

Untersuchungen zu Cyclodextrinkomplexen von typischen nichtsteroidalen Antiphlogistika

Dissertation zur Erlangung
des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg



vorgelegt von
Stefanie Schauer
aus Ansbach

Würzburg 2011

Eingereicht am:

bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:

2. Gutachter:

der Dissertation

1. Prüfer:

2. Prüfer:

3. Prüfer:

des öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

*Holzhacken ist deshalb so beliebt,
weil man bei dieser Tätigkeit den Erfolg sofort sieht.*

Albert Einstein

Meiner Familie

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter der Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Ingfried Zimmermann

An dieser Stelle möchte ich mich bei Ihm für die Unterstützung und sein stets offenes Ohr sowie für das in mich gesetzte Vertrauen danken, das mir die Möglichkeit zum selbstständigen und eigenverantwortlichen Arbeiten gab.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Meinel für seine Unterstützung und die Möglichkeit die praktischen Arbeiten fortzuführen, nachdem er den Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie übernommen hatte.

Herrn Dr. Schollmayer, Herrn Dr. Grüne und Frau Ruckdeschel danke ich für viele Tipps sowie für die Hilfe bei der Durchführung der NMR-spektroskopischen Messungen. Bei Frau Prof. Dr. Kisker möchte ich mich für die Möglichkeit, ITC-Messungen im Virchow-Zentrum durchzuführen, und bei Herrn Bodo Sander für die Einweisung in das Gerät und die Hilfestellung bedanken.

Herrn Prof. Dr. Sotriffer und seinen Mitarbeitern danke ich herzlich für die Möglichkeit zur Durchführung von computerchemischen Experimenten in diesem Arbeitskreis und für die Hilfestellung und Einführung in die Welt der Computerchemie.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. Amann der Wacker Chemie AG, München für die Bereitstellung der Cyclodextrine bedanken.

Danke an die Werkstatt für die stets schnelle tatkräftige Hilfe bei Problemen aller Art.

Herrn Dr. Sascha Zügner, Christine Schneider und Doris Moret danke ich für die hervorragende Organisation des Praktikums Arzneiformenlehre 2.

Herzlichen Dank an Anne-Kathrin Müller, Stefanie Weber, Dirk Leutner, Wehad Ibrahim, Claudia Raffauf und Silke Heydt für das freundschaftliche Verhältnis im Arbeitskreis und viele lustige Stunden vor, während und nach den Praktikumsaufsichten. Ein ganz besonderer Dank gilt Christoph Schlee, der mit mir Büro und Labor geteilt hat und mit seinem grenzenlosen Optimismus und vielen fachlichen und nichtfachlichen Diskussionen immer für gute Stimmung gesorgt hat.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, Großeltern, meinem Bruder Patrick und meiner gesamten Familie sowie meinen Freunden für ihren uneingeschränkten Rückhalt im privaten Bereich.

Publikationen

- I. Schauer, S. Schlee, C., Zimmermann, I.: *Investigations on the use of cyclodextrins as excipients in solid dosage forms.* Chemie-Symposium der Studierenden Mainfrankens 2008, Würzburg, 02.12.2008.

- II. Schauer, S., Zimmermann, I.: *Investigations on the use of cyclodextrins as excipients in solid dosage forms with focus on different chemical basic structures of guest molecules exemplified by NSAIDs.* 7th Worldmeeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Malta, 8.-11.03.2010.

- III. Schauer, S., Zimmermann, I.: *Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Cyclodextrinen und Nichtsteroidalen Antirheumatika.* Chemie-Symposium der Studierenden Mainfrankens 2010, Würzburg, 07.12.2010.

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
2	THEORIE UND STAND DER FORSCHUNG	3
2.1	Cyclodextrine	3
2.1.1	Molekülstruktur der natürlichen Cyclodextrine	3
2.1.2	Historischer Hintergrund	4
2.1.3	Gewinnung von Cyclodextrinen	5
2.1.4	Moleküleigenschaften	6
2.1.5	Cyclodextrin-Derivate	8
2.1.6	Einsatzgebiete	9
2.2	Cyclodextrinkomplexe	10
2.2.1	Supramolekulare Verbindungen	10
2.2.2	Komplexbildung	10
2.2.3	Eigenschaften von Wirt-Gast-Komplexen	15
2.2.4	Herstellung von Cyclodextrin-Komplexen	18
2.3	Löslichkeitsstudien zur Untersuchung von Wirt-Gast-Wechselwirkungen	20
2.3.1.	Einteilung der Phasendiagramme	21
2.3.2	Herleitung und Berechnung der Assoziationskonstanten	22
2.3.3	Abschätzung der Stöchiometrie	23
2.4	Grundlagen der Computerchemie	25
2.4.1	Grundlegende computerchemische Operationen	25
2.4.2	Cyclodextrine in der Computerchemie	28
2.4.3	Docking-Studien und AutoDock	29
2.5	Veröffentlichungen zu Cyclodextrinen	31
3	ARBEITSKONZEPT	33
4	MATERIALIEN UND METHODEN	35
4.1	Materialien	35
4.1.1	Cyclodextrine	35
4.1.2	Gastmoleküle	35

4.2	Untersuchungen zur Komplexbildung in Lösung	37
4.2.1	Untersuchung der Wechselwirkung von Wirts- und Gastmolekül	37
4.2.2	Isothermale Titrationskalorimetrie	38
4.2.3	Kernresonanzspektroskopie	41
4.3	Computerchemische Untersuchungen zur Komplexbildung	47
4.3.1	Erstellung der Gastmolekülstrukturen	47
4.3.2	Erstellung verschiedener Konformationen des β -Cyclodextrins	47
4.3.3	Docking-Studien	48
4.3.4	Molekulardynamik-Simulation	49
4.4	Herstellung von festen Komplexen	50
4.4.1	Knetmethode	50
4.4.2	Kopräzipitation	50
4.4.3	Gefriertrocknung von Lösungen und Suspensionen	50
4.5	Untersuchung der Komplexe	50
4.5.1	Bestimmung des Wirkstoffgehalts	50
4.5.2	Herstellung von physikalischen Mischungen	50
4.5.3	Thermoanalytische Untersuchungen	51
4.5.4	FT-IR-Spektroskopie	52
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	55
5.1	Untersuchung der Komplexbildung in wässriger Lösung	55
5.1.1	Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle	56
5.1.2	Wechselwirkungen mit den natürlichen Cyclodextrinen	57
5.1.3	Einfluss des pH-Werts auf die Komplexbildung	63
5.1.4	Einfluss der Temperatur auf die Komplexbildung	66
5.1.5	Isothermale Titrationskalorimetrie	68
5.1.6	^1H -NMR-Spektroskopie	69
5.1.7	Zusammenfassung der Untersuchungen zur Komplexstruktur	76
5.2	Computerchemische Untersuchungen zur Komplexbildung	77
5.2.1	Charakterisierung der erhaltenen β -Cyclodextrin-Konformationen	77
5.2.2	Auswertung der Docking-Studien	80
5.2.3	Beurteilung der strukturellen Integrität	87
5.2.4	Vergleich mit experimentellen Ergebnissen	88

5.3	Untersuchungen von festen Komplexen	91
5.3.1	Wirkstoffgehalt der Komplexe	92
5.3.2	Thermoanalytische Untersuchungen	93
5.3.3	Infrarotspektroskopische Untersuchungen	96
6	ZUSAMMENFASSENDER DISKUSSION	103
7	SUMMARY	107
8	ANHANG	111
8.1	Literaturrecherche	111
8.2	Materialien	118
8.2.1	Cyclodextrine	118
8.2.2	Gastmoleküle	118
8.3	Untersuchung der Komplexbildung in Lösung	119
8.3.1	Kalibriergeraden und Absorptionsmaxima der Arzneistoffe	119
8.3.2	Einzelwerte der Löslichkeitsbestimmungen	119
8.3.3	Isothermale Titrationskalorimetrie	126
8.3.4	Kernresonanzspektroskopie	126
8.4	Computerchemische Untersuchungen	144
8.4.1	Übersicht der Rohdaten in elektronischer Form	144
8.4.2	Einzel- und Gesamtwinkelsummen der Cyclodextrinkonformere	145
8.4.3	Vorbereitung der Gastmoleküle	145
8.4.4	Repräsentatives Docking-Parameter-File	146
8.4.5	Grid-Parameter-Files	147
8.4.6	Koordinaten der Gitterzentren	149
8.4.7	Konizität	149
8.4.8	Exzentrizität	150
8.4.9	Werte für die minimale Freie Bindungsenthalpie	150
8.4.10	Bevorzugte Orientierungen der Gastmoleküle	151
8.4.11	Bestimmung des Flächenverlustes	154
8.4.12	Berechnung zur Beurteilung der Stabilität	155
8.5	Untersuchung fester Komplexzubereitungen	156

INHALTSVERZEICHNIS

8.5.1	DTA	156
8.5.2	FT-IR	162
9	LITERATURVERZEICHNIS	177

Anlage: Faltblatt mit den Strukturformeln der Gastmoleküle

ABKÜRZUNGEN UND FORMELZEICHEN

a	Beschleunigung [m/s^2]
A_{ij}	Abstoßungskoeffizient
ASA	acesible surface area, lösungsmittelzugängliche Moleküloberfläche
ATR	attenuated total reflectance, Mehrfachreflexion
b	Bindungslänge
b_0	Gleichgewichtsabstand
B_{ij}	Anziehungskoeffizient
C	Anzahl der Komponenten (Gibbs' sches Phasengesetz)
CD	Cyclodextrin
CD_s	fest vorliegendes Cyclodextrin
CD·G	Komplex aus Cyclodextrin und Gastmolekül
$(CD·G)_s$	fest vorliegender Komplex aus Cyclodextrin und Gastmolekül
CGTase	Cyclodextrin-Glucosyl-Transferase
CICS	complexation induced chemical shift
COSY	correlation spectroscopy
COX	Cyclooxygenase
DTA	Differenzthermoanalyse
E_{tot}	Gesamtenergieinhalt eines Moleküls (relative Größe) [kJ/mol]
E_{str}	Energieterm für Bindungslänge [kJ/mol]
E_{bend}	Energieterm für Bindungswinkel [kJ/mol]
E_{tors}	Energieterm für Torsionswinkel [kJ/mol]
E_{vdw}	Energieterm für Van-der-Waals-Wechselwirkungen [kJ/mol]
E_{elec}	Energieterm für elektrostatische Wechselwirkungen [kJ/mol]
F	Anzahl der Freiheitsgrade (Gibbs' sches Phasengesetz) Kraft [N] Filtrat
FID	free induction decay, freier Induktionsabfall
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie
G	Gastmolekül
[G]	Konzentration des Gastmoleküls [M]
G_g	Gastmolekül im gasförmigen Zustand
G_s	Gastmolekül im festen Zustand
GF	Probe, die im Gefrierfach eingefroren wurde
GT	Gefriertrocknung
ΔG	Änderung der freien Gibbs'schen Enthalpie [kJ/mol]
ΔG^0	Änderung der freien Gibbs'schen Enthalpie unter Standardbedingungen [kJ/mol]
$\Delta G_{\text{Bind/Lsg.}}$	freie Bindungsenthalpie in Lösung [kJ/mol]
$\Delta G_{\text{Bind/min}}$	minimale freie Bindungsenthalpie [kJ/mol]
$\Delta G_{\text{Bind/Vak.}}$	freie Bindungsenthalpie in Vakuum [kJ/mol]
$\Delta G_{\text{solv(RL)}}$	freie Solvatationsenthalpie für den Komplex [kJ/mol]

ABKÜRZUNGEN UND FORMELZEICHEN

$\Delta G_{\text{solv(R+L)}}$	Summe der freien Solvatationsenthalpie der Einzelkomponenten [kJ/mol]
GPF	grid parameter file
[H]	Konzentration des Wirtsmoleküls [M]
h	Plancksche Konstante
ΔH^0	Enthalpieänderung unter Standardbedingungen [kJ/mol]
l	Spinquantenzahl
ITC	Isothermale Titrationskalorimetrie
k_b	Kraftkonstante für Bindungslängen
k_θ	Kraftkonstante für Bindungswinkel
k_φ	Kraftkonstante für Torsionswinkel
$K_{1:1}$	Assoziationskonstante für Komplexe mit der Stöchiometrie 1:1 [M^{-1}]
K_A	Assoziationskonstante [M^{-1}]
K_D	Dissoziationskonstante [M]
KM	Knetmethode
KOP	Kopräzipitation
L	Konzentration an freiem Cyclodextrin [M]
L_a	Cyclodextrinkonzentration am Beginn des Plateaus (B-Typ) [M]
L_b	Cyclodextrinkonzentration am Ende des Plateaus (B-Typ) [M]
L_p	Cyclodextrinkonzentration am Beginn des Plateaus (A-Typ) [M]
L_t	Gesamtkonzentration des Wirtsmoleküls [M]
L_0	Intrinsische Löslichkeit des Cyclodextrins [M]
m	Anzahl der Gastmoleküle Masse [kg]
MD	Molekulardynamik
MOE	Molecular Operating Environment
N	Stöchiometrie
n	Anzahl der Cyclodextrinmoleküle Periodizität
N2	Probe, die in flüssigem Stickstoff eingefroren wurde
NaOH	Natronlauge
NOE	Nuclear-Overhauser-Enhancement-Effekt
NOESY	nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy
P	Anzahl der Phasen (Gibbs' sches Phasengesetz) Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient Kernspin
PM	Physikalische Mischung
Q	Ladung eines Atoms
QSAR	quantitative structure-activity relationship
r	Radius
r_{ij}	Abstand zwischen den Atomen i und j

ABKÜRZUNGEN UND FORMELZEICHEN

R	Allgemeine Gaskonstante 8,314 [J/(mol·K)]
REM	Rasterelektronenmikroskop
rFV	relativer Flächenverlust
RMSD	root mean square deviation, Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung
ROESY	rotating frame overhauser enhancement spectroscopy
S_0	intrinsische Löslichkeit [M]
S	Konzentration an freiem Gast [M] Suspension
ΔS	Entropieänderung [J/(mol·K)]
ΔS^0	Entropieänderung unter Standardbedingungen [J/(mol·K)]
S_a	Konzentration des Gastmoleküls am Beginn des Plateaus (B-Typ) [M]
S_p	Konzentration des Gastmoleküls am Beginn des Plateaus (A-Typ) [M]
S_t	Gesamtkonzentration des gelösten Gastes [M]
S_z	Gesamtkonzentration an zugegebenem Gastmolekül [M]
sdv	Standardabweichung [Einheit variabel]
T	Temperatur [K]
TOCSY	total correlation spectroscopy
TSP	3-(Trimethylsilyl)-Propionsäure-D ₄
X_H	Molenbruch des Wirtsmoleküls
δ	Deformationsschwingung
δ	chemische Verschiebung [ppm] (NMR)
ϵ	Dielektrizitätskonstante
ρ	rocking-Schwingung
κ	wagging-Schwingung
τ	twisting-Schwingung
Θ	Bindungswinkel [°]
Θ_0	Gleichgewichtswinkel [°]
φ	Torsionswinkel [°]
Φ	Torsionswinkel [°]
φ_0	Gleichgewichtstorsionswinkel [°]
ν	Streckschwingung
γ	out-of-plane-Schwingung

1 Einleitung und Zielsetzung

Seit ihrer Entdeckung vor mehr als einhundert Jahren haben Cyclodextrine durch ihre Fähigkeit zur Bildung von Einschlusskomplexen in vielen Bereichen eine sehr hohe Bedeutung erlangt. Dies ist nicht zuletzt darauf zurückzuführen, dass es sich um Produkte handelt, die aus dem nachwachsenden Rohstoff Stärke mit Hilfe einer relativ einfachen enzymatischen Reaktion gewonnen werden können. Die Möglichkeit zur industriellen Herstellung hat dazu beigetragen, dass der anfangs sehr hohe Preis der Cyclodextrine auf ein wirtschaftliches Niveau fiel, und so ihre breite Anwendung ermöglichte. Die fälschlichen toxikologischen Bedenken, die den Durchbruch dieser Molekülklasse lange Zeit verhinderten, konnten zudem ausgeräumt werden. So werden Cyclodextrine und ihre Derivate heute in vielen Lebensmitteln, Kosmetika und Arzneimitteln zu unterschiedlichsten Zwecken eingesetzt. [1]

Die zunehmende Bedeutung der Cyclodextrine im pharmazeutischen Bereich ist auch an der Aufnahme der Cyclodextrine und bestimmter Derivate in die bedeutendsten Arzneibücher wie das Europäische Arzneibuch oder die United States Pharmacopeia und den Japanese Pharmaceutical Codex ersichtlich [2].

Aufgrund ihres viel versprechenden Potentials, wurden bislang unzählige Untersuchungen zu Cyclodextrinen und verschiedensten Gastmolekülen durchgeführt, was sich in einer immensen Anzahl an Veröffentlichungen widerspiegelt [1]. Hinzu kommt, dass viele verschiedene Arbeitsgruppen in diesem Forschungsgebiet tätig waren. Häufig wurden nur punktuelle Aspekte unter unterschiedlichsten Versuchsbedingungen betrachtet, was einen Vergleich zwischen verschiedenen Gastmolekülen nur eingeschränkt ermöglicht.

Bei Betrachtung der Patentsituation bietet sich ein ähnliches Bild. Die vorhandenen Patente befassen sich hauptsächlich mit vier Aspekten, darunter die Produktion der Cyclodextrine, die pharmazeutische Anwendung von Cyclodextrinderivaten, die Verbesserung der Leistung der Cyclodextrine und spezifische Wirkstoff-Cyclodextrin-Kombinationen. Letzteres betrifft mehr als ein Drittel der Patente, so dass auch hier nur eine sehr punktuelle Betrachtung stattfindet. [2]

Interessant wären hingegen systematische Studien mit Gastmolekülen bestimmter struktureller Merkmale, so dass Aussagen getroffen werden können, inwiefern bestimmte Grundstrukturen oder funktionelle Gruppen den Komplexbildungsvorgang mit Cyclodextrinen beeinflussen. Dies wäre wünschenswert, um bessere Vorhersagen zu den Komplexbildungseigenschaften bestimmter Gastmoleküle zu treffen und somit Entwicklungszeit zu sparen.

2 Theorie und Stand der Forschung

2.1 Cyclodextrine

Cyclodextrine sind zyklische Oligosaccharide, die als Abbauprodukt der Stärke entstehen. Gelegentlich werden sie auch als Schardinger Dextrine, Cycloamylosen oder Cycloglucane bezeichnet [3]. Im europäischen Arzneibuch findet man β -Cyclodextrin beispielsweise auch unter dem Namen „Betadex“ [4]. Neben den natürlich vorkommenden Cyclodextrinen sind außerdem chemisch modifizierte Derivate erhältlich.

2.1.1 Molekülstruktur der natürlichen Cyclodextrine

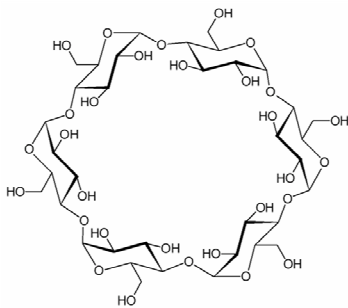


Abb. 2.1: α -Cyclodextrin [5]

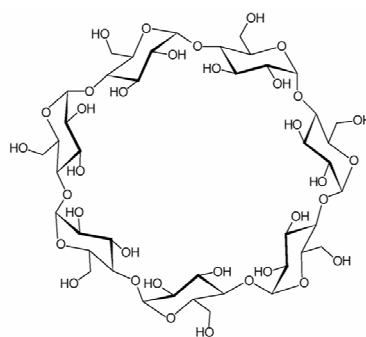


Abb. 2.2: β -Cyclodextrin [6]

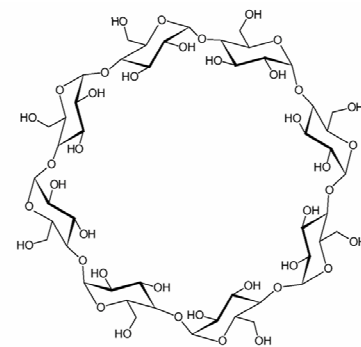


Abb. 2.3: γ -Cyclodextrin [7]

Natürliche Cyclodextrine bestehen aus zyklisch α -1,4-glykosidisch verknüpften Glucopyranoseeinheiten. Zu ihnen gehören α -, β - und γ -Cyclodextrin mit sechs, sieben und acht Glucoseeinheiten (Abb. 2.1-2.3) [1].

Die 4C_1 -Sesselkonformation [8] der Glucoseeinheiten bedingt, dass alle sekundären Hydroxylgruppen auf der einen Seite des Moleküls angeordnet sind, während sich alle primären Hydroxylgruppen auf der anderen Seite befinden. Da der Umfang beider

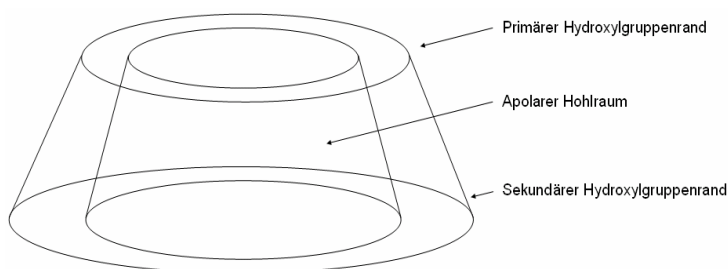


Abb. 2.4: Schematische Darstellung der konischen Form, nach [3]

Hydroxylgruppenränder unterschiedlich groß ist, lässt sich die geometrische Form der Cyclodextrine schematisch als abgeschnittener Kegelstumpf darstellen (Abb. 2.4) [3].

Abbildung 2.5 zeigt die räumliche Orientierung der Atome, wenn man davon ausgeht, dass die glykosidischen Sauerstoffbrücken in einer Ebene liegen.

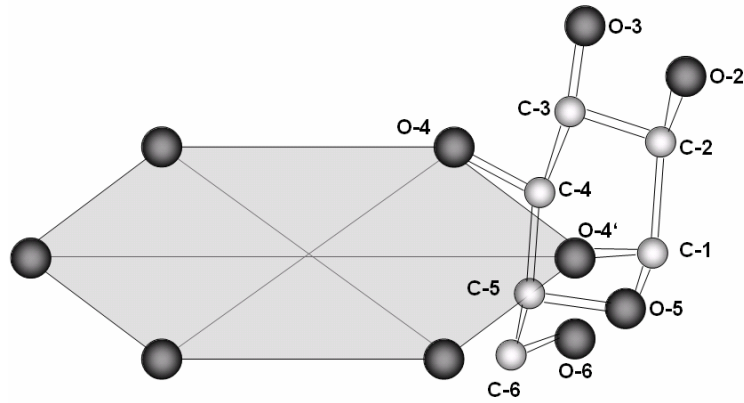


Abb. 2.5: Struktur und Nummerierung der Atome der Glucopyranosebausteine, nach [9]

2.1.2 Historischer Hintergrund

Szejtli teilt die Geschichte der Cyclodextrine grob in drei Abschnitte ein [1]: die erste Phase stellt die Entdeckungsperiode beginnend am Ende des 19. Jahrhunderts bis etwa 1930 dar, woran sich eine Phase der Erforschung mit systematischen Studien der Cyclodextrine und ihrer Einschlusskomplexe bis hinein in die siebziger Jahre des letzten Jahrhunderts anschließt. Erst in den Folgejahren wurde die industrielle Produktion und eine intensive Nutzung der Cyclodextrine in den unterschiedlichsten Bereichen möglich. Cyclodextrine wurden erstmals 1891 von Villiers nach der Behandlung von Stärke mit *Bacillus amylobacter* isoliert [10]. Er identifizierte sie als Dextrine und nannte sie „Cellulosine“. Heute geht man davon aus, dass es sich hierbei um eine Mischung aus α - und β -Cyclodextrin handelte [2].

1903 veröffentlichte der Mikrobiologe Schardinger einen Artikel, in dem er zwei kristalline Substanzen beschrieb, die er aus Kartoffelstärke isoliert hatte und als Villiers ‚Cellulosine‘ identifizierte. Er bezeichnete sie als „Krystallisiertes Dextrin“ [11] und führte seine Untersuchungen an diesen Substanzen bis 1911 fort, womit er den Grundstein für die Cyclodextrinchemie legte. Deshalb wurden Cyclodextrine lange Zeit auch als „Schardinger Dextrine“ bezeichnet [2]. Aufbauend darauf wurden in der Folge erste Erkenntnisse zur Komplexbildung mit organischen Komponenten von Pringsheim veröffentlicht [1].

1935 entdeckten Freudenberg und Jacobi γ -Cyclodextrin [12]. Drei Jahre später zeigten Freudenberg und Meyer-Delius, dass Cyclodextrine eine Ringstruktur aus α -1,4-verknüpften Glucoseeinheiten mit einer zentralen Kavität aufweisen [13]. Die Molekulargewichte der Cyclodextrine wurden 1942 bestimmt [14,15]. 1954 veröffentlichte Cramer ein Buch über verschiedene Einschlussverbindungen, in dem er auch alle strukturellen und physikochemischen Eigenschaften der Cyclodextrine beschrieb [16].

Einer industriellen Nutzung von Cyclodextrinen standen damals zum einen toxikologische

Bedenken entgegen, die sich hauptsächlich auf Aufzeichnungen von Thomas und French begründeten, später aber widerlegt werden konnten [1,17]. Zum anderen ermöglichten erst Fortschritte in der Biotechnologie in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts die quantitative Herstellung von hochreinen Cyclodextrinen.

Danach setzten sich Cyclodextrine zuerst in Japan als Bestandteil von Nahrungsmitteln und Kosmetika durch. Hier wurde auch das weltweit erste cyclodextrinhaltige pharmazeutische Produkt „Prostarmon ETM“ vermarktet [2].

Die europäische und amerikanische Industrie zog erst in den frühen Neunzigerjahre nach [2]. Heute sind Cyclodextrine Bestandteil verschiedenster pharmazeutischer Produkte. Ihre Akzeptanz und steigende Bedeutung in diesem Sektor spiegelt sich auch in ihrem regulatorischen Status wider. In das europäische Arzneibuch [4] wurden α -, β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin aufgenommen. Darüber hinaus sind Monographien über Cyclodextrine auch in der United States Pharmacopeia [18] und im Japanese Pharmaceutical Codex zu finden [2,19]. Von der FDA wird β -Cyclodextrin unter Einhaltung bestimmter Voraussetzungen als sicher betrachtet (generally recognized as safe, GRAS). Aus regulatorischer Sicht werden Cyclodextrine im Allgemeinen als Hilfsstoff und nicht als Teil des Wirkstoffes betrachtet [2].

2.1.3 Gewinnung von Cyclodextrinen

Cyclodextrine entstehen durch den enzymatischen Abbau von Stärke mit Hilfe von Cyclodextrin-Glucosyl-Transferasen (CGTase). Die erste CGTase, die entdeckt wurde, stammte aus *Bacillus macerans*. Solche Enzyme werden unter anderem aber auch von *Klebsiella oxytoca* oder *Bacillus circulans* produziert [1]. Die Behandlung von Stärke mit nativen Enzymen führt zu einer schwierig aufzureinigenden Mischung aus α -, β - und γ -Cyclodextrin im Verhältnis von etwa 60:20:20 und kleinerer Mengen höhergliedriger Cyclodextrine [2]. Aufgrund des biotechnologischen Fortschritts stehen mittlerweile jedoch spezifischere Enzyme zur Verfügung, was zu einer Erleichterung in der Produktion von Cyclodextrinen geführt hat [2].

Die Produktion der Cyclodextrine (s. Abb. 2.6) gliedert sich in verschiedene Stufen [1,20]: Zunächst werden die CGTase produzierenden Mikroorganismen kultiviert. Die gebildeten Enzyme werden abgetrennt, aufkonzentriert und gereinigt. Die bei erhöhter Temperatur verflüssigte und vorhydrolysierte Stärke, die keine Glucose oder niedermolekulare Oligosaccharide mehr enthalten darf, wird mit Hilfe der CGTase zu Cyclodextrinen abgebaut. Bei der so genannten „non-solvent“-Technologie müssen die α -, β - und γ -Cyclodextrine anschließend einzeln abgetrennt werden.

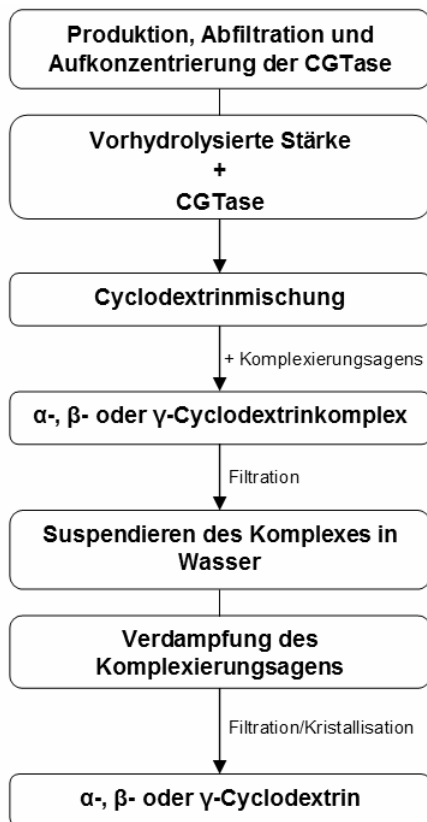


Abb. 2.6: Gewinnung der natürlichen Cyclodextrine [1]

Bei der „solvent“-Technologie werden schon während der enzymatischen Umsetzung geeignete Substanzen zugegeben, die mit einem der natürlichen Cyclodextrine schwerlösliche Komplexe bilden. Dadurch wird das gewünschte Homolog dem Gleichgewicht der enzymatischen Reaktion entzogen, und so seine Neubildung gesteigert. Üblicherweise werden zur Produktion von α -Cyclodextrin 1-Decanol, von β -Cyclodextrin Toluol und von γ -Cyclodextrin Cyclohexadecanol verwendet. Die unlöslichen Komplexe werden durch Filtration von der Mischung abgetrennt, in Wasser suspendiert und das komplexbildende Agens mit Hilfe von Destillation oder Extraktion entfernt. Die Abtrennung der Cyclodextrine aus dieser Lösung erfolgt durch Kristallisation und Filtration. Auf diese Weise können Produkte erhalten werden, die eine Reinheit von über 99 % aufweisen [1].

2.1.4 Moleküleigenschaften

Natürliche Cyclodextrine sind kristalline, homogene und nicht hygroskopische Substanzen, die unterschiedlich stabile Hydrate bilden [3]. Wie Saccharide sind sie chirale Moleküle [21].

Cyclodextrine besitzen keinen definierten Schmelzpunkt, sondern zersetzen sich ab etwa 200°C. Die thermoanalytischen Eigenschaften hängen ab von Wassergehalt, Kristallstruktur, Heizrate und den Umgebungsbedingungen [3,22].

Sie sind stabil im alkalischen Medium, im Säuren kommt es jedoch zur Hydrolyse [23,24]. Die C2- und C3-Hydroxylgruppen weisen pK_a -Werte von über 12 auf [25,26]. Weiterhin besitzen die Cyclodextrine keine reduzierenden Endgruppen [3].

Die Anzahl an Wassermolekülen in der Kavität (Tab. 2.1) steigt mit zunehmender Ringgröße. Je mehr Wassermoleküle hier lokalisiert sind, desto geringer ist der energetische Unterschied zum Bulkwasser ausgeprägt [3].

Die Eigenschaften der natürlichen Cyclodextrine sind in Tabelle 2.1 zusammengefasst.

Tab. 2.1: Charakteristische Eigenschaften der natürlichen Cyclodextrine

	α -Cyclodextrin	β -Cyclodextrin	γ -Cyclodextrin
Anzahl der Glucoseeinheiten [3]	6	7	8
Molare Masse [g/mol] [5][6][7]	973	1135	1297
Hohlraumdurchmesser [Å] [8]	4.7 - 5.3	6.0 - 6.5	7.5 - 8.3
Höhe des Kegelstumpfes [Å] [8]	7.9±0.1	7.9±0.1	7.9±0.1
Volumen des Hohlraumes [Å ³] [8]	174	262	472
Wassermoleküle in der Kavität [21]	6	11	17
pK _A -Wert (Potentiometrie, 25°C) [25][26]	12.332	12.202	12.081
Löslichkeit in Wasser (25°C) [g/l] [5][6][7]	145	18.5	232
Kristallform [3]	hexagonale Plättchen	monoklinische Parallelogramme	quadratische Prismen

Die bedeutendste Eigenschaft der Cyclodextrine ist ihre Fähigkeit Einschlusskomplexe zu bilden, welche sich aufgrund der speziellen Verteilung von hydrophilen und hydrophoben Molekülteilen ergibt. Die Kavität weist nämlich in Relation zum wässrigen Medium einen lipophilen Charakter auf. Dies ist zum einen auf die C3-, C5- und C6-Wasserstoffatome zurückzuführen, zum anderen auf die etherartigen Sauerstoffbrücken der glykosidischen Bindungen [8]. Ihre nichtbindenden Elektronenpaare sind in das Innere des Hohlraums gerichtet, was zu einer erhöhten Elektronendichte führt und der Kavität den Charakter einer Lewis-Base verleiht [3].

Betrachtet man die Wasserlöslichkeit der natürlichen Cyclodextrine (Tab. 2.1), so fällt die deutlich niedrigere Löslichkeit des β -Cyclodextrins im Vergleich zu seinen Homologen auf. Eine mögliche Erklärung ist die besondere intramolekulare Organisation der Wasserstoffbrückenbindungen. Am sekundären Hydroxylgruppenrand bildet sich hier ein Gürtel von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den C2- und C3-Hydroxylgruppen aus, was dem siebengliedrigen Ring eine starrere Struktur verleiht. Im α -Cyclodextrinmolekül ist dies aus sterischen Gründen nicht möglich, da eine Glucoseeinheit stark geneigt ist. γ -Cyclodextrin weist aufgrund seiner höheren Flexibilität eine nicht-coplanare Struktur, und somit die höchste Wasserlöslichkeit auf. [1] Bestimmte Gastmoleküle vermögen jedoch die Wasserlöslichkeit des β -Cyclodextrins zu erhöhen [27,28].

Die konformelle Flexibilität der Cyclodextrine wurde lange Zeit kontrovers diskutiert. Aufgrund von röntgendiffraktometrischen Untersuchungen ging man davon aus, dass sie eine starre Struktur aufweisen, was jedoch mit der Fähigkeit zur Komplexbildung mit verschiedensten Gästen nur schwer vereinbar ist [29]. Kernresonanzspektroskopische Messungen [30,31] sowie Molekulardynamik-Studien [32] deuten hingegen darauf hin, dass Cyclodextrine einen flexiblen Charakter aufweisen. Zudem unterliegen die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den sekundären Hydroxylgruppen des Cyclodextrins einem sog. „Flip-Flop“-Mechanismus [33]. Darunter versteht man einen schnellen Richtungswechsel der Wasserstoffbrückenbindungen, während dem sich die Geometrie der Cyclodextrine ändern kann, was auf einen signifikanten Grad an Flexibilität hinweist [29].

2.1.5 Cyclodextrin-Derivate

Durch die chemische Modifikation der natürlichen Cyclodextrine können Cyclodextrin-Derivate hergestellt werden. Somit kann einerseits auf die physikochemischen Eigenschaften der Cyclodextrine, andererseits aber auch auf ihr Verhalten gegenüber potentiellen Gastmolekülen Einfluss genommen werden.

Die natürlichen Cyclodextrine besitzen 18, 21 oder 24 Hydroxylgruppen, die einer chemischen Modifikation durch Veretherung oder Veresterung zugänglich sind (s. Abb. 2.7). Die C6-Hydroxylgruppen sind hierbei am reaktivsten. [3]

Im Handel sind meist statistisch modifizierte Derivate erhältlich. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit der selektiven Substitution an nur einer der Hydroxylgruppen [34]. Darüber hinaus können einzelne Bausteine der Cyclodextrine ausgetauscht werden [35] oder mehrere Cyclodextrine in Form von Polymeren verbunden sein [3].

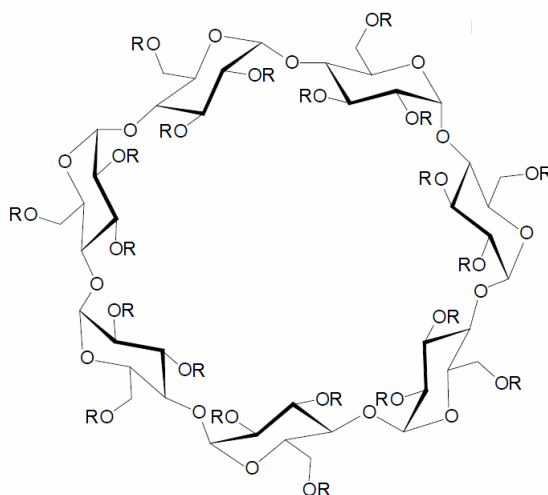


Abb. 2.7: Veretherbare und veresterbare Positionen des β -Cyclodextrins, nach [4,6]

Bis 1998 wurden mehr als 1500 Derivate synthetisiert, von denen bis jetzt jedoch aufgrund kostspieliger toxikologischer Untersuchungen und komplizierter Herstellungsweisen nur wenige pharmazeutische Anwendung gefunden haben [2]. Dazu zählen Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD), Hydroxypropyl- γ -Cyclodextrin (HP- γ -CD), Methyl- β -Cyclodextrin (RM- β -CD) und Sulfobutylether- β -Cyclodextrin (SBE- β -CD) [2].

Eine Derivatisierung des β -Cyclodextrins bietet sich an, da auf diese Weise dessen geringe Wasserlöslichkeit durch die Störung der Wasserstoffbrückenbindungen an den sekundären Hydroxylgruppen erheblich gesteigert werden kann (Tab. 2.2) [2].

Tab. 2.2: Wasserlöslichkeit pharmazeutisch relevanter Cyclodextrin-Derivate [2]

Derivat	Löslichkeit (g/l) (25°C)
HP- β -CD	> 600
RM- β -CD	> 500
HP- γ -CD	> 500
SBE- β -CD	> 500

Cyclodextrinderivate werden unter anderem als Separationsagenzien in der Chromatographie, als Katalysatoren, als Detergentien oder zur Einstellung der Viskosität eingesetzt [1].

2.1.6 Einsatzgebiete

Cyclodextrine finden heute vielfältige Anwendung in der Lebensmittel-, Kosmetik-, Textil- und Verpackungsindustrie [36]. Im pharmazeutischen Bereich werden sie meist als Hilfsstoff in den verschiedensten Darreichungsformen, wie beispielsweise in festen Arzneiformen, flüssigen Zubereitungen zur peroralen Einnahme, aber auch in parenteralen Zubereitungen, Dermatika, Rektalia, Vaginalia sowie in flüssigen Zubereitungen zur Anwendung am Auge oder in der Nase eingesetzt [3].

Dabei erfüllen Cyclodextrine mehrere Funktionen. Sie können Aromen oder gasförmige Stoffe fixieren oder flüssige Substanzen in den festen Zustand überführen. So wird beispielsweise Knoblauchöl mit β -Cyclodextrin in fester, geruchsarmer Form gebunden [3]. Darüber hinaus können Cyclodextrine die Stabilität von Wirkstoffen gegenüber Licht, Temperatur, Hydrolyse oder Oxidation erhöhen [37]. Als Beispiele seien hier Prostaglandin E₁ und E₂ genannt [38].

Durch den Einschluss in Cyclodextrine können zudem Reaktionen des Gastmoleküls mit anderen Stoffen unterbunden werden. So soll eine Verringerung von Inkompatibilitäten in einer Arzneiform zwischen Wirk- und Hilfsstoffen erreicht werden [3].

Sehr häufig werden Cyclodextrine und ihre Derivate zur Steigerung der Löslichkeit von schwerlöslichen Substanzen eingesetzt (s. Kap. 2.1.5) [3]. Dies kann sich positiv auf die Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen auswirken, die grundsätzlich über eine gute Membranpermeabilität verfügen, deren Resorption aber durch die geringe Wasserlöslichkeit limitiert wird [39].

Auch eine Kontrolle der Wirkstofffreisetzung wird durch den Einsatz von Cyclodextrinen ermöglicht. Schlecht lösliche Substanzen können mit Hilfe von hydrophilen Cyclodextrinen sofort freigesetzt werden, während ethylierte Cyclodextrine bei gut wasserlöslichen Substanzen mit kurzer Halbwertszeit eine verlängerte Freisetzung bewirken können. Auch modifizierte Freisetzungsprofile durch Kombination verschiedener Cyclodextrinkomplexe sowie eine Verzögerung der Wirkstofffreisetzung sind möglich [40].

2.2 Cyclodextrinkomplexe

2.2.1 Supramolekulare Verbindungen

Wirt-Gast-Komplexe, zu denen auch Cyclodextrinkomplexe gehören, sind so genannte supramolekulare Verbindungen. Die supramolekulare Chemie ist ein interdisziplinäres Forschungsgebiet, dessen Grundstein von Charles J. Pedersen, Jean-Marie Lehn und Donald J. Cram gegen Ende der 60er Jahre des letzten Jahrhunderts gelegt wurde [41]. Im Gegensatz zu Einzelmolekülen, in denen kovalente Bindungen für den Zusammenhalt verantwortlich sind, herrschen in supramolekularen Verbindungen schwache, reversible Wechselwirkungen zwischen mehreren Molekülen vor [41]. Dabei können Coulomb-Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, Van-der-Waals-Wechselwirkungen, hydrophobe Wechselwirkungen und π -Wechselwirkungen beteiligt sein [41]. Die Gesamtheit all dieser Interaktionen ist für die strukturelle Ordnung dieser Molekülverbände verantwortlich [42]. In diesem Zusammenhang spielt das Phänomen der so genannten molekularen Erkennung (molecular recognition) eine besondere Rolle, da supramolekulare Verbindungen aufgrund von passgenauen Bindungsstellen bestimmter Größe und Form Moleküle selektieren können [41].

2.2.2 Komplexbildung

2.2.2.1 Thermodynamische Grundlagen

Der Vorgang der Komplexbildung zwischen Cyclodextrin (CD) und Gastmolekül (G) ist ein Gleichgewichtsprozess, bei dem der Gast entweder in freier oder gebundener Form vorliegt [3]:

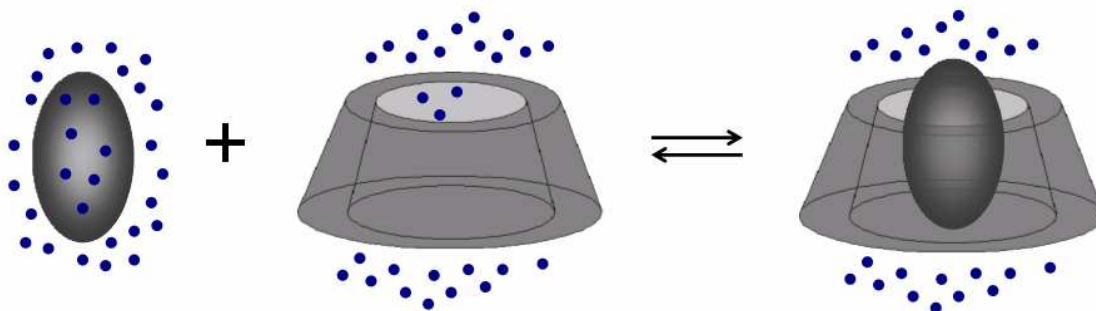


Abb. 2.8: Entstehung eines Einschlußkomplexes, nach [1]



Danach berechnet sich die Assoziationskonstante K_A nach:

$$K_A = \frac{[CD \cdot G]}{[CD] \cdot [G]} \quad (\text{Gl. 2.2})$$

und die Dissoziationskonstante K_D nach:

$$K_D = \frac{[CD] \cdot [G]}{[CD \cdot G]} \quad (\text{Gl. 2.3})$$

Die Assoziationskonstante K_A zeigt hierbei die Stabilität des Komplexes an. Die Werte liegen meist im Bereich von 0 bis 10^5 M^{-1} , können in Einzelfällen jedoch noch höher sein [43]. Ob die Komplexbildung ein spontaner Prozess ist, hängt von der Freien Reaktionsenthalpie ΔG ab, die sich aus einem enthalpischen und einem entropischen Beitrag zusammensetzt [44], was in der Gibbs-Helmholtz-Gleichung zum Ausdruck gebracht wird:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (\text{Gl. 2.4})$$

Zwischen der Freien Reaktionsenthalpie ΔG und der Assoziationskonstanten K_A besteht folgende Beziehung [45]:

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K_A \quad (\text{Gl. 2.5})$$

Nimmt ΔG Werte von < 0 an, liegt eine exergonische Reaktion vor, die spontan abläuft. Bei einer endergonischen Reaktion sind die Werte für $\Delta G > 0$ und die Reaktion läuft nicht spontan ab. Die Komplexbildung kann sowohl enthalpie- als auch entropiegetrieben sein. Da die Werte sowohl für ΔH^0 als auch für ΔS^0 häufig negativ sind, wird die Komplexbildung im Allgemeinen als enthalpiegetrieben betrachtet [46].

2.2.2.2 Triebkräfte und Ablauf der Komplexbildung

Bei der Komplexbildung steht eine Neuordnung der energetisch ungünstigen Hydrathüllen des freien, in Wasser schlecht löslichen Gastmoleküls und des Cyclodextrins im Vordergrund. Der relativ apolare Gast verdrängt dabei die enthalpiereichen Wassermoleküle aus der Kavität, die sich ihrerseits wieder im Bulkwasser einordnen [3,47]. Es wurde außerdem gezeigt, dass zusätzlich zu den

hydrophoben Wechselwirkungen auch Wasserstoffbrückenbindungen dem Komplex zusätzliche Stabilität verleihen können. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn hydrophile Molekülteile, wie beispielsweise aromatische Hydroxylgruppen aus dem Cyclodextrin herausragen und mit dessen Hydroxylgruppen in Wechselwirkung treten [47,48]. Weitere Beiträge können aus Konformationsänderungen oder einer nachlassenden Ringspannung des Cyclodextrins entstehen [47].

Der Ablauf der Komplexbildung lässt sich modellhaft in einzelne Schritte unterteilen [3]:

- 1) Die Wassermoleküle verlassen die Cyclodextrinkavität und nehmen den Energiezustand von Wassermolekülen in der Gasphase an. Entsprechend sinkt die Anzahl der Van-der-Waals'schen Wechselwirkungen und der Wasserstoffbrückenbindungen, die die Wassermoleküle mit dem Cyclodextrin eingehen, während die Freiheitsgrade der translationalen und drei-dimensionalen Rotation der freien Wassermoleküle steigen.
- 2) Handelt es sich um α -Cyclodextrin, sinkt die Konformationsenergie des Cyclodextrinrings.
- 3) Das hydrophobe Gastmolekül wird ebenfalls aus seiner Hydrathülle freigesetzt und erlangt den Zustand eines idealen Gases.
- 4) Das Gastmolekül dringt in die leere Cyclodextrinkavität ein und der Komplex stabilisiert sich durch Van-der-Waals'sche Interaktionen oder Wasserstoffbrückenbindungen.
- 5) Die freigesetzten Wassermoleküle kondensieren, werden somit in den flüssigen Zustand zurücküberführt und ordnen sich im Bulkwasser ein.
- 6) Der gebildete Komplex wird als Ganzes wieder von einer Hydrathülle umschlossen.

Die Molekülstrukturen von Gast und Wirt wirken sich natürlich erheblich auf die oben genannten Vorgänge aus. Das so genannte „size-fit“-Konzept sagt aus, dass der Komplex umso stabiler ist, je besser das Gastmolekül aufgrund seiner Größe in die Cyclodextrinkavität passt. Darüber hinaus können Van-der-Waals-Kräfte umso besser wirken, je exakter sich die Form des Gastmoleküls an den Hohlraum anpasst. [47]

2.2.2.3 Bindungskräfte in Cyclodextrinkomplexen

Zu den wichtigsten in Cyclodextrinkomplexen vorkommenden Bindungskräften zählen nicht-kovalente Wechselwirkungen wie Van-der-Waals-Kräfte, hydrophobe Wechselwirkungen und in einigen Fällen auch Wasserstoffbrückenbindungen [49]. Es handelt sich bei den genannten Typen um relativ schwache Kräfte, was an der Bindungsenergie erkennbar ist (Tab. 2.3). Diese liegt am niedrigsten für hydrophobe Wechselwirkungen, worunter man die Verdrängung von Wassermolekülen aus dem Bindungsbereich durch

die Bildung von Aggregaten apolarer Strukturen versteht [50].

Van-der-Waals-Kräfte werden in drei weitere Kategorien unterteilt [51]. Unter London-Kräften versteht man Dispersionskräfte, die bei nichtpolaren Molekülen auftreten. Es kommt hierbei zu einer gegenseitigen Beeinflussung der Elektronenbewegung. Man spricht auch von wechselseitig induzierten Dipolen. Bei Keesom-Kräften handelt es sich hingegen um Wechselwirkungen zwischen zwei bestehenden Dipolen, während Debye-Kräfte durch dipol-induzierte Dipole entstehen. Es liegt hier also ein permanenter Dipol vor, welcher in der Lage ist, einen Dipol in einem apolaren Molekül zu erzeugen. [50,51]

Unter Wasserstoffbrückenbindungen versteht man nichtkovalente Bindungen von positivierten Wasserstoffatomen an zwei oder mehrere andere Atome höherer Elektronegativität. Sie können sowohl intra- als auch intermolekular vorliegen [50].

Tab. 2.3: Intermolekulare Bindungskräfte in Cyclodextrinkomplexen [50]

Bindungstyp	Bindungsenergie [kJ/mol]
Hydrophobe Wechselwirkung	0 – 10
London-Kräfte (Dispersionskräfte)	1 – 20
Debye-Kräfte (Dipol-induz. Dipolkräfte)	1 – 50
Keesom-Kräfte (Dipol-Dipol-Kräfte)	1 – 50
Wasserstoffbrückenbindung	1 – 50
zum Vergleich: kovalente Bindung	100 – 1000

2.2.2.4 Enthalpie-Entropie-Kompensation

Unter dem Begriff Enthalpie-Entropie-Kompensation versteht man das Auftreten eines annähernd linearen Zusammenhangs zwischen den thermodynamischen Größen $T\Delta S^0$ und ΔH^0 für eine Reihe von an sich unabhängigen Reaktionen. Für ein bestimmtes Cyclodextrin würde dies beispielsweise bedeuten, dass mit verschiedenen Gästen unterschiedlich hohe enthalpische Beiträge ($\Delta\Delta H^0$) zur Komplexbildung erhalten werden, die mit einer proportionalen Änderung der entropischen Beiträge ($\Delta\Delta S^0$) einhergehen [47,52]. Dieser Zusammenhang kann mit Hilfe des Proportionalitätsfaktors α ausgedrückt werden:

$$T \cdot \Delta\Delta S^0 = \alpha \cdot \Delta\Delta H^0 \quad (\text{Gl. 2.6})$$

Durch Integration erhält man:

$$T \cdot \Delta S^0 = \alpha \cdot \Delta H^0 + T\Delta S_0^0 \quad (\text{Gl. 2.7})$$

Durch Kombination mit

$$\Delta G^0 = \Delta\Delta H^0 - T\Delta\Delta S^0 \quad (\text{Gl. 2.8})$$

erhält man:

$$\Delta\Delta G^0 = (1 - \alpha)\Delta\Delta H^0 \quad (\text{Gl. 2.9})$$

Die Steigung α zeigt an, zu welchem Teil eine Erhöhung des Enthalpiegewinns ($\Delta\Delta H^0$) durch Steigerung des Entropieverlustes ($\Delta\Delta S^0$) kompensiert wird. $1-\alpha$ gibt an, welcher Anteil einer Enthalpiesteigerung zur Komplexstabilität beiträgt. Ein positiver Achsenabschnitt $T\Delta S^0_0$ impliziert, dass der Komplex auch stabil ist, wenn theoretisch kein Enthalpiegewinn ($\Delta H^0=0$) vorläge. Die Steigung α und der Achsenabschnitt $T\Delta S^0_0$ können hinsichtlich der Stärke der Konformationsänderung und dem Ausmaß der Desolvatation interpretiert werden [47,52].

Dieser Effekt wurde für die Komplexbildung mit Cyclodextrinen, aber auch für andere Systeme beobachtet. Da dieser Zusammenhang mit Hilfe von thermodynamischen Grundlagen nicht begründbar ist, wird dieses Phänomen häufig kontrovers diskutiert. Hauptkritikpunkt ist, dass die Bestimmung von Enthalpie- und Entropieänderungen nicht unabhängig voneinander durchgeführt werden kann [47,52].

Rekharsky hat die Enthalpie-Entropie-Kompensation der natürlichen Cyclodextrine anhand von 1070 Datensätzen untersucht. Die Steigungen für die natürlichen Cyclodextrine betragen 0,79 für α -Cyclodextrin, 0,80 für β -Cyclodextrin und 0,97 für γ -Cyclodextrin [47,52].

Mit steigender Ringgröße nimmt also der Anteil des Enthalpiegewinns, der zur Komplexstabilität beiträgt ab. Dies kann auf die zunehmende Ringflexibilität, aber auch auf die wachsende Anzahl an Wassermolekülen, deren Eigenschaften sich dem Bulkwasser immer mehr annähern, zurückgeführt werden [47].

2.2.2.5 „Induced-Fit“

Mit Hilfe von Röntgenkristallstruktur-Untersuchungen konnte Saenger zeigen, dass α -Cyclodextrin-Komplexe sowohl in gespannter, als auch in relaxierter Form bildet [53]. Dies deutet darauf hin, dass es während der Komplexbildung zu Konformationsänderungen des Wirtes kommen kann. Dieses Phänomen wurde auch bei Enzym-Substrat-Bindungen beobachtet und wird „Induced-Fit“ genannt [54].

Die „Induced-Fit“-Theorie wurde von Koshland, aufbauend auf dem von Emil Fischer postulierten Schlüssel-Schloss-Prinzip entwickelt [54]. Während beim Schlüssel-Schloss-Prinzip Substrat und Enzym als starr betrachtet wurden, konnte mit Hilfe von spektroskopischen und röntgendiffraktometrischen Methoden gezeigt werden, dass durch Annäherung und Bindung eines Substrates an die aktive Bindungsstelle des Enzyms Konformationsänderungen ausgelöst werden können [53].

Saenger hat dieses Konzept auf Cyclodextrinkomplexe übertragen und folgerte, dass der

Entropiegewinn während der Komplexbildung nicht allein aus der Freisetzung von Wassermolekülen aus der Cyclodextrinkavität, sondern auch aus der induzierten Konformationsänderung resultiert [53].

Die Ergebnisse anderer Experimente deuten ebenfalls auf das Auftreten eines Induced-Fit hin. Beispielsweise konnten bei der Komplexbildung von Rocuronium mit einem γ -Cyclodextrinderivat Konformationsänderungen mit Hilfe von kalorimetrischen, UV-spektroskopischen und NMR-spektroskopischen Untersuchungen beobachtet werden [55]. Zudem zeigten theoretische Molekulardynamik-Simulationen das Auftreten eines Induced-Fit bei Komplexen aus β -Cyclodextrin und Puerarin oder Daidzin [56].

Eine Berücksichtigung dieser möglichen Konformationsänderungen ist also gerade bei theoretischen Betrachtungen von Cyclodextrinkomplexen nötig, um dem vorliegenden System gerecht zu werden [54].

2.2.3 Eigenschaften von Wirt-Gast-Komplexen

2.2.3.1 Komplexstruktur

Cyclodextrinkomplexe können in Abhängigkeit von Cyclodextrin, Gast und den äußeren Bedingungen in unterschiedlichen Formen auftreten. Eingeschlossene Gastmoleküle nehmen im Allgemeinen eine Orientierung in der Cyclodextrinkavität ein, die zu einer größtmöglichen Kontaktfläche zwischen den apolaren Molekülteilen des Gastes und dem Inneren der Kavität führt. Hydrophile Teile des Gastmoleküls orientieren sich in der Regel zum Lösungsmittel und zu den Hydroxylgruppen des Cyclodextrins hin [3].

Bei größeren Gastmolekülen können auch nur bestimmte Gruppen oder Seitenketten des Moleküls eingeschlossen werden. So sind verschiedene theoretische Einschlusstopologien denkbar:

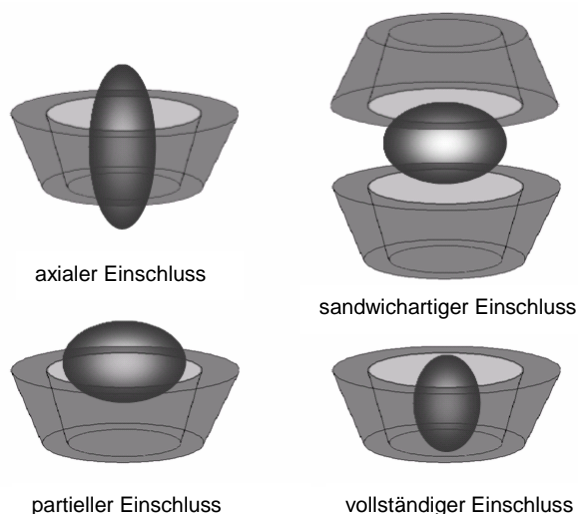


Abb. 2.9: Verschiedene Topologien von Einschlusskomplexen, nach [3,38,57]

Auch außerhalb der Kavität sind Wechselwirkungen zwischen beteiligten Molekülen möglich. Dies kann zu sogenannten Nicht-Einschlusskomplexen, aber auch zu höheren Strukturen aus freien und ungebundenen Formen der Reaktionspartner führen [58].

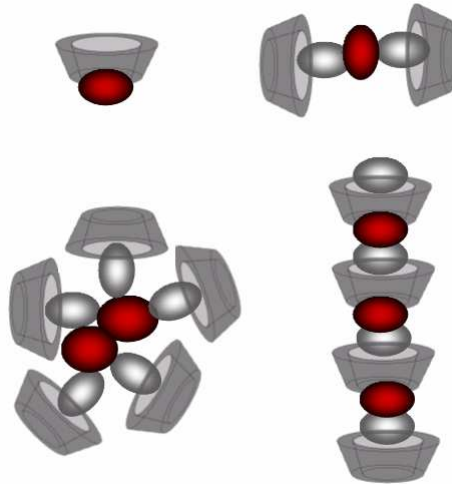


Abb. 2.10: Höhere Strukturen aus Cyclodextrin und Gastmolekülen, nach [58] (grau: eingeschlossener Wirkstoff; rot: nicht eingeschlossener Wirkstoff)

Der einfachste Fall ist, dass genau ein Cyclodextrin mit einem Gast in Wechselwirkung tritt. Neben solchen 1:1-Komplexen (Wirt : Gast), wie sie häufig in sehr verdünnten Lösungen vorliegen, können in Abhängigkeit von Cyclodextrin, Gast und den äußeren Bedingungen auch Komplexe höherer Ordnung bezüglich des Cyclodextrin- oder des Gastmoleküls mit Stöchiometrien wie z. B. 2:1, 1:2 oder 2:2 auftreten. [3]

Die Zusammensetzung der Komplexe in Lösung ist stark abhängig von der Konzentration der Reaktionspartner und kann sich von den Verhältnissen im festen Zustand unterscheiden. Auch können mehrere verschiedene Komplexstöchiometrien nebeneinander vorliegen. [3]

Kristalline Einschlusskomplexe können in drei verschiedenen Packungsarten vorliegen. Dazu gehören der Käfig-, der Schicht- und der Kanal-Typ – letzterer wird auch in „Kopf-an-Kopf“ und „Kopf-an-Ende“ unterteilt (Abb. 2.11) [9]. Der Käfig-Typ mit fischgrätenartiger Anordnung wird häufig bei kleinen Gastmolekülen, die vollständig in das Cyclodextrin eingeschlossen werden können, beobachtet. Die Kanalstruktur bildet eine Art Röhre, in die lange Moleküle eingeschlossen werden können. Der Schichttyp bildet sich dann aus, wenn das Gastmolekül so groß ist, dass ein Teil davon nicht eingeschlossen werden kann. Die Cyclodextrine liegen dabei in aneinander angrenzenden Ebenen, die um etwa ein halbes Molekül gegeneinander verschoben sind. Der nichteingeschlossene Teil des Gastes ragt dabei in den intermolekularen Raum hinein und steht in Kontakt mit dem Cyclodextrinmolekül der nächsten Ebene.

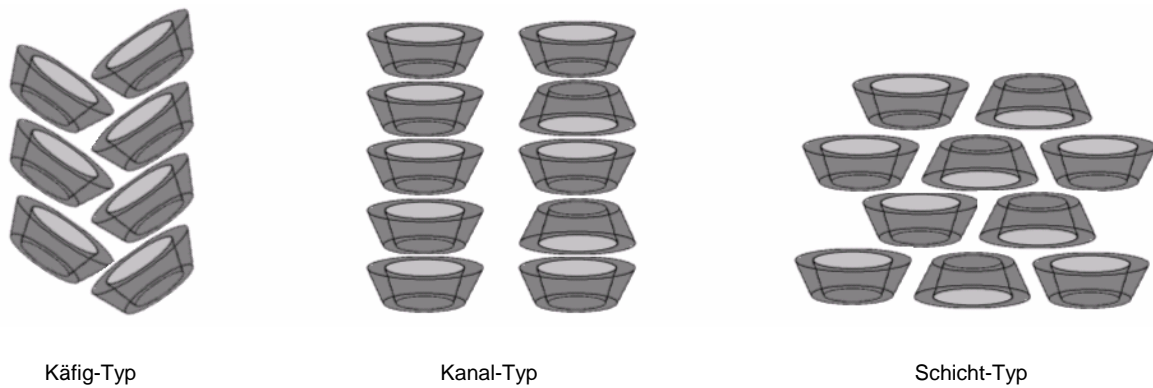


Abb. 2.11: Packungsarten von Cyclodextrinmolekülen in der Kristallstruktur, nach [9]

2.2.3.2 Konsequenzen der Komplexbildung für das Gastmolekül

Durch die Komplexbildung kann es zu zahlreichen Eigenschaftsänderungen des Gastmoleküls kommen, die vor allem für die Durchführung analytischer Untersuchungen bedeutend sind.

