

**XIII. Erdélyi Tudományos Diákköri Konferencia – Kolozsvár,  
2010. Május 14-16.**

**Kolozsvári “Babeş-Bolyai” Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki Kar  
Szerves Anyagok Kémiája és Technológiája, Kőolaj- és Karbokémia szak  
IV. év**

**Táplálékkiegészítőkben használt Ciklodextrin zárványkomplexek  
előállítására és vizsgálata**

**Szerzők: Erdei Gyula és Ferencz Zsolt**

Vezető tanárok:

**Dr. Rácz Csaba, asszisztens**

**Dr. Csavdári Alexandra, docens**

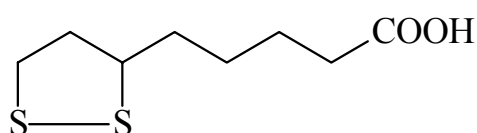
## 1. Bevezető:

Manapság egyre nagyobb teret hódít a piacon és a közérdeklődésben a táplálék kiegészítők családja. A rengeteg természetben fellelhető étrend kiegészítőben alkalmazható hatóanyag közül, az  $\alpha$ -Liponsav nevű antioxidánst, valamint a Lutein nevű karotenoidot vizsgáltuk.

A dolgozatunk célja, hogy előállítsuk a fent nevezett hatóanyagok Ciklodextrin komplexeit, vizsgáljuk a komplexek létrejöttét, és kiválasszuk az ipari termelésre legalkalmasabb előállítási módszert (a keletkezett anyag, könnyen kapszulázható legyen, megfelelő hatásfokkal keletkezzen az eljárás során, és optimális költség mellett történjen mindez). Mind a Lutein mind az  $\alpha$ -Liponsav esetében azért van szükség a Ciklodextrinnel való komplexszálásra, mivel sem a Lutein sem az  $\alpha$ -Liponsav nem oldódik vízben. Ciklodextrinnel való komplexálás útján a vendég molekulák bekapcsolódva a gazda Ciklodextrin molekulába egy olyan zárványkomplexet hoznak létre, amelyik már oldódik vízben, így szervezetbe juttatható.

Az  **$\alpha$ -Liponsav (LS)** egy ciklikus diszulfid, amely tartalmaz egy karboxilcsoportot, az antioxidánsok csoportjába tartozó vegyület, melyek alacsony koncentráció mellett is képesek inhibitoroként hatni az oxidatív folyamatokra <sup>[1]</sup>.

Az  $\alpha$ -Liponsav vagy tioktánsav, először 1951-ben volt izolálva, Red és munkatársai által. A következő összegképlettel rendelkezik:  $C_8H_{14}O_2S_2$ , molekulatömege, pedig 206. 33, op. 62 °C, fp. 165 °C. A szerkezetét az 1. Ábra mutatja be.

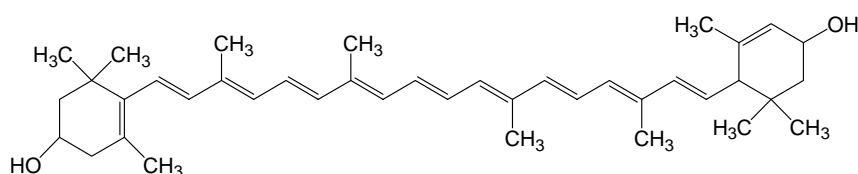


(1. Ábra)  $\alpha$ -Liponsav

Nagyon elterjedt az állat- és növény- világban, számos enzim reakcióban fellép, neutralizálja a szabad gyököket, regenerálja a **C-** és **E-** vitamint, szerepe van az energia felszabadításban, az emberi szervezetben lelassítja az öregedési folyamatokat.

A **Lutein (LU)** és ennek sztereo izomerje a Zeaxantin, a karotenoidok csoportjába, azon belül a xantofillek családjába tartozik. A növényekben a Luteinnek két fontos szerepe van, kiszűri és elnyeli a nagy energiájú kék fényt, illetve antioxidánsként hat, mely csillapítja

és semlegesíti a fény által indukált reaktív oxigén típusokat. A szerkezeti képletét a 2. Ábra mutatja be.



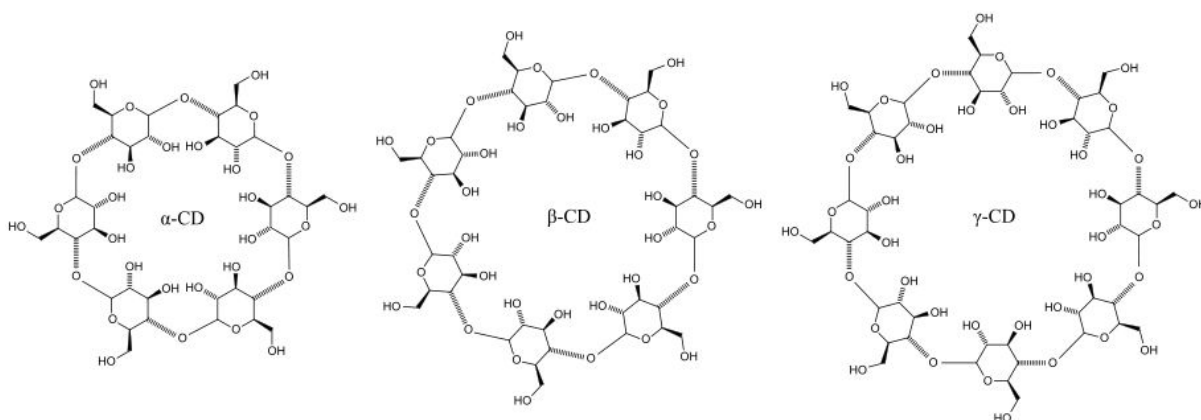
(2. ábra) Lutein

A többi karotenoidhez viszonyítva azért különleges a Lutein és a Zeaxantin mivel ezek az egyedüli karotenoidok melyek megtalálhatók a szemben lévő specifikus szövetekben.

Mivel a Luteint az emberi szervezet nem képes előállítani, ezért a mindennapi táplálékon keresztül tudjuk bevinni a szervezetünkbe. A természetben megtalálható a sötét, leveles zöldségekben, mint a spenót, kelkáposzta.

A Lutein és a zeaxantin a kémiai felépítésének köszönhetően (mely a  $\beta$ -karoténtól két  $-OH$  csoportban különbözik) nem oldódik vízben, így a szervezetbe a tiszta Lutein nem tud bejutni. Azért hogy ezt a hiányosságot áthidaljuk, a Ciklodextrinnekkel való zárványkomplex képzéshez fordultunk. A zárványkomplex képzés a Ciklodextrin egyik fő tulajdonsága [2].

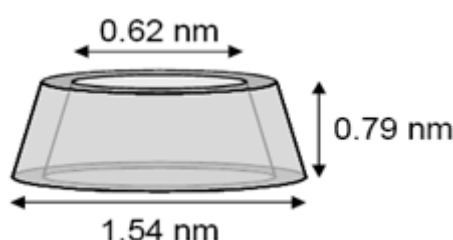
$\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - Ciklodextrinek ciklikus oligoszaharidok amelyek 6, 7 vagy 8 glükóz egységből állnak, amelyet keményítőből állítanak elő. Ezek az anyagok képesek zárványkomplexeket létrehozni kisebb molekulákkal. Mivel a Ciklodextrinek gyűrűs molekulák, ezért a gyűrű belsejében egy üreg található. Ennek az üregnek a mérete, a Ciklodextrin típusától függően 5-8 Å között mozoghat. Ebben az üregben „elférő” molekulákkal a Ciklodextrin képes zárványkomplexeket kialakítani. A szerkezetet a 3. Ábra mutatja be.



