

Stanovení termodynamických parametrů komplexů cyklodextrinů s imidazoliovými solemi pomocí isotermální titrační mikrokolorimetrie

Aneta Závodná

Bakalářská práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Aneta Závodná**
Osobní číslo: **T14754**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení termodynamických parametrů komplexů cyklodextrinů s imidazoliovými solemi pomocí isotermální titrační mikrokolorimetrie**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Cyklodextriny a jejich využití v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.
2. Stručná charakteristika isotermální titrační mikrokolorimetrie a oblasti využití této metody.
3. Povrchově aktivní látky na bázi adamantanu a imidazolu.

II. Praktická část

1. Stanovit termodynamické parametry komplexačních reakcí cyklodextrinů s vybranými sloučeninami.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] DODZIUK, H. Cyclodextrins and Their Complexes. 2006, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN 3-527-31280-3.

[2] SCHALLEY, C. Analytical Methods in Supramolecular Chemistry. 2007, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN 978-3-527-31505-5.

[3] Mezinárodní elektronické databáze (Scopus, SciFinder, Web of Science...).

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Zdeňka Prucková, Ph.D.**
Ústav chemie


Datum zadání bakalářské práce: **3. února 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2017**

Ve Zlíně dne 3. února 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ZÁVODNÁ ANETA

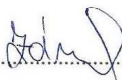
Obor: TVT KD

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 8.5.2017


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevyjádřeně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá studiem inkluzních komplexů β -cyklodextrinu s adamantylmethylimidazoliovou a adamantylmethylbenzimidazoliovou solí, a to v závislosti na pH prostředí. Teoretická část pojednává o cyklodextrinech a jejich využití v různých průmyslových odvětvích. Závěr teoretické části bakalářské práce se věnuje povrchově aktivním látkám odvozených od adamantanu a imidazolu. Cílem experimentální části bylo stanovit termodynamické parametry (vazebnou konstantu, enthalpii a entropii) inkluzních komplexů pomocí isothermální titrační mikrokolorimetrie ve třech různých prostředích.

Klíčová slova:

cyklodextriny, inkluzní komplexy, hostitel-host systém, ITC, adamantan, imidazol, povrchově aktivní látka

ABSTRACT

The Bachelor thesis is engaging in study of inclusion complexes of β -cyclodextrin with adamantylmethylimidazolium and adamantylmethylbenzimidazolium salt, and that in dependence on pH environments. Theoretical part is about cyclodextrins and their utilization in various industrial sectors. The closing part of a theoretical bachelor thesis is dedicated to surfactants derived from adamantane and imidazole. The main objective of an experimental study was to determine a thermodynamical parameters (binding constant, enthalpy and entropy) inclusion complexes using the isothermal titration microcalorimetry in three different environments.

Keywords:

cyclodextrins, inclusion complexes, host-guest system, ITC, adamantane, imidazole, surfactant

Touto cestou bych velice ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce paní Ing. Zdeňce Pruckové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala a cenné rady, které mi pomohly tuto práci zkompletovat.

Mé poděkování patří také Ing. Andrei Čablové za poskytnutí látek k měření a v neposlední řadě děkuji své rodině za psychickou podporu při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 CYKLODEXTRINY	12
1.1 HISTORIE	12
1.2 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI	12
1.2.1 Tvorba komplexů	14
1.3 VYUŽITÍ CYKLODEXTRINŮ.....	15
1.3.1 V kosmetickém průmyslu	15
1.3.2 Ve farmaceutickém průmyslu	17
1.3.3 V potravinářském průmyslu	18
1.3.4 V textilním průmyslu	19
2 ISOTERMÁLNÍ TITRAČNÍ MIKROKALORIMETRIE	20
2.1 APLIKACE ITC	20
3 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY NA BÁZI ADAMANTANU A IMIDAZOLU	21
3.1 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY.....	21
3.1.1 Struktura PAL	21
3.1.2 Hydrofilně–lipofilní rovnováha	22
3.2 ADAMANTAN.....	23
3.2.1 Struktura, vlastnosti a využití.....	23
3.2.2 Historie a objevení	24
3.3 IMIDAZOL	25
3.3.1 Struktura a vlastnosti.....	25
3.3.2 Využití.....	26
3.3.3 Benzimidazol.....	26
II PRAKTICKÁ ČÁST	28
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	29
4.1.1 VP – ITC	29
4.1.2 Automatický titrátor – Mettler Toledo T50	29
4.2 POUŽÍVANÉ LIGANDY	31
4.3 PŘÍPRAVA PUFRU O PH 3,96	32
4.4 PŘÍPRAVA PUFRU O PH 6,83 (FOSFÁTOVÝ PUFR).....	32
4.5 INKLUZNÍ KOMPLEXY β -CD S IMIDAZOLIOVOU A BENZIMIDAZOLIOVOU SOLÍ	33
4.5.1 Měření v H ₂ O	33
4.5.2 Měření v pufru o pH 3,96.....	34
4.5.3 Měření v pufru o pH 6,83.....	35
5 DISKUZE A VÝSLEDKY	36
5.1 STANOVENÍ HODNOT PK LIGANDŮ 1 A 2.....	36
5.2 SUPRAMOLEKULÁRNÍ KOMPLEXY β -CD S IMIDAZOLIOVOU SOLÍ (1)	38
5.3 SUPRAMOLEKULÁRNÍ KOMPLEXY β -CD S BENZIMIDAZOLIOVOU SOLÍ (2).....	42
ZÁVĚR	46

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	47
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	50
SEZNAM OBRÁZKŮ	51
SEZNAM TABULEK.....	52
SEZNAM PŘÍLOH.....	53

ÚVOD

Cyklodextriny byly objeveny kolem roku 1981 a od té doby prošly rozsáhlým vývojem. Cyklodextriny se často využívají ve farmaceutickém či kosmetickém průmyslu pro zvýšení rozpustnosti, stability nebo účinnosti aktivních složek. Právě o cyklodextrinech a jejich komplexech bude pojednávat teoretická část této práce. V úvodu se bude zaměřovat na jeho strukturu a vlastnosti. Dále bude popsána jejich schopnost tvořit inkluzní komplexy hostitel-host, díky kterým našly cyklodextriny široké uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích. Tyto aplikace budou popsány na konci kapitoly o cyklodextrinech.

Další část teoretické práce bude krátce pojednávat o isotermální titrační mikrokolorimetrii. ITC je citlivá univerzální metoda, která je schopna stanovit veškeré termodynamické parametry rozličných inkluzních komplexů.

Poslední část bude věnována povrchově aktivním látkám na bázi adamantanu a imidazolu. Sloučeniny s adamantanem a imidazolem mohou být povrchově aktivní a je žádoucí zlepšit jejich rozpustnost ve vodě právě tvorbou komplexů s cyklodextriny.

Experimentální část bude popisovat stanovení termodynamických charakteristik komplexů látek s adamantanem a imidazolem ve své molekule. Toto stanovení bude probíhat při různých hodnotách pH, které je dané hodnotami pK používaných ligandů.

V experimentální části bude popsán postup přípravy roztoků ligandů a hostitelských makromolekul, které budou představovat imidazoliová a benzimidazoliová sůl kyseliny. Následně bude uveden postup přípravy pufrů, které budou tvořit prostředí pro měření tvorby komplexů pomocí ITC. V poslední části budou interpretovány výsledky jednotlivých měření termodynamických parametrů inkluzních komplexů β -CD s imidazoliovými a benzimidazoliovými ligandy a v závěru budou srovnány výsledky měření v různých prostředích. První prostředí bude představovat destilovanou H_2O , druhým a třetím prostředím budou pufrů o různém pH. V pufru o pH menším než je hodnota pK se bude ligand vyskytovat v naprotonované formě, a naopak při pH větším než je hodnota pK bude ligand v deprotonované formě.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CYKLODEXTRINY

1.1 Historie

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy, které vznikají spojením šesti až osmi glukózových jednotek do dutého kužele.

Maďarský profesor József Szejtli (1933-2004) rozdělil vývoj cyklodextrinů (CD) do tří období. Prvním bylo samotné objevení CD, dalším výzkumné období a poslední období zahrnuje využití CD. Tyto tři vývojové fáze vycházejí z technologických pokroků, které se odehrávaly převážně v minulém století.

První publikaci o CD napsal francouzský vědec A. Villiers v roce 1891, kde popisuje izolaci krystalické látky ze škrobu natráveného bakteriemi *Bacillus amylobacter*. Látku, kterou získal pojmenoval „cellulosine“. Chemická struktura CD však byla popsána až K. Freudenbergem, F. Cramerem a spolupracovníky ve 30. letech minulého století. Dokázali kruhovou strukturu CD, složenou z jednotek glukosy spojených $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidickými vazbami a s centrální kavitou. Popsali také fyzikálně-chemické vlastnosti CD, jejich komplexační schopnosti, rozpustnost a v neposlední řadě také molekulovou hmotnost CD.⁴

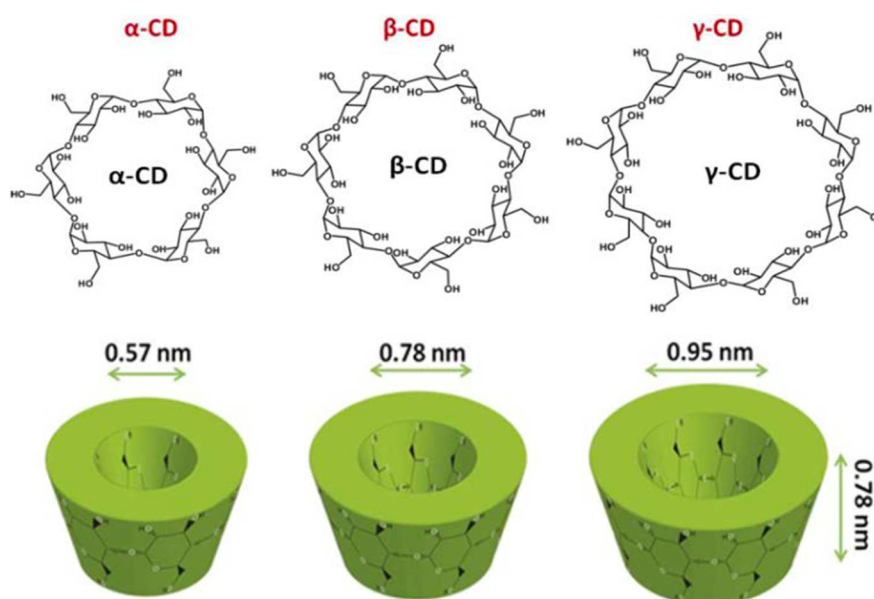
V roce 1980 W. Saenger publikoval článek, ve kterém zmínil možné průmyslové uplatnění CD a již o pár let později začal zájem o CD a jejich možném využití velice rychle stoupat. Dnes se CD převážně používají pro farmaceutické aplikace, analytickou chemii, potravinářský a kosmetický průmysl a v nedávné době se začaly CD hojně využívat také v textilním průmyslu.³

1.2 Chemická struktura a vlastnosti

CD jsou cyklické oligosacharidy složeny spojením jednotek α -D-glukopyranosy $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidickými vazbami s lipofilní centrální kavitou a hydrofilním vnějším povrchem. Vzhledem k židličkové konformaci glukopyranosových jednotek mají CD tvar komolého kužele.² CD jsou převážně tvořeny šesti, sedmi nebo osmi glukosidickými jednotkami, nesoucí názvy α -CD, β -CD a γ -CD (viz *Obrázek 1⁵*). Cyklodextriny se často využívají jako hostitelské molekuly, kdy jiné, menší molekuly tzv. „hosté“, mohou s CD jako „hostiteli“ tvořit inkluzní komplexy tak, že při reakci vstoupí do jejich centrální kavity.

