307(2–3): 449–457.
102. Yoshida N, Shirai T, Fujimoto M. (1989) Inclusion reactions of some phthalein and sulphophthalein compounds with cyclomaltohexaose and -heptaose. *Carbohydr. Res.* 192: 291–304.
103. Buvári-Barcza Á, Csámpai A, Barcza L. (2002) Ternary beta-cyclodextrin complexes as models of allosteric effects. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 42(3–4): 209–212.
104. Buvári Á, Barcza L. (1982) The 1:1 and 1:2 complex formation between β -cyclodextrin and benzoic acid. *Acta Chim. Hung.* 110: 51–57.
105. Schlenk H, Sand DMJ. (1961) The association of α - and β -cyclodextrins with organic acids. *J. Am. Chem. Soc.* 83: 2312–2320.
106. Rekharsky MV, Inoue Y. (2002) Complexation and chiral recognition thermodynamics of 6-amino-6-deoxy- β -cyclodextrin with anionic, cationic and neutral chiral guests: Counter balance between van der Waals and Coulombic interactions. *J. Am. Chem. Soc.* 124(5): 813–826.
107. Haskins NJ, Saunders MR, Camilleri P, Games DE. (1994) The complexation and chiral selectivity of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin with guest molecules as studied by electrospray mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 8(5): 423–426.
108. Inoue Y, Kuan F-H., Chûjô R. (1987) ^1H and ^{13}C NMR studies of formation and molecular dynamics of methylated cyclodextrin inclusion complexes with phenylalanine. *Soc. Bull. Chem. Jpn.* 60(7): 2539–2545.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó közlemények

1. Sebestyén Z, Máthé K, Buvári-Barcza Á, Vass E, Ruff F, Szemán J, Barcza L. (2011) Diverse associations in the ternary systems of β -cyclodextrin, simple carbohydrates and phenyl derivatives of inorganic oxoacids. Carbohydr. Res. 346(6) 833-838.
2. Sebestyén Z, Buvári-Barcza Á, Rohonczy J. (2011) pH-dependent complex formation of amino acids with β -cyclodextrin and quaternary ammonium β -cyclodextrin. J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. DOI 10.1007/s10847-011-0043-2

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetem kifejezni mindazoknak, akik segítségemre voltak dolgozatom elkészülésében.

Mindenekelőtt köszönöm Barczáné Dr. Buvári Ágnesnek, témavezetőmnek, hogy tapasztalatával, tanácsaival egyengette munkámat, és biztosította a munkához szükséges feltételeket. Hálás szívvel gondolok prof. Dr. Barcza Lajos Tanár Úrra értékes tanácsaiért és a munkám kezdeti éveiben nyújtott segítségéért. Mindkettejüktől nagyon sokat tanulhattam, amiért nagyon hálás vagyok.

Köszönettel tartozom Dr. Záray Gyulának és Dr. Láng Győzőnek, az ELTE Analitikai Kémiai Tanszék volt és jelenlegi tanszékvezetőjének, hogy lehetővé tették, hogy doktori munkámat a Tanszéken végezhessem.

Köszönettel tartozom Prof. Klebovich Imrének és Dr. Antal Istvánnak, a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézetének igazgatójának és igazgató-helyettesének, hogy támogattak doktori munkám befejezésében a doktorjelölti időszakban.

Hálás vagyok Dr. Rohonczy Jánosnak az NMR-spektroszkópiás mérésekben nyújtott segítségéért.

Köszönettel tartozom a Dr. Sente Lajosnak, a CycloLab Kft. Vezetőjének, amiért rendelkezésemre bocsátotta a munkámhoz szükséges ciklodextrineket.

Köszönet illeti a Nemzeti Erőforrás Minisztériumot a Deák Ferenc Ösztöndíjpályázat keretén belül nyújtott anyagi támogatásáért.

Hálás vagyok Dr. Kiss Ulrichnak és Dr. Smuk Péternek, hogy lehetővé tették, hogy a doktorjelölti időszakban a ReNaissance Tanulmányi Ház lakója legyek, amely ideális környezetet biztosított a disszertáció elkészítéséhez.

Köszönöm az ELTE Analitikai Kémiai Tanszék és a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézet valamennyi munkatársának a sok támogatást és biztatást.

Köszönöm barátaimnak, lakótársaimnak és rokonaimnak, hogy mellettem álltak a doktori években, és mindvégig bátorítottak. Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni szüleimnek és testvéremnek a sok lelkesítést és a rengeteg szeretetet.