

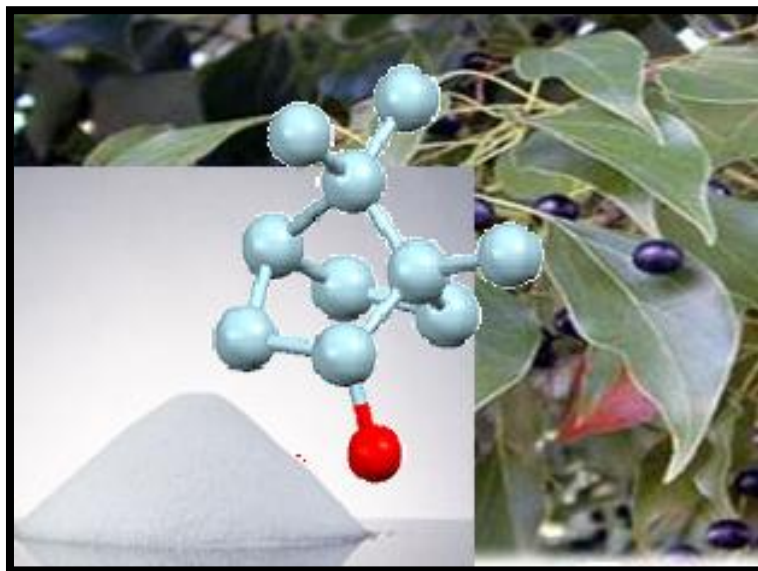
**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ»
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ:

*“Δομική μελέτη με κρυσταλλογραφία ακτίνων-
Χ του προϊόντος εγκλεισμού της βορνεόλης σε
β-κυκλοδεξτρίνη”*



**Χατζηπέρος Π. Νικόλαος
Γεωπόνος-Τεχνολόγος Τροφίμων**

**Επιβλέπον καθηγητής: Κ. Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό
Τμήμα, Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α.**

ΑΘΗΝΑ 2011

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ:

*“Δομική μελέτη με κρυσταλλογραφία ακτίνων-
Χ του προϊόντος εγκλεισμού της βορνεόλης σε
β-κυκλοδεξτρίνη”*

Χατζηπέρος Π. Νικόλαος
Γεωπόνος-Τεχνολόγος Τροφίμων

**Επιβλέπον καθηγητής: Κ. Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό
Τμήμα, Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α.**

Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή:

Κ.Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α., Εισηγητής

Α.Χούντας, Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Δ/ντης Εργ. Φυσικής Γ.Π.Α., Μέλος

Π. Ταραντίλης, Επίκουρος Καθηγητής, Γενικό Τμήμα, Εργ. Γεν. Χημείας Γ.Π.Α., Μέλος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, στο Εργαστήριο Φυσικής, υπό την άμεση επίβλεψη του Λέκτορα κ. Κώστα Μπεθάνη. Η συλλογή πειραματικών δεδομένων περίθλασης ακτινών X στο μονοκρυστάλλο του συμπλόκου βορνεόλη/ β -CD πραγματοποιήθηκε στο σταθμό του Ευρωπαϊκού Εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας (EMBL) στο Αμβούργο.

Κατά τη διάρκεια της εργασίας προέκυψαν κάποιες δυσκολίες από τη μετεγκατάσταση μου στο Πόρο, οι οποίες ξεπεράστηκαν με την ουσιαστική συμβολή και συμπαράσταση του προσωπικού του εργαστηρίου φυσικής. Θα ήθελα λοιπόν να εκφράσω τις πιο θερμές μου ευχαριστίες στο κ. Κώστα Μπεθάνη Επίκουρο Καθηγητή, για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, τη καθοδήγηση και τη πολύ καλή συνεργασία. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τη Δρ. Κοκκίνου Αρετή για τις πολύτιμες συμβουλές τις σε κρίσιμες στιγμές της επίλυσης και βελτιστοποίησης της δομής του συμπλόκου βορνεόλη/ β -CD και την αμέριστη συμπαράσταση της. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου φυσικής Ηλία Χριστοφορίδη, Τριανταφυλλοπούλου Βάσω και Τσορτέκη Φραντζέσκα, όπου με τις γνώσεις τους και την φιλική τους διάθεση συνέβαλαν στη διεκπεραίωση της εργασίας.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω το Καθηγητή κ. Χούντα Αθανάσιο και το Λέκτορα κ.Ταραντίλη Πέτρο για τις πολύτιμες συμβουλές και διορθώσεις που εισηγήθηκαν, ως μέλη της τριμελούς επιτροπής, συμβάλλοντας ουσιαστικά στη διαμόρφωση του τελικού κειμένου.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, την αδερφή μου Μάιρα και τη συντροφό μου Στέλλα, για την ουσιαστική και ηθική συμπαράσταση σε αυτή τη προσπάθεια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	σελ.
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT.....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 ΒΟΡΝΕΟΛΗ.....	7
1.1.1. Το μόριο της βορνεόλης.....	7
1.1.2. Φυτά που περιέχουν βορνεόλη.....	9
1.1.3. Εφαρμογές της βορνεόλης.	12
1.2. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ.....	16
1.3. ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΞΕΝΙΖΟΜΕΝΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.....	19
1.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ.....	20
1.4.1. Γενικά.....	20
1.4.2. Κρυστάλλωση.....	20
1.4.3. Ακτίνες Χ-Συνθήκη των Bragg.	21
1.4.4. Επεξεργασία με μετασχηματισμό Fourier.....	22
1.4.5. Προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής.....	23
1.5. ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ ΜΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.	24
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	26
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	27
3.1. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/β-CD.....	27
3.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	29
3.3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	31
3.3.1. Επίλυση δομής και βελτιστοποίηση δομής.....	31
3.3.2. Έλεγχος αξιοπιστίας των συντεταγμένων της δομής.....	34
3.3.3. Οπτικοποίηση.....	34
3.3.4. Κατάθεση της δομής.....	34

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
4.1. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ (β-CD) ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ.....	37
4.2. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΔΙΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ β-CD ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/β-CD.....	42
4.3. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/β-CD.....	44
4.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΔΙΜΕΡΩΝ ΤΗΣ β-CD (Crystal Packing)	50
4.5. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΝΕΡΟΥ.....	54
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	60
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	61

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα διατριβή μελετήθηκε ο εγκλεισμός της βορνεόλης σε β -κυκλοδεξτρίνη με κρυσταλλογραφία ακτίνων X. Η βορνεόλη αποτελεί ένα φυσικό προϊόν με σημαντικές ηρεμιστικές, αναισθητικές, αναλγητικές, αντιμικροβιακές και άλλες ιδιότητες. Με τον εγκλεισμό του μορίου της βορνεόλης σε β -κυκλοδεξτρίνη, δημιουργείται ένα προϊόν με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες από αυτές που έχει η βορνεόλη, προσφέροντας επιπλέον την ελεγχόμενη απελευθέρωση της. Κατά την πειραματική διαδικασία οι βέλτιστοι κρύσταλλοι για τη συλλογή δεδομένων ακτίνων X ήταν εκείνοι που δημιουργήθηκαν από το δείγμα β -κυκλοδεξτρίνης/βορνεόλης, σε μοριακή αναλογία 1:2. Η συμμετρία ομάδας χώρου ήταν $C 222_1$, ενώ οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας ήταν $a = 19.293 \text{ \AA}$, $b = 24.063 \text{ \AA}$, $c = 32.873 \text{ \AA}$. Στην ασύμμετρη μονάδα ένα μόριο της βορνεόλης έχει αριθμό κατάληψης 1 και τοποθετείται στο ύψος των πρωτοταγών υδροξυλίων, ενώ ένα άλλο μόριο έχει αριθμό κατάληψης 0,5 και τοποθετείται στο ύψος των δευτεροταγών υδροξυλίων. Η κρυσταλλική δομή που διαμορφώθηκε αποτελούνταν από διμερή με στοιχειομετρία β -κυκλοδεξτρίνη/βορνεόλη, 2:3. Τα μόρια της β -κυκλοδεξτρίνης στο διμερές έχουν head-to-head προσανατολισμό, δύο μόρια βορνεόλης καταλαμβάνουν συγκεκριμένες “εξωτερικές” θέσεις στη περιοχή των πρωτοταγών υδροξυλίων, ενώ ένα “εσωτερικό” αποδιατεταγμένο μόριο βορνεόλης βρίσκεται στο ύψος των δευτεροταγών υδροξυλίων. Κατά τη κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση τα διμερή διευθετούνται σε στρώσεις κατά μήκος στο κρυσταλλογραφικό άξονα c και παράλληλα στο επίπεδο ab της μοναδιαίας κυψελίδας.

Επιστημονικό πεδίο: Κρυσταλλογραφία

Λέξεις κλειδιά: βορνεόλη, κυκλοδεξτρίνη, σύμπλοκο εγκλωσμού, κρυσταλλική δομή.

ABSTRACT

The structure of the borneol inclusion compound in β -Cyclodextrin (β -CD) has been investigated by X-ray crystallography. Borneol is a natural product with important sedative, anesthetic, analgesic, antimicrobial and other properties. The inclusion of borneol in β -CD offers many beneficial modifications in its physicochemical properties and a controlled release. Crystallization has been achieved using a borneol: β -CD 2:1 molar ratio. The formed borneol/ β -CD inclusion complex crystallizes in the $C222_1$ space group with unit cell dimensions $a = 19.293(2) \text{ \AA}$, $b = 24.063(5) \text{ \AA}$, $c = 32.873(6) \text{ \AA}$. Its asymmetric unit contains one β -CD molecule hosting one and a 'half' borneol molecules. The one borneol molecule with an occupation factor (o.f) equal to 1 lays at the site of the primary hydroxyls and the other with o.f. = 0.5 is accommodated at the site of the secondary hydroxyls. The crystallographic symmetry reveals the formation of a head-to-head dimer with two borneol molecules laying at the 'external', primary hydroxyls regions and one borneol molecule disordered over two sites and encapsulated inside the dimeric cavity of the secondary hydroxyls. Therefore, the stoichiometry of the borneol/ β -CD complex in the crystalline state has been found 3:2. The dimers form layers on the ab plane and are packed according to the intermediate mode along the c -axis.

Scientific area: Crystallography

Keywords: borneol, cyclodextrin, inclusion complex, crystal structure.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΒΟΡΝΕΟΛΗ

1.1.1. Το μόριο της βορνεόλης.

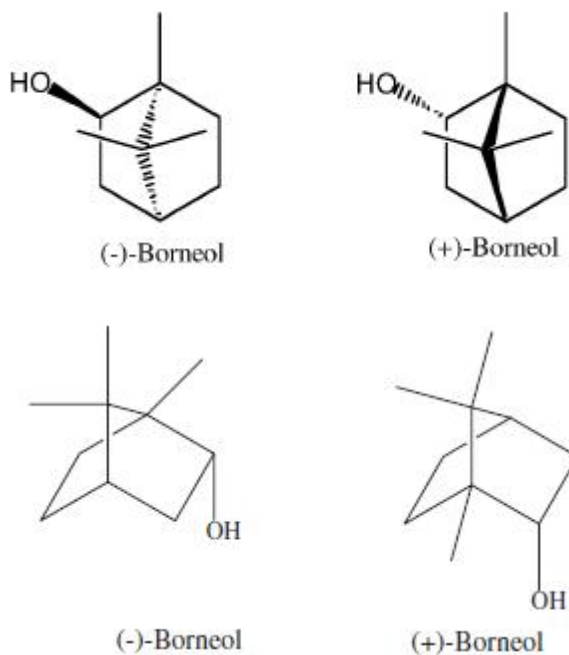
Το όνομα της βορνεόλης κατά IUPAC είναι ενδο-1,7,7-τριμέθυλοδίκυκλο[2.2.1]επτανο-2-όλη. Η βορνεόλη ανήκει στα τερπένια, είναι ένα δicyclic μονοτερπένιο με πενταμελή τον δεύτερο δακτύλιο (Granger A. *et al*, 2004; Renee E. *et al.*, 2005). Τα μονοτερπένια αποτελούνται από δύο μονάδες ισοπρενίων, τη βασική μονάδα των τερπενίων (Chebib M. and Jhonston G.A.R., 2000). Υπάρχουν δύο εναντιομερή η (+) βορνεόλη και η (-) βορνεόλη, στη φύση κυριαρχεί η (+) βορνεόλη (Yu Liu *et al.*, 2004).

Η ουσία όταν απομονωθεί, έχει χρώμα άσπρο και βρίσκεται σε κρυσταλλική μορφή. Πρέπει να αποθηκεύεται σε ερμητικά κλειστό δοχείο, σε ξηρό

χώρο και θερμοκρασία δωματίου. Κατά τον χειρισμό της βορνεόλης θα πρέπει να δίνεται προσοχή να μην έρθει σε επαφή με τα μάτια το δέρμα και τα ρούχα.



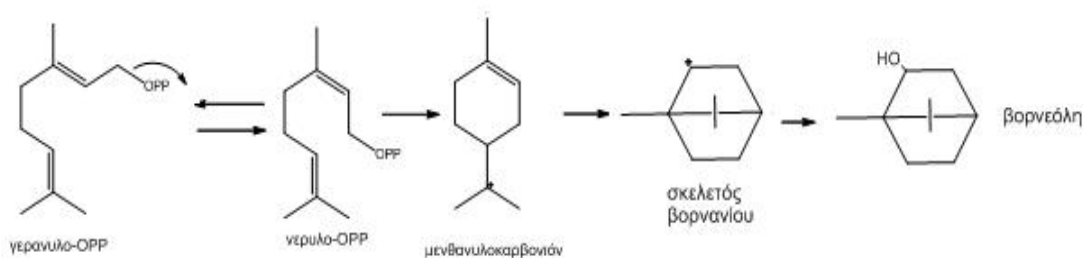
Εικόνα 1.1.1. Βορνεόλη σε κρυσταλλική μορφή.



Εικόνα 1.1.2. Στερεοχημικός τύπος της βορνεόλης.

Πίνακας 1.1.1. Συνοπτικός πίνακας των κύριων φυσικοχημικών ιδιοτήτων της βορνεόλης.	
Χημικός τύπος	C ₁₀ H ₁₈ O
Μοριακό βάρος	154.25g mol ⁻¹
Σημείο τήξης, °C	207 °C,
Σημείο βρασμού, °C	210 °C
Τάση ατμών (Vapor pressure, mmHg)	0.07 mm/Hg 25.00 °C
Πυκνότητα	1.011 g/cm ³ (20 °C)
Υδατοδιαλυτότητα	Αδιάλυτο
Συντελεστής κατανομής (Partition coefficient, pK_{ow})	2.71
Θερμότητα εξάτμισης (Heat of vaporization)	51.1 KJ/mol
Θερμότητα καύσης (Heat of combustion)	51.1 KJ/mol

Η βιοσυνθετική πορεία για τον σχηματισμό όλων των τερπενίων, διέρχεται διαμέσου της βιοσύνθεσης μονάδων ισοπρενίων. Οι μονάδες ισοπρενίων προκύπτουν από το ενδιάμεσο μόριο μεβαλονικό οξύ. Στη συνέχεια τα ισοπρένια πολυμερίζονται και κυκλοποιούνται ενζυμικά, από τα ένζυμα συνθετάσεις των τερπενίων, δημιουργώντας κυκλικά μόρια. Το τελευταίο στάδιο του βιοσυνθετικού μονοπατιού της βορνεόλης, ξεκινάει από την χημική ένωση πυροφωσφορικός εστέρας της γερανιόλης. Αυτό το μόριο μέσω του Z-γεωμετρικού ισομερούς, που είναι ο πυροφωσφορικός εστέρας της νερόλης είναι ο πρόδρομος όλων των μονοτερπενίων. Ο πυροφωσφορικός εστέρας της νερόλης κυκλοποιείται με αποτέλεσμα το σχηματισμό του καρβονίου μενθανυλοκαρβονίου. Τέλος για τον σχηματισμό της βορνεόλης, όπως και της καμφοράς, θα πρέπει πρώτα να συντεθεί ο δικυκλικός σκελετός του βορνανίου, όπου δημιουργείται με το σχηματισμό ενός δεσμού C-C (Degenhardt J. *et al.*, 2009; Ιγνατιάδου-Ραγκούση Β. 1996).



Εικόνα 1.1.3. Τελευταία στάδια βιοσύνθεσης της βορνεόλης.

Η βιοσυνθετική διαδικασία που αναφέρεται παραπάνω, αφορά τις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στην φυσιολογία των φυτών για την παραγωγή του δευτερογενή μεταβολίτη βορνεόλη. Για την απομόνωση της βορνεόλης χρειάζεται πρώτα να απομονωθεί το αιθέριο έλαιο του φυτού. Η απομόνωση του αιθερίου ελαίου πραγματοποιείται κυρίως με **α.)** απόσταξη με υδρατμούς ή **β.)** εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες. Μετά την απομόνωση του αιθερίου ελαίου, ο διαχωρισμός των πτητικών συστατικών από το μίγμα ενώσεων, καθώς και ο καθαρισμός γίνεται με κλασματική απόσταξη, δεδομένου ότι αυτές οι ενώσεις είναι μικρού μοριακού βάρους και χαμηλού σημείου ζέσεως. Στις περιπτώσεις όπου μια ή δύο ουσίες αποτελούν τα κύρια συστατικά ενός αιθερίου ελαίου, αρκεί μόνο μια κλασματική απόσταξη για να παραληφθεί το συστατικό σε καθαρή κατάσταση. Σε περιπτώσεις όμως, που υπάρχουν πολλά συστατικά και σε μικρές ποσότητες χρησιμοποιείται η παρασκευαστική αέριος χρωματογραφία. Ωστόσο η βορνεόλη μπορεί να παραχθεί και συνθετικά με αναγωγή της καμφοράς. Η χρήση της συνθετικής βορνεόλης είναι πιο διαδεδομένη, γιατί αυτή που προέρχεται από τη φύση έχει μεγαλύτερο κόστος παραγωγής (Ιγνατιάδου-Ραγκούση Β. 1996) .

1.1.2. Φυτά που περιέχουν βορνεόλη.

Η αξία της χημικής σύνθεσης των φαρμακευτικών φυτών μπορεί να αφορά στη δράση ενός αριθμού συστατικών μέσω της συνέργιας αυτών ή στη δράση μεμονωμένων συστατικών. Τα αιθέρια έλαια αρκετών φυτών περιέχουν στη συνθεσή τους βορνεόλη, η οποία είτε μεμονωμένα, είτε σε συνέργια με άλλες βιοδραστικές ουσίες, συμβάλλει στις φαρμακευτικές τους ιδιότητες.

Τα γένη *Mikromeria spp.*, *Pinus spp.* και *Rosmary spp.* περιέχουν βορνεόλη και τους προσδίδονται αντιμικροβιακά, αντιμυκητιακά, χολιναγωγά και αντισπασμωδικά χαρακτηριστικά. (Lin A. *et al.*, 2006). Επίσης το γένος *Salvia* περιλαμβάνει φυτά που περιέχουν αιθέριο έλαιο που περιλαμβάνει στην σύνθεση του βορνεόλη. Σε έρευνα βρέθηκε ότι στο αιθέριο έλαιο του είδους *S. aucheri var. aucheri*, το ποσοστό της ήταν 8.5%, συμβάλλοντας ουσιαστικά στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του φυτού. (Kelen M. and Tere B., 2008). Θετικά αποτελέσματα είχε και η εφαρμογή του αιθερίου ελαίου από το είδος *Salvia officinalis* στην αντιμετώπιση του παθογόνου βακτηρίου *Salmonella spp.* σε μοσχαρίσιο κρέας, με το ποσοστό της βορνεόλης να φτάνει το 7.39% (Hayouni A. *et al.*, 2008). Μεγαλύτερο ήταν το ποσοστό της βορνεόλης στο αιθέριο έλαιο του είδους *S. farinacea*, 17% (Tabanca N. *et al.*, 2010). Στο φυτό *Chrysanthemum indicum*, το ποσοστό της βορνεόλης κυμαίνεται από 8.34 σε 18.34%, προσδίδοντάς του

αντιμικροβιακές ιδιότητες (Shunying Z. *et al.*, 2005). Το είδος *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum* έχει αντιμυκητιακές ιδιότητες σε παθογόνους μύκητες με το ποσοστό της βορνεόλης να είναι στο 15.4% (Salamci E. *et al.*, 2007). Πολύ υψηλό ήταν και το ποσοστό της βορνεόλης στο είδος *Anthemis xyloroda* που ήταν 30.15% στα φύλλα και 31.80% στα άνθη, αποτελώντας το κύριο συστατικό του φυτού (Uzel A. *et al.*, 2004).

Η βορνεόλη συμβάλλει επίσης στις αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, επουλωτικές, υπνωτικές και ηρεμιστικές ιδιότητες του είδους *Eremophila longifolia* F. Muell, δέντρο που ανήκει στην οικογένεια *Myoporaceae*. Σε έρευνα για την χημειοτυπική ταξινόμηση φυτών διαφορετικών περιοχών του είδους *Eremophila longifolia*, το ποσοστό της βορνεόλης βρέθηκε 31.7%. (Joshua S. *et al.*, 2010). Η χημειοτυπική ταξινόμηση έξι διαφορετικών ειδών του γένους *Achillea* κατέδειξε ότι η βορνεόλη καταλαμβάνει το 7.93-8.26% στο σύνολο του αιθέριου ελαίου (Rahimmaleka M. *et al.*, 2009). Σε μια άλλη μελέτη στο είδος *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* το ποσοστό της βορνεόλης ήταν λίγο μεγαλύτερο, 11.5–13.2%, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις η βορνεόλη αποτελούσε το κύριο πτητικό συστατικό του φυτού (Mockute D. and Judzentiene A., 2003). Το αιθέριο έλαιο από δενδρολίβανο, *Rosemary officinalis*, απομονώθηκε με δύο διαφορετικούς τρόπους, με υδροαπόσταξη και με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE Solid-phase extraction), με τα ποσοστά της βορνεόλης να είναι 8.3% και 7.8% αντίστοιχα. Το δενδρολίβανο και τα φυτά *Thymus vulgaris* και *Laurus nobilis* περιέχουν αιθέριο έλαιο με βορνεόλη στην σύνθεσή τους, το οποίο έχει εντομοκτόνες ιδιότητες (Rozman V. *et al.*, 2007). Για την αντιμετώπιση της λάβρας *Aedes aegypti* χρησιμοποιήθηκε το αιθέριο έλαιο του φυτού *Clausena dentata* με ποσοστό βορνεόλης 18.34% (Rajkumar S. και Jebanesan A., 2010).

Οι επιβεβαιωμένες αγχολυτικές, ηρεμιστικές, υπνωτικές ιδιότητες της βορνεόλης, συμβάλουν σημαντικά στην φαρμακευτική δράση φυτών, όπως η *Valeriana officinalis*, η *Matricaria chamomilla* και η *Lavandula officinalis* (Granger R. E *et al.*, 2005). Δύο άλλες μεγάλες κατηγορίες φυτών που περιέχουν στην σύστασή τους την βορνεόλη είναι τα φυτά του γένους

Artemisia και της οικογένειας *Dipterocarpaceae*. Συγκεκριμένα μπορεί να επισημανθούν οι αντικαρκινικές ιδιότητες του είδους *Artemisia*



Εικόνα 1.1.4. Απεικόνιση του φυτού *Cinnamomum camphora* που περιέχει μεγάλο ποσοστό βορνεόλης στην σύνθεση του αιθέριου ελαίου.

capillaris, που έχει ως ένα από τα βασικά συστατικά του την βορνεόλη (Darina S. *et al.*, 2009). Επίσης την ουσία την συναντάμε στα είδη *Artemisia argyri* και *Artemisia vulgaris*, ενώ σε δείγμα από το είδος *Artemisia ludoviciana*, η βορνεόλη βρέθηκε να είχε το μεγαλύτερο ποσοστό, 6.19% (Badillo D. L. M *et al.*, 2008). Το φυτό *Dryobalanops aromatica* έχει εξειδικευμένη παρεμποδιστική δράση στον νικοτινικό υποδοχέα (nicotiana receptor acetylicoline nAChR), που οφείλεται κυρίως στην βορνεόλη (Park -Tae-Ju *et al.*, 2003). Επιπλέον παραδοσιακά έχει εφαρμοστεί θεραπεία σε καρδιοπάθειες με το φυτό *Gardenia jasnisoides*, στην σύνθεση του όποιο περιέχεται η βορνεόλη (Yang Lu *et al.*, 2011). Ένα από τα φυτά που χρησιμοποιείται για την απομόνωση και την παραγωγή φυσικής βορνεόλης είναι το *Cinnamomum camphora* (Ping H. *et al.*, 2009). Η ουσία απομονώνεται από τα κλαδιά και τα φύλλα του φυτού.