Velký význam CD jak ve výzkumu, tak v aplikacích spočívá v jejich schopnosti selektivně tvořit inkluzní komplexy s jinými molekulami, ionty nebo i radikály. Při tvorbě těchto komplexů hostitel-host se mohou měnit vlastnosti obou molekul.¹

Některé vybrané vlastnosti α -CD, β -CD a γ -CD při laboratorní teplotě jsou uvedeny v *Tabulce 1*.²



Obrázek 1: Tři nejčastější typy CD

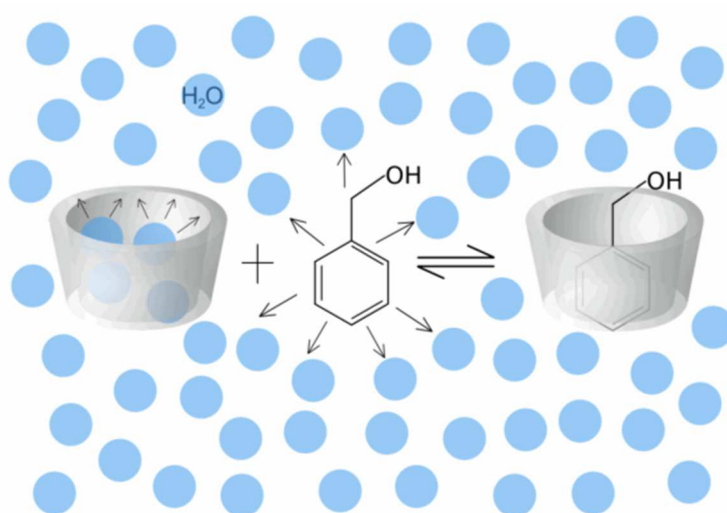
Tabulka 1: Vybrané vlastnosti α -CD, β -CD a γ -CD, při pokojové teplotě

	α -CD	β -CD	γ -CD
Molekulová hmotnost [g.mol ⁻¹]	972	1135	1297
Průměr centrální kavity [Å]	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Výška molekuly [Å]	7,9	7,9	7,9
Přibližný vnější průměr [Å]	14,6	15,4	17,5
Rozpustnost ve vodě [w/v %]	14,2	15,4	17,5
Povrchové napětí [mN.m ⁻¹]	71	71	71
Bod tání [°C]	255-260	255-265	240-245

1.2.1 Tvorba komplexů

Ve vodním prostředí tvoří CD (hostitelé) inkluzní komplexy s mnoha lipofilními molekulami (hosté). Při reakci se molekuly H_2O nacházející se uvnitř kavity nahrazují buď celou molekulou nebo její lipofilní částí. Vzniklý inkluzní komplex převážně stabilizují slabými, ale zato četnými van der Waalsovými interakcemi. Změna enthalpie i entropie komplexního systému závisí na vzájemném působení sil mezi komplexem hostitel-host, použitým rozpouštědlem a na mnoha dalších faktorech.^{1,2}

Na *Obrázku 2* je vyobrazeno schéma tvorby komplexu mezi CD a benzylalkoholem, kde šipky představují odpuzivé síly.⁶



Obrázek 2: Schéma tvorby komplexu mezi CD a benzylalkoholem

Schopnost vytvářet inkluzní komplexy CD s molekulárními hosty vhodné velikosti je dáno kavitou CD, která vykazuje relativně hydrofobní charakter, zatímco vnější povrch kavity je hydrofilní. Tato vlastnost vytvářet inkluzní komplexy s různými molekulami, které zároveň nejsou pro člověka toxické, je příčinou pro široké spektrum aplikací CD.

Porozumění silám, které se podílejí na tvorbě inkluzních komplexů, je důležité nejen v chemii cyklodextrinů, ale také v oblasti supramolekulární chemie. Bylo poukázáno na to, že povrchově aktivní látky jsou ideálními hosty při základních studiích tvorby komplexů s CD, protože jak hydrofilní, tak hydrofobní část molekuly povrchově aktivní látky může být systematicky měněna.⁸

Byla zavedena symbolika, kde S představuje hosta (substrát) a L reprezentuje hostitele (ligand), kterým je CD a stechiometrické poměry jsou vždy uvedeny v pořadí S:L. Stechiometrický poměr 1:2 znamená tedy komplex SL_2 atd. Pro komplexy CD je nejčastější vazebný poměr 1:1, ale přesto jsou známy i jiné poměry. Z těchto dalších je nejběžnější 1:2. Dále jsou známy i tří komponentní komplexy CD, jako například komplex CD, hosta a alkoholu, který pravděpodobně pracuje jako „regulátor prostoru“ a optimalizuje přizpůsobení hosta do kavity CD. Tento jev byl pozorován s například pyrenem nebo kyselinou α -naftyloxooctovou. Zde se jedná o komplexy 1:1:1. Byl také navržen komplex skládající se z jediného hosta (4-nitrofenyl-oktanoát), který je obklopen dvěma různými cyklodextriny (dimethyl- β -CD a γ -CD).²⁸

1.3 Využití cyklodextrinů

Bylo přijato a je využíváno nepřeberné množství patentů zabývajících se aplikacemi CD v kosmetických a farmaceutických odvětvích.³

Mnohé aplikace nativních CD jsou umožněny díky jejich snadné výrobě a nízkým nákladům, a to platí nejen pro β -CD, ale také pro α -CD a γ -CD. Jejich netoxické vlastnosti tvoří základ pro využití ve farmaceutickém, agrochemickém a potravinářském průmyslu, stejně jako v kosmetickém průmyslu např. v toaletních přípravcích.

Dále jsou CD také používány k impregnaci papíru, jako senzibilizátory, stabilizátory a anti-oxidanty.¹

1.3.1 V kosmetickém průmyslu

Kolem 80. let minulého století začaly být studovány aplikace v kosmetickém průmyslu. CD byly testovány jako stabilizátory chemických sloučenin, s cílem dosažení déle trvajících účinků aktivních složek, dále ke snížení lokálního podráždění a k redukci nepříjemných pachů.⁴

Dnes se CD v kosmetických a toaletních přípravcích využívají zejména jako komplexační činidla, která zvyšují rozpustnost ve vodě jinak nerozpustných lipofilních látek a pro zvýšení fyzikální i chemické stability aktivních složek přípravku.² Dále se CD využívají v tomto odvětví k rozpouštění vůní, k potlačení jejich těkavostí a k umožnění rozprašování parfémů

ve formě mikroprášků. V neposlední řadě se využívají jako emulgátory a deodoranty. V Evropě se každý rok použije cca 400 tun CD, z čehož je 75 % využito jako deodoranty.¹

Příklady využití CD v kosmetickém průmyslu:

1. Ochrana hostujících molekul (ochrana proti světlu a oxidaci)

- Tea tree olej je významný pro své antimikrobní a protizánětlivé vlastnosti. Čistý olej je bez přístupu světla a kyslíku stabilní po dobu cca jednoho měsíce. V opačném případě reagují terpeny nacházející se v oleji se světlem a kyslíkem za tvorby aromatické organické sloučeniny zvané p-cymen, který dráždí kůži. Při komplexu s CD je tea tree olej stabilní jak vůči světlu, tak vůči oxidaci, a tím je zabráněno tvorbě nežádoucích látek. Výhodou tohoto komplexu je zachování antimikrobních a protizánětlivých vlastností tea tree oleje.

2. Rozpustnost hostujících molekul

- Kyselina salicylová se využívá v produktech pro čištění pleti, zejména pro její antibakteriální a keratolytické vlastnosti. Rozpustnost kyseliny nebo jejích derivátů ve vodě je nízká, avšak při komplexu s CD se její rozpustnost ve vodě výrazně zvyšuje a zároveň se zvyšují její dezinfekční, bakteriostatické a keratolytické vlastnosti.

3. Odstranění nežádoucích pachů

- Deodoranty jsou používány k redukci pachů, které jsou tvořeny mikrobiální degradací potu. CD mohou být použity v deodorantech, kde jsou schopny tvořit komplexy s pachy z pocení.³

4. Kosmetika s obsahem ceramidů

- Ceramidy jsou komplexní lipidy, které se nachází v cytoplasmě a plasmatické membráně, kde slouží k udržení hydratace kůže, její pevnosti a elasticity. Stabilní ceramidové práškové agregáty spolu s CD jsou lehce dispergovatelné a vhodné pro kosmetické přípravky.¹

1.3.2 Ve farmaceutickém průmyslu

V roce 1976 se na trhu objevil první farmaceutický produkt – prostaglandin E₂/β-CD, který byl prodáván v Japonsku firmou Ono Pharmaceutical Co. První formulace obsahující CD, která byla schválena v roce 1997 a uvedena na trh v US byl perorální roztok intrakonazol/2-hydroxypropyl-β-CD.

Celosvětově je nyní asi 30–40 různých druhů léčiv, které jsou komplexy s CD. CD se ve farmacii většinou využívají ke zvýšení rozpustnosti málo rozpustných léčiv. Dále se využívají jako stabilizátory a významnou roli hrají ve snížení lokálního iritačního účinku léčiva. Všeobecně se předpokládalo, že dostupnost léčiv s obsahem CD bude omezována díky pomalému uvolňování molekuly léčiva z kavity CD. Ukázalo se, že hodnoty pro formaci a disociaci komplexu léčivo/CD jsou velice blízké k difúzně řízeným limitům s neustále se tvořícími komplexy. V důsledku přítomnosti ve vodě rozpustných komplexů léčivo/CD přímo na povrchu epitelu, se zvyšuje dostupnost rozpustného léčiva, zejména tedy lipofilních léčiv s nízkou rozpustností v H₂O.⁴

Nosní aplikace

Aplikace roztoku CD přímo na nasální sliznici je považována za bezpečnou pro široké rozmezí koncentrací nativních CD. Jen u methylovaných derivátů CD by měla být kontrolována koncentrace a doba aplikace. Veškeré nosní přípravky však musí být přísně hodnoceny díky možným vlivům na mukociliární funkce (obrana dýchacích cest proti bakteriím, alergenům atd.). V tomto ohledu komplexy CD nepřinášejí žádné vedlejší účinky na epitelové membrány pravděpodobně proto, že jejich kavity brání vnitřní toxicitě obsažených molekul.

CD mohou tedy zlepšit biologickou dostupnost léčiva a pomoci tak vyhnout se nosní bariéře.