(3. Ábra)  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - Ciklodextrin

A Ciklodextrint elő lehet állítani a keményítő enzimatis lebonatásával. A molekula egy lineáris poliszaharid lánc, amely  $\alpha$  kapcsoláos glükóz, egységek melyek egy balmenetes csavarhoz hasonlóan helyezkednek el és menetenként 6 glükóz egységet tartalmaznak. Mivel az enzimek a hélixet sohasem tagolják meghatározott méretűre így a nyert ciklodextrinek 6-12 glükózegységet tartalmazhatnak gyűrűnként. A fő frakció az  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  Ciklodextrinek, amelyek 6, 7 illetve 8 glükóz egységet tartalmaznak. (lásd 3.Ábra).

A legfigyelemreméltóbb tulajdonsága a  $\beta$ -Ciklodextrinnek ( $\beta$ -CD) az, hogy képes zárványkomplexekeket kialakítani nagyon sokféle molekulával, a molekulák egyetlen feltételnek kell eleget tegyenek, hogy teljesen vagy legalább részlegesen beférjenek a  $\beta$ -CD üregébe. A 4. Ábra szemlélteti a  $\beta$ -Ciklodextrin üreges szerkezetét.



(4. Ábra)  $\beta$ -Ciklodextrin

A Ciklodextrinnel való zárványkomplex képzésnek az a nagy előnye, hogy, mivel a ciklodextrin külső felülete hidrofil, és a belső felülete hidrofób, a hidrofób csoport megkötődhet a hidrofób üregben, és így a komplex már oldható lesz a hidrofil külső résznek köszönhetően. A másik nagy előnye, hogy a komplexben maximum van der Waals erősségű kötések alakulnak ki. Ezek a kötések könnyen alakulnak és bomlanak fel, ezzel ideálisan viselkednek, ahhoz, hogy hordozóanyagként lehessen őket használni.<sup>[3,4]</sup>

## **2. Kísérleti rész**

### **2.1. A Komplexek előállítása**

A  $\beta$ -Ciklodextrin- $\alpha$ -Liponsav,  $\beta$ -Ciklodextrin-Lutein zárványkomplexekeket több előállítási módszerrel állítottuk elő. Erre azért volt szükségünk, hogy vizsgálni tudjuk az előállítási módszerek közötti különbséget annak érdekében, hogy termék minőségi es gazdasági szempontból ki tudjuk választani az optimálist vagyis a termék állagának szempontjából könnyen kapszulázható finom port kapjunk, magas hatásfok mellett minimális oldószer és anyag veszteséggel.

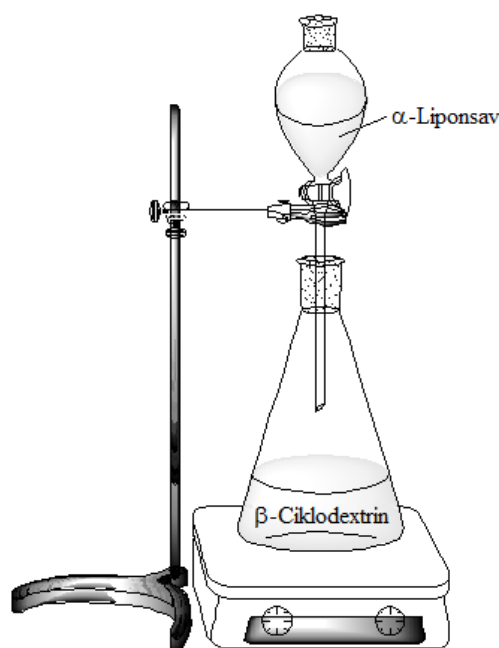
Három különböző módszert használtunk az előállításra:

- a. Komplexképzés szuszpenzióban;
- b. Komplexképzés együttkristályosítással;
- c. Komplexképzés liofilizálással.

Az eljárások során 200-400 g mennyiségekkel dolgoztunk annak érdekében, hogy tanulmányozzuk a komplex képződés minden tulajdonságát, valamint viszonyításként az iparba való átvitelhez.

A kísérletek során felhasznált reagenseket és oldószereket ( $\alpha$ -Liponsav, Lutein,  $\beta$ -Ciklodextrin, Tetrahidrofurán) a Sigma-Aldrich<sup>®</sup> cégtől vásároltuk, és további tisztítás nélkül használtuk. A felhasznált víz, kétszer desztillált víz, az alkohol 96%-os etil alkohol volt.

**a. Komplexképzés szuszpenzióban:** A szuszpenziós előállítás alapelve az, hogy a két alapanyagot külön-külön feloldjuk majd csepegtetéssel a  $\beta$ -Ciklodextrinhez adagoljuk az  $\alpha$ -Liponsavat. Az általunk összeállított berendezést a 5. Ábra mutatja be.



(5. Ábra) Komplexképzés szuszpenzióban

A komplexképzést 1:1 mol arányba végeztük el. 200g  $\beta$ -Ciklodextrint egy Erlenmeyer lombikba szobahőmérsékleten 5.3 l kétszer desztillált víz és 96%-os etil alkohol 70:30%-os arányban feloldottunk. Ezzel párhuzamosan egy csepegtető tölcsérbe 36.29g  $\alpha$ -Liponsavat 160ml 96%-os etil alkoholban szintén feloldottunk. A komplex képződés egy lassú folyamat, és, hogy a  $\alpha$ -Liponsav ki ne csapódjon a vizes oldatba ezért lassú csepegtetéssel adagoltuk. A komplex képződés teljes időtartama alatt mágneses keverőn kevertük az oldatot, (iparban ennél hatékonyabb keverésre van szükség mivel, ahogy képződik, a komplex egyre

nehezebben megy a keverés). A komplexállódás 24 óra alatt játszódik le. Ezek után vákuum szűrőn leszűrtük a már kicsapódott komplexet és szárítószekrénybe 60°C fokon 1 napig szárítottuk. A szűrletet pedig 0-5°C fok között tartottuk 1 napig fénytől elzárva. Majd ismét leszűrtük és a csapadékot szárítottuk.

A Lutein esetében is hasonló az eljárás és a berendezésen sem változtattunk, ugyan azzal a módszerrel kísérleteztünk, mint az  $\alpha$ -Liponsav esetében. A komplexképzést 1:1 mol arányba végeztük, 3.628g  $\beta$ -Ciklodextrint feloldottunk 80ml kétszer desztillált vízben, míg a csepegtető tölcserbe 1g Lutein oldottunk 20ml tetrahidrofuranba. A reakció megkezdését követően észleltük, hogy a Lutein kicsapódik abban a pillanatban, ahogy a vizes közeggel érintkezik. Ezért ezt a módszert nem tudtuk véghezvinni.

### **b. Komplexképzés együtkristályosítással:**

A komplexképzést ebben az esetben is 1:1 mol arányba végeztük el: 400g  $\beta$ -Ciklodextrint egy porcelán mozsárba helyeztünk ehhez 160ml kétszer desztillált vizet és 20ml 96%-os etil alkohol tettünk. Ezt a sűrű masszát megpróbáltuk simára keverni, hogy homogén legyen. A  $\beta$ -Ciklodextrinhez nem adtunk annyi folyadékot, hogy feloldódjon épp csak annyit, hogy benedvesedjen. Közben egy merőpohárba 72.58g  $\alpha$ -Liponsavat feloldottunk 195ml 96%-os etil alkoholban. Vigyáztunk arra, hogy épp annyi alkoholt adagoljunk az  $\alpha$ -Liponsav hoz, amennyire szükség van a teljes oldódáshoz. Miután elkészült az oldat folyamatos adagolással hozzátöltöttük a  $\beta$ -Ciklodextrines masszához. Miután az anyag homogénné vált szárítószekrénybe és 60°C fokon két napig szárítottuk.

Ennél a módszernél is követtük a Lutein esetében is az  $\alpha$ -Liponsavval bevált módszert. A mol arány 1:1, 10.884g  $\beta$ -Ciklodextrin amit mozsárba kimértünk majd megnedvesítettük 5ml kétszer desztillált vízzel. Majd a 4.5g Luteint feloldottuk 45ml tetrahidrofuranban és 5ml-ként adagoltuk a mozsárba lévő  $\beta$ -Ciklodextrinhez. Szárító szekrénybe 40°C fokon egy napig szárítottuk.