Πίνακας 1.1.2. Παρουσίαση των φυτών που περιέχουν βορνεόλη και το ποσοστό που καταλαμβάνει αυτή στο αιθέριο έλαιο.

Φυτικό υλικό	Ποσοστό στο αιθέριο έλαιο (%)	Βιβλιογραφία
<i>Salvia aucheri</i> var. <i>aucheri</i>	8.5	Kelen M. and Tepe B., 2008
<i>Salvia officinalis</i> L	7.39	Hayouni El Akrem <i>et al.</i> , 2008
<i>Chrysanthemum indicum</i>	8.34–18.34	Shunying Z. <i>et al.</i> , 2005
<i>Tanacetum chiliophyllum</i> var. <i>chiliophyllum</i>	15.4	Salamci E. <i>et al.</i> , 2007
<i>Anthemis xylopoda</i>	30.15, 31.80	Uzel A., <i>et al.</i> , 2004
<i>Eremophila longifolia</i>	31.7	Joshua S. <i>et al.</i> , 2010
<i>Achillea</i> spp.	7.93-13.2	Rahimmaleka M <i>et al.</i> , 2009, Mockute D. and Judzentiene A., 2003
<i>Rosemary officinalis</i>	8.3 και 7.8	Rozman V. <i>et al.</i> , 2007
<i>Clausena dentata</i>	18.34	Rajkumar S. and Jebanesan A., 2010
<i>Artemisia ludoviciana</i>	6.19	Badillo D. L. M <i>et al.</i> , 2008

Σύμφωνα με τον πίνακα 1.1.2. η βορνεόλη εμφανίζεται σε μεγάλο ποσοστό στα φυτά *Anthemis xylopoda* και *Eremophila longifoli*, αποτελώντας το κυριότερο συστατικό του αιθέριου ελαίου. Επίσης η βορνεόλη αποτελεί το κύριο συστατικό ειδών του γένους *Achillea*.

1.1.3. Εφαρμογές της βορνεόλης.

Η βορνεόλη ως φυσικό προϊόν έχει μεγάλο εύρος πεδίων εφαρμογής. Τα κυριότερα σχετίζονται με τις φαρμακευτικές ιδιότητες της ουσίας. Σύμφωνα με την παραδοσιακή ιατρική έχει σημαντική αναλγητική δράση. Με τις βορνεόλες φτιάχνονται φαρμακευτικά σκευάσματα που ενεργούν με επάλειψη, καταπραΰνοντας την περιοχή του σώματος που υποφέρει από άλγος. Εφαρμογές έχουν γίνει στην αντιμετώπιση εξωτερικών τραυμάτων, σε περιπτώσεις καψίματος, πληγών, αιμορροϊδών και δερματοπαθειών. Επίσης εφαρμογές της ουσίας έχουν γίνει και για την αντιμετώπιση εσωτερικών πόνων, όπως είναι οι στομαχικοί (Murugesan S. *et al.*, 2011). Η βορνεόλη έχει παρόμοιο μηχανισμό δράσης με την καμφορά ως προς την αντιμετώπιση νευραλγιών και παθήσεων από ρευματισμούς. Έρευνες έχουν δείξει τις αντιμικροβιακές ιδιότητες της βορνεόλης, με δράση στην αντιμετώπιση των Gram(+) και Gram(-) παθογόνων βακτηρίων, αλλά και στην καταπολέμηση των μυκητιάσεων. Οι σημαντικότερες όμως φαρμακευτικές ιδιότητες αφορούν κυρίως τις ηρεμιστικές και αναισθητικές ιδιότητες της ουσίας (Granger A. *et al.*, 2004). Σε αυτό βοηθάει το γεγονός ότι είναι ελαιοδιαλυτή, με αποτέλεσμα να απορροφάται πολύ εύκολα από το στομάχι και να μεταφέρεται αμέσως στο αίμα του εγκεφάλου (Jiang Xiao-fei *et al.*, 2008).

Η βορνεόλη, ως συστατικό σε εκχυλίσματα φαρμακευτικών φυτών, χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια στην Κίνα και την Ιαπωνία, για την αντιμετώπιση του άγχους, της αϋπνίας και της νευρικότητας. Μελέτες σε ανθρώπους και ζώα με εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια από το φυτό *Valleriana officinalis* (βαλεριάνα), έχουν δείξει την καταπραΰντική και ισορροπημένη ηρεμιστική δράση, μπορεί να οδηγήσει τον ασθενή σε βαθύ ύπνο (Granger A. *et al.*, 2004; Johnston G. A. R. *et al.*, 2009). Ωστόσο στο φυτό αυτό περιέχονται τερπένια και φλαβονοειδή συστατικά, τα οποία έχουν και αυτά ηρεμιστική δράση.



Εικόνα 1.1.5. *Valleriana officinalis*.

Κάθε φυτικό υλικό περιλαμβάνει μια πληθώρα συστατικών, μερικά από τα οποία μπορούν να συμβάλλουν στη δημιουργία του ίδιου αποτελέσματος στον ανθρώπινο οργανισμό, με παρόμοιο ή διαφορετικό μηχανισμό δράσης. Το γεγονός αυτό ανοίγει νέους ορίζοντες στο σχεδιασμό φαρμάκων. Η εξέταση, δηλαδή δύο διαφορετικών συστατικών δίνει την δυνατότητα εξακρίβωσης του μηχανισμού δράσης και της συνέργιας αυτών. Σε αυτό το πλαίσιο, η βορνεόλη αποτελεί σημαντικό συστατικό των

φυτών, όπου ενδείκνυται για μελέτη μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλα συστατικά. (Johnston G. A. R. *et al.*, 2009)

Η αναισθητική δράση της βορνεόλης οφείλεται σε παρέμβαση στο φυσιολογικό μηχανισμό του ανθρώπου, που ελέγχει τη λειτουργία του ύπνου. Συγκεκριμένα έχει ενισχυτική επίδραση στη δραστηριότητα του GABA (gamma-amino-butiric acid, γ-αμινο-βουτυρικό οξύ), ανασταλτικού νευροδιαβιβαστή του κεντρικού νευρικού συστήματος των θηλαστικών. Το GABA περιέχεται σε ποσοστό 40% στο κεντρικό νευρικό σύστημα των θηλαστικών (Granger A. E. *et al.*, 2004; Granger R. E *et al.*, 2005; Johnston G. A. R. *et al.*, 2009). Ο ρόλος του GABA είναι να επιδρά στα νευρικά κύτταρα, χαλαρώνοντας τον ανθρώπινο οργανισμό. Το GABA προσλαμβάνεται στα νευρικά κύτταρα με σκοπό να αποφεύγεται η υπερβολική διακίνηση νευρικών ερεθισμάτων και η δράση τους σχετίζεται με την ανοχή στον πόνο. Τα σημεία που συνδέεται το GABA με τους νευρώνες είναι οι GABA_A ιονοτροπικοί υποδοχείς, που αποτελούνται από πέντε πρωτεΐνες και οι οποίες σχηματίζουν ένα κανάλι ιόντων χλωρίου. Υπάρχουν 11 διακριτά σημεία πρόσδεσης ουσιών στους GABA_A υποδοχείς. Καθώς δρα το GABA, ανοίγει το κανάλι διακίνηση των ιόντων του χλωρίου και παρεμποδίζεται η μετάδοση των νευρικών ερεθισμάτων. Στη διέγερση των GABA_A υποδοχέων από το GABA οφείλεται λοιπόν η αγχολυτική, καταπραϋντική, υπνωτική, ηρεμιστική, αναισθητική και μυοχαλαρωτική επίδραση της βορνεόλης στον οργανισμό (Granger R. E. *et al.* 2005).

Η έρευνα έχει δείξει ότι η βορνεόλη προκαλεί τροποποίηση στους GABA_A υποδοχείς διευκολύνοντας τη δράση του GABA. Επιπλέον *in vivo* πειράματα παρουσιάζουν την βορνεόλη να έχει από μόνη της μικρή αναισθητική δράση, δηλαδή χωρίς την παρουσία του GABA. Μικρότερη επίδραση στους GABA_A υποδοχείς από τη βορνεόλη, έχουν η ισοβορνεόλη, η καμφορά και το ακέτυλο-βορνύλιο, ουσίες οι οποίες έχουν παρόμοια δομή (Granger R. E. *et al.* 2005; Johnston G. A. R. *et al.* 2009). Σε περιπτώσεις απουσίας GABA, η ισοβορνεόλη παρουσιάζει μικρή ηρεμιστική δράση, το ακετυλο-βορνύλιο έχει ελάχιστη, ενώ η καμφορά δεν έχει δράση. Η διαβάθμιση της δράσης των ουσιών ισχύει και για αυξανόμενες ποσότητες του GABA. Επιπλέον η βορνεόλη έχει δράση συγκρίσιμη με συνθετικές αναισθητικές ουσίες. Η αναισθητική δράση της βορνεόλης είναι ισότιμη με αυτή του etomidate, που χρησιμοποιείται στη γενική αναισθησία, ενώ παρουσιάζει μεγαλύτερη δράση από το diazepam, που εφαρμόζεται στην αντιμετώπιση του άγχους και της αϋπνίας. Επίσης έχει μεγαλύτερη

δράση τροποποίησης στους υποδοχείς και από το νευροστεροειδές 5α-pregnan-3α-20-one (Granger R. E *et al.*, 2005).

Χρήσιμα συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν από την μελέτη του τρόπου σύνδεσης της βορνεόλης στους υποδοχείς, για την δράση ηρεμιστικών και αναισθητικών συνθετικών ουσιών. Η ανταγωνιστική δράση της βορνεόλης με την φυτική αλκαλοειδή αναισθητική ουσία bicuculline, υποδηλώνει ενδεχομένως τα κοινά σημεία πρόσδεσης σε κοινούς υποδοχείς. Η αδρανής στάση της βορνεόλης στη δράση της ουσίας flumazenil, πιθανώς να αποκαλύπτει διαφορετικές περιοχές πρόσδεσης. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάζουν και μονοτερπένια, όπως είναι η θυμόλη. Μια πιθανότητα είναι οι υπομονάδες του υποδοχέα GABA_A να έχουν μια υδροξυλική- υδρόφιλη περιοχή και μια μεγαλύτερη υδρόφοβη περιοχή (Granger R. E *et al.* 2005).

Υπάρχουν μελέτες που επιβεβαιώνουν ότι η βορνεόλη ευνοεί την βιοδιαθεσιμότητα φαρμακευτικών ουσιών, καθώς ανοίγει το φραγμό του εγκεφάλου στο αίμα (barrier brain blood, BBB). Με αυτόν τον τρόπο η βορνεόλη επεκτείνει τον χρόνο ζωής της ουσίας genopisoid στον οργανισμό, ενός φυσικού προϊόντος με φαρμακευτική εφαρμογή στην αντιμετώπιση καρδιαγγειακών παθήσεων και εγκεφαλικών (Yang Lu *et al.*, 2011). Μια επιπλέον ιδιότητα της βορνεόλης είναι η επέκταση του χρόνου αναισθησίας που επιφέρει η αναισθητική ουσία propofol (2,6-δισοπροπυλοφαινόλη). Η ουσία αυτή χρησιμοποιείται ως ήπιο αναισθητικό και μεταβολίζεται πολύ γρήγορα στο συκώτι. Με την επίδραση της βορνεόλης όμως, καθυστερεί η βιοαποδόμηση της ουσίας στο συκώτι, με αποτέλεσμα να παρατείνεται ο χρόνος δράσης της (Lin A. L. *et al.*, 2006).

Μια έρευνα έδειξε ότι η βορνεόλη βοηθά στην αντιμετώπιση παθήσεων του καρδιαγγειακού συστήματος. Αυτό επιτυγχάνεται, καθώς η βορνεόλη έχει αντιυπερτασικές ιδιότητες και παρεμποδίζει την συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων (Murugesan S. *et al.*, 2011). Κατασταλτική επίδραση στον νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης αποδίδεται στην βορνεόλη. Ως τελικό αποτέλεσμα της δράσης αυτής είναι η ρύθμιση της βιοσύνθεσης κατεχολαμινών, ουσιών που σχετίζονται με το στρες και τα συναισθήματα του ανθρώπου. Η μείωση της βιοσύνθεσης κατεχολαμινών είναι στόχος της δράσης πολλών ψυχοτρόπων φαρμάκων (Park Tae-Ju, 2003). Η βορνεόλη σε συνέργια με την ουσία bismuth subgallate, έχει επίσης πολύ καλές επουλωτικές ιδιότητες σε πληγές του δέρματος (Lee-Min Mai *et al.*, 2003). Ένας επιπλέον τομέας, όπου έχει αποδειχτεί ότι η βορνεόλη έχει θεραπευτική δράση, είναι η αντιμετώπιση της

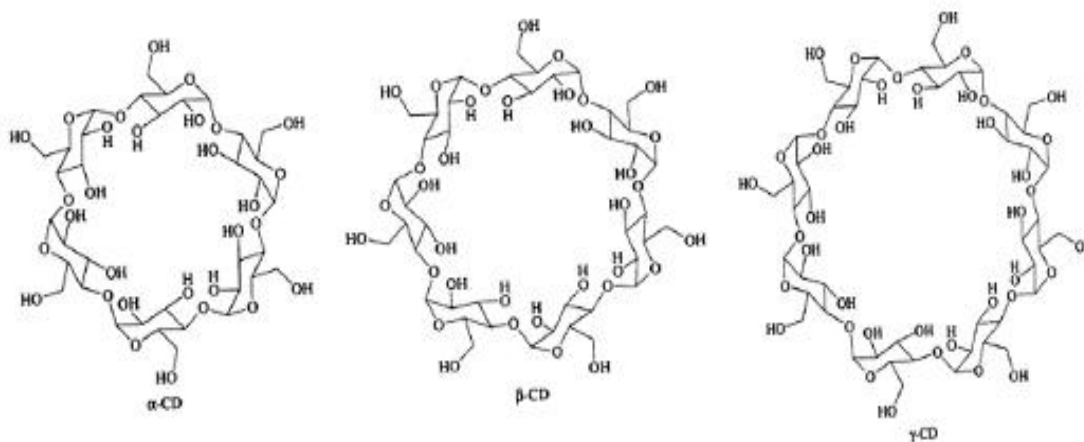
απορρόφησης των οστών (bone resorption), ρυθμίζοντας τον μεταβολισμό των οστών και εμποδίζοντας την απώλεια ασβεστίου (Mühlbauer R.C. *et al.*, 2003).

Αναλύοντας τη χημική δομή της βορνεόλης διαπιστώνουμε ότι το υδροξύλιο φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη δράση της. Εκεί εστιάζεται και η εντονότερη ηρεμιστική επίδραση της βορνεόλης συγκριτικά με την καμφορά που έχει καρβονυλομάδα στην θέση της υδροξυλομάδας. Αυτή η χημική διαφοροποίηση κάνει επίσης την καμφορά πολύ πιο τοξική σε σχέση με την βορνεόλη. Σημασία έχει και η θέση του υδροξυλίου σε σχέση με την γέφυρα των μεθυλίων. Όπως διαπιστώθηκε η βορνεόλη έχει εντονότερες χαλαρωτικές ιδιότητες συγκριτικά με την ισοβορνεόλη (Granger R. E. *et al.*, 2005; Johnston G. A. R. *et al.*, 2006). Επιπλέον έρευνα σε πειραματόζωα έχει δείξει ότι, κάποιο ποσοστό βορνεόλης και ισοβορνεόλη μετατρέπεται σε καμφορά στον οργανισμό. Το γεγονός αυτό προσδίδει τοξικές ιδιότητες στη βορνεόλη, όταν χορηγείται σε βρέφη και εγκύους, καθώς η καμφορά είναι τοξική σε αυτά τα άτομα. Ωστόσο δεν φαίνεται να παρουσιάζει τοξικότητα σε ενήλικα άτομα. Σίγουρα χρειάζονται νέες τοξικολογικές μελέτες, για την τοξικότητα του συστατικού στον ανθρώπινο οργανισμό (Jiang Xiao-fei, 2008).

Εκτός από την φαρμακευτική δράση της βορνεόλης, που αναφέρθηκε μέχρι τώρα, υπάρχει ένα ευρύ φάσμα πεδίων εφαρμογής της ουσίας. Πολλά προϊόντα περιλαμβάνουν στη σύνθεση τους ως συστατικό τη βορνεόλη, όπως καλλυντικά, σαπούνια, σαμπουάν, λουσιόν και καθαριστικά σπιτιού (Bhatia S.P. *et al.*, 2008). Αναφορές υπάρχουν και για τις εντομοκτόνες ιδιότητες της ουσίας. Σημαντική εντομοκτόνο δράση παρουσιάζει η βορνεόλη εναντίον του εντόμου *Sitophylus oryzae*, το οποίο είναι ένα σκαθάρι που προσβάλλει κυρίως αποθήκες σιτηρών. Η σπουδαιότητα της εντομοκτόνο δράσης των φυσικών προϊόντων όπως η βορνεόλη, εστιάζεται στο γεγονός ότι δεν είναι επιβλαβή για το περιβάλλον και δεν έχουν συσσωρευτικές ιδιότητες στον ανθρώπινο οργανισμό. Από στατιστικές έρευνες, τα εντομοκτόνα βοτανικά σκευάσματα αποτελούν μόνο το 1% του συνόλου των εντομοκτόνων (Rozman V. *et al.*, 2007).

1.2. ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες, αποτελούμενοι συνήθως από έξι έως οκτώ μονάδες α-D-γλυκοπυρανόζης, συνδεδεμένες με (α-1,4)-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Τα τρία πιο σημαντικά μέλη της οικογένειας των κυκλοδεξτρινών είναι η α-κυκλοδεξτρίνη, η β-κυκλοδεξτρίνη και η γ-κυκλοδεξτρίνη (α-CD, β-CD και γ-CD αντίστοιχα) (Εικόνα 1.2.1.), που περιέχουν έξι, επτά και οκτώ μονάδες αντίστοιχα. Ανώτερες κυκλοδεξτρίνες (δ-CDs και ε-CDs), που περιέχουν εννιά και δέκα μονάδες αντίστοιχα είναι επίσης γνωστές. Η ονοματολογία α, β και γ εξυπηρετεί τη διάκριση των μορίων με βάση μόνο το μέγεθος του δακτυλίου και διατηρείται κυρίως για ιστορικούς λόγους. Ωστόσο η ονοματολογία α, β και γ χρησιμοποιείται ευρέως, μιας και η συστηματική ονομασία των κυκλοδεξτρινών είναι αρκετά πολύπλοκη. Για τις β-κυκλοδεξτρίνες συχνά χρησιμοποιούνται και οι όροι κυκλομαλτοεπτόζη, κυκλοεπταγλυκάνη και κυκλοεπταμυλόζη, ενώ αντίστοιχοι όροι χρησιμοποιούνται και για τα άλλα μέλη της οικογένειας (Szejtli J., 1998).



1.2.1 Χημικές δομές α-, β- και γ-CDs.

Οι α- και β-CDs (σε αντίθεση με την γ-CD) δεν υδρολύονται από το ανθρώπινο σίελο και τις παγκρεατικές αμυλάσες. Ωστόσο, και η α- και η β-κυκλοδεξτρίνη μπορούν να ‘ζυμωθούν’ από την εντερική μικροχλωρίδα. Οι κυκλοδεξτρίνες είναι μόρια μεγάλα σε μέγεθος (το MB κυμαίνεται από 1000 έως και άνω των 2000 Daltons) και υδρόφιλα με σημαντικό αριθμό ατόμων που δρουν ως δότες ή δέκτες πρωτονίων. Επομένως, δεν απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα στην κανονική τους μορφή. Οι υδρόφιλες κυκλοδεξτρίνες θεωρούνται μη-τοξικές σε χαμηλές και μέτριες δοσολογίες. Αντίθετα τα

λιπόφιλα παράγωγά τους, π.χ. οι μεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα και ενδέχεται να εμφανίζουν τοξικότητα κυρίως μετά από παρεντερική χορήγηση. Περίπου τριάντα διαφορετικά φαρμακευτικά προϊόντα, που περιέχουν κυκλοδεξτρίνες, κυκλοφορούν στην διεθνή αγορά (A. Magnúsdóttir *et al.*, 2002).

Ο δακτύλιος των CD, στην πραγματικότητα είναι ένας κύλινδρος ή καλύτερα ένας κωνικός κύλινδρος και χαρακτηρίζεται συχνά με τον γεωμετρικό όρο 'κόλουρος κώνος'. Οι περιφέρειες των CD παρουσιάζουν υδρόφιλο χαρακτήρα, εξαιτίας της παρουσίας υδροξυλομάδων (πρωτοταγών και δευτεροταγών). Στο μεγαλύτερο χείλος του κόλουρου κώνου βρίσκονται τα δευτεροταγή υδροξύλια και στο μικρότερο τα πρωτοταγή (Naidoo *et al.*, 2004; Saenger, 1987). Η κοιλότητα που σχηματίζει η CD παρουσιάζει υδρόφοβο χαρακτήρα λόγω της παρουσίας αιθερικών ατόμων οξυγόνου, που σχηματίζουν γέφυρες, αλλά και πολλών ατόμων υδρογόνου των C3H και C5H μεθάνικών ομάδων και C6H2 μεθυλενικών ομάδων. Τα ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων των γλυκοζιτικών δεσμών του οξυγόνου είναι διευθετημένα προς το εσωτερικό της κοιλότητας αυξάνοντας την ηλεκτρονιακή πυκνότητα εκεί και προσδίδοντας σε αυτήν τον χαρακτηρισμό της βάσης κατά Lewis. Είναι αυτή η κοιλότητα, σε συνδυασμό με την διαλυτότητα στο νερό, που προσδίδουν στις κυκλοδεξτρίνες την μοναδική ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων σε υδατικά διαλύματα (Harata G.G., 1998; Steed J.W. and Atwood J.L., 2002).

Το άμυλο, αποτελεί την κύρια αποθήκη ενέργειας του κυττάρου, είναι άμεσα διαλυτό και μετατρέπεται βιοχημικά σε δεξτρίνες. Οι δεξτρίνες όταν αποδομηθούν με το ένζυμο της γλυκοζο-τρανσφεράσης, το κύριο προϊόν της διάσπασης της αλυσίδας (ένας γραμμικός ολιγοσακχαρίτης) υφίσταται ενδομοριακά κυκλοποίηση, δίνοντας τις κυκλοδεξτρίνες. Η γλυκοζο-τρανσφεράση που προέρχεται από τον *Bacillus* No. 38-2 είναι ένα ένζυμο κατάλληλο για τη βιομηχανική παραγωγή των CD με αρκετά υψηλή απόδοση, ενεργό ακόμη και στους 80°C και σε pH 6-10, δηλαδή σε συνθήκες υπό τις οποίες δεν δρουν άλλα ένζυμα. Το 80% του αμύλου μετατρέπεται κυρίως σε β-CD (Saenger W., 1980). Οι βιομηχανικά παραγόμενες κυκλοδεξτρίνες μπορούν να είναι 99% καθαρές. Οι ελεύθερες CD απομονώνονται με συμπλοκοποίηση με τολουένιο, το οποίο είναι το καταλληλότερο αντιδραστήριο για την παραγωγή των CD (Saenger W., 1980).