So können sich beispielsweise spektrale Eigenschaften des eingeschlossenen Moleküls ändern, was sich in der UV/Vis-Spektroskopie in Änderungen der spezifischen Absorption und damit in Signalverschiebungen bemerkbar machen kann. Darüber hinaus kann es zur Verstärkung von Fluoreszenz, Phosphoreszenz oder Lumineszenz sowie zur Induktion eines Zirkulardichroismus kommen. Besonders häufig macht man sich Änderungen von Signalen in Kernresonanzspektren zur Untersuchung von Cyclodextrinkomplexen zu Nutze. [3]

Des Weiteren kann die chromatographische Mobilität durch Hydrophilisierung hydrophober Gäste durch Komplexbildung beeinflusst werden. [3]

Auch stoffklassenabhängige Merkmale sind betroffen. Im Fall organischer Säuren oder Phenole kann sich zum Beispiel der pK_A -Wert in wässriger Lösung um mehr als eine Einheit verschieben, während sich beim Einschluss oberflächenaktiver Substanzen Änderungen in der Grenzflächenspannung oder der kritischen Mizellbildungskonzentration ergeben können. [3]

Aufgrund des erhöhten Molekulargewichts des Komplexes im Vergleich zum Gastmolekül kann es zu einer veränderten Diffusion kommen, was in Hinblick auf die Resorption bedeutsam ist. Auch der Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ist vermindert, wenn Cyclodextrin in der wässrigen Phase vorliegt. [3]

Die Reaktivität der Gastmoleküle kann durch die Abschirmung bestimmter Molekülteile eingeschränkt werden, was stabilisierende Effekte zur Folge haben kann.

Im festen Zustand liegt die Gastkomponente molekulardispers verteilt in einer Kohlenhydratmatrix vor und stellt ein mikrokristallines oder amorphes Pulver dar,

gegeben und ausfallender Komplex abgetrennt. Gerade bei dem in Wasser relativ schlecht löslichen β -Cyclodextrin bietet sich der Einsatz einer Cyclodextrinsuspension (slurry method) an.

- Knetmethode:

Aus Cyclodextrin, Gastmolekül und einer geringen Menge Wasser wird mit Hilfe von High-Shear-Mischern, Planetenmischern oder mit Mörser und Pistill eine pastenartige Komplexzubereitung hergestellt, welche anschließend getrocknet wird.

Darüber hinaus sollen schon bei der Mischung von reinem Cyclodextrin und Gast in Abwesenheit von Wasser Komplexe entstehen (dry mixing/co-grinding) [43,60]. Diese Methode hat sich jedoch als ineffizient erwiesen, da die Mischungszeit mehrere Tage in Anspruch nehmen kann [43]. Sie ist nur für wenige Ausnahmen, wie zum Beispiel Öle geeignet, die hier als Solvens für das Cyclodextrin fungieren [60]. Erwähnt werden soll außerdem die so genannte ‚Melting in solution‘-Technik, bei der die feste Gastsubstanz zu einer erwärmten wässrigen Cyclodextrinlösung gegeben wird [63]. Voraussetzung ist dafür, dass der Schmelzpunkt der Gastkomponente unterhalb der Temperatur der erwärmten Lösung liegt.

Unabhängig von der gewählten Methode kann die Trocknung der abgetrennten Komplexe unter anderem durch Abdampfung des Lösungsmittels, im Heißluftofen, durch Lyophilisation oder Sprühtrocknung erfolgen [43]. Anschließend kann der Komplex mit organischen Lösungsmitteln gewaschen werden [64].

2.3 Löslichkeitsstudien zur Untersuchung von Wirt-Gast-Wechselwirkungen

Das Ziel vieler Untersuchungen ist das Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast und der wirkenden Kräfte in Lösung, sowie die Charakterisierung von festen, isolierten Komplexen. Dabei steht häufig die Berechnung der Assoziationskonstanten sowie thermodynamischer Größen, darüber hinaus aber auch die Bestimmung der Komplexstöchiometrie im Mittelpunkt. Zahlreiche verschiedene analytische Methoden, wie Spektroskopie (UV/Vis-Spektroskopie, NMR-Titrationsen, CD-Spektroskopie, Fluoreszenz etc.), Kalorimetrie, Potentiometrie oder Chromatographie kommen dabei zum Einsatz [3,47].

Bei der Charakterisierung von festen Komplexen wird häufig ein Vergleich mit einer entsprechenden physikalischen Mischung der Reinsubstanzen gezogen. Zentrale Aspekte sind hier die Aufklärung der Struktur des Komplexes sowie die Bestimmung des eingeschlossenen Anteils des Gastmoleküls. Häufig werden hier unter anderem NMR-Spektroskopie, thermoanalytische Methoden, FT-IR-Spektroskopie, Massenspektrometrie sowie Röntgendiffraktometrie eingesetzt. [60]

Zur Untersuchung von Wechselwirkungen zwischen Wirts- und Gastmolekül von Cyclodextrinkomplexen werden häufig Studien des Löslichkeitsverhaltens durchgeführt, in denen die Löslichkeit des Gastes in Abhängigkeit von der Cyclodextrinkonzentration untersucht wird. Man geht dabei davon aus, dass Löslichkeitsänderungen des Gastes nur auf Komplexbildung zurückzuführen sind. Dazu wird ein Überschuss der Gastkomponente zu Cyclodextrinlösungen ansteigender Konzentrationen gegeben. Nach Gleichgewichtseinstellung bei konstanter Temperatur werden ungelöste Anteile abgetrennt und der Gehalt des Gastes in Lösung mit einem geeigneten Verfahren bestimmt [59,65]. Durch graphische Auftragung der Ergebnisse entstehen so genannte Löslichkeitsisothermen oder Phasendiagramme (s. Kap. 2.3.1) [66].

Die von Higuchi und Connors entwickelte und 1965 veröffentlichte Methode berücksichtigt das Gibbs' sche Phasengesetz (Gl. 2.10) und wird deshalb in der Literatur als ‚phase-solubility analysis‘ bezeichnet [66]. Mit Hilfe der Phasenregel lässt sich die Anzahl der Freiheitsgrade in Abhängigkeit der vorhandenen Komponenten C sowie der nebeneinander vorliegenden Phasen P berechnen:

$$F = C - P + 2$$

$$(Gl. 2.10)$$

F Anzahl der Freiheitsgrade
C Anzahl der Komponenten
P Anzahl der Phasen

Neben der Charakterisierung des Löslichkeitsverhaltens anhand des entstehenden Phasendiagramms kann außerdem die Assoziationskonstante berechnet werden und in bestimmten Fällen eine Abschätzung der Stöchiometrie erfolgen [66].

2.3.1. Einteilung der Phasendiagramme

Phasendiagramme werden erhalten, indem die beobachtete molare Konzentration des Gastmoleküls gegen die molare Konzentration des vorgelegten Cyclodextrins aufgetragen wird. Die entstehenden Profile lassen sich in zwei Hauptklassen, A- und B-Typ, einteilen [59,65,66]:

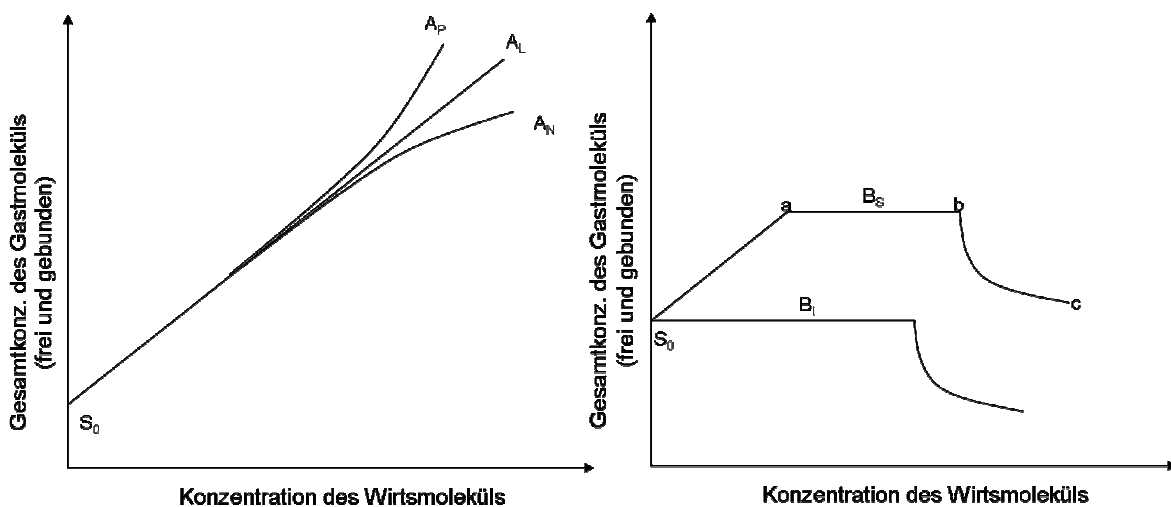


Abb. 2.13: Mögliche Profile in Löslichkeitsstudien; links: A-Typ, rechts: B-Typ, nach [66]

In Profilen des A-Typs steigt die scheinbare Löslichkeit des Gastmoleküls mit der Cyclodextrinkonzentration im gesamten untersuchten Bereich an. A_L -Profile zeigen einen linearen Anstieg der scheinbaren Löslichkeit. Nach Higuchi und Connors ist ein solcher Verlauf theoretisch zu erwarten, wenn alle sich bildenden Komplexe genau ein Cyclodextrinmolekül L enthalten, z. B. SL , S_2L , S_3L etc. (S =Gastmolekül). Entstehen Komplexe höherer Ordnung in Bezug auf das Cyclodextrinmolekül, z. B. SL_2 , SL_3 etc., so entstehen Profile des A_P -Typs. Die Entstehung einer negativen Abweichung (A_N) ist nicht abschließend geklärt. Sie könnte einerseits auf die Abnahme der Komplexbildungskonstante, andererseits aber auch auf eine so genannte Selbstassoziation der Cyclodextrinmoleküle bei höheren Konzentrationen hinweisen. Diagramme des A-Typs können entweder bei kompletter Solubilisierung des Gastmoleküls oder bei Überschreitung der Sättigungslöslichkeit des Wirtsmoleküls einen Knickpunkt erreichen [59,66].

Komplexe, deren Löslichkeiten unter der des Wirtsmoleküls liegen, zeigen B-Typ-Profile. Bei B_S -Typen ist der Komplex begrenzt löslich, während B_I -Diagramme für im Medium

unlösliche Assoziat erhalten werden. Das Diagramm des B_S-Typs (s. Abb. 2.13) lässt sich in drei verschiedene Segmente unterteilen [59,66]:

- S₀-a: Hier ähnelt der Verlauf dem A-Typ-Diagramm, d. h. mit steigender Cyclodextrinkonzentration nimmt die Löslichkeit des Gastmoleküls zu. An Punkt a ist die Löslichkeitsgrenze des Komplexes erreicht.
- a-b: Dieses Segment stellt ein Plateau dar. Eine weitere Zugabe von Cyclodextrin resultiert hier in der Präzipitation des Komplexes. Die Gastkonzentration in Lösung bleibt konstant, da bis zum Punkt b ein Überschuss an festem Gastmolekül vorliegt.
- b-c: Weitere Zugabe von Cyclodextrin führt zur Ausfällung der verbliebenen freien Gastmoleküle bis nur noch löslicher Komplex vorliegt.

Hat der ausfallende Komplex dieselbe Stöchiometrie wie der für den initialen Anstieg verantwortliche, so müsste theoretisch die Löslichkeitssteigerung (a-S₀) dem Niveau c entsprechen. Beim B₁-Profil ist keine initiale Löslichkeitssteigerung zu verzeichnen. Die Plateauhöhe entspricht deshalb der intrinsischen Löslichkeit des Gastmoleküls. [66]

Eine interessante Erkenntnis leitet sich aus der Anwendung des Gibbs' schen Phasengesetzes auf das B_S-Diagramm ab [66]:

Tab. 2.4: Anwendung des Gibbs'schen Phasengesetzes auf das B_S-Diagramm

Segment	C	P	F	Freiheitsgrade
S ₀ -a	3	2	3	T, P*, C _L
a-b	3	3	2	T, P*
b-c	3	2	3	T, P*, C _S

Anmerkung: P* = Druck [Pa]

Im dritten Segment des B_S-Diagrammes können nur zwei Phasen gleichzeitig nebeneinander vorliegen, da drei Freiheitsgrade gegeben sein müssen. Dies würde bedeuten, dass an einem gegebenen Punkt dieses Segments nur ein Komplex ausfallen kann. Mehrere Komplexe unterschiedlicher Stöchiometrien könnten höchstens als feste Lösung ausfallen [66].

2.3.2 Herleitung und Berechnung der Assoziationskonstanten

Unter der Annahme, dass ein einzelner Komplex S_mL_n für die Löslichkeitssteigerung des Gastmoleküls verantwortlich ist, kann nach Higuchi und Connors aus den Diagrammen der A-Typ-Isothermen sowie des linearen Teils des B_S-Profils die Assoziationskonstante berechnet werden [66]. Aus dem Massenwirkungsgesetz ergibt sich:

$$K = \frac{[S_m L_n]}{[S]^m [L]^n} \quad (\text{Gl. 2.11})$$

[S]	Konzentration des Gastmoleküls [M]
[L]	Konzentration des Cyclodextrins [M]
[S _m L _n]	Konzentration des Komplexes [M]
m	Anzahl der Gastmoleküle im Komplex
n	Anzahl der Cyclodextrinmoleküle im Komplex

Die einzelnen Konzentrationen der Komponenten können dabei folgendermaßen ausgedrückt werden [66]:

$$[S] = S_0 \quad (\text{Gl. 2.12})$$

$$[S_m L_n] = \frac{S_t - S_0}{m} \quad (\text{Gl. 2.13})$$

$$[L] = L_t - n \cdot [S_m L_n] \quad (\text{Gl. 2.14})$$

S_0 Sättigungslöslichkeit des Gastmoleküls in Abwesenheit von L [M]
 S_t Gesamtkonzentration des gelösten Gastmoleküls [M]
 L_t Konzentration des zugegebenen Wirtsmoleküls [M]

Für den Fall, dass es sich um Komplexe erster Ordnung bezogen auf das Wirtsmolekül handelt ($n=1$) ergibt sich durch Einsetzen von 2.12 – 2.14 in Gl. 2.11 und auflösen nach S_t folgende Geradengleichung mit S_0 als Ordinatenabschnitt [66]:

$$S_t = \frac{m \cdot K \cdot S_0^m \cdot L_t}{1 + K \cdot S_0^m} + S_0 \quad (\text{Gl. 2.15})$$

Die Steigung entspricht [66]:

$$\text{Steigung} = \frac{m \cdot K \cdot S_0^m}{1 + K \cdot S_0^m} \quad (\text{Gl. 2.16})$$

Liegen Komplexe im Verhältnis 1:1 vor ($m=1$), ergibt sich für die Assoziationskonstante:

$$K_{1:1} = \frac{\text{Steigung}}{S_0 \cdot (1 - \text{Steigung})} \quad (\text{Gl. 2.17})$$

2.3.3 Abschätzung der Stöchiometrie

Aus den erhaltenen Löslichkeitsisothermen kann unter bestimmten Voraussetzungen die Stöchiometrie eines Komplexes berechnet werden. Problematisch erscheint jedoch die Tatsache, dass häufig Komplexe unterschiedlicher Zusammensetzung nebeneinander existieren, worüber die Löslichkeitsprofile keine Auskunft geben können. Hier kann nur ein gewichteter Durchschnitt der vorhandenen Stöchiometrien errechnet werden. [59,66] Zunächst kann die Steigung des initialen Anstiegs Auskunft über mögliche stöchiometrische Verhältnisse geben. Dies trifft sowohl auf Profile des A-Typs als auch des B_S-Typs zu. Ist die Steigung größer als eins, kann man zum Beispiel davon ausgehen, dass m größer als 1 ist. [59,66]

Die Zusammensetzung von Komplexen, die das Löslichkeitsverhalten eines A-Typs

aufweisen, kann dann berechnet werden, wenn das Löslichkeitsprofil einen Knickpunkt aufweist (s. Kap. 2.3.1.1). Dabei wird das Verhältnis der absoluten molaren Löslichkeitssteigerung beider Komponenten, die sich durch die Komplexbildung ergibt, ermittelt [66]:

$$\frac{m}{n} = \frac{[S_p] - [S_0]}{[L_p] - [L_0]} \quad (\text{Gl. 2.18})$$

$[S_p]$	Konzentration des Gastmoleküls am Knickpunkt [M]
$[S_0]$	Intrinsische Löslichkeit des Gastmoleküls [M]
$[L_p]$	Konzentration des Cyclodextrins am Knickpunkt [M]
$[L_0]$	Intrinsische Löslichkeit des Cyclodextrins [M]

Die Plateaulänge einer B-Typ-Isothermen ist abhängig von der Menge des Überschusses der Gastkomponente und der Stöchiometrie des ausfallenden Komplexes. Wird im untersuchten Bereich das Ende des Plateaus erreicht, kann die Zusammensetzung des ausfallenden Komplexes berechnet werden [59,66]:

$$\frac{m}{n} = \frac{[S_z] - [S_a]}{[L_b] - [L_a]} \quad (\text{Gl. 2.19})$$

$[S_z]$	Gesamte Konzentration an zugegebenem Gastmolekül [M]
$[S_a]$	Konzentration des gelösten Gastmoleküls an Punkt a [M]
$[L_b]$	Konzentration des Cyclodextrins an Punkt b [M]
$[L_a]$	Konzentration des Cyclodextrins an Punkt a [M]

2.4 Grundlagen der Computerchemie

2.4.1 Grundlegende computerchemische Operationen

Computerchemische Methoden werden seit einigen Jahren in vielen Bereichen der Chemie angewendet. So werden auch im Bereich der Cyclodextrinforschung verschiedenste Techniken des Molecular Modelings eingesetzt.

Diese lassen sich prinzipiell in quantenmechanische (quantum mechanics, QM) und molekularmechanische Methoden (molecular mechanics, MM) unterteilen. Die Quantenmechanik zielt darauf ab, durch Lösung der Schrödingergleichung die räumlichen Positionen aller Elektronen und Kerne des Moleküls zu beschreiben. Bei so genannten ab initio Methoden wird eine vollständige Lösung der Gleichung angestrebt, was jedoch bei steigender Molekülgröße mit erheblichem Rechenaufwand verbunden ist. Semiempirische Verfahren arbeiten hingegen mit Näherungen und Abschätzungen von Teilergebnissen, um auch größere Systeme erfassen zu können [67].

In der Molekularmechanik hingegen wird auf eine explizite Behandlung der Elektronen verzichtet und stattdessen mit empirischen Kraftfeldern (force fields) gearbeitet. Diesem Ansatz liegen die Gesetze der klassischen Mechanik zu Grunde. Auch Molekulardynamiksimulationen greifen darauf zurück [67].

Die theoretischen Grundlagen der in der vorliegenden Arbeit angewendeten computerchemischen Techniken sollen im Folgenden genauer beschrieben werden.

2.4.1.1 Optimierung von Molekülstrukturen mit Hilfe von Kraftfeldern

Die Geometrieoptimierung von Molekülstrukturen erfolgt häufig mit molekularmechanischen Methoden, bei denen verschiedene Atomtypen modellhaft als Massepunkte unterschiedlicher Größe, die über Federn variierender Länge miteinander verbunden sind, betrachtet werden [67].

Die Gesamtenergie eines Moleküls E_{tot} setzt sich je nach verwendetem Kraftfeld aus verschiedenen Beiträgen zusammen [67]:

$$E_{\text{tot}} = E_{\text{str}} + E_{\text{bend}} + E_{\text{tors}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} + \dots \quad (\text{Gl. 2.20})$$

Dabei stellt E_{str} den Energieterm für die Bindungslänge, E_{bend} für den Bindungswinkel und E_{tors} für die Torsionswinkel dar. Zu den nichtbindenden Beiträgen gehören unter anderem die Van-der-Waals-Energie (E_{vdw}) sowie die elektrostatische Energie (E_{elec}) [67].

Es wird angenommen, dass die interatomaren Kräfte harmonisch sind, so dass von einer quadratischen Funktion zur Berechnung ihrer Energien ausgegangen wird:

$$E_{\text{str}} = \frac{1}{2} \cdot k_b \cdot (b - b_0)^2 \quad (\text{Gl. 2.21})$$

k_b Kraftkonstante
 b Bindungslänge
 b_0 Gleichgewichtsabstand

$$E_{\text{bend}} = \frac{1}{2} \cdot k_\theta \cdot (\theta - \theta_0)^2 \quad (\text{Gl. 2.22})$$

k_θ Kraftkonstante
 θ Bindungswinkel
 θ_0 Gleichgewichtswinkel

Der Torsionsenergie liegt eine Cosinus-Funktion zugrunde [67]:

$$E_{\text{tors}} = \frac{1}{2} \cdot k_\phi \cdot (1 + \cos(n\phi - \phi_0)) \quad (\text{Gl. 2.23})$$

k_ϕ Kraftkonstante
 ϕ Torsionswinkel
 ϕ_0 Gleichgewichtstorsionswinkel
 n Periodizität

Zur Beschreibung der Van-der-Waals'schen Interaktionen wird ein Lennard-Jones-Potential herangezogen [67]:

$$E_{\text{vdw}} = \sum \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \quad (\text{Gl. 2.24})$$

A_{ij} Abstoßungskoeffizient
 B_{ij} Anziehungskoeffizient
 r_{ij} Abstand zwischen den Atomen i und j

Der elektrostatische Term wird mit Hilfe der Coulomb-Gleichung beschrieben [67]:

$$E_{\text{elec}} = \frac{1}{\epsilon} \cdot \frac{Q_i \cdot Q_j}{r_{ij}} \quad (\text{Gl. 2.25})$$

Q_i, Q_j Ladungen der Atome
 ϵ Dielektrizitätskonstante
 r interatomarer Abstand

Die der Molekularmechanik zugrunde liegende Idee ist, dass für Bindungen ideale Winkel und Längen existieren, die durch die Kraftkonstanten des jeweiligen Kraftfeldes definiert und als Kraftfeldparameter bezeichnet werden. Die Startgeometrie eines Moleküls führt in der Regel zu einem Anfangsenergiezustand, der sich von dem für das Molekül charakteristischen Energieminimum unterscheidet.

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Beiträgen können auch weitere Terme, beispielsweise für Wasserstoffbrückenbindungen, mit einbezogen werden. [67]

2.4.1.2 Molekulardynamik-Simulationen

Zur Durchführung von Konformationsanalysen können verschiedene Techniken herangezogen werden. Problematisch sind hierbei vor allem Moleküle mit einer hohen Anzahl an rotierenden Bindungen. So resultieren aus systematischen Konformationsanalysen sehr große Datenmengen, während bei einer statistischen Suche wie der Monte Carlo Methode sehr hohe Rechenzeiten erforderlich sind. Diese Nachteile können mit Hilfe von Molekulardynamik-Simulationen umgangen werden. Mit Hilfe von

Kraftfeldern wird das zeitabhängige Bewegungsverhalten eines Moleküls simuliert. Dazu wird in regelmäßigen Zeitabständen die durch das zweite Newton'schen Gesetz gegebene Bewegungsgleichung gelöst:

$$F_i(t) = m_i \cdot a_i(t) \quad (\text{Gl. 2.26})$$

F_i	Kraft auf Atom i zum Zeitpunkt t
m_i	Masse des Atoms i
a_i	Beschleunigung des Atoms i zum Zeitpunkt t

Basierend auf den Anfangskordinaten eines Systems können Position und Geschwindigkeit der Atome zum Zeitpunkt t berechnet werden, wodurch neue Konformere entstehen. Häufig werden solche Simulationen bei erhöhter Temperatur durchgeführt, da so Energiebarrieren zwischen verschiedenen Konformationen leichter überwunden werden können [67].

2.4.1.3 Berechnung von Moleküloberflächen

Häufig werden in der Computerchemie Oberflächenbetrachtungen zur Charakterisierung von Molekülen herangezogen. Unter anderem werden die Van-der-Waals-Oberfläche, die Connolly-Oberfläche und die dem Lösungsmittel zugängliche Moleküloberfläche (solvent accessible surface) eines Moleküls berechnet (Abb.2.14). Zur Bestimmung der Van-der-Waals-Oberfläche werden die Van-der-Waals-Radien der einzelnen Atome herangezogen. Die Kugeln durchdringen sich dabei gegenseitig. Die Connolly-Oberfläche ist hingegen glatter. Sie entsteht, indem eine Kugel, die schematisch das Lösungsmittel darstellt, über die Van-der-Waals-Oberfläche rollt. Sie besteht zum einen aus der Kontaktfläche zwischen Van-der-Waals-Oberfläche und Lösungsmittel, zum anderen aus konkaven Segmenten, an denen keine Berührung zwischen Lösungsmittel und Van-der-Waals-Oberfläche besteht. Die lösungsmittelzugängliche Oberfläche entsteht durch die Verbindung der Mittelpunkte der Lösungsmittelkugeln und ist deshalb größer als die Van-der-Waals-Oberfläche (Abb. 2.14) [68].

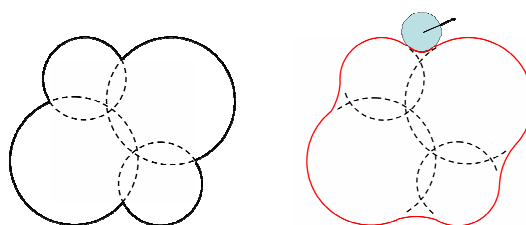


Abb. 2.14: Darstellung von Oberflächen; links: Van-der-Waals-Oberfläche (schwarz); rechts: Connolly-Oberfläche (rot); die solvent-accessible surface entsteht durch Verbindung der Mittelpunkte der Lösungsmittelkugeln bei deren Abrollen über die Van-der-Waals-Oberfläche, nach [68]

2.4.2 Cyclodextrine in der Computerchemie

In den letzten beiden Jahrzehnten wurde mit Hilfe computerchemischer Methoden durch unterschiedlichste Herangehensweisen versucht, zahlreiche zentrale Fragestellungen der Cyclodextrinforschung zu beantworten [69].

Von großem Interesse ist dabei die Untersuchung von strukturellen Eigenschaften der Cyclodextrine, wie beispielsweise die Flexibilität der glykosidischen Bindungen, die Orientierung der sekundären Hydroxylgruppen, elektrostatische Wiedererkennungsmuster [70], ihre Symmetrie [71,72], aber auch ihre Lipophilie [71] sowie der Vergleich mit anderen Cyclooligosacchariden [73]. Auch der Vergleich von Kristallstrukturen sowie die Erstellung von weiteren Initialstrukturen ist Gegenstand solcher Untersuchungen [69].

Dynamische Aspekte der Cyclodextrinstruktur wurden vor allem mit Hilfe zahlreicher Molekulardynamik-Simulationen untersucht [68,69,70,74,75,76]. Der in Kapitel 2.1.4 erwähnte Flip-Flop-Mechanismus konnte so beobachtet werden [70]. In „quenched dynamics“ konnte bei erhöhter Temperatur eine höhere Anzahl an Konformeren erhalten werden [69,76].

Daneben zielen viele Studien natürlich auf ein Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast ab. Dabei stehen energetische und strukturelle Gesichtspunkte im Vordergrund. Hinsichtlich der Bindungsenergien stellt sich vor allem die Frage, inwiefern sich die Energie eines Systems durch den Einschluss eines Gastmoleküls ändert und welche enthalpischen und entropischen Beiträge vorliegen [69]. Eine wichtige Rolle spielt die Untersuchung von quantitativen Struktur-Aktivitätsbeziehungen, so genannte QSAR-Analysen, in denen mit Hilfe mathematischer Modelle verschiedene Einflüsse auf den Bindungsprozess erfasst werden, und so die Vorhersage für den Einschluss unbekannter Moleküle ermöglicht werden soll [69]. Für detaillierte Informationen wurden jedoch meist Methoden der Molekularmechanik und -dynamik genutzt. Eine weitere interessante Vorgehensweise ist die so genannte „free energy perturbation“. Dabei werden Molekulardynamik-Simulationen durchgeführt, in denen sich verwandte Moleküle mit unterschiedlichen Substituenten ineinander umwandeln, wobei $\Delta\Delta G$ ($\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{Reaktion 1}} - \Delta G_{\text{Reaktion 2}}$) berechnet wird [77]. Darüber hinaus wird das Gastmolekül häufig im Rahmen von Docking-Studien und Molekulardynamik-Simulationen schrittweise durch den Cyclodextrinhohlraum geschleust. Dabei wird an verschiedenen Punkten die Energie berechnet [69,78,79]. Energieplots können dann zeigen, welche Seite des Cyclodextrins für den Eintritt des Gastes bevorzugt wird [69]. Strukturelle Betrachtungen wurden angestellt, um zum einen die relative Orientierung des Gastes und somit wirksame Bindungskräfte abzuschätzen, zum anderen aber auch um

die Form des Cyclodextrins vor und nach der Komplexbildung auf das Auftreten eines ‚induced-fit‘ hin zu untersuchen [69,80]. Auch Berechnungen der Kontaktflächen können Aufschluss über die Komplexstruktur geben [81].

Darüber hinaus wurden viele Anstrengungen unternommen, die Mechanismen der so genannten Molekularen Wiedererkennung (molecular recognition) zu verstehen [69]. Dabei wurde unter anderem der Einfluss von Substituenten des Wirtsmoleküls mit unterschiedlicher Größe, Ladung und Polarisierbarkeit untersucht, um Vorhersagen zu ermöglichen, welche Cyclodextrineigenschaften den Einschluss eines Gastmoleküls positiv beeinflussen [69,82]. Computerchemische Studien können auch die Interpretation von Daten aus NMR- oder UV/Vis-Spektren erleichtern [69].

Für alle Methoden trifft allerdings zu, dass aufgrund der Molekülgröße der Cyclodextrine und ihrer zahlreichen rotierbaren Bindungen die zur Verfügung stehenden Techniken der Computerchemie teilweise nur bedingt nutzbar sind [69]. So sind laut Dodziuk [83] quantenmechanische Berechnungen ungeeignet, da sie die nichtbindenden Wechselwirkungen in Cyclodextrin-Gast-Komplexen nicht berücksichtigen. Zudem wird der entropische Beitrag der Komplexbildungsreaktion vernachlässigt [83]. Ein weiteres Problem stellt die Durchführung der Berechnungen im Medium Wasser dar.

Häufiger werden molekularmechanische Methoden angewendet. Hier ist die Auswahl eines für Kohlenhydrate geeigneten Kraftfeldes problematisch. Der größte Schwachpunkt der meisten Kraftfelder liegt darin, gleichzeitig Konformation sowie intermolekulare Wechselwirkungen der Moleküle korrekt zu beschreiben [84]. Mehrere Arbeiten haben sich mit dieser Problematik beschäftigt. So wurden verschiedene Kraftfelder und Parametersets zur Anwendung bei Kohlenhydraten verglichen [85] oder Versuche unternommen, vorhandene Kraftfelder zu modifizieren [86].

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass Cyclodextrine sehr viele Minima auf ihrer potentiellen Energieoberfläche haben, so dass es nicht ausreicht, nur ein einzelnes Konformer in die Untersuchungen einzubeziehen [78].

2.4.3 Docking-Studien und AutoDock

Das Ziel von Docking-Studien ist die Vorhersage der räumlichen Anordnung von miteinander wechselwirkenden Molekülen. Nachdem unter Anwendung eines Docking-Algorithmus eine Reihe möglicher Strukturen generiert wird, erfolgt die Einordnung und Bewertung dieser Ergebnisse mit Hilfe einer so genannten Scoring-Funktion [87]. Meist werden in Docking-Studien nur Konformationsänderungen des Liganden berücksichtigt [88], was bei Cyclodextrinen, die sehr viele rotierbare Bindungen besitzen problematisch erscheint. Um dem Rechnung zu tragen, wurde beispielsweise die Strategie des inversen Dockings entwickelt, in dem der Ligand starr gehalten wird, und sich das Cyclodextrin um

den Wirkstoff herum anpasst [89].

Im verwendeten Docking-Programm AutoDock 3.0.5 [90] kommt ein so genannter ‚genetic algorithm‘ zum Einsatz. Diese Art von Suchalgorithmen nutzt Ideen, die auf den Prinzipien der natürlichen Genetik aufbauen. So stellen Zustandsvariablen wie Translation, Orientierung und Konformation des Liganden den Genotyp dar, während seine Koordinaten den Phänotyp wiedergeben. Als Scoring-Funktion wird die auf den Grundlagen der Molekularmechanik basierende Freie Bindungsenthalpie herangezogen [90]. Nach dem Hess' schen Satz [45], der festlegt, dass die Änderung der Freien Bindungsenthalpie zwischen zwei Zuständen unabhängig vom Weg stets gleich ist (Abb.2.15), ergibt sich diese aus folgenden Teilbeiträgen [91]:

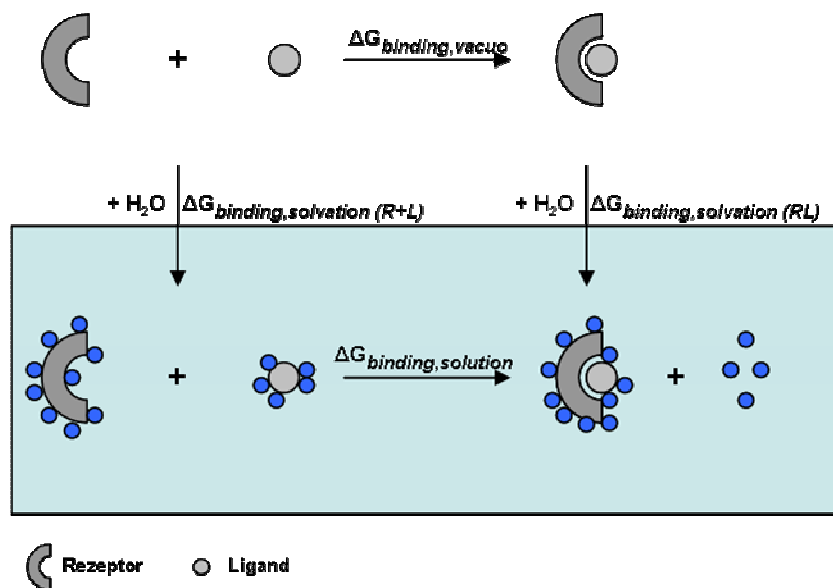


Abb. 2.15: Thermodynamik der Rezeptor-Ligand-Bindung in Lösung und Ersatzprozesse nach [91]

$$\Delta G_{\text{Bind/Lsg}} = \Delta G_{\text{Bind/Vakuum}} + \Delta G_{\text{Solv(RL)}} - \Delta G_{\text{Solv(R+L)}} \quad (\text{Gl. 2.27})$$

Da während der Docking-Simulation die Änderung der Freien Bindungsenthalpie in Vakuum $\Delta G_{\text{Bind/Vakuum}}$ berechnet wird, und die Änderung der Freien Solvationsenthalpie für die einzelnen Komponenten $\Delta G_{\text{Solv(R+L)}}$ sowie für den Komplex $\Delta G_{\text{Solv(RL)}}$ berechnet werden können, ist es möglich die Änderung der Freien Bindungsenthalpie in Lösung $\Delta G_{\text{Bind/Lsg}}$ zu erhalten. Die Platzierung des Liganden erfolgt mit Hilfe eines vorher um den Rezeptor konstruierten Gitters, das eine bestimmte Anzahl von Gitterpunkten in definierten Abständen besitzt, in Form so genannter ‚grid maps‘ (s. Anh. 8.4.5) [91]. An jedem Gitterpunkt wird die Affinität zu verschiedenen Atomtypen berechnet und daraus eine plausible Position des Liganden ermittelt.

2.5 Veröffentlichungen zu Cyclodextrinen

Die vorhandene Literatur zu Cyclodextrinen und ihren Komplexen ist aufgrund des großen Potentials dieser Stoffklasse sehr umfangreich. Die meisten Veröffentlichungen lassen sich grob vier großen Bereichen zuordnen. Ein Großteil beschäftigt sich mit den Grundlagen der Cyclodextrinchemie und -technologie, also ihren physikochemischen, chemischen und toxikologischen Eigenschaften sowie mit ihrer Enzymologie, Produktion und möglichen Derivatisierungen. Des Weiteren sind natürlich alle Arten von Einschlusskomplexen, die Cyclodextrine bilden können, und deren Eigenschaften von Interesse. Pharmazeutische Anwendungen und analytische Verfahren mit Cyclodextrinen sind ebenfalls häufig zu finden [1].

Schon 1998 verwies Szejtli auf den Umfang der Cyclodextrinliteratur und auf die Problematik, die eine Literaturrecherche zu diesem Thema aufwirft. Schon damals war es aufgrund der Fülle an Publikationen für Wissenschaftler nahezu unmöglich, die vorhandene Cyclodextrinliteratur komplett zu erfassen, korrekt zu interpretieren und wichtige Texte von so genannten „me-too“-papers, die keine neuen Aspekte beinhalten, zu unterscheiden [1]. 1998 lag die Anzahl der Publikationen bei über 15000 [1]. Insgesamt kann ein exponentieller Anstieg verzeichnet werden. Wurden im Jahr 1951 lediglich zwei Arbeiten veröffentlicht, so waren es im Jahr 1997 1708 und im Jahr 2009 sogar 4004 Publikationen. Eine Recherche mit Hilfe des SciFinder Scholar (Stand: 24.02.2011) lieferte bei der Eingabe des Schlagwortes „cyclodextrin“ 55863 Treffer. Davon waren etwa 80 % Veröffentlichungen in Journals. Erschwerend kommt hinzu, dass hier nicht nur Arbeiten von Cyclodextrinexperten enthalten sind, sondern häufig Ergebnisse von Arbeitsgruppen vorliegen, bei denen der Einsatz von Cyclodextrinen nur einer von mehreren Aspekten ist. Zudem sind die Fragestellungen häufig sehr punktuell. Viele Arbeitsgruppen beschäftigen sich lediglich mit einem oder zwei Gastmolekülen, so dass die übergreifende Bewertung einer Wirkstoffstoffgruppe nicht möglich ist. Ein Vergleich von Ergebnissen verschiedener Herkunft kann aufgrund unterschiedlicher Methodik und Vorgehensweise oft nur eingeschränkt erfolgen. Tabelle 2.5 liefert Daten zur Literatur der Gastmoleküle dieser Arbeit.

Tab. 2.5: Daten zur Literaturrecherche mit SciFinder Scholar (Stand: 24.02.2011)

	Anzahl der Treffer (Suche: Wirkstoff + Cyclodextrin)	Anzahl der Treffer nach Einschränkung auf β -Cyclodextrin	Jahr der ersten Publikation	Jahr der höchsten Publikationszahl (Anzahl)	Anzahl der insgesamt beteiligten Autoren
Ibuprofen	543	428	1977	2008 (48)	1473
Ketoprofen	364	292	1977	2008 (28)	916
Naproxen	367	289	1987	2008 (24)	727
Flurbiprofen	230	171	1981	2004 (15)	567
Fenbufen	33	21	1984	2005 (6)	101
Felbinac	33	22	1989	2010 (4)	86

Es wird deutlich, dass mit jedem der Gastmoleküle schon Versuche durchgeführt wurden. Die meiste Literatur liegt für Ibuprofen vor. Es fällt auf, dass die Anzahl der Publikationen vom Jahr der ersten Veröffentlichung ständig anstieg, und in den letzten Jahren ihren Höhepunkt erreicht hat. Besonders problematisch zu bewerten ist dabei die Anzahl der insgesamt an den Veröffentlichungen beteiligten Autoren. So waren an 543 Veröffentlichungen zu Ibuprofen 1473 verschiedene Autoren beteiligt. Dies zeigt, dass sich sehr viele verschiedene Arbeitsgruppen mit der Thematik beschäftigen und so zwangsläufig unterschiedliche Versuchsbedingungen vorliegen. Dies ist von Bedeutung da beispielsweise der pH-Wert bei sauren Gastmolekülen für die Tendenz zur Komplexbildung eine erhebliche Rolle spielt.

Ein detaillierter Überblick, welche Versuche für die einzelnen Gastmoleküle schon durchgeführt wurden und welche Arbeitsgruppen daran beteiligt waren, ist in Anhang 8.1 in tabellarischer Form dargestellt.

3 Arbeitskonzept

Obwohl schon viele Studien zu Cyclodextrinen und ihren Komplexen durchgeführt wurden (s. Kap. 2.5) ist eine abschließende Beurteilung aufgrund der punktuellen Datenlage und verschiedenen Versuchsbedingungen bislang nicht möglich. Es ist auch heute nicht vorhersehbar, welche strukturellen und physikochemischen Eigenschaften der Komplex eines bestimmten Gastes mit einem gewählten Cyclodextrin haben wird. Dies wäre jedoch für eine breite Anwendung dieser vielseitigen Hilfsstoffklasse Voraussetzung.

In der vorliegenden Arbeit sollten deshalb die Wechselwirkungen einer ausgewählten Arzneistoffgruppe mit den natürlichen Cyclodextrinen unter vergleichbaren Versuchsbedingungen untersucht werden und somit punktuelle oder unvollständige Ergebnisse ergänzt werden.

Um den Einfluss einerseits verschiedener Grundgerüste und andererseits unterschiedlicher funktioneller Gruppen auf die Komplexbildung zu untersuchen, wurde die Gruppe der nichtsteroidalen Antiphlogistika mit den Wirkstoffen Ibuprofen, Ketoprofen, Naproxen, Flurbiprofen, Felbinac sowie Fenbufen ausgewählt. All diese Gastmoleküle weisen dieselbe funktionelle Gruppe als Gemeinsamkeit auf, unterscheiden sich in der übrigen Molekülstruktur jedoch teilweise erheblich. Ibuprofen weist eine Benzolstruktur, Ketoprofen ein Benzophenongerüst, Naproxen ein Naphthalingerüst und Flurbiprofen eine Biphenylstruktur auf. Die beiden Wirkstoffe Felbinac und Fenbufen gehören ebenfalls letzterer Gruppe an, tragen jedoch verschiedene Substituenten.

Die zur Aufklärung der Komplexbildung und -struktur durchgeführten Experimente gliedern sich in drei Bereiche:

- Untersuchung der Wechselwirkungen im wässrigen Medium

Nach Klärung, welches Cyclodextrin die stärksten Wechselwirkungen mit dem jeweiligen Wirkstoff eingeht, sollten das Löslichkeitsverhalten des Komplexes sowie verschiedene Einflüsse, wie Temperatur oder pH-Wert auf den Komplexbildungsvorgang untersucht werden. Thermodynamische Daten sollten mit Hilfe der Isothermalen Titrationskalorimetrie gewonnen werden. Darüber hinaus sollten kernresonanzspektroskopische Untersuchungen Hinweise auf die Komplexstöchiometrie liefern und zur strukturellen Aufklärung des Komplexes im wässrigen Medium beitragen.

- Entwicklung eines computerchemischen Modells zur Durchführung von Dockingstudien

Im Rahmen von Experimenten der Molekularmechanik durchgeführte Docking-Studien sollten nach energetischen und strukturellen Aspekten bewertet werden. Zudem sollte mit Hilfe von Molekulardynamik-Simulationen die Komplexstabilität beurteilt werden. Eine zentrale Frage sollte sein, ob das gewählte Modell Übereinstimmungen mit den experimentell erhaltenen Ergebnissen bietet und somit zu einer ersten Vorhersage der Wirts-Gast-Wechselwirkung geeignet wäre.

- Herstellung und Untersuchung von festen Komplexen

FT-IR-Spektren der Komplexe und ihrer physikalischen Mischungen sollten einen Beitrag zur strukturellen Aufklärung hinsichtlich der Orientierung des Gastmoleküls im Cyclodextrin, liefern. Eine quantitative Bestimmung des in die Kavität eingeschlossenen Wirkstoffanteils sollte mit Hilfe thermoanalytischer Methoden erfolgen.

Mit Hilfe dieser Arbeit sollte geklärt werden, ob sich die Wechselwirkungen von Arzneistoffen mit natürlichen Cyclodextrinen auf strukturelle Eigenschaften wie Grundgerüst oder funktionelle Gruppen oder auf physikochemische Eigenschaften zurückführen lassen, und ob eine Vorhersage solcher Wechselwirkungen aufgrund im Vorfeld ermittelter Daten auch für weitere Moleküle möglich wäre. Es soll damit ein Beitrag geleistet werden, dass Cyclodextrine in der Entwicklung von festen Arzneiformen gezielter eingesetzt werden können. Es wäre zum Beispiel denkbar, die Wirkstoffe fester Arzneiformen durchgehend in Cyclodextrine einzuschließen. So könnten aufgrund der Ausschaltung des Reaktionspotentials Inkompatibilitäten mit Hilfsstoffen oder anderen Wirkstoffen vermieden werden. Die Entwicklung der Arzneiformen könnte unter diesen Bedingungen unabhängig von der chemischen Natur des Wirkstoffes erfolgen und aufwändige Stabilitätsuntersuchungen könnten auf ein Minimum reduziert werden.

4 Materialien und Methoden

4.1 Materialien

4.1.1 Cyclodextrine

Die drei natürlichen Cyclodextrine α -, β - und γ -Cyclodextrin (Cavamax[®] W6 Pharma, Cavamax[®] W7 Pharma, Cavamax[®] W8 Pharma) wurden von der Wacker Chemie AG, München bezogen. Die Produkteigenschaften sind in Tabelle 4.1 dargestellt.

Tab. 4.1: Eigenschaften der CAVAMAX[®]-Cyclodextrine [5,6,7]

	α -Cyclodextrin	β -Cyclodextrin	γ -Cyclodextrin
Gehalt [%]	98,0 - 101,0	98,0 - 101,0	min. 98,0
Wassergehalt [%]	max. 10	max. 14	max. 11
Spezifische Rotation α_D^{20} [°]	147 – 152	160 – 164	174 – 180
Löslichkeit [g/l]	145	18,5	232
Molare Masse [g/mol]	973	1135	1297

Die jeweils verwendeten Chargen und CAS-Nummern sind in Anhang 8.2.1 aufgeführt.

4.1.2 Gastmoleküle

Die untersuchten Modellsubstanzen gehören zur Gruppe der nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs). Diese Wirkstoffe greifen im Körper in die Prostaglandinsynthese ein. Sie hemmen die Cyclooxygenasen (COX-1, COX-2) und damit die Überführung der Arachidonsäure in zyklische Endoperoxide, die Vorstufen der Prostaglandine. Dadurch wirken NSAIDs analgetisch, antipyretisch und antiphlogistisch. [92]

Als Gastmoleküle (Abb. 4.1) wurden zum einen die vier zur Gruppe der Arylpropionsäurederivate gehörenden Arzneistoffe (*RS*)-Ibuprofen, (*RS*)-Ketoprofen (*RS*)-Flurbiprofen und (*S*)-Naproxen gewählt. Sie alle sind durch ein chirales Zentrum und einen α -Methylsubstituenten am Phenyllessigsäuregerüst gekennzeichnet. Ihre Molekülstruktur unterscheidet sich hauptsächlich in ihrem aromatischen Grundkörper. Während dem Ibuprofen eine einfache Benzolstruktur zugrunde liegt, hat Ketoprofen ein Benzophenongerüst, Naproxen ein Naphthalingerüst und Flurbiprofen ein Biphenylgerüst. Zum anderen wurden noch Felbinac und sein Prodrug Fenbufen als Gastmoleküle ausgewählt, die wie Flurbiprofen eine Biphenylstruktur aufweisen. Gemeinsames Merkmal aller Gastmoleküle ist ihre Säurefunktion.

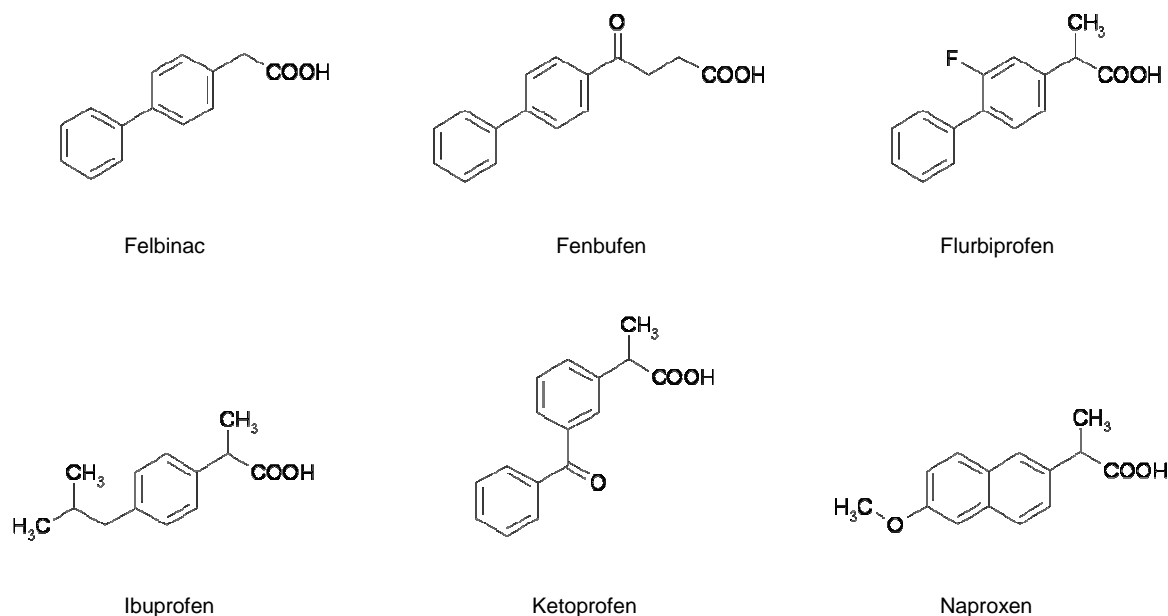


Abb. 4.1: Strukturformeln der als Gastmoleküle ausgewählten NSAIDs

Laut europäischem Arzneibuch sind diese Substanzen ‚praktisch unlöslich in Wasser‘ [4]. Lediglich Fenbufen wird als schwach in Wasser löslich eingestuft. Die Wasserlöslichkeit wurde im Rahmen dieser Arbeit bestimmt (s. Kap. 4.2.1.1 und 5.1.1).

Weitere, für die Durchführung der Experimente und die Interpretation der Ergebnisse relevante Eigenschaften der Gastmoleküle sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Tab. 4.2: Eigenschaften der Modellsubstanzen

Wirkstoff	Molare Masse [4] [g/mol]	Schmelzpunkt [4] [°C]	log P	pK _A -Wert
Ibuprofen	206,3	75 - 78	3,7 [93]	4,55 [93]
Ketoprofen	254,3	94 - 97	2,7 [93]	4,18 [93]
Naproxen	230,3	154 - 158	3,0 [93]	4,20 [93]
Fenbufen	254,3	186 - 189	3,1 [93]	5,60 [93]
Flurbiprofen	244,3	114 - 117	3,8 [93]	4,20 [93]
Felbinac	212,2	162 - 164	3,26 [94]	4,29 [94]

Anmerkung: Zum log P- und pK_A-Wert liegen in der Literatur verschiedene Angaben vor. Soweit vorhanden, wurden Werte aus [93] angegeben.

Es handelt sich bei allen Substanzen um schwache Säuren [95]. Die pK_A-Werte liegen in einem Bereich von 4,18 bis 5,60. Dies führt dazu, dass sie im alkalischen Medium deprotoniert vorliegen und sich gut lösen. Die Substanzen sind bei Raumtemperatur stabil. Lieferanten, verwendete Chargen sowie CAS-Nummern sind in Anhang 8.2.2 aufgeführt.

4.2 Untersuchungen zur Komplexbildung in Lösung

4.2.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Wirts- und Gastmolekül

Zunächst wurden die Interaktionen der Cyclodextrine mit den verschiedenen Gastmolekülen mit Hilfe von Löslichkeitsstudien untersucht. Dabei wurde der Einfluss der Ringgröße des Cyclodextrins, des pH-Wertes und der Temperatur auf die Komplexbildung bestimmt. Die grundlegende Vorgehensweise und Probenaufbereitung der Löslichkeitsstudien soll im Folgenden dargestellt werden.

4.2.1.1 Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle

Zur Bestimmung der Wasserlöslichkeit der Arzneistoffe wurden gesättigte Lösungen hergestellt. Eine ausreichende Menge an Substanz wurde in einem Messkolben vorgelegt und mit demineralisiertem Wasser versetzt. Diese Suspensionen wurden für 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt und anschließend für mindestens 24 Stunden mit einem Magnetrührer im Wasserbad mit 1000 Umdrehungen pro Minute bei der jeweiligen Temperatur (25°C, 35°C und 45°C) gerührt. Danach wurden die Lösungen bei gleichbleibender Temperatur, jedoch ohne Rühren für mindestens sechs Tage im Wasserbad belassen, so dass sich ein Gleichgewichtszustand zwischen Bodensatz und überstehender Lösung einstellen konnte. Vor der photometrischen Gehaltsbestimmung wurden die Lösungen durch Membranfilter (Rotilabo® Spritzenfilter CME) mit einer Porenweite von 0,22 µm filtriert und mit einer entsprechenden Masse NaOH 10 % (m/m) versetzt, so dass eine Gesamtkonzentration von 0,1 M NaOH vorlag. Die Lösungen wurden mit 0,1 M NaOH ergänzt und gegebenenfalls weiter verdünnt. Die photometrische Gehaltsbestimmung des Wirkstoffes erfolgte jeweils am Absorptionsmaximum (s. Anh. 8.3.1) der Wirkstoffe in 0,1 M NaOH mit dem Gerät Perkin Elmer UV/Vis Spectrometer Lambda 14. Die Geradengleichungen der Kalibriergeraden sind in Anhang 8.3.1 aufgeführt.

4.2.1.2 Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts der Cyclodextrine

Für die Herstellung von Lösungen definierten Cyclodextringehalts, wurde zunächst die Feuchtigkeit der Cyclodextrine mit einem Halogen Moisture Analyzer HR73 (Mettler Toledo) bestimmt. Als Trocknungsprogramm wurde die Standardtrocknung bei einer Temperatur von 120°C verwendet. Zur automatischen Beendigung wurde Abschaltkriterium 3 gewählt. Somit endete die Trocknung, sobald die mittlere Gewichtsabnahme geringer als 1 mg in 50 s war.

4.2.1.3 Herstellung von Pufferlösungen

Zur Untersuchung des Einflusses des pH-Wertes auf die Wechselwirkungen zwischen Arzneistoffen und Cyclodextrinen wurden 0,05 M Phosphatpufferlösungen mit den pH-Werten 4,5, 5,5 und 6,5 mit Natriumdihydrogenphosphat (Monohydrat) hergestellt [4]. Die Einstellung des jeweiligen pH-Werts erfolgte gegebenenfalls mit Natronlauge oder Phosphorsäure am pH-Meter Mettler Toledo Fe 20.

4.2.1.4 Herstellung von Lösungen aus Cyclodextrin und Gastmolekül

Die unter Einbeziehung des Feuchtigkeitsgehalts berechnete Cyclodextrinmasse wurde in einem Messkolben vorgelegt und mit demineralisiertem Wasser oder Pufferlösung bis zum erforderlichen Volumen aufgefüllt. Die Lösungen bzw. Suspensionen wurden mit einem Überschuss an Wirkstoff versetzt und mindestens 48 h mit 1000 Umdrehungen pro Minute bei der erforderlichen Temperatur (25°C, 35° C oder 45°C) im Wasserbad gerührt.

4.2.1.5 Probenaufbereitung und Gehaltsbestimmung

Die Lösungen bzw. Suspensionen wurden durch Einmalspritzenfilter (Rotilabo® Spritzenfilter CME) der Porenweite 0,22 µm filtriert und ein definiertes Volumen des Filtrats in einen Messkolben pipettiert. Dieses wurde mit einer entsprechenden Masse NaOH 10 % (m/m) versetzt, so dass die Lösungen eine Konzentration von 0,1 M NaOH aufwiesen. Anschließend wurde der Messkolben mit 0,1 M NaOH aufgefüllt und die Lösung gegebenenfalls weiter verdünnt. Die photometrische Gehaltsbestimmung des Wirkstoffes erfolgte mit einem Perkin Elmer UV/Vis Spectrometer Lambda 14 jeweils am Absorptionsmaximum der Wirkstoffe in 0,1 M NaOH (vgl. Anh. 8.3.1).

4.2.2 Isothermale Titrationskalorimetrie

Die Isothermale Titrationskalorimetrie (ITC) eignet sich zur Erstellung eines thermodynamischen Profils von Wirt-Gast-Komplexen. Häufig wird dabei die Lösung des Wirtsmoleküls zu einer Lösung des Gastmoleküls titriert und der Wärmeumsatz bei konstanter Temperatur ermittelt [67]. Neben der Stöchiometrie der Komplexe kann eine Reihe von thermodynamischen Parametern, wie zum Beispiel die Assoziationskonstante oder die Bindungsenthalpie bestimmt werden. Aus diesen Größen können dann die freie Reaktionsenthalpie sowie die Entropieänderung berechnet werden [67]. Dies ermöglicht eine Beurteilung, ob die vorliegende Reaktion eher enthalpie- oder entropiegetrieben ist. In Abbildung 4.2 ist das Ergebnis eines typischen ITC-Experiments dargestellt.

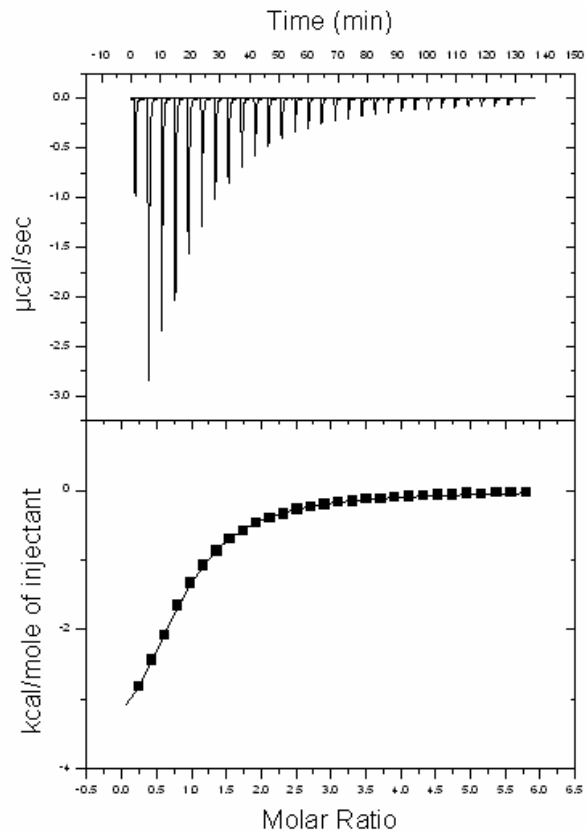


Abb. 4.2: Ergebnis eines typischen ITC-Experiments

Der obere Teil der Abbildung zeigt die Rohdaten einer Messung in $\mu\text{cal}/\text{sec}$ in Abhängigkeit von der Zeit. Jedes Signal steht hierbei für eine Injektion. Darunter ist das Ergebnis der Integration der einzelnen Peaks abgebildet. Dieses wird gegen das molare Verhältnis von Cyclodextrin zu Gastmolekül aufgetragen. Typisch ist ein sigmoidaler Kurvenverlauf, aus dem die thermodynamischen Größen berechnet werden [96,97].

Problematisch ist, dass auch weitere Prozesse zur Wärmetönung beitragen, die nicht aus der Komplexbildung resultieren, weshalb zusätzliche Verdünnungsexperimente durchgeführt werden sollten [67].

Zur exakten Bestimmung einer Bindungskonstante muss zum einen die Wechselwirkung zwischen Wirt und Gast stark genug sein, zum anderen ist die Löslichkeit der Komponenten ein limitierender Faktor. Der Wert für die Bindungskonstante sollte zwischen 10^3 und 10^8 M^{-1} liegen [52]. Zudem sollte der so genannte c -Wert (Gl. 4.1), der eine Abschätzung ermöglicht, ob eine akkurate Bestimmung möglich ist, Werte zwischen 1 und 1000 annehmen [67].

$$c = K_a \cdot [M] \cdot n$$

(Gl. 4.1)

K_a	Assoziationskonstante
$[M]$	Konzentration des Makromoleküls
n	Stöchiometrie

Die kalorimetrischen Titrationsexperimente wurden mit dem Gerät VP-ITC von MicroCal am Rudolf-Virchow-Zentrum in Würzburg durchgeführt. Das Gerät besteht aus einer Referenz- und einer Probenzelle, die von einem adiabatischen Mantel umhüllt sind (s. Abb. 4.3). Während eines Versuches ist die Referenzzelle mit 1,6 ml Puffer befüllt, die Probenzelle mit 1,6 ml Arzneistofflösung. Alle Lösungen wurden in Puffer mit einem pH-Wert von 4,5 hergestellt. In der Spritze befindet sich die Cyclodextrinlösung, die schrittweise zutitriert werden soll. Es wurden Konzentrationen gewählt, die mindestens 30-fach höher waren als die der Arzneistofflösung.