**c. Komplexképzés liofilizálással:** Az anyagot megfagyasztják, és -55°C hőmérsékleten tartják. E körülmények között csak szublimáció megy végbe. A folyamat során nagy vákuumot, 0.01mbar, alkalmaznak a megfagyott folyadék elszublimáltatására. A liofilizálás lehetővé teszi, hogy az oldószer a lehető legkisebb károsodást okozva távozzon. Fontos, hogy ne okozzon kárt a termékünkben, ne oldja vagy bontsa az anyagot.

Az eljárás teljes egészében ugyan az, mint a szuszpenziós módszer mindkét hatóanyag esetében csak azzal a különbséggel, hogy kis mennyiségekkel dolgoztunk ezért nem volt

szükség csepegtetésre és a 24 órás komplex képzésre sem. Az oldatok elkészítése után rögtön megfagyasztottuk őket.

## **2.2. Komplex vizsgálata**

### **2.2.1. Infravörös spektroszkópia**

A mérések elvégzése során szilárd fázisú IR spektroszkópiát használtunk a használt berendezés egy Jasco FT/IR 6100. A referenciánk ebben az esetben KBr pasztilla volt. A mintát minden esetben KBr-al mozsaráltuk össze, és azután készítettük el a pasztillákat.

### **2.2.2. Pásztázó kalorimetria:**

A méréseket egy Shimadzu DSC-60 típusú pásztázó kaloriméterrel végeztük állandó nyomáson, N<sub>2</sub> atmoszférában. A referencia anyagunk az Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> volt, és a hőmérsékletet szobahőmérsékletről emeltük 350°C-ig 10°C/perc sebességgel.

### **2.2.3. UV-VIS spektroszkópia**

A méréseket egy Jasco UV/VIS 630 spektrofotométeren végeztük 1 mM stock oldatot készítettünk 96%-os etil alkohollal, majd az 1. Táblázat szerinti koncentrációkkal 6 ml-es mintákat készítettünk. Majd ezeket vizsgáltuk a spektrofotométerben, hogy milyen koncentráció mellett milyen abszorbancia értékeket kapunk, 204 nm hullámhosszon. A mérések eredményeit az 1. Táblázat tartalmazza.

1. Táblázat Az  $\alpha$ -Liponsav abszorbancia értékei a koncentráció függvényében

No	[LS] (mM)	A <sub>204</sub>
1	0.075	0.429
2	0.1	0.478
3	0.15	0.478
4	0.2	0.629
5	0.3	0.678
6	0.4	0.795

Erre azért volt szükségünk mivel ki kellett választanunk egy koncentrációt, amivel a továbbiakban dolgoztunk. Fontos, hogy olyan értéket választanunk, amelynek az

abszorbanciája nem haladja meg az 1-et mivel a Lambert-Beer törvény 1-es abszorbancia felett nem állja meg a helyét.

Ezek alapján kiválasztottuk a 0,2m moláros Liponsav koncentrációt. Majd konstans Liponsav koncentráció mellett növeltük a Ciklodextrin koncentrációját a következő arányok szerint:

$[LS] / [\beta\text{-CD}] = 1/1, 1/2, 1/3, 1/5, 1/15, 1/20, 1/25, 1/30$ . Olyan 10ml oldatokat készítettünk ahol a koncentrációk megfelelnek az előbbieknek és az oldószerek pedig a Liponsav esetében 96%-os etil alkohol, míg a  $\beta\text{-CD}$  estében 30%-os etil alkoholos desztillált víz. A referencia ennek megfelelően etil alkohol és desztillált víz aránya. Az oldatokat szobahőmérsékleten 24h át kevertük, majd 1cm optikai úttal rendelkező quarz kuvettákban 190-450 nm tartományban vizsgáltuk.

A Lutein esetében is hasonló módon jártunk el, először megvizsgáltuk a különböző Lutein koncentrációk mellett az abszorbanciát, 203 nm hullámhosszon.

## 2. Táblázat A Lutein abszorbancia értékei a koncentráció függvényében

No	[Lu] (mM)	$A_{203}$
1	0.005	0.076
2	0.01	0.091
3	0.03	0.403
4	0.07	0.444
5	0.1	0.538

Ezek után konstans Lutein koncentráció, 0.07mM, mellett növeltük a Ciklodextrin koncentrációját, a következő arányok szerint:  $[Lu] / [\beta\text{-CD}] = 1/7.14, 1/14.28, 1/28.57, 1/57.14, 1/71.42, 1/85.71, 1/100$ . Ezeknek a koncentrációknak megfelelően 10ml oldatokat készítettünk. A Luteint tetrahidrofuránba (THF) oldottuk, míg a  $\beta\text{-CD}$ -t desztillált vízbe. Az oldatok elkészítése után szobahőmérsékleten 24h át kevertük majd elkészítettük az UV spektrumaikat 1cm optikai úttal rendelkező quarz kuvettákban 190-450nm tartományban. Referencia oldatként THF-t és desztillált vizet használtunk.



### **3. Eredmények:**

#### **3.1. Előállítási módszerek:**

##### **a. Komplexképzés szuszpenzióban:**

A szárítás után keletkezett  $\beta$ -Ciklodextrin- $\alpha$ -Liponsav komplex 143.71g direkt úton valamint 53.19g a szűrletbe kicsapódott komplex mennyisége. Összesen 196.9g  $\beta$ -Ciklodextrin- $\alpha$ -Liponsav komplexet állítottunk elő ezzel a módszerrel, ami egy 83.33%-os hatásfokot jelent. A kapott komplex egy finom porózus halványsárgás por. A képződés során észrevettük, hogy a keverés hatékonyabb kellene, hogy legyen, tehát iparban egy hatékonyabb (pl. anker típusú) keverőre lesz szükségünk, ami a keletkezett terméket nem engedi leülepedni.

A Lutein esetében nem beszélhetünk eredményről mivel a komplexképzés nem jött létre (a Lutein kicsapódik, ahogy a vizes közeggel érintkezik).

##### **b. Komplexképzés együttkristályosítással:**

Az előállítási módszer lényege, hogy minél kevesebb oldószert használjunk fel. Ez a módszer gazdasági szempontból keltette fel az érdeklődésünket. Ebben az előállítási módszerben is laboratóriumi léptékkal mérve nagy mennyiségekkel dolgoztunk szintén a módszer alkalmazásának vizsgálata érdekében.

Megfigyeltük, hogy az  $\alpha$ -Liponsavas oldat adagolása során egyre viszkózusabb és egyre nehezebben keverhető elegyet kaptunk. Majd ahogy a teljes oldott mennyiséget hozzáadtuk, folyamatos keverés mellett egyre finomabb lett a massa. Míg az elején egy cementhez hasonló viszkózus anyagot kevertünk addig a végére inkább majonézhez hasonlított.

A keletkezett termék álagát tekintve rossz minőségű göröngyös anyagot kaptunk, mely egyenlőtlen szemcseméretű. A felhasználásához még porítanunk, kell. Szárítás után a keletkezett mennyiség 441g, ami egy 93,3%-os hatásfokot eredményez.

Ez a folyamat időben is és oldószerben is sokkal gazdaságosabb az előbbi módszernél, viszont az anyag minősége szempontjából a szuszpenziós módszer az előnyösebb. Továbbá ipari szinten megvalósítva a komplexgyártást ezzel a folyamattal, még további mosófolyadék bevezetést igényel, ahhoz, hogy el tudjuk távolítani a keletkezett komplexet a golyósmalomból. Ha folyadékkal mossuk ki a komplexet, akkor be kell iktatni még egy szűrési lépést is, ahol olyan veszteségek lépnek fel, amelyekkel nem számoltunk

laboratóriumi körülmények között. Valamint a szűrletből is vissza kell nyerni az oldatban maradt komplexet, a már fent említett hűtési módszerrel.