Κάθε χρόνο χιλιάδες τόνοι CDs παράγονται μέσω τεχνολογιών φιλικών προς το περιβάλλον, για τον λόγο αυτό η τιμή τους δεν είναι πλέον απαγορευτική για βιομηχανική παραγωγή (Szejtli J., 1998). Οι εφαρμογές των CDs αναφέρονται κυρίως

στη Βιομηχανία τροφίμων. Το 80-90% της παγκόσμιας παραγωγής προορίζεται για αυτήν χάρη στη σταθερότητα που προσφέρει σε αυτές τις υψηλές θερμοκρασίες (οι οποίες συχνά χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία των τροφίμων), στην ανθεκτικότητα που αποκτούν διάφορες εγκλειόμενες αρωματικές ενώσεις ενώσεων έναντι της οξείδωσης, και της θερμικής αποδιάταξης. Επίσης σημαντική για την ευρεία χρήση τους είναι η σταθερότητα χρωματισμού, η ευκολία χειρισμού κ.α. (Steed J.W. and Atwood J.L., 2002). Η συμπλοκοποίηση ακριβών αιθέριων ελαίων με κυκλοδεξτρίνες μειώνει δραματικά τις ποσότητες που χρειάζεται να προστεθούν στα τρόφιμα και άλλα προϊόντα προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. (Lofsson T. *et al.*, 2005).

Σημαντικές είναι οι εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών στη βιομηχανία των φαρμάκων. Οι κυκλοδεξτρίνες δρουν ως προστατευτικοί παράγοντες, εμποδίζοντας τον πρόωρο μεταβολισμό των φαρμάκων. Έτσι επιτρέπουν, για παράδειγμα, τη λήψη των φαρμάκων από το στόμα και όχι ενδοφλέβια. Επίσης, τροποποιούν τη σταθερότητα και τη μεταφορά του φαρμάκου, αυξάνοντας την εξειδικευμένη δράση και τη βιοδιαθεσιμότητα του. Αυτό επιτυγχάνεται με αύξηση της διαλυτότητας των λιγότερο διαλυτών φαρμάκων, χωρίς τη χρήση χημικής τροποποίησης τους, που συχνά περιλαμβάνει προσθήκη υδροφιλικών κατάλοιπων (Szejtli J., 2004).

Ένα άλλο μεγάλο πεδίο εφαρμογής των κυκλοδεξτρινών είναι η αναλυτική χημεία, και ιδιαίτερα οι χρωματογραφικές μέθοδοι, όπως η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, η αέρια χρωματογραφία, η ηλεκτροφόρηση σε τριχοειδή σωλήνα και η υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC). Εδώ και πάλι, ο ρόλος των κυκλοδεξτρινών είναι να σχηματίζουν σύμπλοκα με τον υπό εξέταση αναλυτή. Η παρουσία κυκλοδεξτρινών (και παραγώγων τους), είτε ως προσθετικά στην κινητή φάση, είτε ως χημικά συνδεδεμένες στη σταθερή φάση, μπορούν να βελτιώσουν την ικανότητα διαχωρισμού και την ταχύτητα της ανάλυσης και να οδηγήσουν στον διαχωρισμό στενά συνδεδεμένων ενώσεων και ισομερών, ειδικά εναντιομερών.

Εκτός από τις ανωτέρω εφαρμογές, οι CDs χρησιμοποιούνται και ως βιομιμητικά μόρια από τη βιοτεχνολογία (Steed J.W. and Atwood J.L., 2002). Τέλος, οι CDs σχηματίζουν σύμπλοκα με μια μεγάλη ποικιλία αγροχημικών, όπως φυτορρυθμιστικές ουσίες, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, μηκυτοκτόνα και φερομόνες (Τσορτέκη Φ., 2006).

1.3. ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΞΕΝΙΖΟΜΕΝΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.

Η μεγάλη σημασία των CDs, τόσο στην έρευνα όσο και στη βιομηχανία, βασίζεται στην ικανότητά τους να εγκλείουν μόρια κατά εκλεκτικό τρόπο, χάρη στο φαινόμενο της μοριακής αναγνώρισης ή της χειρομορφικής αναγνώρισης αναφερόμενοι σε εναντιομερή μόρια. Η μελέτη των παραγόντων που οδηγούν σε αυτή την εκλεκτική συμπλοκοποίηση είναι πολύ σημαντική, καθώς αυτή μπορεί να αξιοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές προσχεδιασμένης συμπλοκοποίησης (Dodziuk H., 2006).

Ο εγκλεισμός μορίων στην υδροφοβική κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών τους προσδίδει πολύ σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως:

- Η σταθεροποίηση μορίων ευαίσθητων στο φως ή στο οξυγόνο.
- Ο έλεγχος της χημικής δραστηριότητας των ξενιζόμενων μορίων.
- Σταθεροποίηση των πολύ πτητικών ουσιών, παρεμπόδιση της εξάτμισης τους, ασφαλέστερη αποθήκευση και ασφαλέστερο χειρισμό.
- Τροποποίηση ορισμένων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των ξενιζόμενων μορίων, όπως η αύξηση της διαλυτότητας αρκετά δυσδιάλυτων ουσιών, η βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας ενός φαρμάκου ελάχιστα διαλυτού στο νερό (ταχύτερη διάλυση στο νερό, ταχύτερη και πληρέστερη απορρόφηση), αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης του ξενιζόμενου μορίου (κάλυψη ή μεταβολή χρώματος), παρεμπόδιση δυσάρεστων οσμών ή γεύσεων (Szejtli J., 1998).

Τα μόρια ξενιστή και ξενιζόμενου συνδέονται με μη ομοιοπολικούς δεσμούς, με δυνάμεις όπως ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, δυνάμεις Van der Waals, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, δεσμοί υδρογόνου, αλληλεπιδράσεις λόγω μεταφοράς φορτίου (Liu, 2002; Szejtli J., 1988).

Το γενικότερο πλαίσιο της διαδικασίας εγκλεισμού ενός ξενιζόμενου μορίου μέσα στις κυκλοδεξτρίνες έχει ως εξής:

- Τα μόρια νερού φεύγουν από την κοιλότητα της CD και μετακινούνται σε ένα ενεργειακό επίπεδο αντίστοιχο με εκείνο της αέριας κατάστασης. Κατά συνέπεια, οι αλληλεπιδράσεις Van der Waals και ο αριθμός των υδρογονικών δεσμών μειώνεται, ενώ οι βαθμοί ελευθερίας μετατόπισης και περιστροφής των ελευθέρων μορίων νερού αυξάνονται.
- Η ενέργεια διαμόρφωσης του δακτυλίου της CD μειώνεται στην περίπτωση της α- ή της τροποποιημένης β- CD.

- Το μη πολικό ξενιζόμενο μόριο απαλλάσσεται από το ενυδατωμένο περίβλημα του κι επίσης υιοθετεί την κατάσταση του ιδανικού αερίου. Αυτό το άδειο περίβλημα ενυδάτωσης καταρρέει και αναδιατάσσεται.
- Το ξενιζόμενο μόριο, θεωρούμενο ότι βρίσκεται σε κατάσταση ιδανικού αερίου, εισέρχεται στην άδεια κοιλότητα CD και το σύμπλοκο σταθεροποιείται με αλληλεπιδράσεις Van der Waals, και μερικές φορές με υδρογονικούς δεσμούς. Το ξενιζόμενο μόριο διατηρεί ένα βαθμό ελευθερίας που αντιστοιχεί σε μονοδιάστατη περιστροφή.
- Τα εκτοπιζόμενα μόρια νερού συμπυκνώνονται από την αέρια στην υγρή κατάσταση. Αλλαγές στην ενθαλπία και την εντροπία μπορούν να θεωρηθούν ως ενδεικτικές με εκείνες της καλά γνωστής συμπύκνωσης νερού.
- Η δομή του νερού αποκαθίσταται γύρω από τα εκτεθειμένα μέρη του ξενιζομένου μορίου και ενσωματώνεται σε κέλυφος ενυδάτωσης του δακτυλίου της CD (Szejtli J., 1988).

1.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑ ΑΚΤΙΝΩΝ-X

1.4.1. Γενικά.

Η κρυσταλλογραφία ακτίνων-X είναι το πρωταρχικό εργαλείο για τον προσδιορισμό των ατομικών θέσεων των μορίων. Η εφαρμογή της κρυσταλλογραφίας απαιτεί τη δημιουργία κρυστάλλου υψηλής ποιότητας του μοριακού συστήματος του οποίου η δομή μελετάται. Ένας υψηλής ποιότητας κρύσταλλος περιέχει μόρια διατεταγμένα κανονικά, στη βάση ενός πλέγματος. Υπάρχουν 14 διαφορετικά είδη πλεγμάτων. (Hammes G. G., 2005).

1.4.2. Κρυστάλλωση.

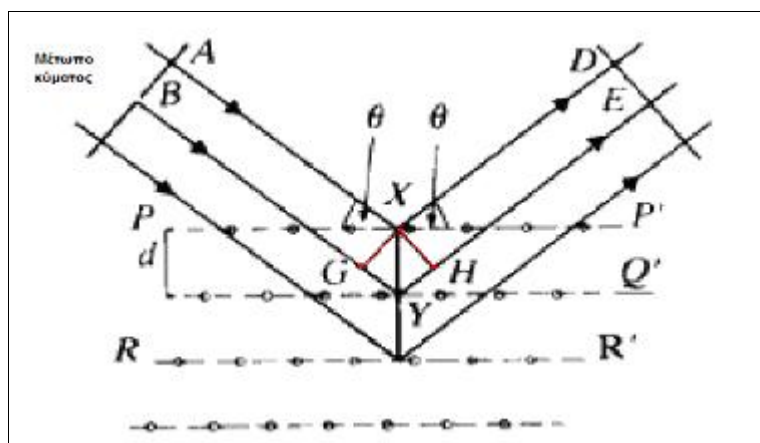
Η κρυσταλλογραφική μελέτη ξεκινά με την διαδικασία της κρυστάλλωσης. Η κρυστάλλωση απαιτεί συγκεκριμένες συνθήκες, καθώς είναι εξαιρετικά ευαίσθητη τόσο στο pH, τη θερμοκρασία, τους διαλύτες και τη συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας. Η κρυστάλλωση είναι μια σχετικά αργή διαδικασία, που συνήθως απαιτεί αρκετές μέρες και στηρίζεται στην αρχή της βαθμιαίας αύξησης της συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας σε κατάλληλο διαλύτη μέχρι ένα σημείο πέραν του κορεσμού. Η συγκέντρωση αυτή μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους, όπως της βραδείας εξάτμισης, της βραδείας ψύξης ή διάχυσης. Οι πυρήνες κρυστάλλωσης που θα προκύψουν, ανάλογα με τη συγκέντρωση και τη θερμοκρασία του διαλύματος, θα πρέπει να έχουν ορισμένο μέγεθος για να προχωρήσει η διαδικασία της κρυστάλλωσης.

1.4.3. Ακτίνες X-Συνθήκη του Bragg.

Η κρυσταλλογραφική μελέτη συνεχίζεται με τη διαδικασία της περίθλασης των ακτίνων X από τον κρύσταλλο. Ο κρύσταλλος τοποθετείται σε έναν τριχοειδή σωλήνα ή σε θηλεία και παίρνει έναν συγκεκριμένο προσανατολισμό σε σχέση με τις ακτίνες X και το φιλμ (Stryer L., 1997). Η δέσμη ακτίνων X, παράγεται από ηλεκτρόνια που επιταχύνονται προς ένα στόχο χαλκού. Οι ακτίνες-X είναι οι καταλληλότερες ακτίνες, καθώς το μήκος κύματος τους βρίσκεται στην περιοχή των Angstroms (0,1nm) και προσεγγίζει το μήκος των ενδομοριακών δεσμών (Hammes G.G., 2005). Όταν λεπτή δέσμη ακτίνων X προσπίπτει στον κρύσταλλο, ένα μέρος της τον διαπερνά, ενώ η υπόλοιπη σκεδάζεται ή περιθλάται σε διάφορες κατευθύνσεις υπό συνθήκες. Η δέσμη που σκεδάζεται ή περιθλάται μπορεί να ανιχνευτεί σε φιλμ ακτίνων X ή από ένα ηλεκτρονικό ανιχνευτή στερεάς κατάστασης, όπου η ένταση των κηλίδων είναι ανάλογη προς την ένταση των ακτίνων (Stryer L., 1997).

Ο W. L. Bragg έδειξε ότι η περίθλαση των ακτίνων-X από έναν κρύσταλλο μπορεί να περιγραφεί ως η σκέδαση από παράλληλα επίπεδα μορίων, (Εικόνα 1.4.1), που έχει ως αποτέλεσμα ένα πρότυπο (rattern) περίθλασης ακτίνων X που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες σειρές σημείων που λέγονται ανακλάσεις και αποτυπώνεται σε μια φωτογραφική ή σε μια ισοδύναμη ψηφιακή «πλάκα». Εάν η προσπίπτουσα ακτινοβολία σχηματίζει γωνία θ με ένα ατομικό επίπεδο, τότε θα σκεδαστεί επίσης με γωνία θ . Αυτή καλείται ελαστική σκέδαση και γίνεται η παραδοχή ότι η σκεδαζόμενη ακτινοβολία δεν χάνει ούτε απορροφά ενέργεια (Hammes G.G., 2005).

Για ένα επιλεγμένο κύμα, η ακτινοβολία μπορεί να σκεδαστεί από καθένα από τα επίπεδα, με διαφορετική όμως φάση για τη σκεδαζόμενη δέσμη, καθώς κάθε κύμα θα έχει διανύσει μια διαφορετική απόσταση ανάλογα με την μεταξύ των επιπέδων απόσταση d . Εάν η διαφορά στο μήκος της διαδρομής που έχει διανυθεί από τις σκεδαζόμενες από διαφορετικά επίπεδα ακτινοβολίες ($d'=2d.\sin\theta$) είναι ίση με το μήκος κύματος ή με ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος, τότε τα δύο κύματα θα βρίσκονται σε φάση και θα συμβεί μια συμβολή ενίσχυσης με αποτέλεσμα την ενίσχυση της έντασης της ακτινοβολίας που θα είναι μέγιστη. Αυτή είναι η συνθήκη του Bragg, δηλ. $n\lambda = 2d\sin\theta$ (Hammes G.G., 2005).



Εικόνα 1.4.3. Ανακλάσεις από οικογένεια πλεγματικών επιπέδων σύμφωνα με τη συνθήκη του Bragg.

Η φωτογραφία ακτινών X είναι μια τομή δυο διαστάσεων μέσα από ένα τρισδιάστατο πλέγμα 25.000 σημείων. Οι εντάσεις είναι τα βασικά πειραματικά δεδομένα μιας κρυσταλλογραφικής ανάλυσης ακτινών X. Από τις πειραματικές παρατηρούμενες εντάσεις και τις υπολογισμένες φάσεις (βλέπε § 1.4.4.), λαμβάνουμε μέσω ενός μετασχηματισμού Fourier τη συνάρτηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας στην επαναλαμβανόμενη μοναδιαία κυψελίδα του κρυστάλλου. Το τελικό επομένως αποτέλεσμα ενός κρυσταλλογραφικού πειράματος, δεν είναι πραγματικά μια εικόνα των ατόμων, αλλά ένας χάρτης της κατανομής των ηλεκτρονίων στον χώρο, δηλ. ένας χάρτης πυκνότητας ηλεκτρονίων. Εντούτοις, δεδομένου ότι τα ηλεκτρόνια είναι συνήθως στενά εντοπισμένα γύρω από τους πυρήνες, ο χάρτης πυκνότητας ηλεκτρονίων μας δίνει μια αρκετά καλή εικόνα του μορίου. Αυτό συμβαίνει επειδή η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλεπιδρά με το υλικό μέσω του μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου της, το οποίο επιταχύνει φορτισμένα σώματα. Επειδή τα ηλεκτρόνια έχουν ένα πολύ υψηλότερο ειδικό φορτίο(1/m) από τα πρωτόνια των ατομικών πυρήνων, είναι αποδοτικότερα σε αυτήν την διαδικασία (Stryer L., 1997).

1.4.4. Επεξεργασία με μετασχηματισμό Fourier

Για τις ακτίνες X δεν υπάρχουν φακοί για την εστίαση τους. Η εικόνα σχηματίζεται από μια μαθηματική ανάλυση που λέγεται μετασχηματισμός Fourier.. Αναλυτικότερα, η ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας εξαρτάται από τη σκεδαστική ικανότητα των ξεχωριστών ατόμων (ατομικός παράγοντας f) και τη φάση των κυμάτων από κάθε πηγή σκέδασης. Ο παράγοντας δομής, F , για κάθε επίπεδο μπορεί να οριστεί ως το άθροισμα των ατομικών παραγόντων σκέδασης f_i , πολλαπλασιασμένων με έναν παράγοντα φάσης, a_i , για το κάθε άτομο: $F = \sum f_i a_i$.

Η ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας είναι ανάλογη με την τιμή του πλάτους του παράγοντα δομής. Ο παράγοντας δομής F_{hkl} , που αντιστοιχεί στο ανακλώμενο κύμα από το επίπεδο hkl (hkl : δείκτες Miller που προσδιορίζουν ένα επίπεδο του κρυσταλλικού πλέγματος), εκφράζεται με ένα μιγαδικό αριθμό πλάτους $|F_{hkl}|$ και φάσης φ_{hkl} , δηλ. $F_{hkl} = |F_{hkl}| \exp(i\varphi_{hkl})$ (τα ατομικά ζεύγη συντεταγμένων είναι γνωστά).

Η μετατροπή των παραγόντων δομής σε ατομικές συντεταγμένες γίνεται με χρήση του μετασχηματισμού Fourier,
$$\rho(\mathbf{r}) = (1/V) \sum_{hkl} |F_{hkl}| \exp(-2\pi i \varphi_{hkl}) \quad (1).$$

Υπολογίζεται έτσι, η συνάρτηση κατανομής της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, $\rho(\mathbf{r})$ (οι ακτίνες-X σκεδάζονται μόνο από τα ατομικά ηλεκτρόνια) και οι ατομικές θέσεις αντιστοιχούν στα μέγιστα της $\rho(\mathbf{r})$.

Τα πειράματα περίθλασης ακτίνων-X μπορούν να δώσουν πληροφορίες μόνο για την ένταση της περιθλώμενης ακτινοβολίας, που είναι ανάλογη του τετραγώνου του πλάτους του παράγοντα δομής ($I_{hkl} \sim |F_{hkl}|^2$), ενώ δεν μπορούν να δώσουν καμιά πληροφορία για την φάση, φ_{hkl} , του παράγοντα δομής. Αυτό είναι ένα πρόβλημα που ονομάζεται «πρόβλημα των φάσεων» και είναι κεντρικό στον κρυσταλλογραφικό προσδιορισμό των δομών (Taylor W., 2003).

Για τη λύση του προβλήματος των φάσεων, δεν υπάρχει μια γενική λύση αλλά έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι, που βασίζονται αποκλειστικά στην πληροφορία της έντασης της περιθλώμενης ακτινοβολίας και δεν απαιτούν προηγούμενη γνώση καμίας από τις ατομικές θέσεις (Hauptman H. A., 1991). Στην περίπτωση των κρυσταλλικών δομών που συναντούμε στα υπερμοριακά συστήματα των προϊόντων εγκλεισμού σε κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται οι άμεσες μέθοδοι, η ισόμορφη αντικατάσταση και η μοριακή αντικατάσταση (Hammes G.G., 2005).

1.4.5. Προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής

Ο προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής, εξαρτάται από την εύρεση των φάσεων των περιθλώμενων ακτίνων-X από τον μονοκρύσταλλο. Η επεξεργασία των δεδομένων, αρχικά απαιτεί τη δεικτοδότηση των ανακλάσεων που καταγράφηκαν στις πολλαπλές καταγεγραμμένες εικόνες περίθλασης. Αυτό σημαίνει αρχικά αναγνώριση των διαστάσεων της μοναδιαίας κυψελίδας και αντιστοίχιση των κηλίδων των εικόνων περίθλασης με θέσεις του αντιστρόφου χώρου. Ένα προϊόν της δεικτοδότησης είναι ο προσδιορισμός της συμμετρίας του κρυστάλλου, δηλαδή της ομάδας χώρου αυτού, μέσω των δεδομένων που συνενώνονται σε ενιαίο σύνολο. Κηλίδες που εμφανίζονται σε δύο ή

περισσότερες εικόνες πρέπει να συγχωνευτούν και τελικά να αναχθούν σε κοινή κλίμακα, έτσι ώστε να έχουν μια συνεχή κλίμακα έντασης. Η βελτιστοποίηση της κλίμακας εντάσεων είναι κρίσιμη, γιατί η σχετική ένταση των κηλίδων είναι η πληροφορία κλειδί από την οποία η δομή προσδιορίζεται.

1.5. ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ ΜΕ ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΗ.

Σύμπλοκα βορνεόλης με β -κυκλοδεξτρίνη έχουν μελετηθεί σε ερευνητικό επίπεδο, αλλά και εφαρμογές τους συναντώνται ήδη σε βιομηχανικά σκευάσματα. Έχουν μελετηθεί επίσης αρκετά σύμπλοκα βορνεόλης με τροποποιημένες β -κυκλοδεξτρίνες. Οι τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες προκύπτουν με τη χημική προσθήκη μορίων στον δακτύλιο της κυκλοδεξτρίνης, μπορεί να προσδώσει νέες ιδιότητες όπως αύξηση της υδατοδιαλυτότητας (Yu Liu *et al.*, 2007). Παράδειγμα τέτοιας μελέτης είναι αυτή του εγκλεισμού βορνεόλης σε Ροδαμίνη-αιθυλδιαμίνη- β -κυκλοδεξτρίνη (Rhodamine B-ethylenediamine- β -cyclodextrins, RhB- β -CD). Η ροδαμίνη-αιθυλδιαμίνη είναι μια νουκλεοβάση, η οποία είχε συνδεθεί σε μια από τις θέσεις Οη6 της β -κυκλοδεξτρίνης (Linjing Yang *et al.*, 1997). Σε μια άλλη περίπτωση τροποποιημένης κυκλοδεξτρίνης, της Ο-6βρωμοφαινυλ- β -CD(O-6bromophenyl- β -CD), δημιουργήθηκαν σύμπλοκα με (+)βορνεόλη και (-)βορνεόλη, που έδειξαν ότι εμφανίζεται καλύτερη μοριακή αναγνώριση στην (+)βορνεόλη (Yu Liu *et al.*, 2004).