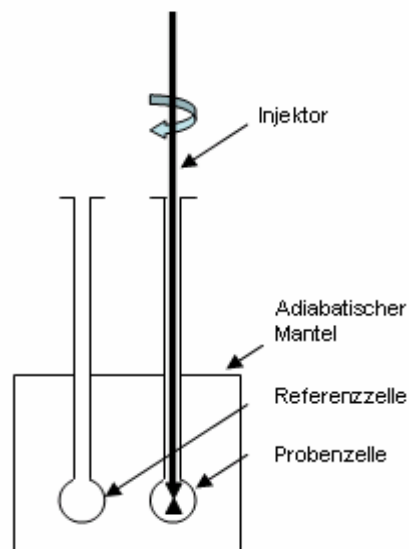


Abb. 4.3: Aufbau eines ITC-Geräts

Vor der Durchführung eines Experiments wurden alle benutzten Lösungen durch einen Membranfilter (Rotilabo® Spritzenfilter CME) der Porenweite 0,22 µm filtriert und unter Vakuum entgast, so dass keine Luftblasen mehr vorhanden waren. Die Zellen wurden vor der Befüllung mit Wasser, die Spritze mit Pufferlösung gespült. Die Spritze wurde zur Entfernung von Luftblasen nach dem Aufziehen der Cyclodextrinlösung mindestens einmal automatisch entleert.

Die Titration erfolgte vollautomatisch bei einer Temperatur von 25°C. Für das Experiment wurde eine Anfangsverzögerung von 60 s eingestellt. Die Rührgeschwindigkeit betrug 260 Umdrehungen pro Minute. Für das Ansprechverhalten (Feedback) wurde die Einstellung „high“, für die Gleichgewichtseinstellung der Komplexbildungsreaktion „fast equilibration“ gewählt.

Es wurden jeweils 30 Injektionen durchgeführt. Das Volumen der ersten Injektion betrug 3,5 µl, bei allen weiteren 10 µl. Der zeitliche Abstand zwischen den Injektionen wurde auf 270 s eingestellt, die Filterperiode auf 2 s.

Für jede Cyclodextrinkonzentration wurde außerdem ein Verdünnungsexperiment durchgeführt. Dazu wurde in der Zelle reine Pufferlösung vorgelegt und die jeweilige Cyclodextrinlösung zutitriert.

Die Auswertung erfolgte mit einem Zusatzprogramm von Origin 7® [98]. Es wurde dabei jeweils das Verdünnungsexperiment subtrahiert.

4.2.3 Kernresonanzspektroskopie

Da es häufig schwierig ist, einzelne Kristalle von Cyclodextrinkomplexen für eine Röntgenstrukturanalyse zu gewinnen, und andere Methoden oft nur indirekte Informationen über die Komplexbildung liefern, ist die Kernresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie) zu einer der bedeutendsten Methoden im Bereich der Cyclodextrinforschung geworden [98]. Untersuchungen der Komplexe in Lösung können mit Hilfe von ^1H -NMR- sowie ^{13}C -NMR-spektroskopischen Methoden durchgeführt werden. Während mit eindimensionalen Experimenten meist Daten zur Komplexbildung gesammelt werden, gewähren zweidimensionale Experimente einen Einblick in die Struktur des Komplexes. Die folgende Abhandlung beschränkt sich ausschließlich auf ^1H -NMR-spektroskopische Methoden, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden.

4.2.3.1 Grundlagen der ^1H -NMR-Spektroskopie

Voraussetzung für die Durchführung von NMR-Versuchen ist ein permanentes magnetisches Moment der zu untersuchenden Kerne, die durch einen sog. Kernspin (Drehimpuls) hervorgerufen werden. Darunter versteht man die Drehung eines Kerns um seine eigene Achse. Ob ein Atom einen Kernspin besitzt hängt von seiner Ordnungs- und seiner Massenzahl ab. Sind beide Zahlen gerade, so tritt kein Kernspin auf. Der Kernspin kann mit folgender Gleichung beschrieben werden [100]:

$$P = \frac{h}{2\pi} \cdot \sqrt{I \cdot (I + 1)} \quad (\text{Gl. 4.2})$$

P Kernspin
h Plancksche Konstante
I Spinquantenzahl

Kerne mit einer Spinquantenzahl von 0 weisen keinen Spin auf, während Kerne mit einer Spinquantenzahl von >0 ein magnetisches Moment besitzen. Wasserstoffkerne haben eine Spinquantenzahl von $\frac{1}{2}$ [100]. Bringt man diese in ein Magnetfeld ein, so können sie einen energieärmeren und einen energiereicheren Zustand einnehmen. Da mehr Moleküle im energieärmeren Zustand vorliegen ergibt sich ein Besetzungsunterschied. Durch Zufuhr von Energie in Form von Radiowellen können Wasserstoffatome in den energiereicheren Zustand übergehen (= Kernresonanz). Die Frequenz des Senders muss dabei der Präzessionsfrequenz des Kerns entsprechen. Liegt vor Einstrahlung der Radiowellen eine longitudinale Magnetisierung der Kerne vor, so tritt danach eine Quermagnetisierung derselben auf, d. h. die Achse des Präzessionsdoppelkegels eines Wasserstoffkerns ist nicht mehr in Richtung des äußeren Feldes ausgerichtet, sondern transversal dazu. Der Feldvektor rotiert dann senkrecht zum äußeren Magnetfeld und schneidet so die Empfängerspule wodurch ein sog. Kernresonanzsignal detektiert werden

kann. Die Protonen fallen anschließend wieder in ihren Ausgangszustand zurück. Dies bezeichnet man als Relaxation. Im Wesentlichen unterscheidet man hierbei die Spin-Gitter-Relaxation, bei der die Energie an die Umgebung der Substanz abgegeben wird, und die Spin-Spin-Relaxation, bei der die Energie an andere Kerne der Probe abgegeben wird [100,101].

Im ^1H -NMR-Spektrum wird die registrierte Energieaufnahme gegen die Stärke des äußeren Magnetfeldes aufgetragen. Die nötige Energie zur Überführung eines Protons in einen höheren Energiezustand hängt von den Bindungsverhältnissen der Atome ab, woraus sich dann die Lage eines Kernresonanzsignals im Spektrum ergibt. Dabei wird die chemische Verschiebung δ des Signals im Magnetfeld in ppm (parts per million) angegeben. Sie ist unter anderem abhängig von der Elektronendichte am Kohlenstoffatom, von Mesomerie- und Anisotropieeffekten, elektrischen Dipolen oder Van-der-Waals-Kräften. Die Auswertung eines ^1H -NMR-Spektrums erfolgt unter Zuhilfenahme der chemischen Verschiebung, der Integrationskurve und der Signalaufspaltungen, die sich durch Spin-Spin-Kopplungen ergeben [100,101].

Heute wird hauptsächlich die Puls-Fourier-Transformations-NMR-Spektroskopie eingesetzt, welche im Gegensatz zur früher angewendeten Continuous-wave-Technik eine höhere Empfindlichkeit aufweist. Hierbei werden mit einem breiten Hochfrequenzimpuls alle Protonen gleichzeitig angeregt, wodurch es zu einer Quermagnetisierung der Kerne kommt. Diese wird nach Beenden des Pulses wieder aufgehoben. Das abklingende Signal, auch als freier Induktionsabfall (free induction decay; FID) bezeichnet, wird in Abhängigkeit von der Zeit aufgenommen. Die Übertragung der Zeitdomäne in die Frequenzdomäne erfolgt mit Hilfe einer Fourier-Transformation. Der Vorteil dieses Verfahrens ist, dass in kurzer Zeit eine Vielzahl von Abklingkurven aufgezeichnet und anschließend addiert werden können [100,101].

Bei NMR-Untersuchungen von Cyclodextrinkomplexen sind einige Besonderheiten zu bedenken. Da meist die Komplexbildung im wässrigen Milieu von Interesse ist, werden solche Experimente in D_2O durchgeführt. Ein zu starkes Restwasser-Signal, das um ein vielfaches stärker ist als die Signale der zu analysierenden Probe, kann Störungen des FID hervorrufen. Dem kann einerseits durch mehrfache Lyophilisation der Probe und Wiederaufnahme in D_2O begegnet werden [102]. Andererseits gibt es verschiedene Methoden, um das Wassersignal zu unterdrücken, wie beispielsweise die „Presaturation“-Methode. Hier wird vor dem eigentlichen Anregungspuls ein schwacher Puls in die Probe eingestrahlt, der exakt auf der Frequenz des HDO-Signals liegt. So wird der Besetzungsunterschied der Lösungsmittelprotonen aufgehoben und eine Sättigung der Lösungsmittelprotonen erreicht. Da sich die Relaxationszeit der Protonen des Wassersignals stark von der Relaxationszeit der übrigen Protonen unterscheidet, liegen

bei der Datenaufnahme nur noch die Lösungsmittelprotonen im gesättigten Zustand vor, so dass kein HDO-Signal mehr entsteht. [102,103]

Des Weiteren gilt zu beachten, dass Cyclodextrine auch mit internen Standardsubstanzen wie TSP (3-(Trimethylsilyl)-Propionsäure-D₄) Wechselwirkungen eingehen können. Alternativ kann auf das HDO-Signal referenziert werden oder auf externe Standards zurückgegriffen werden [102,104].

4.2.3.2 Probenvorbereitung

Zunächst wurde je eine wässrige β -Cyclodextrinlösung und eine wässrige Wirkstofflösung mit gleicher molarer Konzentration in 0,1 M Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 6,5 hergestellt. Diese Lösungen wurden in den gewünschten Verhältnissen gemischt. Jeweils 4 ml der Mischungen wurden in Vials mit Hilfe von flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend mit einem Gefriertrockner Christ Alpha 1-4 lyophilisiert. Es wurde ein Vakuum von 0,160 mbar eingestellt. Das erhaltene Lyophilisat wurde mit 4 ml D₂O (99,92 % D, Deutero GmbH, Kastellaun) versetzt, gelöst und erneut in flüssigem Stickstoff eingefroren und lyophilisiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt mindestens viermal wiederholt, um das Restwasser und somit das HDO-Signal möglichst stark zu reduzieren.

4.2.3.2 „Complexation induced chemical shifts“ (CICS)

Die Komplexbildung kann mit der Veränderung der chemischen Verschiebung einhergehen, was zur Charakterisierung von Cyclodextrinkomplexen genutzt werden kann. So kann die Stöchiometrie von Cyclodextrinkomplexen unter anderem mit Hilfe der Methode der kontinuierlichen Variationen von molaren Konzentrationsverhältnissen (Job's Plot) abgeschätzt werden [105]. Dazu werden eindimensionale ¹H-NMR-Experimente mit Lösungen, in denen das molare Verhältnis von Wirt zu Gast variiert wird, die Summe der Konzentrationen aber konstant bleibt, durchgeführt. Anschließend wird die Veränderung chemischer Verschiebungen $\Delta\delta$ von Protonen, die von der Komplexbildung betroffen sind, bestimmt. Bei Cyclodextrinkomplexen eignen sich hierbei die Wasserstoffatome H3 und H5 des Cyclodextrins, da diese in die Kavität hineinragen und somit Wechselwirkungen mit den eingeschlossenen Gastmolekülen am ausgeprägtesten sein müssten. Zur Abschätzung der Stöchiometrie wird das Produkt aus molarem Cyclodextrinanteil X_H und $\Delta\delta$ gegen den molaren Cyclodextrinanteil X_H aufgetragen (s. Abb. 4.4). Die durchschnittliche Komplexstöchiometrie kann am Maximum der Kurve abgelesen werden [105].

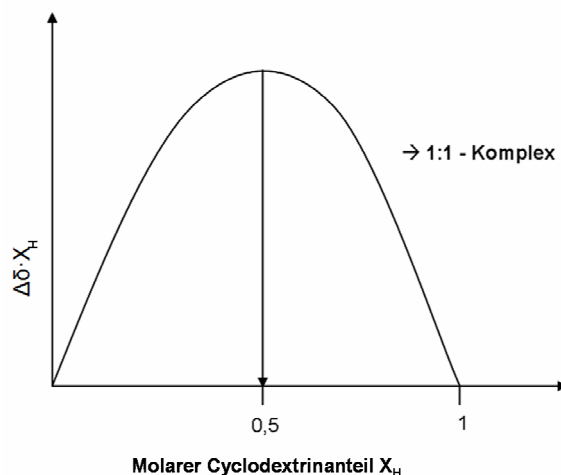


Abb. 4.4: Darstellung eines Job's Plots nach [105]

Zur Bestimmung von chemischen Verschiebungen wurden eindimensionale ^1H -NMR-Spektren mit dem Bruker Avance III (400MHz) mit Breitbandprobenkopf bei 298 K am Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie der Universität Würzburg aufgenommen. Die untersuchten Proben wiesen molare Verhältnisse (Cyclodextrin : Wirkstoff) von 3:1, 2:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:2 und 1:3 auf, wobei die molare Gesamtkonzentration von Cyclodextrin und Wirkstoff zusammen innerhalb der Messreihe eines Wirkstoffes konstant blieb. In Tabelle 4.3 ist jeweils die gewählte wirkstoffabhängige Gesamtkonzentration dargestellt. Außerdem wurde eine Probe vermessen, die nur β -Cyclodextrin enthielt. Zur Analyse wurden jeweils 0,75 ml dieser Lösungen in ein Schott Economic[®] Probenröhrchen überführt. Die einzelnen Messparameter sind in Anhang 8.3.4.1 dargestellt. Die Auswertung der chemischen Verschiebungen erfolgte im Programm Bruker Topspin[®] 3.0 [106]. Betrachtet wurden hierbei die Verschiebungen der H3- und H5-Wasserstoffatome des Cyclodextrins. Die Spektren wurden mit Hilfe des HDO-Signals übereinander gelegt, da kein interner Standard zugesetzt wurde.

Tab. 4.3: Gesamtkonzentration von Cyclodextrin und Wirkstoff einer Messreihe

Gastmolekül	Ketoprofen	Fenbufen	Felbinac	Ibuprofen	Flurbiprofen	Naproxen
Gesamtkonzentration [mmol/l]	3	0,3	3	3	3	3

4.2.3.3 2D-NMR-Experimente

Mit Hilfe von zweidimensionalen NMR-Experimenten können zum einen Resonanzüberlagerungen überwunden werden, zum anderen können aber auch Korrelationen zwischen Kernen aufgrund räumlicher Nähe oder aufgrund skalarer Kopplungen beobachtet werden. Die Aufnahme von zweidimensionalen NMR-Spektren

erfolgt in der Zeitdomäne, wobei zwei Zeitdimensionen (Evolutionszeit und Detektionszeit) vorliegen, die durch eine zweifache Fourier-Transformation in die Frequenzdomäne überführt werden [101,107].

Die prinzipielle Pulsfolge, die den zweidimensionalen NMR-Experimenten zugrunde liegt, ist in Abbildung 4.5 dargestellt [106].

Präparation → Evolution (t_1) → Mischung → Detektion (t_2)

Abb. 4.5: Phasen von zweidimensionalen NMR-Experimenten nach [106]

Während der Präparation werden transversale Magnetisierungen erzeugt. In der Evolutionszeit entwickeln sich diese unter Einwirkung des Magnetfeldes. Die Dauer der Phase t_1 wird schrittweise verlängert (inkrementiert). Sie stellt die zusätzliche Zeitdimension dar. Nach der sich anschließenden Mischzeit, die konstant gehalten wird, erfolgt wie im eindimensionalen NMR-Experiment die Detektionsphase t_2 [101,107].

Das entstehende zweidimensionale Spektrum stellt eine Aneinanderreihung von mehreren eindimensionalen Spektren dar, die sich in der Evolutionsdauer unterscheiden [106]. In Abhängigkeit von der gewählten Pulsfolge können verschiedene zweidimensionale Versuche durchgeführt werden. Dazu gehören TOCSY (Total correlation spectroscopy), COSY (Correlation spectroscopy), NOESY (Nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy) und ROESY (Rotating frame Overhauser enhancement spectroscopy). Bei TOCSY können Kopplungen aller verbundenen Wasserstoffkerne eines Spin-Systems beobachtet werden, während sie bei COSY über zwei bis drei Bindungen sichtbar gemacht werden können [101]. Bei NOESY und ROESY wird der so genannte Kern-Overhauser-Effekt (nuclear overhauser effect, NOE) ausgenutzt. Darunter versteht man die Signaländerung einer Kernsorte aufgrund einer Verschiebung des Populationsgleichgewichts einer anderen. Dieser Effekt tritt zwischen Kernen auf, die sich in räumlicher Nähe zueinander befinden (Abstand < ca. 3 Å). Die Pulsfolge eines ROESY-Experimentes ist in Abbildung 4.6 dargestellt [100,101,107].

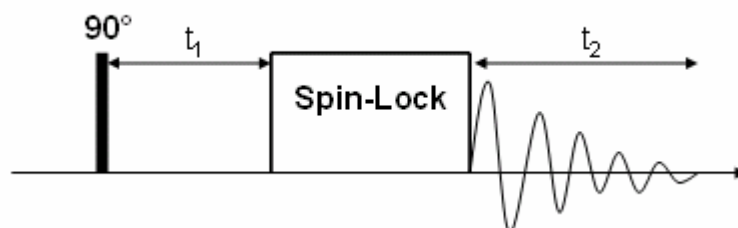


Abb. 4.6: Pulsfolge eines ROESY-Experimentes, nach [102,107]

Sie beginnt mit einem 90°-Puls, an die sich die Evolutionszeit t_1 anschließt. Während einer nachfolgenden Spin-Lock-Phase, die während der Mischungszeit andauert, befinden sich die Kerne im schwachen Hochfrequenzfeld. Die Verschiebungsdifferenz der Protonen ist dadurch sehr klein, so dass sich Spinzustände mischen und Magnetisierung übertragen werden kann. [101]

In Abbildung 4.7 ist ein repräsentatives zweidimensionales NMR-Spektrum dargestellt. Die eingezeichnete Diagonale enthält die Information des eindimensionalen Spektrums. Die symmetrisch verteilten Kreuzsignale geben Hinweise auf miteinander koppelnde Kerne. Es ergeben sich hierbei so genannte Korrelationsquadrate. [100]

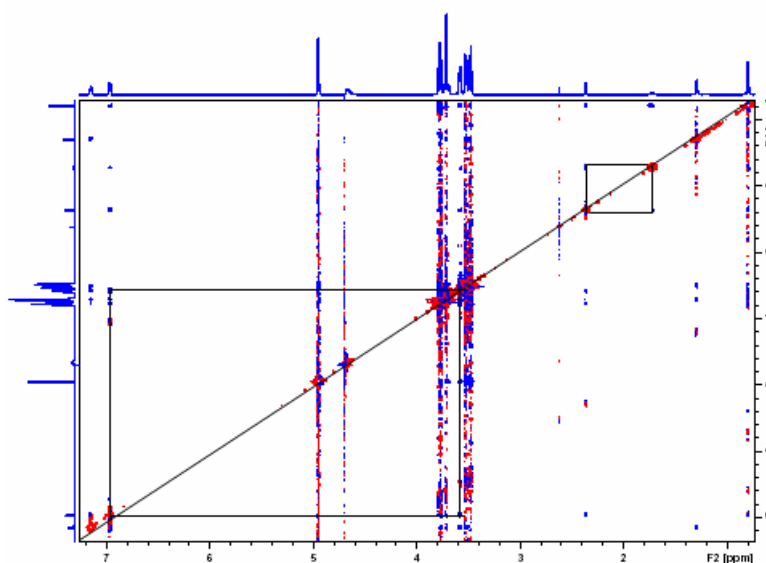


Abb. 4.7: Zweidimensionales NMR-Spektrum mit Korrelationsquadraten

Die zweidimensionalen ^1H -NMR-Spektren wurden im Institut für Organische Chemie der Universität Würzburg an einem Bruker Avance DMX (600 MHz) mit einem 5mm $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ Cryo-Probenkopf bei 298 K aufgenommen. Die untersuchten Proben enthielten jeweils β -Cyclodextrin und Gastmolekül im Verhältnis von 1:1. Von den Lösungen wurden jeweils 0,75 ml in Probenröhrchen der Marke Wilmad 507-PP überführt und zur Entfernung von elementarem Sauerstoff mindestens eine Minute im Ultraschallbad bei gleichzeitiger Begasung mit Argon behandelt. Die Messparameter sowie die Konzentrationen der Probenlösungen sind in Anhang 8.3.4.5 dargestellt. Ausgehend von ^1H -NMR-Spektren wurden ^1H - ^1H -COSY- und ROESY-Spektren aufgenommen. Das noch vorhandene HDO-Signal wurde durch die Presaturation-Methode unterdrückt. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Bruker Topspin[®] 3.0 [106].

4.3 Computerchemische Untersuchungen zur Komplexbildung

Die computerchemischen Versuche wurden am Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie der Universität Würzburg im Arbeitskreis Prof. Sottriffer durchgeführt. Vorangegangene Versuche zeigten, dass alle Modellsubstanzen mit β -Cyclodextrin die stärksten Wechselwirkungen eingehen. Deshalb wurden die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen ausschließlich mit diesem Wirt durchgeführt. Abbildung 4.8 stellt die zugrunde liegende Vorgehensweise dar. Alle Ergebnisse wurden in elektronischer Form gespeichert (s. Anh. 8.4.1).

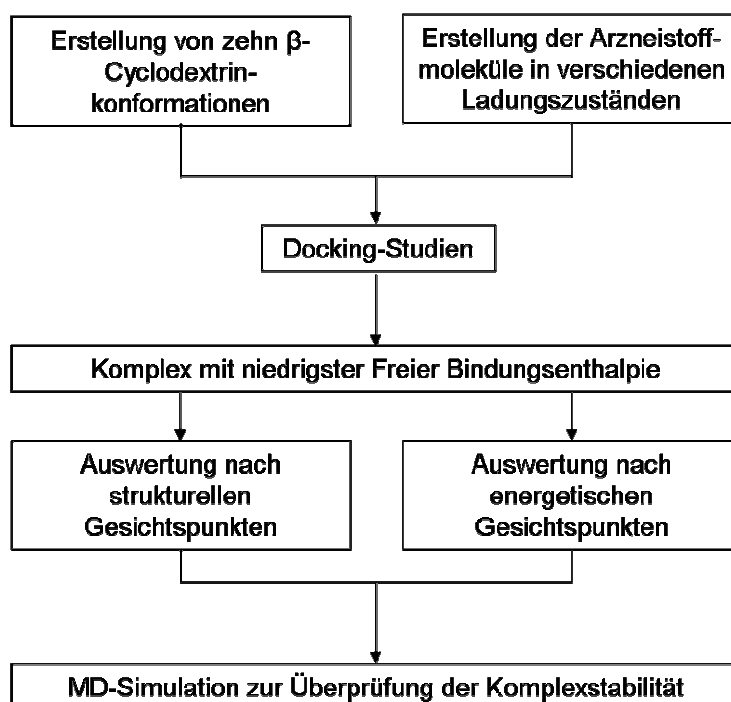


Abb. 4.8: Schematische Darstellung der Vorgehensweise

4.3.1 Erstellung der Gastmolekülstrukturen

Die Strukturen der Gastmoleküle wurden im Programm Molecular Operating Environment (MOE) [108] mit Hilfe des Molecule Builders erstellt und im mol2-Format gespeichert. Nach einer Energieminimierung mit dem Kraftfeld MMFF94x [109] bis zu einem RMS-Gradienten von 0,05 wurden in SYBYL 8.0 [110] Gasteiger-Marsili-Ladungen hinzugefügt.

4.3.2 Erstellung verschiedener Konformationen des β -Cyclodextrins

Die Generierung der Cyclodextrinkonformere erfolgte in Zusammenarbeit mit Schlee [28]. Als Ausgangsmolekül wurde eine Röntgenkristallstruktur (BUVSEQ01) [111] aus der

Cambridge Structural Database [112] verwendet. Es erfolgte eine Geometrieoptimierung mit dem Kraftfeld MMFF94x [109] bis zu einem RMS-Gradienten von 0,05. Das Cyclodextrinmolekül wurde anschließend einer Molekulardynamik-Simulation bei 600 K in MOE [108] unterworfen, wobei es mit einer kubischen Wasserbox mit einer Seitenlänge von 24,36 Å und einer ‚wall‘ mit einer Gewichtung von 300 umgeben wurde, um ein Auseinanderdriften des Systems zu unterbinden. Über einen Zeitraum von 500 ps wurden in Abständen von 0,5 ps Schnappschüsse aufgezeichnet. Die erhaltenen Konformationen wurden nach Entfernen der Wasserbox erneut einer Geometrieoptimierung mit dem Kraftfeld MMFF94x [109] (RMS-Gradient 0,05) bei einer Dielektrizitätskonstante von 80 unterzogen.

Anschließend wurden für alle Strukturen die Torsionswinkel Φ (H1-C1-O4'-C4') und Ψ (C1-O4'-C4'-H4') (s. Abb. 4.9) [113] der sieben glykosidischen Bindungen bestimmt (s. Anh. 8.4.2). Der Betrag der Summe von Φ und Ψ , im Folgenden Einzelwinkelsumme genannt, stellt ein Maß für die Neigung zweier benachbarter Glucosebausteine zueinander dar. Alle Cyclodextrinstrukturen, die mindestens eine Einzelwinkelsumme über 60° aufwiesen, wurden aus der Datenbank entfernt, um zu extreme Konformationen, die sich während der Simulation bei erhöhter Temperatur ergeben hatten, auszuschließen.

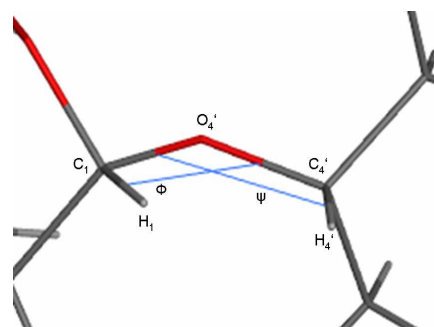


Abb. 4.9: Bestimmung der Torsionswinkel

Die verbliebenen Cyclodextrinmoleküle wurden nach ihrer Gesamtwinkelsumme (Summe der Einzelwinkelsummen) sortiert, welche sich über einen Wertebereich von 127,0° bis 334,9° erstreckte. Unter der Annahme, dass mit steigender Gesamtwinkelsumme immer asymmetrischere Konformationen vorliegen, wurde diese Spanne in neun Kategorien eingeteilt. Aus jeder Kategorie wurde die Struktur mit der niedrigsten potentiellen Energie als Rezeptormolekül für die Docking-Studien ausgewählt. Zusammen mit der Röntgenkristallstruktur wurden zehn Cyclodextrinstrukturen erhalten, die mit steigender Gesamtwinkelsumme von 1 bis 10 durchnummeriert wurden. Die Röntgenkristallstruktur erhielt demnach die Bezeichnung Cyclodextrin 2, da sie eine höhere Gesamtwinkelsumme als Cyclodextrin 1 aufweist.

4.3.3 Docking-Studien

4.3.3.1 Vorbereitung der Gastmoleküle

Mit dem Programm Autotors 3.0.5 [90] wurden die im mol2-Format gespeicherten Gastmoleküle bearbeitet. Hierbei wurden starre Anteile des Moleküls festgelegt und alle

vorgeschlagenen Torsionen während des Dockings zugelassen (s. Anh. 8.4.3). Anschließend wurde ein Docking Parameter File (s. Anh. 8.4.4) erstellt, in dem eine Anzahl von 100 Läufen festgelegt wurde.

4.3.3.2 Vorbereitung der Rezeptormoleküle

Aus technischen Gründen wurden die Wasserstoffatome der Cyclodextrinmoleküle entfernt und die Strukturen im pdb-Format gespeichert. Mit dem Programm AutodockTools 1.4.5 [90] wurden die Wasserstoffatome wieder hinzugefügt, anschließend Gasteiger-Marsili-Ladungen berechnet und nichtpolare Wasserstoffatome entfernt. Die erhaltenen Moleküle wurden im pdbq-Format gespeichert und anschließend ins pdbqs-Format überführt.

Mit Hilfe der Grid Parameter Files (1.gpf und 2.gpf) (s. Anh. 8.4.5) wurden mit dem Programm Autogrid 3.0.5 [90] Potentialgitter mit 50^3 Gitterpunkten in Abständen von $0,375 \text{ \AA}$ über die Cyclodextrinmoleküle gelegt. Als Gitterzentrum wurden die Koordinaten eines zentralen Punktes im jeweiligen Rezeptormolekül gewählt (s. Anh. 8.4.6).

4.3.3.3 Docking

Mit dem Programm Autodock 3.0 [90] wurde für jedes erstellte Gastmolekül jeweils eine Docking-Studie mit jedem der zehn Cyclodextrinkonformere durchgeführt. Die entstandenen Komplexe wurden mit dem Programm Pymol 099.rc6 [114] visualisiert. Die Auswertung erfolgte nach energetischen und strukturellen Aspekten.

4.3.4 Molekulardynamik-Simulation

Die Stabilität der Komplexe, die in den Docking-Studien für jeden Gast die niedrigste Freie Bindungsenthalpie $\Delta G_{\text{Bind, min}}$ erzielten, wurde in MD-Simulationen bei 300 K überprüft. Der Komplex wurde mit einer kubischen Wasserbox mit einer Seitenlänge von $24,36 \text{ \AA}$ und mit einer ‚wall‘ einer Gewichtung von 300 umgeben. Die Simulation wurde über einen Zeitraum von 500 ps durchgeführt, wobei alle 0,5 ps ein Schnappschuss aufgezeichnet wurde. Die strukturelle Integrität wurde mit Hilfe des durch Komplexbildung bedingten relativen Oberflächenverlustes [81] bestimmt. Hierzu werden die Oberflächen der Einzelkomponenten sowie des Komplexes mit der Deskriptorfunktion ASA (accessible surface area) ermittelt. Die Oberfläche des Komplexes wird dann von der Summe der Oberflächen der Einzelkomponenten subtrahiert. Der sich somit ergebende Flächenverlust wird in Relation zur Summe der Einzelmoleküloberflächen gesetzt.

4.4 Herstellung von festen Komplexen

4.4.1 Knetmethode

In eine Fantaschale wurden jeweils 1 mmol β -Cyclodextrin und Wirkstoff eingewogen. Es wurde zunächst 1 ml Wasser zugegeben und die Bestandteile zu einer Paste vermengt. Weitere 0,5 ml Wasser wurden zugegeben und eingearbeitet. Die Paste wurde anschließend bei 40°C für 24 h im Heissluftschrank getrocknet.

4.4.2 Kopräzipitation

1 mmol Wirkstoff wurde in 20 ml Ethanol p.a. gelöst, während 1 mmol des Cyclodextrins in 20 ml Wasser gelöst wurde. Die Wirkstofflösung wurde unter Rühren langsam zur Cyclodextrinlösung getropft. Die Mischung wurde weitere 24 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel abgedampft.

4.4.3 Gefriertrocknung von Lösungen und Suspensionen

Es wurden wässrige Cyclodextrin-Wirkstoff-Suspensionen mit einem Gehalt von 1 mmol/l jeder Substanz hergestellt, die 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt und danach 24 h bei 25°C und 1000 upm gerührt wurden. Die entstandenen Suspensionen wurden anschließend über einen Membranfilter (Rotilabo® Spritzenfilter CME) der Porenweite 0,22 μm filtriert. Ein Teil des Filtrats wurde mit flüssigem Stickstoff, ein zweiter im Gefrierfach eingefroren und anschließend lyophilisiert.

Da es wahrscheinlich ist, dass durch die Filtration der oben hergestellten Suspensionen auch ausgefallener Komplex entfernt wurde, wurden darüber hinaus nicht filtrierte Suspensionen auf gleiche Weise eingefroren und lyophilisiert.

4.5 Untersuchung der Komplexe

4.5.1 Bestimmung des Wirkstoffgehalts

Eine ausreichende Probenmenge wurde in NaOH 0,1 M eingewogen und gelöst. Eine Zweifachbestimmung des Wirkstoffgehalts erfolgte photometrisch mit einem Perkin Elmer UV/Vis Spectrometer Lambda 14.

4.5.2 Herstellung von physikalischen Mischungen

Zur Herstellung physikalischer Mischungen, die jeweils den Wirkstoffgehalt der zu untersuchenden Komplexzubereitung aufweisen sollten, wurden getrocknetes β -Cyclodextrin und Gastmolekül in einer Reibschale im gewünschten Verhältnis

eingewogen und bis zur Homogenität gemischt.

Zur Herstellung der physikalischen Mischungen, deren Gehalt den Komplexen, die mittels Kopräzipitation oder Knetmethode hergestellt wurden entspricht, erfolgte die der Homogenisierung vorangehende Trocknung von β -Cyclodextrin im Trockenschrank.

Für die physikalischen Mischungen der entsprechenden gefriergetrockneten Komplexe wurden die Bestandteile zuvor getrennt in Wasser gelöst und lyophilisiert, wobei das Einfrieren, analog zur Komplexherstellung, entweder in flüssigem Stickstoff oder im Gefrierfach erfolgte.

4.5.3 Thermoanalytische Untersuchungen

Mit Hilfe thermoanalytischer Untersuchungen können endotherme und exotherme Phasentransformationen während eines Temperaturprogrammes gemessen werden. Bei der Differenzthermoanalyse (DTA) werden Referenz- und Probeniegel gleichzeitig in einem Ofen aufgeheizt, und nehmen pro Zeiteinheit die gleiche Wärmemenge auf. Die im Probeniegel enthaltene Substanz bewirkt jedoch eine Temperaturdifferenz, welche so lange konstant ist, bis sich die Wärmekapazität der Probe ändert [100].

Die thermoanalytische Untersuchung von Cyclodextrinkomplexen soll zur Abschätzung des in Komplexen gebundenen Anteils der Gastmoleküle beitragen [3]. Dabei wird im Allgemeinen die Schmelzenthalpie am Schmelzpunkt des Gastmoleküls der Komplexzubereitungen mit der einer zugehörigen physikalischen Mischung verglichen. Dabei geht man davon aus, dass mit zunehmendem Einschluss des Gastmoleküls die Schmelzenthalpie abnimmt. Dies kann allerdings auch bei Änderungen der Kristallinität oder Zersetzung des Wirkstoffs beobachtet werden, was häufig zu Fehlinterpretationen führt [115].

Die Abschätzung des frei vorliegenden Wirkstoffanteils in den Komplexzubereitungen erfolgte an zwei Geräten des Typs Setaram TGA DTA 92-12 mit Steuergerät CS 32 in Stickstoffatmosphäre. Die jeweiligen Temperatur- und Empfindlichkeitskorrekturfaktoren der Geräte sind in Anhang 8.5.1.1 angegeben.

Unter Berücksichtigung der Schmelzpunkte der Gastmoleküle (s. Tab. 4.2, Kap. 4.1.2) wurden mit dem Programm Setsoft 2000 Version 3.0 (Aquisition) [116] verschiedene Prozesse erstellt (siehe Anh. 8.5.1.2), wobei im Bereich des Schmelzpunktes stets eine Heizrate von 1 K/min gewählt wurde.

Zur Durchführung einer Messung wurde die jeweilige Probe in einen Platintiegel eingewogen. Für jeden Prozess wurde eine Referenzmessung mit demselben leeren Tiegel durchgeführt.

Es wurde jeweils der Wärmefluss des reinen Wirkstoffs, der Komplexzubereitung und der zugehörigen physikalischen Mischungen aufgezeichnet. War im Diagramm der

Komplexzubereitung ein Schmelzpeak sichtbar, so wurde eine Kalibriergerade mit der entsprechenden physikalischen Mischungen erstellt, indem die Schmelzenthalpie [J] gegen die enthaltene Wirkstoffmasse [mg] aufgetragen wurde.

Bei der Auswertung mit dem Programm Setsoft 2000 Version 3.0 (Processing) [116] wurde die Kurve der Referenzmessung von der Wärmeflusskurve der Probe subtrahiert. Durch Integration des Schmelzpeaks erfolgt die Berechnung der Schmelzenthalpie. Diese wurde in die Kalibriergerade eingesetzt, wodurch der detektierbare und somit freie Anteil des Wirkstoffs in der Komplexzubereitung bestimmt werden konnte. Die Differenz zwischen detektiertem und tatsächlichem Gehalt des Gastmoleküls wurde als im Cyclodextrin gebunden betrachtet.

4.5.4 FT-IR-Spektroskopie

Durch Absorption von Strahlung des infraroten Spektralbereiches, der Wellenzahlen von 12500 bis 200 cm^{-1} umfasst, werden Molekülschwingungen hervorgerufen. Diese können wie folgt eingeteilt werden:

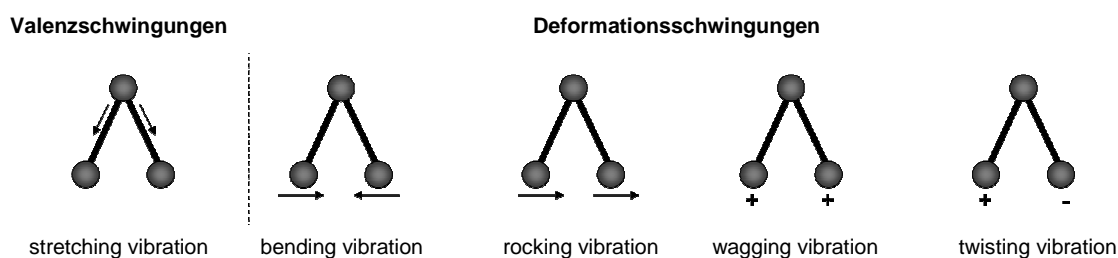


Abb. 4.10: Mögliche durch Infrarotstrahlung hervorgerufene Molekülschwingungen, nach [108]

In der Praxis wird meist Strahlung des mittleren IR-Bereiches (4000 bis 200 cm^{-1}) eingesetzt [100,117]. Das IR-Spektrum, in dem typischerweise die Transmission gegen die Wellenzahl aufgetragen wird, lässt sich grob in zwei Bereiche einteilen. Bei Wellenzahlen unterhalb 1300 cm^{-1} treten vorwiegend Gerüstschwingungen auf, an denen alle Atome eines Moleküls beteiligt sind. Dieser Bereich wird auch „fingerprint“-Bereich genannt, da er typisch für das jeweilige Molekül ist. Oberhalb von 1300 cm^{-1} befinden sich die für bestimmte Bindungsstrukturen typischen Gruppenfrequenzen. Generell sind Valenzschwingungen bei höheren Wellenzahlen zu beobachten als Deformationsschwingungen, da diese auch bei geringerer Energiezufuhr entstehen können [100,117]. Sehr häufig erfolgt die Aufnahme von IR-Spektren fest vorliegender Stoffe durch Herstellung von Kaliumbromid-Presslingen [100,117]. Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten FT-IR-Spektrometer erfolgte die Aufnahme hingegen direkt an der festen Substanz durch Mehrfachreflexion (attenuated total reflectance; ATR) [118]. Dabei wird der Infrarotstrahl durch ein optisch dichteres Medium, beispielsweise einem Diamant, in

die darauf liegende Probe eingestrahlt und von dieser reflektiert. Anstelle von monochromatischem Licht wird Strahlung des gesamten Infrarotbereichs gleichzeitig in die Probe eingestrahlt und die aus der Probe austretende Lichtintensität in Abhängigkeit von der Zeit registriert. Zwischen Lichtquelle und Probe befindet sich ein Michelson-Interferometer, mit dem ein Messsignal in der Zeitdomäne erzeugt wird. Das erhaltene Interferogramm wird nach der Detektion mittels Fourier-Transformation in die Frequenzdomäne überführt. Bei dieser Methode kann mit kleineren Probenmengen eine höhere Empfindlichkeit und Präzision in kürzeren Messzeiten erreicht werden [100,117]. Durch den Einschluss von Gastmolekülen in Cyclodextrine kann es zur Abschwächung oder Verschiebung von Signalen im IR-Spektrum kommen [119]. Anhand des Vergleichs mit Spektren physikalischer Mischungen kann beurteilt werden, ob ein Einschlusskomplex entstanden ist, und welche Gruppen oder Molekülteile des Gastes an der Komplexbildung beteiligt sind.

Voraussetzung ist jedoch, dass die betreffenden Signale im Mischspektrum eindeutig abzugrenzen und nicht von starken Absorptionsbanden des Cyclodextrins überdeckt werden. Sehr häufig werden die Schwingungen von Carbonylgruppen bei Wellenzahlen von etwa 1600 cm^{-1} herangezogen, da sie eine hohe relative Absorption besitzen und Cyclodextrine in diesem Bereich im Allgemeinen keine Signale aufweisen [3,119].

Darüber hinaus eignen sich zur Untersuchung von Einschlusskomplexen auch die out-of-plane-Schwingungen aromatischer C-H-Bindungen, deren Banden im Allgemeinen zwischen 700 und 800 cm^{-1} liegen [119].

Die Durchführung der Versuche erfolgte mit einem Thermo Nicolet[®] 380 des Unternehmens Pharma Stulln GmbH. Auf dem Smart Orbit[®] (Diamant $30000\text{-}200\text{ cm}^{-1}$), wurden die Proben direkt aufgebracht. Die Messungen erfolgten in einem Bereich von 4000 bis 400 cm^{-1} . Es wurden jeweils 32 Scans durchgeführt und in regelmäßigen Abständen ein Referenzspektrum der Atmosphäre aufgenommen. Untersucht wurden jeweils der reine Wirkstoff, die hergestellten Komplexzubereitungen sowie die zugehörigen physikalischen Mischungen.

Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der zugehörigen Software Omnic[®] 7.0 [120], wobei vorab jeweils eine Basislinienkorrektur durchgeführt wurde. Die Zuordnung der Signale der einzelnen Wirkstoffe, die die Grundlage zur Auswertung der Spektren bildet, ist in Anhang 8.5.2.2 dargestellt. Zur Beurteilung, ob eine Komplexbildung erfolgte und welche Molekülteile davon betroffen sind, wurden Abschwächungen, Verschiebungen und sich ändernde Intensitätsverhältnisse der Signale betrachtet. Besonderes Augenmerk wurde auf den Vergleich von Komplex und zugehöriger physikalischer Mischung gelegt.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Untersuchung der Komplexbildung in wässriger Lösung

Mit Hilfe verschiedener Methoden sollten möglichst präzise Informationen über die Komplexbildung der natürlichen Cyclodextrine mit den gewählten Gastmolekülen in wässriger Lösung gesammelt werden. Dabei sollten vor allem das Ausmaß dieser intermolekularen Wechselwirkungen sowie der Einfluss gewählter Bedingungen im Fokus stehen.

Ein besonderes Augenmerk lag bei der Durchführung dieser Versuche auf einer systematischen Vorgehensweise, das heißt, die Untersuchung der Wechselwirkungen aller Gastmoleküle mit den natürlichen Cyclodextrinen erfolgte unter identischen Bedingungen, um den Einfluss von strukturellen und physikochemischen Eigenschaften der Gastmoleküle auf die Komplexbildung zu bestimmen. Die Mehrheit der bisherigen Publikationen beinhalten hingegen hauptsächlich punktuelle Ergebnisse (s. Anh. 8.1).

Um einen einheitlichen Bezugspunkt für alle Gastmoleküle zu schaffen, wurde zunächst die Sättigungslöslichkeit (= intrinsische Löslichkeit) der einzelnen Substanzen bestimmt.

Zur Quantifizierung der Wechselwirkungen wurden Löslichkeitsstudien nach der Methode von Higuchi und Connors [66] durchgeführt, in denen die Löslichkeit des Gastmoleküls in Abhängigkeit von der Cyclodextrinkonzentration gemessen wird. So wurde zunächst das Ausmaß der Wechselwirkungen der Gastmoleküle mit den drei natürlichen Cyclodextrinen verglichen und anschließend eine Löslichkeitsisotherme über einen größeren Konzentrationsbereich mit dem Cyclodextrin, das die stärksten Wechselwirkungen hervorrief, erstellt. Davon ausgehend wurde der Einfluss verschiedener pH-Werte und Temperaturen auf die Komplexbildung untersucht.

Die Durchführung der Bestimmung des Gesamtgehalts von gelöstem freien und gebundenem Gastmolekül erfolgte im alkalischen Medium. Dies geschah, um das Gleichgewicht in Richtung des frei vorliegenden Gastmoleküls zu verschieben, und so Absorptionseffekte aufgrund von Komplexbildung zu minimieren.

Die gewählte Methode erlaubt es, in angemessener Zeit mit geringem apparativem Aufwand Einblick in die Komplexbildung zu gewinnen. Zudem können auf einfache Weise verschiedene Rahmenbedingungen geschaffen werden. Die Auswertung erfolgte über das Löslichkeitsprofil, die Assoziationskonstante und die relative Löslichkeitssteigerung.

Darüber hinaus sollten kalorimetrische Versuche die Bestimmung thermodynamischer Parameter ermöglichen und NMR-Untersuchungen Hinweise auf Struktur und Stöchiometrie der Komplexe in wässriger Lösung liefern.

5.1.1 Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle

Bei den gewählten Gastmolekülen handelt es sich durchgehend um in Wasser schwach lösliche Substanzen. Obwohl in der Literatur zum Teil schon Daten zur Löslichkeit vorliegen, diese jedoch häufig aus unterschiedlichen Quellen stammen, wurde die Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle im Rahmen der vorliegenden Arbeit unter konstanten Bedingungen bei verschiedenen Temperaturen (25°C, 35°C, 45°C) bestimmt. So konnte für alle Gastmoleküle ein Bezugspunkt für die Interpretation der weiteren Untersuchungen und die Berechnung der Assoziationskonstanten geschaffen werden.

Bei der Bestimmung der Sättigungslöslichkeit, insbesondere von schlecht löslichen Stoffen, treten häufig hohe Schwankungen in den Ergebnissen auf. Um dies weitestgehend zu vermeiden, wurden die gesättigten Lösungen zunächst im Ultraschallbad behandelt, anschließend für mindestens 24 Stunden bei der gewünschten Temperatur gerührt und dann sechs Tage im temperierten Wasserbad bis zur Einstellung eines Gleichgewichts belassen. Die ermittelten Sättigungslöslichkeiten sind in Tabelle 5.1 und Abbildung 5.1 dargestellt (vgl. Anh. 8.3.2.1).

Tab. 5.1: Sättigungslöslichkeiten der Gastmoleküle in Wasser in [mmol/l]

Temperatur [K]	Ibuprofen	Ketoprofen	Naproxen	Flurbiprofen	Felbinac	Fenbufen
298,15	0,49	0,47	0,12	0,08	0,08	0,013
308,15	0,80	0,68	0,18	0,11	0,14	0,032
318,15	0,97	0,99	0,27	0,16	0,16	0,032

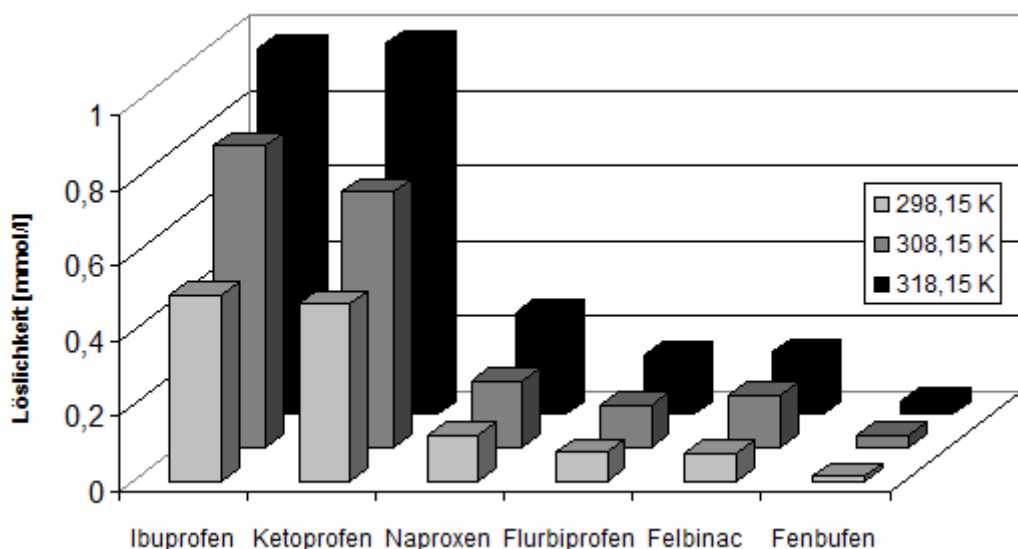


Abb. 5.1: Sättigungslöslichkeiten der Gastmoleküle

Obwohl alle Gastmoleküle den schlecht löslichen Stoffen zuzuordnen sind, sind deutliche Unterschiede vorhanden. So ist die Löslichkeit von Ibuprofen in Wasser nahezu 40-fach höher als die von Fenbufen. Dies ist zum einen bedeutend für die Bewertung der Komplexbildung, zum anderen aber auch wichtig für die Durchführbarkeit weiterer Versuche, da die Löslichkeit vor allem bei der Durchführung von kalorimetrischen Titrations- und NMR-Versuchen ein limitierender Faktor sein kann.

Ein Van't Hoff Plot [121] sollte weitere Hinweise auf das Löslichkeitsverhalten der Gastmoleküle in Form von thermodynamischen Parametern liefern. Tabelle 5.2 (vgl. Anh. 8.3.2.2) zeigt die Ergebnisse der Auftragung von $\ln S_0$ gegen $1/T$ [K⁻¹].

Tab. 5.2: Thermodynamische Parameter des Lösungsprozesses der Gastmoleküle in Wasser

	Ibuprofen	Ketoprofen	Naproxen	Flurbiprofen	Felbinac	Fenbufen
ΔG^0 [kJ/mol]	+18,87	+18,99	+22,34	+23,48	+23,56	+27,89
ΔS^0 [J/(mol·K)]	+26,81	+34,03	+29,78	+17,44	+22,76	+25,17
ΔH^0 [kJ/mol]	+26,86	+29,13	+31,22	+28,68	+30,34	+35,40
r^2	0,9492	0,9996	0,9969	0,9993	0,8877	0,7523

Bei allen Gastmolekülen ist $\Delta G^0 > 0$. Dies bedeutet, dass es sich um einen endergonischen, und somit nicht spontan ablaufenden Prozess handelt.

5.1.2 Wechselwirkungen mit den natürlichen Cyclodextrinen

Zunächst sollte untersucht werden, zu welchem der drei natürlichen Cyclodextrine das jeweilige Gastmolekül die stärksten Wechselwirkungen in reinem Wasser ausbildet. Dazu wurde die Löslichkeitssteigerung der Gastmoleküle bei Cyclodextrinkonzentrationen von 1 und 5 mmol/l mit der intrinsischen Löslichkeit S_0 (Cyclodextrinkonzentration = 0) verglichen.

Wird nachfolgend der Begriff Löslichkeit verwendet, so ist bei Anwesenheit von Cyclodextrin die Summe aus freiem und gebundenem Wirkstoff zu verstehen, also die Gesamtkonzentration an Gastmolekül in Lösung. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.2 und 5.3 dargestellt (vgl. Anh. 8.3.2.3).

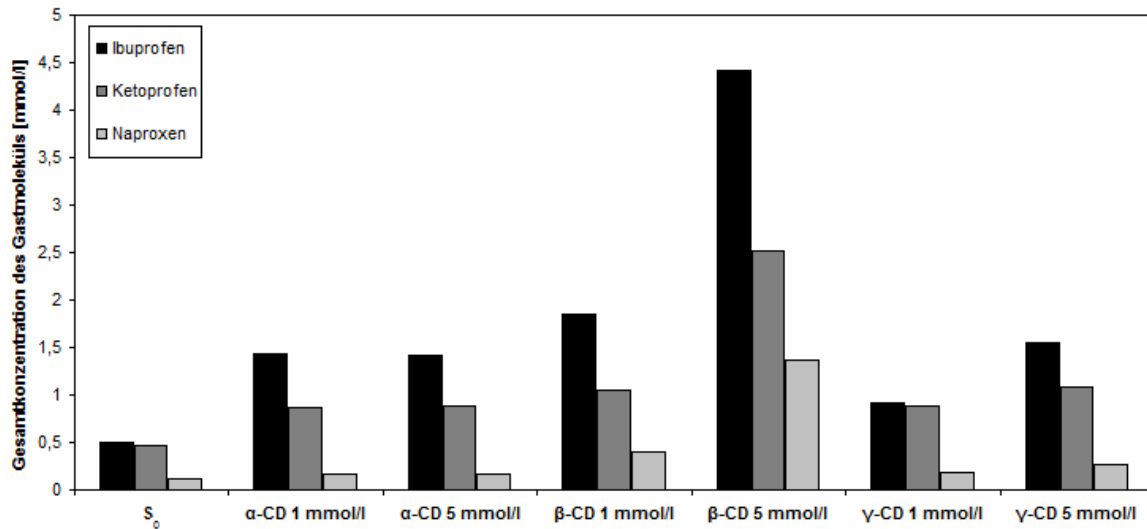


Abb. 5.2: Löslichkeitssteigerung von Ibuprofen, Ketoprofen und Naproxen mit verschiedenen Konzentrationen der natürlichen Cyclodextrine im Vergleich zur intrinsischen Löslichkeit, T=298 K

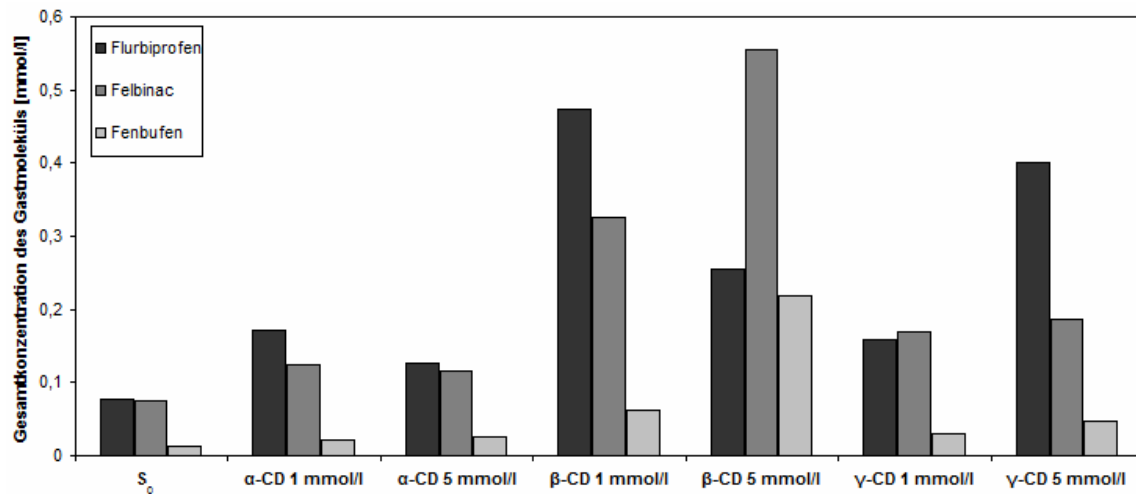


Abb. 5.3: Löslichkeitssteigerung von Flurbiprofen, Felbinac und Fenbufen mit verschiedenen Konzentrationen der natürlichen Cyclodextrine im Vergleich zur intrinsischen Löslichkeit, T=298 K

Alle untersuchten Gastmoleküle zeigen mit β -Cyclodextrin die ausgeprägtesten Wechselwirkungen, was schon vorhandene Ergebnisse aus der Literatur bestätigt (vgl. Anh. 8.1). Mit steigender Konzentration von α - und γ -Cyclodextrin sind hingegen nur geringe Anstiege der Wirkstofflöslichkeit zu beobachten. Das Gastmolekül Flurbiprofen nimmt allerdings eine Sonderstellung ein. Zum einen ist es das einzige Gastmolekül, dessen Löslichkeit bei einer β -Cyclodextrinkonzentration von 5 mmol/l geringer ist als bei einer Konzentration von 1 mmol/l, was bedeutet, dass das Löslichkeitsmaximum des gebildeten Komplexes scheinbar schon bei einer Cyclodextrinkonzentration von weniger als 5 mmol/l erreicht wurde. Zum anderen fällt auf, dass die Löslichkeit bei Anwesenheit von γ -Cyclodextrin bei einer Konzentration von 5 mmol/l relativ stark ansteigt, was auf eine gewisse Wechselwirkung beider Substanzen hindeutet.

Auffällig ist darüber hinaus, dass die Löslichkeit der Gastmoleküle, die eine Biphenylgrundstruktur aufweisen, nicht über 1 mmol/l gesteigert werden kann, während sie bei den anderen Wirkstoffen bei Zugabe von 5 mmol/l β -Cyclodextrin sogar bis zu etwa 4,5 mmol/l steigen kann.

Nachdem sich bestätigt hat, dass die Interaktionen mit β -Cyclodextrin am stärksten sind, sollten nun Löslichkeitsprofile mit den gewählten Gastsubstanzen erstellt werden. Ziel war dabei einerseits die Bestimmung des Isothermentyps und somit die Charakterisierung des Komplexes in wässriger Lösung hinsichtlich seines Löslichkeitsverhaltens. Andererseits sollten aus den Löslichkeitsisothermen die Komplexbildungskonstanten erhalten werden, um die Stabilität der Komplexe abschätzen zu können. Dazu wurde für β -Cyclodextrin stets ein Konzentrationsbereich von 0 bis 25 mmol/l gewählt. Einzige Ausnahme stellt Ibuprofen dar. Hier erwies sich ein Bereich bis 20 mmol/l als ausreichend.

In den Abbildungen 5.4 bis 5.9 sind die Löslichkeitsprofile der verschiedenen Gastmoleküle bei 25°C dargestellt. Die Einzelergebnisse sind in Anhang 8.3.2.4 aufgeführt. Sie lassen sich in zwei Gruppen einteilen: Ibuprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen und Felbinac werden dem so genannten B_S -Typ (s. Kap. 2.3.1.) zugeordnet. Das heißt, es handelt sich um Komplexe, die nur begrenzt in Wasser löslich sind. Die typische Plateauphase im Isothermenverlauf konnte für Ibuprofen und Ketoprofen bis zum Ende verfolgt werden. Hierbei gilt zu beachten, dass die Plateaulänge natürlich durch die Versuchsbedingungen, genauer durch den zugegebenen Überschuss an Gastsubstanz bestimmt wird.

Auch die Löslichkeitsprofile von Naproxen und Fenbufen zeigen jeweils eine Löslichkeitsgrenze. Diese beginnt jedoch im Gegensatz zu den anderen Gastmolekülen erst oberhalb der Sättigungslöslichkeit von β -Cyclodextrin in Wasser, die etwa bei 16,3 mmol/l liegt [6], weshalb diese Isothermen den so genannten A_L -Typ-Profilen zuzuordnen sind. Das heißt es handelt sich hier um lösliche Komplexe. Interessant erscheint dabei die Fähigkeit der beiden Gastmoleküle, die Löslichkeit von β -Cyclodextrin zu erhöhen. Es könnte sich dabei um das schon von Schlee [28] beobachtete und untersuchte Phänomen der „synergistischen Löslichkeitseffekte“, die auch bei Sulfonamidarzneistoffen als Gastmoleküle auftreten, handeln.