Oční aplikace

V oblasti oftalmologie jsou lékové formy obvykle aplikovány na povrch oka. Velkým problémem je rychlá ztráta léku, způsobena zvýšenou produkcí slz a odvodněním. Léčivo musí proniknout do lipofilních membrán oční spojivky, rohovky a očního bělma. Tyto membrány jsou obklopeny vodnou slznou kapalinou a mucinovou vrstvou, tudíž oftalmická léčiva musí být rozpustná ve vodě, aby pronikla do vnějších vrstev oka (slzná kapalina a mucinová vrstva) a zároveň musí být dostatečně lipofilní, aby léčivo proniklo přes oční

bariéru do oka. Pouze méně než 5 % očních léčiv dokáží proniknout do rohovky a nitrooční tkáň.

V této souvislosti mohou CD představovat alternativní přístup pro zvýšení rozpustnosti a umožnění léčivu proniknout tak do oční rohovky. Bylo také prokázáno, že inkluzní komplexy oftalmických léčiv s CD zvyšují rozpustnost léčiva ve vodě bez narušení jejich chemické struktury a aktivity.

Orální aplikace

V současné době je orální podání inkluzních komplexů CD s mnoha ve vodě špatně rozpustnými léčivy možné, jelikož přírodní α - a β -CD nejsou slinami hydrolyzovány.

Velmi důležité vlastnosti CD a jejich derivátů pro orální aplikaci pramení z jejich schopnosti modifikovat biologické dostupnosti účinných látek, a to zvýšením doby uvolňování léčiva a zvýšením rychlosti rozpuštění léčiva. Ve stejnou dobu mohou snížit lokální podráždění GI traktu nebo hořkou chuť léčiva. Tvorba komplexu hostitel-host brání reakci léčiva s chuťovými pohárky.⁹

1.3.3 V potravinářském průmyslu

V posledních letech bylo publikováno mnoho článků popisujících využití CD v potravinářském průmyslu. CD byly doporučeny pro aplikace v potravinářství s využitím jako přídatných látek z mnoha různých důvodů. Slouží například k ochraně lipofilních potravinových složek podléhajících oxidaci a teplem indukované degradaci, pro lepší rozpustnost potravinářských barviv a vitamínů, ke stabilizaci vůní, vitamínů a příchutí a ke stabilizaci esenciálních olejů, kde zabraňují nežádoucím změnám olejů. Dále k potlačení nepříjemných pachů a chutí a k dosažení řízeného uvolňování určitých potravinových složek.

Enkapsulace chutí za použití CD

Příchut' potravin hraje velice důležitou roli ve spokojenosti spotřebitelů. Výrobní a skladovací procesy, přísady v potravinách a obalový materiál často způsobují negativní změny ve výsledné chuti, a to snížením intenzity aromatických složek. Aby se zamezilo degradaci nebo úplné ztrátě aroma během zpracování a skladování, je výhodné zapouzdřit těkavé složky před jejich využitím.

Enkapsulace zahrnující inkluzní komplexy aromatická látka/CD mají veliký potenciál pro ochranu těkavých nebo nestabilních aromatických složek přítomných ve vícesložkové potravinové struktuře v průběhu zpracování.

Přidání β -CD jako zahušťovadla nebo stabilizátoru jsou udrženy některé aromatické sloučeniny v potravinových maticích při různých tepelných procesech. Těmi jsou například vaření a pasterizace. Molekulární zapouzdření příchutí s β -CD bylo prokázáno jako nejúčinnější pro zajištění ochrany proti teplotě a vypařování.

Modifikace chuti a odstranění hořké chuti z potravin

Hořká chuť je jeden z mnoha důvodů k zamítnutí potravinářských výrobků, ač na druhou stranu je v některých výrobcích, jako jsou káva nebo pivo, hořká chuť naopak očekávaná. CD lze použít pro odstranění nebo maskování nežádoucích složek potravin. CD jsou přidány při jejich výrobě, kde tvoří komplexy s nežádoucími látkami a mění tak vůni výsledného produktu. Tento postup se využívá například pro deodorizaci sójového mléka nebo k odstranění rybích pachů.¹⁰

1.3.4 V textilním průmyslu

CD hrají také významnou roli v textilním průmyslu, kde mohou být použity k odstranění povrchově aktivních látek z praných textilií, k nahrazení povrchově aktivních látek či při dokončovacích pracovních operacích. Při chemickém navázání na textilní vlákna poskytují větší hydrofilitu a inkluzní komplexy mohou především imobilizovat parfémy, antimikrobiální látky atd.¹¹

2 ISOTERMÁLNÍ TITRAČNÍ MIKROKALORIMETRIE

Isotermální titační mikrokalorimetrie (ITC) je efektivní a všestranná metoda pro studium molekulárních interakcí. Používá se nejen pro určování termodynamických parametrů komplexů hostitel-host, ale také pro výpočet afinitní konstanty komplexů.

Během ITC experimentu se měří teplo uvolněné nebo absorbované během vazebných interakcí. Tato tepla jsou měřena jako změny teplot, resp. energie potřebné k udržení stejné teploty komplexační reakce s teplotou referenčního roztoku.

Z grafického záznamu změny energie během komplexační reakce lze vyhodnotit stechiometrii interakcí, vazebnou konstantu K a enthalpii ΔH interakce, ze které lze ještě odvodit entropii ΔS a Gibbsovou volnou energii ΔG .⁷

2.1 Aplikace ITC

Popularita ITC vyplývá z její schopnosti přímo stanovit všechny termodynamické parametry v relativně krátkém čase. Používá se jako primární metoda pro charakterizaci interakcí vzhledem k tomu, že změny tepla se vyskytují u téměř všech chemických a biochemických reakcích. ITC může být navíc použita pro kalné suspenze i barevné roztoky, a to v různých aplikacích. Díky univerzálnosti a jednoduchosti použití se tato metoda využívá v rozsáhlém souboru studií rozličných ligandů, jako jsou kovové ionty, proteiny, sacharidy, peptidy, RNA, DNA, malé molekuly atd. Mezi novější aplikace ITC patří například studium enzymaticky katalyzovaných reakcí, kdy tepelná energie generována v průběhu reakce pomocí ITC je přímo úměrná rychlosti dané reakce.²⁵

3 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY NA BÁZI ADAMANTANU A IMIDAZOLU

3.1 Povrchově aktivní látky

Povrchově aktivní látky (PAL), také amfifily nebo tenzidy s amfifilní povahou, mají významné postavení a nacházejí v laboratořích a v průmyslu mnohostranné aplikace. Mezi dvě nejdůležitějších vlastnosti PAL se řadí jejich schopnost se již při nízkých koncentracích hromadit na rozhraní fází orientovaným způsobem, a tím snižovat mezifázovou energii soustavy. Druhou důležitou vlastností je jejich schopnost tvořit micely při překročení kritické micelární koncentrace.^{12, 13, 15}

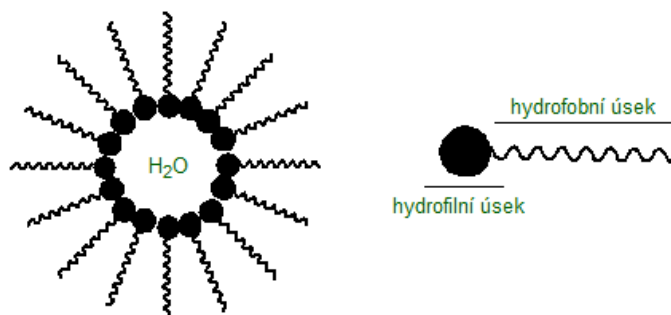
Dynamické chování mnoha systémů, jako jsou například stabilita pěn, šíření kapiček kapaliny na pevném povrchu nebo velikost kapiček ve sprejích, jsou řízeny adsorpcí povrchově aktivních látek na rozhraní fází vzduch–voda. Mnoho micel je strukturálně podobných biologickým membránám a globulárním proteinům, a také mají katalytické vlastnosti.

Povrchově aktivní látky jsou hojně využívány v různých průmyslových odvětvích, jako jsou tvorby emulzí, praní prádla, hašení požárů nebo například prevence proti korozi.¹²

Povrchově aktivní látky se dle ionicity dělí na tenzidy ionické, které se dále dělí na tenzidy anionické, kationické a amfoterní a na tenzidy neionické.¹⁵

3.1.1 Struktura PAL

Jak bylo výše zmíněno, povrchově aktivní látky jsou charakteristické svou amfifilní neboli amfipatickou strukturou. PAL obsahují ve své molekule hydrofobní a hydrofilní část (viz *Obrázek 3*¹⁶), kdy v případě, že rozpouštědlem je voda, je k ní hydrofilní část přitahována a zároveň je odpuzována od látek nepolárního charakteru. V takovém případě, část hydrofobní zaujímá uspořádání, které se snaží minimalizovat kontakt s rozpouštědlem. Hydrofobní část je nejčastěji tvořena uhlovodíkovým zbytkem s lineární nebo rozvětvenou strukturou, který je tvořen 12–18 C a hydrofilní část tvoří nejčastěji polární skupina.¹⁴



Obrázek 3: Struktura PAL (vpravo), struktura micel (vlevo)

3.1.2 Hydrofilně–lipofilní rovnováha

Hodnota HLB (hydrofilně–lipofilní rovnováha) byla pro povrchově aktivní látky definována Griffinem v roce 1949. HLB hodnota je definovaná jako rovnovážný poměr mezi hydrofilní a hydrofobní částí molekuly PAL. Od té doby se začala v literatuře používat klasifikace PAL podle hodnoty HLB.

Poměr mezi polární a nepolární částí PAL podmiňuje afinity molekuly ke slabým polárním organickým rozpouštědlům a k vodě, kdy poměr těchto aktivit (bezrozměrné číslo) vyjadřuje hydrofilně–lipofilní rovnováhu celé sloučeniny.