Ο εγκλεισμός βορνεόλης σε β -CD προσφέρει πέραν όλων των άλλων ελεγχόμενη απελευθέρωση, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για φαρμακευτικά σκευάσματα όπως π.χ. κρέμες επάλειψης, αφού γίνεται ελεγχόμενη απορρόφηση της βορνεόλης από το δέρμα, ενώ περιορίζονται οι απώλειές τους. Η παρακολούθηση του ρυθμού απελευθέρωσης της βορνεόλης από τέτοια σύμπλοκα πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η β -κυκλοδεξτρίνη μπορεί να περιορίσει τις απώλειες της βορνεόλης, αυξάνοντας τη σταθερότητα της βορνεόλης στο δέρμα (Wei Fengling *et al.*, 2007). Σε πολλές περιπτώσεις για τον εγκλεισμό βορνεόλης σε κυκλοδεξτρίνη χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες, που απομακρύνονται δύσκολα και δημιουργούν περιβαλλοντικά προβλήματα. Το 2009 οι Jun He Z και Wenjing Li, χρησιμοποίησαν υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα $scCO_2$ ως διαλύτη για τη δημιουργία συμπλόκου βορνεόλης/μεθυλ- β -κυκλοδεξτρίνης, εφαρμόζοντας χαμηλή πίεση και θερμοκρασία συγκριτικά με τη θερμοκρασία υγροποίησης της βορνεόλης. Το $scCO_2$ είναι περιορισμένης τοξικότητας και χαμηλού κόστους διαλύτης (He Z και Wenjing Li, 2009). Σε έρευνα με εμπορικούς σκοπούς μελετήθηκε η προσθήκη β -CD στο

αιθέριο έλαιο του φαρμακευτικού φυτού yuxingcao (*Houttuynia cordata* Thunb), που έχει ως αποτέλεσμα τον εγκλεισμό της βορνεόλης, που αποτελεί το κύριο συστατικό του. Η διαδικασία της συμπλοκοποίησης μελετήθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), υπέρυθρη φασματοσκοπία (IR) και μετρήσεις περίθλασης ακτίνων X (X-ray powder diffractometry) (Xu Shu-yuan *et al.*, 2009).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Όπως αναφέρθηκε, η βορνεόλη έχει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών. Από τις σημαντικότερες ιδιότητες της ουσίας είναι οι ηρεμιστικές, αναισθητικές και επουλωτικές. Ωστόσο η βορνεόλη είναι ουσία πτητική, με συνέπεια να υπάρχουν απώλειες κατά την επεξεργασία και αποθήκευσή της. Επιπλέον είναι μια ουσία η οποία διαλύεται δύσκολα στο νερό, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται περιορισμοί στην εφαρμογή της σε πολλούς τομείς, όπως στην φαρμακευτική. Ο εγκλεισμός λοιπόν της βορνεόλης μέσα σε κυκλοδεξτρίνες προσφέρει βελτιωμένες φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας με αποτέλεσμα την καλύτερη αξιοποίησή της.

Η δημιουργία συμπλόκου της βορνεόλης με την κυκλοδεξτρίνη περιορίζει την πτητικότητά της, αυξάνοντας τον χρόνο ζωής της. Επίσης, εξαιτίας της υδατοδιαλυτότητας των κυκλοδεξτρινών-ξενιστών, μπορεί να αυξηθεί η διαλυτότητα της βορνεόλης στο νερό μέχρι 70 φορές. Έτσι αυξάνεται δραστικά η διαλυτότητα της ουσίας στο αίμα του ανθρώπινου οργανισμού και βελτιώνεται σημαντικά η φαρμακευτική δράση, ενώ ευνοεί επίσης και τις εντομοκτόνες εφαρμογές της (Jun He Z and Wenjing Li, 2009). Πολύ σημαντική ιδιότητα αποτελεί και η σταδιακή αποδέσμευση της βορνεόλης από το σύμπλοκο, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας την καλύτερη κατανομή της δράσης της και τον περιορισμό της όποιας τοξικότητας της ουσίας. Συμπερασματικά, μπορεί να ειπωθεί ότι ο μικροεγκλεισμός σε κυκλοδεξτρίνη ενδεχομένως να αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για την στοχευόμενη αξιοποίηση της βορνεόλης σε πολλούς τομείς εφαρμογής της (Kokkίνου A. *et al.*, 2010).

Σκοπός λοιπόν της παρούσας διατριβής είναι η δομική μελέτη του προϊόντος εγκλεισμού της βορνεόλης σε β -κυκλοδεξτρίνη (β -CD) με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Για τον σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκε εγκλεισμός βορνεόλης σε β -CD και κρυστάλλωση του συμπλόκου αυτού. Ακολούθησε συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων από περίθλαση ακτίνων-X και επεξεργασία αυτών, για τον προσδιορισμό ενός αξιόπιστου προτύπου της δομής του συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD.

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/ β -CD

Στην παρούσα κρυστάλλωση χρησιμοποιήθηκε ως ξενιστής, η ουσία β -CD από την εταιρεία Fluka, με μοριακό βάρος (MW)=1135.12, και ως ξενιζόμενο μόριο, κρυσταλλική βορνεόλη από την εταιρεία Sigma Aldrich (St. Louis, Mo Η.Π.Α) με MW=154.25 και πυκνότητα 1.011g/ml. Κατα την πειραματική διαδικασία για τον σχηματισμό κρυστάλλων δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικές αναλογίες β -κυκλοδεξτρίνη/βορνεόλης, για να επιλεγεί εκείνη που σχηματίζει τους καταλληλότερους κρυστάλλους για τη συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων. Οι αναλογίες β -κυκλοδεξτρίνης/βορνεόλης που δοκιμάστηκαν ήταν: 1/1, 1/1.5 και 1/2. Και στις τρεις περιπτώσεις 30 mg β -κυκλοδεξτρίνης διαλύθηκαν σε 1 ml απιονισμένου νερού, έτσι ώστε να σχηματιστεί κορεσμένο διάλυμα. Παρόλα αυτά για να διευκολυνθεί η συμπλοκοποίηση και να σχηματιστεί διαυγές διάλυμα χρησιμοποιήθηκε αθανόλη σε ποσότητες που παρουσιάζονται στον πίνακα 3.1.1.

Πίνακας 3.1.1. Αντιστοιχία συγκέντρωσης βορνεόλης και σχηματισμός κρυστάλλων.

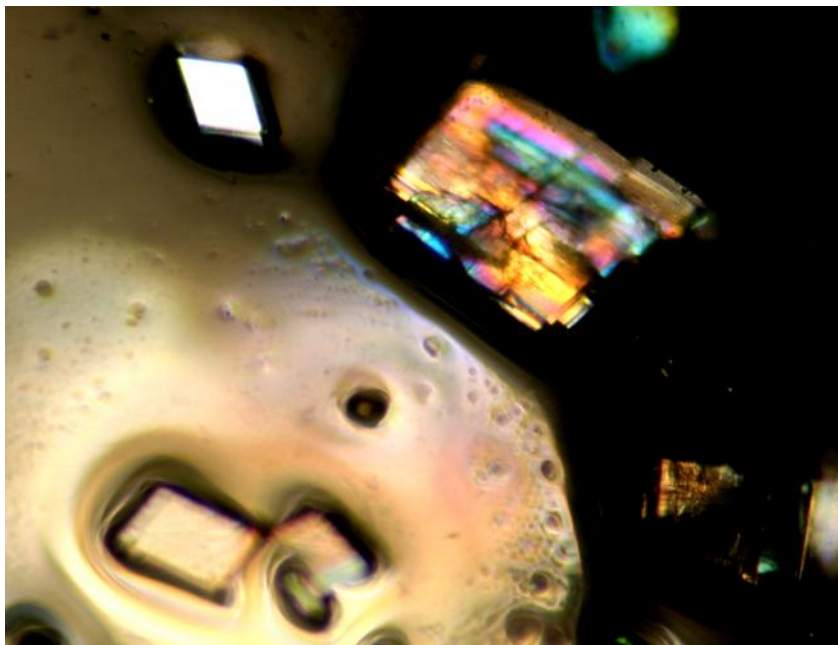
αναλογία	β -CD(mg)	Βορνεόλη (mg)	Σταγόνες αιθανόλης(0,05ml)*	Σχηματισμός κρυστάλλων
1/1	30	4.0771	12	Μικρός
1/1.5	30	6.1156	17	Μέτριος
1/2	30	8.1542	23	Πολύ καλός

*Η προσθήκη της αιθανόλης έγινε με πιπέτα Paster

Τα διαλύματα που περιείχαν το σύμπλοκο βορνεόλης/ β -CD, εισήχθησαν σε υδατόλουτρο, στο οποίο μειωνόταν σταδιακά η θερμοκρασία. Με την συγκεκριμένη διαδικασία σχηματίζονται σταδιακά κρύσταλλοι. Σχεδιάστηκε λοιπόν ένα πρόγραμμα μειούμενης θερμοκρασίας, το οποίο διήρκεσε 5 ημέρες και η θερμοκρασία μειώθηκε από τους 70°C στους 23°C. Τις πρώτες δύο ημέρες η θερμοκρασία μειωνόταν κατά 5°C/12 ώρες, ενώ τις επόμενες ημέρες μειωνόταν 3°C/8 ώρες περίπου, ώσπου η θερμοκρασία του υδατόλουτρου να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου (23°C). Στη συνέχεια, οι κρύσταλλοι αφού παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες, μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 18°C, ώστε οι κρύσταλλοι να αναπτυχθούν σε κατάλληλο μέγεθος.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καταλληλότεροι κρύσταλλοι σχηματίζονται με την στοιχειομετρική αναλογία β -κυκλοδεξτρίνης/βορνεόλης 1/2. Όπως φαίνεται και στην εικόνα 3.1.1.α., οι κρύσταλλοί που σχηματίστηκαν είναι πολλοί, ευκρινείς και καλοσχηματισμένοι. Ωστόσο και στην αναλογία 1/1.5 δημιουργούνται καλοσχηματισμένοι μονοκρύσταλλοι που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για

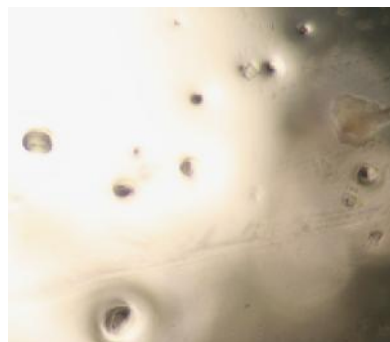
συλλογή δεδομένων από ακτίνες X. Η αναλογία 1/1 δεν έδωσε καλά αποτελέσματα, αποδεικνύοντας ότι δεν ικανοποιείται η απαραίτητη στοιχειομετρική αναλογία για τον σχηματισμό συμπλόκου και επομένως μονοκρυστάλλου. Από τον πίνακα 3.1.1. φαίνεται ότι η μοριακή αναλογία host/guest πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 1/1.5.



α.



β.

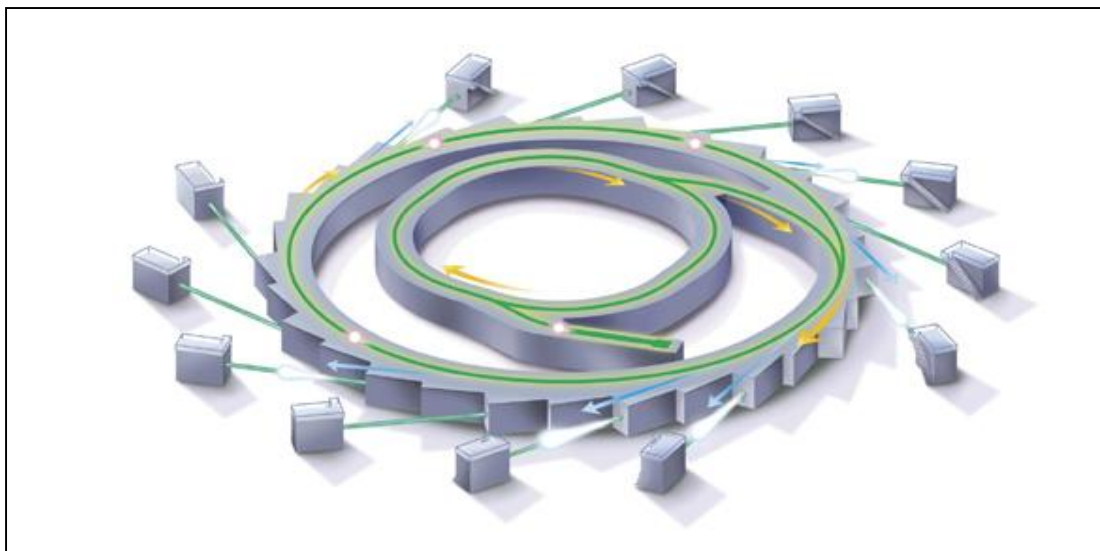


γ.

Εικόνα 3.1.1. α. Κρύσταλλοι οι οποίοι δημιουργήθηκαν από στοιχειομετρική αναλογία β -CD/βορνεόλης 1/2. β. Πρισματικός μονοκρύσταλλος κατάλληλος για συλλογή δεδομένων περίθλασης ακτίνων-X, ο οποίος δημιουργήθηκε με στοιχειομετρική αναλογία 1/1.5 γ. Κρύσταλλοί μικρού μεγέθους που σχηματίστηκαν με στοιχειομετρική αναλογία 1/1.

3.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Αρχικά συλλέχθηκαν τα πειραματικά δεδομένα περίθλασης σύγχροτρον ακτινοβολίας, από μέλη του εργαστηρίου Φυσικής του Γ.Π.Α. στο σταθμό του Ευρωπαϊκού Εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας (EMBL) στο Αμβούργο, που στεγάζεται στο Γερμανικό Κέντρο Ερευνών DESY (Deutsches Elektronen Synchrotron) (DORIS: [Doppel-Ring-Speicher], “double-ring storage”).

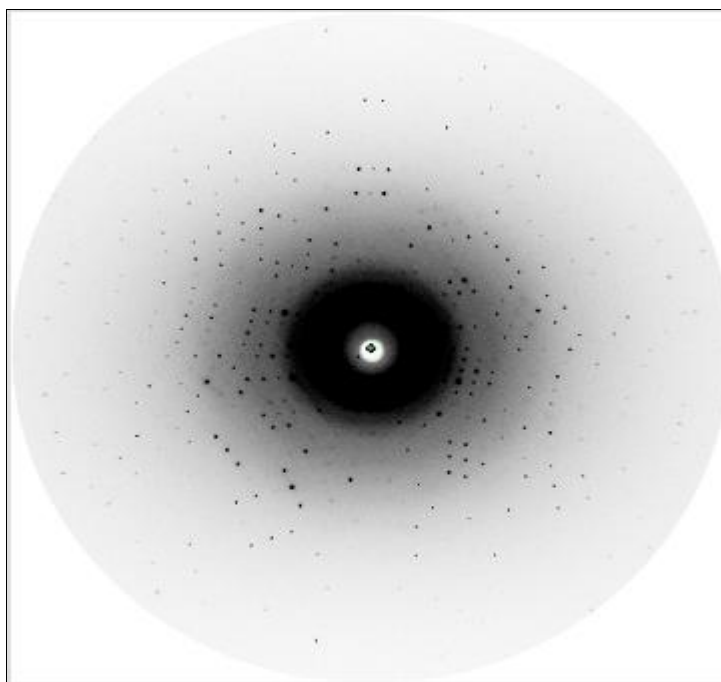


Εικόνα 3.2.1. Η διάταξη ενός τυπικού σύγχροτρον.

Οι εικόνες περίθλασης συλλέχθηκαν με την τεχνική του περιστρεφόμενου κρυστάλλου, που αντιστοιχούν σε εικόνες περίθλασης των ακτίνων-X, καθώς ο μονοκρυστάλλος περιστρέφεται κατά 1° . Συνολικά συλλέχθηκαν 220 εικόνες περίθλασης κατά την περιστροφή του μονοκρυστάλλου κατά 220° . Η περιστροφή αυτή υπερκαλύπτει μια πλήρη περιστροφή, η οποία είναι ίση με 180° . Σημειώνεται ότι στον χώρο των περιθλάσεων, οι ανακλάσεις έχουν πάντα κέντρο συμμετρίας (νόμος Friedel), οπότε για δεδομένα μιας πλήρους περιστροφής ($=360^\circ$) αρκούν τα δεδομένα μισής περιστροφής ($=360^\circ/2 = 180^\circ$). Ωστόσο παίρνουμε δεδομένα από συνολική περιστροφή μεγαλύτερης των 180° , ώστε να ελαχιστοποιήσουμε τις απώλειες λόγω παρατηρούμενων μερικών ανακλάσεων.

Η πηγή ακτινοβολίας σύγχροτρον που χρησιμοποιήθηκε (EMBL X11) έδινε προσπίπτουσα ακτινοβολία με $\lambda = 0.816\text{\AA}$, η οποία περιθλώμενη στον μονοκρυστάλλο του συμπλόκου καταγράφονταν σε marCCD 165 ανιχνευτή. Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα βορνεόλης/ β -CD συλλέχθηκαν σε κρυογονικές συνθήκες: ο κρυστάλλος τοποθετήθηκε σε βρόγχο στήριξης κάτω από ρεύμα αζώτου στους 100°K .

Στην εικόνα 3.2.2. παρατίθεται η αρχική εικόνα περίθλασης ακτίνων-X στο μονοκρυστάλλο βορνεόλης/ β -CD, όπως συλλέχθηκε από τον ανιχνευτή (για γωνία περιστροφής $\theta=0^\circ$).



Εικόνα 3.2.2. Εικόνα περίθλασης ακτίνων-X από το μονοκρυστάλλο συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD.

Πίνακας 3.2.1. Αρχικά πειραματικά δεδομένα κρυσταλλογραφικής μελέτης βορνεόλης/ β -CD.

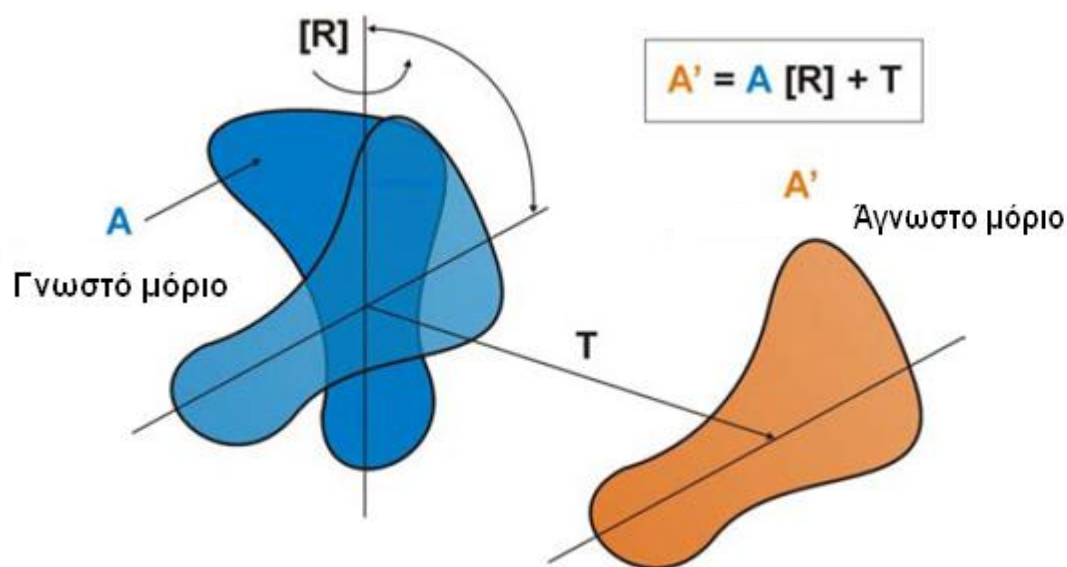
Πειραματικά δεδομένα	
Κώδικας Αναγνώρισης	borneol
Εμπειρικός Τύπος	C52 H88 O36
Θερμοκρασία	100 (2) K
Μήκος κύματος	0.81600 Å
Μέγεθος μονοκρυστάλλου	1x1x0.5 mm
Εύρος θ ($^\circ$) για συλλογή δεδομένων	1.71 to 24.08 βαθμούς
Οριακοί δείκτες	$0 \leq h \leq 19, 0 \leq k \leq 24, 0 \leq l \leq 32$
Πλήθος ανακλάσεων	4343
Πληρότητα σε $\theta=24.08$	99.4%

3.3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.

3.3.1. Επίλυση δομής και βελτιστοποίηση δομής.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα των φάσεων, ήταν αυτή της μοριακής αντικατάστασης. Αρχικά για την επίλυση της δομής, χρησιμοποιήθηκε ως ομόλογο μοντέλο του συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD το σύμπλοκο της καμφοράς σε β -CD. Το σύμπλοκο αυτό κρυσταλλώνει με παρομοίων κρυσταλλικών διαστάσεων μοναδιαία κυψελίδα. Με αυτό το δεδομένο έγινε η υπόθεση ότι το συγκεκριμένο μοριακό μοντέλο παρουσιάζει ικανοποιητική ομοιότητα με το μοριακό μοντέλο του συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD.

Με τη χρήση του υπολογιστικού προγράμματος DIRDIF (Beurskens P.T. *et al.*, 2008), το οποίο χρησιμοποιεί τη μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης, επετεύχθη ο προσδιορισμός ενός αρχικού μοντέλου, με βελτιστοποίηση του οποίου προέκυψε το τελικό μοντέλο που θα κατατεθεί στη βάση δεδομένων. Η βελτιστοποίηση της δομής έγινε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων βασιζόμενη στο F^2 , χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SXELXL97 (Sheldrick J., 2008) από το πακέτο WINGX (Farrugia L.J., 1999).



Εικόνα 3.3.1. Απεικόνιση των συναρτήσεων περιστροφής και μετατόπισης που εφαρμόζονται για την υπέρθεση μιας δομής ανιχνευτή και μιας δομής στόχου στην μοριακή αντικατάσταση.