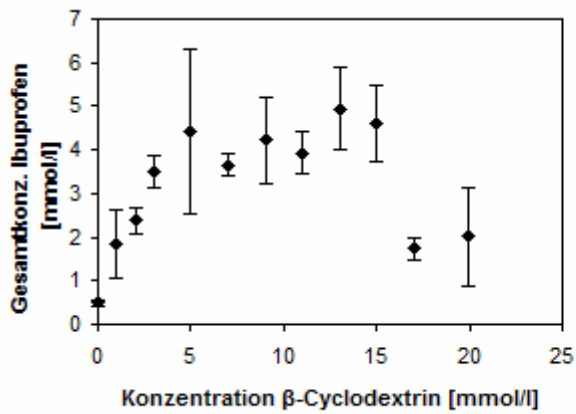


Abb. 5.4: Löslichkeitsprofil von Ibuprofen

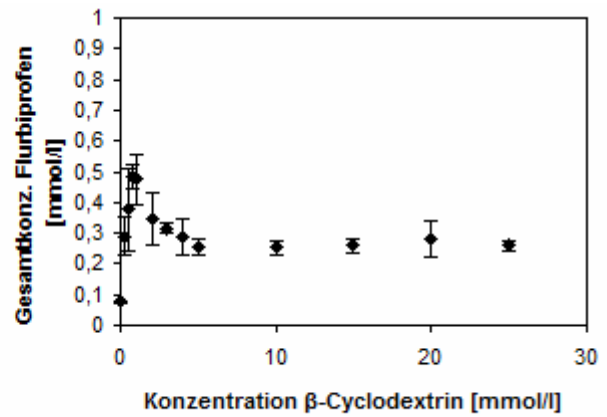


Abb. 5.7: Löslichkeitsprofil von Flurbiprofen

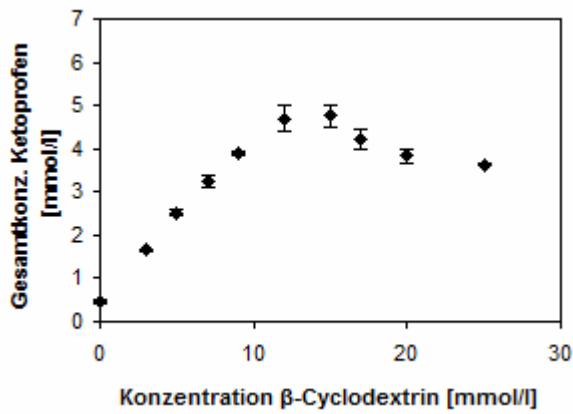


Abb. 5.5: Löslichkeitsprofil von Ketoprofen

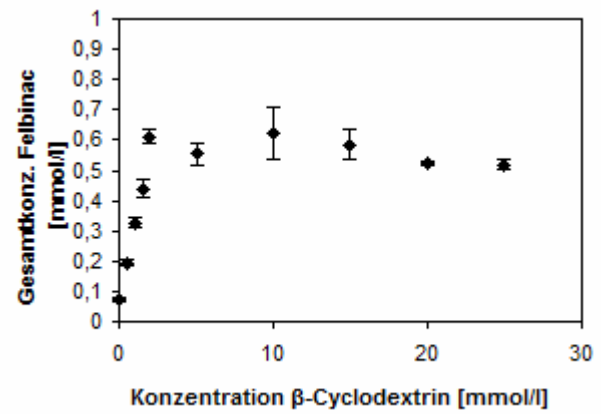


Abb. 5.8: Löslichkeitsprofil von Felbinac

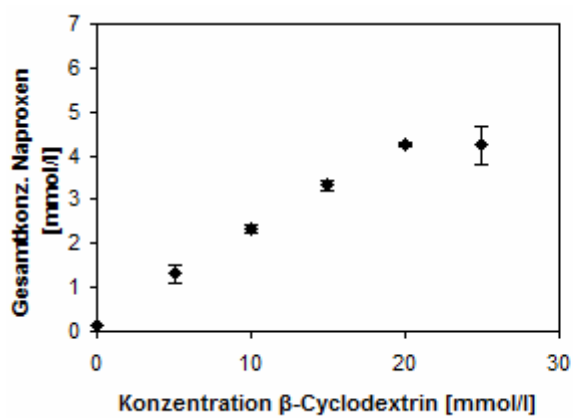


Abb. 5.6: Löslichkeitsprofil von Naproxen

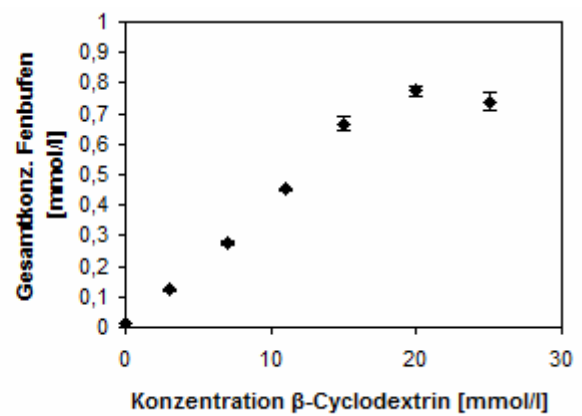


Abb. 5.9: Löslichkeitsprofil von Fenbufen

Die maximale Löslichkeit der Gastmoleküle mit Biphenylgrundgerüst liegt zwischen etwa 0,5 und 0,8 mmol/l. Demgegenüber stehen die anderen Gastmoleküle, deren maximale Löslichkeit mit 4 bis 5 mmol/l deutlich höher liegt. Das Erscheinungsbild der Löslichkeitsprofile der Biphenyle ist heterogen. So zeigt der β -Cyclodextrin-Komplex mit Flurbiprofen im Gegensatz zu dem mit Felbinac ein sehr kurzes Plateau, welches durch ein Maximum repräsentiert wird, das bei einer β -Cyclodextrinkonzentration von 0,75 mmol/l liegt.

Die maximalen relativen Löslichkeitssteigerungen, die durch die Zugabe von β -Cyclodextrin für die Gastmoleküle erreicht werden können, fallen unterschiedlich hoch aus (Tab. 5.3). Während die Gastmoleküle Ibuprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen und Felbinac lediglich eine Löslichkeitssteigerung um einen Faktor von maximal 10 erfahren, kann die Löslichkeit von Naproxen um das 34,9-fache und von Fenbufen sogar auf das 58,4-fache gesteigert werden. Die hohen Werte der letztgenannten Substanzen liegen in der hohen Löslichkeit der Komplexe begründet. Es handelt sich nämlich um die beiden Gäste bei denen synergistische Löslichkeitseffekte zum Tragen kommen und so ein erheblich längerer Anstieg der Isothermen bis zum Erreichen einer Löslichkeitsgrenze vorliegt.

Tab. 5.3: Maximale Löslichkeitssteigerung durch Cyclodextrinzugabe

Gastmolekül	Maximale relative Löslichkeitssteigerung	Cyclodextrinkonzentration des Plateaubereichs [mmol/l]
Ibuprofen	8,7	5-15
Ketoprofen	10,0	12-15
Naproxen	34,9	ab 20
Flurbiprofen	6,2	ab 1
Felbinac	7,6	ab 2
Fenbufen	58,4	ab 20

Die maximale Löslichkeitssteigerung ist jedoch nicht dazu geeignet, eine Aussage über die Stärke der Wechselwirkungen zwischen Wirts- und Gastmolekül zu treffen. Zu diesem Zweck wurde die Assoziationskonstante $K_{1:1}$ (s. Tab. 5.4) aus dem initialen, linearen Anstieg des Löslichkeitsprofils, unter der Annahme, dass ausschließlich Komplexe der Stöchiometrie 1:1 vorliegen, nach Gl. 2.17 berechnet (s. Kap. 2.3.2). Zusätzlich wurde aus den Assoziationskonstanten die Gibbs'sche Freie Enthalpie nach Gleichung 2.5 berechnet (s. Tab. 5.4).

Tab. 5.4: $K_{1:1}$ und ΔG^0 bei 25°C

Gastmolekül	$K_{1:1}$ [M^{-1}]	ΔG^0	$K_{1:1}$ [M^{-1}] (Lit.)*
Ibuprofen	41657	-26,4	-
Ketoprofen	1407	-18,0	-
Naproxen	2130	-19,0	1702 [122]
Flurbiprofen	14247	-23,7	5100 [123]
Felbinac	4808	-21,0	-
Fenbufen	3195	-20,0	-

*Anmerkung: Es wurden nur Werte berücksichtigt, die ebenfalls in reinem Wasser bestimmt wurden.

Die Assoziationskonstanten $K_{1:1}$ nehmen für die sechs verschiedenen Gastmoleküle sehr unterschiedliche Werte an und erstrecken sich über einen Wertebereich von 1407 M^{-1} bis 41657 M^{-1} . Die Referenzwerte aus der Literatur weichen erheblich ab; solche Differenzen könnten in der Berechnungsweise von $K_{1:1}$ begründet liegen, da hier schon minimal abweichende Isothermensteigungen erhebliche Veränderungen bedingen können.

Da ΔG^0 für alle Gastmoleküle < 0 ist, ist davon auszugehen, dass die Bildung von Einschlusskomplexen ein spontaner Prozess ist, der thermodynamisch günstiger ist als die Auflösung der freien Gastmoleküle in Wasser (s. Tab 5.1). Die Reihenfolge der Neigung der Gastmoleküle Einschlusskomplexe zu bilden, ist nachfolgend aufgeführt:

Ketoprofen < Naproxen < Fenbufen < Felbinac < Flurbiprofen < Ibuprofen

Die Assoziationskonstanten lassen sich nicht mit der Schwerlöslichkeit der Substanzen korrelieren. So weist Ibuprofen die stärksten Wechselwirkungen mit β -Cyclodextrin auf, obwohl für diesen Gast noch die höchsten Konzentrationen in Wasser erreicht werden können. Vielmehr scheinen stärkere intermolekulare Bindungskräfte die Löslichkeit des gebildeten Komplexes zu begrenzen. Hingegen scheint aber die Lipophilie der Gastmoleküle eine Rolle hinsichtlich der Stärke der Wechselwirkungen mit β -Cyclodextrin zu spielen. Dies wird ersichtlich bei der Betrachtung der Oktanol-Wasser-Koeffizienten (s. Kap. 4.1.2, Tab. 4.2 [93,94]) der Gastmoleküle in Verbindung mit der Assoziationskonstante $K_{1:1}$. So scheint die Bereitschaft zur Bildung von Einschlusskomplexen mit β -Cyclodextrin mit steigenden Werten für $\log P$ und damit einhergehender steigender Lipophilie des Gastmoleküls zuzunehmen.

Die Löslichkeitsuntersuchungen in reinem Wasser bei 25°C konnten erste Einblicke in die Komplexbildung der Gastmoleküle mit den natürlichen Cyclodextrinen liefern. Anhand der Ergebnisse hat sich herausgestellt, dass der Oktanol-Wasser-Koeffizient eine wichtige Einflussgröße bei der Vorhersage der Assoziationskonstante sein könnte.

Die gewählte Methode der Löslichkeitsuntersuchungen ist prinzipiell geeignet zur Berechnung der Assoziationskonstante. Für die Mehrzahl der Substanzen ergaben sich nur sehr geringe Standardabweichungen und damit eine gute Reproduzierbarkeit.

Lediglich die Messreihen von Flurbiprofen und Ibuprofen zeichneten sich durch erhöhte Streuungen aus.

5.1.3 Einfluss des pH-Werts auf die Komplexbildung

Die Gastmoleküle sind aufgrund ihrer Carboxylgruppe schwache Säuren, die in Abhängigkeit vom pH-Wert ungeladen oder deprotoniert vorliegen können. Der Protonierungsgrad hat erheblichen Einfluss auf Moleküleigenschaften wie beispielsweise Löslichkeit oder Polarität. Somit ist klar, dass sich der pH-Wert auch auf das Komplexbildungsgeschehen mit Cyclodextrinen auswirken kann.

Deshalb wurden nicht nur Löslichkeitsuntersuchungen in reinem Wasser, sondern auch in gepufferten Lösungen bei den pH-Werten 4,5, 5,5 und 6,5 bei 25°C durchgeführt. Es wurden dazu Cyclodextrinkonzentrationen des linearen ansteigenden Bereichs der Löslichkeitsisothermen für die Wechselwirkungen der Gastmoleküle mit β-Cyclodextrin in reinem Wasser gewählt.

In Tabelle 5.5 ist der jeweilige Dissoziationsgrad der Gastmoleküle bei den verschiedenen pH-Werten angegeben. Er errechnet sich nach [50]:

$$\alpha = \frac{1}{1 + 10^{\text{pK}_A - \text{pH}}} \quad \text{Gl. 5.1}$$

Im Gegensatz zu den übrigen Substanzen liegt Fenbufen durch seinen vergleichsweise hohen pK_A-Wert bei einem pH-Wert von 4,5 nur zu etwa 6 % dissoziiert vor, während hier bei den anderen Gastmolekülen schon etwa die Hälfte der Moleküle deprotoniert ist.

Tab. 5.5: Dissoziationsgrad der Gastmoleküle in Abhängigkeit vom pH-Wert

Gastmolekül	pK _A -Wert	Dissoziationsgrad [%] bei		
		pH 4,5	pH 5,5	pH 6,5
Ibuprofen	4,55 [93]	47,1	89,9	98,9
Ketoprofen	4,18 [93]	67,6	95,4	99,5
Naproxen	4,20 [93]	66,6	95,2	99,5
Flurbiprofen	4,20 [93]	66,6	95,2	99,5
Felbinac	4,29 [94]	61,9	94,2	99,5
Fenbufen	5,70 [93]	5,9	38,7	86,3

Im folgenden Diagramm sind exemplarisch die Löslichkeitsisothermen von Ketoprofen bei den pH-Werten 4,5, 5,5 und 6,5 abgebildet (Abb. 5.10). Alle weiteren Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Anhang 8.3.2.5 dargestellt. Man erkennt, dass sich die intrinsische Löslichkeit des sauren Gastmoleküls erwartungsgemäß mit steigendem pH-Wert erhöht, was den Isothermenverlauf vertikal verschiebt.

Aufschlussreicher ist die Betrachtung der Steigungen der Isothermen (Tab. 5.6). Je

größer die Steigung ist, desto größer ist die Stoffmenge an Gastmolekül, die durch die Zugabe eines Mols Cyclodextrin in Lösung gebracht werden kann. Die Werte der Steigungen der Löslichkeitsisothermen aller Gastmoleküle bei den verschiedenen pH-Werten sind in Tabelle 5.6 angegeben.

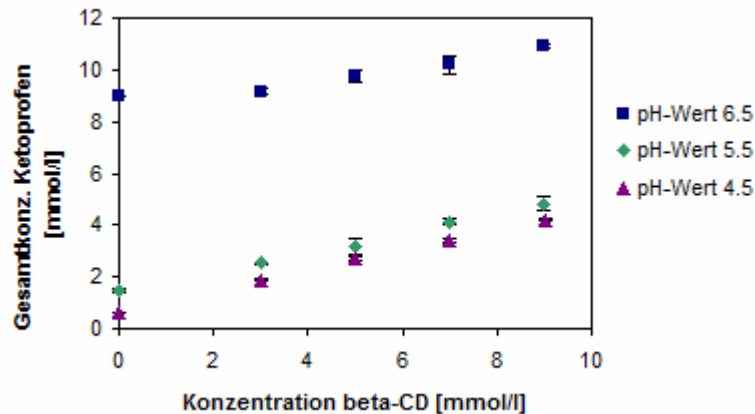


Abb. 5.10: Löslichkeitsisothermen für Ketoprofen bei verschiedenen pH-Werten

Tab. 5.6: Steigungen der Löslichkeitsisothermen bei 25°C in Abhängigkeit vom pH-Wert

Gastmolekül	Steigungen		
	pH 4,5	pH 5,5	pH 6,5
Ibuprofen	1,7129	0,9839	0,6746
Ketoprofen	0,3962	0,3731	0,2157
Naproxen	0,2057	0,2113	0,3109
Flurbiprofen	0,4970	0,4599	0,3878
Felbinac	0,2802	0,4349	0,5358
Fenbufen	0,0452	0,0876	0,4365

Die Gastmoleküle lassen sich hinsichtlich der Steigungsänderung in Abhängigkeit vom pH-Wert in zwei Kategorien einteilen. Für Ibuprofen, Ketoprofen und Flurbiprofen nimmt die Steigung mit zunehmenden pH-Wert ab. Für die Gäste Naproxen, Felbinac und Fenbufen hingegen steigt sie an (Tab. 5.6). Abbildung 5.11 für Fenbufen zeigt somit ein ganz anderes Bild als Abbildung 5.10.

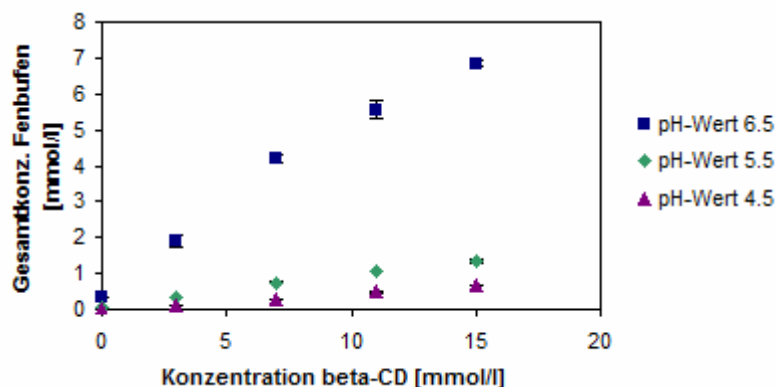


Abb. 5.11: Löslichkeitsisothermen für Fenbufen bei verschiedenen pH-Werten

Bei höheren pH-Werten scheint also für Fenbufen eine erhöhte Affinität zum Cyclodextrin zu bestehen. Der Wirt kann hier also noch stärker als Lösungsvermittler dienen. Ergänzend wurden auch hier die Assoziationskonstanten $K_{1:1}$ nach Gl. 2.17 berechnet.

Tab. 5.7: Assoziationskonstanten bei 25°C in Abhängigkeit vom pH-Wert

Gastmolekül	$K_{1:1}$ [M ⁻¹]		
	pH 4,5	pH 5,5	pH 6,5
Ibuprofen	n. b.	19959	215
Ketoprofen	1039	400	31
Naproxen	1230	373	105
Flurbiprofen	9593	1664	169
Felbinac	4479	1475	329
Fenbufen	4697	2812	2304

Anmerkung: für Ibuprofen nach Gl. 2.17 nicht berechenbar, da Steigung > 1

Die in Tabelle 5.7 aufgeführten Werte zeigen, dass die Komplexbildung mit zunehmendem pH-Wert des Lösungsmittels für alle Gastmoleküle thermodynamisch ungünstiger wird.

Die Werte für $K_{1:1}$ nehmen durchgehend mit steigendem pH-Wert ab. Obwohl, wie oben beschrieben, die Steigung für einige Gäste zunimmt, bedingt die in die Berechnung von $K_{1:1}$ einfließende gesteigerte Löslichkeit diesen Trend. Er ist jedoch bei Fenbufen, Naproxen und Felbinac nicht so stark ausgeprägt.

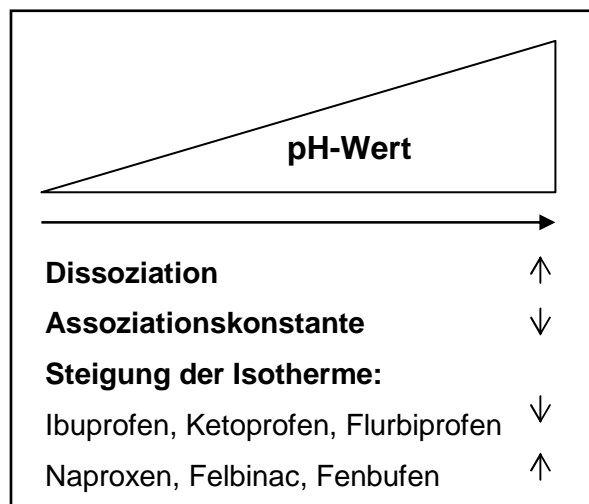


Abb. 5.12: Darstellung der wichtigsten Zusammenhänge

Abbildung 5.12 fasst die wichtigsten Ergebnisse zusammen. Es stellt sich nun die Frage, wodurch das unterschiedliche Verhalten der Gastmoleküle bedingt wird. Eine mögliche Erklärung stellt das pH-abhängige Auftreten unterschiedlicher Komplexstöchiometrien dar. Die Unterschiede in der Ladung der Gäste könnten verschiedene Komplexstrukturen bedingen, deren molekulare Zusammensetzung die Steigung der Isothermen bestimmen würde.

5.1.4 Einfluss der Temperatur auf die Komplexbildung

Löslichkeitsuntersuchungen zur Abschätzung des Einflusses der Temperatur auf die Komplexbildung erfolgten in ungepuffertem Wasser bei Cyclodextrinkonzentrationen im ansteigenden, linearen Teil der Löslichkeitsisotherme bei 25°C. Es liegt die Annahme zugrunde, dass aufgrund der mit steigender Temperatur einhergehenden steigenden Wasserlöslichkeit der Gastmoleküle ihr Bestreben, in die Kavität des Cyclodextrins einzudringen, nachlässt. Dies bedeutet, dass die Assoziationskonstanten mit zunehmender Temperatur abnehmen müssten.

In Abbildung 5.13 ist exemplarisch der typische Verlauf der Löslichkeitsisothermen bei unterschiedlichen Temperaturen für Felbinac dargestellt. Dieser tritt weitestgehend auch bei den anderen Gastmolekülen auf (vgl. Anh. 8.3.2.6). Wie auch schon bei den vorherigen Versuchen treten bei Ibuprofen und Flurbiprofen stärkere Standardabweichungen auf.

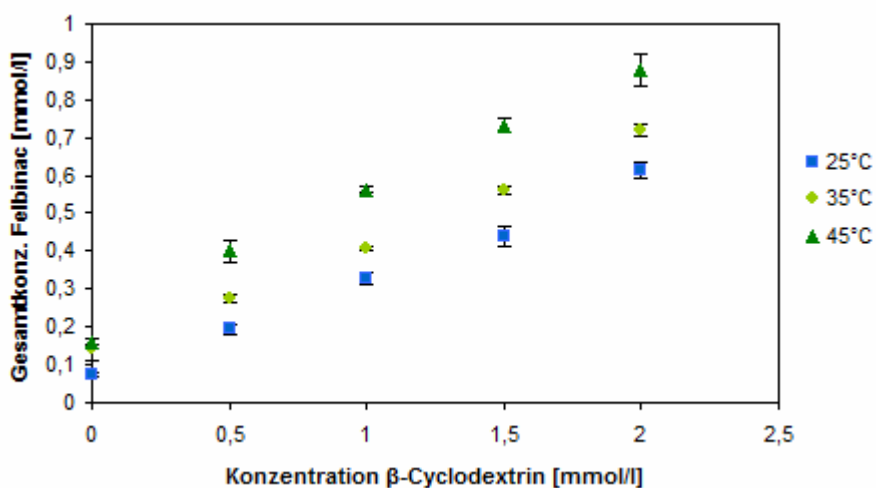


Abb. 5.13: Löslichkeitsisothermen für Felbinac bei verschiedenen Temperaturen

In Tabelle 5.8 sind die Assoziationskonstanten für die Gastmoleküle bei den einzelnen Temperaturen angegeben. Entgegen der Erwartungen war nicht bei allen Gastsustanzen die erwartete Tendenz festzustellen.

Tab. 5.8: $K_{1:1}$ [M^{-1}] in Abhängigkeit von der Temperatur

Gastmolekül	25°C	35°C	45°C
Ibuprofen	41657	n. b.	n. b.
Ketoprofen	1407	1237	1110
Naproxen	2130	1885	1512
Flurbiprofen	14247	10259	18368
Felbinac	4808	2904	3431
Fenbufen	3195	1875	2637

Lediglich Ketoprofen und Naproxen zeigen den erwarteten Verlauf. Für das Gastmolekül

Ibuprofen war eine Berechnung der Komplexbildungskonstanten nach Gl. 2.17 bei 35°C und 45°C nicht möglich, da die Steigung einen Wert von 1 überschreitet. Für die drei Biphenyl-Gastmoleküle ergibt sich kein lineares Absinken der Assoziationskonstante. Bei der Betrachtung der Steigungen der Isothermen ergibt sich jedoch ein einheitliches Bild:

Tab. 5.9: Steigungen der Isothermen in Abhängigkeit von der Temperatur

Gastmolekül	25°C	35°C	45°C
Ibuprofen	0,9537	3,7828	8,3886
Ketoprofen	0,3989	0,4573	0,5229
Naproxen	0,2059	0,2495	0,2889
Flurbiprofen	0,5228	0,5386	0,7450
Felbinac	0,2640	0,2895	0,3547
Fenbufen	0,0398	0,0567	0,0767

Für Naproxen und Ketoprofen wurden die thermodynamischen Größen ΔG^0 , ΔS^0 und ΔH^0 durch einen linearen Van't Hoff Plot [78] (s. Anh. 8.3.2.7), also mittels Auftragung von $\ln K_{1:1}$ gegen $1/T$, bestimmt. Hier liegt die Annahme zugrunde, dass ΔH im gewählten Temperaturbereich konstant ist.

Tab. 5.10: Ergebnisse des Van't Hoff Plots (T=298,15 K)

	Ketoprofen	Naproxen
ΔG^0 [kJ/mol]	-18,0	-19,0
ΔS^0 [J/(mol·K)]	+12,4	+13,5
ΔH^0 [kJ/mol]	-14,3	-15,0
r^2	0,9990	0,9882

Ergebnisse zeigen, dass die Komplexbildung ein spontaner Prozess ist, der in beiden Fällen hauptsächlich enthalpiegetrieben ist, aber auch durch einen entropischen Beitrag begünstigt wird. Diese Interpretation lässt sich mit Daten der Literatur vereinbaren. In Tabelle 5.11 sind zum Vergleich thermodynamische Größen bei verschiedenen pH-Werten, aus verschiedenen Quellen, angegeben.

Tab. 5.11: Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur

	Ketoprofen			Naproxen		
	pH 2 [124]	pH 4 [124]	pH 6 [125]	pH 2 [124]	pH 4 [124]	pH 6 [125]
ΔG^0 [kJ/mol]	-16,3	-15,9	-16,6	-18,1	-17,5	-18,5
ΔS^0 [J/(mol·K)]	+10,8	+5,9	+38,4	+17,2	+15,1	+17,6
ΔH^0 [kJ/mol]	-12,8	-13,8	-5,1	-12,8	-15,2	-13,2

Anmerkung: pH 6 bedeutet laut Autor, dass ungepuffertes Wasser verwendet wurde.

Durchgehend ergibt sich wie in den Versuchen dieser Arbeit eine positive Entropieänderung. Da die Werte aus verschiedenen Publikationen stammen, ist jedoch eine vergleichende Interpretation nur unter Einschränkungen möglich.

5.1.5 Isothermale Titrationskalorimetrie

Zur weiteren Bestimmung thermodynamischer Parameter wurden kalorimetrische Titrationsversuche durchgeführt. Diese erfolgten mit Lösungen, die auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt wurden, da hier stärkere Wechselwirkungen beobachtet wurden, als bei höheren pH-Werten, was für die Detektierbarkeit von Vorteil ist.

Da die Lösung, die in die adiabatische Zelle hinzu titriert wird, höher konzentriert sein sollte als die vorgelegte Lösung, wurde das besser lösliche Cyclodextrin in mehreren Schritten zu einer Wirkstofflösung gegeben.

Die Reaktionen zwischen den Gastmolekülen und β -Cyclodextrin waren durchweg exothermer Natur. Dies lässt sich mit den Ergebnissen der Löslichkeitsversuche vereinbaren. Die Ergebnisse für Ibuprofen zeigten im Gegensatz zu den anderen Gastmolekülen eine gute Reproduzierbarkeit und darüber hinaus wie auch schon in den Löslichkeitsversuchen die stärksten Wechselwirkungen. Aufgrund des beobachteten Kurvenverlaufs stellt sich für die übrigen Gastmoleküle die Frage, ob eventuell eine andere Stöchiometrie als 1:1 vorliegt. Um hier eine genauere Aussage treffen zu können, müssten eventuell kleinere Cyclodextrinmengen zutitriert werden. Für Fenbufen lagen relativ schwache Wechselwirkungen vor, was eine Auswertung zusätzlich erschwerte. Abbildung 5.14 zeigt den charakteristischen Verlauf einer Titration für Ibuprofen:

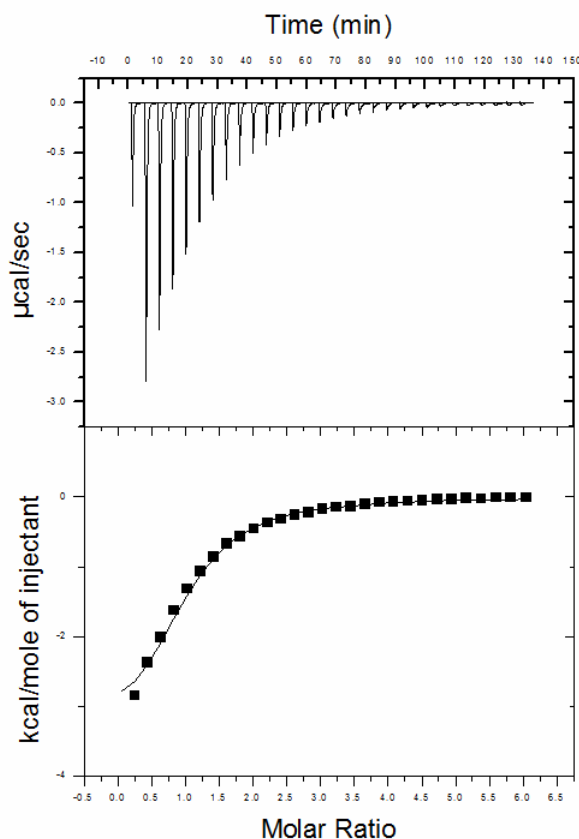


Abb. 5.14: Kalorimetrische Titration für Ibuprofen mit β -Cyclodextrin für N=1

Die Auswertung mit Origin[®] 7.0 ergab eine Stöchiometrie von N=1,3. Das heißt es kommen 1,3 Cyclodextrinmoleküle auf 1 Gastmolekül. Da der Job-Plot bei einem pH-Wert von 6,5 eine Stöchiometrie von 1:1 für den Ibuprofen-β-Cyclodextrinkomplex ergeben hatte (s. Kap. 5.1.6.1), wurden die thermodynamischen Größen für beide Fälle berechnet (s. Tab. 5.12). Es wurde dabei der Mittelwert aus drei Experimenten gebildet (s. Anh. 8.3.3).

Tab. 5.12: Ergebnisse der isothermalen Titrationskalorimetrie für Ibuprofen

	N=1	N=1,3
ΔG^0 [kJ/mol]	-26,7	-23,8
ΔS^0 [J/molK]	+39,7	+32,1
ΔH^0 [kJ/mol]	-14,9	-14,3
K [M ⁻¹]	37467	19400

Die Werte für ΔG^0 und K liegen für eine angenommene Stöchiometrie von 1:1 sehr nahe an den Werten, die mit Hilfe der Löslichkeitsstudien in reinem Wasser erhalten wurden. Es wird deutlich, dass die Reaktion für beide in Betracht kommenden Stöchiometrien sowohl enthalpie- als auch entropiegetrieben ist, wie dies auch für Naproxen und Ketoprofen (Kap. 5.1.4) der Fall ist.

Zu diesem Schluss kommen auch Xing et al. [126], die die Reaktion für Ibuprofen bei einem pH-Wert von 7,0 untersucht haben. Experimente, die mit Naproxen und Flurbiprofen von Todorova et al. [127] bei den pH-Werten 6,1 und 7,1 durchgeführt wurden, zeigten höhere enthalpische Beiträge für Flurbiprofen aufgrund der größeren Flexibilität der Biphenylringe im Vergleich zum Naphthalingerüst. Im Vergleich zu Ibuprofen liegt ΔG hier niedriger. Ähnlich fügen sich die Ergebnisse der Versuche für Ketoprofen, Ibuprofen, und Flurbiprofen bei pH 8 von Waters et al. [128] ins Bild. Ketoprofen zeigt hier, wie Naproxen in [127] und bei den Löslichkeitsstudien eine vergleichsweise schwache Reaktion. Zur Beurteilung, ob die bei Ibuprofen beobachteten Gemeinsamkeiten mit den Ergebnissen der Löslichkeitsstudien auch auf die anderen Gastmoleküle übertragbar sind und zur besseren Erschließung der Datenlage für Felbinac und Fenbufen, für die noch keine Daten vorliegen, müssten weitere Versuche durchgeführt werden, in denen, wie schon beschrieben, kleinere Cyclodextrinaliquots zutitriert werden müssten.

5.1.6 ¹H-NMR-Spektroskopie

Zum einen sollten mit Hilfe von Job's Plots die Stöchiometrie der Wirt-Gast-Komplexe in Lösung abgeschätzt werden. Zum anderen sollten zweidimensionale ROESY-Aufnahmen Hinweise auf die Komplexstruktur in wässriger Lösung liefern.

Die Probenvorbereitung erfolgte für beide Versuchsreihen gleichartig. Da das Verhalten der Komplexe im Medium Wasser von Interesse ist, wurden die Messungen in

Deuteriumoxid durchgeführt. Es wurden dazu zunächst getrennte wässrige Pufferlösungen beider Komponenten hergestellt. Um eine höhere Konzentration der Gastmoleküle zu erreichen und somit ein geringeres Signal-Rausch-Verhältnis im Spektrum zu erhalten, wurde ein pH-Wert von 6,5 gewählt. Die Proben wurden mehrfach lyophilisiert und jeweils mit D₂O versetzt, um das Wasser möglichst komplett aus der Probe zu entfernen. Da Cyclodextrine potentiell auch Komplexe mit internen Standardsubstanzen bilden können, wurde auf das HDO-Signal referenziert.

Bei β -Cyclodextrin sind insbesondere die Signale von Verschiebungen der Protonen H3 und H5, die ins Innere der Cyclodextrinkavität gerichtet sind, betroffen. Die Zuordnung der Signale von β -Cyclodextrin ist in Anhang 8.3.4.2 aufgeführt.

5.1.6.1 Job's Plots

Im Rahmen von Job's Plots können Veränderungen von chemischen Verschiebungen ($\Delta\delta$), so genannte „complexation induced chemical shifts“, Auskunft über die durchschnittliche Stöchiometrie der vorliegenden Komplexe (s. Kap. 4.2.3.2) geben. Dazu wurden ¹H-NMR-Spektren von Lösungen mit definierten Verhältnissen von Cyclodextrin und Gastmolekül aufgenommen und die Veränderung der chemischen Verschiebungen von ausgewählten Signalen bestimmt. In der vorliegenden Arbeit wurden die Signale der Protonen H3 und H5 von β -Cyclodextrin herangezogen, da diese einerseits auch nach Komplexbildung noch eindeutig zugeordnet werden konnten, andererseits im Falle der Bildung von Einschlusskomplexen in jedem Fall von einer Veränderung der Verschiebung betroffen sein müssen. Im Verlauf der Auswertungen hat sich herausgestellt, dass es bei dem Signal des Protons H5 durch die Komplexbildung zu Signalaufspaltungen kommt, was eine exakte Auswertung erschwert. Aus diesem Grund wurden zur Beurteilung der Komplexstöchiometrie letztendlich ausschließlich die Signale des Protons H3 herangezogen.

Die Ermittlung der Komplexstöchiometrie erfolgt graphisch (s. Kap. 4.2.3.2). Sie wird durch das Maximum der Auftragung von $\Delta\delta \cdot X_{CD}$ gegen X_{CD} dargestellt (s. Abb. 5.15).

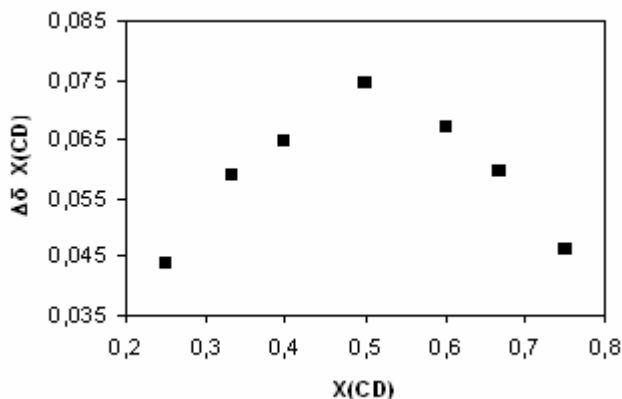


Abb. 5.15: Job's Plot für Flurbiprofen/β-Cyclodextrin

Der Job's Plot für Flurbiprofen zeigt, dass es sich hier um einen Komplex mit einer Stöchiometrie von 1:1 handelt. Die Ergebnisse der CICS-Messungen sowie die Job's Plots der weiteren Gastmoleküle sind in den Anhängen 8.3.4.3 und 8.3.4.4 dargestellt. In der nachfolgenden Tabelle sind die durch unterschiedliche Methoden erhaltenen, stöchiometrischen Verhältnisse für alle Gastmoleküle und die in der Literatur gefundenen Angaben aufgeführt.

Tab. 5.13: Stöchiometrische Verhältnisse der Cyclodextrinkomplexe (CD : G)

Gastmolekül	Job's Plot pH 6,5	Löslichkeitsversuche Wasser	Vergleich Literatur
Ibuprofen	1:1	1:1 (Gl. 2.19, Wert 0,86)	1:1 [126]
Ketoprofen	3:2-2:3	1:1 (Gl. 2.19, Wert 1,05)	1:1 (pH 7,5) [129]
Naproxen	2:1-1:2	1:1 (Gl. 2.18, Wert: 1,12)	1:1 (Na-Salz), versch. Methoden [130] 1:1 (pD 9) [131]
Flurbiprofen	1:1	n. b.	1:1 (Na-Salz) [132]
Felbinac	1:1	n. b.	1:1 (D ₂ O/NaOD) [133]
Fenbufen	3:2	5:1 (Gl. 2.18, Wert: 0,21)	1:1 (Na-Salz) [134]

Anmerkung: Für Felbinac und Flurbiprofen konnten die stöchiometrischen Verhältnisse aus den Löslichkeitsversuchen nicht bestimmt werden, da die Plateaus im untersuchten Bereich nicht abgeschlossen waren.

Die Werte in Tab. 5.13 zeigen, dass eine eindeutige Bestimmung der Stöchiometrie mit Hilfe eines Job's Plots nicht immer möglich ist. Die graphische Darstellung für das Gastmolekül Ketoprofen (s. Abb. 5.16) zeigt z. B. kein eindeutiges Maximum. Das bedeutet, dass eventuell mehrere Stöchiometrien nebeneinander vorliegen können. Möglicherweise hätten Mehrfachbestimmungen zu genaueren Ergebnissen geführt, was jedoch aufgrund der Kapazitäten am Messgerät nicht möglich war.

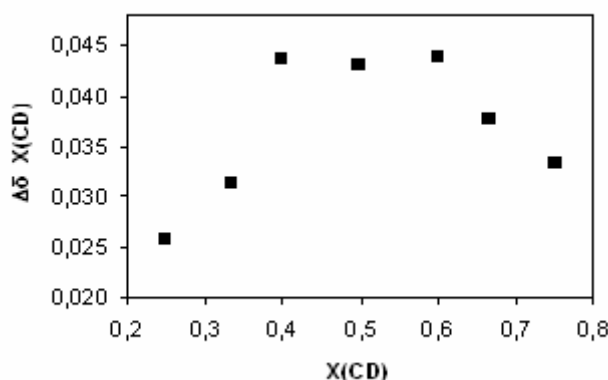


Abb. 5.16: Job's Plot für Ketoprofen/ β -Cyclodextrin

Insgesamt deuten Messwerte und Literaturangaben in den meisten Fällen auf das Vorliegen einer bevorzugten Stöchiometrie von 1:1 hin. Schwankungen könnten neben Messungenauigkeiten auch in den teilweise abweichenden Bedingungen begründet liegen.

5.1.6.2 Strukturelle Analyse mittels ROESY

Die Aufnahme von ROESY-Spektren sollte Hinweise auf mögliche Orientierungen des Gastes im Cyclodextrin geben. Zur Auswertung wurden zunächst alle im Spektrum auftretenden Signale den einzelnen Protonen des Gastmoleküls zugeordnet. Dies erfolgte anhand der Integrale der eindimensionalen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren und der zusätzlich aufgenommenen COSY-Spektren, aber auch durch sichtbare Wechselwirkungen in den ROESY-Spektren selbst und unter Zuhilfenahme diverser Literaturstellen (s. Anh. 8.3.4.6).

Für alle untersuchten Gastmoleküle war eine Auswertung möglich. Es wurde vereinfachend eine Komplexstöchiometrie von 1:1 angenommen. Da die Versuche bei einem pH-Wert von 6,5 stattfanden, liegen die Gastmoleküle zum Großteil deprotoniert vor. Zudem wären nicht deprotonierte Carboxylgruppen durch das Säure-Base-Gleichgewicht bei der Aufnahme in D_2O deuteriert worden, was insgesamt zur Folge hat, dass die Signale der Carboxylgruppen nicht mehr vorhanden sind, und somit eine definitive Bestimmung ihrer Orientierung entfallen muss. Da in Nachbarschaft zur Carboxylgruppe zumeist andere Protonen liegen, deren Signale auswertbar sind, konnte zumindest eine Abschätzung der Orientierung der Säurefunktion erfolgen.

Mögliche Komplexstrukturen, entsprechend der Ergebnisse der Wirt-Gast-Komplexe sind in Abbildung 5.17 dargestellt. Die Tatsache, dass bei allen Gästen Verschiebungen der Signale von H3 und H5 von β -Cyclodextrin auftraten, deutet auf wirkliche Einschlusskomplexe hin. Dabei dringt der aromatische Teil des Moleküls stets ganz oder

zumindest teilweise in die Kavität des Cyclodextrins ein.

Bei Ibuprofen ist zusätzlich die Alkylkette des Isobutylrests in den Cyclodextrinhohlraum eingeschlossen, während die Methylgruppe nach außen orientiert ist. Diese im Phosphatpuffer (pH-Wert 6,5) beobachtete Orientierung lässt sich mit den Ergebnissen von Núñez-Agüero et al. [135] in reinem Wasser vereinbaren.

Ketoprofen verhält sich ähnlich wie Ibuprofen. Auch hier ist der Aromat zu großen Teilen eingeschlossen (Abb. 5.17), während die Methylgruppe auf der Seite des primären Hydroxylgruppenrandes aus der Kavität herausragt. Allerdings sind hier verschiedene Orientierungen des Gastmoleküls denkbar. So könnte das andere Ende des Moleküls entweder auf der Seite des primären oder des sekundären Hydroxylgruppenrandes aus dem Cyclodextrin herausragen. Bei Durchführung der Versuche bei pH 7,5 wurde von Díaz et al. lediglich ein teilweiser Einschluss festgestellt [129].

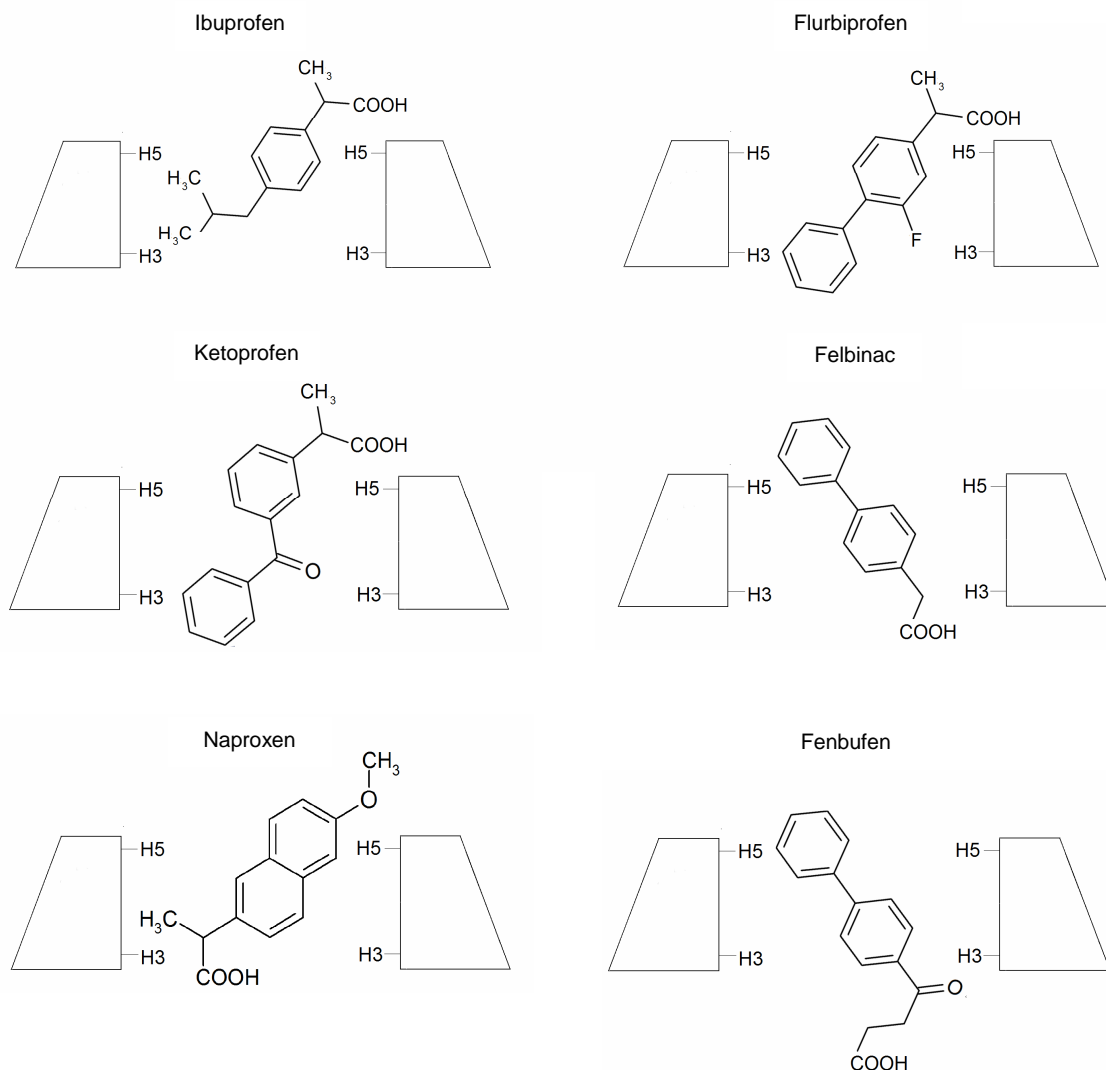


Abb. 5.17: Mögliche Komplexstrukturen in wässriger Lösung

Die Säurefunktion von Naproxen ist in Richtung der H3-Wasserstoffe und somit der aufgeweiteten Seite des Cyclodextrins orientiert. Die Methoxygruppe ragt aus der Kavität heraus. Wang et al. [130] geben hingegen eine umgekehrte Orientierung des Naproxen-Natriumsalzes im Cyclodextrin an, während Sadlej-Sosnowska et al. [136] beide Einschliessarten für möglich halten.

Die Biphenylderivate weisen keine einheitliche Struktur auf. Zwar ist hier stets ein Teil des Biphenylgrundgerüsts in der Cyclodextrinkavität lokalisiert, allerdings liegt die Methylengruppe von Felbinac innerhalb des Cyclodextrinhohlraumes, während die Methylengruppen von Fenbufen scheinbar außerhalb liegen. Die Carboxylgruppen ragen vermutlich jedoch in beiden Fällen auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppenrandes aus dem Cyclodextrin heraus, wobei dies bei Felbinac nicht eindeutig festzulegen ist. Bei Flurbiprofen hingegen ist die Carboxylgruppe in Richtung des primären

Hydroxylgruppenrandes der Cyclodextrine orientiert. Ähnlich wie bei Ibuprofen und Ketoprofen ragt auch hier die Methylgruppe aus dem Cyclodextrin heraus. In [132] wird die Struktur des Flurbiprofen- β -Cyclodextrinkomplexes als Dimer aus zwei Komplexen mit einer Head-to-tail-Struktur beschrieben, was sich auch mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit vereinbaren lassen würde.

Die Sonderstellung von Fenbufen und Naproxen hinsichtlich ihrer Fähigkeit, die Löslichkeit von β -Cyclodextrin zu steigern, kann durch ihre Komplexstruktur erklärt werden. Die Carboxylgruppen beider Moleküle sind auf der Seite der sekundären Hydroxylgruppen des Cyclodextrins lokalisiert. So könnten die Säuregruppen möglicherweise in Wechselwirkung mit diesen Hydroxylgruppen treten und somit den für die schlechte Wasserlöslichkeit des β -Cyclodextrins verantwortlichen Gürtel aus Wasserstoffbrückenbindungen lösen und damit die Löslichkeitssteigerung des β -Cyclodextrins bedingen.

5.1.7 Zusammenfassung der Untersuchungen zur Komplexstruktur

Bei Betrachtung der sechs verschiedenen Gastmoleküle fällt auf, dass alle Biphenyle eine sehr niedrige Sättigungslöslichkeit in Wasser im Vergleich zu den anderen Gastmolekülen aufweisen und sich auch durch niedrige Komplexlöslichkeiten auszeichnen. Alle Substanzen zeigen die stärksten Wechselwirkungen mit β -Cyclodextrin, wobei die Gäste Naproxen und Fenbufen die limitierte Löslichkeit des Wirtsmoleküls zu steigern vermögen. Sie zeichnen sich jedoch im Gegenzug durch relativ niedrige Assoziationskonstanten aus. Die Höhe der Werte von $K_{1:1}$ scheint zudem nicht von der Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle abzuhängen, sondern korreliert eher mit den log P-Werten der Gastmoleküle. $K_{1:1}$ sinkt bei Erhöhung des pH-Wertes, während die Steigung und damit die Affinität der Wirkstoffe zum Cyclodextrin durch Ladung zu- oder abnehmen kann. Bei Temperaturerhöhung werden erwartungsgemäß niedrigere Werte für $K_{1:1}$ erhalten, während die Steigung der Isothermen durchgehend zunimmt. Insgesamt ist die Komplexbildung im Gegensatz zum Löseprozess der Substanzen ein spontan ablaufender Vorgang. Die Komplexe weisen dabei häufig eine Stöchiometrie von 1:1 auf, wobei dies wahrscheinlich von den äußeren Bedingungen abhängt und zudem mehrere Stöchiometrien nebeneinander vorliegen können. Möglicherweise ist für das besondere Verhalten von Fenbufen und Naproxen die Komplexstruktur ausschlaggebend, was mit Hilfe von computerchemischen Versuchen noch genauer untersucht werden soll.

5.2 Computerchemische Untersuchungen zur Komplexbildung

Das Ziel der computerchemischen Experimente war die Erstellung plausibler Modelle von Cyclodextrin-Wirkstoff-Komplexen. Darüber hinaus sollte der Einfluss der Cyclodextrinkonformation sowie des Ladungszustands und der Konfiguration des Gastmoleküls auf die Komplexbildung charakterisiert werden. Da höhere Stöchiometrien mit dem gewählten Modell nur unzureichend darzustellen sind, wurde vorab festgelegt, dass je ein Gastmolekül mit einem β -Cyclodextrinmolekül reagiert, so dass ausschließlich Komplexe mit einem Verhältnis von 1:1 entstehen.

Die erhaltenen Komplexstrukturen sollen auch im Kontext zu den Resultaten praktischer Versuche betrachtet werden.

5.2.1 Charakterisierung der erhaltenen β -Cyclodextrin-Konformationen

Im Programm Autodock 3.0 [90] werden die Rezeptormoleküle starr gehalten. Die Struktur der Cyclodextrine weist in der Realität jedoch einen dynamischen Charakter auf (s. Kap. 2.1.4) [29]. So kann während der Komplexbildung auch ein sogenannter „induced-fit“ (s. Kap. 2.2.2.5) auftreten. Um dieser Flexibilität zumindest teilweise Rechnung zu tragen, sollten zehn verschiedene Konformationen des β -Cyclodextrins als Rezeptormoleküle eingesetzt werden. Diese wurden in einer Molekulardynamik Simulation mit expliziten Wassermolekülen erstellt, um die Verhältnisse in wässriger Lösung möglichst gut darzustellen [137]. Es wurde eine Temperatur von 600 K gewählt, um genügend Energie in das System einzubringen, so dass möglichst viele verschiedene Molekülkonformationen entstehen konnten.

Zunächst werden die erhaltenen Strukturen hinsichtlich ihrer geometrischen Eigenschaften wie Verdrillung, Konizität und Exzentrizität, darüber hinaus aber auch hinsichtlich der Stellung der Hydroxylgruppen sowie ihrer potentiellen Energie charakterisiert. Nach Auswertung der Docking-Studien sollten so Faktoren bestimmt werden, die sich günstig auf die Komplexbildung mit den Modellsubstanzen auswirken.

Verdrillung

Die Verdrillung eines Cyclodextrinmoleküls kann über die relative Neigung der Glucosebausteine zueinander beschrieben werden. Dazu kann die Gesamtwinkelsumme (s. Tab. 5.14), die schon zur Auswahl der Cyclodextrinkonformationen aus der Trajektorie der Molekulardynamik-Simulation herangezogen wurde, genutzt werden. Sie ergibt sich aus den Torsionswinkeln Φ ($H_1-C_1-O_4'-C_4'$) und Ψ ($C_1-O_4'-C_4'-H_4'$) [113] der glykosidischen Bindungen des Cyclodextrins (s. Abb. 4.9 u. Anh. 8.4.2). Es liegt die Annahme zugrunde, dass die Verdrillung des Moleküls mit steigender Gesamtwinkelsumme zunimmt.

Tab. 5.14: Gesamtwinkelsummen der ausgewählten Cyclodextrinkonformationen

Cyclodextrin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gesamtwinkelsumme [°]	127,4	166,2	166,2	185,6	215,9	235,5	250,8	269,5	291,1	318,0

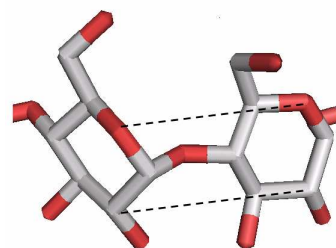
Die Gesamtwinkelsummen der zehn Konformationen verteilen sich gleichmäßig über den Wertebereich (127,0° bis 334,9°) aller aus der MD-Simulation erhaltenen Cyclodextrinmoleküle. Cyclodextrin 2 weist annähernd den gleichen Wert auf wie Cyclodextrin 3, da es sich um die zusätzlich eingefügte Röntgenkristallstruktur handelt.

Konizität

Wie in Kapitel 2.1.1 beschrieben, haben Cyclodextrine die Form eines Kegelstumpfes, wobei der Umfang des sekundären Hydroxylgruppenrandes normalerweise größer ist als der des primären [1].

Mit der Bestimmung der Konizität kann beurteilt werden, ob die generierten Cyclodextrine eher kegelförmig oder zylindrisch geformt sind. Dies hat Einfluss auf die Form des Hohlraumes und könnte sich somit auch auf den Einschluss der Wirkstoffe auswirken.

Dazu wurden in Pymol 099.rc6 [114] zum einen die Abstände der Sauerstoffatome (O5-O5'), zum anderen die Abstände der C2-Atome (C2-C2') gemessen und getrennt voneinander zum jeweiligen Umfang aufsummiert (Abb. 5.18). Die Konizität berechnet sich aus dem Verhältnis der beiden Summen:

**Abb. 5.18:** Bestimmung der Konizität

$$\text{Konizität} = \frac{\sum \text{Abstände}(C2 - C2')}{\sum \text{Abstände}(O5 - O5')}$$

Die Einzelwerte dieser Berechnung sind in Anhang 8.4.7 aufgeführt. An den Werten in Tabelle 5.15 kann man erkennen, dass die Konizitätswerte der Cyclodextrinstrukturen nur gering von 1, und somit von einer zylindrischen Form, abweichen.

Tab. 5.15: Konizität der Cyclodextrin-Strukturen

Cyclodextrin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Konizität	1,06	1,02	0,95	1,07	1,03	0,99	1,01	0,97	0,98	1,05

Exzentrizität

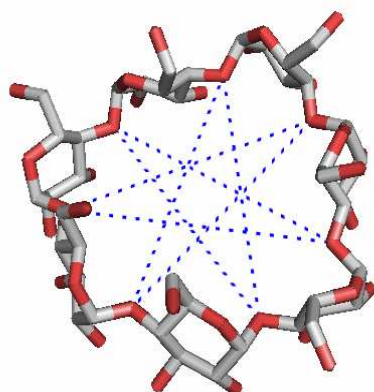


Abb. 5.19: Distanzmessung

Die Abweichung von der idealen Kreisform wird als Exzentrizität bezeichnet. Zur Beurteilung der Form der Kavität eines Cyclodextrins wurden in Pymol 099.rc6 [114] die sieben Distanzen (Abb. 5.19) zwischen den gegenüberliegenden Sauerstoffatomen O_i und O_{i+3} der glykosidischen Bindungen bestimmt. Die Standardabweichung der sieben Abstände dient als Maß für die Exzentrizität, wobei die Abweichung von der idealen Kreisform mit steigender Standardabweichung zunimmt.

Die Werte in Tabelle 5.16 zeigen, dass die Exzentrizität tendenziell mit steigender Gesamtwinkelsumme zunimmt (s. Anh. 8.4.8). Cyclodextrin 3 stellt hier eine Ausnahme dar. Es hat eine relativ niedrige Gesamtwinkelsumme, weist aber die zweithöchste Exzentrizität auf.

Tab. 5.16: Werte der Standardabweichungen zur Beurteilung der Exzentrizität

Cyclodextrin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
sdv	0,37	0,23	1,22	0,54	0,64	0,96	0,92	1,02	0,95	1,3

Stellung der Hydroxylgruppen

Die Stellung der im Cyclodextrinmolekül vorhandenen primären Hydroxylgruppen kann Form und Größe der Kavität in erheblichem Maß beeinflussen [3]. Im Gegensatz zu den sekundären Hydroxylgruppen sind sie über eine Methylengruppe mit der Ringstruktur verknüpft und können somit weiter in den Hohlraum ragen. Zudem sind sie frei drehbar, während die Anordnung der sekundären Hydroxylgruppen durch die Sesselkonformation [5] der Glucoseeinheiten vorgegeben ist. In den generierten Cyclodextrinkonformationen wurde deshalb die Anzahl der primären Hydroxylgruppen, die deutlich in den Hohlraum hineinragen visuell bestimmt (Tab. 5.17).

Tab. 5.17: Anzahl der in den Hohlraum hineinragenden primären Hydroxylgruppen

Cyclodextrin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl	0	0	0	1	1	1	2	2	0	1

Aus sterischen Gründen ragen maximal zwei Hydroxylgruppen ins Innere des Cyclodextrins. In Abbildung 5.20 sind die drei auftretenden Fälle dargestellt. Betrachtet man beispielsweise Cyclodextrin 7, so kann festgestellt werden, dass die beiden Hydroxylgruppen das einem Gastmolekül zur Verfügung stehende Volumen beschränken.

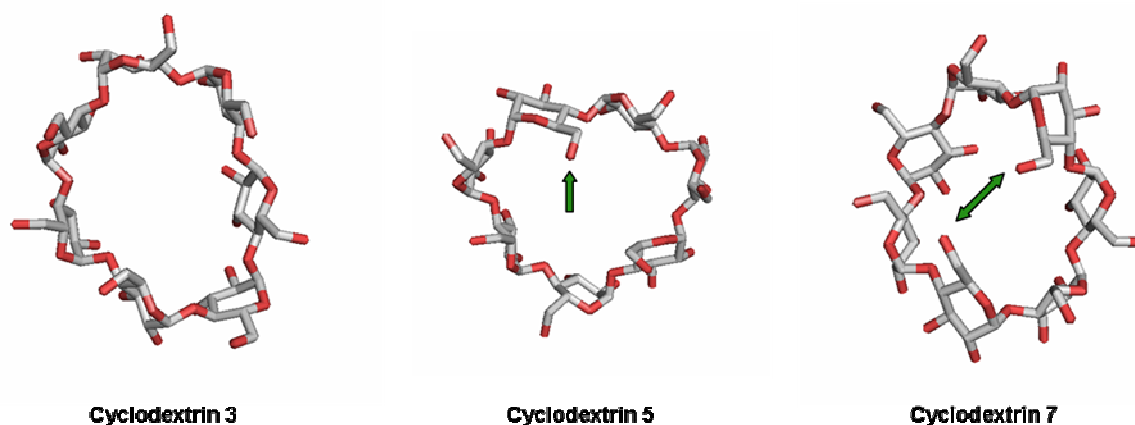


Abb. 5.20: Darstellung der unterschiedlichen Hydroxylgruppenpositionen

5.2.2 Auswertung der Docking-Studien

Es wurden Docking-Studien mit Fenbufen, Felbinac und (S)-Naproxen sowie jeweils den (R)- und (S)-Konfigurationen der Moleküle Ibuprofen, Ketoprofen und Flurbiprofen, sowohl als freie Säure als auch in deprotonierter Form durchgeführt.

Bei der Bewertung der Docking-Studien sollte zum einen die Freie Bindungsenthalpie als Maß für die Stärke der Komplexbindung herangezogen werden. Zum anderen sollte die Auswertung der Komplexstrukturen der einzelnen Docking-Studien Auskunft über präferierte Positionen der Gastmoleküle im β -Cyclodextrin geben.

5.2.2.1 Energetische Aspekte

Das Ergebnis jedes Docking-Laufs ist neben dem Bindungsmodus eine Abschätzung der Freien Bindungsenthalpie (estimated free energy of binding), im nachfolgenden ΔG_{Bind} genannt. Für jede Studie wurde aus 100 Läufen der Komplex mit der niedrigsten Freien Bindungsenthalpie ($\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$) bestimmt. Es handelt sich dabei um den größten negativen Betrag und somit um die günstigste Wechselwirkung. Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen sind teilweise kleiner als der Standardfehler [90] der Energiefunktion. Trotzdem soll die berechnete Freie Bindungsenthalpie als Maß für die Stärke der Komplexbildung herangezogen werden, da dies die fassbare Größe des Docking-Ergebnisses darstellt. Die Einzelergebnisse sind in Anhang 8.4.9 aufgelistet. Abbildung 5.21 zeigt exemplarisch die Werte für die ungeladene Form der Gastmoleküle.

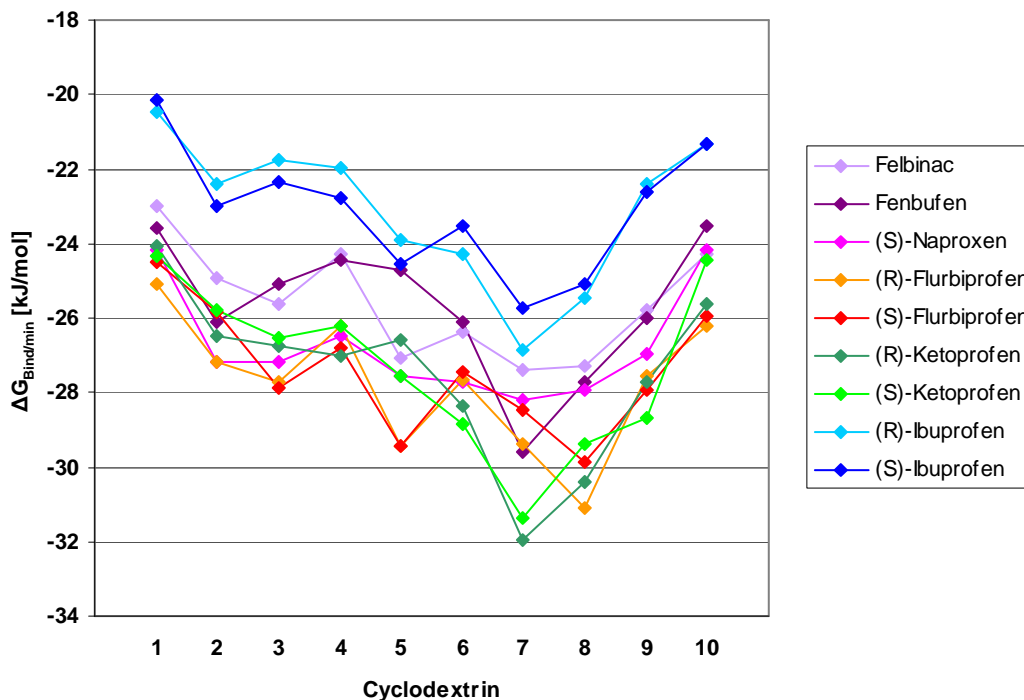


Abb. 5.21: $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ der Komplexe mit den ungeladenen Gastmolekülen

Die Kurven der einzelnen Wirkstoffe verlaufen sehr ähnlich, jedoch nicht exakt parallel. Die Lage des Minimums zeigt an, welche Cyclodextrinkonformation am günstigsten bewertet wird. Der absolute Wert wird durch den Liganden festgelegt. So erstreckt sich beispielsweise der Wertebereich von (S)-Ibuprofen von -20,5 kJ/mol bis -26,9 kJ/mol, während der von (R)-Ketoprofen zwischen -24,1 und -32,0 kJ/mol liegt. Anhand des Diagramms zeichnet sich ab, dass die niedrigsten Freien Bindungsenergien und somit die stärksten Bindungen mit den Cyclodextrinen 7 und 8 erreicht wurden. Auch die Ergebnisse in Tabelle 5.18, in der für jedes Gastmolekül aufgeführt ist, mit welchem Cyclodextrin die stärkste Wechselwirkung vorliegt, spiegeln dies wieder. Die stärksten Bindungen werden durchgehend mit Cyclodextrin 7 und 8 erhalten. Tabelle 5.18 zeigt für jeden Gast, mit welchem Cyclodextrin die niedrigste $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ erreicht wurde. Nur in zwei Fällen bevorzugt die deprotonierte Form ein anderes Cyclodextrin als die freie Säure.