Az a) és b) előállítási módszerekkel készült termékeket a 6. Ábra illusztrálja:



(6. Ábra) A  $\beta$ -Ciklodextrin,  $\alpha$ -Liponsav komplex

a) szuszpenziós előállítási módszer

b) együtkristályosítási módszer

A Lutein esetében is hasonlóképpen viselkedett az anyag: eleinte nehéz volt keverni a mozsárban, végül egy folyékonyabb elegyet kaptunk. Szárítás után az  $\alpha$ -Liponsavas komplexhez viszonyítva most egy sokkal finomabb kristályszerkezetű anyagot nyertünk. A szemcseméretük közel álltak egymáshoz valamint a komplex állaga finomabb, könnyen porlandó. Keletkezett 12.2g  $\beta$ -Ciklodextrin-Lutein komplex, ami egy 79.3% hatásfoknak felel meg. Mivel csak ezzel a módszerrel sikerült komplexet előállítanunk és a hatásfok, szemcseméret és a komplex állaga is megfelelőnek mondható ezért ezt javasoljuk ipari előállításra.

### c. **Komplekxképzés liofilizálással:**

Liofilizálás, avagy a fagyasztva szárítás (freeze-drying) az oldószernek vagy víznek a megfagyasztott anyagból való eltávolítására szolgáló eljárás. Ez az előállítási eljárás nagyban hasonlít a szuszpenziós eljárásra, azzal az egy különbséggel, hogy itt nincs szükség, szűrésre és szárításra valamint a 24h komplexállódási időt sem kell kivárni.

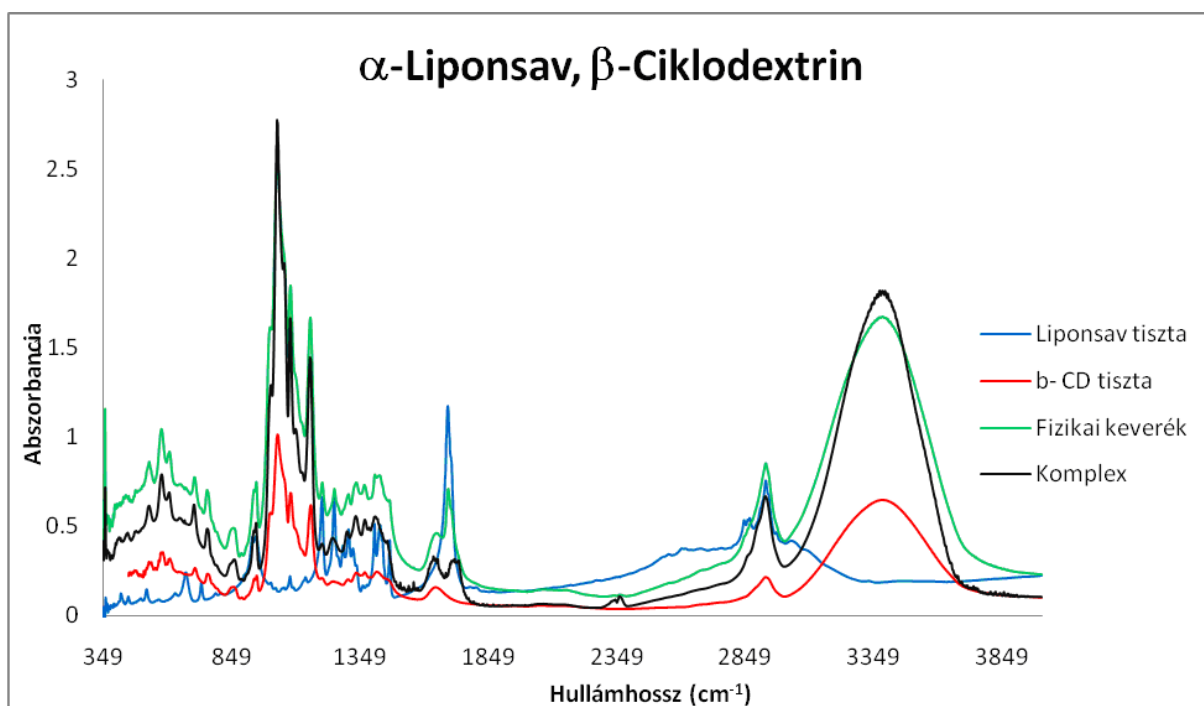
A berendezés hátránya az, hogy nagy energiát igényel a működtetése és ezért költséges, valamint hosszadalmas és körülményes módszer, például ha túl sok hőt közlünk a rendszerrel, a kezelt anyag szerkezete deformálódhat, a minta megolvadhat.

### 3.2. Vizsgálati módszerek kiértékelése

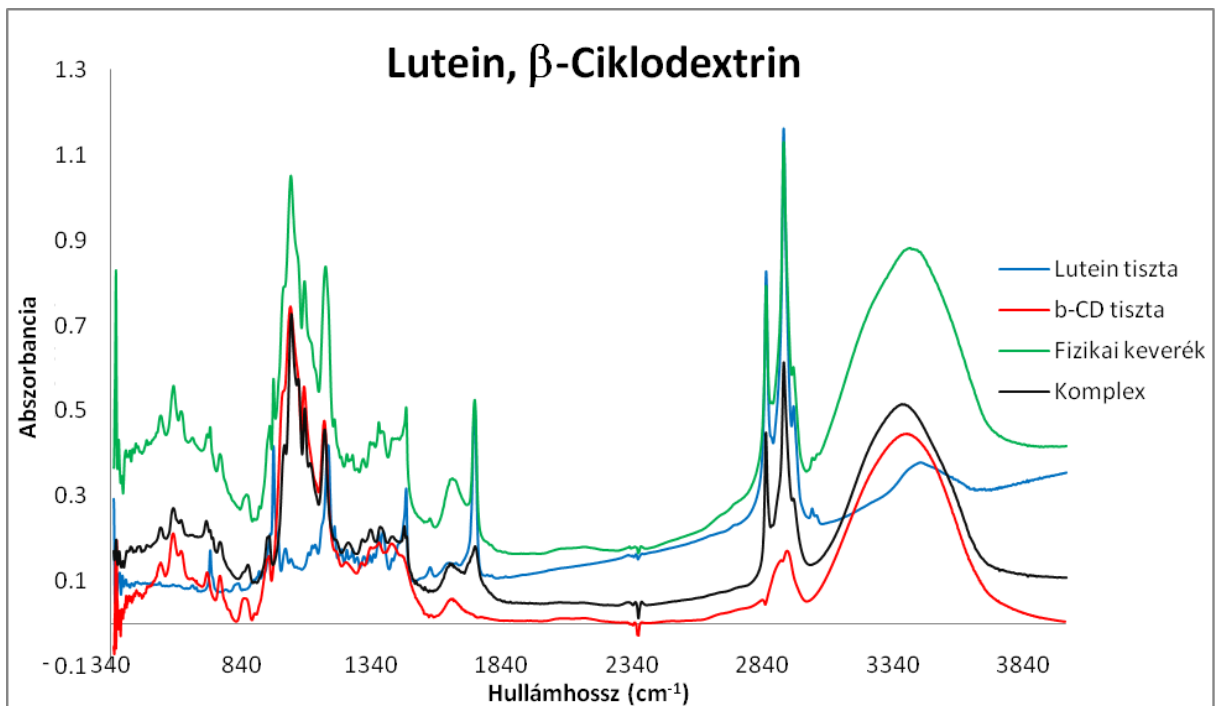
A komplexet előállítás után különböző vizsgálati módszereknek vetettük alá, annak érdekében, hogy megbizonyosodjunk a komplex létrejöttéről, valamint, hogy megállapítsuk a komplexálódási folyamat sztöchiometriáját. A komplex létrejöttét infravörös spektroszkópiával (IR), valamint pásztázó kalorimetriás (DSC) módszerrel vizsgáltuk, a sztöchiometria meghatározásához UV-VIS spektroszkópiát használtunk.