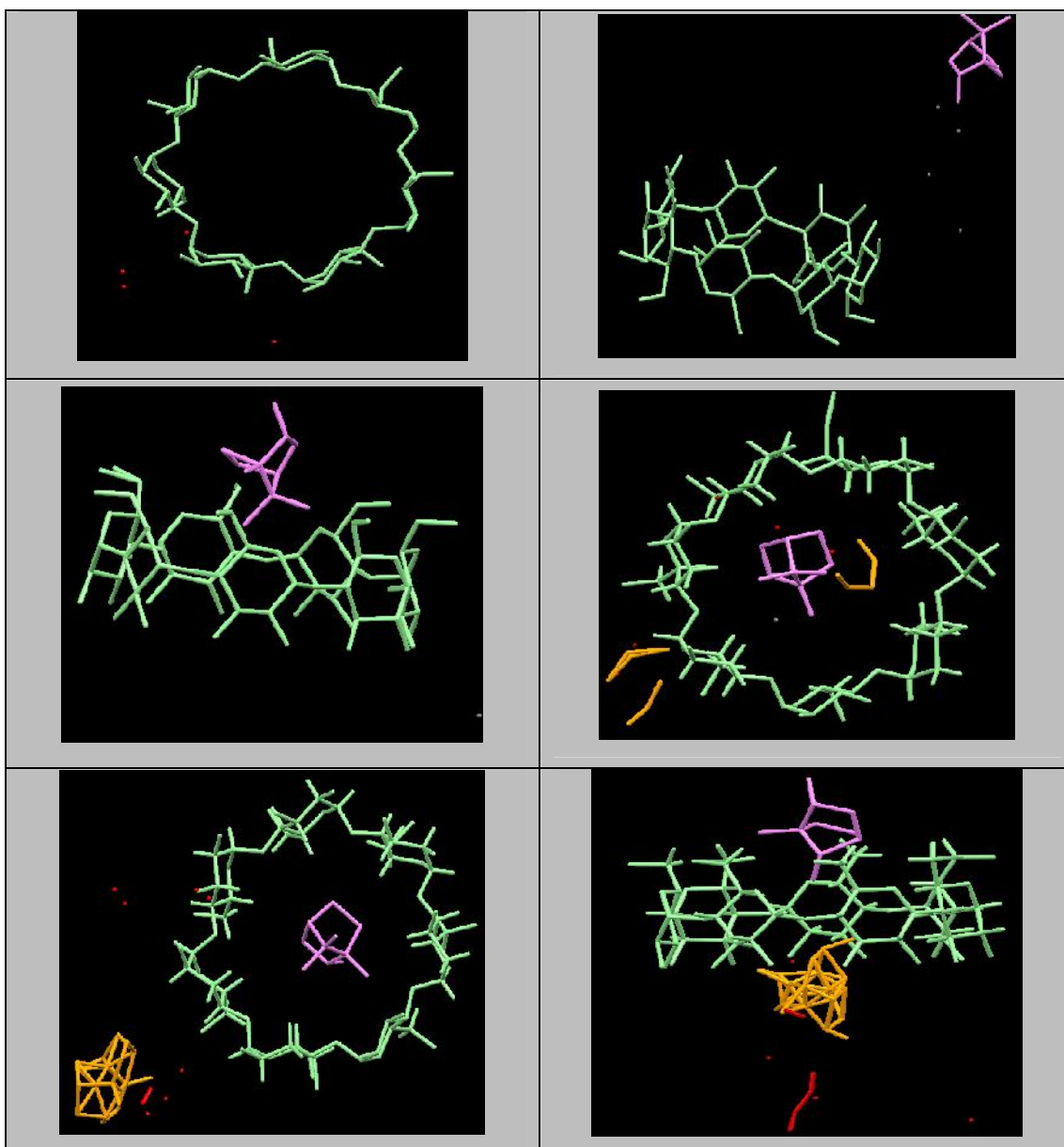
Ο δείκτης αξιοπιστίας για το αρχικό μοντέλο της δομής, όπως προέκυψε από το πρόγραμμα μοριακής αντικατάστασης (DIRDIF), ήταν $R1 = 0.1457$. Με διαδοχικούς διαφορικούς χάρτες Fourier, που υπολογίστηκαν με την βοήθεια του προγράμματος

SXELXL97 (Sheldrick J., 2008), βασιζόμενοι σε λογικές στερεοχημικές υποθέσεις, εντοπίστηκαν σταδιακά όλες οι ατομικές θέσεις της β -CD, τα μόρια της βορνεόλης και τα μόρια νερού, με δείκτη αξιοπιστίας που συγκλίνει τελικά στην τιμή $R1 = 0.0795$.

Αναλυτικότερα, κατά την βελτιστοποίηση, ακολουθούνται τα εξής βήματα:

1. Εύρεση όλων των ατομικών θέσεων της β -CD.
2. Σταδιακός εντοπισμός των μορίων νερού στην ασύμμετρη μονάδα της κρυσταλλικής δομής.
3. Σταδιακή εύρεση των ατόμων του ξενιζομένου μορίου.
4. Εντοπισμός των ατόμων που είναι σε αποδιάταξη κι εύρεση των αριθμών κατάληψης των θέσεων που αυτά καταλαμβάνουν.
5. Κάθε κύκλο βελτιστοποίησης της δομής, ακολουθεί βελτιστοποίηση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών και εύρεση νέων σχηματισμών, ατομικές αποστάσεις και οι γωνίες που σχηματίζουν ενδεχόμενοι δεσμοί.
6. Πρόσθεση ατόμων υδρογόνου σε κατάλληλες θέσεις με υπολογιστικό τρόπο.
7. Άτομα με υψηλή θερμική κίνηση, όπως τα οξυγόνα τίθενται ως ανισοτροπικά.

Οι εικόνες που ακολουθούν δείχνουν κάποια χαρακτηριστικά στάδια επίλυσης της δομής, τα οποία ξεκινούν από την αρχική δομή που προσδιορίστηκε από το πρόγραμμα DIRDIF, όπου παρατηρείται το μεγαλύτερο μέρος της δομής της β -CD. Το κρυσταλλικό σύστημα-ομάδας χώρου (crystal system-space group) ήταν $C22_1$ και οι διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας (unit cell dimensions) ήταν $a = 19.293 \text{ \AA}$, $b = 24.063 \text{ \AA}$, $c = 32.873 \text{ \AA}$. Η τελική δομή του συμπλόκου αποτελείται από δύο εγκλειόμενα μόρια βορνεόλης τοποθετημένα, στην περιοχή των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλίων με αριθμούς κατάληψης 1 και 0.5 αντίστοιχα. Περισσότερα στοιχεία αναγράφονται στον πίνακα 3.3.1. Το μόριο που βρίσκεται στη πρωτοταγή περιοχή της κυκλοδεξτρίνης καταλαμβάνει μια μοναδική θέση, ενώ το μόριο στη δευτεροταγή εμφανίζεται ιδιαίτερα αποδιατεταγμένο και καταλαμβάνει περισσότερες θέσεις. Το γεγονός αυτό δυσχεραίνει την επίλυση της δομής, καθώς η ηλεκτρονιακή πυκνότητα εμφανίζεται ιδιαίτερα ασθενής σε αυτή την περιοχή. Επίσης στην ασύμμετρη μονάδα βρέθηκαν 11 μόρια νερού καταναμημένα σε 18 θέσεις.



Εικόνα 3.3.2. Χαρακτηριστικές εικόνες διαφόρων σταδίων προσδιορισμού της δομής του συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD, από την αρχική δομή που προσδιορίστηκε από το πρόγραμμα dirdif, ως την τελική δομή που έχει επιτευχθεί μετά από μια σειρά κύκλων Shelx197.

3.3.2. Έλεγχος αξιοπιστίας των συντεταγμένων της δομής.

Η αξιολόγηση της αξιοπιστίας του μοντέλου, στο οποίο καταλήξαμε, έγινε με κριτήριο την ορθότητα των στερεοχημικών και γεωμετρικών ιδιοτήτων αυτού με δείκτη αξιοπιστίας $R=0.0795$.

3.3.3. Οπτικοποίηση.

Για την οπτικοποίηση του μοριακού μοντέλου και την μελέτη των γεωμετρικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε το υπολογιστικό πρόγραμμα Mercury 1.4.2. (Macrae C.F. *et al.*, 2008). Επιπλέον το συγκεκριμένο πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε και για την μελέτη των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του συμπλόκου.

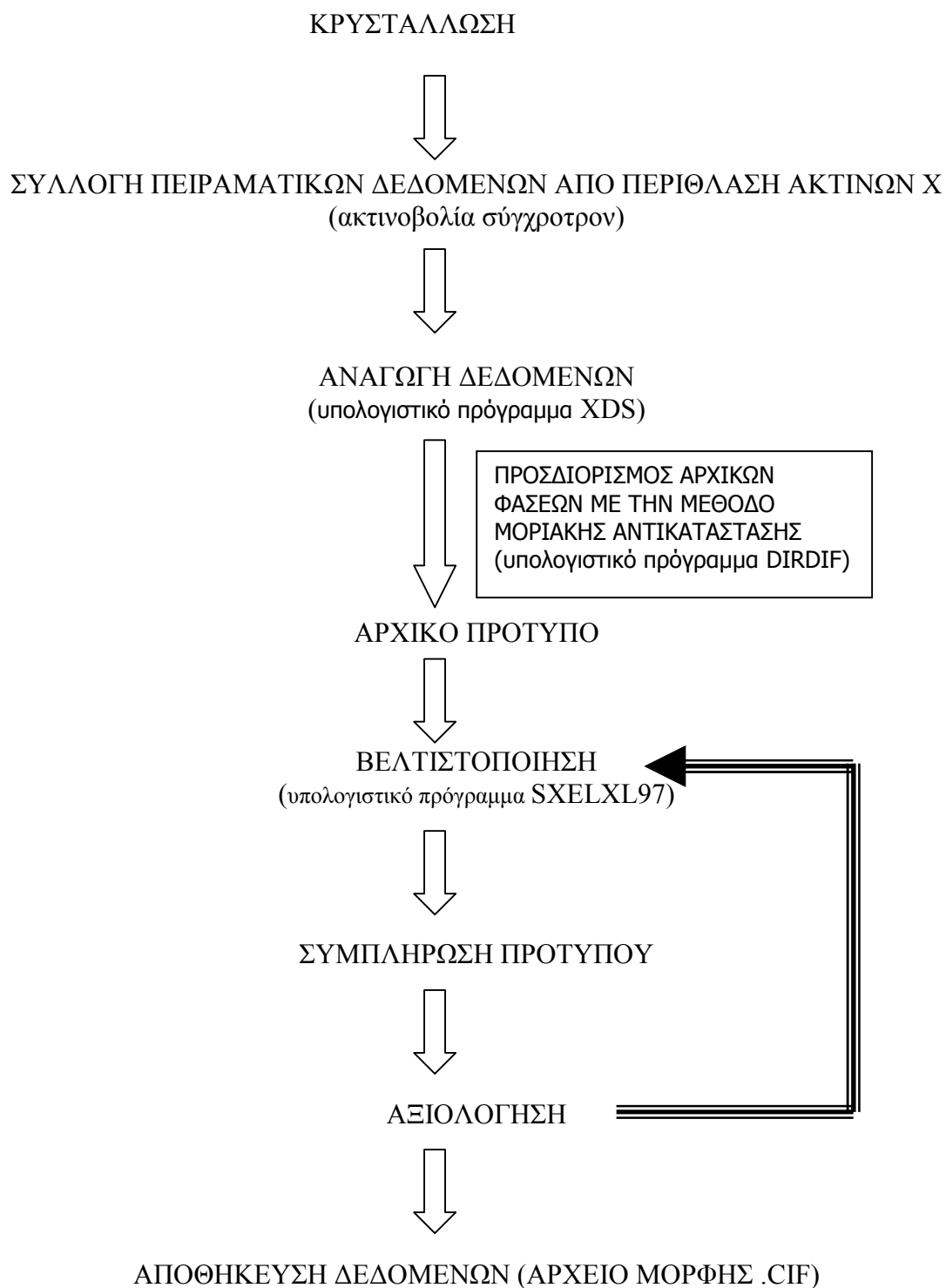
3.3.4. Κατάθεση της δομής.

Μετά την ολοκλήρωση και επαλήθευση της δομής του συμπλόκου βορνεόλης/ β -CD θα ακολουθήσει η κατάθεση στη κρυσταλλογραφική βάση δεδομένων της Cambridge Structural Database(CSD), της οποίας η ηλεκτρονική τοποθεσία είναι: <http://www.ccdc.cam.ac.uk>.

Πίνακας 3.3.1. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα της κρυσταλλογραφικής μελέτης βορνεόλης/ β -CD.

Κρυσταλλογραφικά Δεδομένα	
Κώδικας Αναγνώρισης	borneol
Κρυσταλλικό Σύστημα, Ομάδα χώρου	Ορθορομβικό, C22 ₁
Διαστάσεις μοναδιαίας κυψελίδας	a= 19.293 Å b= 24.063 Å c= 32.873 Å
Όγκος μοναδιαίας κυψελίδας	15261(6) Å ³
Συντελεστής απορρόφησης	0.108 mm ⁻¹
F(000)	6192
Συνολικές ανακλάσεις /Μοναδικές	4343
Πληρότητα σε $\theta=24.08$	99.4%
Μέθοδος βελτιστοποίηση	Πλήρης πίνακες ελαχίστων τετραγώνων στα F ²
Δεδομένα / Περιορισμοί /Παράμετροι	4343/ 19/ 670
Δείκτης καλής προσαρμογής επί του F ²	R1=0.0793
Τελικός δείκτης αξιοπιστίας R [I>2σ(I)]	R1=0.0795
Απόλυτοι παράμετροι δομής	1.2 (15)
Συντελεστής εξαίρεσης	0.0047(7)
Μέγιστη εναπομείνασα διαφορική ηλεκτρονιακή πυκνότητα	0.508 και -0.414 e.Å ⁻³

Στην εικόνα 3.3.3. δίνεται το διάγραμμα ροής της κρυσταλλογραφικής μελέτης που εκπονήθηκε για την παρούσα εργασία.



Εικόνα 3.3.3. Διάγραμμα ροής κρυσταλλογραφικής μελέτης προϊόντος εγκλεισμού βορνεδόλης σε β -CD.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

4.1. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ (β -CD) ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ.

Για τον υπολογισμό των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της δομής του προϊόντος εγκλεισμού της γερανιόλης σε β -CD χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα που προέκυψαν από την χρήση του προγράμματος μοριακής προσομοίωσης Mercury 1.4.2. (Macrae C.F. *et al.*, 2008). Το συγκεκριμένο πρόγραμμα μας επιτρέπει τη μελέτη των στοιχείων που αφορούν τη γεωμετρία των μορίων του συμπλόκου στον χώρο, τις αλληλεπιδράσεις τους και πώς αυτές σταθεροποιούν το σύμπλοκο και τη μοριακή διεύθυνση της κρυσταλλικής δομής.

Για τη μελέτη της διαμόρφωσης του μορίου της β -CD μετά τον εγκλεισμό του μορίου της βορνεόλης μέσα σε αυτήν, προσδιορίστηκαν οι τιμές γεωμετρικών χαρακτηριστικών που παρατίθενται στον πίνακα 4.1.1. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά που μελετώνται είναι τα ακόλουθα:

- ❖ Οι αποστάσεις D , $D=O4n...O4(n+1)$ αποστάσεις, (πλευρές του επταγώνου που σχηματίζεται από τα $O4$ των γλυκοζιτικών μονάδων, όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι γωνίες, Φ_h , του επταγώνου που σχηματίζεται από τα $O4$ των γλυκοζιτικών μονάδων $\Phi_h= O4(n-1)...O4n...O4(n+1)$ γωνίες, όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι αποστάσεις d σε Å των $O4$ ατόμων κάθε γλυκοζιτικής μονάδας της κυκλοδεξτρίνης από το μέσο επίπεδο που αυτά σχηματίζουν.
- ❖ Οι αποστάσεις D_K σε Å των $O4$ ατόμων κάθε γλυκοζιτικής μονάδας της κυκλοδεξτρίνης από το βαρύκεντρο αυτών, $D_K=KA...O4n$ απόσταση, όπου KA το βαρύκεντρο και n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας.
- ❖ Οι δίεδρες γωνίες, t , μεταξύ των $O5-C5-C6-O6$ κάθε γλυκοζιτικής μονάδας, με $t= (O5n-C5n-C6n-O6n)$ γωνία όπου n ($n=1...7$) ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας για τον προσδιορισμό της διαμόρφωσης gauche-gauche (gg) ή gauche-trans(gt) κάθε γλυκοζιτικής μονάδας.

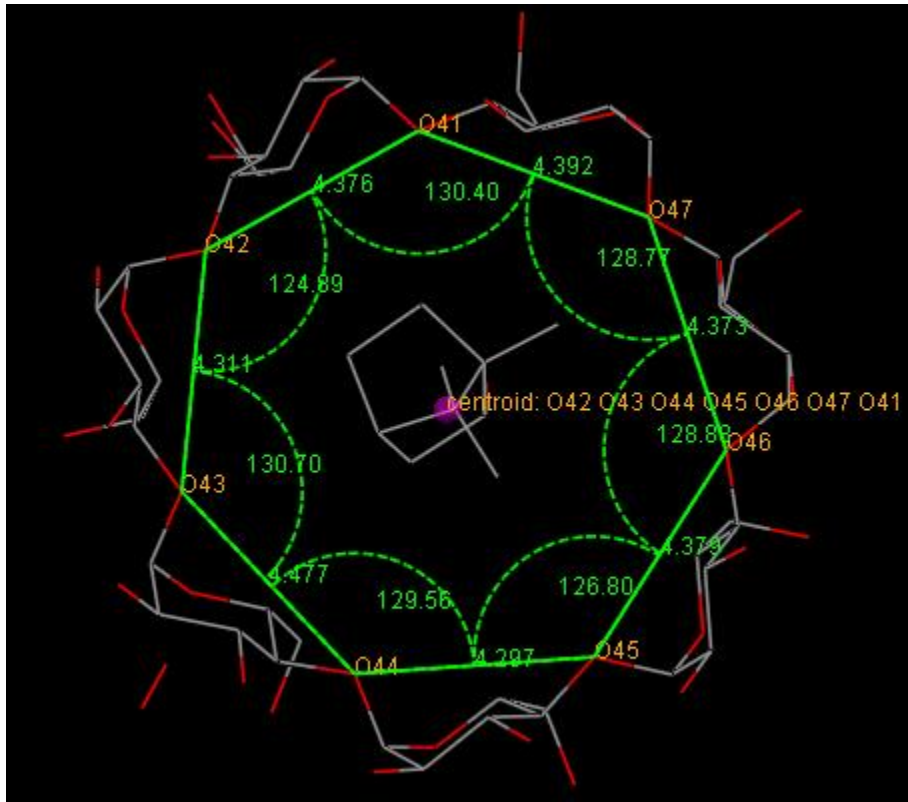
Πίνακας 4.1.1. Παρουσίαση των γεωμετρικών παραμέτρων που εμφανίζονται στην β-κυκλοδεξτρίνη με τον εγκλεισμό της βορνεόλης σε αυτή.

	Βορνεόλη/β-CD							
Γλυκοζιτική μονάδα	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7	ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ
D(Å)	4.376	4.311	4.477	4.297	4.379	4.373	4.392	4.372
Φh(°)	130.40	124.89	130.70	129.56	126.80	128.88	128.77	128.57
d(Å)	0,007	0.026	0.018	0.004	0,008	0.008	0.013	0.012
DK(Å)	4.997	5.170	4.967	4.981	5.117	5.044	4.991	5.038
t(°)	-66.47	-51.32/ -56.86	- 66.60	-70.69	-65.41	-64.64	-64.65	
Διαμόρφωση	gg	gg	gg	gg	gg	gg	gg	

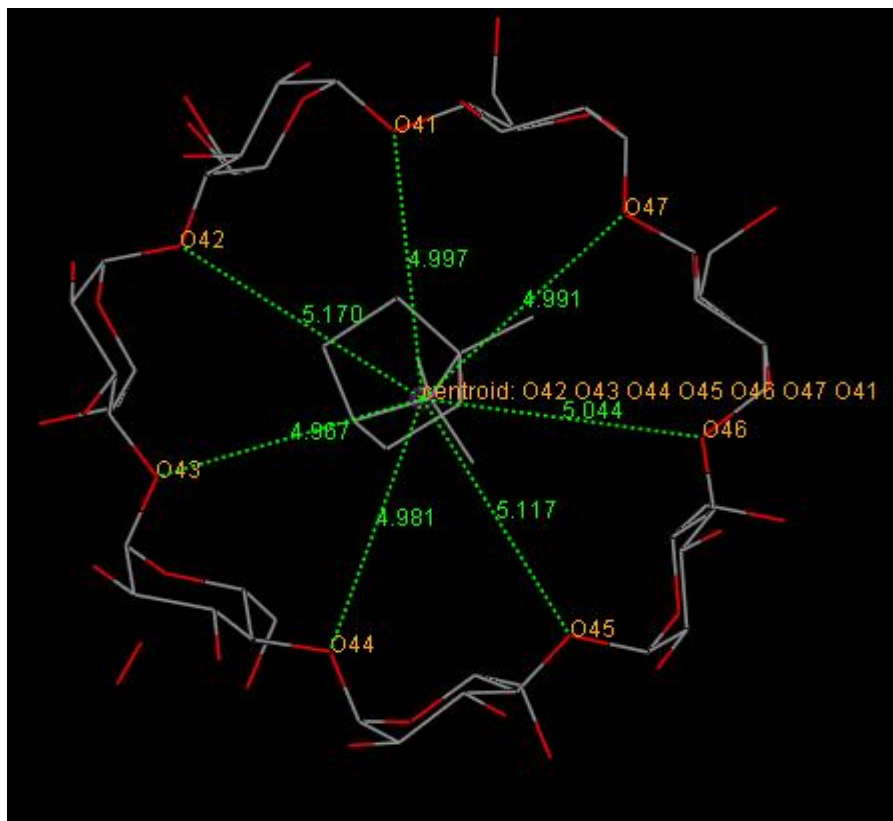
Συμφώνα με τον πίνακα 4.1.1. διαπιστώνουμε ότι δεν παρατηρείται παραμόρφωση των ξενιστών λόγω του εγκλεισμού της βορνεόλης και της κρυσταλλικής διευθέτησης. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι οι αποστάσεις των O4n από το κέντρο του μορίου (D_K), είναι περίπου ίδιες και ίσες περίπου με 5 Å ($D_K=5.038\text{Å}$). Με αυτά τα δεδομένα, παρατηρούμε επίσης ότι οι γλυκοζιτικές μονάδες εξακολουθούν να υιοθετούν 4C_1 - διαμόρφωση ανακλίντρου.

Επιπλέον, δεν παρατηρείται παραμόρφωση του μέσου επιπέδου του μακρόκυκλου των CD, καθώς τα O4n άτομα δεν παρεκκλίνουν σχεδόν καθόλου από το μέσο επίπεδο που αυτά ορίζουν ($d(\text{Å})= 0.012$), οπότε μπορούν να θεωρηθούν συνεπίπεδα άτομα, των οποίων μάλιστα οι αποστάσεις σχηματίζουν κατά προσέγγιση κανονικά πολύγωνα, βάσει των παραμέτρων D και Φh που παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1.1. Το γεγονός της μη παραμόρφωσης των μορίων CD κατά τον εγκλεισμό μορίων βορνεόλης σε αυτά, πιθανά να εξηγείται από τη φύση των δυνάμεων που οδηγούν σε αυτόν (μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις).

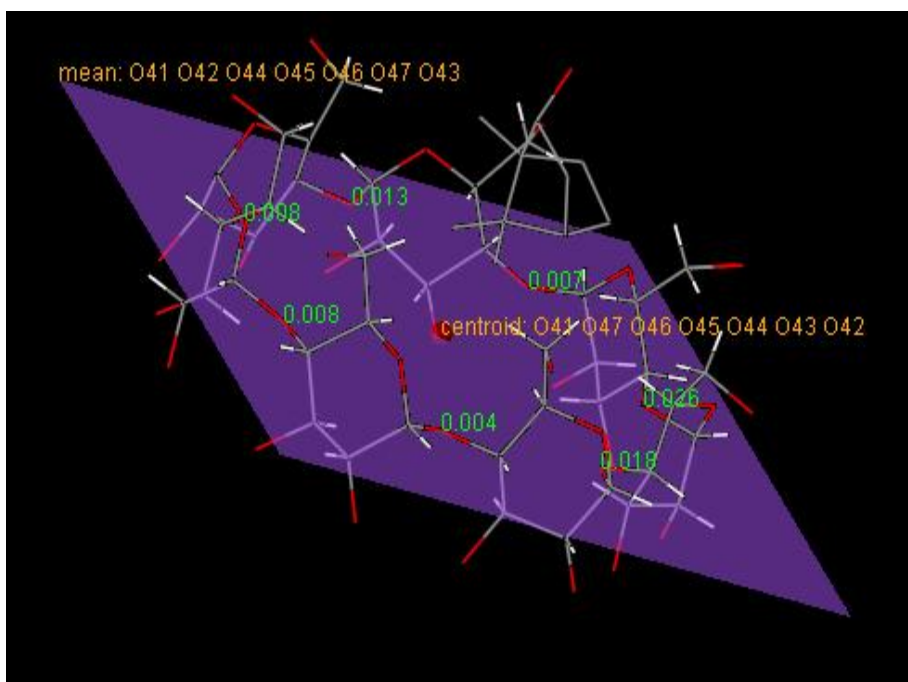
Στις ακόλουθες εικόνες απεικονίζονται τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά στα οποία βασίστηκαν οι υπολογισμοί του πίνακα 4.1.1..



Εικόνα 4.1.1. Στην εικόνα παρουσιάζονται οι αποστάσεις και οι γωνίες που σχηματίζουν τα O4 της β -CD, καθώς και το βαρύκεντρο αυτών.