Tab. 5.18: Bevorzugte Cyclodextrinkonformation der Gastmoleküle

	Freie Säure	Deprotonierte Form
Felbinac	CD 7	CD 7
Fenbufen	CD 7	CD 7
(R)-Flurbiprofen	CD 8	CD 8
(S)-Flurbiprofen	CD 8	CD 8
(R)-Ketoprofen	CD 7	CD 8
(S)-Ketoprofen	CD 7	CD 7
(R)-Ibuprofen	CD 7	CD 7
(S)-Ibuprofen	CD 7	CD 7
(S)-Naproxen	CD 7	CD 8

Die Kurven von $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ für die verschiedenen Ladungszustände eines Gastes verlaufen annähernd parallel (s. Abb. 5.22).

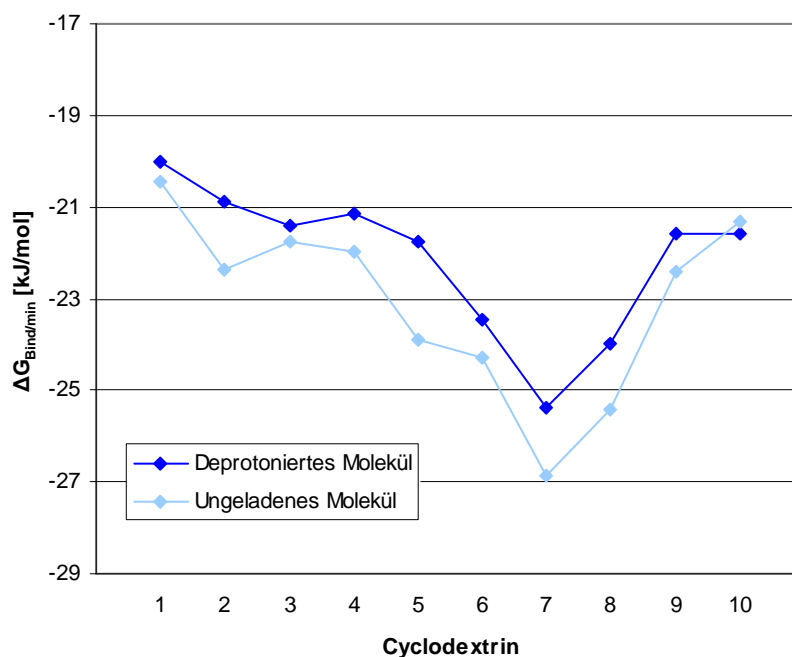


Abb. 5.22: Vergleich von $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ der Komplexe von (R)-Ibuprofen

Die Einzelwerte für $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ der ungeladenen Moleküle liegen in der Regel (bei 75 von 90 Werten) etwas niedriger als die der deprotonierten Moleküle. Ungeladene Moleküle scheinen also aufgrund ihrer eingeschränkten Wasserlöslichkeit stärkere Wechselwirkungen mit dem Wirt einzugehen. Dies stimmt auch mit den Ergebnissen praktischer Versuche überein (Kap. 5.1.3). Hier wurden mit den ungeladenen Molekülen höhere Komplexierungskonstanten beobachtet.

Eine Ausnahme stellt Fenbufen dar. Hier liegen die Werte für $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ für die deprotonierte Form häufig niedriger. Passenderweise ist Fenbufen auch das einzige Gastmolekül, das in den Löslichkeitsstudien bei höheren pH-Werten noch relativ hohe Komplexierungskonstanten aufweist (s. Kap. 5.1.3).

In Einzelfällen bestehen erhebliche Unterschiede für $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ zwischen ungeladener und deprotonierter Form. Dies trifft hauptsächlich für Komplexe von Cyclodextrin 5 mit den Gastmolekülen Felbinac, (S)-Flurbiprofen, (R)-Flurbiprofen, (S)-Ibuprofen und in geringem Ausmaß auch mit (R)-Ibuprofen zu. Abbildung 5.23 zeigt, dass (S)-Flurbiprofen beispielsweise nur in seiner ungeladenen Form auch mit Cyclodextrin 5 sehr starke Wechselwirkungen eingeht.

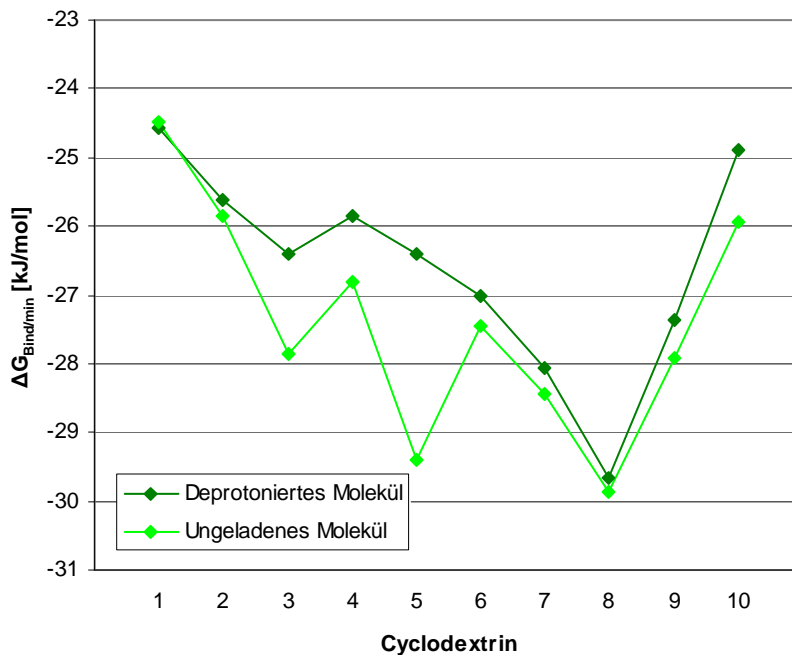


Abb. 5.23: Vergleich von $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ der Komplexe von (S)-Flurbiprofen

Zwischen den R- und S-Enantiomeren der Liganden ist kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen. Die Enantiomerenpaare bevorzugen mit Ausnahme des deprotonierten Ketoprofens stets dasselbe Cyclodextrinkonformer (Tab. 5.19).

Insgesamt fällt auf, dass die Cyclodextrine 7 und 8 die stärksten Bindungen mit den Gastmolekülen eingehen. Zum einen zeichnen sich diese Konformere durch eine mittlere bis höhere Gesamtwinkelsumme aus. Ein gewisses Maß an Verdrillung des Cyclodextrins scheint sich positiv auf die Bindungsstärke von Cyclodextrinen mit den Gastmolekülen auszuwirken.

Analog verhält es sich mit der Exzentrizität. Die ideale Kreisform, welcher Cyclodextrin 2 am nächsten kommt, scheint für eine starke Wirts-Gast-Wechselwirkung nicht ausschlaggebend zu sein, da Cyclodextrin 7 und 8 stärker als die anderen Moleküle von dieser abweichen. Die Konizitätswerte von Cyclodextrin 7 mit 1,01 und Cyclodextrin 8 mit 0,97 zeigen, dass die Formen der beiden Cyclodextrine kaum von der zylindrischen Form abweichen. Am auffälligsten erscheint jedoch die Tatsache, dass Cyclodextrin 7 und 8 die einzigen Moleküle sind, in deren Kavität zwei Hydroxylgruppen hineinragen.

5.2.2.2 Strukturelle Aspekte

Zur Beurteilung der strukturellen Aspekte der einzelnen Docking-Studien wurden jeweils alle 100 Komplexstrukturen, die während eines Dockings entstanden sind, visuell in Pymol 099.rc6 [114] ausgewertet und in grundlegende Orientierungen eingeteilt. Die

Ergebnisse dieser Auswertung sind in Anhang 8.4.10 dargestellt.

Die Vorgehensweise soll am Beispiel von Naproxen erläutert werden. Alle entstandenen Komplexstrukturen des Naproxens lassen sich acht verschiedenen Orientierungen zuordnen (Abb. 5.24).

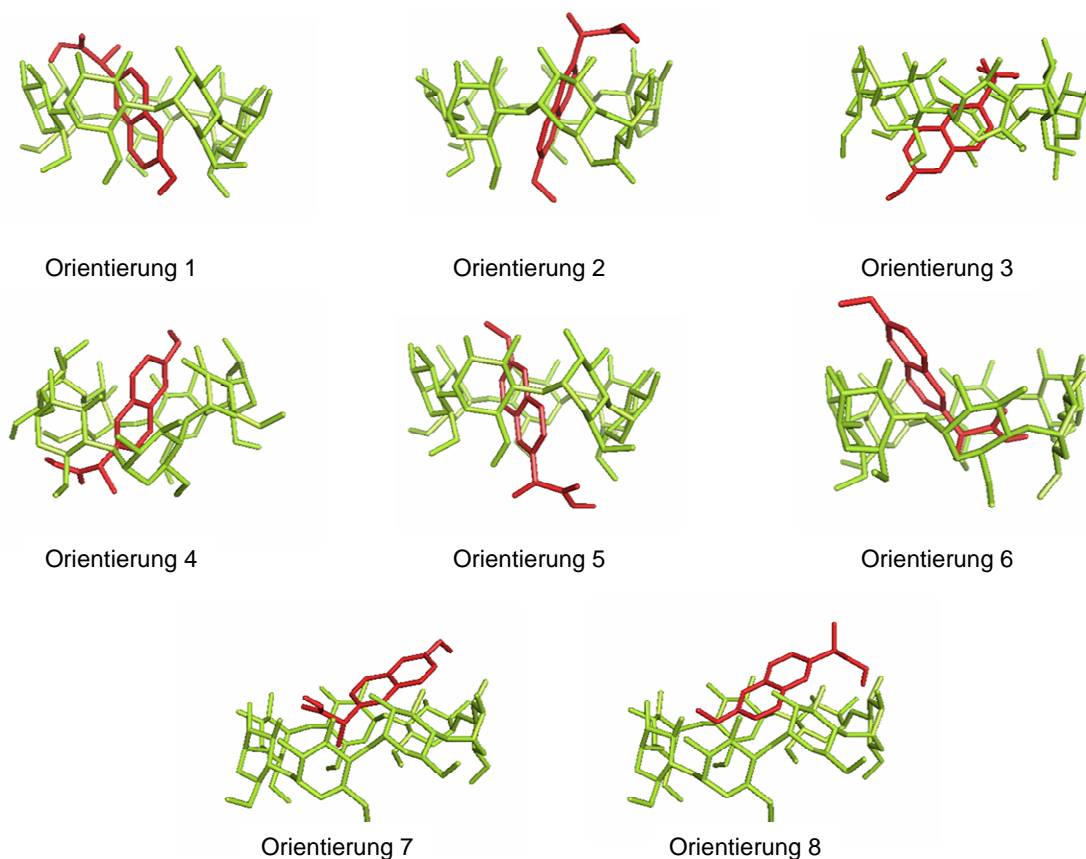


Abb. 5.24: Orientierungen der aus den Docking-Studien erhaltenen Komplexstrukturen am Beispiel von Naproxen

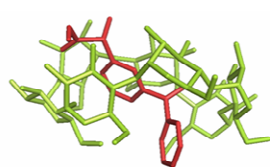
Bei den Orientierungen 1 bis 3 ist die Carboxylgruppe des Gastmoleküls in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes ausgerichtet. Dabei ist die Säuregruppe in Orientierung 1 auf Höhe der Hydroxylgruppen platziert, in Orientierung 2 ragt sie aus der Cyclodextrinkavität hinaus und in Orientierung 3 ist sie weiter in den Hohlraum hinein verschoben. Den Orientierungen 4 bis 6 wurden Komplexe zugeordnet, bei denen die Carboxylgruppe in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes zeigt. Die zusätzlichen Orientierungen 7 und 8 stellen hingegen Komplexstrukturen dar, bei denen das Gastmolekül nur zu einem sehr geringen Teil eingeschlossen ist. Es liegt auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppenrandes, wobei entweder die Carboxylgruppe oder die Methoxygruppe in die Kavität des Cyclodextrins hineinragt.

Diese Einteilung wurde im Prinzip auch für die Komplexstrukturen der anderen Moleküle vorgenommen (s. Anh. 8.4.10), wobei die Orientierungen 1 bis 6 für alle Gastmoleküle

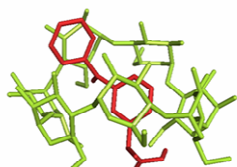
analog sind. In Einzelfällen treten für einige Gäste weitere Orientierungen auf. So auch beim oben abgebildeten Beispiel Naproxen. Hier sind die Orientierungen 7 und 8 nur bei dieser Substanz zu finden.

Unter Einbeziehung der jeweils energetisch günstigsten Komplexe aus allen Dockingstudien, fällt auf, dass die Orientierungen 1 und 4 am häufigsten auftreten. Beide sind dadurch gekennzeichnet, dass sich ihre Carboxylgruppe auf der Höhe der Cyclodextrinhydroxylgruppen bewegt. Insgesamt ist die Carboxylgruppe in etwa der Hälfte der Fälle in die Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes ausgerichtet, bei 45 % in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes und nur ein geringer Teil zeigt zudem auch Orientierungen, bei denen der Ligand kaum eingeschlossen ist.

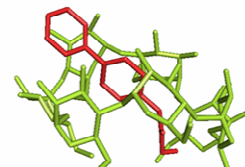
Betrachtet man hingegen nur die Komplexe mit der günstigsten Cyclodextrinkonformation, wird deutlich, dass die Liganden in 13 von 18 Fällen (s. Abb. 5.25) mit ihrer Carboxylgruppe in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes ausgerichtet sind, wobei die Orientierung 4 am häufigsten auftritt (Tab. 5.19).



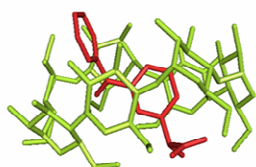
(R)-Ketoprofen (CD 7)



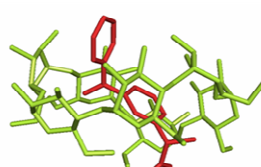
(S)-Ketoprofen (CD 7)



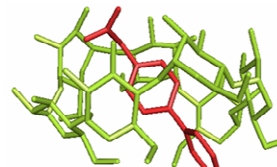
Felbinac (CD 7)



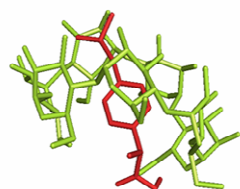
(R)-Ketoprofen-deprotoniert (CD 8)



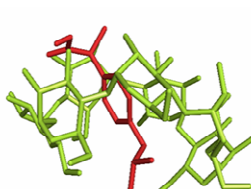
(S)-Ketoprofen-deprotoniert (CD 7)



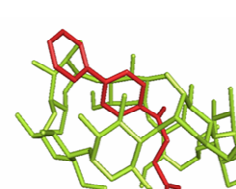
Felbinac-deprotoniert (CD 7)



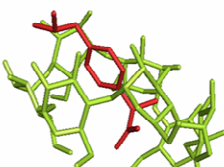
(R)-Ibuprofen (CD 7)



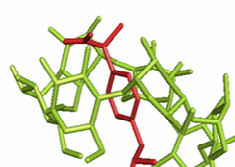
(S)-Ibuprofen (CD 7)



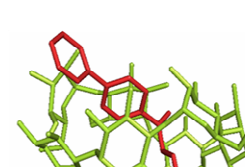
Fenbufen (CD 7)



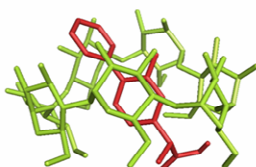
(R)-Ibuprofen-deprotoniert (CD 7)



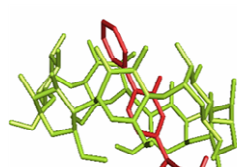
(S)-Ibuprofen-deprotoniert (CD 7)



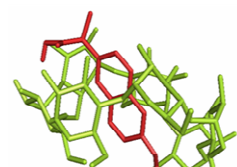
Fenbufen-deprotoniert (CD 7)



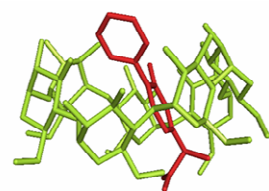
(R)-Flurbiprofen (CD 8)



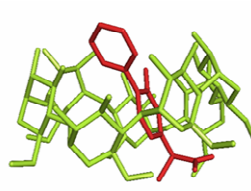
(S)-Flurbiprofen (CD 8)



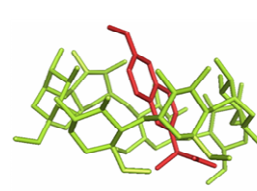
(S)-Naproxen (CD 7)



(R)-Flurbiprofen-deprotoniert (CD 8)



(S)-Flurbiprofen-deprotoniert (CD 8)



(S)-Naproxen-deprotoniert (CD 8)

Abb. 5.25: Strukturen der Komplexe mit der niedrigsten Freien Bindungsenthalpie

Tab. 5.19: Anzahl der bevorzugten Orientierungen der energetisch günstigsten Komplexe

Orientierung	1	2	3	4	5	6
Anzahl	4	1	0	9	3	1

Beim Vergleich von freier Säure und deprotonierter Form der Moleküle wird deutlich, dass in sechs von neun Fällen die prinzipielle Orientierung der Säurefunktion gleich ist. Die Konfiguration wirkt sich auf die Orientierung des Liganden in unterschiedlichem Ausmaß aus. Die Säurefunktion des R-Enantiomers von Ibuprofen orientiert sich beispielsweise in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes, während die des S-Enantiomers in die entgegengesetzte Richtung ragt. Die Enantiomere des Flurbiprofens nehmen dagegen vergleichbare Positionen in der Kavität des Cyclodextrins ein.

Insgesamt wird deutlich, dass Orientierungen bevorzugt werden, in denen die Carboxylgruppe in Richtung der primären Hydroxylgruppen ausgerichtet ist. Sie liegt vorzugsweise auf Höhe dieser Hydroxylgruppen, was die Ausbildung von intermolekularen Wechselwirkungen begünstigt und damit die Komplexstabilität erhöhen könnte.

5.2.3 Beurteilung der strukturellen Integrität

Die Stabilität der energetisch günstigsten Komplexe aus den Docking-Studien wurde mit Hilfe einer MD-Simulation, bei der der Komplex in einer Wasserbox platziert wurde überprüft.

Aus den Ergebnissen der MD-Simulation wurde eine repräsentative Struktur bestimmt. Dazu wurden alle Einträge der Datenbank entfernt, bei denen die Solltemperatur von 300 K während der anfänglichen Temperaturschwankungen um mehr als 100 K abwich. Die verbliebenen Komplexe wurden in Cyclodextrin und Gastmolekül aufgespalten. Für beide Komponenten wurde jeweils getrennt der RMSD-Wert bezogen auf ihre Position im Komplex aus dem Docking berechnet und jeweils ein Mittelwert der RMSD-Werte gebildet. Die relative Abweichung jedes RMSD-Wertes vom zugehörigen Mittelwert wurde bestimmt. Für jeden Komplex wurden die relativen Abweichungen von Cyclodextrin und Gast addiert. Der Komplex, der die kleinste Summe aufwies wurde als repräsentative Struktur herangezogen.

Mit Hilfe der Deskriptorfunktion ASA (accessible surface area) (s. Kap. 4.3.5) wird der Flächenverlust infolge von Komplexbildung sowohl für den aus der Docking-Studie als auch aus der MD-Simulation erhaltenen Komplex in Anlehnung an die Connolly-Methode bestimmt [81] (s. Anh. 8.4.11).

Der relative Flächenverlust wird folgendermaßen berechnet:

$$rFV = \frac{ASA(CD) + ASA(Gast) - ASA(Komplex)}{ASA(CD) + ASA(Gast)} \quad (\text{Gl. 5.2})$$

Je größer der relative Flächenverlust ist, desto größer ist die Kontaktfläche beziehungsweise die Eindringtiefe des Gastmoleküls in das Cyclodextrin.

Das Verhältnis des relativen Flächenverlustes durch Komplexbildung wird als Maß für die Stabilität der repräsentativen Komplexstruktur in wässriger Lösung angenommen.

$$\text{Stabilität} = \frac{rFV(MD)}{rFV(Docking)} \quad (\text{Gl. 5.3})$$

Ist der Wert für die strukturelle Integrität größer als eins, so bedeutet dies, dass das Gastmolekül während der MD-Simulation tiefer in das Cyclodextrin eindringt. Liegt der Wert unterhalb von eins, so ist dies ein Zeichen dafür, dass sich die Eindringtiefe des Gastmoleküls verringert.

Die Einzelergebnisse dieser Berechnungen sind in Anhang 8.4.12 dargestellt. Die Stabilitätswerte der untersuchten Komplexe liegen in einem Bereich von 0.92 bis 1.05. Es liegen also auch während der Dauer der Molekulardynamik-Simulation Einschlussverbindungen vor. Somit werden die aus den Docking-Studien erhaltenen Komplexe als stabil betrachtet.

5.2.4 Vergleich mit experimentellen Ergebnissen

Die Auswertung der Dockingstudien nach energetischen Gesichtspunkten zeigt, dass ein Vergleich mit den Ergebnissen, die in experimentellen Versuchen erhalten wurden, nicht uneingeschränkt gezogen werden kann. Dies verdeutlicht folgende Tabelle, in der die Werte für die minimale freie Bindungsenthalpie ($\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$) aus den Docking-Studien den Werten aus den praktischen Versuchen gegenübergestellt werden.

Tab. 5.20: Vergleich von $\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ und ΔG^0 für ungeladene Gastmoleküle

Gastmolekül	$\Delta G_{\text{Bind}/\text{min}}$ [kJ/mol]		ΔG^0 [kJ/mol]
	R-Enantiomer	S-Enantiomer	
Ibuprofen	-26,86	-25,73	-26,4
Ketoprofen	-31,97	-31,38	-18,0
Naproxen	-	-28,20	-19,0
Flurbiprofen	-31,90	-29,87	-23,7
Felbinac	-27,41		-21,0
Fenbufen	-29,62		-20,0

Anmerkung: Felbinac und Fenbufen besitzen kein chirales Zentrum.

Beim Vergleich der beiden Größen muss berücksichtigt werden, dass die Werte aus den Dockingstudien im Vergleich zur Freien Bindungsenthalpie aus den experimentellen Versuchen meist deutlich erhöht sind. Lediglich für Ibuprofen wird eine gute Übereinstimmung der Werte festgestellt.

Vereinbar mit den experimentellen Versuchen ist die Tatsache, dass die Wechselwirkungen zwischen deprotonierten Gästen und β -Cyclodextrin nicht so stark ausgeprägt sind wie die mit ungeladenen Substanzen. Der Unterschied tritt jedoch bei den theoretischen Ergebnissen nicht so stark zu Tage, wie dies bei den experimentellen Ergebnissen der Fall ist.

Ein Grund für diese Abweichungen könnte in der Parametrisierung des Dockingprogramms Autodock liegen, da dieses für die Wechselwirkungen von Proteinen und Liganden erstellt wurde. Zudem sind die Unterschiede der minimalen Freien Bindungsenthalpie der einzelnen Komplexe nur sehr gering, so dass häufig die Standardabweichung höher ist als die Differenz verschiedener Werte. Dies hat zur Folge, dass zwei aus den Dockingstudien erhaltene Komplexe, völlig unterschiedliche Strukturen aufweisen, der energetische Unterschied aber so gering ist, so dass nicht mit abschließender Sicherheit gesagt werden kann, welche Komplexstruktur letztendlich die energetisch günstigere ist. Möglicherweise wäre die Anwendung einer für Cyclodextrine entwickelte Scoringfunktion sinnvoll.

Trotzdem können aus den erhaltenen Strukturen Hinweise auf die Wechselwirkungen zwischen Wirts- und Gastmolekülen gewonnen werden.

Die Charakterisierung der Cyclodextrine hatte ergeben, dass sich vor allem jene Cyclodextrine gut als Wirtsmoleküle eignen, die sich durch zwei in die Kavität hineinragende primäre Hydroxylgruppen (Cyclodextrin 7 und 8) auszeichnen. Diese könnten für stärkere Wechselwirkungen zwischen Wirts- und Gastmolekül verantwortlich sein, da die Carboxylgruppen so mit den Hydroxylgruppen Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden können. Dafür spricht auch, dass in 13 von 18 Fällen die Carboxylgruppe in die Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes gerichtet ist (Abb. 5.27).

Interessant ist ein Vergleich der aus den Dockingstudien erhaltenen Strukturen mit den Ergebnissen der ROESY-Experimente. Es werden hierbei allerdings nur die Komplexe der deprotonierten Gastmoleküle zum Vergleich herangezogen, da die ROESY-Experimente bei einem pH-Wert von 6,5 durchgeführt wurden und somit die Gastmoleküle fast vollständig dissoziiert vorlagen. Die Ergebnisse sollen hinsichtlich der Lage des Gastmoleküls im Cyclodextrin anhand der Orientierung der Carboxylgruppe verglichen werden (Tab. 5.21).

Tab. 5.21: Orientierung der Carboxylgruppe hinsichtlich des Hydroxylgruppenrandes des Cyclodextrins

Gastmolekül	ROESY-Experimente	Docking-Studien
Ibuprofen	primär	primär/sekundär
Ketoprofen	primär	primär
Naproxen	sekundär	primär
Flurbiprofen	primär	primär
Felbinac	sekundär	sekundär
Fenbufen	sekundär	primär

Die Ergebnisse aus den Docking-Studien stimmen dabei teilweise mit den Informationen die die ROESY-Spektren liefern, überein. Sowohl die ROESY-Experimente als auch die Strukturen aus den Docking-Studien zeigen Komplexe, in denen die aromatische Einheit des Gastmoleküls in das Cyclodextrin eingeschlossen ist. Dabei stimmt die Lage der Säurefunktion nur für Ketoprofen, Felbinac, Flurbiprofen und teilweise für Ibuprofen überein.

Für Ibuprofen, Ketoprofen und Flurbiprofen, deren Säurefunktion in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes orientiert sind, wird deutlich, dass auf der Seite der sekundären Hydroxylgruppen ausschließlich lipophile Molekülteile der Gastsbstanzen zu finden sind, die nicht mit den Hydroxylgruppen in Wechselwirkung treten können (s. Abb. 5.27). Die Säuregruppe von Felbinac hingegen wäre in der Lage mit den sekundären Cyclodextrinhydroxylgruppen zu interagieren. Dies vermag in diesem Fall jedoch nicht die Löslichkeit des Cyclodextrins zu steigern, wie Fenbufen und Naproxen dies tun.

Eine mögliche Erklärung für abweichende Orientierungen, könnte die während des Dockings fehlende Beweglichkeit des Cyclodextrins sein, so dass ein in der Realität stattfindender Induced Fit, der die Orientierung des Gastmoleküls beeinflussen könnte, nicht berücksichtigt wird.

5.3 Untersuchungen von festen Komplexen

Die Herstellung und Untersuchung von festen Cyclodextrin-Wirkstoff-Komplexen sollte Aufschluss über die Eigenschaften und die Struktur der Komplexe im festen Zustand, also in Abwesenheit von Wasser, geben.

Hierzu werden häufig spektroskopische und thermische Verfahren sowie Röntgendiffraktometrie eingesetzt. Es erfolgt dazu meist ein Vergleich der Eigenschaften des Komplexes mit einer physikalischen Mischung, die die gleiche Zusammensetzung aufweist, jedoch ohne Zusatz von Wasser hergestellt wurde, so dass eine Komplexbildung ausbleibt. Problematisch erscheint bei dieser Vorgehensweise häufig die Tatsache, dass die Herstellung der physikalischen Mischungen aus den Reinsubstanzen erfolgt. Dies kann zu Fehlinterpretationen führen, da so Eigenschaftsänderungen des behandelten Wirkstoffes, die beispielsweise auf eine Änderung der Kristallinität während der Herstellung zurückzuführen sind, fälschlicherweise mit Komplexbildung gleichgesetzt werden können. Zudem gehen die Untersuchungen häufig nicht über die rein qualitative Feststellung, dass Komplexbildung stattfindet, hinaus. Eine quantitative Abschätzung der beobachteten Effekte bleibt oft aus.

In der vorliegenden Arbeit wurden von allen Gastmolekülen Komplexzubereitungen mittels Knetmethode, Kopräzipitation und Gefriertrocknung von Lösungen und Suspensionen, die entweder in flüssigem Stickstoff oder im Gefrierfach eingefroren wurden, hergestellt. Das molare Verhältnis von Cyclodextrin zu Wirkstoff betrug dabei jeweils 1:1, um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Lyophilisation sowohl von Lösungen als auch Suspensionen erfolgte, um abschätzen zu können, ob der Komplex zur Präzipitation neigt oder löslich ist. Die Behandlung der Zubereitungen mit flüssigem Stickstoff ermöglichte ein sofortiges Einfrieren der Lösungen, wodurch der Zustand der Proben nach der Gleichgewichtseinstellung möglichst gut „konserviert“ werden sollte. Während des vergleichsweise langsamen Einfrierens der Proben im Gefrierschrank wären hingegen noch längerfristige Gleichgewichtsverschiebungen denkbar. Es sollte so überprüft werden, ob niedrigere Temperaturen einen stärkeren Einschluss des Gastmoleküls hervorrufen, da die Assoziationskonstante theoretisch zunehmen müsste.

Um den oben erwähnten Aspekten der physikalischen Mischungen Rechnung zu tragen, wurden Lösungen der Einzelkomponenten der physikalischen Mischungen, die mit den durch Lyophilisation hergestellten Komplexzubereitungen verglichen werden sollten, ebenfalls gefriergetrocknet und erst anschließend gemischt. So sollte sichergestellt werden, dass Veränderungen des Schmelzverhaltens, die nur durch das Herstellungsverfahren bedingt wären, nicht fälschlicherweise als Zeichen von Komplexbildung gewertet würden.

Die Charakterisierung der festen Komplexzubereitungen sollte zum einen mit Hilfe thermoanalytischer Untersuchungen Aufschluss über den in die Cyclodextrinkavität eingeschlossenen Wirkstoffanteil in Abhängigkeit des Herstellungsverfahrens geben. Zum anderen soll mit Hilfe infrarotspektroskopischer Untersuchungen bestimmt werden, welche Molekülteile an der Komplexbildung beteiligt sind, und ein Vergleich der strukturellen Eigenschaften von festen und in Lösung vorliegenden Komplexen erfolgen. Zunächst wurde der Gesamtwirkstoffgehalt der festen Komplexe bestimmt.

5.3.1 Wirkstoffgehalt der Komplexe

Um einen Bezugspunkt für eine Abschätzung des eingeschlossenen Wirkstoffanteils zu schaffen wurde zunächst der Gesamtwirkstoffgehalt der Komplexzubereitungen, bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.22 dargestellt.

Der Wirkstoffgehalt der Komplexe, die mit Hilfe der Knetmethode, durch Kopräzipitation oder durch Gefriertrocknung von Suspensionen hergestellt wurden, sollte relativ ähnlich sein, da hier jeweils die gleichen Massen der Komponenten eingewogen wurden und keine Trennung von gelösten und ungelösten Anteilen stattgefunden hat. Der Wirkstoffgehalt der durch Lyophilisation von Lösungen entstandenen Komplexe ist jedoch erwartungsgemäß niedriger, da hier durch Filtration ungelöste Anteile des Komplexes, des Cyclodextrins, aber auch des Wirkstoffes abgetrennt wurden.

Tab. 5.22: Wirkstoffgehalt [%] der hergestellten Komplexe in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren

Gastmolekül	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Ibuprofen	13,6	18,5	18,2	17,3	13,6	13,5
Ketoprofen	17,5	17,0	16,8	16,7	15,2	15,6
Naproxen	14,8	13,4	12,9	11,1	5,6	5,7
Flurbiprofen	15,7	17,3	13,3	13,9	10,0	9,5
Felbinac	11,2	14,3	10,4	8,8	5,0	4,9
Fenbufen	15,4	14,3	9,9	7,1	1,1	1,2

Der Unterschied zwischen den jeweiligen Wirkstoffkonzentrationen der Suspensionen und Lösungen gibt Aufschluss darüber, ob es sich um Komplexe handelt, die gut löslich sind, oder ob diese eher zur Präzipitation neigen.

So liegt der Wirkstoffgehalt der Komplexzubereitungen von Fenbufen aus dem Filtrat bei nur etwa einem Prozent. Dies lässt sich einerseits auf die schlechte maximale Löslichkeit des Wirkstoffs an sich, andererseits auf die schlechte Löslichkeit des Komplexes zurückführen. Das Gegenteil trifft für Ketoprofen zu. Hier unterscheidet sich der Gesamtwirkstoffgehalt der beiden Zubereitungen nur wenig, was an der besseren maximalen Komplexlöslichkeit liegen kann, so dass bei der Filtration weniger ungelöster Komplex abgetrennt wird. Für die folgenden Untersuchungen wurden jeweils

physikalische Mischungen aus Wirkstoff und β -Cyclodextrin hergestellt, deren Wirkstoffanteil mit dem im Komplex vorhandenen, identisch war.

5.3.2 Thermoanalytische Untersuchungen

Da bei der Herstellung von festen Cyclodextrin-Wirkstoffkomplexen kein reiner Komplex entsteht, sondern meist eine Mischung aus Komplex, freiem Cyclodextrin und ungebundenem Wirkstoff vorliegt, ist die Bestimmung des eingeschlossenen Wirkstoffanteils und somit die Abschätzung des Komplexbildungserfolges von besonderem Interesse. Besonders bei Cyclodextrinkomplexen, die zum Zwecke der Stabilitätserhöhung oder zur Verminderung der Reaktivität der eingeschlossenen Komponente hergestellt werden, wäre ein vollständiger Einschluss des Gastmoleküls wünschenswert.

Mit Hilfe der Differenzthermoanalyse sollte eine Methode entwickelt werden, mit der eine Abschätzung des eingeschlossenen Wirkstoffanteils durchgeführt werden kann, um letztendlich zu beurteilen, welche Herstellungsmethode den Einschluss des Gastmoleküls am meisten begünstigt. Dazu werden die Flächen der Schmelzpeaks des Komplexes und seiner entsprechenden physikalischen Mischungen untersucht. In Abbildung 5.26 ist der Vergleich des Flurbiprofen-Komplexes, der mit Hilfe der Knetmethode hergestellt wurde, mit seiner entsprechenden physikalischen Mischung dargestellt.

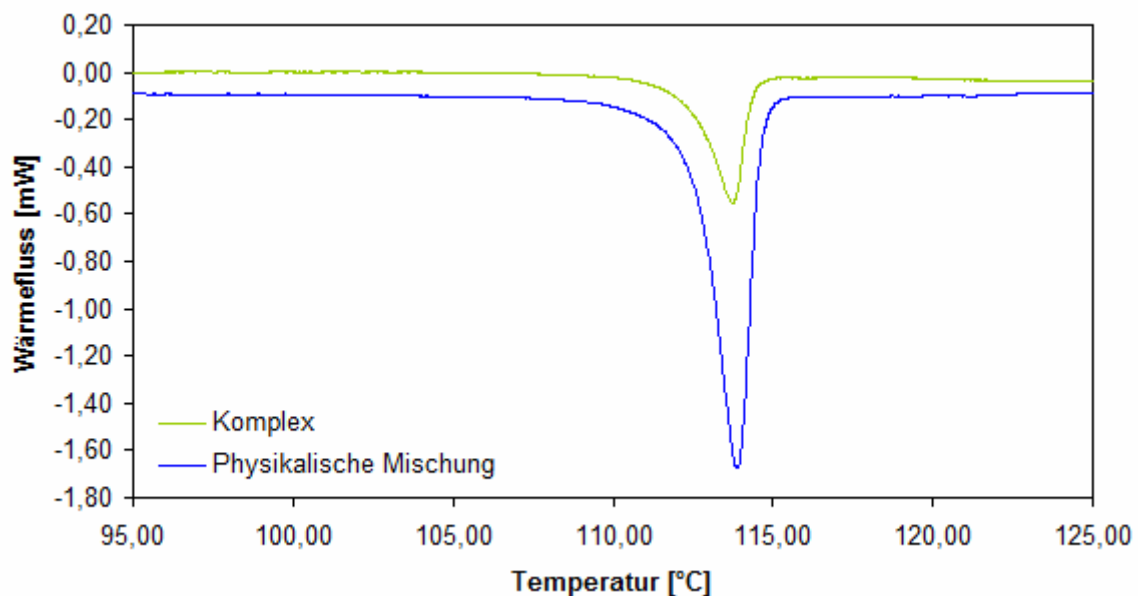


Abb. 5.26: Thermogramm einer Flurbiprofen-Komplexzubereitung (Herstellung durch Knetmethode) (Einwaage: 10,314 mg) und seiner zugehörigen physikalischen Mischung (Einwaage: 8,167 mg). Beide Zubereitungen weisen einen Wirkstoffgehalt von 15,7 % auf.

Trotz der voneinander abweichenden Einwaagen von Komplex und physikalischer Mischung wird deutlich, dass die Fläche des Schmelzpeaks des Komplexes deutlich geringer als die der physikalischen Mischung ist.

Dabei existieren unterschiedliche Ansätze der Beurteilung. Oftmals wird das Verschwinden des Schmelzpeaks schon mit Komplexbildung gleichgesetzt. Es liegen aber auch Versuche zur Berechnung des eingeschlossenen Anteils vor. Orgoványi et al. [138] haben dazu physikalische Mischungen aus Cyclodextrin und Wirkstoff unterschiedlicher Zusammensetzung hergestellt und jeweils ihre Schmelzenthalpie gemessen. Durch die Auftragung gegen den prozentualen Wirkstoffanteil wurde eine Kalibriergerade erstellt, mit der nach Bestimmung der Schmelzenthalpie der Komplexzubereitung der noch frei vorliegende Wirkstoffanteil berechnet werden konnte. Diese Vorgehensweise wurde in der vorliegenden Arbeit modifiziert. Um zu vermeiden, dass allein durch unterschiedliche prozentuale Zusammensetzungen der physikalischen Mischungen Änderungen des Schmelzverhaltens der Gastmoleküle hervorgerufen werden, wurde jeweils eine physikalische Mischung herangezogen, deren Wirkstoffgehalt der zugehörigen Komplexzubereitung entspricht. Von dieser wurde die Schmelzenthalpie in Abhängigkeit verschiedener Einwaagen bestimmt. Es wurde eine Kalibriergerade erstellt, indem die Schmelzenthalpie gegen die in der physikalischen Mischung vorhandene reine Wirkstoffmasse aufgetragen wurde.

Die schon oben beschriebene Vorbehandlung der Komponenten der physikalischen Mischungen sollte darüber hinaus Fehlinterpretationen verhindern.

In Abbildung 5.27 soll mit Hilfe der Thermogramme der physikalischen Mischungen von Ketoprofen gezeigt werden, dass die Fläche des Schmelzpeaks von der Wirkstoffmasse abhängig ist. Der Gehalt der physikalischen Mischungen betrug jeweils 17,5 %. Im Diagramm sind jeweils die Gesamteinwaagen der Mischungen angegeben.

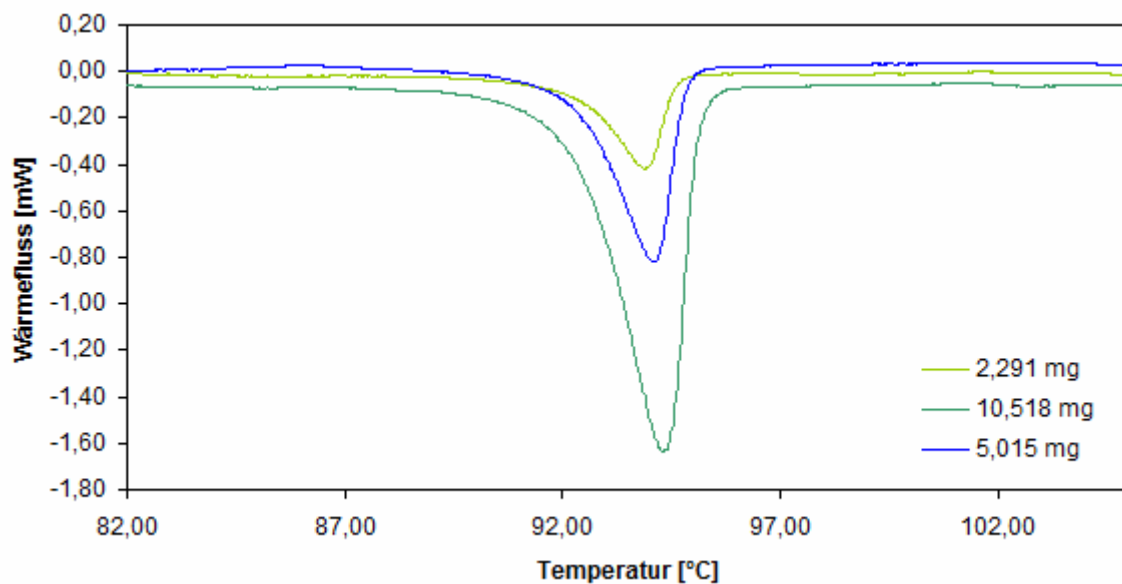


Abb. 5.27: Abhängigkeit der Fläche des Schmelzpeaks von der Einwaage einer physikalischen Mischung von Ketoprofen (Gehalt: 17,5 %)

In Tabelle 5.23 ist der detektierbare Anteil an Wirkstoff in den einzelnen Komplexzubereitungen mit Bezug auf die vorliegende Gesamtwirkstoffmasse angegeben. Diese kann jedoch nicht uneingeschränkt mit dem Begriff „freier Wirkstoffanteil“ gleichgesetzt werden, was implizieren würde, dass der restliche Wirkstoff in jedem Fall eingeschlossen wäre. Details der Ergebnisse und Versuchsdurchführung sind in Anhang 8.5.1 dargestellt.

Tab. 5.23: Detektierter Wirkstoffanteil [%] der hergestellten Komplexe

Gastmolekül	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Ibuprofen	14,6	19,1	0	0	0	17,4
Ketoprofen	39,6	15,4	22,7	29,3	0	0
Naproxen	n. a.*	28,2	35,1	51,8	n. a.	0
Flurbiprofen	26,9	n. a.	n. a.	57,9	0	0
Felbinac	30,3	0	0	0	2,7	0
Fenbufen	n. a.*	7,3	n. a.	29,6	n. a.	0

*Anmerkung: nicht auswertbar, da Schmelzenthalpie des Wirkstoffs in der Komplexzubereitung höher war als in der physikalischen Mischung

Es wird deutlich, dass der detektierbare Anteil des Wirkstoffs von der Herstellungsmethode abhängt. So werden vor allem in Komplexzubereitungen, die mittels Knetmethode oder Kopräzipitation hergestellt wurden, relativ hohe Anteile an frei vorliegenden Wirkstoff vorgefunden. Dies ist zudem auch bei Komplexen, die durch Lyophilisation einer im Gefrierfach eingefrorenen Suspension erhalten wurden, zu beobachten. Diese wiesen häufiger und höhere freie Wirkstoffanteile auf, als die analog zusammengesetzten Komplexe, die in Stickstoff eingefroren wurden. Obwohl der Gesamtwirkstoffanteil beider Komplexe gleich ist, werden also je nach Art des Einfrierens unterschiedliche Wirkstoffanteile bestimmt. Geht man davon aus, dass durch das augenblickliche Einfrieren in Stickstoff die vorhandenen Gleichgewichte weitgehend beibehalten werden, würde dies bedeuten, dass sich diese während eines langsamen Einfrierens noch ändern können, und somit bereits in Cyclodextrin eingeschlossener Wirkstoff entgegen der Erwartungen wieder frei wird. Darüber hinaus darf allerdings nicht außer Acht gelassen werden, dass auch eine Änderung der Kristallinität erfolgen kann, die ein solches Ergebnis bedingen könnte.

Komplexe, die durch Gefriertrocknung von Lösungen entstanden sind, weisen wenn überhaupt nur sehr geringe freie Wirkstoffanteile auf. Dies kann zum einen daran liegen, dass in den ungelösten Bestandteilen der Suspensionen mehr freier Wirkstoff vorliegt, der aus der Lösung durch Filtration abgetrennt wurde. Zum anderen ist die Gesamtwirkstoffkonzentration oft deutlich geringer als bei den aus Suspensionen erhaltenen Komplexzubereitungen, wie z. B. bei Fenbufen, wo der Gesamtwirkstoffgehalt nur noch etwa 1 % beträgt. Da dies möglicherweise unterhalb der Nachweisgrenze liegt,

ist es schwierig zu beurteilen, ob der Wirkstoff eingeschlossen ist oder nicht. Darüber hinaus spielt auch die Höhe der Einwaage der Komplexzubereitungen in den Tiegel eine Rolle. Diese ist aufgrund der geringen Feststoffdichte von gefriergetrockneten Komplexen, limitiert. Zudem ist ein Komplex, der einen derart niedrigen Wirkstoffgehalt aufweist, für einen pharmazeutischen Einsatz nicht relevant.

Besonders interessant erscheint der Fall des Ketoprofens. Im Gegensatz zu den anderen Wirkstoffen weisen alle gefriergetrockneten Zubereitungen nur geringfügig unterschiedliche Gesamtwirkstoffkonzentrationen (s. Tab. 5.23) auf. Trotzdem können beträchtliche Unterschiede hinsichtlich des mittels Differenzthermoanalyse detektierbaren Wirkstoffanteils beobachtet werden. Während dieser bei den lyophilisierten Suspensionen zwischen 20 und 30 % liegt, wird bei den Lösungen kein Wirkstoff detektiert. Dies könnte daran liegen, dass die in Lösung vorliegenden Gleichgewichte mehr in Richtung Komplex verschoben sind, während in der Suspension im ungelösten Anteil mehr freier Wirkstoff vorhanden ist.

Bei der Bewertung und Diskussion dieser Ergebnisse wird deutlich, dass einige Informationen aus der Durchführung thermoanalytischer Untersuchungen gezogen werden können. Allerdings ist ein alleiniges Verschwinden des Schmelzpeaks nicht uneingeschränkt mit vollständigem Einschluss des Gastmoleküls gleichzusetzen, wie es häufig in der Literatur geschieht. Aspekte, wie beispielsweise eine produkt- oder ausbeutebedingte geringe Einwaage, aber auch eine Änderung des Schmelzverhaltens aufgrund von Änderungen des kristallinen Zustands, dürfen bei der Beurteilung der Ergebnisse nicht außer Acht gelassen werden. Zudem darf nicht vernachlässigt werden, dass in wenigen Fällen eine Auswertung nicht möglich war, da die Schmelzenthalpie des Gastmoleküls in der Komplexzubereitung höher war als in der physikalischen Mischung (s. Anh. 8.1.3).

5.3.3 Infrarotspektroskopische Untersuchungen

Mit Hilfe von FT-IR-Untersuchungen sollten Informationen über die Komplexstruktur und die Orientierung des Gastmoleküls im Cyclodextrin im festen Zustand gewonnen und der Einfluss verschiedener Herstellungsverfahren auf die Struktur untersucht werden. Dabei sollte ebenfalls ein Vergleich mit den Ergebnissen aus den ROESY-Versuchen in Lösung (s. Kap. 5.1.6.2) gezogen werden. In der Literatur liegen schon Ergebnisse von FT-IR-Untersuchungen zu den ausgewählten Gastmolekülen vor. Allerdings wird hier häufig nur die C=O Valenzschwingung betrachtet, während andere Änderungen des Spektrums unberücksichtigt bleiben.

Die Zuordnung einzelner funktioneller Gruppen zu den Signalen erfolgte mit Hilfe des Spektrums der Reinsubstanz (s. Anh. 8.5.2.1 u. 8.5.2.2). Im Anschluss wurde für jede Komplexzubereitung ein Vergleich der Signale mit der jeweiligen physikalischen

Mischung gleichen Wirkstoffgehalts durchgeführt. Da immer Mischspektren aus Cyclodextrin und Wirkstoff erhalten werden, konnte auf diese Weise ausgeschlossen werden, dass ein Wirkstoffsignal von einem Cyclodextrinsignal überlagert wird und nur aufgrund eines zu niedrigen Wirkstoffgehalts verschwindet. Außerdem sollten so auch Fehlinterpretationen aufgrund von Polymorphieeffekten vermieden werden.

Eine quantitative Bestimmung des eingeschlossenen Anteils ist mit dieser Methode kaum möglich. Es kann nur eine qualitative Aussage getroffen werden, welche funktionellen Gruppen an der Komplexbildung beteiligt sind, und durch die Änderung der Verhältnisse einzelner Peaks zueinander beurteilt werden, welche Gruppen stärker betroffen sind.

5.3.3.1 Ibuprofen

Bei allen untersuchten Komplexen aus Ibuprofen und β -Cyclodextrin kommt es zu Signaländerungen im Vergleich zu den jeweiligen physikalischen Mischungen. Am stärksten ist dabei die C=O Valenzschwingungen (1704 cm^{-1}) betroffen. Aber auch die Signale der C-C-H-Deformationsschwingungen, der CH₂-Twisting-Schwingungen und der C-C-Streckschwingungen (1415 cm^{-1}) sowie der C-OH-in-plane-Schwingungen (1265 cm^{-1} , 1230 cm^{-1}), C-H-Deformationsschwingungen (1265 cm^{-1}) und CH₃-Rocking-Schwingungen (778 cm^{-1}) sind Änderungen durch die Komplexbildung unterworfen.

Bei Betrachtung der einzelnen Herstellungsverfahren wird deutlich, dass der Komplex, welcher mittels Knetmethode hergestellt wurde, nur sehr geringfügige Unterschiede im Vergleich zu seiner physikalischen Mischung aufweist, und die Signalabschwächungen gering sind. Bei den kopräzipitierten Komplexzubereitungen sind im Gegensatz zu den anderen Komplexarten nahezu alle Signale betroffen, was darauf hinweisen könnte, dass der Wirkstoff anders im Cyclodextrinmolekül platziert ist. Hierfür spricht auch, dass häufiger Signale des aliphatischen Restes betroffen sind als bei den anderen Komplexen. Ein Unterschied zwischen den lyophilisierten Komplexzubereitungen hinsichtlich des Einfrierverfahrens konnte nicht festgestellt werden.

Aus den ROESY-Versuchen geht hervor, dass der Komplex in Lösung eine ähnliche Struktur aufweist wie der feste Komplex, da auch hier Aromat, Säuregruppe und die Methyleinheit eingeschlossen sind. Die beiden CH₃-Gruppen am aliphatischen Rest von Ibuprofen könnten hier jedoch stärker in Richtung H6 des Cyclodextrins orientiert sein und sich so von H5 oder H3 und damit dem Inneren der Kavität entfernen. Auch bei den IR-Versuchen erfolgten hier Signaländerungen nicht so häufig wie bei den anderen funktionellen Gruppen.

In der Literatur liegen schon zahlreiche FT-IR-Untersuchungen von Komplexen aus Ibuprofen mit β -Cyclodextrin vor, bei denen das Hauptaugenmerk jedoch meist nur auf

die Veränderung des C=O Signals gelegt wurde [64,125,139,140]. Häufig wurde hier eine Verschiebung des Signals zu höheren Frequenzen beobachtet, was auf das Verschwinden von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Ibuprofendimeren zurückzuführen ist [64].

5.3.3.2 Ketoprofen

Bei allen hergestellten Ketoprofen- β -Cyclodextrin-Komplexzubereitungen zeigen die beiden Signale der C=O Valenzschwingungen (1691 cm^{-1} , 1652 cm^{-1}) die stärkste Abschwächung im Vergleich zur physikalischen Mischung. Darüber hinaus sind vor allem die den beiden Aromaten zuzuordnenden Schwingungen wie zum Beispiel die Ringdeformationsschwingungen (1281 cm^{-1}), C-H-in-plane Bindungsschwingungen (1226 cm^{-1}) und die C-H-out-of-plane Bindungsschwingungen (z. B. 827 cm^{-1} , 810 cm^{-1} , 713 cm^{-1}) betroffen. Nur wenig werden die Signale der CH_3 -Gruppen beeinflusst. So sind die Streckschwingungen

im höheren Wellenzahlbereich (2996 cm^{-1}) sowie die CH_3 -Deformationsschwingungen (1480 cm^{-1} , 1456 cm^{-1}) und die CH_3 -Rockingschwingungen (z. B. 1078 cm^{-1} , 1060 cm^{-1} , 966 cm^{-1} , 865 cm^{-1}) fast unverändert vorhanden. Diese Beobachtungen lassen sich auch mit den Ergebnissen der ROESY-Versuche vereinbaren, in denen keine Wechselwirkung der Methylgruppe mit den Protonen des Cyclodextrinmoleküls festgestellt werden konnte. Die Methylgruppe liegt deshalb wahrscheinlich sowohl im festen Komplex als auch in gelöster Form außerhalb des Cyclodextrins.

5.3.3.3 Naproxen

Die mittels Knetmethode hergestellten Komplexe von Naproxen mit β -Cyclodextrin weisen im Vergleich zu den schon besprochenen Gastmolekülen eine Besonderheit auf. Es ist hier kein signifikanter Unterschied zwischen dem Spektrum der Komplexzubereitungen und dem der physikalischen Mischung erkennbar. Dies könnte bedeuten, dass kaum Einschlusskomplex aus den beiden Komponenten gebildet wird, was auch die Ergebnisse der thermoanalytischen Untersuchungen zeigen. Hier war eine Berechnung des eingeschlossenen Gehalts nicht möglich, da die Peakfläche des

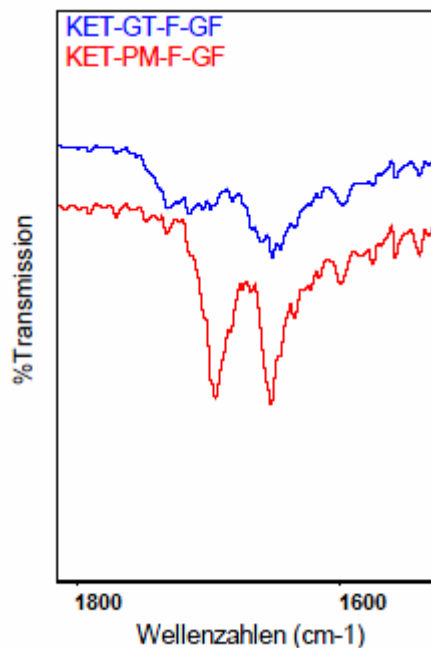


Abb. 5.28: Signal für die Ketogruppen von Ketoprofen

Komplexes größer als die der physikalischen Mischung war.

Die anderen Komplexe zeigen im IR-Spektrum eine starke Abschwächung des Signals der C=O Streckschwingung (1725 cm^{-1}) und der zugehörigen C-O-Deformationsschwingung der Carboxylgruppe (1174 cm^{-1}). Auch für aromatische Gruppen typische Schwingungen (z. B. 818 cm^{-1} , 793 cm^{-1}) werden durch die Komplexbildung abgeschwächt. Die Streckschwingungen der Methylgruppen (2963 cm^{-1} , 2938 cm^{-1}) sind hingegen kaum betroffen, ebenso wie die C-O-C-Valenzschwingungen, also die Verbindung des Naphthalingerüsts mit der Methoxygruppe, die bei 1027 cm^{-1} keine und bei 854 cm^{-1} nur teilweise schwache Intensitätsabnahmen erfahren.

Das Molekül liegt demnach so im Cyclodextrin, dass die Methoxygruppe entweder, wie im wässrigen Medium, aus der Kavität herausragt und die Methylgruppe des aliphatischen Rests in der Kavität liegt, oder dass das Molekül senkrecht in der Kavität liegt und die beiden Methylgruppen auf unterschiedlichen Seiten herausragen. Denkbar wäre auch eine horizontale Ausrichtung des Gastmoleküls, so dass die CH_3 -Gruppen auf derselben Seite des Cyclodextrins herausragen.

5.3.3.4 Flurbiprofen

Bei Komplexzubereitungen mit Flurbiprofen sind Schwingungsänderungen von fast allen Molekülteilen zu verzeichnen. Es sind durchgehend starke Signalabschwächungen der Carbonylgruppen (1694 cm^{-1}) sowie der C-C-Valenzschwingung der Aromaten, der C-H-Deformationsschwingung und der C-F-Valenzschwingung (1414 cm^{-1}) zu erkennen. Weitere, die Benzolringe betreffende Schwingungen (1222 cm^{-1} , 1215 cm^{-1} , 800 cm^{-1} , 765 cm^{-1} , 695 cm^{-1}) sowie die Schwingungen der CH_3 -Gruppe (1461 cm^{-1} , 923 cm^{-1}) erfahren bei den mittels Knetmethode und Kopräzipitation hergestellten Komplexzubereitungen, sowie bei den lyophilisierten Suspensionen stärkere Abschwächungen als bei den lyophilisierten Lösungen. Hier scheint vor allem ein Unterschied in der Orientierung der Methylgruppe vorzuliegen.

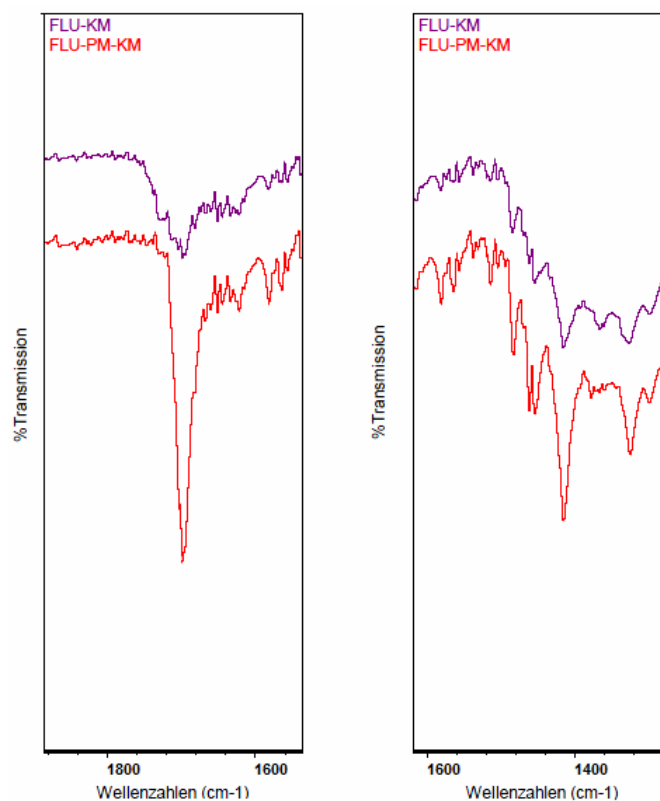


Abb. 5.29: Von der Komplexbildung betroffene Signale von Flurbiprofen; Schwingungen der Ketogruppe (links) und der Methylgruppe (rechts)

Ein Vergleich mit den Ergebnissen der ROESY-Versuche zeigt, dass sich der Zustand der festen Komplexe je nach gewähltem Herstellungsverfahren von der Struktur im wässrigen Medium, wo sich die Methylgruppe des Flurbiprofens außerhalb der Cyclodextrinkavität befindet, unterscheidet.

5.3.3.5 Felbinac

Bei den Komplexzubereitungen aus Felbinac und β -Cyclodextrin fällt auf, dass die Unterschiede der Signale zwischen den Komplexen und der zugehörigen physikalischen Mischungen nicht so stark ausgeprägt sind wie bei den übrigen Gastmolekülen. Allerdings sind aufgrund der Zusammensetzung die Signale in der physikalischen Mischung an sich nicht sehr stark ausgeprägt. Das Signal der C=O Valenzschwingung (1681 cm^{-1}) wird von der Komplexbildung kaum, bei den mittels Knetmethode hergestellten Komplexen sogar überhaupt nicht beeinflusst. Dies könnte bedeuten, dass die Carboxylgruppe weiter aus der Cyclodextrinkavität herausragt als bei den anderen Gastmolekülen.