#### 3.2.1. Infravörös spektroszkópia

A komplex előállítás után, annak érdekében, hogy megbizonyosodjunk a komplex létrejöttéről, elvégeztük az infravörös spektroszkópiás méréseket. Mindkét komplex esetében, lemértük a tiszta anyagok-, az anyagok fizikai keverékének és a szuszpenziós eljárással előállított komplexeknek az IR spektrumát. Fizikai keveréken a két kiinduló anyag por formában való össze mozsarálásával keletkezett elegyet értjük. Ebben az esetben nem beszélünk oldószerekről, vagy 24 órás reakcióidőről, tulajdonképpen egy egyszerű keverékről van szó. A spektrumokat a 7.a, 7.b ábrákon mutatjuk be.



(7a. Ábra) A Liponsav,  $\beta$ -Ciklodextrin, Liponsav -  $\beta$ -Ciklodextrin fizikai keverék, Liponsav -  $\beta$ -Ciklodextrin komplex IR spektruma



(7a. Ábra) A Lutein,  $\beta$ -Ciklodextrin, Lutein -  $\beta$ -Ciklodextrin fizikai keverék, Lutein -  $\beta$ -Ciklodextrin komplex IR spektruma

A spektrumok kiértékelését azzal kezdtük, hogy a szakirodalom alapján kikerestük a tiszta anyagok jellemző csoportjainak rezgéseit.<sup>[5,6]</sup> A specifikus csoportok rezgéseinek beazonosítása után megvizsgáltuk, hogy a hatóanyag specifikus csoportjainak rezgése mennyire tolódott el a komplexekben, a tiszta állapothoz képest. Az eredményeinket a 3.a, és 3.b, Táblázatok tartalmazzák. A hordozó anyag rezgéseit nem foglaltuk a táblázatokba mivel, hogy a  $\beta$ -Ciklodextrin rezgéseit nem mérvadóak (a komplexált  $\beta$ -CD rezgéseit nem változtak a tiszta  $\beta$ -CD-hez képest).

3.a. Táblázat: Az  $\alpha$ -Liponsav és az  $\alpha$ -Liponsav- $\beta$ -Ciklodextrin komplex specifikus rezgéseinek hullámhossza

Anyag	Kötés típusok						
	-CH <sub>2</sub> (cm <sup>-1</sup> )	-CH <sub>2</sub> (gyűrűben) (cm <sup>-1</sup> )	-COOH (cm <sup>-1</sup> )	-CH (cm <sup>-1</sup> )	-CH <sub>2</sub> -S (cm <sup>-1</sup> )	-C-S (cm <sup>-1</sup> )	-S-S (cm <sup>-1</sup> )
$\alpha$ -LS	2927	1466	1692	1429	1405	673	450- 550
$\alpha$ -LS- $\beta$ -CD komplex	-	-	1718	-	-	-	-

3.b. Táblázat: A Lutein és a Lutein- $\beta$ -Ciklodextrin komplex specifikus rezgéseinek hullámhossza

Anyag	Kötés típusok					
	-OH ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gyűrű ( $\text{cm}^{-1}$ )	-CH <sub>3</sub> -C-CH <sub>3</sub> (gyűrűben) ( $\text{cm}^{-1}$ )	-C=CH <sub>2</sub> ( $\text{cm}^{-1}$ )	-CH <sub>3</sub> ( $\text{cm}^{-1}$ )	-C=CH <sub>2</sub> (szimmetrikus) ( $\text{cm}^{-1}$ )
LU	3451	1471	1172	720	2916	2850
LU- $\beta$ -CD komplex	3382	1464	1159	-	2918	2850

A 3.a. Táblázatban jól látszik, hogy a komplexben lévő  $\alpha$ -Liponsav specifikus csoportjainak rezgéseit, majdnem teljes mértékben leárnyékolja a  $\beta$ -Ciklodextrin spektruma. Ez arra enged következtetni, hogy az  $\alpha$ -Liponsav majdnem teljes egészében a  $\beta$ -Ciklodextrin belsejében található. A molekula egyetlen része mely nem található a  $\beta$ -Ciklodextrin üregében, az a sav csoport, viszont e csoportnak a rezgése is eltolódott, ez arra enged következtetni, hogy ez a csoport is kapcsolatban van  $\beta$ -Ciklodextrinnel. Nagy valószínűséggel a savcsoport -OH csoportja hidrogénhid kötéset képez a Ciklodextrin külső felületén található -OH csoportokkal.

Hasonló képpen a 3.b. Táblázatot megvizsgálva levonhatjuk azt a következtetést, hogy a  $\beta$ -Ciklodextrin molekula, mintegy „felcsúszott” a Lutein molekulára. A Lutein konjugált láncának bizonyos szakaszát árnyékolja le teljesen a  $\beta$ -Ciklodextrin gyűrű. A molekula többi része is kapcsolatban áll a  $\beta$ -Ciklodextrin molekulával, ez a specifikus csoportok rezgéseinek eltolódásából látszik. Ebben az esetben is a Luteinben lévő, -OH csoportok alakíthatnak ki hidrogénhid kötések a  $\beta$ -Ciklodextrin molekula külső felületén található -OH csoportokkal.

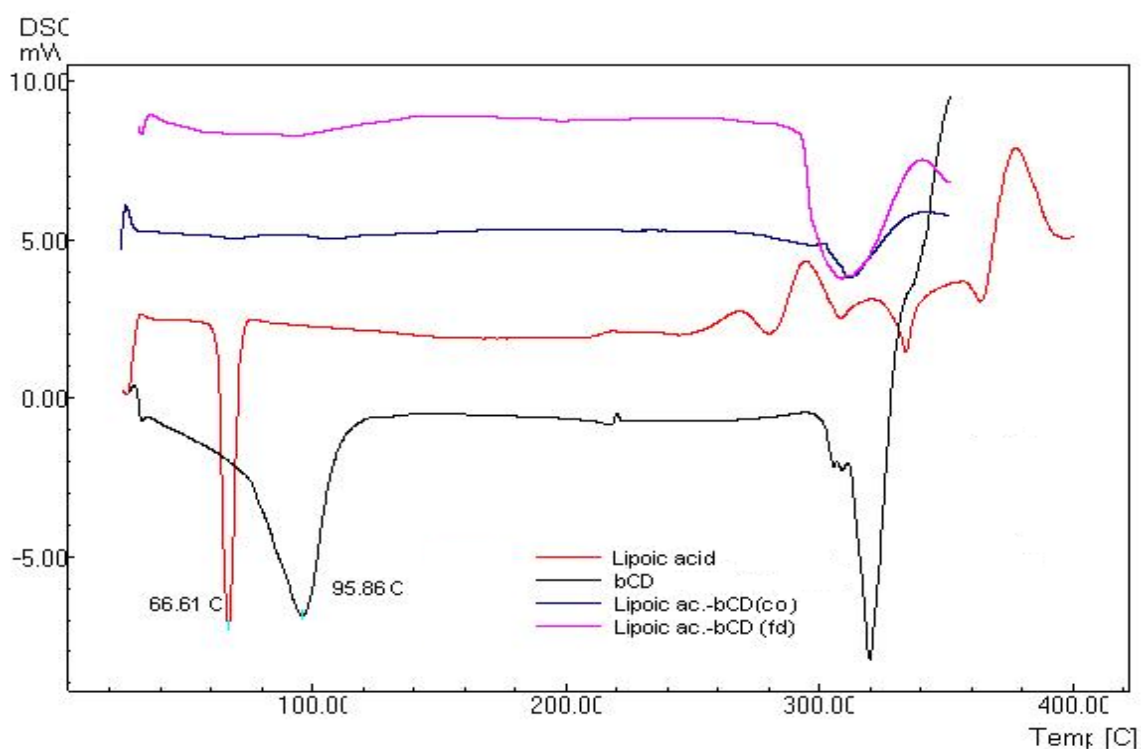
Az IR spektrumok alapján levonhattuk még azt a következtetést, hogy a fizikai keverékek nem mutatnak releváns hullámhossz eltolódásokat, tehát nem megy végbe komplexálódási reakció az alapanyagok oldószer nélküli, por alakú összekeverése esetén.