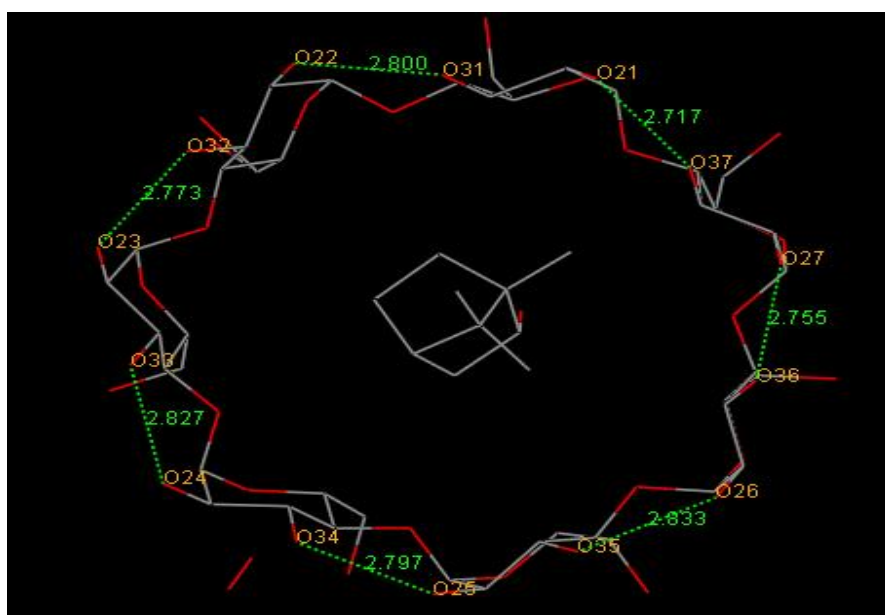


Εικόνα 4.1.2. Στην εικόνα παρουσιάζονται το βαρύκεντρο των O4 και οι αποστάσεις των O4 της β -CD.



Εικόνα 4.1.3. Στην εικόνα παρουσιάζεται το μέσο επίπεδο των O4 της β -CD, πάνω στο οποίο βρίσκεται και το βαρύκεντρο των O4 και τέλος οι αποστάσεις των O4 από αυτό το επίπεδο.

Η σταθερότητα της δομής των κυκλοδεξτρινών βασίζεται στον σχηματισμό ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ των διαδοχικών γλυκοζιτικών μονάδων. Πρόκειται για τους δεσμούς O(3n-1)...O(2n), όπου n=1,2...7 ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας της β -CD που φαίνονται στις εικόνες που ακολουθούν.



Εικόνα 4.1.4. Ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου που σταθεροποιούν τη δομή της κυκλοδεξτρίνης, με μέσο μήκος 2.786 Å.

Οι παραπάνω δεσμοί σχηματίζονται καθώς όλες οι δευτεροταγείς O(2) και O(3) υδροξυλομάδες βρίσκονται στην ίδια πλευρά των κυκλοδεξτρινών, χάρη στον προσανατολισμό των γλυκοζιτικών μονάδων (cis διαμόρφωση) που σχηματίζουν τις κυκλοδεξτρίνες. Αντίθετα, όλες οι πρωτοταγείς υδροξυλομάδες των O(6) των κυκλοδεξτρινών, που βρίσκονται στην άλλη πλευρά της κυκλοδεξτρίνης, μπορούν να περιστρέφονται γύρω από τον C(5)-C(6) δεσμό με τον προτιμώμενο προσανατολισμό της διαδοχής O(5)-C(5)-C(6)-O(6) να έχει αρνητικό πρόσημο, (-)-*gauche*, όπως φαίνεται και στον πίνακα 4.1.1. (δίεδρη γωνία τ).

Ο προσανατολισμός αυτός σημαίνει ότι οι O(6) υδροξυλομάδες δείχνουν προς τα έξω από το κέντρο του μακρόκυκλου. Κρυσταλλογραφικές μελέτες έχουν δείξει ότι η προτιμώμενη διαμόρφωση των α -D-γλυκοπυρανοζών και των β -κυκλοδεξτρινών, είναι αυτή κατά την οποία οι O(6) υδροξυλομάδες δείχνουν έξω από το κέντρο του μακρόκυκλου. Η διαμόρφωση αυτή λέγεται (-)-*gauche* και αντιστοιχεί σε αρνητική τιμή ($\sim -60^\circ$) της διεδρης γωνίας O(5)-C(5)-C(6)-O(6). Όπως φαίνεται στον πίνακα 4.1.1., όλες οι γλυκοζιτικές μονάδες παρουσίασαν τέτοια διαμόρφωση (Kirschner K. N and Woods R. J, 2001; Dodziuk H., 2006)

Πίνακας 4.1.2. Οι διέδρες γωνίες φ και ψ των γλυκοζιτικών μονάδων της κυκλοδεξτρίνης.

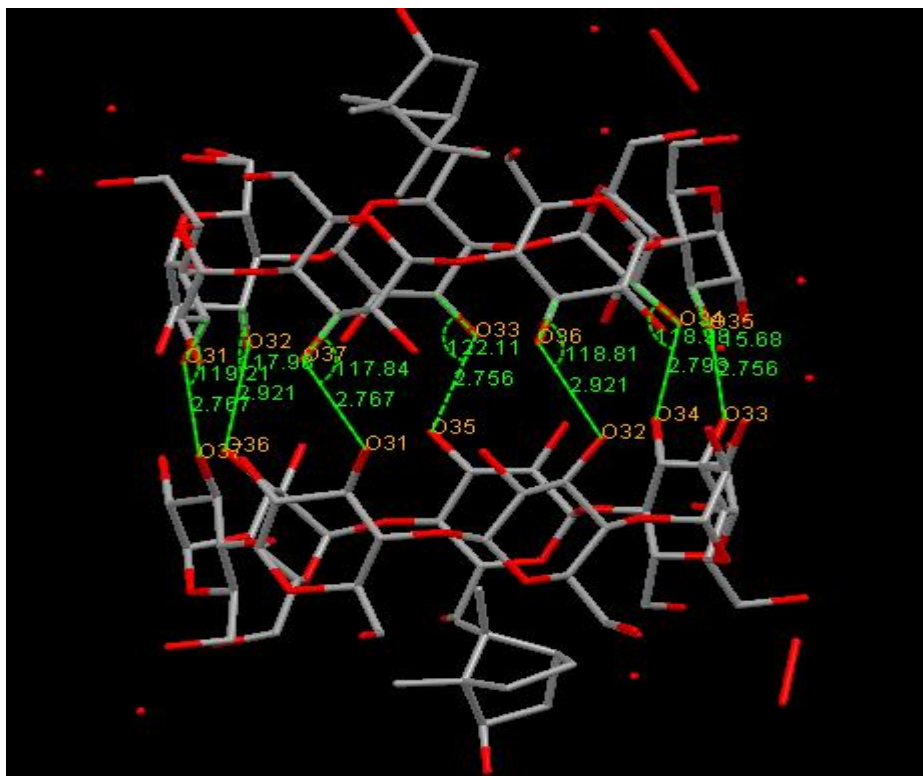
φ	
C41-O41-C12-O52	118.61
C42-O42-C13-O53	141.39
C43-O43-C14-O54	114.03
C44-O44-C15-O55	111.99
C45-O45-C16-O56	114.45
C46-O46-C17-O57	110.14
C47-O47-C11-O51	115.90
ψ	
C11-O47-C47-C37	93.81
C12-O41-C41-C31	98.11
C13-O42-C42-C32	124.50
C14-O43-C43-C33	132.05
C15-O44-C44-C34	123.64
C16-O45-C45-C35	130.39
C17-O46-C46-C36	123.97

Ο σχετικός προσανατολισμός των γλυκοζιτικών υπομονάδων περιγράφεται καλά κι από τις διέδρες γωνίες γύρω από τους γλυκοζιτικούς δεσμούς που ορίζονται από την φ , O4(x)-C4(x)-O1(x')-C5(x') και ψ , C1(x)-O4(x')-C4(x')-C3(x) (όπου x, ο

αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας και x' ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας που ακολουθεί σύμφωνα με το σχήμα της κυκλοδεξτρίνης). Οι αναμενόμενες τιμές για τις γωνίες ϕ και ψ κυμαίνονται μεταξύ $102-123^\circ$ και $112-149^\circ$ αντίστοιχα για τις β -CDs (Saenger W. and Steiner T., 1998). Από τον πίνακα 4.1.2, γίνεται φανερό ότι οι γωνίες ϕ και ψ των γλυκοζιτικών μονάδων της β -CD μετά τον εγκλεισμό της βορνεόλης παραμένουν στα ίδια όρια, οπότε η διαμόρφωση της β -CD μπορεί να θεωρηθεί αμετάβλητη σε σχέση με τη διαμόρφωσή της, όταν δεν εγκλείεται κάποιο μόριο στην κοιλότητα αυτής.

4.2. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΔΙΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ β -CD ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/ β -CD.

Δύο μόρια β -CD, όπως φαίνεται στην εικόνα 4.2.1., σχηματίζουν το διμερές τύπου κεφαλής-κεφαλής (head to head) μέσω $O3n...O3(8-n)$ δεσμών υδρογόνου (όπου $n=1,2...7$, ο αριθμός της γλυκοζιτικής μονάδας). Η ένταση των δεσμών υδρογόνου μεταξύ ουδέτερων μορίων καθορίζονται υπολογιστικά από την απόσταση των μορίων (Lei Liu and Qing-Xiang Guo, 2002). Οι δεσμοί υδρογόνου του συμπλόκου που μελετάμε, φαίνονται στο σχήμα που ακολουθεί και περιγράφονται από τον πίνακα 4.2.1.:

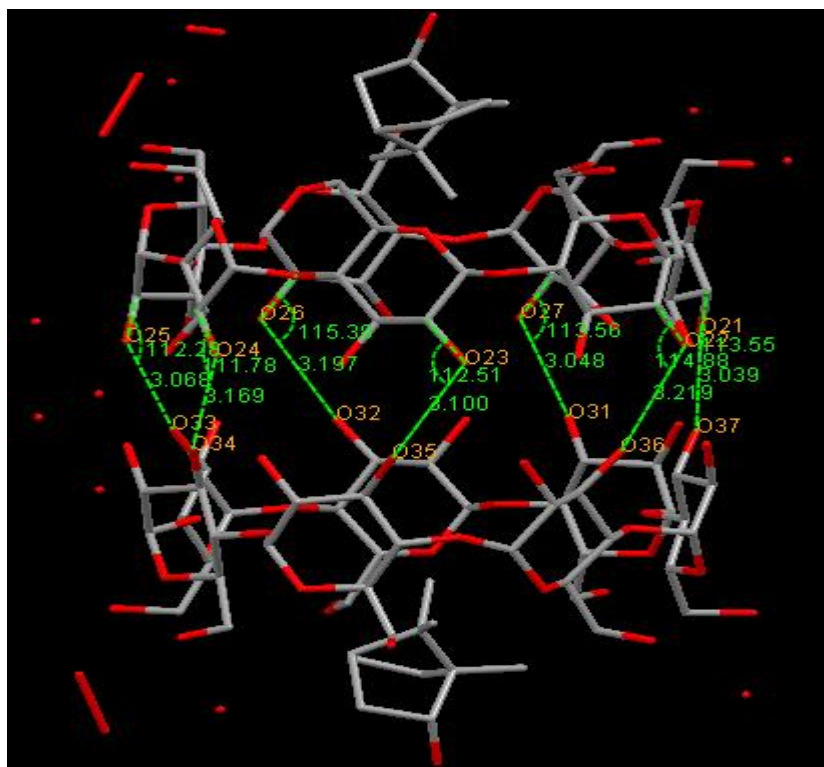


Εικόνα 4.2.1. Οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου $O3nB...O3(8-n)$ που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης.

Πίνακας 4.2.1. Περιγραφή των διαμοριακών δεσμών υδρογόνου O3nB...O3(8-n) που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης.

		Αποστάσεις(Å)	Γωνίες(°)
O31B	O37A	2.767	117.84
O32B	O36A	2.921	118.81
O33B	O35A	2.756	115.68
O34B	O34A	2.793	118.98
O35B	O33A	2.756	122.11
O36B	O32A	2.921	117.98
O37B	O31A	2.767	119.21

Ωστόσο εκτός από τους δεσμούς που περιγράφονται στον πίνακα 4.2.1., υπάρχουν ασθενέστεροι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ ατόμων του τύπου O2n...O3(8-n), οι οποίοι συντελούν και αυτοί στη σταθεροποίηση των κυκλοδεξτρινών του διμερούς. Οι δεσμοί αυτοί παρουσιάζονται στον πίνακα 4.2.2. και απεικονίζονται στην εικόνα 4.2.2..



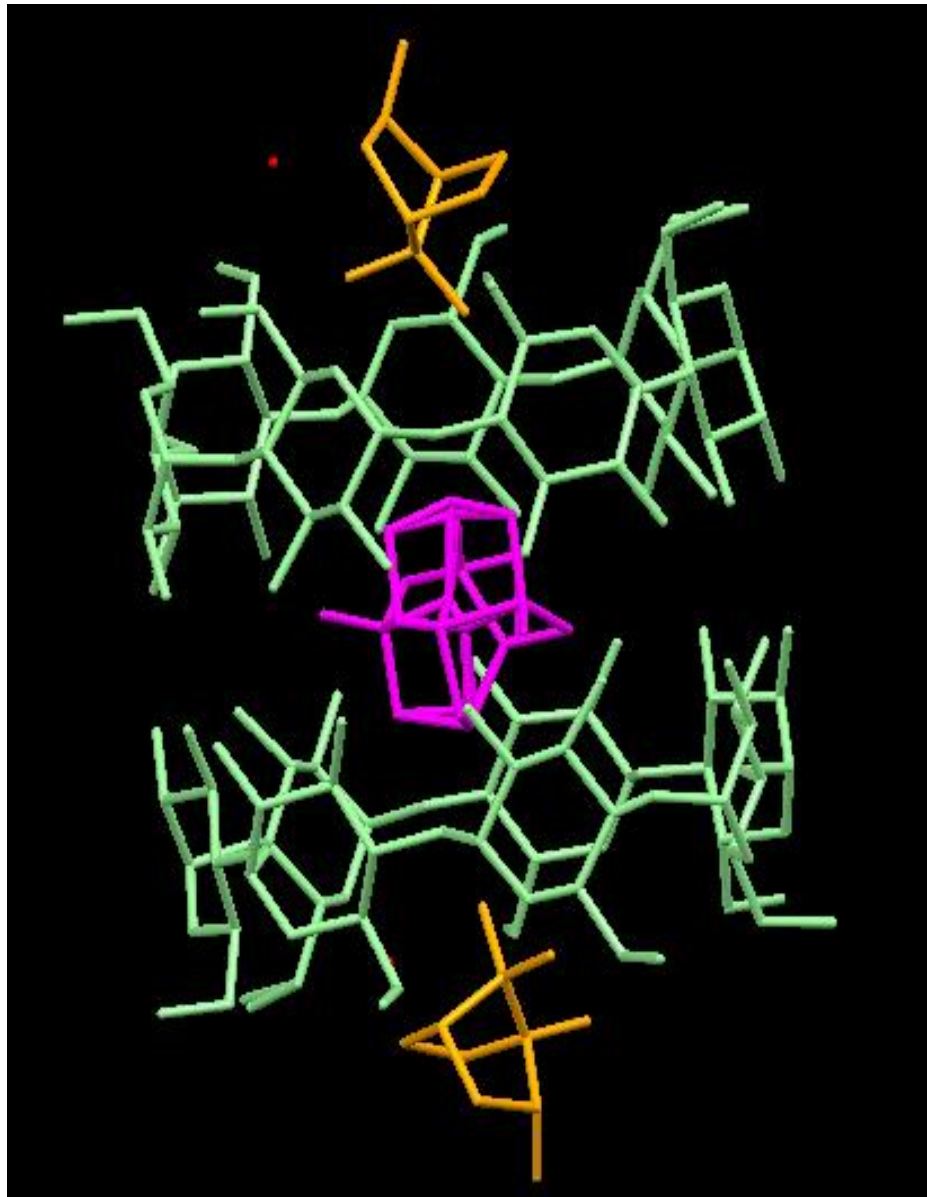
Εικόνα 4.2.2.Οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου O2n...O3(8-n) που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης.

Πίνακας 4.2.2. Περιγραφή των διαμοριακών δεσμών υδρογόνου O2nB...O3(8-n) που συνενώνουν τα δύο μόρια της κυκλοδεξτρίνης.

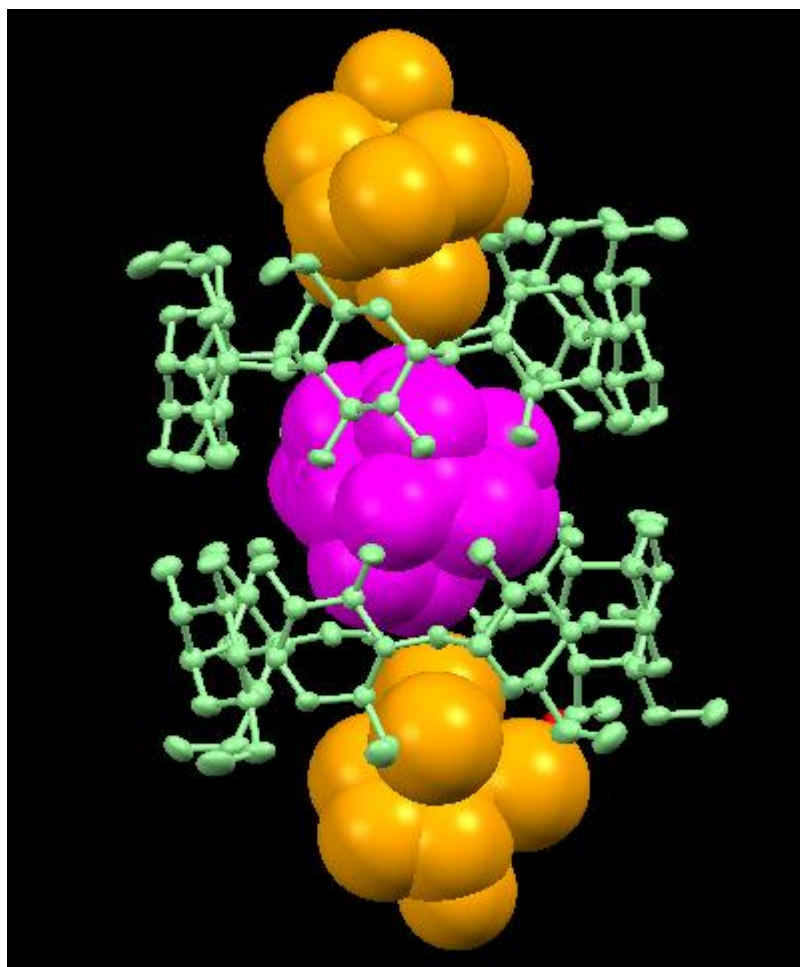
		Αποστάσεις(Å)	Γωνίες(°)
O21B	O37A	3.039	113.55
O23B	O35A	3.100	112.51
O25B	O33A	3,068	112.28
O27B	O31A	3.048	113.56
O37B	O21A	3.039	113.55
O35B	O23A	3.100	112.55
O33B	O25A	3.068	112.28
O31B	O27A	3.048	113.56

4.3. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΒΟΡΝΕΟΛΗΣ/β-CD.

Από την ολοκλήρωση της επεξεργασίας των κρυσταλλογραφικών δεδομένων προέκυψε ένα πρότυπο, του οποίου η ασύμμετρη μονάδα αποτελείται από ένα μόριο β-κυκλοδεξτρίνης και δύο μόρια βορνεόλης, με αριθμούς κατάληψης 1 και 0.5. Η ομάδα χώρου της κρυσταλλικής δομής είναι C 222₁, σύμφωνα με την οποία εμφανίζεται με στοιχειομετρία 2:3. Το διμερές διαμορφώνεται από δύο μόρια βορνεόλης στην πρωτοταγή περιοχή (εξωτερικά) και ένα μόριο βορνεόλης υψηλά αποδιατεταγμένο στην σχηματιζόμενη κοιλότητα (εσωτερικά)(εικόνα 4.3.1.) .



Εικόνα 4.3.1. Το διμερές βορνεόλης/ β -CD.



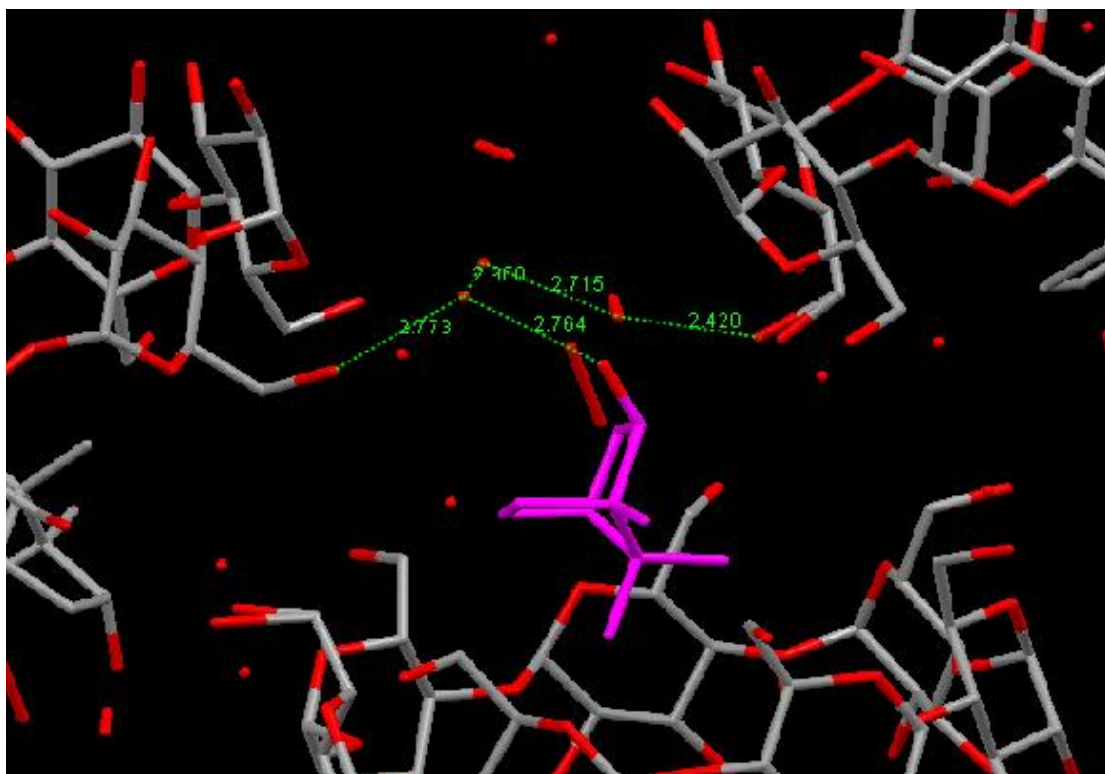
Εικόνα 4.3.2. Χωροπληρωματικό μοντέλο. Οι σφαίρες των ατόμων σχεδιάζονται με τις ακτίνες Van der Waals και τις αλληλεπιδράσεις στις περιοχές επαφής των ατομικών σφαιρών.