Dle hodnot HLB můžeme PAL rozdělit do skupin, které jsou uvedeny v *Tabulce 2*.²⁷

Tabulka 2: Hodnoty HLB aplikačních skupin PAL

HLB	Aplikační skupina
3–6	Emulgátor v/o
7–9	Smáčedla
8–18	Emulgátor o/v
13–15	detergenty
15–18	solubilizátory

I přesto, že je HLB pouze orientační metodou, je stále široce využívána k redukci zkoušek v emulzní formulaci a poskytuje porozumění faktorů, které ovlivňují chování směsi. HLB se běžně využívá k vyjádření hydrofilně–lipofilní rovnováhy, které mají obě části molekuly povrchově aktivní látky.²⁶

3.2 ADAMANTAN

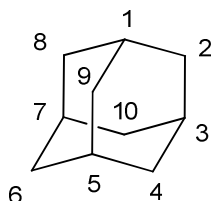
3.2.1 Struktura, vlastnosti a využití

Adamantan je tricyklický velmi symetrický nasycený uhlovdík ($C_{10}H_{16}$, tricyklo[3.3.1.1^{3,7}]dekan) obsahující tři cyklické kruhy. Struktura adamantanu je vyobrazena na *Obrázku 4*. Adamantan se řadí mezi nejjednodušší sloučeniny skupiny diamantoidů, což jsou sloučeniny, které obsahují ve své struktuře nejméně jednu jednotku adamantanu.^{17, 18}

Bod tání adamantanu je okolo 269 °C, což je pravděpodobně nejvyšší hodnota ze všech bodů tání organických molekul o stejných molekulových hmotnostech.¹⁷

Neobvyklá struktura adamantanu přináší mnoho užitečných fyzikálních a chemických vlastností, jako je například vysoká lipofilita, nízká povrchová aktivita, dobrá oxidační a tepelná stabilita, nízká toxicita atd. Např. aminoadamanty mají zajímavé biologické vlastnosti a jsou medicínsky využívány například pro léčení chřipky. Začlenění adamantylových skupin do molekulární struktury, různých například povrchově aktivních látek, využívá mnoho specifických vlastností adamantanové struktury. Tak třeba výhoda adamantanové vysoké lipofilnosti je, že tyto struktury mohou vykazovat nízkou hodnotu CMC (kritické micelární koncentrace).¹⁸

Pro svou vysokou antimikrobní aktivitu byly derivátu adamantanu testovány na některé mikroorganismy (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* atd.), a dle očekávání byly výsledky antimikrobní účinnosti relativně vysoké. Kationické povrchově aktivní látky jsou známy svými antimikrobními účinky. Mnohem lepší antimikrobní účinnost však vykazují látky, které se skládají ze dvou symetrických kvartérních amoniových skupin a adamantan se v kombinaci s těmito amoniovými sloučeninami může vyznačovat vynikajícími antimikrobními aktivitami.¹⁹

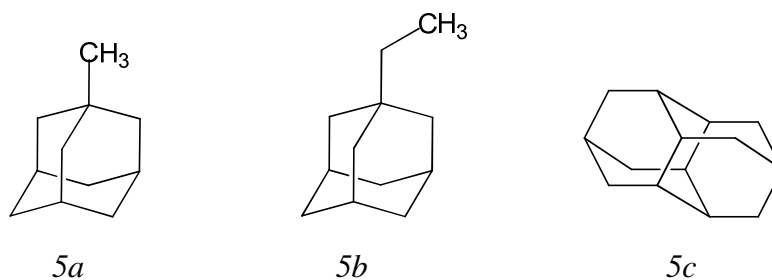


Obrázek 4: Struktura adamantanu

3.2.2 Historie a objevení

Profesor Stanislav Landa z Ústavu technologie paliv a svítiv a technologie vody byl jedním z důležitých postav, které stály v počátcích objevu a vývoje adamantanu a jako první prezentoval izolaci adamantanu z hodonínské ropy. Tato prezentace probíhala v Praze v roce 1932 na XII. sjezdu průmyslové chemie.²⁰

Vzhledem k obtížné dostupnosti suroviny byly počátky syntézy adamantanu v chemickém oboru značně komplikované. Adamantan bylo možné získat nesnadnou izolací z hodonínské ropy nebo složitou mnohastupňovou syntézou.²¹ Izolace této látky z ropy sloužila jako zdroj adamantanu pouze do objevu efektivních syntetických metod, jelikož koncentrace adamantanu v hodonínské ropě činí pouze 0,02–0,03 %. Z počátku nešlo o cílenou izolaci adamantanu, ale o komplikaci při frakční destilaci ropy, kdy v předloze kondenzovala pevná látka o vysokém bodu tání (adamantan), která byla zpočátku opakovanou frakční destilací ropného podílu destilujícího s vodní parou separována a pak byla izolována extrakční krystalizací s thiomocovinou. V ropě bylo objeveno mnoho dalších látek obsahujících ve své struktuře adamantanový skelet, jako například methyl- a ethyladamantan, diamantan (viz *Obrázek 5*), a také mnoho dalších.²⁰



Obrázek 5: 5a – 1-methyladamantan, 5b – 1-ethyladamantan, 5c – diamantan

Syntézu, která nastartovala obrovský nárůst zájmu o adamantan a jeho deriváty, odhalil profesor Paul Rague von Schleyer v roce 1957. Šlo o izomeraci tetrahydrodicyklopentadienu chloridem hlinitým. Tento objev byl zcela náhodný, jelikož byl původně adamantan z reakce odstraňován jako nežádoucí a komplikující příměs. Poté byly na VŠCHT v Praze studovány profesorem Landou a dalšími nové biologicky aktivní sloučeniny adamantanu, jako jsou

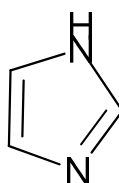
např. heteroadamanty (se sírou a dusíkem v molekule) a také byly získány alkylderiváty adamantanu izomerací různých nasycených uhlovodíků.²¹

V polovině devadesátých let minulého století byl vyvrácen názor, že žádný živý organismus nedokáže syntetizovat deriváty adamantanu. V té době se podařilo identifikovat některé izolované účinné látky (deriváty adamantanu) rostlin z čeledi *Guttiferae*. Takto byl adamantan poprvé izolován z rostliny *Clusia plukenetii* a později také z čínské třezalky *Hipericum sampsonii*.²⁰

3.3 IMIDAZOL

3.3.1 Struktura a vlastnosti

Imidazol ($C_3H_4N_2$, 1,3-díaza-2,4-cyklopentadien) je planární pětičlenný kruhový systém se třemi uhlíky a dvěma atomy dusíku, které se nacházejí v polohách 1 a 3 a na jeden z těchto atomů je navázán vodíkový atom. Struktura imidazolu je vyobrazena na *Obrázku 6*. Imidazol je vysoce polární sloučenina, a proto je zcela rozpustný v H_2O a dalších polárních rozpouštědlech. Imidazol vykazuje amfoterní vlastnosti, což znamená, že se může chovat jako kyselina i jako zásada. Jako kyselina má imidazol pK_a hodnotu 14,5 a jako zásada je pK_a imidazolu rovno 7,0.²²



Obrázek 6: Struktura imidazolu

Poprvé byl imidazol syntetizován Heindrichem Debusem již v roce 1858, kde použil glyoxal a formaldehyd za přítomnosti amoniaku (viz *Schéma 1*). Výtěžek Debusovy syntézy je relativně malý, ale přesto se využívá dodnes. Deriváty imidazolu však byly objeveny již ve čtyřicátých letech téhož století.²³

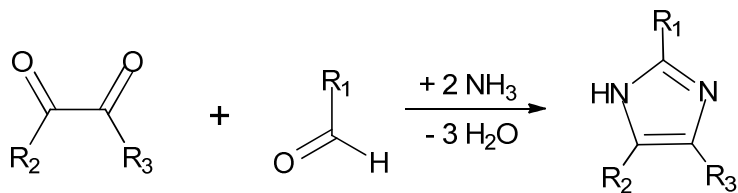


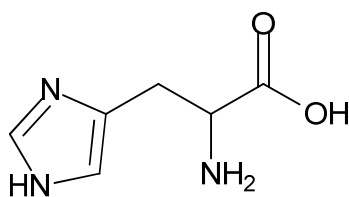
Schéma 1

3.3.2 Využití

Jelikož je imidazol začleněn do mnoha biologických molekul našel své využití v mnoha farmaceutických přípravcích. V aminokyselině zvané histidin, jehož struktura je vyobrazena na *Obrázku 7*, se imidazol vyskytuje jako její postranní řetězec, a právě v histidinu se imidazol vyskytuje nejvíce. Tato aminokyselina se vyskytuje v mnoha enzymech a proteinech a hraje důležitou roli ve vazebných funkcích a ve struktuře například krevního barviva hemoglobinu.

Synteticky připravené imidazoly jsou přítomny v mnoha antihypertenzních, fungicidních nebo například v antiprotozoálních léčivech.²² Imidazol má také vynikající výsledky protirakovinných, antituberkulózních a anti-HIV aktivit.²³

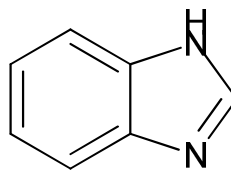
Imidazol taktéž získal uplatnění v různých průmyslových odvětvích, kde je například v chemickém průmyslu široce využíván jako inhibitor koroze.²²



Obrázek 7: Struktura histidinu

3.3.3 Benzimidazol

Důležitější než imidazol je benzimidazol (*Obrázek 8*), který se vyskytuje například ve Vitamínu B12. Benzimidazol se dá připravit mnoha metodami, kdy jednou z nich je použití benzen-1,2-diaminu, který kondenzuje s karboxylovou kyselinou zahříváním v kyselém prostředí za vzniku benzimidazolu (viz *Schéma 2*).²²



Obrázek 8: Struktura benzimidazolu

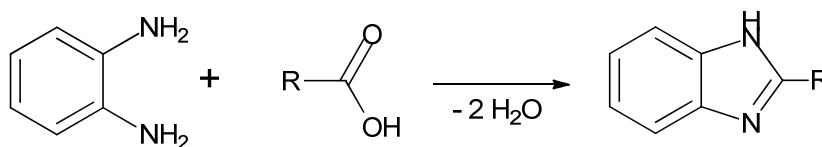


Schéma 2

Největšího zájmu dosáhla tato sloučenina kolem padesátých let minulého století, kdy bylo zjištěno, že 5,6-dimethyl-1-(α -D-ribofuranosyl) benzimidazol je nedílnou součástí Vitamínu B12. V důsledku tohoto objevu a mnoha rozsáhlých studií bylo objeveno, že benzimidazol může přispívat při léčbě parazitických onemocnění.

Deriváty benzimidazolu byly testovány na antimikrobiální aktivitu, proti gram pozitivním i gram negativním bakteriím. Nejvyšší aktivitu vykazoval derivát oxadiazolylthiomethyl-1*H*-benzimidazol.²⁴

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Přístroje a vybavení

4.1.1 VP – ITC

Pro experimentální práci byl použit isotermální titrační mikrokolorimetr VP – ITC, firmy MicroCal. VP – ITC přímo měří energii, která se při reakci 2 látek o přesně definované koncentraci uvolní (exotermická reakce) nebo spotřebovává (endotermická reakce).

Mikrokolorimetr a jeho měřicí část zahrnuje automatickou mikropipetu o objemu 295 μl , do které byl před samotným experimentem nasát ligand o přesně známé koncentraci. Dalšími 2 částmi jsou referenční – srovnávací a reakční – měřicí cela ve tvaru mince a pracovním objemu 1,4438 ml. Reakční cela byla naplněna roztokem hostitelské makromolekuly β -CD a referenční cela byla naplněna destilovanou vodou. Automatická mikropipeta s ligandem byla vložena do měřicí cely a počítačově řízeným pístem bylo postupně v časovém rozmezí 210 sekund za stálého automatického míchání přidáváno 10 μl roztoku ligandu. Roztok ligandu byl dávkován z mikropipety do roztoku hostitelské makromolekuly uvnitř měřicí cely, a to ve 29 přidavcích. Po dobu celého experimentu byla teplota obou cel automaticky počítačově udržována při konstantních 30 °C. Průběh titrace zaznamenává teplo uvolněné, či spotřebované při jednotlivých přidavcích z mikropipety v závislosti na čase. Pro každé stanovení bylo změřeno také zředovací teplo, kdy byl přidáván ligand o stejné koncentraci jako při vlastním stanovení do roztoku destilované vody, či do roztoku pufru. Experiment byl v závěru vyhodnocen v programu ORIGIN 7.0, který využívá vhodný matematický model („One set of Sites“) pro vyhodnocení reakční stechiometrie (n), vazebnou konstantu (K), entalpii (ΔH) a entropii (ΔS). Zředovací teplo bylo odečteno od tepla uvolněného při jednotlivých přidavcích.