### 3.2.2. Páztázó kalorimetria

A DSC módszer a szilárd fázisban lezajló, a Ciklodextrin és a hatóanyag között létrejövő kölcsönhatásokról ad némi információt.

A tiszta  $\alpha$ -Liponsav, tiszta  $\beta$ -Ciklodextrin, illetve a liofilizálással és szuszpenziós módszerrel előállított LS- $\beta$ -CD komplexek DSC termogramját a 8. Ábra mutatja be. Az ábrán

látható termogramok egymáshoz képest csak a jobb szemleltetés miatt vannak eltolva, a nulla értékhez képest.

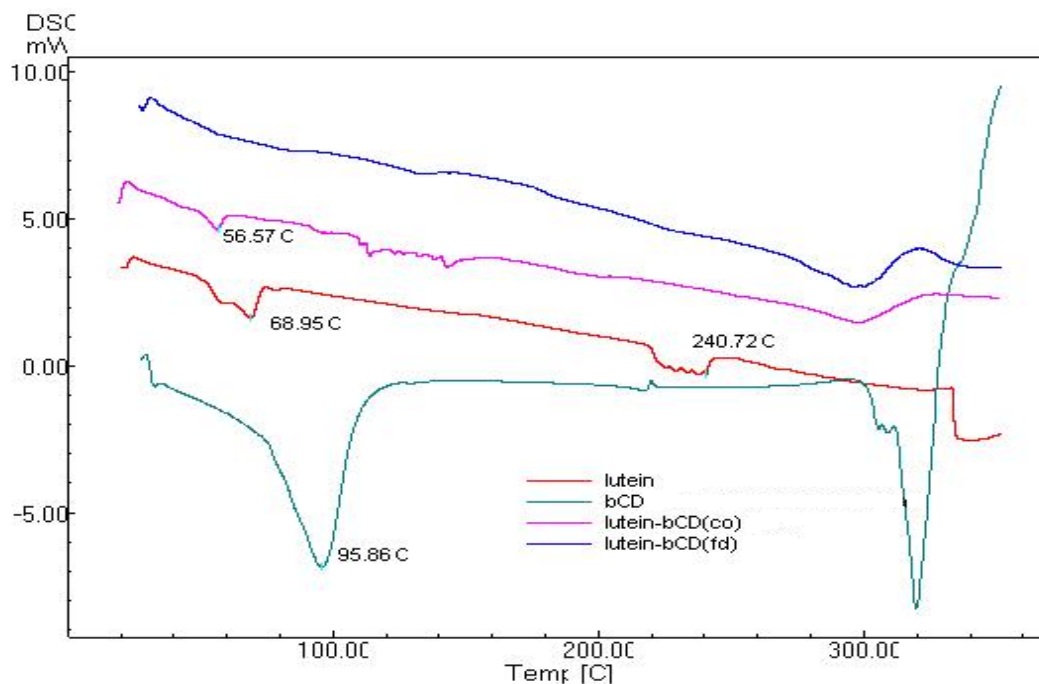


(8. Ábra)  $\alpha$ -Liponsav ,  $\beta$ -Ciklodextrin,  $\alpha$ -Liponsav- $\beta$ -Ciklodextrin komplexek termogramja

A  $\beta$ -Ciklodextrin görbéje egy széles endoterm jelet ad 74-től 118°C-ig, mely  $\Delta H=200$  kJ/mol entalpiaváltozásnak felel meg. Ez az entalpiaváltozás annak tulajdonítható, hogy elpárolog, a nedvességtartalomért felelős, nem kötött ( $\theta < 100^\circ\text{C}$ ), illetve a Ciklodextrin üregben kötött állapotban lévő víznek köszönhető ( $\theta > 100^\circ\text{C}$ )<sup>[7,8]</sup>. A 290°C fölötti hőmérséklet tartományban érzékelhető endoterm, majd az ezt követő exoterm szakasz a termogramban a  $\beta$ -Ciklodextrin olvadásának, valamint bomlásának tulajdonítható.

Az  $\alpha$ -Liponsav termogramja egy erős endoterm csúcsot mutat 66,61°C-nál,  $\Delta H=60.3$  kJ/mol, ez a hatóanyag olvadásának, majd 200°C feletti hőmérsékleten a hatóanyag bomlásának tulajdonítható. Mindkét módszerrel előállított  $\alpha$ -Liponsav- $\beta$ -Ciklodextrin komplex estében megfigyelhető a  $\beta$ -Ciklodextrin endoterm, dehidratációs, jelének csökkenése, valamint a Liponsav olvadási csúcsának eltűnése a zárványkomplexekben. 270°C körül elkezdődik a bomlási folyamat. A szuszpenziós eljárással előállított zárványkomplex egy nagyon kis intenzitású endoterm jelet ad 60° és 117°C között, majd 276°C-nál elkezdődik a zárványkomplex bomlása. A liofilizálással előállított zárványkomplex termogramja egy széles endoterm jelet ad 60° és 120°C között, melyet a zárványkomplex bomlása követ 285°C hőmérsékleten. A  $\beta$ -Ciklodextrin endoterm, dehidratációs, jelének csökkenése és a Liponsav olvadási csúcsának hiánya arra utal, hogy végbe ment a komplexálódási folyamat.

A tiszta Lutein, tiszta  $\beta$ -Ciklodextrin, illetve a liofilizálással és együttkristályosítás módszerével előállított Lu- $\beta$ -CD komplexek DSC termogramját a 9. Ábra mutatja be



(9. Ábra) Lutein ,  $\beta$ -Ciklodextrin, Lutein- $\beta$ -Ciklodextrin komplexek termogramja

A tiszta  $\beta$ -Ciklodextrin görbéje ebben az esetben is ugyanazokat a karakterisztikákat hordozza, mint az előző termogram esetén.

A Lutein termogramja, egy széles endoterm csúcsot mutat 68,95°C-nál, ez a Luteinben lévő vízvesztésnek tulajdonítható. A második endoterm csúcs 240,72°C-nál a Lutein olvadásának, valamint bomlásának felel meg. Mindkét módszerrel előállított Lutein- $\beta$ -Ciklodextrin komplex estében megfigyelhető volt a  $\beta$ -Ciklodextrin endoterm, dehidratációs, jelének csökkenése, valamint a Lutein olvadási csúcsának eltűnése a zárványkomplexekben. 270°C körül elkezdődik a zárványkomplex bomlásának folyamata. A  $\beta$ -Ciklodextrin endoterm, dehidratációs, jelének csökkenése és a Lutein olvadási csúcsának hiánya arra utal, hogy végbe ment a komplexálódási folyamat.

### 3.2.3 UV-VIS spektroszkópia

Az UV-VIS mérések segítségével mindkét komplex esetén a komplexképződés sztöchiometriáját szeretnénk volna meghatározni. Mindkét esetben, az oldatokat úgy készítettük el, hogy konstans hatóanyag koncentráció mellett növeltük a  $\beta$ -CD koncentrációkat a 2.2.3. fejezetben megemlített arányok szerint.