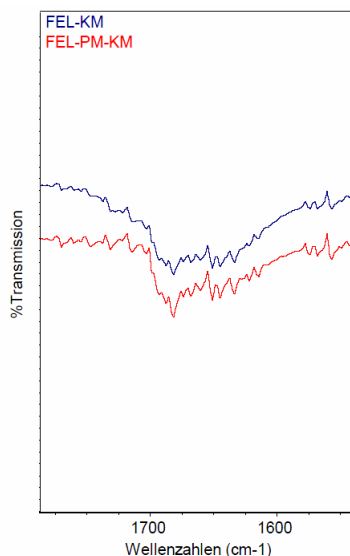


Abb. 5.30: Signal für die Keto-
gruppe von Felbinac (Knetmethode)

5.3.3.6 Fenbufen

Zur strukturellen Auswertung der Fenbufen- β -Cyclodextrinkomplexzubereitungen können nur die mittels Kopräzipitation und die durch Lyophilisation von Suspensionen erhaltenen Komplexe herangezogen werden. Die mittels Knetmethode hergestellten Komplexe zeigen ebenso wie bei Naproxen keinen Unterschied zur physikalischen Mischung. Dasselbe gilt für die lyophilisierten Lösungen, was jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit auf den sehr niedrigen Wirkstoffgehalt unter 1 % zurückzuführen ist.

Wie auch bei den meisten anderen Gastmolekülen verändern sich hier vor allem die Signale der beiden Carbonylgruppen (1703 cm^{-1} , 1671 cm^{-1}). Die typischen Schwingungen der Aromaten sind ebenfalls betroffen (v. a. 951 cm^{-1} , 943 cm^{-1}). Deutliche Signaländerungen der Valenzschwingung der Bindung zwischen Aromat und aliphatischen Rest, sowie der CH_2 -wagging und -twisting-Schwingungen (1265 cm^{-1} , 1238 cm^{-1}) der Seitenkette sind sichtbar. Dies weist darauf hin, dass diese sowie der sich daran anschließende Benzolring in der Kavität des Cyclodextrins liegen, und sich der zweite Benzolring größtenteils außerhalb befindet. Im Widerspruch dazu waren in den ROESY-Versuchen nur leichte Wechselwirkungen der Methylengruppen der Seitenkette mit den H3-Wasserstoffatomen des Cyclodextrins zu erkennen, was darauf hindeutet, dass sich die Carbonylgruppen im gelösten Zustand wahrscheinlich außerhalb des Cyclodextrins befinden, um so mit dem Lösungsmittel zu interagieren.

5.3.3.7 Fazit

Mit Hilfe der FT-IR-Untersuchungen konnten einige Hinweise auf die Struktur der Komplexe im festen Zustand gewonnen werden. So geht hervor, dass meist die Carbonylgruppe sowie der aromatische Teil des Gastmoleküls vom Einschluss ins Cyclo-dextrin betroffen sind. Zudem konnte bei einigen Gästen ein Vergleich mit der Komplexstruktur im flüssigen Medium (s. Kap. 5.1.6.2) gezogen werden. Eine quantitative Auswertung der IR-Spektren hinsichtlich des eingeschlossenen Anteils ist jedoch mit der gewählten Methode nicht möglich. Unterschiede in der Komplexbildung von lyophilisierten Komplexzubereitungen durch unterschiedliche Einfriermethoden konnten nicht festgestellt werden.

Es zeigte sich weiterhin, dass neben der Betrachtung der stark ausgeprägten Signale der Carbonylgruppe auch andere Teile des FT-IR-Spektrums von Komplexzubereitungen für die Interpretation der Verhältnisse im Komplex herangezogen werden können. So können aus diesen Versuchen allein zwar keine Aussagen zur räumlichen Anordnung von Wirts- und Gastmolekül zueinander getroffen werden; die Ergebnisse können jedoch in den meisten Fällen mit den Erkenntnissen aus anderen Versuchen in Einklang gebracht werden und können so als unterstützende Hinweise auf die Komplexstruktur angesehen werden.

6 Zusammenfassende Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden mit verschiedenen Methoden die Wechselwirkungen zwischen natürlichen Cyclodextrinen und einer Reihe von Gastmolekülen charakterisiert. Ausgehend davon sollte beurteilt werden, ob anhand der Grundstruktur oder der funktionellen Gruppen eines Gastes vorhergesagt werden kann, in welchem Ausmaß diese intermolekularen Wechselwirkungen auftreten und welche Struktur die sich bildenden Komplexe aufweisen.

Als Gastmoleküle wurden die Substanzen Ibuprofen, Ketoprofen, Naproxen, Flurbiprofen, Felbinac und Fenbufen aus der Gruppe der nichtsteroidalen Antiphlogistika gewählt, die alle eine Säurefunktion besitzen. Während die Arylpropionsäurederivate Ibuprofen, Ketoprofen, Naproxen und Flurbiprofen unterschiedliche Grundgerüste aufweisen, besitzen die Moleküle Flurbiprofen, Felbinac und Fenbufen ein Biphenylgrundgerüst mit variierenden Substituenten. Alle Gastmoleküle, insbesondere die Biphenylsubstanzen, zeichnen sich durch sehr niedrige Sättigungslöslichkeiten in Wasser aus.

Zunächst wurden die Wechselwirkungen zwischen den natürlichen Cyclodextrinen und den Gastmolekülen in wässriger Lösung untersucht. Alle Substanzen weisen die stärksten Wechselwirkungen mit β -Cyclodextrin auf. Lediglich Flurbiprofen bildet auch mit γ -Cyclodextrin in größerem Umfang Komplexe. Für die Mehrzahl der Gastmoleküle werden Isothermen vom B_s -Typ, für Fenbufen und Naproxen hingegen A-Typ-Isothermen erhalten. Durch die gute Löslichkeit der Komplexe kann eine deutliche Löslichkeitssteigerung für diese beiden Gastmoleküle in Wasser erreicht werden. Der Vorgang der Komplexbildung ist für alle Gastsbstanzen ein spontan ablaufender Prozess. Die Assoziationskonstanten $K_{1:1}$ bei 25°C bewegen sich zwischen 1000 M^{-1} und 5000 M^{-1} , für Flurbiprofen beträgt sie etwa 14000 M^{-1} und für Ibuprofen sogar über 40000 M^{-1} . Eine Betrachtung des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten legt nahe, dass die Lipophilie der Gastmoleküle eine entscheidende Größe für das Ausmaß der Komplexbildung darstellen könnte.

Die Komplexbildung wurde bei variierenden pH-Werten untersucht. Steigende pH-Werte und ein damit erhöhter Dissoziationsgrad der Gastmoleküle führten durchgehend zu abnehmenden Assoziationskonstanten. Erstaunlicherweise erhöhte sich die Steigung der Löslichkeitsisothermen für Naproxen, Felbinac und Fenbufen, was bedeutet, dass pro Cyclodextrinmolekül mehr Wirkstoff in Lösung gebracht werden kann als bei niedrigeren pH-Werten. Für die Gastmoleküle Ibuprofen, Ketoprofen und Flurbiprofen kam es hingegen zu einer Abnahme der Steigungen.

Löslichkeitsstudien bei verschiedenen Temperaturen zeigten entgegen des erwarteten Absinkens der Assoziationskonstanten mit steigender Temperatur keine eindeutige Tendenz. Für Naproxen und Ketoprofen konnten lineare Van't Hoff Plots erstellt werden. Kalorimetrische Versuche lieferten für Ibuprofen ergänzende Werte für die Assoziationskonstante und die Gibbs'sche Freie Enthalpie, die mit den Ergebnissen der Löslichkeitsstudien vergleichbar waren. Danach ist die Komplexbildung für diese Stoffe enthalpie- und entropiegetrieben.

Job's Plots, die mit Hilfe eindimensionaler $^1\text{H-NMR}$ -Experimente erstellt wurden, deuten auf eine Stöchiometrie von 1:1 für Ibuprofen, Flurbiprofen und Felbinac hin. Obwohl es in der Literatur Hinweise darauf gibt, dass für die anderen Moleküle dieselbe Stöchiometrie vorliegt, sind nach den Ergebnissen auch Komplexe höherer Ordnung möglich.

Mit Hilfe von Docking-Studien sollte ein Modell zur Vorhersage der Komplexbildung erstellt werden. Die Ergebnisse wurden nach energetischen und strukturellen Gesichtspunkten ausgewertet. Ein Vergleich von ΔG aus den Löslichkeitsstudien mit der ermittelten minimalen freien Bindungsenthalpie kann hierbei nicht erfolgen. Möglicherweise wäre eine modifizierte auf Cyclodextrine abgestimmte Scoring-Funktion nötig. Trotzdem liefern die Versuche plausible Komplexstrukturen. Sie deuten auf das Auftreten eines Induced-Fit's des Cyclodextrins und die Ausbildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen hin.

Verschiedene Techniken wurden angewendet, um feste Komplexzubereitungen herzustellen, um weitere Informationen über die gebildeten Komplexe im festen Zustand zu erhalten. Mittels thermoanalytischer Verfahren wurde versucht, den im Cyclodextrin eingeschlossenen Gastmolekülanteil zu bestimmen. In lyophilisierten Lösungen lag der noch als ungebunden detektierbare Wirkstoffanteil meistens am niedrigsten. Für Fenbufen und Naproxen gelang eine Bestimmung des eingeschlossenen Anteils nicht. Möglicherweise spielen hier Änderungen der Kristallinität eine Rolle.

FT-IR-Spektren der Komplexzubereitungen und ihrer physikalischen Mischungen zeigten, dass auch im festen Zustand meist Einschlusskomplexe gebildet werden, bei denen der aromatische Teil des Gastes und die Carbonylgruppe in der Cyclodextrinkavität lokalisiert sind. Lediglich Felbinac weist ein davon abweichendes Verhalten auf.

Diese Erkenntnisse werden meist durch die Ergebnisse der zweidimensionalen $^1\text{H-NMR}$ -Studien bestätigt, die Einblick in die Komplexstruktur im wässrigen Medium gewährten.

Hier nehmen die Modellsubstanzen verschiedene Orientierungen in der Cyclodextrinkavität ein. Möglicherweise liefern diese einen Erklärungsansatz für das besondere Verhalten der Gastmoleküle Naproxen und Fenbufen in den Löslichkeitsstudien. Die Carboxylgruppe nimmt eine Position ein, in der eine Störung der

intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen des Cyclodextrins möglich wird, was für die erhöhte Löslichkeit des Wirtes verantwortlich sein könnte. Die Strukturen sind teilweise mit den Komplexen aus den Docking-Studien vergleichbar.

Insgesamt hat sich gezeigt, dass die Grundstruktur und die funktionellen Gruppen des Gastmoleküls erheblichen Einfluss auf die Struktur und die Eigenschaften ihrer Cyclodextrinkomplexe und auf die Stärke der Wechselwirkung zwischen Wirt und Gast haben. Die Lipophilie der Gastmoleküle scheint zudem eine tragende Rolle zu spielen.

Da die Ausprägung der Komplexbildung somit eine Summe aus vielen Einzelfaktoren ist, können Vorhersagen für ein vorliegendes System nur unter erheblichen Einschränkungen getroffen werden und es gilt, immer den Einzelfall zu betrachten. Eine Vorabentscheidung für oder gegen den Einsatz von Cyclodextrinen für einen bestimmten Zweck scheint deshalb nicht möglich zu sein.

Zum Verständnis der Komplexbildung der Modellsubstanzen dieser Arbeit könnte eine Ausweitung der Experimente beitragen. Kalorimetrische und kernresonanzspektroskopische Versuche bei verschiedenen pH-Werten könnten die Ergebnisse der Löslichkeitsstudien ergänzen und den Einfluss der Ladung der Moleküle auf die Komplexstruktur aufzeigen.

Der Einsatz von Cyclodextrinderivaten könnte möglicherweise die niedrige Löslichkeit der Komplexe einiger Modellsubstanzen verbessern. Zudem könnten weitere Einflüsse auf den Komplexierungsvorgang, wie beispielsweise verschiedene Kosolventien oder der Zusatz von Salzen untersucht werden.

Die gewählten Modellsubstanzen weisen teilweise einzelne voneinander abweichende Substituenten auf, die die Wechselwirkung mit dem Cyclodextrin ebenfalls mitbestimmen können. Alternativ könnten Gastmoleküle gewählt werden, die ebenfalls verschiedene Grundstrukturen aufweisen, jedoch nur einen gemeinsamen Substituenten, wie beispielsweise eine Hydroxyl- oder Methylgruppe aufweisen. So könnten Einflüsse durch andere Molekülteile vernachlässigt werden.

7 Summary

In this thesis various analytical methods were applied to characterise the interactions between natural cyclodextrins and a group of guest molecules. The results were analyzed in order to find out, if predictions for the extent of the association and structure of the formed complexes can be deduced from the basic structure or the functional groups of the guest.

The nonsteroidal anti-inflammatory drugs ibuprofen, ketoprofen, naproxen, flurbiprofen, felbinac, and fenbufen were chosen as model substances. Ibuprofen, ketoprofen, naproxen and flurbiprofen are aryl propionic acid derivatives with varying basic structure while flurbiprofen, fenbufen and felbinac carry different substituents on their common biphenylic basic structure. Solubility determination showed that all model substances – particularly the biphenyl derivatives – are of extreme low solubility in water.

First of all, complex formation of the three natural cyclodextrins and the model substances in aqueous solution was investigated. All guests preferably form complexes with β -cyclodextrin. Only flurbiprofen gains a notable solubility enhancement by addition of γ -cyclodextrin. For the majority of the model substances a B_S -isotherm is obtained while fenbufen and naproxen exhibit A-type isotherms. From this, a distinct solubility enhancement can be achieved for the latter guests in solution. For the whole group complex formation is a spontaneous process. Their association constants at 25°C range from 1000 to 5000 M^{-1} , for flurbiprofen up to 14000 M^{-1} and for ibuprofen even over 40000 M^{-1} . A correlation of drug partition coefficient and association constants seems to imply that guest polarity could be an important factor for the extent of the inclusion process.

Complex formation was investigated at several pH values. Increasing pH values and thus a higher degree of acid dissociation consequently led to decreasing complexation constants. Astonishingly, the slopes of the isotherms for naproxen, fenbufen and felbinac get steeper augmenting the molar drug solubility enhancement per cyclodextrin molecule, while those for ibuprofen, ketoprofen and flurbiprofen are lowered.

Phase-solubility analysis at different temperatures showed unexpectedly no uniform tendency in the association constants. For naproxen and ketoprofen linear Van't Hoff plots could be obtained. In addition, calorimetric studies provided thermodynamic data comparable to phase-solubility analysis for ibuprofen. From there complex formation with these guests is driven both by enthalpy and entropy.

Job's plots by NMR spectroscopy indicate a 1:1 complex stoichiometry for ibuprofen, flurbiprofen and felbinac. Although the same composition can be found for the other

molecules in literature the formation of higher order complexes seems to be possible. Docking studies were applied to develop a molecular modeling procedure for the prediction of complex formation. The results were evaluated by considering structural and energetic aspects. A direct comparison of the free energy of binding to the results of practical experiments seems unappropriate. A modified scoring function especially for cyclodextrins could probably provide more realistic thermodynamic properties. Nevertheless, plausible molecular arrangements were derived indicating an induced fit of the cyclodextrin and possibly intermolecular hydrogen bonding.

Several techniques were applied to obtain solid complex preparations in order to gather additional information about the formed complexes in the solid state. Thermal analysis was used for the determination of the inclusion yield. The lowest fraction of free guest was observed in freeze dried solutions. For fenbufen and naproxen the determination was not successful probably caused by changes in cristallinity.

FT-IR spectra of the solid complex preparations and physical mixtures indicated the inclusion of the guest's aromatic part and carbonyl group into the cavity except for felbinac.

In most cases these findings are supported by twodimensional NMR-spectra. Here the guest molecules occupy variable orientations inside the cyclodextrin cavity. From the results one can deduce possible explanations for the unusual form of the phase solubility isotherms of naproxen and fenbufen. The carboxylic acid group is positioned possibly allowing a disturbance of the cyclodextrins intramolecular hydrogen binding system and thus causing an increased solubility of the host. The structures derived from these practical experiments are in some cases comparable to the theoretical complex arrangements from molecular modeling.

To summarize, the basic structure and functional groups of the guest molecule are of particular importance for the structure and the properties of the complexes formed with cyclodextrins and for the extent of the host guest interactions. Possibly the lipophilicity of the guest molecules can be applied for a vague estimation of attraction. As complex formation is driven by a diversity of different factors predictions for a system are only possible under certain limitations. Complex formation should always be regarded as a single case. A general decision for or against the application of cyclodextrins is not feasible.

For the model substances of this thesis an extension of the experiments could lead to more detailed information about the complexes. Calorimetric studies and NMR experiments at varying pH values could support the results of phase solubility analysis and demonstrate the influence of molecular charge on complex formation.

Application of cyclodextrin derivatives would be a possible way to overcome the low solubility of the complexes formed by some of the model substances. Furthermore the consequences of the addition of cosolvents or electrolytes could be investigated.

As a consequence of their pharmaceutical origin some of the model substances carry deviating substituents that can possibly contribute to complex formation. Alternatively, it could be interesting to choose guest molecules of various basic structures carrying the same substituents as a hydroxyl or a methyl group. Thus other molecular contributions would be negligible.

8 Anhang

8.1 Literaturrecherche

Die Literaturrecherche erfolgte mit Hilfe des SciFinder Scholar am 24.02.2011 mit den Suchbegriffen ‚ β -cyclodextrin‘ und dem jeweiligen Wirkstoffnamen. Aus den erhaltenen Treffern wurde mit Hilfe folgender Schlagworte eine Literaturrecherche durchgeführt:

Löslichkeitsuntersuchungen	phase solubility different pH solubility isotherm
Thermodynamik	thermodynamics temperature dependency Van't Hoff (plot)
Isothermale Titrationskalorimetrie	ITC calorimetry isothermal titration calorimetry calorimetric study
Job-Plot	NMR Job plot continuous variations complexation induced chemical shift
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	NMR 2D NMR ROESY
Herstellung fester Komplexe	kneading method preparation paste coprecipitation solution
Thermoanalytische Untersuchungen	differential scanning calorimetry thermal analysis
FT-IR-Spektroskopische Untersuchungen	infrared spectroscopy FT-IR inclusion yield
Computerchemische Untersuchungen	computational chemistry docking molecular dynamics molecular mechanics molecular modeling

Ibuprofen

Löslichkeits- untersuchungen	Loftsson et al. [141]: β -Cyclodextrin und Derivate, 30°C, Durchführung auch mit Naproxen Khan et al. [142]: mit β -Cyclodextrin bei 23°C und 37°C Hladon et al. [143]: mit β -Cyclodextrin bei 20°C Loftsson et al. [144]: mit Cyclodextrinderivaten Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz Menard et al. [146]: Einfluss von pH und Temperatur Nerurkar et al. [147]: 25° und 37°C, Cyclodextrinderivate Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, pH 6, Temp. 25, 37, 45°C, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen Salústio et al. [64]: mit β -Cyclodextrin, pH 6
Thermodynamik	Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz Menard et al. [146]: Einfluss von pH und Temperatur Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, pH 6, Temp. 25, 37, 45°C, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
Isothermale Titrationskalorimetrie	Waters et al [128]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, verschiedene Temperaturen, pH 8, Durchführung auch mit Ketoprofen und Flurbiprofen Xing et al. [126]: pH 7, mit α -, β - und γ -Cyclodextrin
Job-Plot/H-NMR	Loftsson et al. [141]: β -Cyclodextrin und Derivate, Untersuchung auch mit Naproxen, Vorhersage der Struktur des Komplexes mit Hilfe von CICS, 24 °C Loftsson et al. [144]: mit Cyclodextrinderivaten Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz Gavrilin et al. [148]: mit β -Cyclodextrin Salústio et al. [64]: strukturelle Vorhersage anhand der Verschiebungen von β -Cyclodextrin Xing et al. [126]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin Wang et al. [149]: strukturelle Vorhersage anhand der Verschiebungen von β -Cyclodextrin
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	Nunez-Agüero et al. [135]: NOESY-Untersuchung mit β -Cyclodextrin
Herstellung fester Komplexe	Bratu et al.. [139]: Komplexe aus Kopräzipitation und Lyophilisation und Feuchtgranulation, KBr-Technik, Vgl. mit Ibuprofen Braga et al. [140]: mit β -Cyclodextrin, Herstellung über Suspension, 2:1 Khan et al. [142]: mit β -Cyclodextrin, 1:3 und 2:3 Hladon et al. [143]: mit β -Cyclodextrin, Kopräzipitation Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz, Gefriertrocknung Nerurkar et al. [147]: mit Cyclodextrinderivaten Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen Gavrilin et al. [148]: mit β -Cyclodextrin Salústio et al. [64]: mit β -Cyclodextrin, Sprühtrocknung, Gefriertrocknung
Thermoanalytische Untersuchungen	Braga et al. [140]: mit β -Cyclodextrin Khan et al. [142]: mit β -Cyclodextrin Hladon et al. [143]: mit β -Cyclodextrin Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz Nerurkar et al. [147]: mit Cyclodextrinderivaten Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen Salústio et al [64]: mit β -Cyclodextrin
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Bratu et al. [139]: Komplexe aus Kopräzipitation und Lyophilisation und Feuchtgranulation, KBr-Technik, Vgl. mit Ibuprofen Braga et al [140]: mit β -Cyclodextrin Al Omari et al [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz Mura et al [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen Salústio et al [64]: mit β -Cyclodextrin
Computerchemische Untersuchungen	Klein et al. [150]: QSPR, Vorhersage der Freien Energie (mit Fenbufen, Flurbiprofen, Ketoprofen und Ibuprofen) Loftsson et al. [144]: mit Cyclodextrinderivaten, Docking Al Omari et al. [145]: Durchführung mit Ibuprofen Tromethamin-Salz, Berechnung von Bindungsenergien, Amber Force Field Menard et al. [146]: Abschätzung thermodynamischer Parameter Fauci et al. [81]: Bestimmung theoretischer Parameter, Berechnung von Moleküloberflächen, Durchführung mit Ketoprofen, Naproxen und Ibuprofen Núñez-Agüero et al. [135]: mit β -Cyclodextrin, Berechnung von $\Delta\Delta G$, verschiedene Penetrationsmodi, AMBER Force Field Xing et al. [126]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin, Kalkulation der Bindungsenergie je nach Einschussrichtung

Ketoprofen

Löslichkeits- untersuchungen	Orienti et al. [124]: pH-Werte 2, 4 und 6,5, Temperatur 5, 25 und 37 °C (auch mit Naproxen) Saleh et al. [151]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin bei 20 °C, nur in Wasser Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, pH 6, Temp. 25, 37, 45°C, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
Thermodynamik	Orienti et al. [124]: pH-Werte 2, 4 und 6,5, Temperatur 5, 25 und 37 °C (auch mit Naproxen) Díaz et al. [129]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin: Van't Hoff Plot pH 7,5 Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, pH 6, Temp. 25, 37, 45°C, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
Isothermale Titrationskalorimetrie	Waters et al. [128]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, verschiedene Temperaturen, pH 8, Durchführung auch mit Ibuprofen und Flurbiprofen
Job-Plot/NMR	Vavia et al. [152]: qualitative Auswertung von Verschiebungen
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	Díaz et al. [129]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin (NOESY) pH 7,5
Herstellung fester Komplexe	Saleh et al. [151]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, Co-grinding, Co-grinding in Anwesenheit von Wasser, Abdampfung unter Vakuum, Lyophilisation, Sprühtrocknung, 1:1-Komplexe Vavia et al. [152]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, 1:1-Komplexe, Knetmethode, Kopräzipitation, Lyophilisation Mura et al. [153], Mura et al. [154]: 1:1-Komplexe mit β - und Methyl- β -Cyclodextrin; Grinding, Knetmethode, Kolyophilisation, Sealed-Heated Komplexe, Cirri et al. [155]: Komplexe mit β - und Methyl- β -Cyclodextrin im Taumelmischer, 1:1 Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
Thermoanalytische Untersuchungen	Saleh et al. [151]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, 1:1-Komplexe Vavia et al. [152]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, 1:1-Komplexe Mura et al. [153], Mura et al. [154]: 1:1-Komplexe mit β - und Methyl- β -Cyclodextrin Marini et al. [156]: mit β -Cyclodextrin, 1:1, 2:1 und 1:2, Cirri et al. [155]: Komplexe mit β - und Methyl- β -Cyclodextrin im Taumelmischer, 1:1 Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Saleh et al. [151]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, 1:1-Komplexe Vavia et al. [152]: mit β - und Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, 1:1-Komplexe Mura et al. [153], Mura et al. [154]: 1:1-Komplexe mit β - und Methyl- β -Cyclodextrin Marini et al. [156]: mit β -Cyclodextrin, 1:1, 2:1 und 1:2, Mura et al. [125]: β -Cyclodextrin und Derivate, Kolyophilisation/Gefriertrocknung, Durchführung mit Ibuprofen und Ketoprofen
Computerchemische Untersuchungen	Klein et al. [150]: QSPR, Vorhersage der Freien Energie (mit Fenbufen, Flurbiprofen, Ketoprofen und Ibuprofen) Díaz et al. [129]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin, Molecular Mechanics, Geometrieoptimierung Fauci et al. [81]: Bestimmung theoretischer Parameter, Berechnung von Moleküloberflächen, Durchführung mit Ketoprofen, Naproxen und Ibuprofen

Naproxen

Löslichkeits- untersuchungen	Orienti et al. [124]: pH-Werte 2, 4 und 6,5, Temperatur 5, 25 und 37 °C (auch mit Ketoprofen) Liequn et al. [157]: verschiedene Temperaturen Bettinetti et al. [121]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin bei 25, 32 und 37°C Blanco et al. [158]: mit α -, β -, γ -, Hydroxypropyl- β - und Dimethyl- β -Cyclodextrin, pH=1 Loftsson et al. [141]: β -Cyclodextrin und Derivate, 30°C, Durchführung auch mit Ibuprofen Otero-Espinar et al. [159]: mit β -Cyclodextrin, pH-Werte 1, 3, 5 und 7 Cirri et al. [160]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, pH von 1,1 bis 6,5
Thermodynamik	Orienti et al. [124]: pH-Werte 2, 4 und 6,5, Temperatur 5, 25 und 37 °C (auch mit Ketoprofen) Liequn et al. [157]: verschiedene Temperaturen Blanco et al. [158]: mit α -, β -, γ -, Hydroxypropyl- β - und Dimethyl- β -Cyclodextrin, pH=1 Másson et al. [161]: mit Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, Bestimmung von K bei verschiedenen pH-Werten Cirri et al. [160]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, pH von 1,1 bis 6,5
Isothermale Titrationskalorimetrie	Todorova et al. [127]: pH 6,1 und 7,1; auch mit Flurbiprofen durchgeführt
Job-Plot/NMR	Liequn et al. [157]: Job Plot mit Hilfe von UV-Spektroskopie Sotiris et al. [162]: mit β -Cyclodextrin Wang et al. [130]: pD 7 mit Naproxen-Natrium, Komplexierungskonstante, bei 30°C Loftsson et al. [141]: β -Cyclodextrin und Derivate, Untersuchung auch mit Ibuprofen, Vorhersage der Struktur des Komplexes mit Hilfe von CICS, 24 °C Ganza-Gonzalez et al. [131]: Vorhersage der Struktur und der Stöchiometrie aufgrund von CICS, pD 9
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	Wang et al. [130]: keine Angabe zu pD-Wert Sadlej-Sosnowska et al. [136]: interner Standard d_4 -TSPA
Herstellung fester Komplexe	Bettinetti et al. [121]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin, Herstellung durch Knetmethode, Coground-Mix, in Lösung mit anschließender Verdampfung oder Lyophilisation Zhang et al. [163]: mit β -Cyclodextrin, Lösungsmethode Blanco et al. [158]: mit α -, β -, γ -, Hydroxypropyl- β - und Dimethyl- β -Cyclodextrin, Herstellung durch Knetmethode, Sprühtrocknung, Gefriertrocknung Junco et al. [164]: mit β -Cyclodextrin, Knetmethode, Lyophilisation, Sprühtrocknung, überkritisches CO ₂ Otero-Espinar et al. [159]: mit β -Cyclodextrin, Knetmethode, Lyophilisation, Sprühtrocknung
Thermoanalytische Untersuchungen	Bettinetti et al. [121]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin Blanco et al. [158]: mit α -, β -, γ -, Hydroxypropyl- β - und Dimethyl- β -Cyclodextrin Junco et al. [164]: mit β -Cyclodextrin Otero-Espinar et al. [159]: mit β -Cyclodextrin
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Bettinetti et al. [121]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin Zhang et al. [163]: mit β -Cyclodextrin Blanco et al. [158]: mit α -, β -, γ -, Hydroxypropyl- β - und Dimethyl- β -Cyclodextrin Junco et al. [164]: mit β -Cyclodextrin Otero-Espinar et al. [159]: mit β -Cyclodextrin
Computerchemische Untersuchungen	Klein et al. [150]: QSPR, Vorhersage der Freien Energie (mit Fenbufen, Flurbiprofen, Ketoprofen und Ibuprofen) Otero-Espinar et al. [159]: Molecular graphics, SYBYL Ganza-Gonzalez et al. [131]: Untersuchung des Komplexes auf Grund der NMR-spektroskopischen Ergebnisse Chen et al. [165]: Kalkulation von Freier Energie und Entropie, Durchführung auch mit Flurbiprofen Faucci et al. [81]: Bestimmung theoretischer Parameter, Berechnung von Moleküloberflächen, Durchführung mit Ketoprofen, Naproxen und Ibuprofen

Flurbiprofen

Löslichkeits- untersuchungen	Cirri et al. [166]: pH 4,5 und 5,5, mit β -Cyclodextrin und Derivaten, bei 25 und 37°C Otagiri et al. [123]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin bei 25 °C Cirri et al. [167]: β -Cyclodextrin und Derivate Govindarajan et al. [168]: mit Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, bei 27 °C
Thermodynamik	Cirri et al. [166]: pH 4,5 und 5,5, mit β -Cyclodextrin und Derivaten, bei 25 und 37°C Otagiri et al. [123]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin bei 25 °C
Isothermale Titrationskalorimetrie	Todorova et al. [127]: pH 6,1 und 7,1; auch mit Naproxen durchgeführt Waters et al. [128]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, verschiedene Temperaturen, pH 8, Durchführung auch mit Ibuprofen und Ketoprofen
Job-Plot/NMR	Salvadori et al. [132]: Vergleich von (S)- und (R)-Flurbiprofen Govindarajan et al. [168]: mit Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	Salvadori et al. [132]: Vergleich von (S)- und (R)-Flurbiprofen
Herstellung fester Komplexe	Otagiri et al. [123]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin, Lösungsmethode Cirri et al. [167]: β -Cyclodextrin und Derivate, Mischung im Turbulamischer, Knetmethode, Koevaporation, sealed-heating-Methode, Lyophilisation Govindarajan et al. [168]: mit Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, Co-Grinding, Knetmethode, Koevaporation, Lyophilisation
Thermoanalytische Untersuchungen	Otagiri et al. [123]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin Cirri et al. [167]: β -Cyclodextrin und Derivate, Govindarajan et al. [168]: mit Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Otagiri et al. [123]: mit α -, β - und γ -Cyclodextrin Cirri et al. [167]: β -Cyclodextrin und Derivate, Govindarajan et al. [168]: mit Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
Computerchemische Untersuchungen	Klein et al. [150]: QSPR, Vorhersage der Freien Energie (mit Fenbufen, Flurbiprofen, Ketoprofen und Ibuprofen) Lipkowitz et al. [169]: Molecular mechanics, Enantiomerentrennung Chen et al. [165]: Kalkulation von Freier Energie und Entropie, Durchführung auch mit Naproxen Cirri et al. [166]: mit β -Cyclodextrin und Derivaten, INSIGHT II, Berechnung von Docking-Energien El-Barghouthi et al. [180]: Molecular Mechanics, Amber force fields, α -, β - und γ -Cyclodextrin Leherte et al. [170]: Bestimmung der Elektronendichte

Fenbufen

Löslichkeits- untersuchungen	
Thermodynamik	Bratu et al. [134]: Bestimmung von K mittels H-NMR mit β -Cyclodextrin Bratu et al. [171]: Bestimmung von K mittels H-NMR mit α -und γ -Cyclodextrin
Isothermale Titrationskalorimetrie	
Job-Plot	Bratu et al. [134]: im Wässrigen mit β -Cyclodextrin Bratu et al. [171]: im Wässrigen mit α -und γ -Cyclodextrin Sortino et al. [172]: pH 7,4, außerdem Bestimmung der Stöchiometrie mittels Fluoreszenz, CD und Steady state absorption
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	
Herstellung fester Komplexe	Bratu et al. [139]: Komplexe aus Kopräzipitation, Lyophilisation und Feuchtgranulation, KBr-Technik, Vgl. mit Ibuprofen
Thermoanalytische Untersuchungen	
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Bratu et al. [139]: Komplexe aus Kopräzipitation, Lyophilisation und Feuchtgranulation, KBr-Technik, Vgl. mit Ibuprofen
Computerchemische Untersuchungen	Bratu et al. [134]: Molecular Mechanics mit β -Cyclodextrin Bratu et al. [171]: Molecular Mechanics mit α -und γ -Cyclodextrin Klein et al. [150]: QSPR, Vorhersage der Freien Energie (mit Fenbufen, Flurbiprofen, Ketoprofen und Ibuprofen)

Felbinac

Löslichkeits- untersuchungen	Puglisi et al. [133]: β -Cyclodextrin, 30°C Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate, pH-Werte 1,1, 4 und 7,4 bei 37 °C
Thermodynamik	Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate, pH-Werte 1,1, 4 und 7,4 bei 37 °C
Isothermale Titrationskalorimetrie	
Job-Plot/NMR	Puglisi et al. [133]: Abschätzung der Struktur durch Verschiebungen der Protonen von β -Cyclodextrin, Stöchiometrie Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate, Abschätzung der Struktur durch Verschiebungen der Protonen des Cyclodextrins, Stöchiometrie
Strukturelle Untersuchungen mittels ROESY	
Herstellung fester Komplexe	Puglisi et al. [133]: β -Cyclodextrin, Kopräzipitation Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate, Gefriertrocknung, Knetmethode
Thermoanalytische Untersuchungen	Puglisi et al. [133]: β -Cyclodextrin Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate
FT-IR- Spektroskopische Untersuchungen	Puglisi et al. [133]: β -Cyclodextrin Ventura et al. [173]: β -Cyclodextrin und Cyclodextrin-Derivate
Computerchemische Untersuchungen	

8.2 Materialien

8.2.1 Cyclodextrine

Wirkstoff	Lieferant	CAS-Nummer	Chargenbezeichnungen
α -Cyclodextrin	Wacker Chemie AG	10016-20-3	60P304
β -Cyclodextrin	Wacker Chemie AG	7585-39-9	70P255, 70P277
γ -Cyclodextrin	Wacker Chemie AG	17465-86-0	80P223

8.2.2 Gastmoleküle

Wirkstoff	Lieferant	CAS-Nummer	Chargenbezeichnungen
(R,S)-Ibuprofen	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	15687-27-1	026H1368V 026H1368
(R,S)-Ketoprofen	TCI Europe N.V.	22071-15-4	GL01
(S)-Naproxen	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	22204-53-1	078K1629
(R,S)-Flurbiprofen	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	5104-49-4	058K1170 049K1040 020M1157 040M1733
Fenbufen	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	36330-85-5	048F0508
Felbinac	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	5728-52-9	09108TE

8.3 Untersuchung der Komplexbildung in Lösung

8.3.1 Kalibriergeraden und Absorptionsmaxima der Arzneistoffe

Die Kalibriergeraden der Gastmoleküle wurden mit Lösungen in Natronlauge 0,1 mol/l erstellt.

Wirkstoff	Absorptionsmaximum [nm]	Kalibriergerade	r ²
Ibuprofen	264	$y = 0,0019 x + 0,0034$	0,9995
Ketoprofen	260	$y = 0,0634 x + 0,0033$	0,9983
Naproxen	271	$y = 0,022 x + 0,0141$	0,9978
Flurbiprofen	247	$y = 0,094 x - 0,0739$	0,9793
Felbinac	254	$y = 0,0965 x + 0,0042$	0,9993
Fenbufen	285	$y = 0,0897 x + 0,009$	0,9994

8.3.2 Einzelwerte der Löslichkeitsbestimmungen

8.3.2.1 Sättigungslöslichkeit der Gastmoleküle

Temperatur [K]	Ibuprofen		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,494	0,0762	6
308,15	0,804	0,4149	9
318,15	0,974	0,1410	6
Temperatur [K]	Ketoprofen		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,472	0,0380	6
308,15	0,681	0,0278	6
318,15	0,987	0,1845	6
Temperatur [K]	Naproxen		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,122	0,0041	3
308,15	0,176	0,0122	3
318,15	0,269	0,0066	3
Temperatur [K]	Flurbiprofen		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,077	0,0038	3
308,15	0,114	0,0112	3
318,15	0,159	0,0069	3
Temperatur [K]	Felbinac		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,075	0,0072	6
308,15	0,140	0,0298	6
318,15	0,160	0,0085	6
Temperatur [K]	Fenbufen		
	Sättigungslöslichkeit [mmol/l]	sdv [mmol/l]	Anzahl der durchgeführten Versuche
298,15	0,013	0,0026	9
308,15	0,032	0,0199	9
318,15	0,032	0,0114	9

8.3.2.2 Van't Hoff Plots zum Lösungsvorgang der Gastmoleküle

		25°C	35°C	45°C	Steigung	r ²
	1/T [1/K]	3,35 · 10 ⁻³	3,25 · 10 ⁻³	3,14 · 10 ⁻³		
Ibuprofen	ln S ₀	-7,61	-7,13	-6,93	-3231	0,9492
Ketoprofen		-7,66	-7,29	-6,92	-3504	0,9996
Naproxen		-9,01	-8,64	-8,22	-3756	0,9969
Flurbiprofen		-9,47	-9,08	-8,75	-3450	0,9993
Felbinac		-9,50	-8,87	-8,70	-3649	0,8872
Fenbufen		-11,25	-10,35	-10,37	-4258	0,7523

Anmerkung: S₀ in [mol/l]

Gleichungen zur Berechnung der Ergebnisse in Tab. 5.2 (Ergebnisteil):

$$\Delta H = (-\text{Steigung} \cdot 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}}) / 1000$$

$$\Delta S = R \cdot \ln K_{1,1} + \frac{\Delta H}{T}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

8.3.2.3 Wechselwirkungen der Gastmoleküle mit den natürlichen Cyclodextrinen

Ibuprofen	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	1,43	1,41	1,85	4,42	0,92	1,54
n	3	3	6	5	3	3
sdv [mmol/l]	0,22	0,24	0,78	1,87	0,057	0,082
Ketoprofen	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	0,87	0,88	1,04	2,51	0,88	1,08
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,34	0,24	0,13	0,07	0,26	0,25
Naproxen	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	0,17	0,17	0,40	1,32	0,18	0,26
n	3	3	3	4	3	3
sdv [mmol/l]	0,015	0,015	0,045	0,209	0,008	0,019
Flurbiprofen	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	0,17	0,13	0,47	0,25	0,16	0,4
n	6	3	12	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,111	0,039	0,097	0,024	0,02	0,058
Felbinac	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	0,12	0,11	0,33	0,55	0,17	0,19
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,048	0,017	0,015	0,038	0,073	0,069
Fenbufen	α -Cyclodextrin		β -Cyclodextrin		γ -Cyclodextrin	
Konzentration CD [mmol/l]	1	5	1	5	1	5
Konzentration G [mmol/l]	0,022	0,025	0,062	0,22	0,029	0,047
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,0026	0,0023	0,0033	0,0104	0,0073	0,0041

8.3.2.4 Wechselwirkungen mit β -Cyclodextrin

Ibuprofen						
Konzentration CD [mmol/l]	1	2	3	5	7	9
Konzentration WS [mmol/l]	1,85	2,38	3,50	4,42	3,65	4,21
n	6	3	3	5	3	5
sdv [mmol/l]	0,78	0,29	0,38	1,87	0,26	0,99
Konzentration CD [mmol/l]	11	13	15	17	20	
Konzentration WS [mmol/l]	3,92	4,94	4,61	1,75	2,0	
n	3	6	3	3	3	
sdv [mmol/l]	0,48	0,94	0,87	0,25	1,14	

Ketoprofen						
Konzentration CD [mmol/l]	3	5	7	9	12	15
Konzentration WS [mmol/l]	1,66	2,51	3,24	3,90	4,70	4,75
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,03	0,07	0,12	0,03	0,31	0,24
Konzentration CD [mmol/l]	17	20	25			
Konzentration WS [mmol/l]	4,21	3,84	3,63			
n	3	3	3			
sdv [mmol/l]	0,23	0,17	0,02			

Naproxen						
Konzentration CD [mmol/l]	5	10	15	20	25	
Konzentration WS [mmol/l]	1,32	2,32	3,33	4,26	4,24	
n	4	4	4	4	9	
sdv [mmol/l]	0,21	0,08	0,12	0,04	0,44	

Flurbiprofen						
Konzentration CD [mmol/l]	0,25	0,5	0,75	1	2	3
Konzentration WS [mmol/l]	0,29	0,38	0,48	0,47	0,34	0,32
n	9	9	9	12	3	3
sdv [mmol/l]	0,06	0,13	0,04	0,08	0,08	0,02
Konzentration CD [mmol/l]	4	5	10	15	20	25
Konzentration WS [mmol/l]	0,29	0,25	0,25	0,26	0,28	0,26
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,06	0,02	0,02	0,02	0,06	0,01

Felbinac						
Konzentration CD [mmol/l]	0,5	1	1,5	2	5	10
Konzentration WS [mmol/l]	0,19	0,33	0,44	0,61	0,55	0,62
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,01	0,03	0,02	0,53	0,09
Konzentration CD [mmol/l]	15	20	25			
Konzentration WS [mmol/l]	0,59	0,52	0,52			
n	3	3	3			
sdv [mmol/l]	0,05	0,01	0,01			

Fenbufen						
Konzentration CD [mmol/l]	3	7	11	15	20	25
Konzentration WS [mmol/l]	0,12	0,28	0,45	0,67	0,77	0,74
n	3	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,001	0,004	0,003	0,022	0,017	0,031

8.3.2.5 Einfluss des pH-Wertes auf die Komplexierung

Ibuprofen pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	1	2	3	
Konzentration WS [mmol/l]	2,30	5,86	6,14	7,91	
n	9	9	9	9	
sdv [mmol/l]	2,17	1,15	1,08	1,31	
Ibuprofen pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	1	2	3	
Konzentration WS [mmol/l]	3,05	4,05	4,72	6,10	
n	3	3	3	3	
sdv [mmol/l]	0,31	0,4	0,41	0,51	
Ibuprofen pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	1	2	3	
Konzentration WS [mmol/l]	9,65	12,3	10,16	12,62	
n	3	3	3	3	
sdv [mmol/l]	2,10	2,08	4,23	3,05	

Anmerkung: Ergebnisse für Ibuprofen nicht reproduzierbar, insbesondere bei pH 4,5, deshalb wurden hier mehrere Einzelexperimente durchgeführt. Zudem zeigt sich bei pH 4,5 und pH 5,5 ein den Erwartungen umgekehrtes Ergebnis.

Ketoprofen pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	5	7	9
Konzentration WS [mmol/l]	0,63	1,89	2,70	3,42	4,22
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,02	0,02	0,07	0,08	0,02
Ketoprofen pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	5	7	9
Konzentration WS [mmol/l]	1,49	2,55	3,18	4,13	4,81
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,09	0,03	0,3	0,10	0,26
Ketoprofen pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	5	7	9
Konzentration WS [mmol/l]	8,98	9,17	9,74	10,19	10,90
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,03	0,10	0,25	0,38	0,08

Naproxen pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	5	10	15	20
Konzentration WS [mmol/l]	0,21	1,41	2,47	3,42	4,35
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,10	0,05	0,13	0,05	0,03
Naproxen pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	5	10	15	20
Konzentration WS [mmol/l]	0,72	1,79	3,00	4,05	4,87
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,03	0,06	0,10	0,21	0,06
Naproxen pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	5	10	15	20
Konzentration WS [mmol/l]	4,29	6,46	7,95	9,29	10,66
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,28	0,25	0,09	0,05	0,10

Flurbiprofen pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,25	0,5	0,75	1
Konzentration G [mmol/l]	0,10	0,22	0,30	0,49	0,59
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,02	0,01	0,01	0,07	0,05
Flurbiprofen pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,25	0,5	0,75	1
Konzentration G [mmol/l]	0,51	0,69	0,77	0,89	0,98
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,03	0,02	0,01	0,02	0,02
Flurbiprofen pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,25	0,5	0,75	1
Konzentration G [mmol/l]	3,74	3,84	4,12	3,95	4,18
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,18	0,17	0,14	0,12	0,27

Felbinac pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,5	1	1,5	2
Konzentration G [mmol/l]	0,09	0,21	0,35	0,50	0,64
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02
Felbinac pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,5	1	1,5	2
Konzentration G [mmol/l]	0,52	0,66	0,85	1,08	1,40
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,05	0,03	0,04	0,25	0,15
Felbinac pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	0,5	1	1,5	2
Konzentration G [mmol/l]	3,51	3,81	4,06	4,36	4,57
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,06	0,05	0,06	0,08	0,13

Fenbufen pH 4,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	7	11	15
Konzentration G [mmol/l]	0,01	0,12	0,3	0,48	0,69
n	9	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Fenbufen pH 5,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	7	11	15
Konzentration G [mmol/l]	0,03	0,36	0,74	1,05	1,35
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,005	0,01	0,02	0,05
Fenbufen pH 6,5					
Konzentration CD [mmol/l]	0	3	7	11	15
Konzentration G [mmol/l]	0,34	1,88	4,19	5,56	6,83
n	3	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,02	0,18	0,11	0,26	0,09

8.3.2.6 Einfluss der Temperatur auf die Komplexbildung

Ibuprofen 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	1	2	3	
Konzentration G [mmol/l]	7,65	7,59	13,43	
n	3	3	3	
sdv [mmol/l]	1,43	1,90	5,06	
Ibuprofen 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	1	2	3	
Konzentration G [mmol/l]	17,71	26,09	26,15	
n	3	6	6	
sdv [mmol/l]	6,70	5,76	4,71	
Ketoprofen 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	3	5	7	9
Konzentration G [mmol/l]	2,12	3,08	3,95	4,79
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,06	0,10	0,09	0,26
Ketoprofen 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	3	5	7	9
Konzentration G [mmol/l]	2,70	3,73	4,87	5,64
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,04	0,13	0,08	0,22
Naproxen 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	5	10	15	20
Konzentration G [mmol/l]	1,60	2,86	3,92	5,08
n	4	4	4	4
sdv [mmol/l]	0,06	0,03	0,14	0,04
Naproxen 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	5	10	15	20
Konzentration G [mmol/l]	2,22	4,37	5,01	5,90
n	4	4	4	4
sdv [mmol/l]	0,35	1,38	0,25	0,19
Flurbiprofen 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	0,25	0,5	0,75	1
Konzentration G [mmol/l]	0,35	0,44	0,53	0,66
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,03	0,04	0,02
Flurbiprofen 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	0,25	0,5	0,75	1
Konzentration G [mmol/l]	0,43	0,52	0,75	0,76
n	6	6	6	6
sdv [mmol/l]	0,12	0,04	0,05	0,03
Felbinac 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	0,5	1	1,5	2
Konzentration G [mmol/l]	0,28	0,41	0,56	0,72
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,004	0,01	0,02
Felbinac 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	0,5	1	1,5	2
Konzentration G [mmol/l]	0,40	0,56	0,73	0,88
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,03	0,01	0,02	0,04

Fenbufen 35 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	3	7	11	15
Konzentration G [mmol/l]	0,17	0,39	0,64	0,87
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,01	0,02	0,02	0,01
Fenbufen 45 °C				
Konzentration CD [mmol/l]	3	7	11	15
Konzentration G [mmol/l]	0,23	0,53	0,85	1,17
n	3	3	3	3
sdv [mmol/l]	0,003	0,03	0,01	0,02

8.3.2.7 Van't Hoff Plot für Komplexierungsprozess

		25°C	35°C	45°C	
Gastmolekül	r ²	1/T [1/K]	3,35 · 10 ⁻³	3,25 · 10 ⁻³	3,14 · 10 ⁻³
Naproxen	0,9882	ln K	7,66	7,50	7,28
Ketoprofen	0,999	ln K	7,25	7,12	7,01

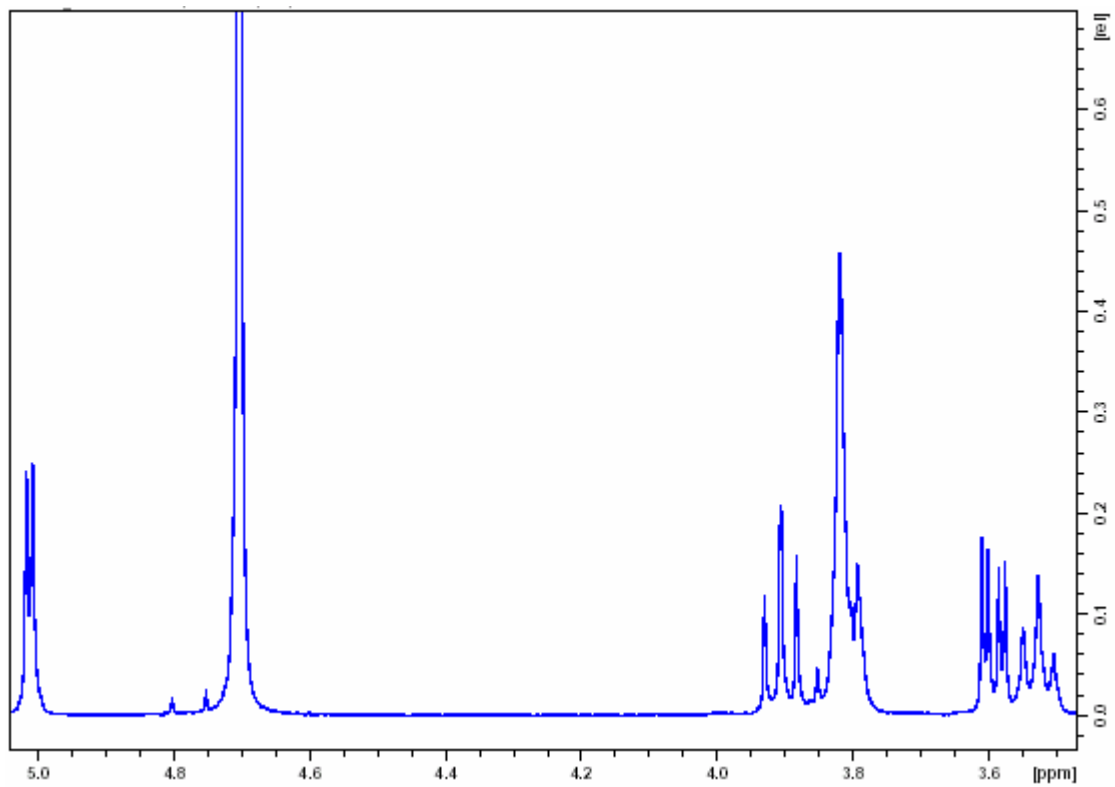
8.3.3 Isothermale Titrationskalorimetrie

Ibuprofen	1	2	3
N	1,00	1,00	1,00
ΔS ⁰ [cal/molK]	9,87	9,60	8,96
ΔH ⁰ [cal/mol]	-3263 ± 108,1	-3411 ± 82,16	-3565 ± 72,01
K [M ⁻¹]	35400 ± 5,53 · 10 ³	39700 ± 4,02 · 10 ³	37300 ± 3,4 · 10 ³
N	1,34 ± 0,00522	1,26±0,0164	1,24 ± 0,0321
ΔS ⁰ [cal/molK]	8,03	7,46	7,50
ΔH ⁰ [cal/mol]	-3353 ± 6,762	-3651 ± 19,90	-3678 ± 40,26
K [M ⁻¹]	16300 ± 207	20300 ± 740	21600 ± 1,58 · 10 ³

8.3.4 Kernresonanzspektroskopie

8.3.4.1 Messparameter der CICS-Messungen

Akquisition	
Datenpunkte (td)	65536
Anzahl der Scans (ns)	128
Dummy Scans (ds)	2
Spektrale Bandbreite (sw/swh)	20,5524 ppm / 8223,685 Hz
Akquisitionszeit (AQ)	3,985 s
Offset (O1)	2471,00 Hz
90°Pulslänge (p1)	8,00 μs
90°Pulsleistung (pl1)	-15,05 dB
Prozessierung	
Datenpunkte (SI)	65536
Fensterfunktion (WDW)	EM
Phasenkorrektur	no

8.3.4.2 ^1H -NMR-Spektrum von β -Cyclodextrin

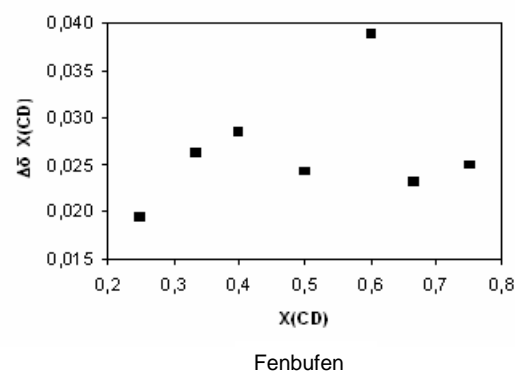
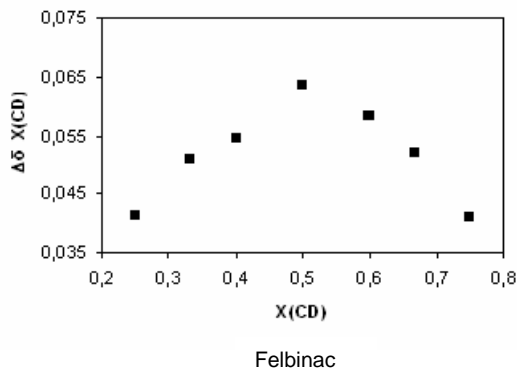
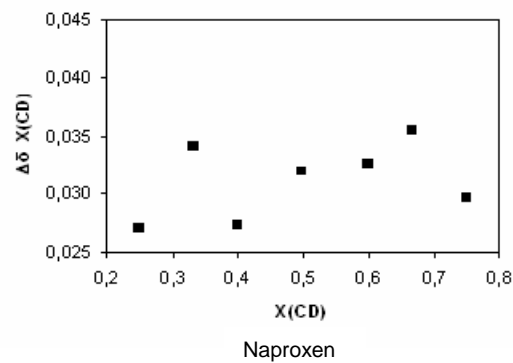
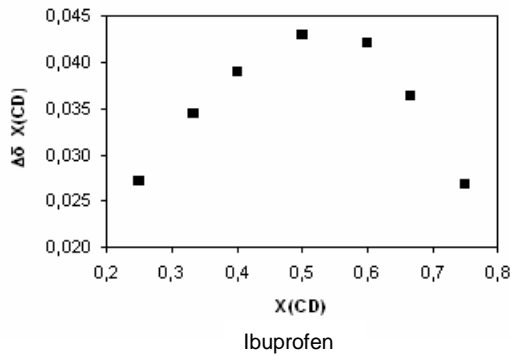
Signalzuordnung nach [98]		
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Zuordnung
3,50 3,53 3,55	t	H4
3,575 3,584 3,600 3,609	dd	H2
3,79	s	H5
3,81	s	H6
3,88 3,91 3,93	t	H3
5,01 5,02	d	H1

8.3.4.3 Ergebnisse der CICS-Messungen

Gastmolekül	X(CD)	Stöchiometrisches Verhältnis in den Probelösungen (CD:G)						
		1:3	1:2	2:3	1:1	3:2	2:1	3:1
		0,25	0,33	0,4	0,5	0,6	0,66	0,75
Ibuprofen ($\delta_0=3,90629$)	$\bar{\delta}$	3,797884	3,80277	3,80874	3,82036	3,83628	3,85171	3,87058
	$\Delta\bar{\delta}$	0,10845	0,10352	0,09755	0,08593	0,07001	0,05485	0,03571
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,02711	0,03451	0,03902	0,04297	0,04201	0,03639	0,02678
Ketoprofen ($\delta_0=3,90533$)	$\bar{\delta}$	3,80248	3,81122	3,79623	3,81938	3,83225	3,84867	3,86081
	$\Delta\bar{\delta}$	0,10285	0,09411	0,1091	0,08595	0,07308	0,05666	0,04452
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,02571	0,03137	0,04364	0,04298	0,04384	0,03777	0,03339
Naproxen ($\delta_0=3,90631$)	$\bar{\delta}$	3,79818	3,80375	3,83788	3,84235	3,85186	3,85294	3,8668
	$\Delta\bar{\delta}$	0,10813	0,10256	0,06843	0,06396	0,05445	0,05337	0,03951
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,02703	0,03419	0,02737	0,03198	0,03267	0,03558	0,02963
Flurbiprofen ($\delta_0=3,90567$)	$\bar{\delta}$	3,73118	3,72918	3,74355	3,75641	3,79368	3,81626	3,84428
	$\Delta\bar{\delta}$	0,17449	0,17649	0,16212	0,14926	0,11199	0,08942	0,06139
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,04362	0,05883	0,06485	0,07463	0,06719	0,05961	0,04604
Felbinac ($\delta_0=3,90661$)	$\bar{\delta}$	3,74107	3,75365	3,76991	3,7794	3,80914	3,82851	3,85212
	$\Delta\bar{\delta}$	0,16554	0,15296	0,1367	0,12721	0,09747	0,0781	0,05499
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,04139	0,05099	0,05468	0,06361	0,05848	0,0521	0,04087
Fenbufen ($\delta_0=3,9056$)	$\bar{\delta}$	3,82792	3,82668	3,8345	3,85706	3,84102	3,8709	3,87241
	$\Delta\bar{\delta}$	0,07768	0,07892	0,0711	0,04854	0,06458	0,0347	0,03391
	X $\Delta\bar{\delta}$	0,01942	0,02631	0,02844	0,02427	0,03875	0,02313	0,02489

Anmerkung: $\Delta\bar{\delta} = \bar{\delta} - \delta_0$

8.3.4.4 Graphische Darstellung der Job's Plots



Anmerkung: Job's Plots von Ketoprofen und Flurbiprofen sind in Kapitel 6.1.6.1 dargestellt.

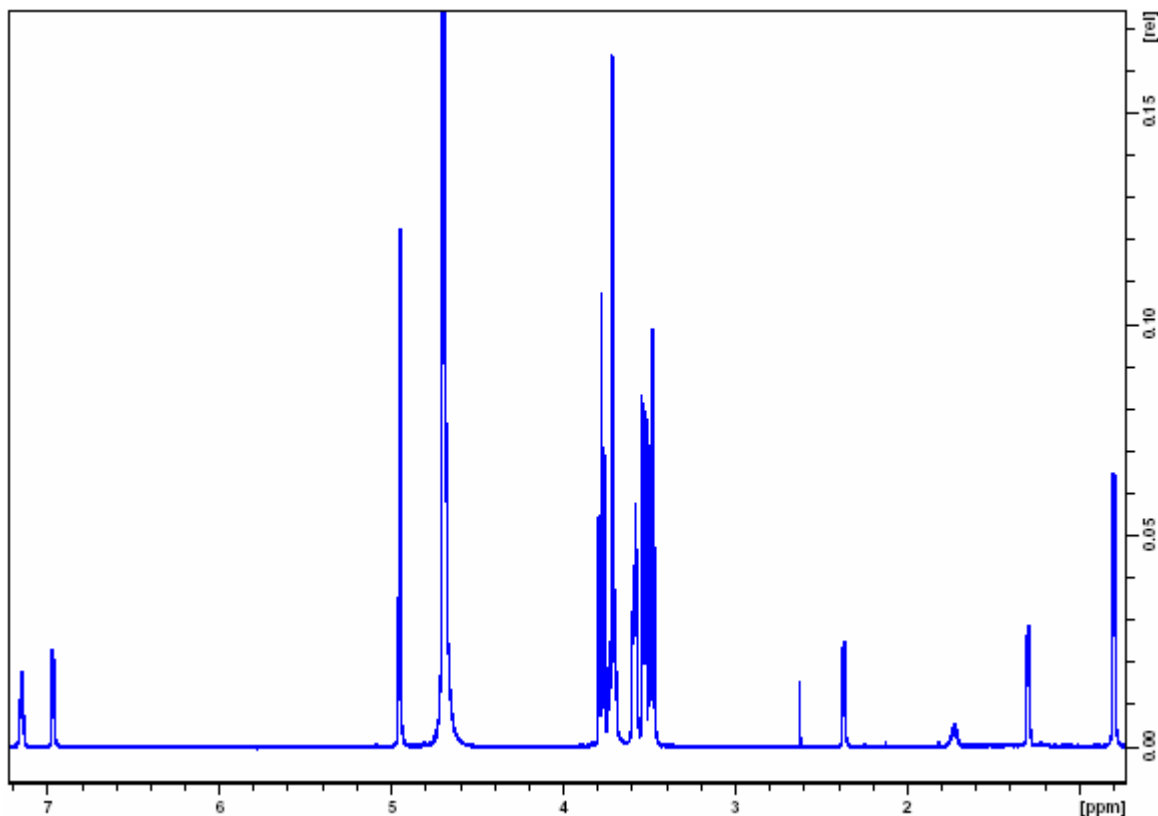
8.3.4.5 Messparameter der ROESY-Experimente

	Fenbufen	Naproxen	Flurbiprofen	Felbinac	Ketoprofen	Ibuprofen
Gesamtkonzentration (β -Cyclodextrin + Wirkstoff) [mmol/l]	0,3	3	3	3	6	3
Akquisition F1						
Datenpunkte (td)	512	512	512	512	512	512
Spektrale Bandbreite (sw/swh) [ppm/Hz]	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908	10,0138 6009,015	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908
Akquisitionszeit (AQ) [s]	0,0356352	0,0356352	0,0356352	0,042598	0,0356352	0,0356352
Offset (O1) [Hz]	2818,00	2818,15	2818,15	2818,10	2819,90	2818,16
Prozessierung F1						
Datenpunkte (SI)	2048					
Fensterfunktion (WDW)	QSINE					
Verschiebung der Fensterfunktion (SSB)	2					
Akquisition F2						
Datenpunkte (td)	8192	8192	8192	8192	8192	8192
Anzahl der Scans (ns)	128	56	56	40	24	32
Dummy Scans (ds)	64	64	64	64	64	64
Spektrale Bandbreite (sw/swh) [ppm/Hz]	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908	10,0138 6009,615	11,9705 7183,908	11,9705 7183,908
Akquisitionszeit (AQ) [s]	0,5702132	0,5702132	0,5702132	0,6816244	0,5702132	0,5702132
Offset (O1) [Hz]	2818,00	2818,15	2818,15	2818,10	2819,90	2818,16
90°-Pulslänge (p1) [μ s]	10,50	10,60	10,60	10,70	10,94	10,90
180°-Pulslänge (p25) [μ s]	140	140	140	140	140	140
Mischungszeit (p15) [ms]	250	250	250	250	250	250
Prozessierung F2						
Datenpunkte (SI)	4096					
Fensterfunktion (WDW)	QSINE					
Verschiebung der Fensterfunktion (SSB)	2					

8.3.4.6 Zuordnung der Wasserstoffatome der ROESY-Spektren

Da die Signale des Wirkstoffes bei Komplexbildung Verschiebungen unterworfen sind, ist im Folgenden die Zuordnung der Signale des Wirkstoffs aus dem Mischspektrum dargestellt.