Je důležité uvést, že všechny vzorky byly před samotným měřením odplyněny na odplyňovacím přístroji ThermoVac, který je rovněž produktem firmy MicroCal.

4.1.2 Automatický titrátor – Mettler Toledo T50

Automatický titrátor pracuje na principu potenciometrické titrace. Využívá elektrody se senzory, které jsou velice citlivé na změnu pH v průběhu reakce a přístroj tím dokáže sám vyhodnotit bod ekvivalence dané titrace, a to na základě automatického vypočítávání první a druhé derivace.

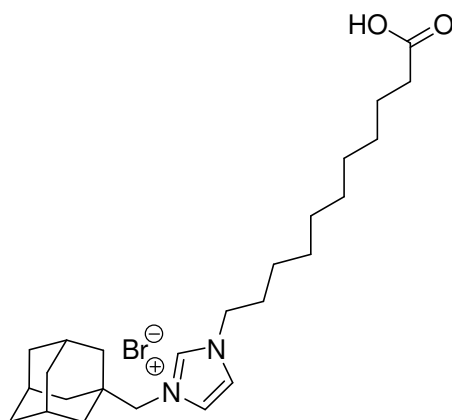
Výhodou použití automatického titrátoru je přesnost a preciznost práce, kterou nelze pomocí manuální titrace dosáhnout.

Automatického titrátoru bylo použito pro stanovení hodnot pK používaných ligandů. Titrace byla prováděna pomocí roztoku KOH, který byl automatickou byretou postupně titrován po 0,05 ml do 10 ml roztoku stanovovaného ligandu. Celá titrace proběhla až do celkové spotřeby 10 ml KOH. Proces titrace je řízen počítačově a provádí se při běžné laboratorní teplotě.

4.2 Používané ligandy

Používané ligandy byly připraveny v laboratoři na Ústavu chemie FT UTB. Tímto především děkuji Ing. Andrei Čablové za poskytnutí solí imidazolia a benzimidazolia, které byly využity při měření pro mou práci. Strukturní vzorce a základní charakteristiky používaných ligandů jsou uvedeny na *Obrázku 9* a *Obrázku 10*.

(1) 1-(10-karboxydecyl)-3-(1-adamantylmethyl)-1H-imidazol-3-ium bromid



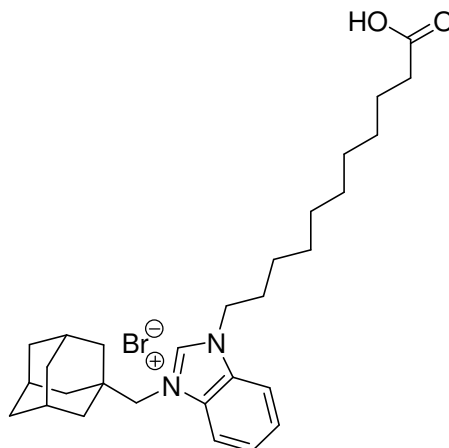
Sumární vzorec: C₂₅H₄₁BrN₂O₂

Mr: 481,5092 g.mol⁻¹

Vzhled: bílý krystalický prášek

Obrázek 9: Strukturní vzorec ligandu (1)

(2) 1-(10-karboxydecyl)-3-(1-adamantylmethyl)-1H-benzimidazol-3-ium bromid



Sumární vzorec: $C_{29}H_{43}BrN_2O_2$

Mr: 431,5679 g.mol⁻¹

Vzhled: bílý krystalický prášek

Obrázek 10: Strukturní vzorec ligandu (2)

4.3 Příprava pufru o pH 3,96

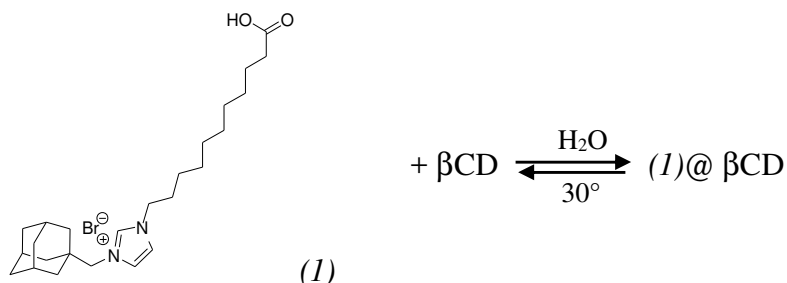
- Do 500 ml odměrné baňky bylo kvantitativně převedeno 1,4764 g CH_3COONa a 4,7 ml CH_3COOH , rozpuštěno a doplněno po rysku.
- Hodnota pH u takto připraveného roztoku pufru byla při 23,7 °C stanovena na 3,96.

4.4 Příprava pufru o pH 6,83 (fosfátový pufr)

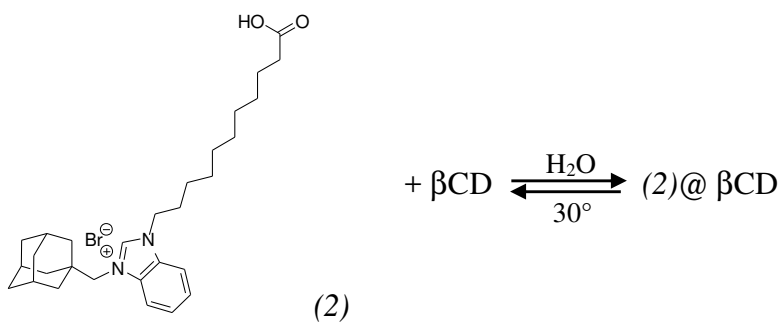
- Do 250 ml odměrné baňky bylo kvantitativně převedeno 0,2725 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ a 0,5526 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, rozpuštěno a doplněno po rysku.
- Hodnota pH u takto připraveného roztoku pufru byla při 23 °C stanovena na 6,83.

4.5 Inkluzní komplexy β -CD s imidazoliovou a benzimidazoliovou solí

4.5.1 Měření v H_2O

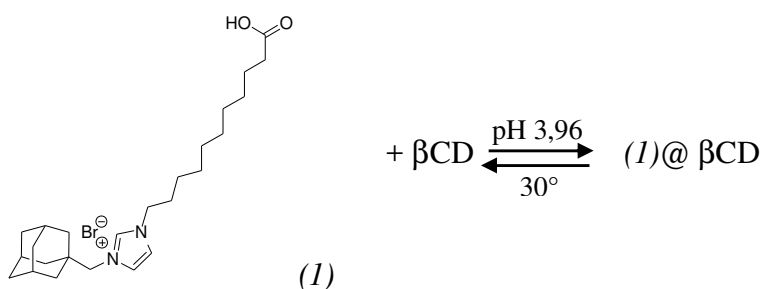


- Roztok ligandu (1) byl připraven rozpuštěním 0,575 mg (0,7961 mM) v destilované H_2O o objemu 1,5 cm^3 .
- Roztok β -CD byl připraven rozpuštěním 0,898 mg (0,0791 mM) v destilované H_2O , kvantitativním převedením do 10 cm^3 odměrné baňky a doplněním po rysku.

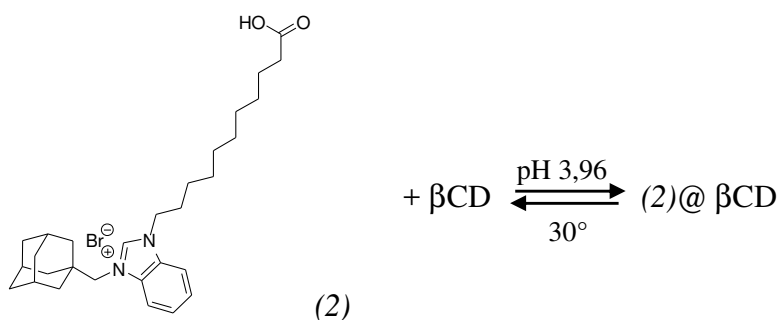


- Roztok ligandu (2) byl připraven rozpuštěním 21,298 mg (4,0066 mM) v destilované H_2O o objemu 10 cm^3 .
- Roztok β -CD byl připraven rozpuštěním 4,595 mg (0,4048 mM) v destilované H_2O , kvantitativním převedením do 10 cm^3 odměrné baňky a doplněním po rysku.

4.5.2 Měření v pufru o pH 3,96

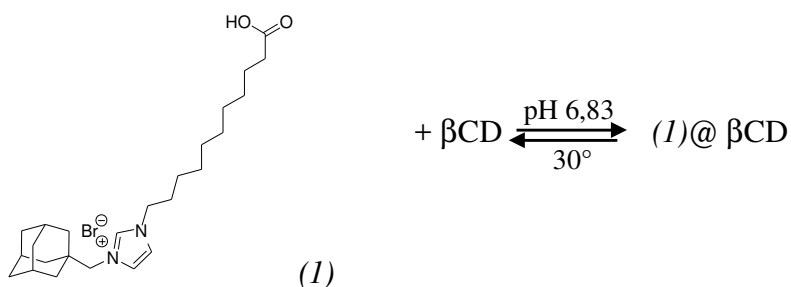


- Roztok ligandu (1) byl připraven rozpuštěním 0,540 mg (0,7477 mM) v pufru o objemu 1,5 cm³.
- Roztok β -CD byl připraven rozpuštěním 0,955 mg (0,0841 mM) v pufru, kvantitativním převedením do 10 cm³ odměrné baňky a doplněním po rysku.

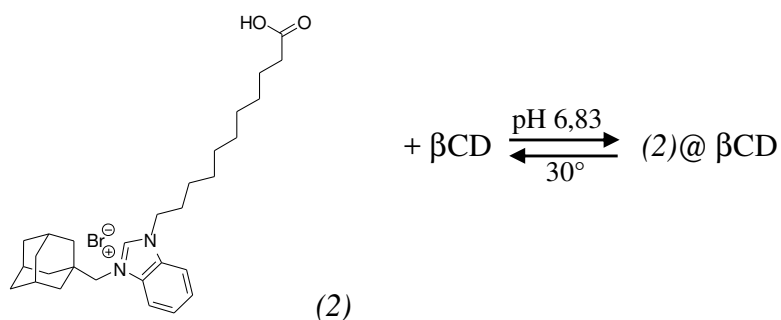


- Roztok ligandu (2) byl připraven rozpuštěním 3,199 mg (4,0120 mM) v pufru o objemu 1,5 cm³.
- Roztok β -CD byl připraven rozpuštěním 4,468 mg (0,3937 mM) v pufru, kvantitativním převedením do 10 cm³ odměrné baňky a doplněním po rysku.

4.5.3 Měření v pufru o pH 6,83



- Roztok ligandu (1) byl připraven rozpuštěním 1,163 mg (1,6102 mM) v pufru o objemu 1,5 cm³.
- Roztok β-CD byl připraven rozpuštěním 1,807 mg (0,1592 mM) v pufru, kvantitativním převedením do 10 cm³ odměrné baňky a doplněním po rysku.