A sztöchiometria, valamint a stabilitási állandó meghatározására az irodalomban, dokumentált Benesi-Hildebrand módszert használtuk.<sup>[9,10]</sup> A módszer alapján ki lehet

számolni a  $K_a$  asszociációs (stabilitási) állandót, (dimenzió nélküli szám) az alábbi összefüggés segítségével:

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \varepsilon} + \frac{1}{K_a [\text{Hatóanyag}]_0 \Delta \varepsilon [\beta - \text{CD}]_0} \quad (1)$$

ahol:  $\Delta A$  a hatóanyagok abszorbanciájának a különbsége, a tiszta illetve Ciklodextrinnel kötött állapotok között, egy bizonyos  $\lambda$  hullámhosszon;

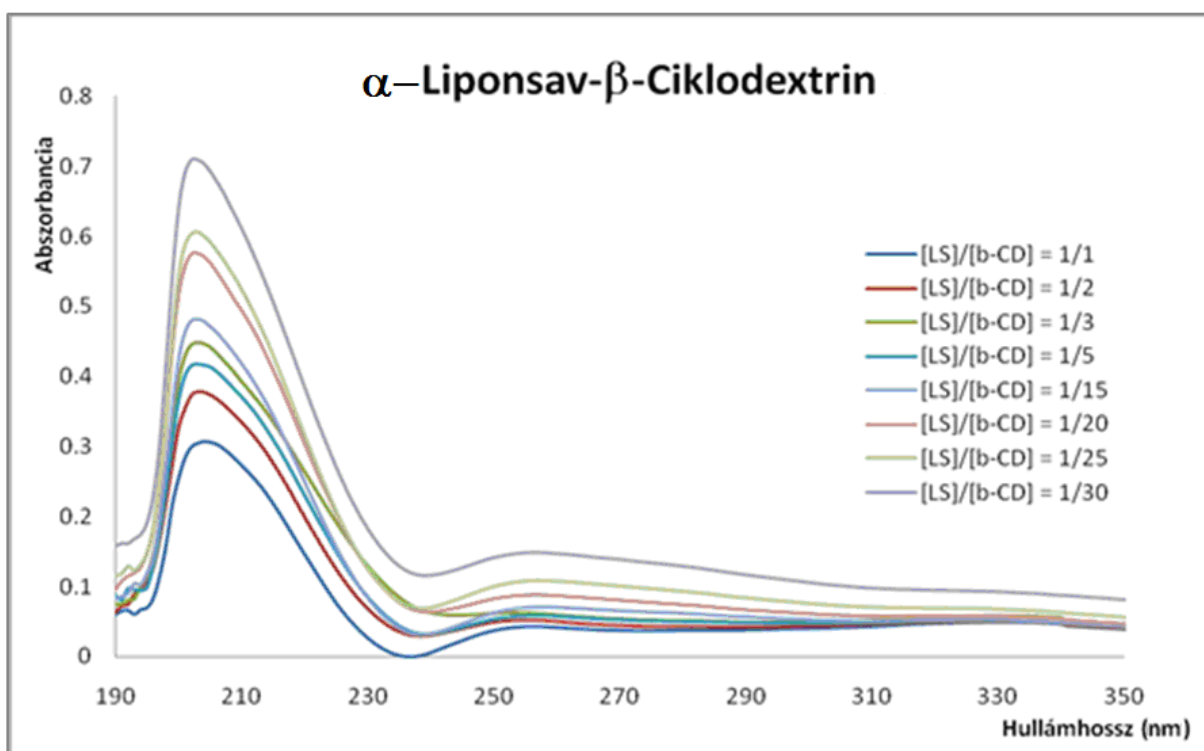
$\Delta \varepsilon$  a tiszta hatóanyag, valamint a komplexált hatóanyag moláris abszorbtivitásai közötti különbség;

$[\beta\text{-CD}]_0$  a  $\beta\text{-CD}$  koncentrációja kezdeti elegyben (a komplexálódás előtt);

$[\text{Hatóanyag}]_0$  a hatóanyag koncentrációja kezdeti elegyben (a komplexálódás előtt).

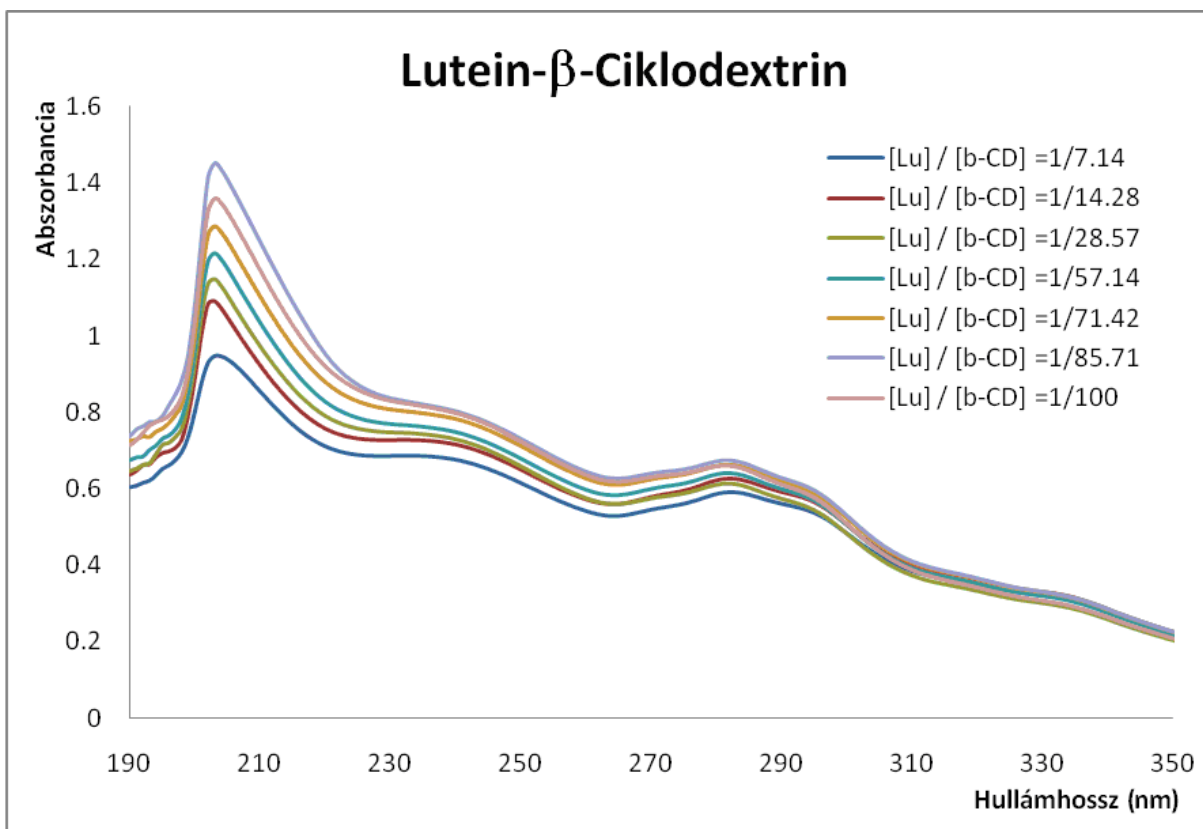
Az (1) egyenletnek megfelelően, hogyha az  $1/\Delta A$  értékeket ábrázoljuk az  $1/[\beta\text{-CD}]$  értékek függvényében és egy lineáris változást észlelünk, akkor az 1:1 ható:hordozóanyag sztöchiometriára utal. Az egyenes iránytangenséből a  $K_a$  értékét nyerjük.

Az  $\alpha$ -Liponsav- $\beta$ -Ciklodextrin, illetve Lutein- $\beta$ -Ciklodextrin komplexekre készült UV VIS mérések eredményeit a 10 és 11. Ábrák mutatják be.



(10.Ábra)  $\alpha$ -Liponsav- $\beta$ -Ciklodextrin UV-VIS eredmények





(11. Ábra) Lutein-β-Ciklodextrin UV-VIS eredmények

Ábrázolva mindkét termékre az  $1/\Delta A$  értékeket (203 nm hullámhosszon LU esetében és 204 nm LS esetében) az  $1/[\beta\text{-CD}]$  értékek függvényében, a pontok egy egy egyenest alkottak, az (1) egyenletnek megfelelően. Az egyenesek egyenleteit, valamint R/n értékeit a 4-es. Táblázat tartalmazza; ahol R a korrelációs tényező, és n a mérési pontok száma.