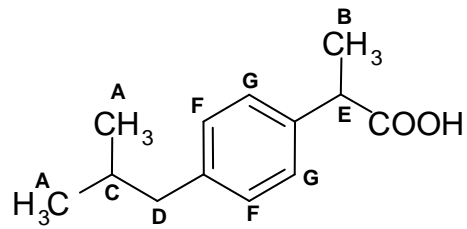
Ibuprofen



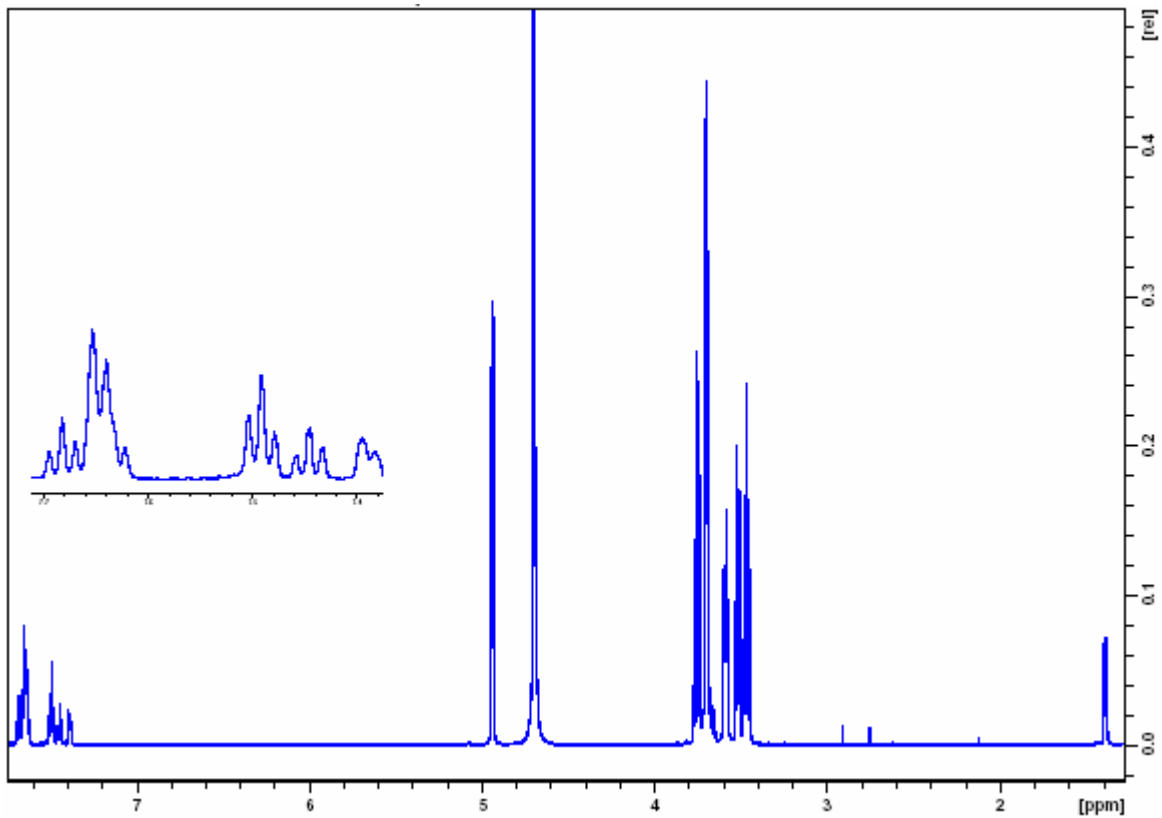
Signalzuordnung				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
0,794 0,805	d	6	2 x CH ₃	A
1,289 1,294 1,301 1,306	q	3	1 x CH ₃	B
1,69 – 1,77	m	1	1 x H	C
2,363 2,374	d	2	2 x H	D
ca. 3,5	x ¹	1	1 x H	E
6,96 6,97	d	2	2 x H (Aromat)	F
7,14 7,15 7,16	t	2	2 x H (Aromat)	G

Anmerkung:

x¹: Da dieses Signal im Bereich der Signale des Cyclodextrins auftritt und es zu Überlagerungen kommt, kann eine eindeutige Zuordnung der Verschiebung sowie des Aufspaltungsmusters nicht stattfinden.



Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatome des Cyclodextrins	
A	H5, H3, (H6)
B	H6
C	-
D	H3, H5
E	H6
F	H3, H5, H6
G	H3, H5, H6 (schwächer als F)

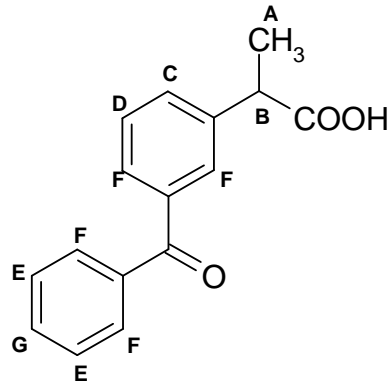
Ketoprofen

Signalzuordnung				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
1,380 1,386 1,393 1,398	q	3	1 x CH ₃	A
3,66 3,67	q (x ¹)	1	1 x H	B
7,38 7,40	m	1	1 x H (Aromat)	C
7,428 -7,464	m	1	1 x H (Aromat)	D
7,479 7,492 7,504	t	2	2 x H (Aromat)	E
7,623 7,640 7,654	m	4	4 x H (Aromat)	F (x ²)
7,670 7,683 7,695	t	1	1 x H	G

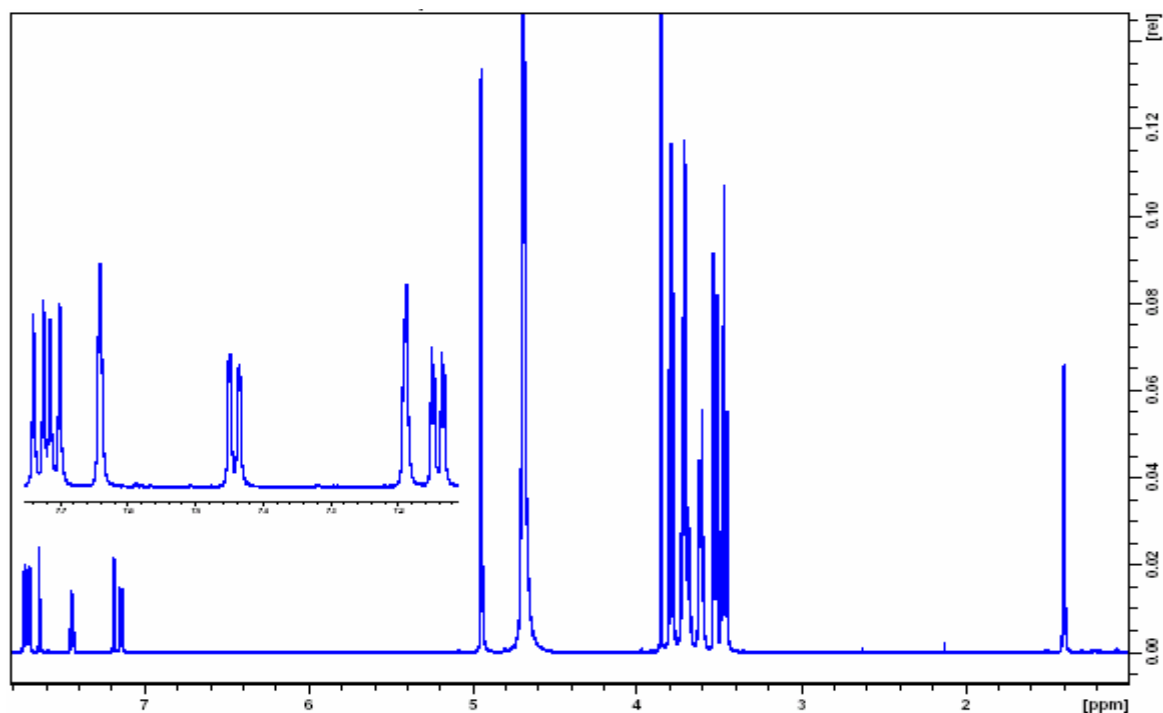
Anmerkung:

x¹: Da dieses Signal im Bereich der Signale des Cyclodextrins auftritt und es zu Überlagerungen kommt, kann eine eindeutige Zuordnung der Verschiebung sowie des Aufspaltungsmusters nicht stattfinden.

x²: keine eindeutige Zuordnung möglich



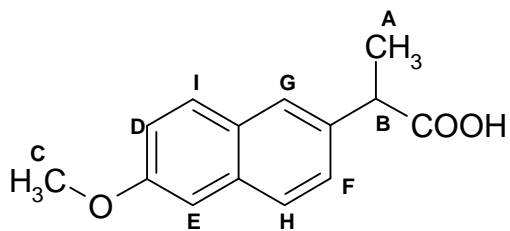
Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatome des Cyclodextrins	
A	-
B	H5
C	(H5)
D	(H3)
E	H3, H5
F	H5, (H3, H6)
G	-

Naproxen

Signalzuordnung nach [136]				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
1,39 1,41	d	3	1 x CH ₃	A
3,69 3,73 3,74	x ¹	1	1 x H	B
3,86	s	3	1 x CH ₃	C
7,132 7,136 7,147 7,151	dd	1	1 x H (Aromat)	D
7,188 7,192	d	1	1 x H (Aromat)	E
7,435 7,437 7,449 7,452	dd	1	1 x H (Aromat)	F
7,641	s	1	1 x H (Aromat)	G
7,716 7,701	d	1	1 x H (Aromat)	H
7,725 7,740	d	1	1 x H (Aromat)	I

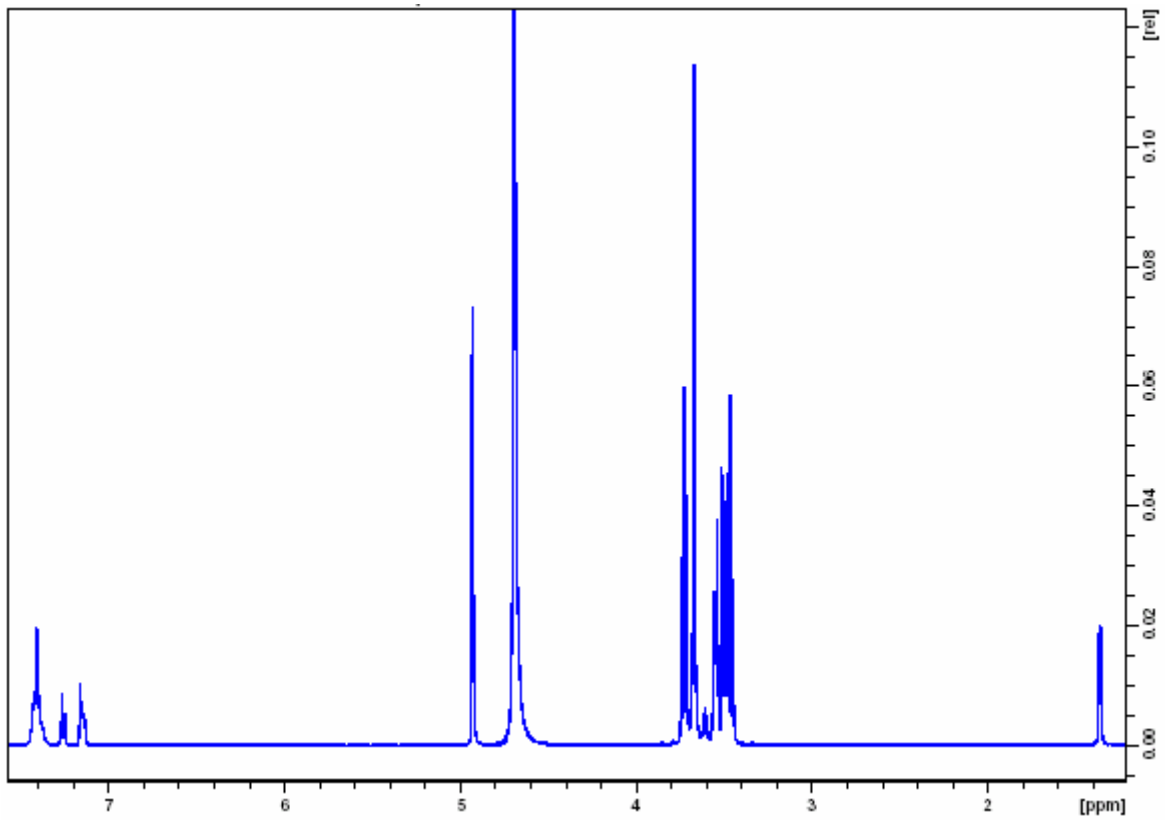
Anmerkung:

x¹: Da dieses Signal im Bereich der Signale des Cyclodextrins auftritt und es zu Überlagerungen kommt, kann eine eindeutige Zuordnung der Verschiebung sowie des Aufspaltungsmusters nicht stattfinden.

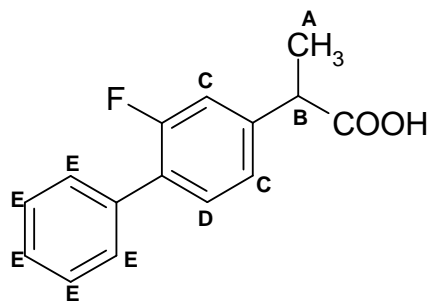


Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatome des Cyclodextrins	
A	H3, (H5)
B	x ¹
C	-
D	(H5)
E	H5
F	-
G	H3, H5
H	(H3), H5
I	(H3), H5

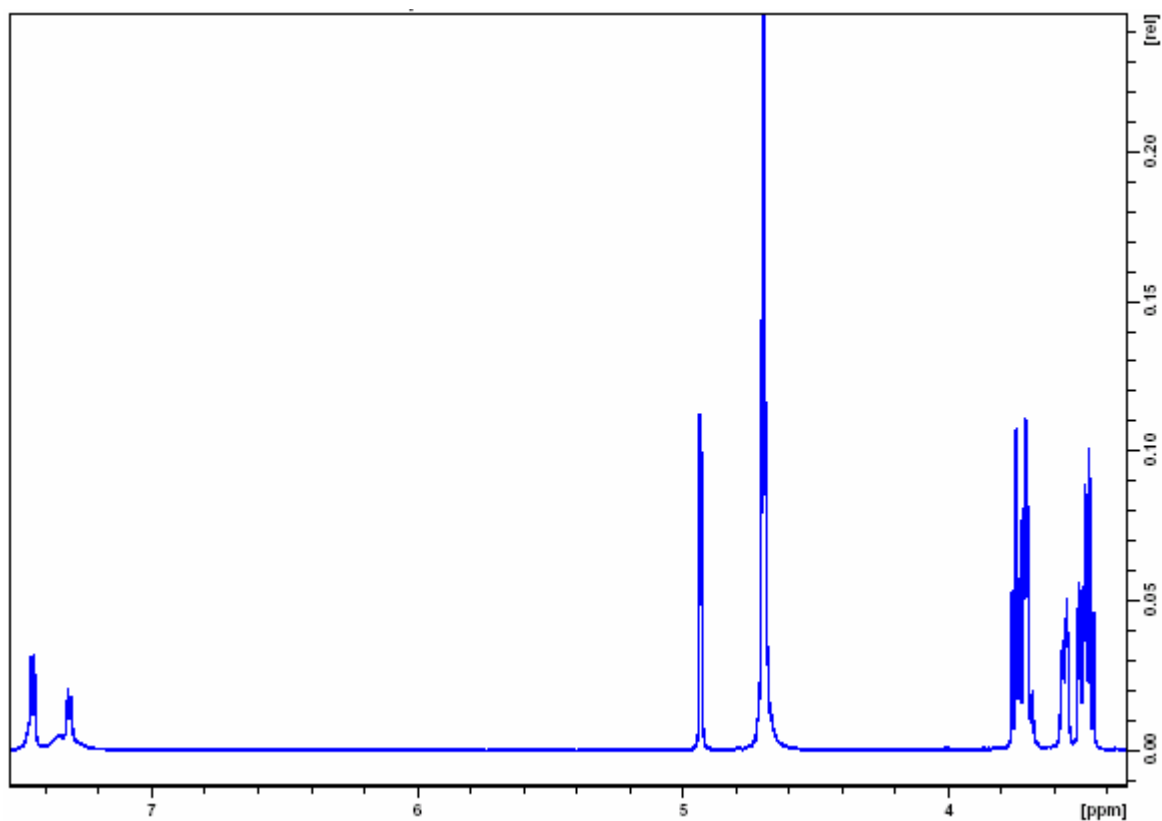
x¹: Da dieses Signal im Bereich der Signale des Cyclodextrins auftritt und es zu Überlagerungen kommt, kann eine eindeutige Zuordnung der Verschiebung sowie des Aufspaltungsmusters nicht stattfinden.

Flurbiprofen

Signalzuordnung				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
1,353 1,358 1,365 1,370	q	3	1 x CH ₃	A
3,585 3,596 3,606 3,617 3,630	m	1	1 x H	B
7,13 – 7,17	m	2	2 x H (Aromat)	C
7,25 7,26 7,28	t	1	1 x (Aromat)	D
7,36 – 7,46	m	5	5 x (Aromat)	E



Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatomen des Cyclodextrins	
A	evtl. H6
B	H5
C	(H3), H5, H6
D	(H3), H5
E	H3, H5, H6

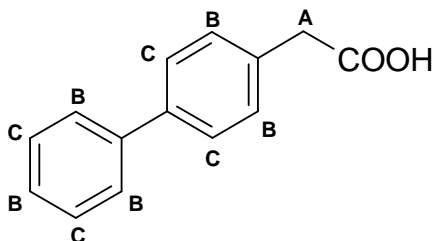
Felbinac

Signalzuordnung				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
3,476	x^1	2	2 x H	A
7,304 7,317	d	5	5 x H (Aromat)	B (x^2)
7,441 7,454	d	4	4 x H (Aromat)	C (x^2)

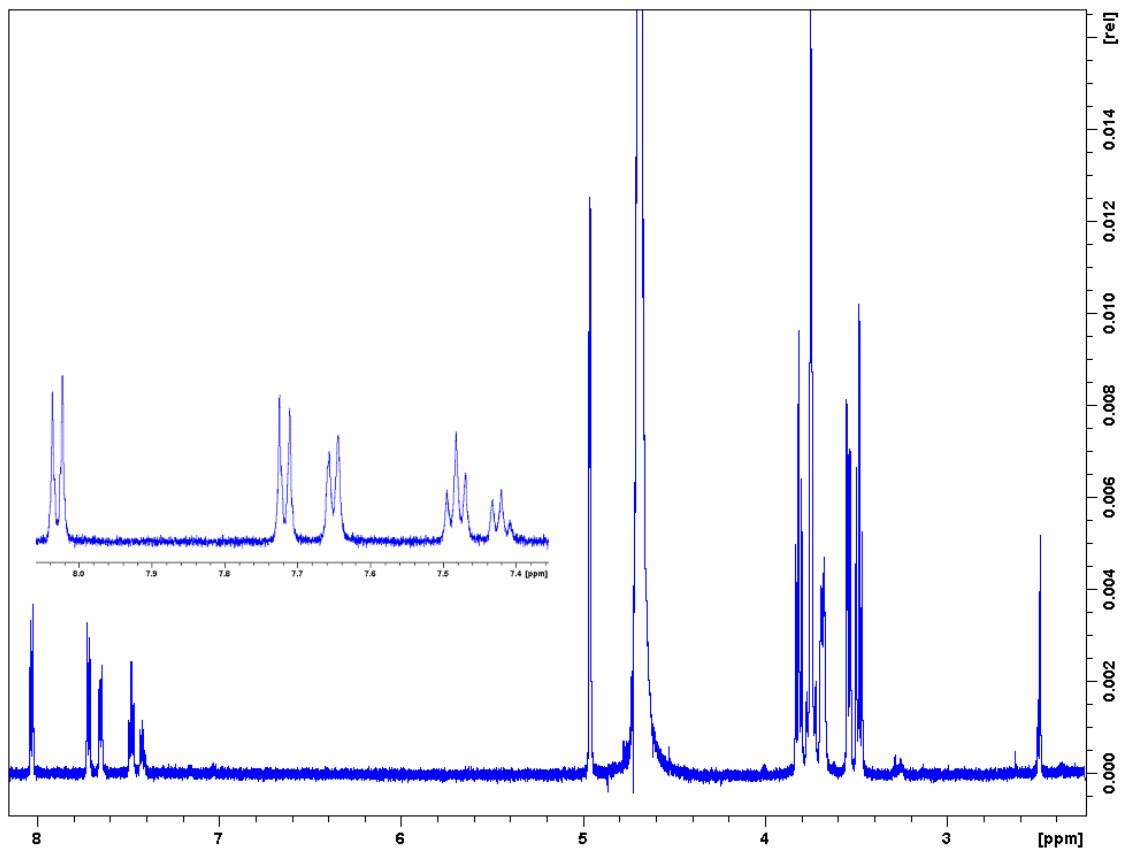
Anmerkung:

x^1 : Da dieses Signal im Bereich der Signale des Cyclodextrins auftritt und es zu Überlagerungen kommt, kann eine eindeutige Zuordnung der Verschiebung sowie des Aufspaltungsmusters nicht stattfinden.

x^2 : nicht eindeutig zuzuordnen, Annahme



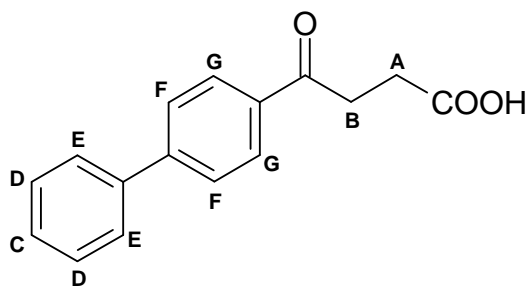
Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatome des Cyclodextrins	
A	H1, H3, (H5)
B	H3, H5
C	H3, H5

Fenbufen

Signalzuordnung				
δ [ppm]	Aufspaltungsmuster	Anzahl Wasserstoffatome	Zuordnung	Symbol
2,49 2,50	x ¹	2	2 x H	A
ca. 3,28	x ¹	2	2 x H	B
7,408 7,421 7,433	t	1	1 x H (Aromat)	C
7,470 7,483 7,495	t	2	2 x H (Aromat)	D
7,645 7,657	d	2	2 x H (Aromat)	E
7,711 7,726	d	2	2 x H (Aromat)	F
8,023 8,037	d	2	2 x H (Aromat)	G

Anmerkung:

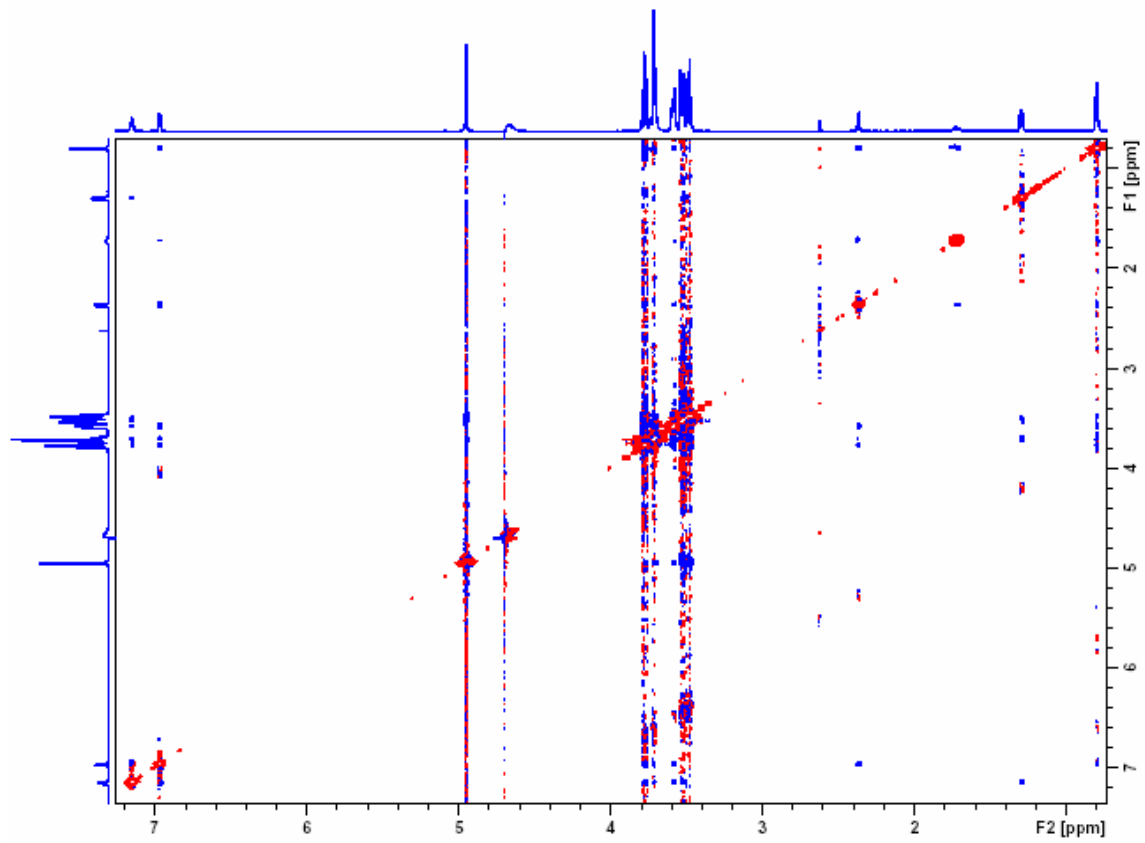
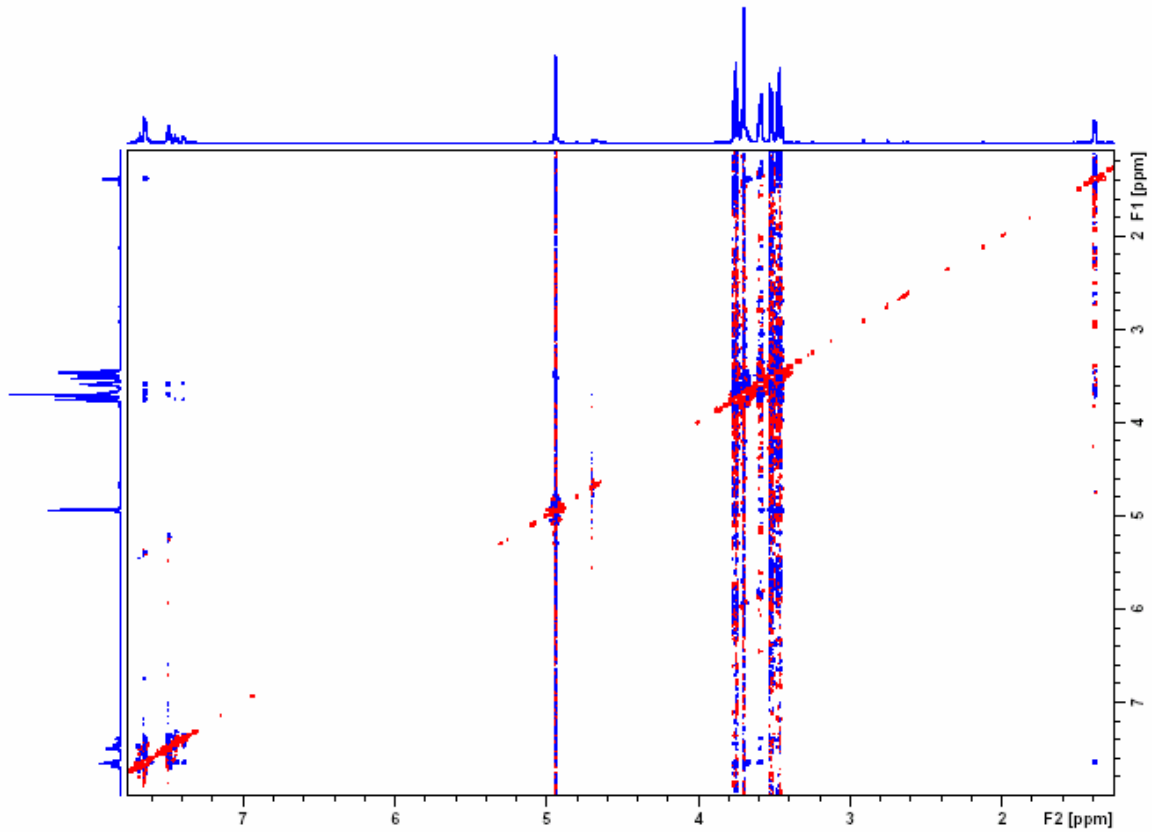
X¹: kein eindeutiges Aufspaltungsmuster zuzuordnen

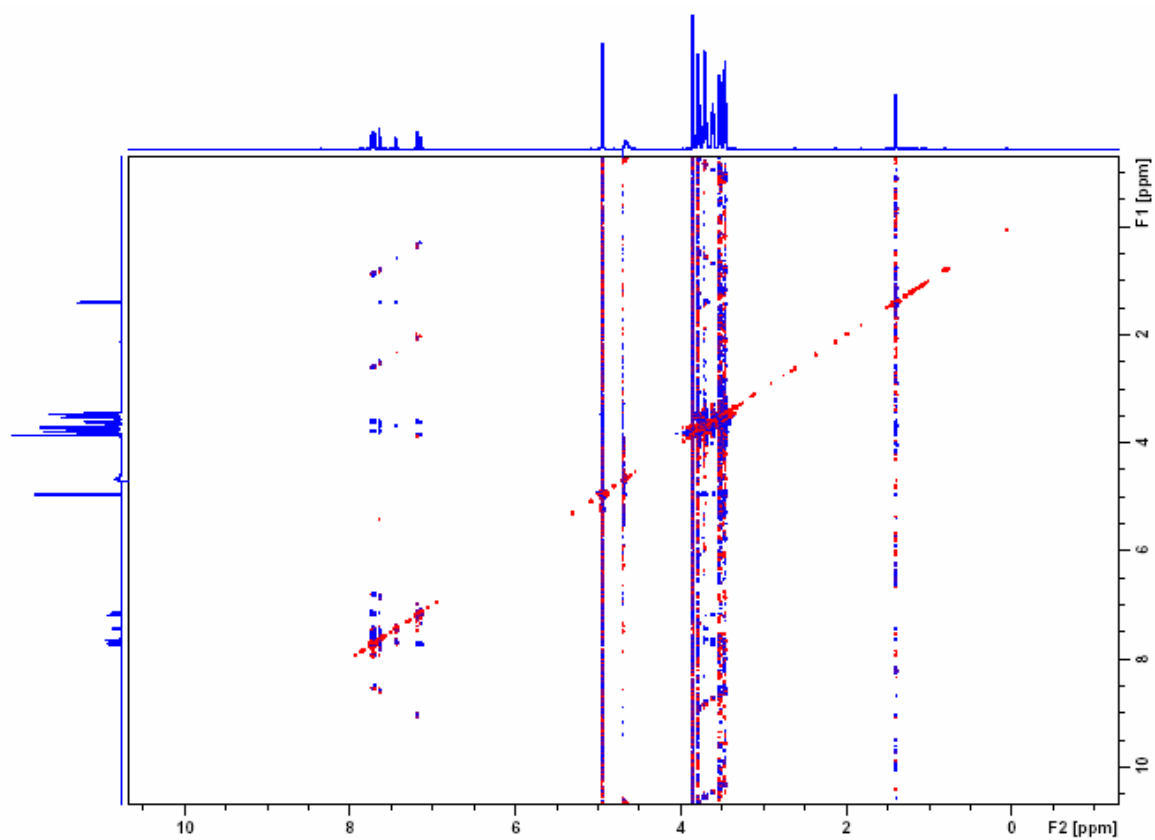
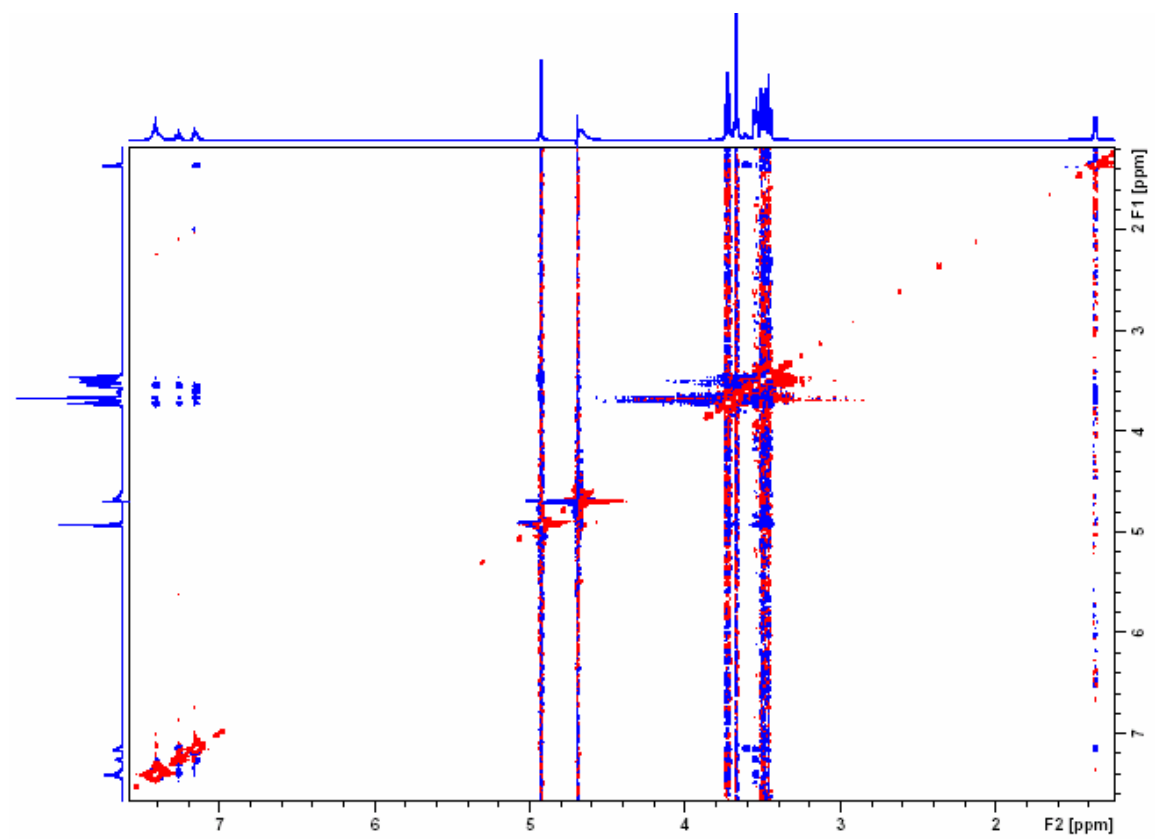


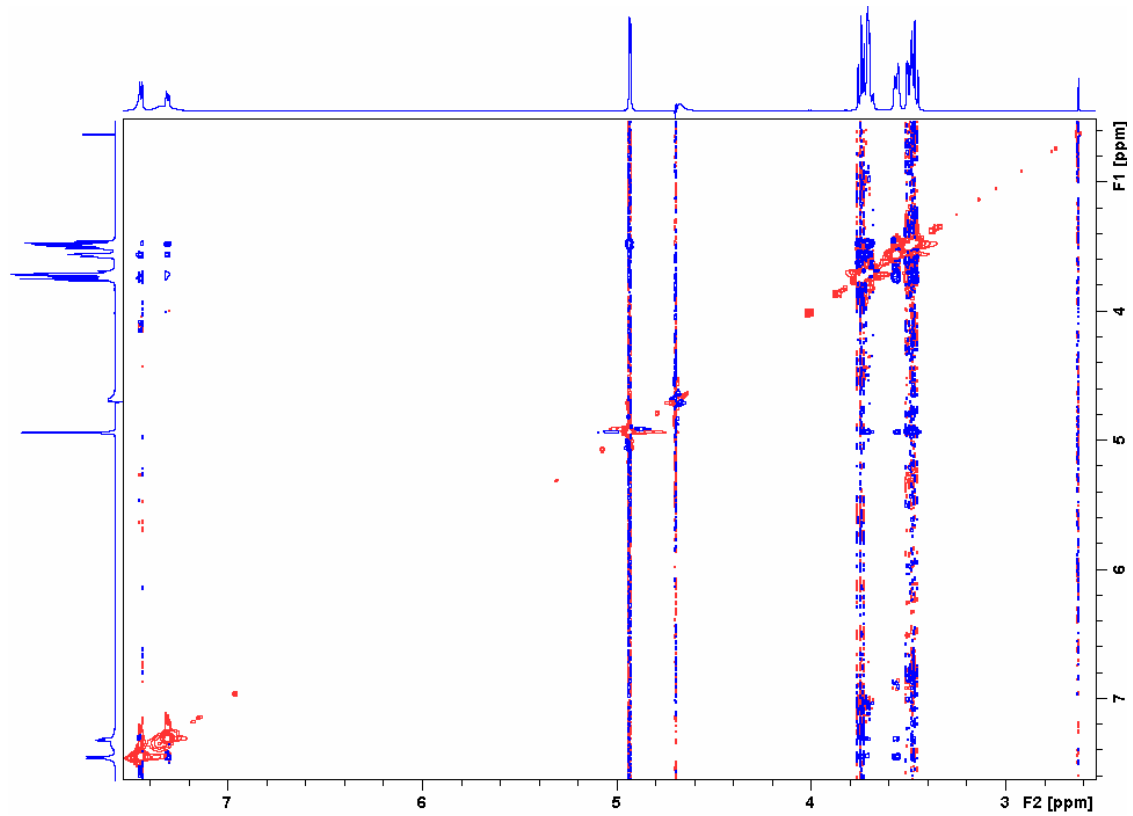
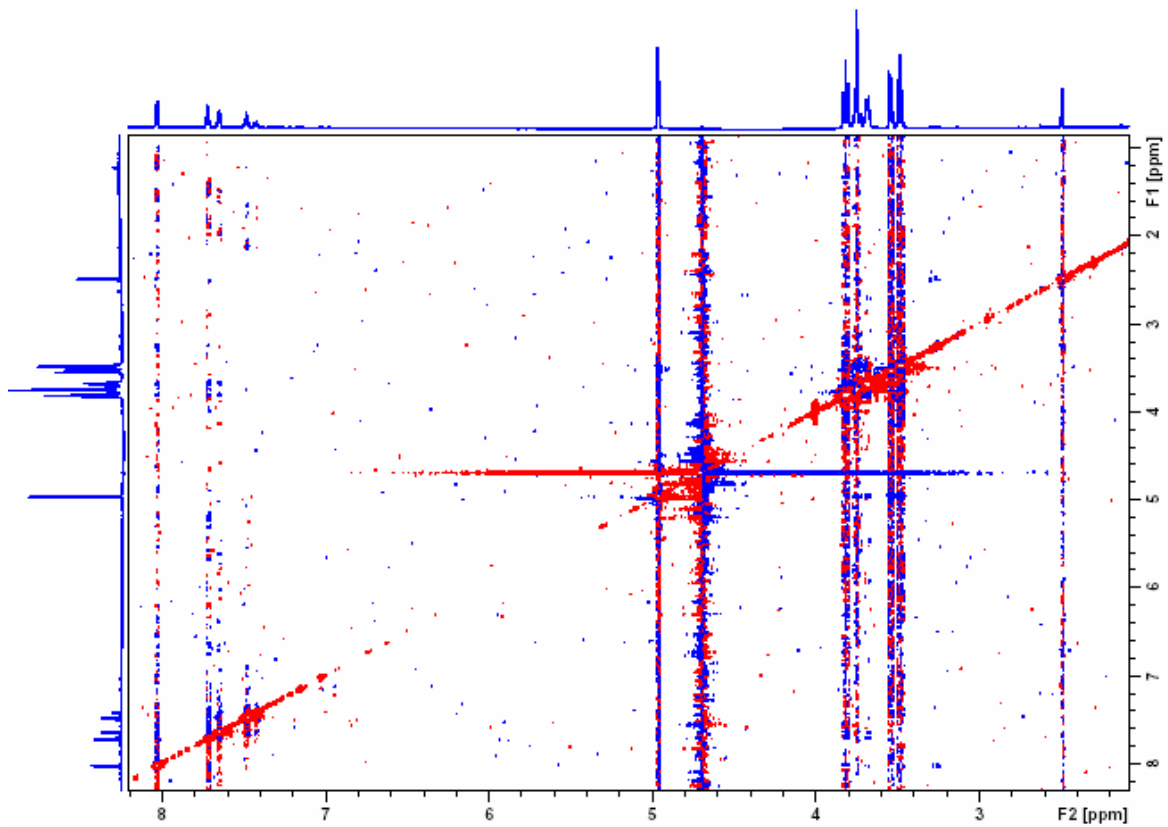
Wechselwirkungen der Wasserstoffatome mit den Wasserstoffatomen des Cyclodextrins	
A	(H3)
B	(H3)
C	-
D	(H6)
E	H5, (H3, H6)
F	H5, (H3, H6)
G	H3, H5

8.3.4.7 ROESY-Spektren

Auf den folgenden Seiten sind die ROESY-Spektren der einzelnen Gastmoleküle mit β -Cyclodextrin abgebildet.

Ibuprofen**Ketoprofen**

Naproxen**Flurbiprofen**

Felbinac**Fenbufen**

8.4 Computerchemische Untersuchungen

8.4.1 Übersicht der Rohdaten in elektronischer Form

Um die einzelnen Schritte der Vorgehensweise nachvollziehen zu können, wurden die Rohdaten auf einer CD gespeichert. Nachfolgende Tabelle soll zur besseren Übersicht über die gespeicherten Daten dienen.

Name des Ordners	Dateiname/Unterordner	Inhalt
Cyclodextrine	Röntgenkristallstruktur	Kristallstruktur aus der Cambridge Structural Database
	Konformationssuche	Ergebnisse und Auswertung der MD-Simulation zur Erstellung der Cyclodextrin-Initialstrukturen
	Cyclodextrin-Strukturen	Cyclodextrine als mol2-Dateien und pdb-Dateien, benannt: CD1 bis CD10
Dockingstudien	Docking-geladen	für jede Dockingstudie ein Ordner, in dem alle zur Durchführung benötigten Dateien sowie Skripte und Ausgangsstrukturen enthalten sind; benannt mit Hilfe unten aufgeführter Abkürzungen.
	Docking-neutral	
	Rohdatenauswertung	Aufführung der Bindungsenergien der Dockingstudien; Darstellung des Dockingergebnisses aus der Ergebnisdatei
MD-Simulation-Stabilität	MDStabilität	Datenbank mit den Ergebnissen der durchgeführten MD-Simulation zur Überprüfung der Stabilität
	MDStabilitätAW	Datenbank nach Auswertung
	mdergebnis.mdb	Ergebnis der Bewertung der Stabilität
Auswertungen	Cyclodextrine.xls	Charakterisierung der Cyclodextrine
	Docking.xls	Auswertung der Docking-Studien nach strukturellen und energetischen Aspekten

Benutzte Abkürzungen für die Gastmoleküle

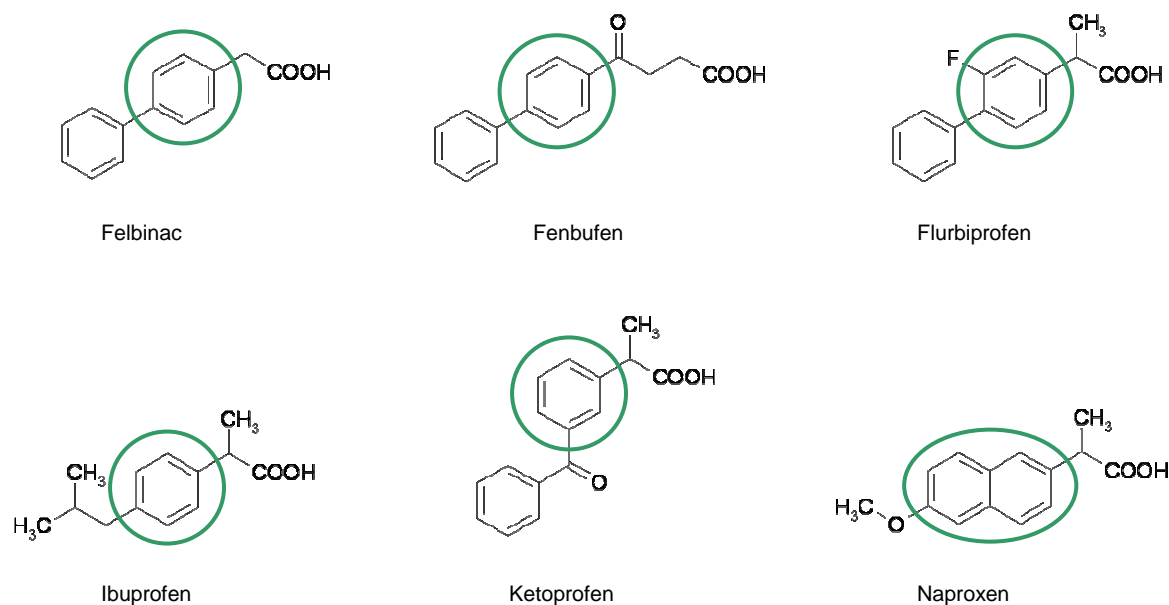
Gastmolekül	Abkürzung für die freie Säure	Abkürzung für deprotoniertes Molekül
Fenbufen	fen	feng
Felbinac	fel	felg
(S)-Ibuprofen	sibu	sibug
(R)-Ibuprofen	ribu	ribug
(S)-Flurbiprofen	sflu	sflug
(R)-Flurbiprofen	rflu	rflug
(S)-Ketoprofen	sket	sketg
(R)-Ketoprofen	rket	rketg
(S)-Naproxen	snap	snapg

8.4.2 Einzel- und Gesamtwinkelsummen der Cyclodextrinkonformere

Torsionswinkel der glykosidischen Bindungen [°]										
	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Φ (1)	-14,5698	-11,2360	-20,1405	19,8521	47,1782	33,8486	41,3329	52,6443	59,9379	52,7242
Ψ (1)	27,6731	43,5828	16,0027	-0,4611	-2,5983	13,9539	15,6610	-14,3038	-27,5534	-8,1552
Φ (2)	14,1484	0,2280	39,3839	-7,8713	-3,7053	19,2180	30,3968	27,9682	-31,0150	-7,2392
Ψ (2)	-9,1758	-19,1895	2,0617	39,3606	-14,0750	-0,3796	2,2320	1,4998	-5,8970	-33,9103
Φ (3)	-16,7957	14,3923	0,6332	19,1930	-7,4484	-37,6490	-32,4831	-13,1759	38,9262	-17,9879
Ψ (3)	47,7443	32,1977	-7,0081	3,2233	27,0309	-7,9909	-18,6042	-26,7139	17,0996	5,3641
Φ (4)	9,4542	12,0161	-19,0771	-7,7077	12,1578	38,3858	-0,6436	-18,0610	-22,5800	-35,2704
Ψ (4)	-21,9178	-13,7758	-24,3942	-30,1312	-46,3575	-5,1980	-29,5855	-27,6690	-25,1352	-23,8243
Φ (5)	-8,7219	7,4359	55,8493	-4,8391	-13,9858	17,8198	-10,9140	15,6573	32,3551	-27,3810
Ψ (5)	-9,1503	-42,1103	-17,3499	34,2287	40,0616	-35,8180	27,8419	38,0334	4,3432	83,2428
Φ (6)	-2,7163	-18,5923	9,0565	20,7815	10,7271	-20,0028	-27,2392	20,2016	38,4609	36,0540
Ψ (6)	41,8156	42,6096	-16,8552	3,5908	14,7929	32,7281	38,3639	-30,8058	-12,3788	18,5258
Φ (7)	7,7443	3,8715	11,5161	-42,6289	-29,9061	-24,3813	-5,1879	-31,3613	-40,1676	-26,3319
Ψ (7)	-16,7044	-11,6831	-35,9624	21,9251	-18,2346	-34,9118	-46,5991	-20,4456	-15,1574	-23,8172
Einzelwinkelsummen ($ \Phi+\Psi $)										
1	13,1033	32,3469	4,1378	19,3911	44,5799	47,8025	56,9940	38,3405	32,3845	44,5690
2	4,9726	18,9615	41,4456	31,4893	17,7803	18,8384	32,6288	29,4680	36,9120	41,1496
3	30,9486	46,5900	6,3749	22,4164	19,5824	45,6399	51,0873	39,8898	56,0258	12,6239
4	12,4636	1,7597	43,4713	37,8389	34,1997	33,1878	30,2291	45,7301	47,7152	59,0948
5	17,8722	34,6743	38,4994	29,3869	26,0757	17,9981	16,9280	53,6908	36,6983	55,8618
6	39,0992	24,0173	7,7988	24,3724	25,5199	12,7253	11,1247	10,6041	26,0821	54,5798
7	8,9601	7,8116	24,4463	20,7038	48,1407	59,2931	51,7870	51,8069	55,3251	50,1492
Gesamtwinkelsumme										
Σ	127,4196	166,1613	166,1743	185,6014	215,8786	235,4851	250,7788	269,5302	291,1429	318,0279

8.4.3 Vorbereitung der Gastmoleküle

Starre Molekülteile („root atoms“) sind in den abgebildeten Strukturformeln farbig umrandet.



8.4.4 Repräsentatives Docking-Parameter-File

```

seed  time pid          # for random number generator
types  CAO             # atom type names
fld    griddata.maps.fld # grid data file
map    C.map           # C-atomic affinity map file
map    A.map           # A-atomic affinity map file
map    O.map           # O-atomic affinity map file
map    H.map           # H-atomic affinity map file
map    e.map           # electrostatics map file

move   fel.pdbq        # small molecule file
about  0.292 7.760 1.768 # small molecule center

# Initial Translation, Quaternion and Torsions
tran0  random          # initial coordinates/A or "random"
quat0  random          # initial quaternion or "random"
ndihe  4                # number of initial torsions
dihe0  random          # initial torsions

torsdof 4 0.3113      # num. non-Hydrogen torsional DOF & coeff.

# Initial Translation, Quaternion and Torsion Step Sizes and Reduction Factors
tstep  2.0              # translation step/A
qstep  50.0             # quaternion step/deg
dstep  50.0             # torsion step/deg
trnrf  1.               # trans reduction factor/per cycle
quarf  1.               # quat reduction factor/per cycle
dihrf  1.               # tors reduction factor/per cycle

# Internal Non-Bonded Parameters
intnbp_r_eps 4.00 0.0222750 12 6 #C-C lj
intnbp_r_eps 4.00 0.0222750 12 6 #C-A lj
intnbp_r_eps 3.60 0.0257202 12 6 #C-O lj
intnbp_r_eps 3.00 0.0081378 12 6 #C-H lj
intnbp_r_eps 4.00 0.0222750 12 6 #A-A lj
intnbp_r_eps 3.60 0.0257202 12 6 #A-O lj
intnbp_r_eps 3.00 0.0081378 12 6 #A-H lj
intnbp_r_eps 3.20 0.0297000 12 6 #O-O lj
intnbp_r_eps 1.90 0.3280000 12 10 #O-H hb
intnbp_r_eps 2.00 0.0029700 12 6 #H-H lj

#intelec          # calculate internal electrostatic energy

outlev 1          # diagnostic output level

# Docked Conformation Clustering Parameters for "analysis" command
rmstol 1.0        # cluster tolerance (Angstroms)
rmsref  fel.pdbq  # reference structure file for RMS calc.
#rmsnosym         # do no symmetry checking in RMS calc.
write_all         # write all conformations in a cluster

extnrg 1000.      # external grid energy
e0max 0. 10000 # max. allowable initial energy, max. num. retries

# Genetic Algorithm (GA) and Lamarckian Genetic Algorithm Parameters (LGA)
ga_pop_size 50    # number of individuals in population
ga_num_evals 1000000 # maximum number of energy evaluations
ga_num_generations 27000 # maximum number of generations
ga_elitism 1     # num. of top individuals that automatically survive
ga_mutation_rate 0.02 # rate of gene mutation
ga_crossover_rate 0.80 # rate of crossover
ga_window_size 10 # num. of generations for picking worst individual
ga_cauchy_alpha 0 # ~mean of Cauchy distribution for gene mutation

```

```

ga_cauchy_beta 1          # ~variance of Cauchy distribution for gene mutation
set_ga              # set the above parameters for GA or LGA

# Local Search (Solis & Wets) Parameters (for LS alone and for LGA)
sw_max_its 300          # number of iterations of Solis & Wets local search
sw_max_succ 4           # number of consecutive successes before changing rho
sw_max_fail 4           # number of consecutive failures before changing rho
sw_rho 1.0              # size of local search space to sample
sw_lb_rho 0.01          # lower bound on rho
ls_search_freq 0.06     # probability of performing local search on an indiv.
set_psw1             # set the above pseudo-Solis & Wets parameters

ga_run 100             # do this many GA or LGA runs

# Perform Cluster Analysis
analysis             # do cluster analysis on results

```

8.4.5 Grid-Parameter-Files

1.gpf

```

receptor cd1.pdbqs      #macromolecule
gridfld griddata.maps.fld #grid_data_file
npts 50 50 50           #num.grid points in xyz
spacing 0.375           #spacing (Angstroms)
gridcenter 14.249 0.66874 0.82082 #xyz-coordinates or "auto"
types CANOSH           #atom type names
smooth 0.500           #store minimum energy within radius (Ang)
map C.map              #filename of grid map
nbp_r_eps 4.00 0.0222750 12 6 #C-C lj
nbp_r_eps 3.75 0.0230026 12 6 #C-N lj
nbp_r_eps 3.60 0.0257202 12 6 #C-O lj
nbp_r_eps 4.00 0.0257202 12 6 #C-S lj
nbp_r_eps 3.00 0.0081378 12 6 #C-H lj
nbp_r_eps 4.10 0.0257202 12 6 #C-X lj (X: Phosphorus in DNA)
nbp_r_eps 3.70 0.0181874 12 6 #C-M lj (Met: Mg/Mn)
sol_par 12.77 0.6844    #C atomic fragmental volume, solv. param.
constant 0.000         #C grid map constant energy
map A.map              #filename of grid map
nbp_r_eps 4.00 0.0222750 12 6 #A-C lj
nbp_r_eps 3.75 0.0230026 12 6 #A-N lj
nbp_r_eps 3.60 0.0257202 12 6 #A-O lj
nbp_r_eps 4.00 0.0257202 12 6 A-S lj
nbp_r_eps 3.00 0.0081378 12 6 #A-H lj
nbp_r_eps 4.10 0.0257202 12 6 #A-X lj (X: Phosphorus in DNA)
nbp_r_eps 3.70 0.0181874 12 6 #A-M lj (Met: Mg/Mn)
sol_par 10.80 0.1027   #A atomic fragmental volume, solv. param.
constant 0.000         #A grid map constant energy
map N.map              #filename of grid map
nbp_r_eps 3.75 0.0230026 12 6 #N-C lj
nbp_r_eps 3.50 0.0237600 12 6 #N-N lj
nbp_r_eps 3.35 0.0265667 12 6 #N-O lj
nbp_r_eps 3.75 0.0265667 12 6 #N-S lj
nbp_r_eps 2.75 0.0084051 12 6 #N-H lj
nbp_r_eps 3.85 0.0265667 12 6 #N-X lj (X: Phosphorus in DNA)
nbp_r_eps 3.45 0.0187839 12 6 #N-M lj (Met: Mg/Mn)
sol_par 0.00 0.0000    #N atomic fragmental volume, solv. param.
constant 0.000         #N grid map constant energy
map O.map              #filename of grid map
nbp_r_eps 3.60 0.0257202 12 6 #O-C lj
nbp_r_eps 3.35 0.0265667 12 6 #O-N lj
nbp_r_eps 3.20 0.0297000 12 6 #O-O lj
nbp_r_eps 3.60 0.0297000 12 6 #O-S lj

```

```

nbp_r_eps 1.90 0.3280000 12 10
nbp_r_eps 3.70 0.0297000 12 6
nbp_r_eps 3.30 0.0210010 12 6
sol_par 0.00 0.0000
constant 0.236
map S.map
nbp_r_eps 4.00 0.0257202 12 6
nbp_r_eps 3.75 0.0265667 12 6
nbp_r_eps 3.60 0.0297000 12 6
nbp_r_eps 4.00 0.0297000 12 6
nbp_r_eps 2.50 0.0656000 12 10
nbp_r_eps 4.10 0.0297000 12 6
nbp_r_eps 3.70 0.0210010 12 6
sol_par 0.00 0.0000
constant 0.000
map H.map
nbp_r_eps 3.00 0.0081378 12 6
nbp_r_eps 2.75 0.0084051 12 6
nbp_r_eps 1.90 0.3280000 12 10
nbp_r_eps 2.50 0.0656000 12 10
nbp_r_eps 2.00 0.0029700 12 6
nbp_r_eps 3.10 0.0093920 12 6
nbp_r_eps 2.70 0.0066411 12 6
sol_par 0.00 0.0000
constant 0.118
elecmap e.map
dielectric -0.1146
#fmap f.map
#O-H hb
#O-X lj (X: Phosphorus in DNA)
#O-M lj (Met: Mg/Mn)
#O atomic fragmental volume, solv. param.
#O grid map constant energy
#filename of grid map
#S-C lj
#S-N lj
#S-O lj
#S-S lj
#S-H hb
#S-X lj (X: Phosphorus in DNA)
#S-M lj (Met: Mg/Mn)
#S atomic fragmental volume, solv. param.
#S grid map constant energy
#filename of grid map
#H-C lj
#H-N lj
#H-O hb
#H-S hb
#H-H lj
#H-X lj (X: Phosphorus in DNA)
#H-M lj (Met: Mg/Mn)
#H atomic fragmental volume, solv. param.
#H grid map constant energy
#electrostatic potential map
#<0,distance-dep.diel; >0,constant
#floating grid

```

2.gpf

```

receptor cd1.pdbqs
gridfld griddata.maps.fld
npts 50 50 50
spacing 0.375
gridcenter 14.249 0.66874 0.82082
types FcbM
smooth 0.500
map F.map
nbp_r_eps 3.54 0.0162608 12 6
nbp_r_eps 3.29 0.0167954 12 6
nbp_r_eps 3.15 0.0187853 12 6
nbp_r_eps 3.54 0.0187853 12 6
nbp_r_eps 2.54 0.0059400 12 6
nbp_r_eps 3.65 0.0187110 12 6
nbp_r_eps 3.24 0.0132822 12 6
sol_par 0.00 0.0000
constant 0.000
map c.map
nbp_r_eps 4.04 0.0302198 12 6
nbp_r_eps 3.79 0.0311999 12 6
nbp_r_eps 3.65 0.0348827 12 6
nbp_r_eps 4.04 0.0348827 12 6
nbp_r_eps 3.04 0.0110336 12 6
nbp_r_eps 4.14 0.0348975 12 6
nbp_r_eps 3.74 0.0246706 12 6
sol_par 0.00 0.0000
constant 0.000
map b.map
nbp_r_eps 4.17 0.0358776 12 6
nbp_r_eps 3.92 0.0370508 12 6
nbp_r_eps 3.77 0.0414167 12 6
nbp_r_eps 4.17 0.0414167 12 6
nbp_r_eps 3.17 0.0130977 12 6
nbp_r_eps 4.14 0.0348975 12 6
#macromolecule
#grid_data_file
#num.grid points in xyz
#spacing (Angstroms)
#xyz-coordinates or "auto"
#atom type names (halogens)
#store minimum energy within radius (Ang)
#filename of grid map (FLUORINE)
#F-C
#F-N
#F-O
#F-S
#F-H
#F-X (X: Phosphorus in DNA)
#F-M (Met: Mg/Mn)
#F atomic fragmental volume, solv. param.
#F grid map constant energy
#filename of grid map (CHLORINE)
#c-C
#c-N
#c-O
#c-S
#c-H
#c-X (X: Phosphorus in DNA)
#c-M (Met: Mg/Mn)
#c atomic fragmental volume, solv. param.
#c grid map constant energy
#filename of grid map (BROMINE)
#b-C
#b-N
#b-O
#b-S
#b-H
#b-X (X: Phosphorus in DNA) ### taken from chlorine!!