- Roztok ligandu (2) byl připraven rozpuštěním 3,160 mg (3,9631 mM) v pufru o objemu 1,5 cm³.
- Roztok β-CD byl připraven rozpuštěním 4,546 mg (0,4005 mM) v pufru, kvantitativním převedením do 10 cm³ odměrné baňky a doplněním po rysku.

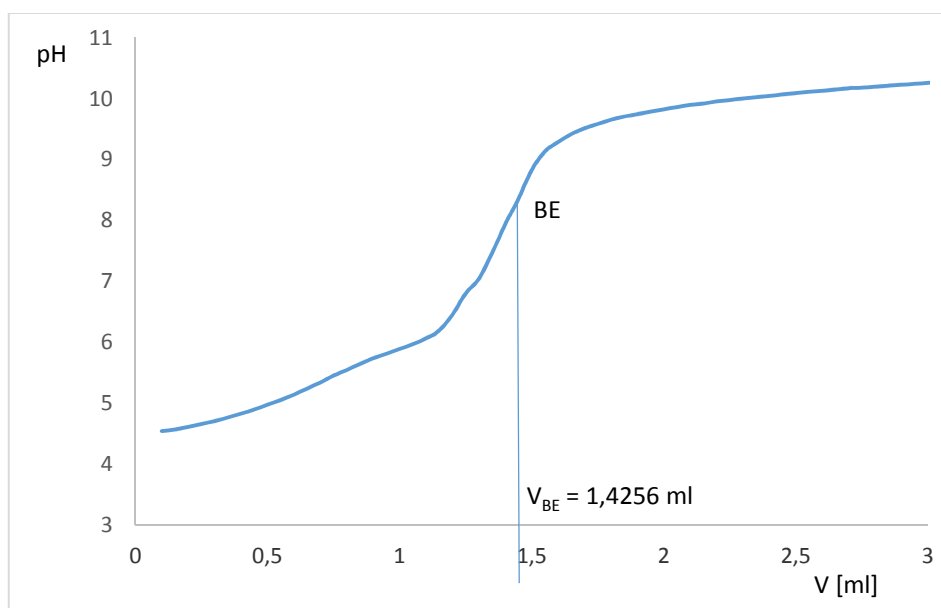
5 DISKUZE A VÝSLEDKY

5.1 Stanovení hodnot pK ligandů 1 a 2

Cílem této práce bylo změřit vazebné konstanty pomocí isothermální titrace v závislosti na stavu karboxylové skupiny ligandu 1 a 2, tedy zda se karboxylová skupina nachází v protonované, či deprotonované formě. Z tohoto důvodu bylo nezbytně nutné nejprve stanovit pK – disociační konstantu obou ligandů, a dle této hodnoty zvolit pufrů o takovém pH, při kterém se ligandy vyskytují pod (protonovaná forma) a nad hodnotou pK (deprotonovaná forma). Pro toto stanovení byla použita potenciometrická titrace na automatickém titrátoru – Mettler Toledo T50 viz výše.

Jako odměrný roztok byla použita silná zásada – 1 mM KOH.

- Stanovení pK pro ligand (1)



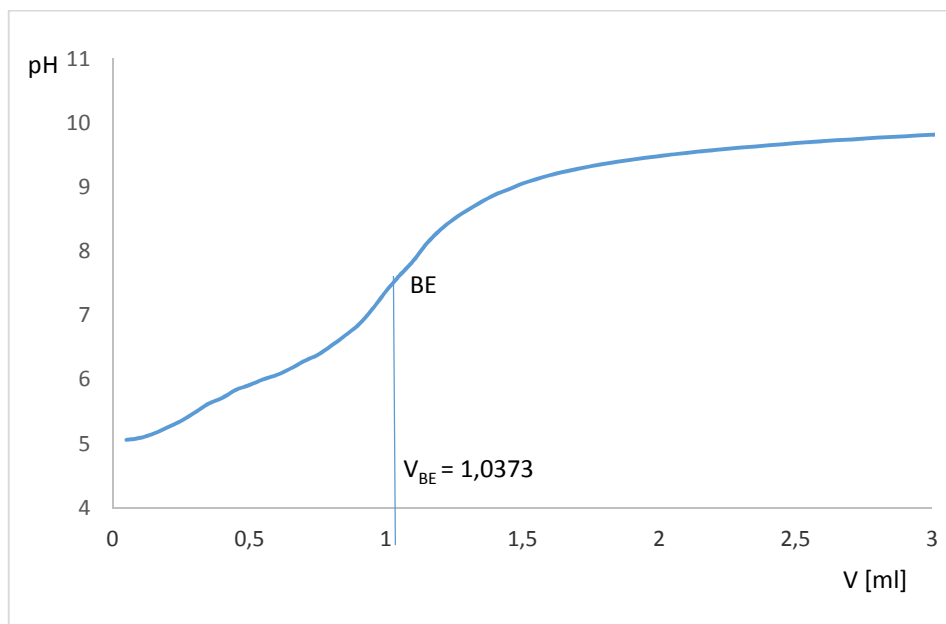
Obrázek 11: závislost pH na objemu odměrného roztoku KOH pro ligand (1)

Titrátor automaticky vyhodnotil pomocí první a druhé derivace bod ekvivalence, tedy bod, při kterém je přidané látkové množství KOH rovno látkovému množství ligandu (1). Bod ekvivalence BE je zaznačen v grafu závislosti přidaného objemu KOH k roztoku ligandu o koncentraci 0,4 mM, viz Obrázek 11.

Disociační konstanta pK je rovna pH při spotřebě $\frac{1}{2}$ objemu spotřebovaného KOH v bodě ekvivalence.

Z parametrů titrační křivky a znalosti $\frac{1}{2}$ objemu v BE byla stanovena hodnota pK pro ligand 1 na hodnotu 5,38.

- **Stanovení pK pro ligand (2)**



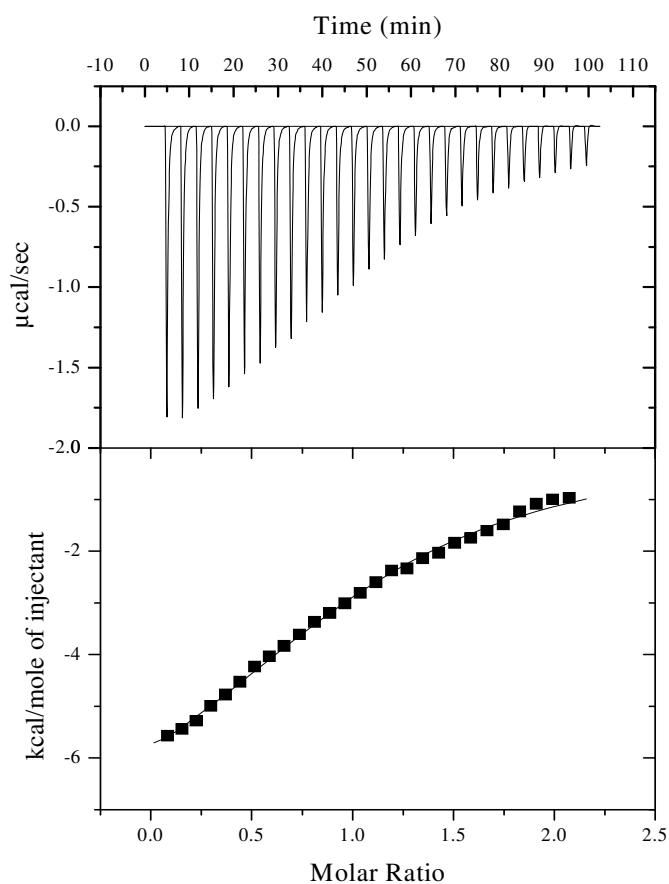
Obrázek 12: závislost pH na objemu odměrného roztoku $NaOH$ pro ligand (2)

Stejně jako pro ligand 1 byla vyhodnocena disociační konstanta pro ligand 2. Závislost přidávaného objemu roztoku KOH k roztoku ligandu 2 o koncentraci 0,5 mM je uvedeno na Obrázku 12.

Z parametrů části titrační křivky a znalosti $\frac{1}{2}$ objemu v BE byla stanovena hodnota pK pro ligand 2 na 5,94.

5.2 Supramolekulární komplexy β -CD s imidazoliovou solí (I)

- Měření v H_2O



Obrázek 13: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v H_2O

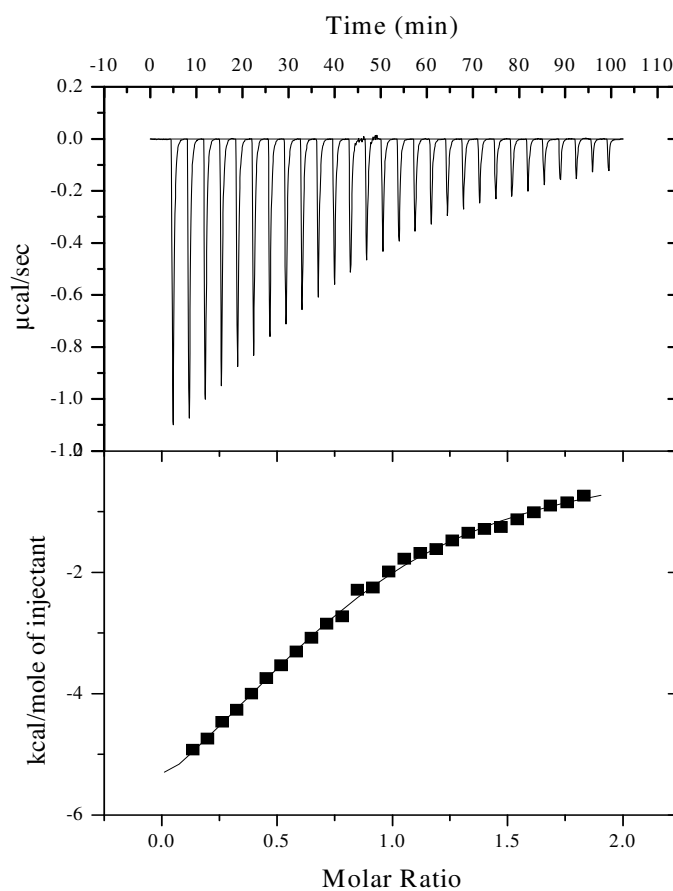
Tabulka 3: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v H_2O

n	1,07
K [M^{-1}]	$2,74 \cdot 10^4$
ΔH [$kJ \cdot mol^{-1}$]	-34,33
ΔS [$kJ \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$]	-0,028

Závislost uvolňovaného tepla při jednotlivých přidavcích ligandu 1 do roztoku makromolekuly β -CD je uvedena v horní části *Obrázku 13*.

V dolní části *Obrázku 13* jsou znázorněny body získané integrací obalových křivek maximálních hodnot uvolněných tepel pro jednotlivé přídavky ligandu do roztoku β -CD. Těmito body je proložena teoretická titrační křivka odpovídající matematickému modelu „One Set of Sites“. Z parametrů této křivky byly vyhodnoceny parametry n , K , ΔH a ΔS , které jsou uvedeny v *Tabulce 3*.