4. Táblázat Az (1) egyenlet statisztikai adatai

Hatóanyag	Lineáris egyenlet egyenlete	R/n	K
Liponsav	$1/\Delta A = 7.045 - 0.824 * 1/[\beta\text{-CD}]$	0,87 / 5	---
Lutein	$1/\Delta A = 1.129 + 0.434 * 1/[\beta\text{-CD}]$	0,98 / 7	0,635

Mivel mindkét esetben egy egy megfelelő korelációs tényezővel rendelkező egyenest nyertünk, arra a következtetésre jutottunk, hogy ható-hordozóanyag komplex képződése 1:1 mol arányban megy végbe. A LU esetében a Benesi-Hildebrand módszerrel számított sztöchiometria megállja a helyét ( $R = 0.98$ ), míg a LS esetén nem annyira egyértelmű ( $R = 0.87$ ) de még mindig egy elfogadható határon belül mozog.

A számított asszociációs állandó megadja, hogy a komplexképzés egyensúlyi folyamata mely irányba tolódik el és mennyire. A LU- $\beta$ -CD komplex képződésre a már említett módszer szerint ki tudtuk számolni a  $K_a$  asszociációs állandót. Azonban a LS- $\beta$ -CD komplex esetén a  $K_a$  asszociációs állandó értéke a 4. Táblázatban lévő egyenlet alapján negatív értékű lenne, ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy a méréseink, nem egyértelműek és ismétlésre szorulnak.

#### **4. Gazdasági szempontok:**

Mivel dolgozatunk célja gazdasági szempontból a legoptimálisabb előállítási módszer kiválasztása is volt, ezért minden lépésünkben figyelembe vettük ez a szempontot. Ezek a gazdasági szempontok a következők voltak: termék minőség és megfelelő hatások.

A LS- $\beta$ -CD komplex esetén, két előállítási módszert vizsgáltunk: együttkristályosítás, szuszpenziós módszer. Az együttkristályosítási módszert alkalmazva egy 93% hatásfokot értünk el, ami egy nagyon jó érték ellenben a termék minősége nem megfelelő mivel a szárítás utáni termék egyből nem kapszulázható, ezért a komplex további kezelést igényel (porítás). E módszer előnye, hogy a komplex képzés kevés oldószert igényel, ugyan akkor a golyósmalomból való eltávolítás további oldószer hozzáadását követeli meg. Ez nem teszi az eljárást gazdaságossá.

A szuszpenziós módszer esetében 83%-os hatásfokot értünk el, ami alacsonyabb az előbbi módszerhez viszonyítva, de mivel a komplex minősége megfelel az általunk szabott kritériumoknak (könnyen kapszulázható és további porítást nem igényel) ezért ezt a módszert javasoljuk az ipari előállításra. Igaz, hogy ez a módszer több oldószert igényel a komplex képzéshez, mint az együttkristályosítási módszer, de a felhasznált oldószer 80% visszanyerhető desztillálással, ami költségkímélővé teszi az eljárást.

A LU- $\beta$ -CD komplex esetén az egyetlen működő előállítási módszer az együttkristályosítás ezért ezt javasoljuk az ipari előállításra. Az együttkristályosítás módszerével 79.3%-os hatásfokot értünk el valamint a komplex minősége összehasonlítva az együttkristályosítással előállított LS- $\beta$ -CD komplexhez képest sokkal finomabb kristályos szerkezetű anyagot kaptunk. Továbbá megfigyeltük, hogy a komplexképzés során nem keletkezik annyira sűrű massa, mint a LS- $\beta$ -CD komplex esetén ezért nem igényel további oldószer hozzáadást a berendezésből való eltávolításhoz.

A Parapharm KFT által az ipari termelésre javasolt adagok és az általuk nyújtott árlista alapján a zárványkomplex anyagszükségleti ára 12 €/kg az LS- $\beta$ -CD komplexre,

valamint 1339 €/kg a LU-β-CD komplexre. Ez a magas ár annak köszönhető, hogy a Lutein kereskedelmi ára 3000 €/kg körül mozog.

## 5. Következtetések:

A dolgozatunk célja, hogy előállítsuk az α-liponsav és Lutein β-ciklodextrin komplexeit, vizsgáljuk ezek létrejöttét, és kiválasszuk az ipari termelésre legalkalmasabb előállítási módszert.

Különböző komplexképzési módszereket használtunk: szuszpenzióban; együttkristályosítással; szuszpenzióban, liofilizáló berendezés segítségével, azzal a céllal, hogy könnyen kapszulázható finom port kapjunk, magas hatások mellett minimális oldószer és anyag veszteséggel.

Az előállítási eljárások elvégzése és a vizsgálatok elvégzése után arra a következtetésre jutottunk, hogy az α-Liponsav esetén mindhárom előállítási módszerrel létrejön a komplex, míg a Lutein esetében a szuszpenziós módszer kivételével a többi eljárással képződött a komplex.

A komplexálódás után a hatóanyagok vízzel való oldékonysága a tiszta állapothoz képest jelentősen megváltozott (mivel tiszta állapotban oldhatatlanok vízben és komplex formában oldhatók).

Az IR és DSC eredmények alapján kijelenthetjük, hogy mindkét komplex létrejött, és nem csupán fizikai keverékről van szó. Az UV-VIS spektroszkópia eredményei azt mutatják, hogy mindkét komplex előállítása 1:1 mol arányba megy végbe. A LU-β-CD komplex számára sikerült a Benesi-Hildebrand módszer alapján meghatározni az asszociációs állandót. Ugyanakkor a Liponsavval elvégzett mérések nem voltak egyértelműek.

A LU-β-CD komplex esetén az ipari előállításra javasolt módszer az együttkristályosítás, míg a LS-β-CD esetén a szuszpenziós eljárás.

A bemutatott témát szeretnénk a jövőben fejleszteni. Például egy megfelelő oldószer kiválasztásával, megvalósíthatnánk a szuszpenziós eljárást a Luteinre nézve. Valamint a keletkezett komplexek röntgendiffrakciós (RX) és mágneses magrezonanciás (NMR) vizsgálata egyértelműbben bizonyítaná a komplex keletkezését. Továbbá szeretnénk a termék képződést kinetikai szempontból is leírni.

### **Köszönetnyilvánítás:**

A vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségért és szakértelméért köszönetünket fejezzük ki: Dr. Kacsó Irénnek, CP III az INCDTIM intézetből és Sánta Szabolcs vegyésznek, valamint az alapanyagok biztosításáért a Parapharm KFT-nek.

### **Bibliográfia:**

- [1] Fuchs J, Packer L, Zimmer G (Eds.), *Lipoic Acid in Health & Disease*, Marcel Dekker Inc, New York, Basel, **1997**.
- [2] Alves-Rodrigues A, Shao A, *Toxicolog. Lett.*, 150, **2004**, 57-83.
- [3] Szejtői J, *Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes*, Akadémiai Kiadó, Budapest, **1982**.
- [4] Saenger W, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 19, **1980**, 344-362.
- [5] Alpert N L, Keiser W E, Szymanski H A, *Theory and Practice of Infrared Spectroscopy*, Plenum Press, New York, **1970**.
- [6] Avram M, Matarescu G H D, *Spectroscopia în infraroșu, aplicații în chimia organică*, Editura Tehnică, București, **1966**.
- [7] Castro-Hermida J A, Gomez-Couso H, Ares-Mazas M E, Gonzales-Bedia M M, Castaneda-Cancio N, Otero-Espinar F J, Blanco-Mendez J, *J. Pharm. Sci.*, 93, **2004**, 1197-1206.
- [8] Rotich M K, Brown M E, Glass B D, *J. Therm. Anal.*, 73, **2003**, 671-686.
- [9] El-Kemary m A, El-Gezawy H S, El-Bardie H Y, Issa R M, *Spectrochim. Acta*, 58, **2002**, 493-500.
- [10] Benesi H A, Hildebrand J H, *J. Am. Chem. Soc.*, 71, **1949**, 2703-2713.