Τα δύο μόρια της βορνεόλης που βρίσκονται στην πρωτοταγή περιοχή κυκλοδεξτρινών του διμερούς, έχουν προσδιοριστεί σε μια μοναδική θέση με αριθμό κατάληψης 1. Το μόριο που έχει εγκλειστεί στο εσωτερικό της κοιλότητας του διμερούς δεν καταλαμβάνει μια συγκεκριμένη θέση, αλλά περισσότερες με κλασματικό αριθμό κατάληψης. Αυτό συμβαίνει διότι η βορνεόλη είναι ένα μικρό μόριο σε σχέση με το μέγεθος της κοιλότητας ανάμεσα στις δύο κυκλοδεξτρίνες του διμερούς και δεν περιορίζεται από στερικές αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον η αποδιάταξη της βορνεόλης ευνοείται και από τη γεωμετρία της, καθώς σαν δικυκλικό μόριο χωρίς επιμήκεις προεκτάσεις, μπορεί να περιστρέφεται προς όλες τις κατευθύνσεις. Το μόριο της βορνεόλης τοποθετείται στο εσωτερικό των κυκλοδεξτρινών σε απόσταση τέτοια που να μην δημιουργεί κανένα δεσμό υδρογόνου με τον ξενιστή. Ως συνέπεια των ανωτέρω, είναι στους χάρτες ηλεκτρονιακής πυκνότητας να εμφανίζεται μια ασθενής, διάχυτη, σφαιρική ηλεκτρονιακή κατανομή από την οποία δεν μπορούν να προσδιοριστούν με

σαφήνεια πιθανές θέσεις κατάληψης του μορίου. Αντίστοιχη εικόνα παρατηρήθηκε και στις κρυσταλλογραφικές μελέτες του συμπλόκου καμφοράς/ β -CD (Kokkinou A., αδημοσίευτα αποτελέσματα). Στο σύμπλοκο δεν παρατηρούμε στερικές αλληλεπιδράσεις, όποτε δεν υπάρχει κάποια εξειδίκευση (Lei Liu and Qing-Xiang Guo, 2002).

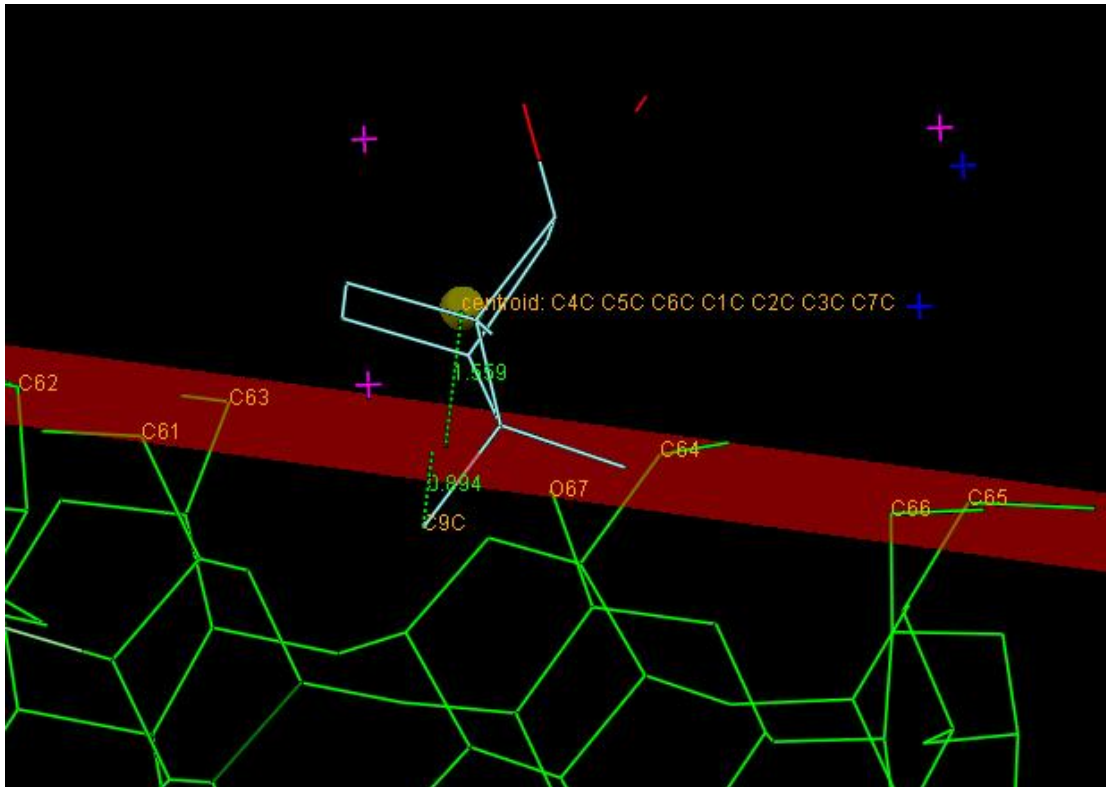
Για το εγκλεισμένο μόριο της βορνεόλης εσωτερικά της κοιλότητας του διμερούς δεν παρατηρήθηκε κανένας δεσμός υδρογόνου, ούτε με την β -κυκλοδεξτρίνη, ούτε με τα μόρια της βορνεόλης που βρίσκονται στις πρωτοταγείς πλευρές του διμερούς, ούτε ακόμα και με μόρια νερού. Επομένως οι μόνες διαμοριακές δυνάμεις αλληλεπίδρασης που υφίσταται το εσωτερικό εγκλειόμενο μόριο βορνεόλης είναι οι υδροφοβικές και οι ασθενείς Van der Waals. Ωστόσο η παρουσία του υδρόφιλου υδροξυλίου είναι πιθανό να σταθεροποιεί στιγμιαία το μόριο της βορνεόλης σε θέσεις που ενδεχομένως να εμφανίζονται ασθενείς δεσμοί υδρογόνου με τα δευτεροταγή υδροξύλια των β -CD.

Τα μόρια της βορνεόλης που οριοθετούνται στις περιοχές των πρωτοταγών υδροξυλίων, δηλαδή “εξωτερικά” του διμερούς έχουν σταθεροποιηθεί σε μια συγκεκριμένη θέση, με συγκεκριμένο προσανατολισμό. Η διαμόρφωση αυτή είναι προϊόν διαφόρων αλληλεπιδράσεων μεταξύ του μορίου της βορνεόλης και του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται. όπως υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις λόγω της υδροφοβικής κοιλότητας της β -κυκλοδεξτρίνης, αλλά και υδρόφιλες αλληλεπιδράσεις που διαμορφώνονται ανάμεσα στην υδροξυλομάδα της βορνεόλης και στα μόρια νερού γύρω από τα γειτονικά διμερή της κρυσταλλικής δομής (Εικόνα 4.3.2.). Το υδροξύλιο της βορνεόλης έχει κατεύθυνση παράλληλη με τον άξονα c. Οι σχηματιζόμενοι δεσμοί υδρογόνου με τα νερά πλησίον της πρωτοταγούς περιοχής της β -CD, έχουν ως συνέπεια να προσανατολίζουν το μόριο της βορνεόλης με το υδροξύλιο προς το εξωτερικό του διμερούς και το υδρόφοβο τμήμα του μορίου, που περιλαμβάνει τις ανθρακικές αλυσίδες, να κατευθύνεται προς το εσωτερικό της υδροφοβικής κοιλότητας.

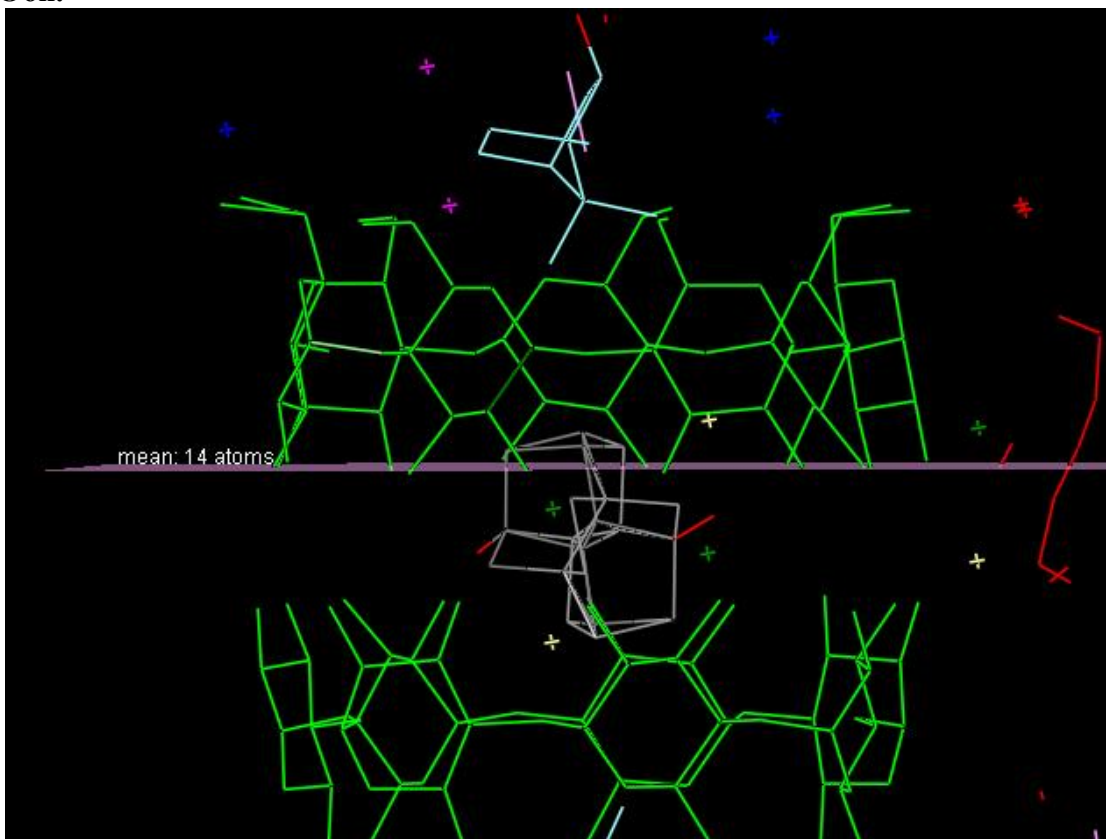


Εικόνα 4.3.2. Απεικόνιση των δεσμών υδρογόνου που προσανατολίζουν και σταθεροποιούν το “εξωτερικό” μόριο της βορνεόλης.

Εξαιτίας αυτών των σχηματιζόμενων δεσμών υδρογόνου, το “εξωτερικό” μόριο της βορνεόλης δεν εισέρχεται σε μεγάλο βαθμό στο εσωτερικό της υδροφοβικής κοιλότητας. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται από τις αποστάσεις του βαρύκεντρου του μορίου της βορνεόλης και του πλησιέστερου ατόμου άνθρακα (C9C), από το επίπεδο που σχηματίζουν τα άτομα C6n της κυκλοδεξτρίνης. Το βαρύκεντρο απέχει 1.559 Å, ενώ το άτομο C9C διαπερνά το επίπεδο σε απόσταση 0.894 Å (Εικόνα 4.3.3.). Από τη μελέτη του διμερούς διαπιστώνεται, ότι δεν εμφανίζεται κανενός είδους αλληλεπίδραση μεταξύ του “εξωτερικού” μορίου της βορνεόλης και του εσωτερικού, καθώς βρίσκονται σε μεγάλη απόσταση. Σε σύγκριση λοιπόν με το μόριο της βορνεόλης που βρίσκεται στο εσωτερικό του διμερούς, το “εξωτερικό” μόριο σταθεροποιείται περισσότερο και εμφανίζει μόνο μια πιθανή θέση κατάληψης με συγκεκριμένο προσανατολισμό(Εικόνα 4.3.2.).



Εικόνα 4.3.3. Απεικόνιση της βορνεόλης που καταλαμβάνει “εξωτερική” θέση στο σύμπλοκο β -CD και η διείσδυση αυτής από το επίπεδο που σχηματίζουν τα O6n.

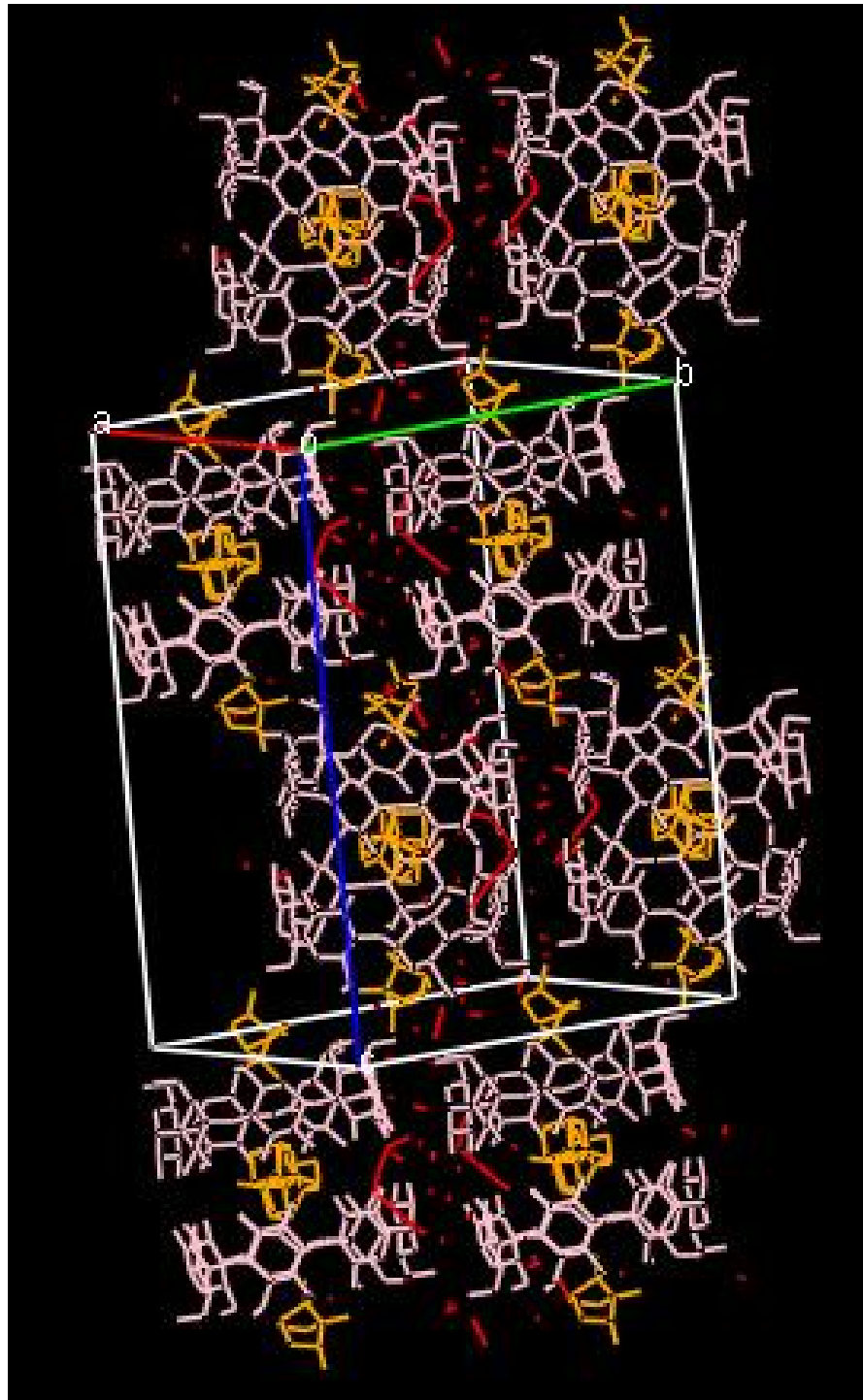


Εικόνα 4.3.4. Απεικόνιση της βορνεόλης που καταλαμβάνει “εσωτερική” θέση στο σύμπλοκο β -CD και η διείσδυση αυτής από το επίπεδο που σχηματίζουν τα O2n.

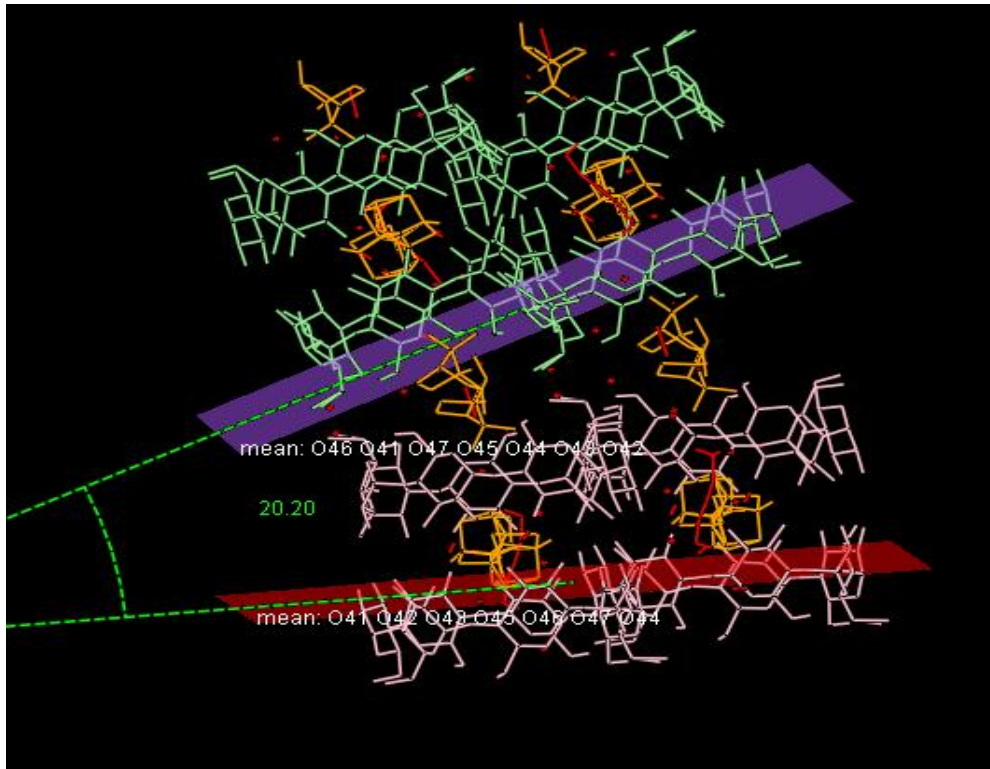
4.4. ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΔΙΜΕΡΩΝ ΤΗΣ β -CD (Crystal Packing).

Κατά τη κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση τα διμερή που σχηματίζονται από τις β -κυκλοδεξτρίνες, διευθετούνται σε στρώσεις κατά τον κρυσταλλογραφικό άξονα c και παράλληλα στο άξονα b της μοναδιαίας κυψελίδας. Οι συστάδες που διαμορφώνονται παρουσιάζουν σχηματισμό ζικ-ζακ (Εικόνα 4.4.1). Κατά τον άξονα c το βαρύκεντρο κάθε διμερούς είναι μετατοπισμένο κατά 8.9 Å από το βαρύκεντρο του επόμενου διμερούς. Η γωνία που σχηματίζουν τα επίπεδα δύο συνεχόμενων στρώσεων των κυκλοδεξτρινών είναι 20.2°. Τα διμερή συγκροτούν κρυσταλλικό πλέγμα μέσω των υδρογονικών δεσμών που σχηματίζονται μεταξύ των υδροξυλίων της πρωτοταγούς πλευράς των κυκλοδεξτρινών και των μορίων του δικτύου του νερού (Εικόνα 4.4.2., 4.4.3.).

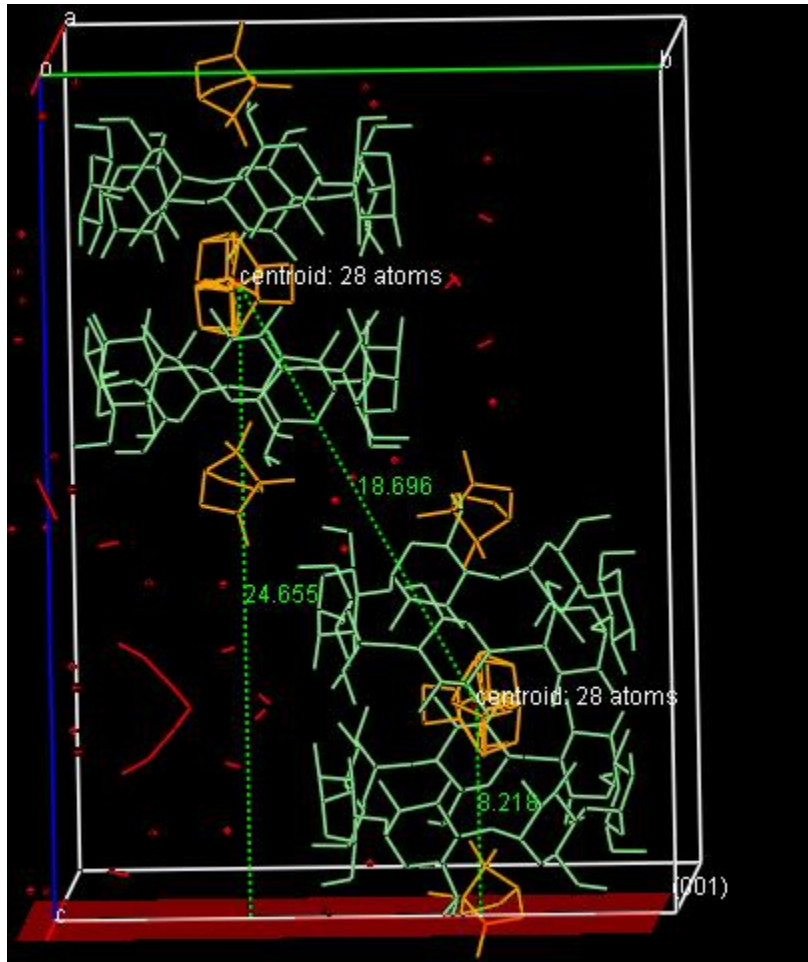
Στη σταθεροποίηση αυτής της κρυσταλλικής δομής συμβάλλουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ: (i) των μορίων της β -CD και του δικτύου νερού γύρω από αυτά καθώς και (ii) μεταξύ της υδροξυλομάδας των μορίων βορνεόλης, που εγκλείεται στο εξωτερικό του διμερούς, με το δίκτυο των μορίων νερού.



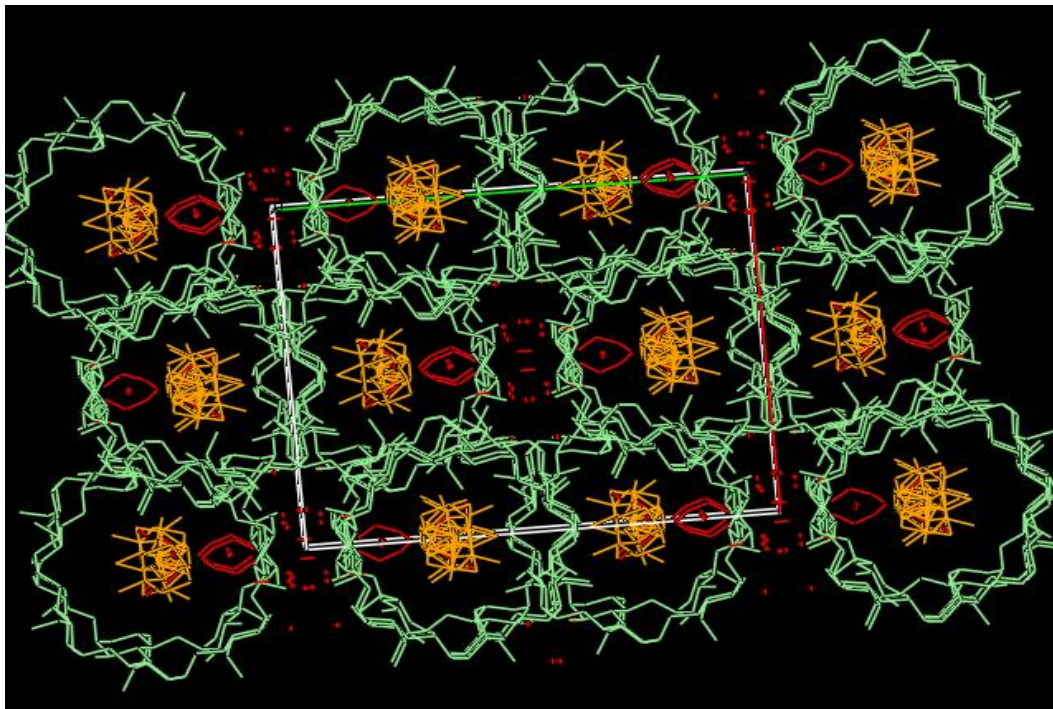
Εικόνα 4.4.1. Απεικόνιση του ζικ-ζακ σχηματισμού που διαμορφώνεται κατά την κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση.