- Měření v pufru o pH 3,96

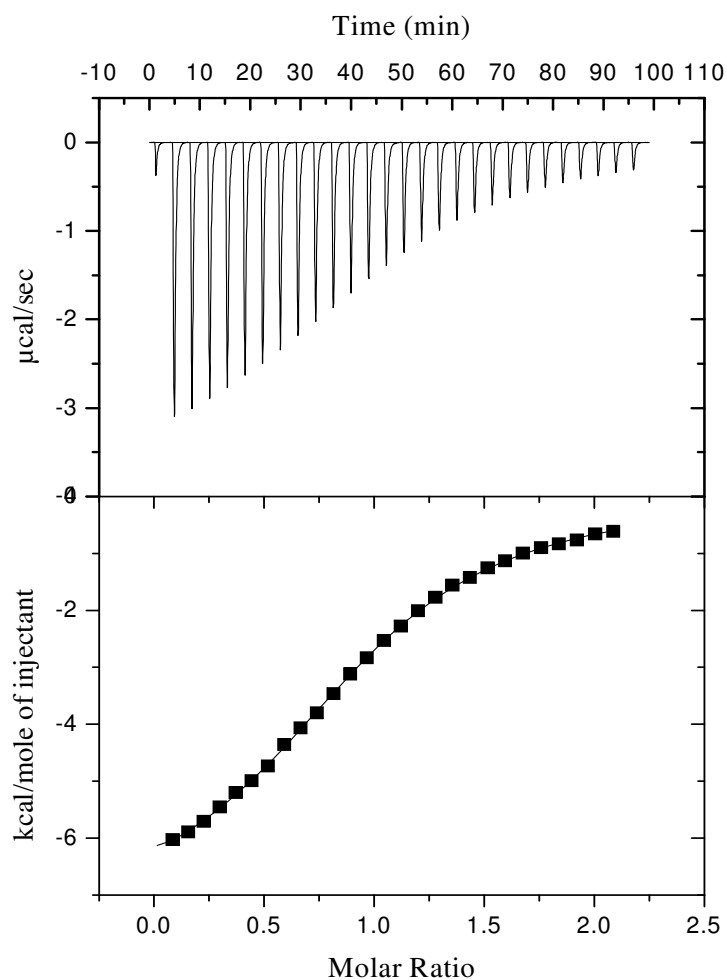


Obrázek 14: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 3,96

Tabulka 4: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 3,96

n	0,796
$K [M^{-1}]$	$3,10 \cdot 10^4$
$\Delta H [kJ.mol^{-1}]$	-32,95
$\Delta S [kJ.mol^{-1}.K^{-1}]$	-0,023

- Měření v pufru o pH 6,83



Obrázek 15: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 6,83

Tabulka 5: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 6,83

n	0,948
K [M^{-1}]	$3,20 \cdot 10^4$
ΔH [$kJ \cdot mol^{-1}$]	-31,07
ΔS [$kJ \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$]	-0,016

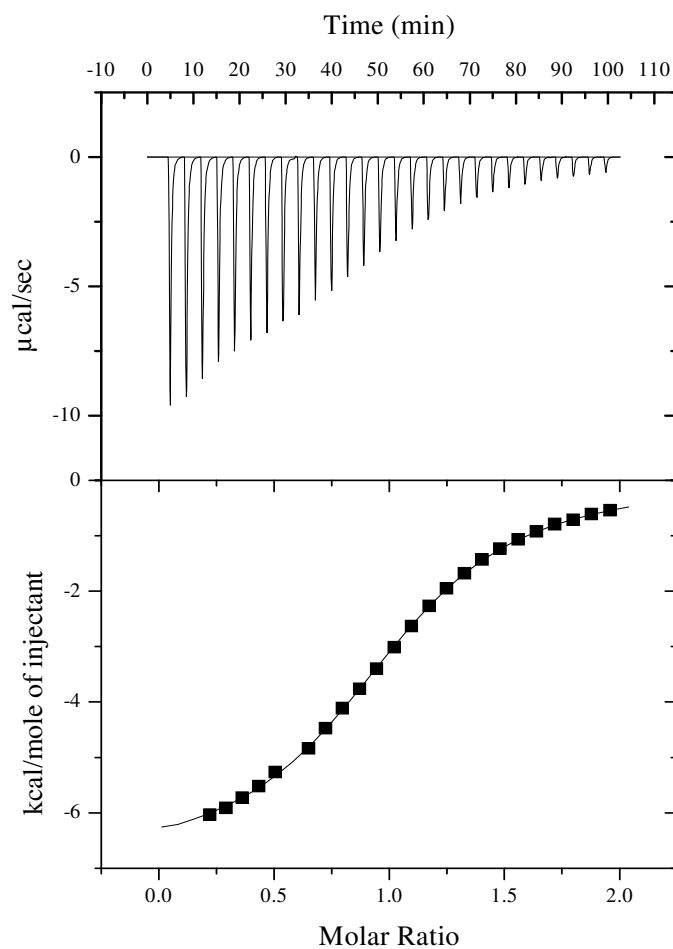
Tabulka 6: Shrnutí výsledků měření v různých prostředích pro ligand (1)

prostředí	n	K [M ⁻¹]	-ΔH [kJ.mol ⁻¹]	-ΔS [kJ.mol ⁻¹ .K ⁻¹]
H ₂ O	1,07	2,74·10 ⁴	34,33	0,028
pH 3,96	0,796	3,10·10 ⁴	32,95	0,023
pH 6,83	0,948	3,20·10 ⁴	31,07	0,016

Jak je z *Tabulky 6* zřejmé, vazebné konstanty a změny entalpií se pro jednotlivá prostředí nijak významně neliší. Nejvyšší vazebná konstanta ligandu *I* a β-CD byla naměřena v pufru o pH 6,83 a tedy v tomto prostředí by měl být komplex obou sloučenin nejstabilnější. Nejnížší vazebná konstanta byla naměřena v destilované H₂O. Z těchto výsledků je také zřejmé, že není velký rozdíl mezi hodnotami vazebných konstant ligandu *I* v naprotonované a deprotonované formě.

5.3 Supramolekulární komplexy β -CD s benzimidazoliovou solí (2)

- Měření v H_2O

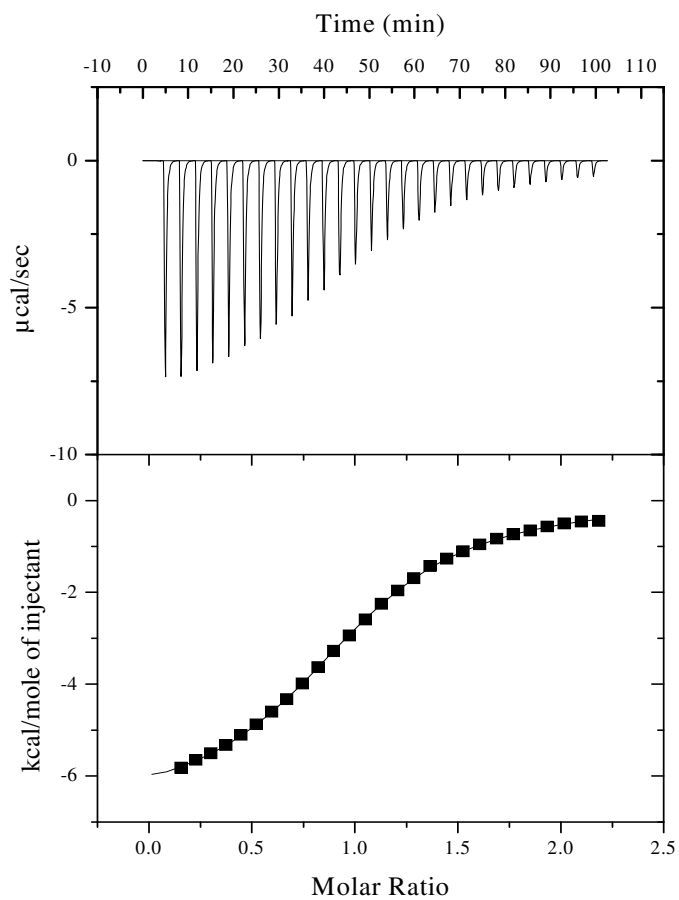


Obrázek 16: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v H_2O

Tabulka 7: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v H_2O

n	1,02
K [M^{-1}]	$2,46 \cdot 10^4$
ΔH [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$]	-28,81
ΔS [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]	-0,011

- Měření v pufru o pH 3,96

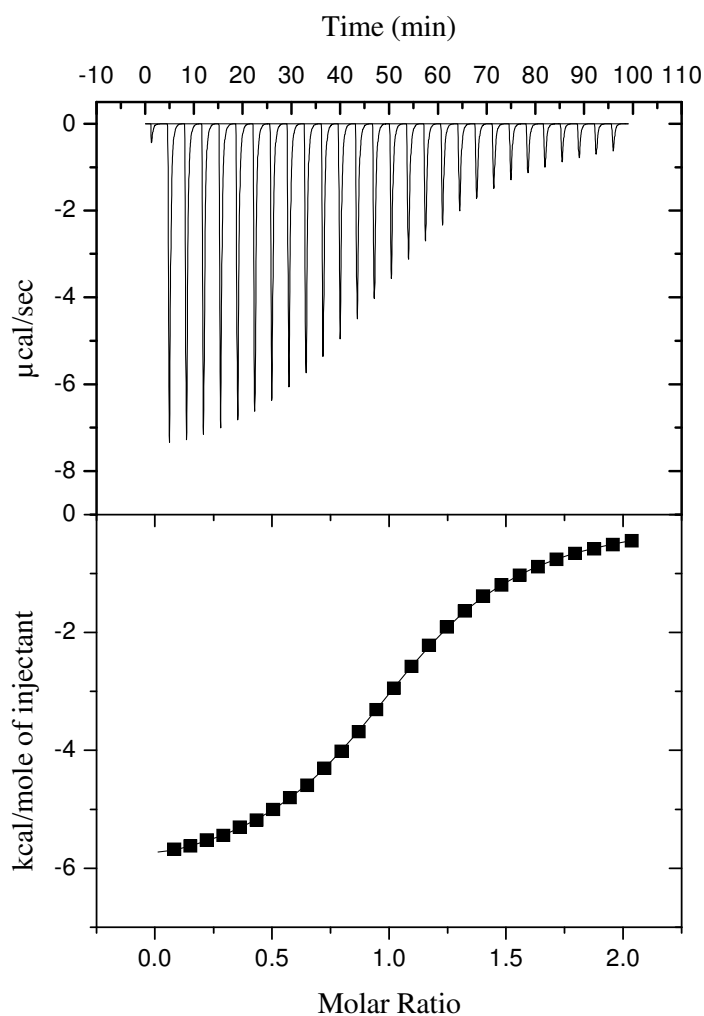


Obrázek 17: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 3,96

Tabulka 8: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 3,96

n	0,992
K [M^{-1}]	$2,07 \cdot 10^4$
ΔH [$kJ \cdot mol^{-1}$]	-28,11
ΔS [$kJ \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$]	-0,01

- Měření v pufru o pH 6,83



Obrázek 18: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 6,83

Tabulka 9: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 6,83

n	1,06
K [M^{-1}]	$2,84 \cdot 10^4$
ΔH [$kJ \cdot mol^{-1}$]	-25,98
ΔS [$kJ \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$]	$-4,52 \cdot 10^{-4}$

Tabulka 10: Shrnutí výsledků měření v různých prostředích pro ligand (2)

prostředí	n	K [M ⁻¹]	-ΔH [kJ.mol ⁻¹]	-ΔS [kJ.mol ⁻¹ .K ⁻¹]
H ₂ O	1,02	2,46·10 ⁴	28,81	0,011
pH 3,96	0,992	2,07·10 ⁴	28,11	0,01
pH 6,83	1,06	2,84·10 ⁴	25,98	4,52·10 ⁻⁴

Výsledky měření termodynamických konstant pro ligand 2 jsou shrnuty v *Tabulce 10*. Stejně jako pro ligand 1, výsledky termodynamických parametrů se nijak významně neliší. Také pro ligand 2 vyšel nejstabilnější komplex s β-CD při pH nad bodem pK, tj. pro komplex kyseliny v její deprotonované formě. Pro ligand 2 vyšel nejméně stabilní komplex s β-CD v kyselém prostředí, tj. při naprotonované formě ligandu.