Εικόνα 4.4.2. Απεικόνιση του υπολογισμού της γωνίας δύο συνεχόμενων στρώσεων με διμερή, κατά την κρυσταλλική μοριακή διεύθυνση.



Εικόνα 4.4.3. Απεικόνιση του υπολογισμού της απόστασης δύο διμερών, δύο συνεχόμενων στρώσεων.

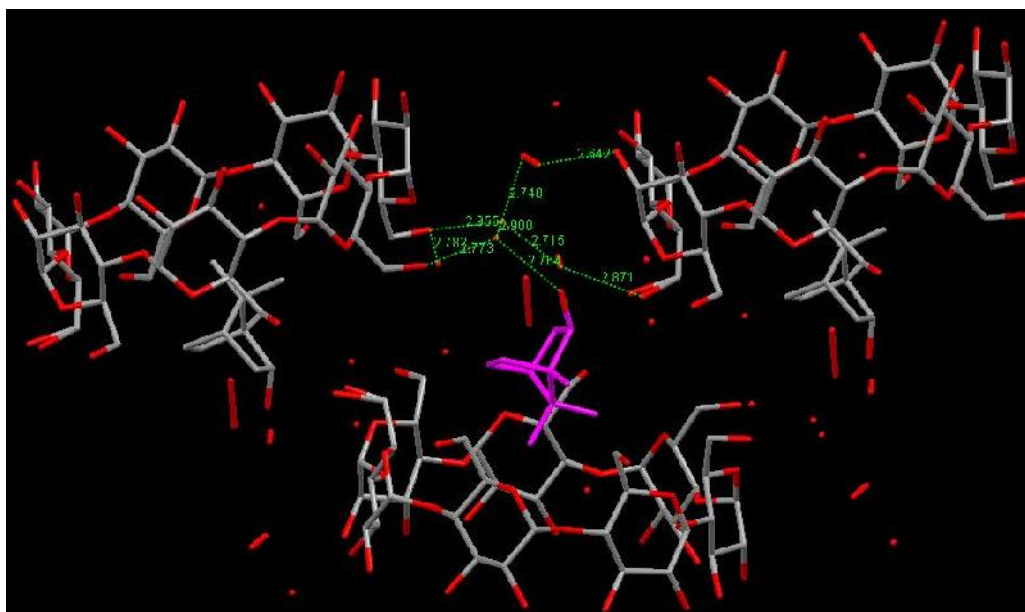


Εικόνα 4.4.4. Παρουσίαση της κρυσταλλικής μοριακής διεύθετησης κατά τον άξονα c.

4.5. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΝΕΡΟΥ

Πολύ σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση των κρυστάλλων παίζει το δίκτυο των μορίων νερών. Τα μόρια των νερών δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, αλλά και με τα μόρια του συμπλόκου βορνεόλης/ β -κυκλοδεξτρίνης, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται συνδέσεις μεταξύ των διμερών. Το μόριο της βορνεόλης που βρίσκεται στο εξωτερικό του διμερούς, δημιουργεί δεσμό υδρογόνου με το δίκτυο νερού, ενώ το εσωτερικό μόριο δεν συνδέεται με μόρια νερών (Εικόνα 4.5.1.). Τα μόρια της β -κυκλοδεξτρίνης δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με το δίκτυο του νερού μέσω των πρωτοταγών υδροξυλίων τους. Κατά την μελέτη της κρυσταλλογραφικής δομής ανιχνεύτηκαν 18 θέσεις νερών στη ασύμμετρη μονάδα. Οι θέσεις αυτές εντοπίζονται όλες στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των διμερών, ενώ δεν ανιχνεύτηκαν μόρια νερού στο εσωτερικό της υδροφοβικής κοιλότητας των κυκλοδεξτρινών.

Οι υδροξυλομάδες των νερών, μπορούν να σχηματίζουν αλυσίδες του τύπου O-H...O-H...O. Πρόκειται για αλυσίδες των δύο έως τεσσάρων μορίων νερού. Παρατηρείται ότι μέσα στις διατάξεις, η γεωμετρία των δεσμών υδρογόνου είναι πολύ ευέλικτη, που επιτρέπει ένα φάσμα από αποστάσεις των H...O και μεγάλες αποκλίσεις από τη γραμμικότητα. Η μικρότερη απόσταση δεσμών υδρογόνου που παρατηρείται είναι 2.420Å, αρκετά μεγαλύτερη από τη μικρότερη δυνατή προσέγγιση των H...H 2.05Å (Steiner W. and Saenger T., 1992).



Εικόνα 4.5.1. Παρουσίαση των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζουν τα νερά μεταξύ τους, με την βορνεόλη και τις β -κυκλοδεξτρίνες.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μετά τη διερεύνηση της δομής του συμπλόκου βορνεόλης/ β -κυκλοδεξτρίνης διαπιστώθηκε ότι στην κρυσταλλική φάση το διμερές έχει στοιχειομετρία 2:3. Η συμμετρία ομάδας χώρου ήταν C_{222_1} , ενώ οι διαστάσεις της μοναδιαίας κυψελίδας ήταν $a= 19.293 \text{ \AA}$, $b= 24.063 \text{ \AA}$, $c= 32.873 \text{ \AA}$. Από τη δομή του συμπλόκου προκύπτει ότι ένα μόριο βορνεόλης εγκλείεται “εσωτερικά” του διμερούς, υψηλά αποδιατεταγμένο και καταλαμβάνει περισσότερες από μια θέσεις και δύο μόρια βορνεόλης παγιδεύονται “εξωτερικά” προς τις πρωτοταγείς περιοχές του διμερούς καταλαμβάνοντας συγκεκριμένες θέσεις. Μόνο οι υδροφοβικές δυνάμεις επιδρούν στο “εσωτερικά” εκλεισμένο μόριο της βορνεόλης, το οποίο περιστρέφεται συνέχεια. Αντίθετα τα “εξωτερικά” παγιδευμένα μόρια, εκτός από τις υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια νερών που βρίσκονται στον ενδιάμεσο χώρο των διμερών και καταλαμβάνουν μία συγκεκριμένη θέση. Το δίκτυο των νερών παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των κρυστάλλων, καθώς δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ τους, αλλά και με μόρια του συμπλόκου βορνεόλης/ β -κυκλοδεξτρίνης, σχηματίζοντας συνδέσεις μεταξύ των διμερών.

BIBΛIOΓPAΦIA

- Badillo D. L. M., Garciglia R. S., Muñoz R. E. Martínez, Pacheco M. M. (2008).** Antifungal Properties of Some Mexican Medicinal Plants. *The Open Natural Products Journal*. 1, 27-33
- Bhatia S.P., Letizia C.S. and Api A.M. (2008).** Fragrance material review on borneol *Food and Chemical Toxicology* 46, 77–S80
- Chebib M. and Jhonston G. A. R. (2000).** GABA-activated ligand gated ion channels: Medicinal chemistry and molecular biology. *J. Med.Chem.* 43, 1427-1447
- Darina S., Horvathovaa E., Wsolovac L., Sramkovaa M., Navarovab J. (2009).** Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines *Mutation Research*. 677, 46–52
- Degenhardt J., Köllner T. G., Gershenzon J. (2009).** Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry* 70, 1621–1637
- Dodziuk H. (2006).** Cyclodextrins and Their Complexes; chemistry, analytical methods, applications, WILEY-VCH.
- Granger R. E., Campbell E. L and Johnston G. A.R.. Biochemical (2005).** (+)And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABAA receptors. *Pharmacology* 69,1101–1111
- Hammes G. G. (2005).** Spectroscopy for the Biological Sciences, Wiley Interscience Publication, 17-25.
- Harata K. (1998).** Structural Aspects of Stereodifferentiation in the Solid State, *Chem. Rev.*, 98, 1803-1827.
- Hauptman, H. A. (1991).** The phase problem of x-ray crystallography. *Rep. Prog. Phys.* 1427-1454
- Hayouni El Akrem, Chraief Imed, Abedrabba Manaf, Bouix Marielle, Leveau Jean-Yves, Mohammed Hammami, Hamdi Moktar (2008).** Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*. 125, 242–251
- Jiang Xiao-fei, Zou Jia-li, Yuan Yue-mei, Francis C.P. Law, Qiao Yan-jiang and Yao Mei-cun (2008).** Preliminary study: biotransformation of borneol to camphor in mice, rats and rabbits, 10(3): 27-36
- Johnston G. A. R., Chebib M., Duke R. K., Fernandez S. P., Hanrahan J. R., Hinton T. and Mewett K. N. (2009)** Herbal Products and GABA Receptors. *Encyclopedia of Neuroscience* . 4, 1095-1101
- Johnston G. A. R., Hanrahan J. R., Chebib M., Duke R. K., and Mewett K. N. (2006).** Modulation of Ionotropic GABA Receptors by Natural Products of Plant Origin *Advances in Pharmacology*, 54
- Joshua S., David T., Daniel A., Kenneth W., Graham J. (2010)** Intraspecific variation in essential oil composition of *Eremophila longifolia* F. Muell. (Myoporaceae): Evidence for three chemotypes *Phytochemistry* 71, 1521–1527
- Jun He Z and Wenjing Li (2009).** Preparation of borneol–methyl-*b*-cyclodextrin inclusion complex by supercritical carbon dioxide processing *J Incl Phenom Macrocyel Chem.*65, 249–256
- Kelen M. and Tepe B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora *Bioresource*

Technology. 99, 4096–4104

Kirschner K. N and Woods R. J (2001). Solvent interactions determine carbohydrate conformation , PNAS, 98, 19, 10541-10545

Kokkinou A., Tsorteki F., Karpusas M., Papakyriakou A., Bethanis K. and Mentzafos D. (2010). Study of the inclusion of the (*R*)- and (*S*)- camphor enantiomers in α -cyclodextrin by X-ray crystallography and molecular dynamics. Carbohydrate Research, Volume 345, 1034-1040

Lee-Min Mai , Chia-Yen Linb, Chia-Yen Chena and Ying-Chieh Tsaib. (2003). Synergistic effect of bismuth subgallate and borneol, the major components of Sulbogins, on the healing of skin wound Biomaterials 24, 3005–3012

Lei Liu and Qing-Xiang Guo (2002). The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins, Journ. of Inc. Phen. And Macr. Chem., 42, 1-2, 1-14

Lei Liu and Qing-Xiang Guo (2002). The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 42: 1–14,

Lin A. L, Shangari N., Chan T. S., Ramirez D and O'Brien P. J. (2006). Herbal monoterpene alcohols inhibit propofol metabolism and prolong anesthesia time Life Sciences 79, 21–29

Linjing Yang, Xizeng Feng, Imshik Lee and Chunli Bai (1998). Structural Studies on Host + Guest Recognition Sensory Systems. JOURNAL OF INCLUSION PHENOMENA AND MACROCYCLIC CHEMISTRY . 31, 3, 197-204

Loftsson T., Másson M., Brewster M. E. (2004). Self-Association of Cyclodextrin Complexes', Journal of Pharmaceutical Sciences, 93, NO. 5,

Magnúsdóttir A., Másson M. and Loftsson T. (2002). Cyclodextrin, J. Incl. Phenom. Macroc. Chem., 44, 213-218

Mockute D. and Judzentiene A. (2003). Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* growing wild in Lithuania. Biochemical Systematics and Ecology 31, 1033–1045

Mu"hlbauer R.C., A. Lozano, S. Palacio, A. Reinli and R. Felix (2003). Common herbs, essential oils, and monoterpenes potently modulate bone metabolism Bone 32, 372–380

Murugesan S. K., Subramaniyan K. and Boobalan R. (2010). Antihypertensive and Antioxidant Potential of Borneol-A Natural Terpene in L-NAME – Induced Hypertensive Rats. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives; 1(3): 271 – 279

Naidoo Kevin J., Chen Jeff Yu-Jen, Jansson Jennie L. M., Widmalm Goran and Maliniak Arnold (2004). Molecular Properties Related to the Anomalous Solubility of β -Cyclodextrin, J. Phys. Chem. B, 108(14), 4236-4238

Park -Tae-Ju, Park Yong-Soo, Lee Tae-Gyun, Ha Hyunjung and Kim Kyong- Tai. (2003). Inhibition of acetylcholine-mediated effects by borneol. Biochemical Pharmacology 65, 83-90

Ping H., Xiaofei J., Jiali Z., Yuemei Y., Meicun Y., Yasong L. (2009). A Novel GC-MS Bioanalytical Method for Natural Borneol and Its Application in Investigating Natural Borneol Distribution in Mice Mode Tradit Chin Med Mater Med 11(6): 821–827

Rahimmaleka M., Tabatabaeib B.E. S., Etemadic N., Golid S.A. H., Arzania A., Zeinalie H. (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. Industrial crops and products. 29, 348–355

Rajkumar S. and Jebanesan A. (2010). Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae) Journal of Asia-Pacific Entomology. 13, 107–109

- Rozman V., I. Kalinovic and Z. Korunic (2007).** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 43, 349–355
- Saenger W. and Steiner T. (1998).** Cyclodextrin Inclusion Complexes: Host-Guest Interactions and Hydrogen-Bonding Networks, *Acta Cryst.*, A54, pp. 798-805.
- Saenger W. (1980).** Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry. *Angew, Chem. Int. Ed. Engl.*, 19, 344-362
- Salamci E., Kordali S., Kotan R., Cakir A., Kaya Y. (2007).** Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum* *Biochemical Systematics and Ecology*. 35, 569-581
- Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y., Guolin Z. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum* *Journal of Ethnopharmacology*. 96, 151–158
- Steed J.W. and Atwood J.L. (2002).** *Supramolecular Chemistry*, Wiley, 321-334
- Stryer L. (1997).** Βιοχημεία Ι, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Δεύτερη έκδοση
- Szejtli J. (2004).** *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 283-304
- Szejtli, J. (1998).** Introduction and Overview of Cyclodextrin Chemistry, *Chem Rev*, 98, 1743-1753
- Tabanca N., Demirci B., Turner J. L, Pounders C., Demirci F., Baser K. Hüsnü C., Wedge David E (2010).** Microdistillation and analysis of volatiles from eight ornamental *Salvia* taxa. *Natural product communications*. 5(9),1421-6
- Taylor G. (2003).** The phase problem. *Acta Crystallogr.*, D59, 1881-1890
- Uzel A., Guvensen A., Cetin E. (2004).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz from Turkey *Journal of Ethnopharmacology*. 95, 151–154
- Wei Fengling, Wu Sheng and Cui Gang (2007).** An In Vitro Study of the Transdermal Absorption of Borneol β-Cyclodextrin Inclusion. *Department of Pharmacy, Sino Japanese Friendship Hospital, Beijing 100029, China* 26 (2): 182-184
- Xu Shu-yuan, Wang Dou-dou, Sun Jing-yun, Hong Jia-xuan, Feng Bing-jiang (2009).** Study on β-cyclodextrin Inclusion Compound with the Oil of Fresh Yuxingcao *Research and Practice on medicines Chinese*
- Yang Lu, Shou-ying Du, Xiao-lan Chen, Qing Wu, Xiao Song, Bing Xu and Yong-song Zhai (2011).** Enhancing effect of natural borneol on the absorption of geniposide in rat via intranasal administration. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)* 12(2):143-148
- Yu Liu, En-Cui Yang, Ying-Wei Yang, Heng-Yi Zhang, Zhi Fan, Fei Ding, and Rui Cao (2004).** Thermodynamics of the Molecular and Chiral Recognition of Cycloalkanols and Camphor by Modified α-Cyclodextrins. Possessing Simple Aromatic Tethers *J. Org. Chem.*, 69, 173-180
- Yu Liu, Qian Zhang and Yong Chen (2007).** Spectrophotometric and Calorimetric Titration Studies on Molecular Recognition of Camphor and Borneol by Nucleobase-Modified α-Cyclodextrins *J. Phys. Chem. B*, 111, 12211-12218
- Ιγνατιάδου-Ραγκούση Β. (1996).** Χημεία Φυσικών Προϊόντων, 22-24, 52, 64-67, 83-85

Τσορτέκη Φ. (2006). Διδακτορική Διατριβή, Κρυσταλλογραφική ανάλυση προϊόντων εγκλεισμού αυξινών σε υπερμεθυλιωμένες κυκλοδεξτρίνες, ΓΠΑ.

WINGX

Farrugia L. J. (1999). J. Appl. Crystallogr, 32, 837-838.

SHELX

Sheldrick G. M. (2008). Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr., 64, 112-122.

DIRDIF

Beurskens P. T., Beurskens G., Gelder R., S. Granda -Garcia, Gould R. O. and M. M. Smits J. (2008). The DIRDIF2008 program system, Crystallography Laboratory, University of Nijmegen, The Netherlands.

Mercury CSD 2.0

Macrae C. F., Bruno I. J., Chisholm J. A., Edgington P. R., McCabe P., Pidcock E., Rodriguez-Monge L., Taylor R., Streek J. and Wood P. A. (2008). J. Appl. Cryst., 41, 466-470.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

A. Υπολογιστικό πακέτο WINGX

Το WinGX είναι μια συλλογή από συναφή προγράμματα, που τρέχουν στην πλατφόρμα των Microsoft Windows™, και περιέχει τα καλύτερα ελεύθερα διαθέσιμα προγράμματα. Περιέχει μερικά προγράμματα από το πακέτο GX (Mallinson & Muir, 1985), από όπου και το όνομα του. Η μεταφορά δεδομένων μεταξύ διαφορετικών προγραμμάτων (ώστε η διαδικασία προσδιορισμού της δομής να είναι απλή και αυτοματοποιημένη) γίνεται αυτόματα, και η χειροκίνητη επέμβαση στους φακέλους περιορίζεται στο ελάχιστο. Το πακέτο WinGX περιλαμβάνει τα προγράμματα: SHELXS (Sheldrick G. M., 1986), DIRDIF (Beurskens P. T. *et al.*, 1996) για την επίλυση της δομής και SIR92 (Altomare *et al.*, 1993), SHELXL93 (Sheldrick G. M., 1993) και ORTEPIII (Johnson & Burnett, 1996; Farrugia L.J, 1997) για την βελτιστοποίηση αυτής. . Ακόμα, υπάρχουν πολλές ενσωματωμένες συνδέσεις με εξωτερικά προγράμματα γραφικών, όπως τα RasMol (Sayle & Milner-White, 1995) και SCHAKAL (Keller, 1989), αλλά και νεότερα προγράμματα όπως τα SHELX97 (Sheldrick G. M., 1997) και SIR97 (Altomare *et al.*, 1999). Το πρόγραμμα χρησιμοποιεί τις μορφές SHELX και CIF για τις κύριες διεργασίες διαχείρισης και αποθήκευσης των φακέλων. Ουσιαστικά, όλοι οι φάκελοι χρησιμοποιούν τον ASCII κωδικό και επομένως ο χειρισμός τους μπορεί να γίνει με έναν κοινό επεξεργαστή κειμένου. Οι περισσότερες λειτουργίες επιτυγχάνονται μέσω GUIs. Το πρόγραμμα (γραμμένο πλήρως σε Fortran77) έχει απαιτήσεις: H/Y IBM ή συμβατό υπολογιστή με τα Microsoft Windows2 versions 3.1x, Windows 95/98 ή Windows NT, με επεξεργαστή στα 486 66 MHz, μνήμη RAM τουλάχιστον 16 Mbyte και ελεύθερο χώρο στον σκληρό δίσκο 20 Mbyte τουλάχιστον.

To Πρόγραμμα SHELXL-97

Το SHELXL-97 είναι ένα υποπρόγραμμα του πακέτου Wingx, το οποίο χρησιμοποιείται για βελτιστοποίηση κρυσταλλικών δομών. Για το συγκεκριμένο πρόγραμμα απαιτείται ένα αρχείο εισαγωγής (name. hkl), το οποίο περιέχει δεδομένα ανακλάσεων (h , k , l , F^2 και $\sigma(F^2)$). Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα, οι εντολές βελτιστοποίησης και οι συντεταγμένες των ατόμων εισάγονται ως αρχείο name.ins. Οι εντολές εμφανίζονται στο αρχείο ως λέξεις 4 χαρακτήρων, που ακολουθούνται από ονόματα ατόμων, αριθμούς θέσεων, κ.α. Ένας πλήρης κατάλογος των ενεργειών γράφεται σε ένα αρχείο name.lst. Μετά από κάθε κύκλο βελτιστοποίησης (ξανά)

γράφεται ένα αρχείο name.res, με τις τελευταίες τιμές για όλες τις βελτιστοποιημένες παραμέτρους. Οι εντολές ACTA και CONF παράγουν αρχεία name.cif, για ηλεκτρονική δημοσίευση. Οι εντολές LIST 6 και WPDB δίνουν αρχεία name.fcf και name.pdb, από τα οποία μπορούν να σχεδιαστούν με τη βοήθεια του προγράμματος SHELXPRO διαφορετικοί χάρτες ηλεκτρονιακής πυκνότητας (διαβάζονται από πρόγραμμα Rymol). Τέλος, οι εντολές FLAT, AFIX και DFIX αφορούν γεωμετρικούς περιορισμούς, που είναι απαραίτητοι για τον συγκερασμό των πειραματικών δεδομένων με το θεωρητικό μοντέλο.

B. Πρόγραμμα Mercury 1.4.2., 2.3

Το πρόγραμμα *Mercury* αναπτύχθηκε από το Cambridge Crystallographic Data Centre και χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως ένα εργαλείο γραφικής αναπαράστασης δομής. Το Mercury 1.4.2. χρησιμοποιείται για οπτικοποίηση της υπό εξέταση δομής (ουσιαστικά του αρχείου name.res), αλλά και την μελέτη της κρυσταλλικής διάταξης. Τα χαρακτηριστικά του προγράμματος είναι τα εξής: α) Δέχεται ως αρχεία εισόδου τα name.cif, name.pdb, κα β) Έχει τη δυνατότητα αναπαράστασης της δομής με διάφορες μορφές (όπως ελλείψεις) γ) Πραγματοποιεί μετρήσεις αποστάσεων, γωνιών και ροπών στρέψης τόσο ατόμων όσο και κεντροειδών (centroids) ή επιπέδων δ) Εντοπίζει και παρουσιάζει υδρογονικούς δεσμούς και άλλες αλληλεπιδράσεις (δεσμοί Van der Waals) ε) Παρουσιάζει επιπλέον πληροφορίες για τη δομή, όπως χημικά διαγράμματα και ατομικές συντεταγμένες και στ) Αποθηκεύει της μετρήσεις και τις αλλαγές ως εικόνες τύπου name.jpg, name.png, name.bmp, κα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

Τα αρχεία borneol.ins, borneol.res, borneol.lst, borneol.cif, borneol.pdb, borneol.fcf και καθώς και το κείμενο παρατίθενται ηλεκτρονικά στον επισυναπτόμενο οπτικό δίσκο.