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit a porovnat termodynamické parametry inkluzních komplexů β -CD s adamantylimidazoliiovými, resp. adamantylbenzimidazoliiovými ligandy. Konkrétně se jednalo o látky (1) 1-(10-karboxydecyl)-3-(adamantylmethyl)-1*H*-imidazol-3-ium bromid a (2) 1-(10-karboxydecyl)-3-(adamantylmethyl)-1*H*-benzimidazol-3-ium bromid. Tvorba komplexů byla sledována při pH prostředí 3,96, kdy se soli vyskytovaly v naprotonované formě a při pH prostředí 6,83 v deprotonované formě těchto solí. Pro porovnání bylo provedeno měření v destilované vodě.

Všechna měření byla prováděna pomocí isothermální titrační mikrokolorimetrie a byly získány hodnoty vazebných konstant, enthalpií a entropií pro látky (1) a (2) při pH 3,96 a 6,83 a v destilované vodě. Výsledky všech měření jsou zaznamenány v *Tabulkách 6 a 10*.

Z výsledků je patrné, že není velkých rozdílů mezi naměřenými hodnotami pro ligandy v naprotonované či deprotonované formě. Přesto nejvyšší vazebná konstanta $3,20 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ byla stanovena pro ligand 1, tedy pro imidazoliiovou sůl s β -CD při pH 6,83 v její deprotonované formě. Naopak nejnižší hodnota vazebné konstanty $2,07 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ byla stanovena pro benzimidazoliiovou sůl při pH 3,96 v její naprotonované formě.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ DODZIUK, H. *Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. ISBN 3-527-31280-3.
- ² LOFTSSON, T. *Cyclodextrins in skin delivery*. Faculty of Pharmacy, University of Iceland.
- ³ BUSCHMANN, H.-J., E. SCHOLLMAYER. *Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review*. Krefeld, Germany, 2002.
- ⁴ LOFTSSON, T., D. DUCHÊNE. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007. ISSN 0378-5173.
- ⁵ AUTOR NEUVEDEN. *Stránka neuvedena* [online]. [cit. 2017-05-09]. Dostupný na WWW: http://unam.bilkent.edu.tr/%7Euyar/images/Research_fig2.png
- ⁶ AUTOR NEUVEDEN. *Stránka neuvedena* [online]. [cit. 2017-05-09]. Dostupný na WWW: http://www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de/di-sido_cy/cyen/info/04_wirtgast_cy.htm
- ⁷ *Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics, and Biomedicine: Current and future industrial applications* [online]. John Wiley, 2011 [cit. 2016-12-11]. ISBN 9780470926819.
- ⁸ MARTÍN, V. I., F. J. OSTOS, M. ANGULO, A. M. MÁRQUEZ, P. LÓPEZ-CORNEJO, M. LÓPEZ-LÓPEZ, A. T. CARMONA, M. L. MOYÁ. Host-guest interactions between cyclodextrins and surfactants with functional groups at the end of the hydrophobic tail. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2017, (491), 336-348. ISSN 0021-9797.
- ⁹ LAZA-KNOERR, A.L., R. GREF, P. COUVREUR. Cyclodextrins for drug delivery. *Journal of Drug Targeting*. 2010. ISSN 1061-186X.

- ¹⁰ ASTRAY, G., C. GONZALEZ-BARREIRO, J.C. MEJUTO, R. RIAL-OTERO, J. SIMAL-GÁNDARA. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*. Elsevier, 2009. ISSN 0268-005X.
- ¹¹ SZEJTLI, J. Cyclodextrins in the Textile Industry. *Starch/Stärke*. 2003. ISSN 0038-9056.
- ¹² AZUM, N., M. A. RUB, A. M. ASIRI, W. A. BAWAZEER. Micellar and interfacial properties of amphiphilic drug–non-ionic surfactants mixed systems: Surface tension, fluorescence and UV–vis studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Elsevier, 2017. ISSN 0927-7757.
- ¹³ ZHAO, W., Y. WANG. Coacervation with surfactants: From single-chain surfactants to gemini surfactants. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2017. ISSN 0001-8686.
- ¹⁴ SEDLAŘÍKOVÁ, J. *Chemie a technologie tenzidů II* [elektronická skripta]. [cit. 2017-05-09]. Po bezplatné registraci a přihlášení je plný text dostupný z: <http://kosmetika.ft.utb.cz/Services/Downloader.ashx?id=134&disposition=inline>
- ¹⁵ ŠMIDRKAL, J. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy*. 1999, roč. 93, s. 421–427.
- ¹⁶ AUTOR NEUVEDEN. *E-ChemBook* [online]. [cit. 2017-05-09]. Dostupný na WWW: <http://e-chembook.eu/lipidy>
- ¹⁷ MANSOORI, G., P. L. B. de ARAUJO, E. S. de ARAUJO. Diamondoid molecules: with applications in biomedicine, materials science, nanotechnology. 2012, s. 408. ISBN 98-142-9160-9.
- ¹⁸ GUO, J. W., X. ZHONG, H. ZHU, L. J. FENG, Y. D. CUI. Synthesis of novel quaternary ammonium surfactants containing adamantane. *Chinese Chemical Letters*. 2012. ISSN 1001-8417.
- ¹⁹ ZHONG, X., J. GUO, S. FU, D. ZHU, J. PENG. Synthesis, Surface Property and Antimicrobial Activity of Cationic Gemini Surfactants Containing

- Adamantane and Amide Groups. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2014.
- ²⁰ VÍCHA, R., a kol. Kde roste adamantan. *Chemické listy*. 2004, roč.98, s.68–74.
- ²¹ TRÍSKA, J. 80 let od objevu adamantanu. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2012, roč. 106, s. 991–1014.
- ²² BHATNAGAR, A., P. SHARMA, N. KUMAR. A Review on “Imidazoles”: Their Chemistry and Pharmacological Potentials. *International Journal of Pharm-Tech Research*. 2011, roč. 3, č. 1, s. 268–282.
- ²³ VERMA, A., S. JOSHI, D. SINGH. Imidazole: Having Versatile Biological Activities. *Journal of Chemistry*. 2013.
- ²⁴ SHAH, K., S. CHHABRA, S. K. SHRIVASTAVA, P. MISHRA. Benzimidazole: a promising pharmacophore. *Medicinal Chemistry Research*. 2013.
- ²⁵ BOU-ABDALLAH, F. Microcalorimetry in the BioSciences—Principles and applications. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2016. ISSN 0304-4165.
- ²⁶ MIRAGLIA, D. B., J. L. RODRÍGUEZ, R. M. MINARDI, P. C. SCHULZ. Critical Micelle Concentration and HLB of the Sodium Oleate-Hexadecyltrimethylammonium Bromide Mixed System. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2011.
- ²⁷ BLAŽEJ, A., a kol. *Tensidy*. Bratislava: Alfa, 1977. s. 481.
- ²⁸ CONNORS, K. A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.* 1997, (97), 1325–1357.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CD	cyklodextrin
GI	gastrointestinální trakt
ITC	isotermální titrační mikrokolorimetrie
n	reakční stechiometrie
K	vazebná konstanta
ΔH	enthalpie
ΔS	entropie
ΔG	Gibbsova volná energie
PAL	povrchově aktivní látka
HLB	hydrofilně-lipofilní rovnováha
CMC	kritická micelární koncentrace
pKa	záporný dekadický logaritmus disociační konstanty
pK	disociační konstanta
BE	bod ekvivalence
KOH	hydroxid draselný

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Tři nejčastější typy CD.....	13
Obrázek 2: Schéma tvorby komplexu mezi CD a benzylalkoholem	14
Obrázek 3: Struktura PAL (vpravo), struktura micel (vlevo).....	22
Obrázek 4: Struktura adamantanu.....	23
Obrázek 5: 5a – 1-methyladamantan, 5b – 1-ethyladamantan, 5c – diamantan	24
Obrázek 6: Struktura imidazolu.....	25
Obrázek 7: Struktura histidinu.....	26
Obrázek 8: Struktura benzimidazolu	27
Obrázek 9: Strukturní vzorec ligandu (1)	31
Obrázek 10: Strukturní vzorec ligandu (2)	32
Obrázek 11: závislost pH na objemu odměrného roztoku KOH pro ligand (1)	36
Obrázek 12: závislost pH na objemu odměrného roztoku NaOH pro ligand (2)	37
Obrázek 13: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v H_2O	38
Obrázek 14: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 3,96.....	39
Obrázek 15: Záznam ITC měření pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 6,83.....	40
Obrázek 16: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v H_2O	42
Obrázek 17: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 3,96.....	43
Obrázek 18: Záznam ITC měření pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 6,83.....	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vybrané vlastnosti α -CD, β -CD a γ -CD, při pokojové teplotě	13
Tabulka 2: Hodnoty HLB aplikačních skupin PAL.....	22
Tabulka 3: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v H ₂ O.....	38
Tabulka 4: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 3,96	39
Tabulka 5: Termodynamické parametry pro ligand 1 a β -CD v pufru o pH 6,83	40
Tabulka 6: Shrnutí výsledků měření v různých prostředích pro ligand (1)	41
Tabulka 7: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v H ₂ O.....	42
Tabulka 8: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 3,96	43
Tabulka 9: Termodynamické parametry pro ligand 2 a β -CD v pufru o pH 6,83	44
Tabulka 10: Shrnutí výsledků měření v různých prostředích pro ligand (2)	45

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Isotermální titrační mikrokalorimetr

Příloha 2: ThermoVac

Příloha 3: Automatický titrátor

PŘÍLOHA 1: ISOTERMÁLNÍ TITRAČNÍ MIKROKALORIMETR



PŘÍLOHA 2: THERMOVAC



PŘÍLOHA 3: AUTOMATICKÝ TITRÁTOR