```

```

nbp_r_eps 3.74 0.0246706 12 6      #b-M (Met: Mg/Mn)          ### taken from chlorine!!
sol_par 0.00 0.0000                #b atomic fragmental volume, solv. param.
constant 0.000                     #b grid map constant energy
map M.map                           #filename of grid map (MAGNESIUM)
nbp_r_eps 3.70 0.0181874 12 6      #M-C
nbp_r_eps 3.45 0.0187839 12 6      #M-N
nbp_r_eps 3.30 0.0210010 12 6      #M-O --- parameter berechnet nach formel im manual ---
nbp_r_eps 3.70 0.0210010 12 6      #M-S
nbp_r_eps 2.70 0.0066411 12 6      #M-H
nbp_r_eps 4.20 0.0210004 12 6      #M-X (X: Phosphorus in DNA)
nbp_r_eps 3.40 0.0148499 12 6      #M-M (Met: Mg/Mn)
sol_par 0.00 0.0000                #M atomic fragmental volume, solv. param.
constant 0.000                     #M grid map constant energy
elecmap e.map.remove               #electrostatic potential map
dielectric -0.1146                 #<0,distance-dep.diel; >0,constant
#fmap f.map                         #floating grid

```

Anmerkung: Die C-, b und M-maps (für die Atome Cl, Br und Mg) wurden für die durchgeführten Versuche nicht benötigt.

8.4.6 Koordinaten der Gitterzentren

	X	Y	Z
CD 1	14,249	0,669	0,821
CD 2	14,397	0,679	0,483
CD 3	20,243	6,518	3,107
CD 4	16,800	2,400	2,000
CD 5	14,912	0,528	1,147
CD 6	19,566	7,294	2,413
CD 7	20,174	7,312	2,075
CD 8	20,564	7,200	2,125
CD 9	17,768	2,036	2,006
CD 10	16,709	2,265	1,671

8.4.7 Konizität

Abstände zwischen den C2-Atomen [Å]										
	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Distanz 1	5,24	5,16	5,38	5,75	5,77	5,14	5,13	5,13	5,05	5,00
Distanz 2	5,72	5,90	5,07	5,36	5,51	5,55	6,08	5,48	5,14	5,48
Distanz 3	4,99	5,18	5,52	5,24	5,84	6,03	5,91	5,42	5,45	5,21
Distanz 4	5,70	5,22	5,35	5,75	4,95	5,11	5,30	5,34	5,17	6,24
Distanz 5	5,12	5,31	4,89	5,04	5,55	4,94	5,58	5,16	5,84	5,90
Distanz 6	5,74	5,11	5,81	6,11	5,14	5,82	5,09	4,94	5,06	5,83
Distanz 7	5,51	5,73	5,16	5,10	5,15	5,33	5,20	5,69	5,88	5,36
Summe	38,02	37,61	37,18	38,35	37,91	37,92	38,29	37,16	37,59	39,02
Abstände zwischen den O5-Atomen [Å]										
	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Distanz 1	5,35	4,60	5,36	4,82	5,33	5,73	5,68	5,26	5,77	5,88
Distanz 2	4,73	5,58	5,69	5,39	4,64	5,46	5,66	5,32	5,71	5,01
Distanz 3	5,42	5,44	5,09	4,52	5,76	4,97	4,81	5,44	5,15	5,63
Distanz 4	4,75	5,13	5,98	5,47	4,88	5,80	5,01	5,57	5,61	4,52
Distanz 5	5,37	5,24	5,71	4,94	5,32	5,90	5,68	5,93	5,03	5,13
Distanz 6	5,53	4,60	5,91	5,41	5,67	5,01	5,30	5,07	6,02	5,26
Distanz 7	4,65	5,33	5,30	5,45	5,07	5,47	5,61	5,56	5,09	5,61
Summe	35,8	36,92	39,04	36	36,67	38,34	37,75	38,15	38,38	37,04
Konizität										
$\Sigma\Delta C2/\Sigma\Delta O5$	1,06	1,02	0,95	1,07	1,03	0,99	1,01	0,97	0,98	1,05

8.4.8 Exzentrizität

Abstände zwischen den gegenüberliegenden O-Atomen der glykosidischen Bindungen [Å]										
O _i → O _{i+3}	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Distanz 1	9,91	9,38	9,15	9,00	10,00	9,09	8,99	9,68	10,11	10,34
Distanz 2	9,32	9,45	8,21	8,86	8,47	9,70	9,83	10,21	7,81	10,91
Distanz 3	9,07	9,34	10,49	9,77	9,28	8,48	8,17	7,70	9,78	7,86
Distanz 4	9,70	9,19	10,93	9,43	9,87	7,68	7,85	9,27	10,02	9,72
Distanz 5	9,68	9,72	7,96	8,52	9,10	8,74	10,07	9,94	9,13	11,24
Distanz 6	8,87	9,67	9,53	9,87	8,44	7,64	8,76	8,86	8,31	9,44
Distanz 7	9,50	9,08	10,83	9,87	9,71	10,19	7,75	7,71	10,18	8,14
σ	0,37	0,23	1,22	0,54	0,64	0,96	0,92	1,02	0,95	1,3

8.4.9 Werte für die minimale Freie Bindungsenthalpie

ΔG _{Bind,min} [kJ/mol]										
Ungeladene Wirkstoffe	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Felbinac	-22,97	-24,94	-25,65	-24,27	-27,07	-26,36	-27,41	-27,28	-25,77	-24,27
Fenbufen	-23,60	-26,11	-25,10	-24,43	-24,69	-26,11	-29,62	-27,74	-25,98	-23,56
(S)-Naproxen	-24,18	-27,20	-27,20	-26,49	-27,57	-27,70	-28,20	-27,95	-26,94	-24,18
(R)-Flurbiprofen	-25,06	-27,20	-27,70	-26,23	-29,46	-27,66	-29,37	-31,09	-27,53	-26,19
(S)-Flurbiprofen	-24,48	-25,86	-27,87	-26,82	-29,41	-27,45	-28,45	-29,87	-27,91	-25,94
(R)-Ketoprofen	-24,06	-26,48	-26,78	-27,03	-26,57	-28,37	-31,97	-30,42	-27,74	-25,65
(S)-Ketoprofen	-24,35	-25,77	-26,53	-26,19	-27,57	-28,83	-31,38	-29,37	-28,66	-24,44
(R)-Ibuprofen	-20,46	-22,38	-21,76	-21,97	-23,89	-24,27	-26,86	-25,44	-22,43	-21,34
(S)-Ibuprofen	-20,13	-22,97	-22,34	-22,80	-24,56	-23,56	-25,73	-25,10	-22,59	-21,34
Deprotonierte Wirkstoffe	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10
Felbinac	-22,84	-24,10	-24,69	-23,64	-24,64	-25,56	-26,86	-26,82	-24,85	-23,35
Fenbufen	-23,64	-24,06	-24,64	-23,97	-24,98	-26,44	-29,50	-26,94	-26,23	-24,02
(S)-Naproxen	-23,26	-24,77	-26,23	-24,64	-25,73	-27,53	-27,11	-27,70	-26,28	-23,43
(R)-Flurbiprofen	-24,64	-25,36	-26,57	-25,48	-26,61	-27,24	-28,37	-28,62	-26,99	-24,94
(S)-Flurbiprofen	-24,56	-25,61	-26,40	-25,86	-26,40	-27,03	-28,07	-29,66	-27,36	-24,89
(R)-Ketoprofen	-23,64	-25,23	-25,48	-25,56	-25,90	-28,45	-29,58	-30,50	-27,78	-25,69
(S)-Ketoprofen	-23,68	-24,64	-25,40	-25,15	-26,19	-27,49	-30,54	-29,00	-27,82	-27,73
(R)-Ibuprofen	-20,00	-20,88	-21,42	-21,13	-21,76	-23,47	-25,40	-23,97	-21,59	-21,59
(S)-Ibuprofen	-20,08	-20,46	-21,84	-21,09	-21,63	-24,23	-25,19	-24,43	-21,67	-21,67

8.4.10 Bevorzugte Orientierungen der Gastmoleküle

Für jedes Gastmolekül ist die Orientierung der Komplexe mit der niedrigsten Freien Bindungsenthalpie für die zehn verschiedenen Cyclodextrine angegeben. Zudem ist die Orientierung des energetisch insgesamt günstigsten Komplexes sowie das zugehörige Cyclodextrin aufgeführt. Die Einteilung erfolgt in sechs grundlegende Orientierungen. Für bestimmte Gastmoleküle zusätzlich auftretende Orientierungen werden gesondert aufgeführt.

- Orientierung 1: Säuregruppe des Gastes zeigt in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes und liegt auf Höhe der sekundären Hydroxylgruppen
- Orientierung 2: siehe Orientierung 1, allerdings ragt die Säuregruppe weiter aus dem Cyclodextrin hinaus
- Orientierung 3: siehe Orientierung 1, allerdings ist die Säuregruppe in das Cyclodextrin hineinverschoben
- Orientierung 4: Säuregruppe des Gastes zeigt in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes und liegt auf Höhe der primären Hydroxylgruppen
- Orientierung 5: siehe Orientierung 4, allerdings ragt die Säuregruppe weiter aus dem Cyclodextrin hinaus
- Orientierung 6: siehe Orientierung 4, allerdings ist die Säuregruppe in das Cyclodextrin hineinverschoben

Felbinac

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	5	2	4	4	1	4	1	2	2	4 (CD 7)
deprotoniert	4	4	4	5	5	1	1	4	4	1	1 (CD 7)

Fenbufen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	1	1	1	6	2	5	2	5	1	5 (CD 7)
deprotoniert	5	1	1	1	5	2	5	2	5	5	5 (CD 7)

Zusätzlich beobachtete Orientierungen:

- sowohl Säuregruppe als auch Biphenylgerüst ragen auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppenrandes hinaus
- wie Orientierung 5, allerdings liegt Gastmolekül fast außerhalb des Cyclodextrins

(S)-Naproxen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	2	4	6	6	4	2	4	2	2	2 (CD 7)
deprotoniert	5	5	5	2	5	4	5	4	4	1	4 (CD 8)

Zusätzlich beobachtete Orientierungen:

- Gastmolekül liegt nahezu komplett außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppensaumes, Säuregruppe zeigt in die Mitte der Kavität
- Gastmolekül liegt nahezu komplett außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppensaumes, Methoxygruppe zeigt in die Mitte der Kavität

(R)-Flurbiprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	4	2	6	6	4	6	4	2	2	4 (CD 8)
deprotoniert	4	4	1	4	6	2	6	4	2	1	4 (CD 8)

Zusätzlich beobachtete Orientierung:

- Säuregruppe des Gastes zeigt prinzipiell in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes, allerdings ist das Gastmolekül kaum eingeschlossen

(S)-Flurbiprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	2	1	6	6	2	4	4	2	1	4 (CD 8)
deprotoniert	4	2	2	2	6	2	2	4	4	6	4 (CD 8)

Zusätzlich beobachtete Orientierungen:

- Säuregruppe des Gastes zeigt prinzipiell in Richtung des primären Hydroxylgruppenrandes, allerdings ist das Gastmolekül kaum eingeschlossen
- Säuregruppe des Gastes zeigt prinzipiell in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes, allerdings ist das Gastmolekül kaum eingeschlossen

(R)-Ketoprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	2	1	2	2	x^2	2	1	4	1	x^1	1 (CD 7)
deprotoniert	4	6	5	2	x^2	2	5	4	4	x^1	4 (CD 8)

Zusätzlich beobachtete Orientierungen:

- Säuregruppe des Gastes zeigt in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes, ein Benzolring der Benzophenongrundstruktur liegt außerhalb des Cyclodextrinmoleküls, so dass sich eine gebogene Struktur des Wirkstoffmoleküls ergibt (x^1)
- Gastmolekül liegt nahezu komplett außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppensaumes (x^2)
- Gastmolekül liegt nahezu komplett außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des primären Hydroxylgruppenrandes

(S)-Ketoprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	x^1	4	x^1	x^2	1	4	4	4	1	4 (CD 7)
deprotoniert	6	5	6	1	x^2	2	4	5	x^2	x^2	5 (CD 7)

Zusätzlich beobachtete Orientierungen:

- Säuregruppe des Gastes zeigt in Richtung des sekundären Hydroxylgruppenrandes, ein Benzolring der Benzophenongrundstruktur liegt außerhalb des Cyclodextrinmoleküls, so dass sich eine geknickte Struktur des Wirkstoffmoleküls ergibt (x^1)
- Gastmolekül liegt nahezu außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des sekundären Hydroxylgruppensaumes (x^2)
- Gastmolekül liegt nahezu außerhalb des Cyclodextrinmoleküls auf der Seite des primären Hydroxylgruppenrandes

(R)-Ibuprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	1	1	6	1	6	4	4	4	4	1	4 (CD 7)
deprotoniert	6	2	6	1	6	4	6	1	6	1	6 (CD 7)

Zusätzlich beobachtete Orientierung:

- Gastmolekül liegt auf Seite des sekundären Hydroxylgruppenrandes, ist aber kaum eingeschlossen

(S)-Ibuprofen

	CD 1	CD 2	CD 3	CD 4	CD 5	CD 6	CD 7	CD 8	CD 9	CD 10	Orientierung des energetisch günstigsten Komplexes
ungeladen	6	1	3	6	6	1	1	4	6	4	1 (CD 7)
deprotoniert	6	1	6	1	4	4	1	1	6	4	1 (CD 7)

Zusätzlich beobachtete Orientierung:

- Gastmolekül liegt auf Seite des sekundären Hydroxylgruppenrandes, ist aber kaum eingeschlossen

8.4.11 Bestimmung des Flächenverlustes

Gastmolekül	Komplex (Docking)				Komplex (MD-Simulation)			
	ASA _{Komplex}	ASA _{CD}	ASA _{Gast}	A _{Verlust}	ASA _{Komplex}	ASA _{CD}	ASA _{Gast}	A _{Verlust}
Deprotoniert								
Felbinac	1079,4618	1158,1158	434,5046	513,1587	1076,4369	1144,0490	438,2588	505,8708
Fenbufen	1099,7411	1158,1158	492,6155	550,9903	1100,0011	1123,1295	500,6456	523,7740
(R)-Flurbiprofen	1086,7939	1159,3339	463,4932	536,0334	1125,3988	1182,7676	455,7288	513,0975
(S)-Flurbiprofen	1085,9410	1159,3339	466,6626	540,0554	1096,9122	1159,9850	457,5480	520,6208
(R)-Ibuprofen	1094,9812	1158,1158	444,4618	507,5964	1096,2384	1204,5295	434,2574	542,5486
(S)-Ibuprofen	1074,6395	1158,1158	441,0459	524,5223	1087,4634	1162,5803	451,9969	527,1138
(R)-Ketoprofen	1093,2563	1159,3339	483,5732	549,6506	1092,6934	1150,3070	476,0765	533,6901
(S)-Ketoprofen	1091,3768	1158,1158	486,9002	553,6392	1161,4952	1199,1829	484,7093	522,3969
(S)-Naproxen	1090,5555	1159,3339	452,8824	521,6606	1111,5101	1163,4263	447,7364	499,6526
Freie Säure								
Felbinac	1099,7844	1158,1158	438,5156	496,8470	1085,9985	1151,3859	442,1015	507,4888
Fenbufen	1100,3619	1158,1158	497,2545	555,0084	1117,0757	1196,8197	498,6415	578,3856
(R)-Flurbiprofen	1085,5243	1159,3339	465,5681	539,3777	1093,7609	1164,8207	465,4451	536,5049
(S)-Flurbiprofen	1084,6279	1159,3339	468,5506	543,2565	1086,9094	1158,5874	451,1840	522,8619
(R)-Ibuprofen	1075,9012	1158,1158	443,7288	525,9434	1077,2498	1175,2646	445,0738	543,0887
(S)-Ibuprofen	1076,2256	1158,1158	449,9571	531,8474	1078,8026	1148,6294	441,7772	511,6039
(R)-Ketoprofen	1087,8600	1158,1158	481,5083	551,7642	1105,2936	1168,9052	479,9830	543,5946
(S)-Ketoprofen	1094,6919	1158,1158	486,1009	549,5248	1107,8431	1175,626	477,5846	545,3630
(S)-Naproxen	1088,5748	1158,1158	448,1113	517,6523	1065,5728	1158,9003	439,3112	532,6387

Anmerkung: $A_{\text{Verlust}} = ASA_{\text{CD}} + ASA_{\text{Gast}} - ASA_{\text{Komplex}}$

8.4.12 Berechnung zur Beurteilung der Stabilität

Gastmolekül	Relativer Flächenverlust (Docking)	Relativer Flächenverlust (MD-Simulation)	Stabilität
Deprotonierte Gastmoleküle			
Felbinac	0,3222	0,3197	0,9922
Fenbufen	0,3338	0,3226	0,9664
(R)-Flurbiprofen	0,3303	0,3132	0,9481
(S)-Flurbiprofen	0,3321	0,3219	0,9691
(R)-Ibuprofen	0,3167	0,3311	1,0452
(S)-Ibuprofen	0,3280	0,3265	0,9953
(R)-Ketoprofen	0,3346	0,3281	0,9808
(S)-Ketoprofen	0,3366	0,3102	0,9218
(S)-Naproxen	0,3236	0,3101	0,9584
Freie Säure			
Felbinac	0,3112	0,3185	1,0234
Fenbufen	0,3353	0,3411	1,0175
(R)-Flurbiprofen	0,3319	0,3291	0,9914
(S)-Flurbiprofen	0,3337	0,3248	0,9733
(R)-Ibuprofen	0,3283	0,3352	1,0208
(S)-Ibuprofen	0,3307	0,3217	0,9726
(R)-Ketoprofen	0,3365	0,3297	0,9797
(S)-Ketoprofen	0,3342	0,3299	0,9870
(S)-Naproxen	0,3223	0,3333	1,0341

8.5 Untersuchung fester Komplexzubereitungen

8.5.1 DTA

8.5.1.1 Korrekturfaktoren

Die verwendeten Korrekturfaktoren wurden von C. Raffauf bestimmt.

Temperaturkoeffizienten			Empfindlichkeitskoeffizienten		
	Gerät 1	Gerät 2		Gerät 1	Gerät 2
B0	-3,36631	1,17303	A0	1,79738	5,86145
B1	0,0217303	$2,19218 \cdot 10^{-3}$	A1	0,086793	0,0285374
B2	-0,0337674	0,147049	A2	$-3,79454 \cdot 10^{-4}$	$-1,54921 \cdot 10^{-4}$
B3	0	$-7,10918 \cdot 10^{-3}$	A3	$4,49278 \cdot 10^{-7}$	$1,91593 \cdot 10^{-7}$
			A4	0	0

8.5.1.2 Prozesse

Fenbufen			Felbinac		
Gerät: DTA 2			Gerät: DTA 2		
Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]	Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]
Zone 1			Zone 1		
30 – 30	120		30 - 30	120	
Zone 2			Zone 2		
30 – 90	360	10	30 – 90	360	10
90 – 90	1200		90 – 90	1200	
90 – 170	960	5	90 – 150	720	5
170 – 170	60		150 – 150	60	
170 – 210	2400	1	150 – 190	2400	1
210 – 210	60		190 – 190	60	
210 – 230	240	5	190 – 230	480	5
230 – 230	60		230 – 230	60	
230 – 30	1200	-10	230 – 30	1200	-10
Zone 3			Zone 3		
30 - 30	600		30 - 30	600	

Ketoprofen			Flurbiprofen		
Gerät: DTA 2			Gerät: DTA 2		
Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]	Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]
Zone 1			Zone 1		
30 – 30	120		30 - 30	120	
Zone 2			Zone 2		
30 – 80	300	10	30 – 90	360	10
80 – 80	2400		90 – 90	1200	
80 – 120	2400	1	90 – 130	2400	1
120 – 120	60		130 – 130	60	
120 – 230	1320	5	130 – 230	1200	5
230 – 230	60		230 – 230	60	
230 – 30	1200	-10	230 – 30	1200	-10
Zone 3			Zone 3		
30 - 30	600		30 - 30	600	

Naproxen			Ibuprofen		
Gerät: DTA 2			Gerät: DTA 1		
Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]	Temperaturanstieg [°C]	Dauer [s]	Heizrate [K/min]
Zone 1			Zone 1		
30 – 30	120		30 - 30	120	
Zone 2			Zone 2		
30 – 90	360	10	30 – 30	60	
90 – 90	1200		30 – 65	1200	10
90 – 130	960	5	65 – 65	720	
130 – 130	60		65 – 110	60	1
130 – 170	2400	1	110 – 110	2400	
170 – 170	60		110 – 230	60	10
170 - 230	240	5	230 – 230	480	
230 – 230	60		230 – 30	60	-10
230 – 30	1200	-10	30 – 30	1200	
Zone 3					
30 - 30	600				

8.5.1.3 Bestimmung des eingeschlossenen Wirkstoffanteils

Die Bestimmung der Schmelzenthalpie der Komplexzubereitungen wurde mindestens zweimal durchgeführt. Zusätzlich wurde jeweils einmal die physikalische Mischung untersucht. Zeigten die Komplexzubereitungen keinen Schmelzpeak, so wurden mit der physikalischen Mischung keine weiteren Bestimmungen durchgeführt. Konnte die Fläche der Schmelzpeaks jedoch bestimmt werden, so wurde ein zusätzlicher Versuch mit der Komplexzubereitung durchgeführt und eine Kalibriergerade mit Hilfe der physikalischen Mischung (PM) aus mindestens drei Messungen erstellt. In diese wurden die Flächen der Schmelzpeaks der Komplexzubereitungen eingesetzt, und so die noch detektierte Wirkstoffmasse berechnet.

Anmerkung: Da bei der Herstellung der Komplexe teilweise nur eine begrenzte Ausbeute erzielt werden konnte, musste in einigen Fällen auf weitere Versuche verzichtet werden. Sie sind gekennzeichnet mit dem Kürzel n. g. s. (nicht genügend Substanz).

Ibuprofen

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	13,6	18,5	18,2	17,3	13,7	13,5
Wirkstoffgehalt PM [%]	13,7	18,4	18,2	17,2	13,6	13,5
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,1395x- 0,0226	y=0,1722x+ 0,0699				y=0,1445x +0,0253
R²	0,9492	0,9909				0,977
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	21,665	24,843	11,716	11,966	15,343	7,073
Peakfläche 1	0,0764	0,0786	0	0	0	0,0040
Einwaage 2 [mg]	15,101	33,875	16,567	9,715	10,62	11,581
Peakfläche 2	0,0574	0,079	0	0	0	0,0053
Einwaage 3 [mg]	17,81	18,8				n. g. s.
Peakfläche 3	0,0851	0,0784				
Detektierter Wirkstoffanteil [%]	14,6	19,1	0	0	0	17,4
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	85,4	80,9				82,6
n	3	3				2
σ [%]	3,41	5,5				5,4

Ketoprofen

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	17,5	17,0	16,8	16,7	15,2	15,6
Wirkstoffgehalt PM [%]	17,5	17,2	16,9	16,7	15,2	15,6
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,0914x- 7·10 ⁻⁵	y=0,097x+0,006	y=0,0842 x+0,0196	y=0,0778 x+0,0106		
R²	0,9999	0,9979	0,9904	0,9967		
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	7,297	20,575	15,179	12,798	12,504	14,519
Peakfläche 1	0,0376	0	0,0149	0,0281	0	0
Einwaage 2 [mg]	7,522	20,423	8,779	5,976	9,397	6,655
Peakfläche 2	0,0600	0,0687	0,0097	0,0139	0	0
Einwaage 3 [mg]	12,447	38,977	6,653	4,852		
Peakfläche 3	0,0737	0,1492	0,0072	0,0102		
Detektierter Wirkstoffanteil [%]	39,6	15,4	22,7	29,3	0	0
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	60,4	84,6	77,3	70,7		
n	3	3	3	3		
σ [%]	9,1	13,4	6,3	5,2		

Naproxen

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	14,8	13,4	12,9	11,1	5,6	5,7
Wirkstoffgehalt PM [%]	14,8	13,4	12,9	11,2	5,7	5,7
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,0723x- 0,0153	y=0,0816x- 0,002	y=0,0735x- 0,0024	y=0,0855x +0,0058		
R²	0,9772	0,9979	0,9999	0,9971		
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	11,874	24,251	9,532	12,896	11,587	13,896
Peakfläche 1	0,2125	0,0716	0,0326	0,0585	0	0
Einwaage 2 [mg]	17,899	30,311	13,578	12,797	9,298	13,104
Peakfläche 2	0,2900	0,0884	0,0499	0,0575	n. a. (x ³)	0
Einwaage 3 [mg]	11,77	28,612	10,663	13,291		
Peakfläche 3	0,1971	0,0650	0,0377	0,0583		
Detektierter Wirkstoffanteil [%]		28,2	35,1	51,8	0	0
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	n.a. (x ¹)	71,8	64,9	48,2		
n		3 (x ²)	3	3		
σ [%]		9,3	1,7	0,9		

x¹: Nicht auswertbar, da sich ein eingeschlossener Wirkstoffanteil von mehr als 100 % ergeben würde.

x²: Es wurden 4 Versuche durchgeführt, da sich die Form des ersten Schmelzpeaks von den Folgenden unterschied. Zur Auswertung wurden die drei Versuche herangezogen, die gleichartige Schmelzpeaks aufwiesen.

x³: Aufgrund der Form des Schmelzpeaks nicht auswertbar.

Flurbiprofen

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	15,7	17,3	13,3	13,9	10,0	9,5
Wirkstoffgehalt PM [%]	15,7	17,2	13,3	14,2	10,0	9,4
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,105x- 0,0009			y=0,0494 x+0,0042		
R²	0,9958			0,9934		
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	10,314	7,419	4,385	6,384	10,230	12,571
Peakfläche 1	0,0436	0	0,0018 (x ²)	0,0222	0	0
Einwaage 2 [mg]	11,409	15,781	1,416	3,246	8,353	11,08
Peakfläche 2	0,0572	0,0013 (x ²)	0	0,0082	0	0
Einwaage 3 [mg]	14,516			0,857		
Peakfläche 3	0,0624			0		
Detektierter Wirkstoffanteil [%]	26,9			57,9	0	0
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	73,1			42,1 (x ¹)		
n	3			2		
σ [%]	2,6			3,2		

x¹: wurde nur aus den ersten zwei Werten berechnet, da beim dritten die Einwaage sehr gering war, und somit nicht repräsentativ war

x²: keine Kalibriergerade erstellt, da Werte sehr niedrig sind, und Peaks schwierig auszuwerten waren

Felbinac

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	11,2	14,3	10,4	8,8	5,0	5
Wirkstoffgehalt PM [%]	11,3	14,0	10,4	8,8	5,0	5
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,0979x+1, 5·10 ⁻³				y=0,0178 x-0,0011	
R²	0,9968				0,9940	
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	21,859	9,9993	13,534	14,108	12,653	10,482
Peakfläche 1	0,0795	0	n. a. (x ¹)	0	0,0017	0
Einwaage 2 [mg]	19,483	33,84	5,243	14,562	11,617	11,522
Peakfläche 2	0,0558	0	0	0	0	0
Einwaage 3 [mg]	28,929				n. g. s.	
Peakfläche 3	0,0946					
Detektierter Wirkstoffanteil [%]	30,3	0	0	0	2,7	0
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	69,7				97,3	
n	3				2	
σ [%]	3,5				3,8	

x¹: aufgrund Peakgröße und -form nur schwierig auswertbar

Fenbufen

	Knetmethode	Kopräzipitation	Gefriertrocknung			
			Suspension		Lösung (Filtrat)	
			N ₂	GF	N ₂	GF
Wirkstoffgehalt Komplex [%]	15,4		9,9	7,1	1,1	1,2
Wirkstoffgehalt PM [%]	15,4	14,3	9,9	6,8	1,1	1,2
Kalibriergerade y=Peakfläche x=reine Wirkstoffmasse [mg]	y=0,1164x- 7,4·10 ⁻³	y=0,1139x- 0,0006	y=0,0389 x-0,0029	y=0,0781 x-0,0043		
R²	0,9949	0,9936	0,9727	0,9592		
Untersuchung d. Komplexes						
Einwaage 1 [mg]	12,196	19,139	10,912	11,669		10,526
Peakfläche 1	0,2647	0,0441	0,0078	0,0057		0
Einwaage 2 [mg]	25,922	16,846	2,795	9,613		8,151
Peakfläche 2	0,5595	0,0344	0,0015	0,0347		0
Einwaage 3 [mg]	19,118	33,203	n. g. s.	n. g. s.		
Peakfläche 3	0,3993	0,0524				
Detektierter Wirkstoffanteil [%]		7,3		29,6		0
Eingeschlossener Wirkstoffanteil [%]	n.a. (x ¹)	92,7	n. a. (x ¹)	70,4	n.a. (x ²)	
n		3		2		
σ [%]		6,5		38,8		

Anmerkung: Werte von Fenbufen insgesamt problematisch auszuwerten, da Schmelzpunkt normalerweise zwischen 186 und 189°C liegt; oft Verbreiterungen oder Verschiebungen zu beobachten

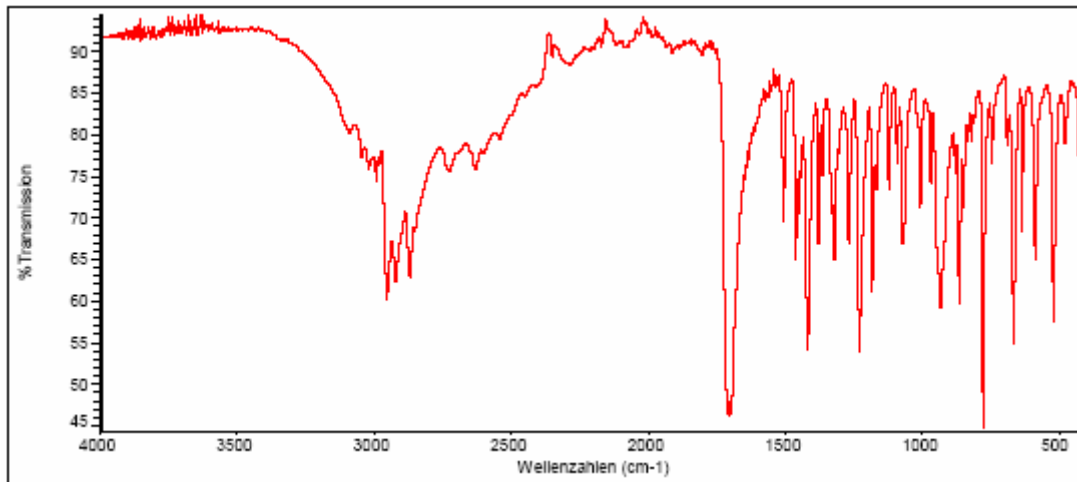
x¹: nicht auswertbar, da sich ein eingeschlossener Wirkstoffanteil von mehr als 100 % ergeben würde

x²: nicht auswertbar, siehe allgemeine Anmerkung

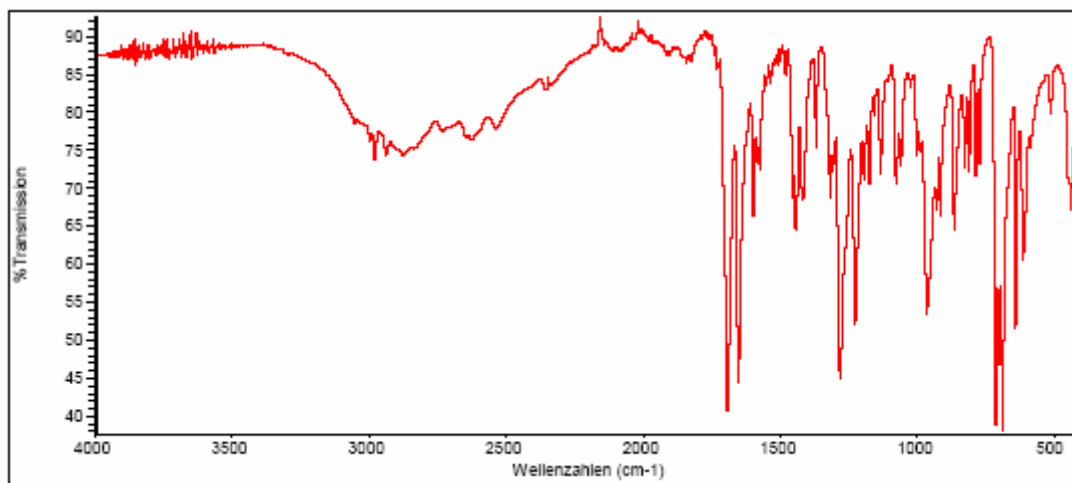
8.5.2 FT-IR

8.5.2.1 Spektren der Reinsubstanzen

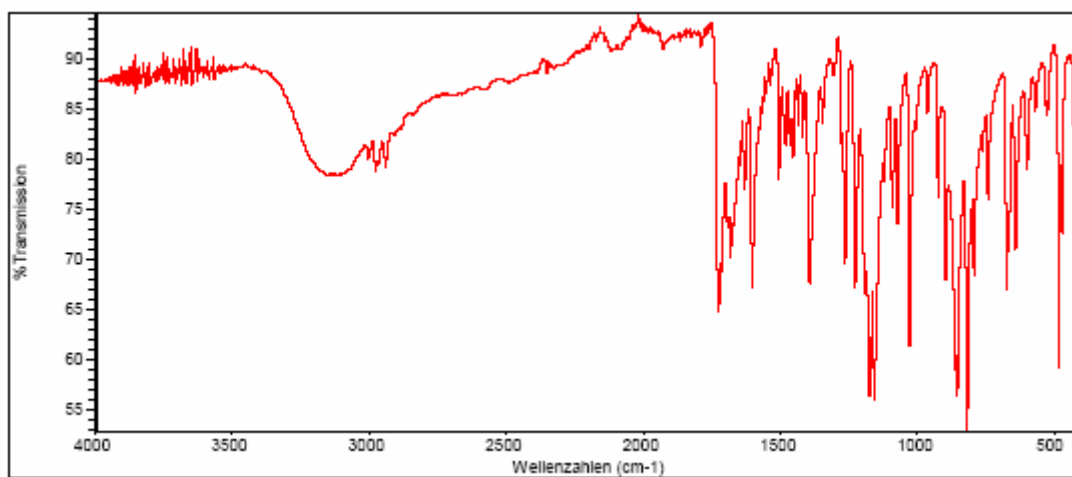
Ibuprofen

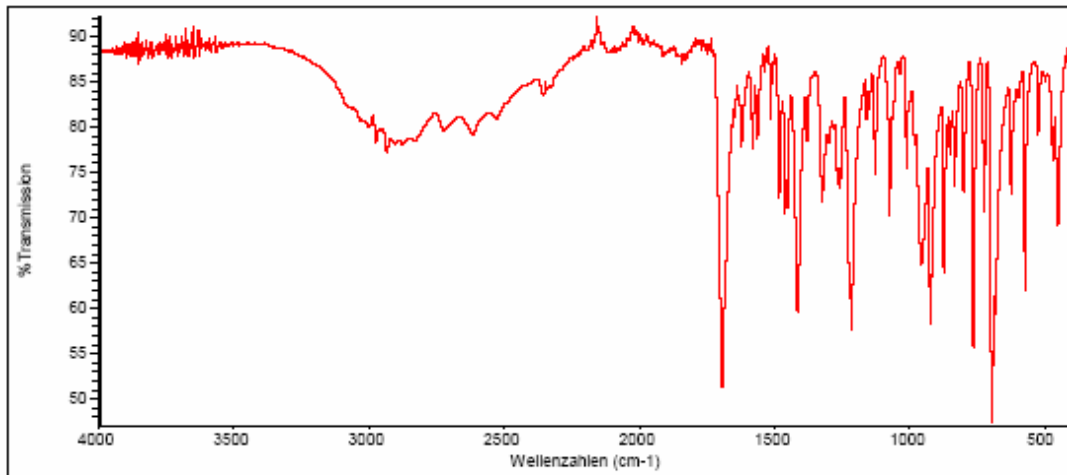
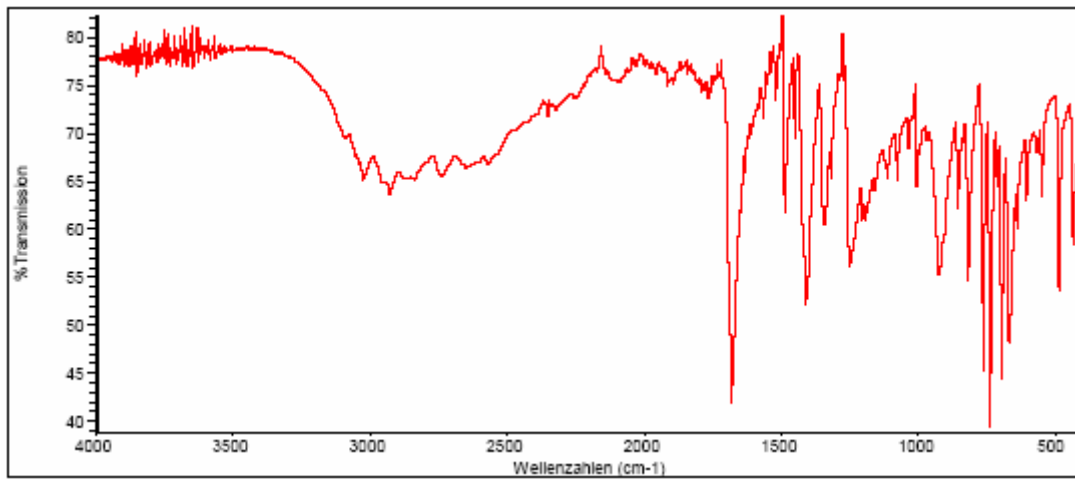
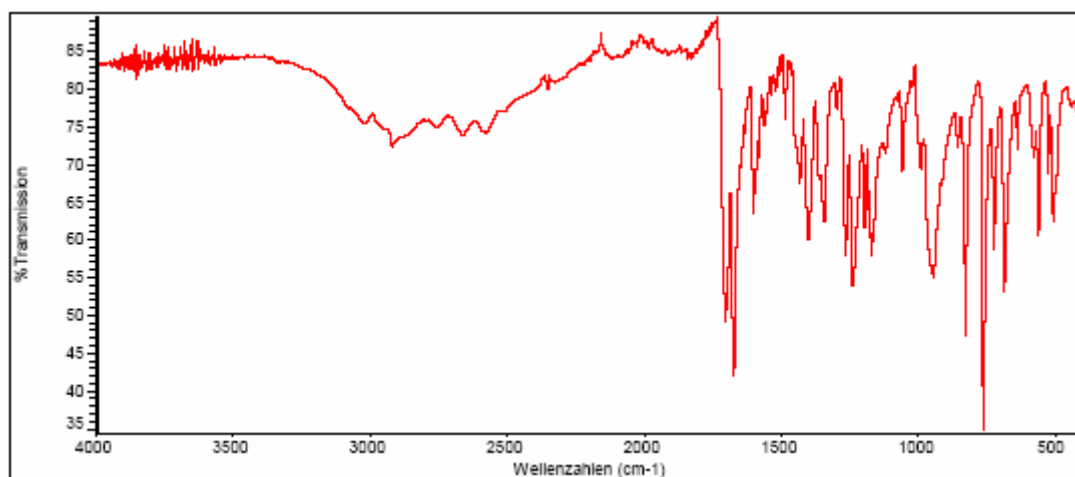


Ketoprofen



Naproxen



Flurbiprofen**Felbinac****Fenbufen**

8.5.2.2 Signalzuordnung

Ibuprofen

Die Zuordnung der Signale erfolgte, außer für den Fall, dass eine andere Literaturstelle angegeben ist, nach [174].

Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
2991	ν CH ₃ (Rest 2)
2879	ν CH ₂
2869	ν C-H (Rest 2)
1704	ν C=O
1508	ν C-C (zwischen Aromat und aliphatischen Resten)
1460	δ CH ₃ (Rest 1)
1450	δ CH ₃ (Rest 2)
1415	δ C-C-H (Aromat-Rest 1), τ CH ₂ , ν C-C
1377	δ CH ₃ (Rest 1)
1366	δ C-H (Rest 1), ν C-C-O
1320	δ C-H (Rest 1), CO-H in-plane
1265	δ C-H (Rest 1), CO-H in-plane
1230	CO-H in-plane
1182	γ (CH-CH ₃), γ CH ₂ [175]
1167	CH in-plane, ν C-C (Aromat-Rest 1)
1123	ν C-O, CO-H in-plane
1091	ρ CH ₃ (Rest 2), ν (C-Atome von Rest 2)
1073	τ CH ₂ , ρ CH ₃ (Rest 1 u. 2), ν C-H (Rest 2)
1068	τ CH ₂ , ρ CH ₃ (Rest 1)
1008	CH in-plane
969	ρ CH ₃ (Rest 1), ν C-C-C (Rest 1)
934/944	H-C-C-H out of phase (Aromat), ρ CH ₃ (Rest 2), δ CO-H
880	ρ CH ₂ , ρ CH ₃ (Rest 2), δ CH (Rest 2)
865	γ CH, ρ CH ₃
778	ρ CH ₃ , γ C-H
690	ν CO-H, ν C-C (Aromat-Rest 1), γ Aromat
636	γ OH
586	γ Aromat, δ C-C-OH
521	γ Aromat, δ CO-H
482	in-plane, δ C-C-OH
421	γ Aromat, δ C(C-C-C) (Rest 2)

Anmerkung:

Rest 1: aliphatischer Rest mit Säuregruppe

Rest 2: Isobutylrest

Ketoprofen

Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
2996	ν CH ₃ [176]
2976	ν C-H [176]
1691	ν C=O (Carboxylgruppe) [156,176]
1652	ν C=O (Ketogruppe) [156,176]
1597	ν C-C (Aromat) [156,176]
1583	ν C-C (Aromat) [156,176]
1574	ν C-C (Aromat) [176]
1480	ν C-C (Aromat), δ CH ₃ [176]
1456	δ CH ₃ [176]
1441	ν C-C (Aromat) [176]
1416	ν C-C (Aromat), δ C-C-H [176]
1368	δ C-C-H [176]
1308	CH in-plane [176]
1281	δ Ring, ν C-C-C [176]
1226	C-O-H in-plane, C-H in-plane [176]
1194	δ Ring, ν C-C [176]
1175	C-H in-plane [176]
1156	C-H in-plane [176]
1133	ν Aromat-C-Aromat (Streckschwingung) [176]
1078	ρ CH ₃ , ν C-CH ₃ , C-O-H in-plane [176]
1060	ρ CH ₃ [176]
1024	C-H in-plane Schwingung [176]
1003	δ Ring [176]
986	γ C-H out-of-plane [176]
966	ρ CH ₃ , Ringdeformation, C-H [176]
928	γ C-H [176]
915	γ C-H [176]
865	C-O-H in-plane Schwingung, ρ CH ₃ [176]
827	γ C-H [176]
810	γ C-H out-of-plane waggingschwingung [176]
786	ρ CH ₃ , γ C-H out-of-plane waggingschwingung [176]
713	γ C-H [176]
702	γ C-H [176]
689	γ C-H [176]
587	C-O-H [176]
514	C-O-H Bindungsschwingung, γ Bindungsschwingung [176]
440	γ Bindungsschwingung [176]

Naproxen

Die Zuordnung der Signale erfolgte, außer für den Fall, dass eine andere Literaturstelle angegeben wurde, nach [177].

Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
2963	δ CH ₃
2938	δ CH ₃
1725	ν C=O
1681	ν C-C (Aromat)
1602	ν C-C (Aromat)
1505	ν C-C (Aromat)
1393	ν C=O
1263	ν C=O
1226*	C-O-H in-plane, C-H in-plane
1192*	δ Ring, ν C-C
1174	C-O-Schwingung
1027	C-O-C-Schwingung
862	C-O-C-Schwingung
854	C-O-C-Schwingung
818*	γ C-H
793*	γ C-H
422*	γ C-H

Anmerkung: * Zuordnung der Signale aufgrund von Querverbindungen zu mindestens einem der anderen untersuchten Moleküle

Flurbiprofen

Die Zuordnung erfolgte nach [178].

Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
2973	ν C-H (Aromat)
2930	ν C-H
1694	ν C=O
1620	ν C-C (Aromat),
1579	ν C-C (Aromat)
1563	ν C-C (Aromat), δ C-H
1513	ν C-C (Aromat), δ C-H, ν C-F
1482	ν C-C (Aromat), δ C-H, ν C-F
1461	δ CH ₃
1452	δ C-H, δ C-O
1414	δ C-H, ν C-F, ν C-C (Aromat),
1378	δ C-OH, δ C-C-H,
1324	ω C-H
1299	ω C-H
1267	ν C-C, ω C-H (Aromat)
1257	δ C-OH, ν C-O, ω C-H (Aromat)
1222	ω C-H
1215	ω C-H, ν C-F
1159	ω C-H (Aromat)
1150	ω C-H (Aromat)
1127	ω C-H (Aromat)
1073	CH ₃ , ν C-C
1062	CH ₃ , δ C-C, ω C-H
1035	δ CH ₃ , γ (O-CO-CH ₃)
1011	γ (O-CO-CH ₃), ω C-C (Aromat)
957	γ (OH...O)
923	δ CH ₃ , δ C-C
873	ρ C-H (Aromat)
851	δ C-H, δ CH ₃
833	γ C-H
800	γ C-H
765*	γ C-H
724	δ C-C, γ C-H (Aromat)
695	δ C-C (Aromat), γ C-H (Aromat)
682	δ CH ₃ , δ COOH
625	δ CH ₃ , γ C-C (Aromat)
597	δ CH ₃ , δ COOH
575	γ C-C (Aromat)
524	γ C-C (Aromat)
471	ρ COOH, γ C-C (Aromat)
453	δ O-CO-CH ₃ , γ C-C (Aromat)

Anmerkung: * Zuordnung der Signale aufgrund von Querverbindungen zu mindestens einem der anderen untersuchten Moleküle

Felbinac

Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
3024*	ν C-H
2954*	ν C-H
2925*	ν C-H
1681*	ν C=O
924*	δ C-C
763*	γ C-H
739*	δ C-C, γ C-H (Aromat)
486*	γ C-H
435*	γ C-H
421*	γ C-H

Anmerkung: * Zuordnung der Signale aufgrund von Querverbindungen zu mindestens einem der anderen untersuchten Moleküle

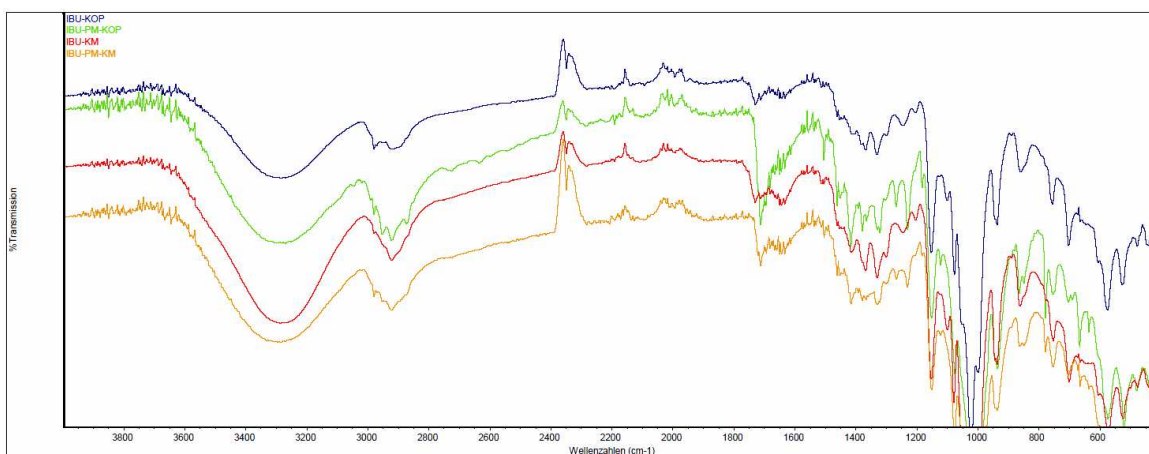
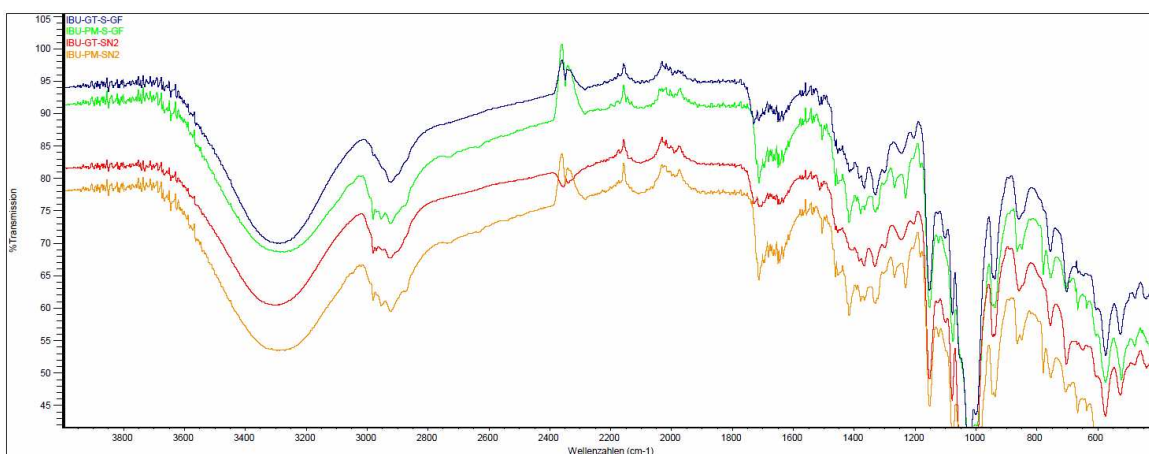
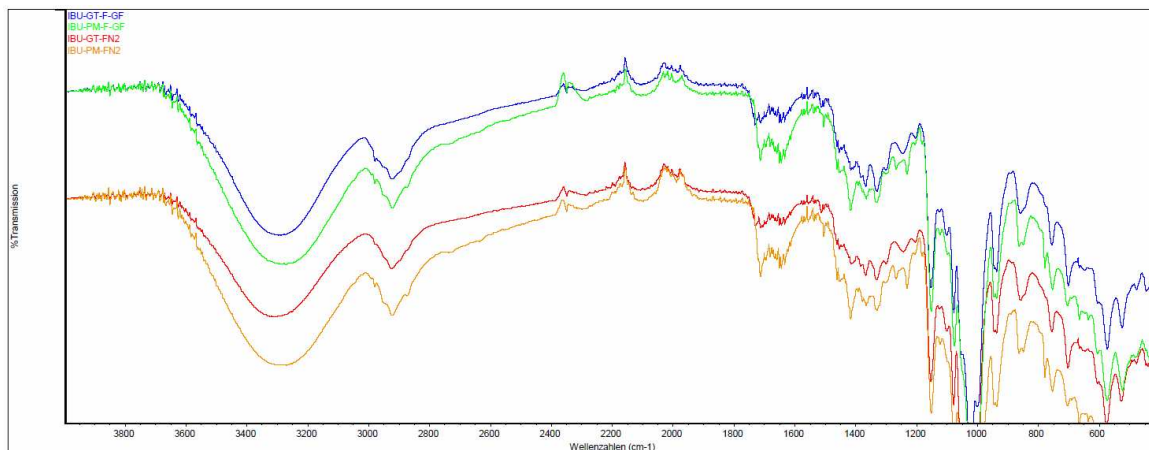
Fenbufen

Die Zuordnung erfolgte nach [179].

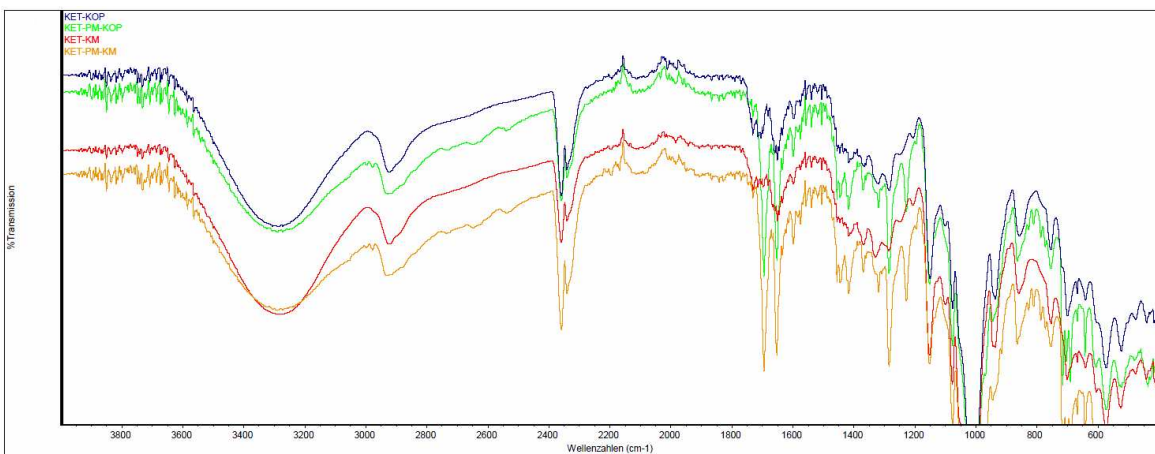
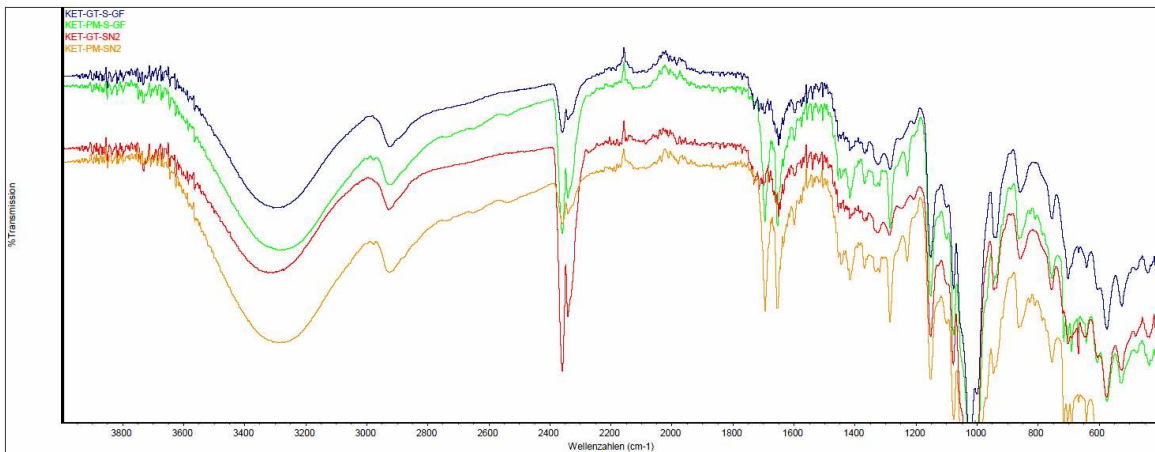
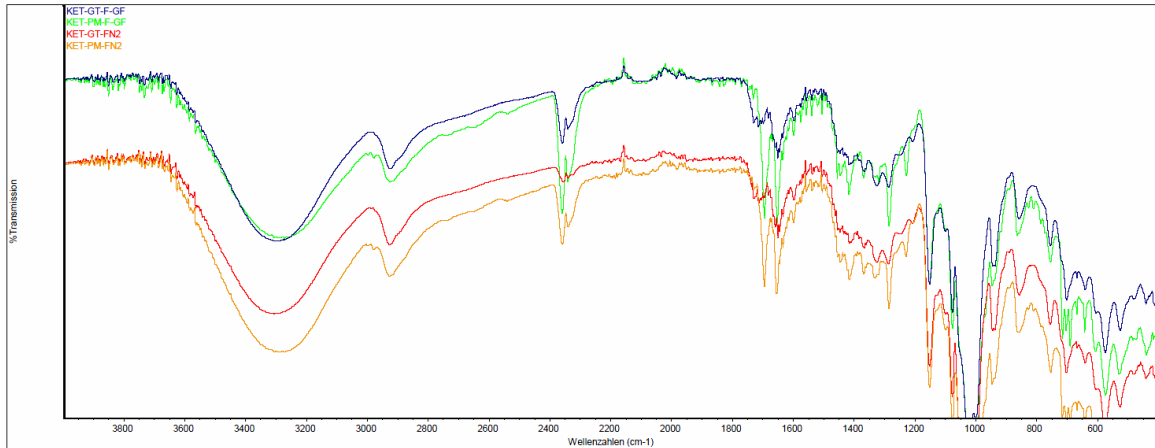
Wellenzahl (cm ⁻¹)	Zuordnung
3021	ν CH
2918	ν CH ₂
1703	ν C=O (Carboxylgruppe)
1671	ν C=O (Carbonylgruppe)
1602	ν C=O (Carbonylgruppe), ν C-C
1581	ν C=O (Carbonylgruppe), ν C-C
1563	ν C-C
1484	ν C-C, δ C-C-H, δ CH ₂
1434	δ CH ₂ , τ H-C-C-H, τ O-C-C-H
1402	δ CH ₂ , δ C-O-H, ν C-C
1362	δ C-C-H
1342	δ C-O-H, δ C-C-H
1298	δ CH ₂ , δ C-C-C, ν Aromat-C
1265	κ CH ₂ , ν Aromat-C
1238	τ CH ₂ , δ C-O-H
1197	ν C-C, δ C-C-H
1182	ν C-C, δ C-C-H
1172	ν C-C, ν Aromat-C
1163	δ C-C-H, ν Aromat-C
1120	ν C-C, δ C-C-H
1076	δ C-C-C, τ CH ₂
1058	τ CH ₂ , δ C-C-H
1024	ν C-C-C, ν C-C, ν C-O
991	τ C-C-C-H, ν C-C (Kette)
951/943	τ H-C-C-H, ν C-C (Kette)
856	τ C-C-C-H, τ H-C-C-H
826	τ C-C-C-H, δ CH ₂
763	τ C-C-C-H
723	τ C-C-C-C, δ CH ₂ , τ HOC=O
687	τ C-C-C-H, δ C-C-C, δ O-C=O
579	τ C-C-OH, τ HOC=O
561	δ C-O-H
526	δ O-C=O, τ C-C-C-H
507	τ C-C-C-H, τ H-O-C-C, τ C-C-C

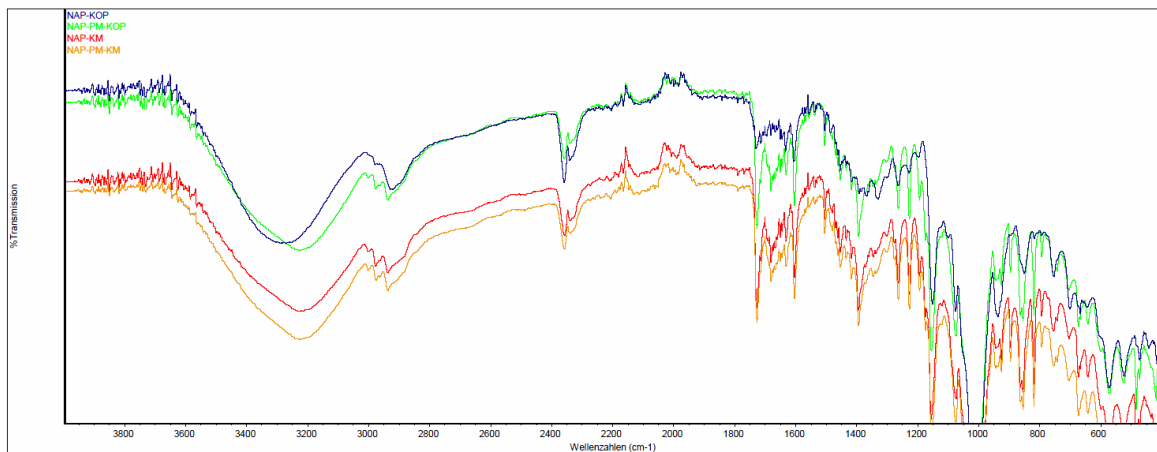
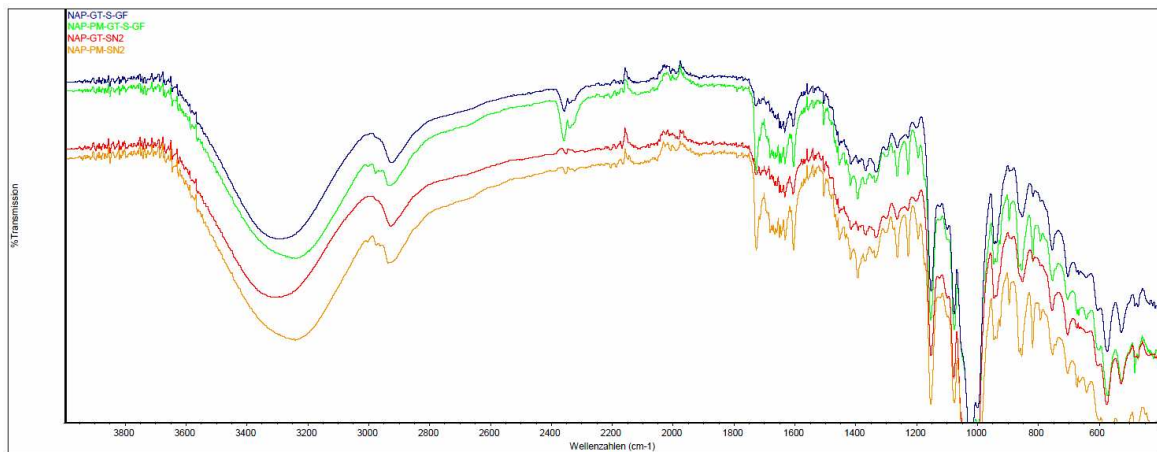
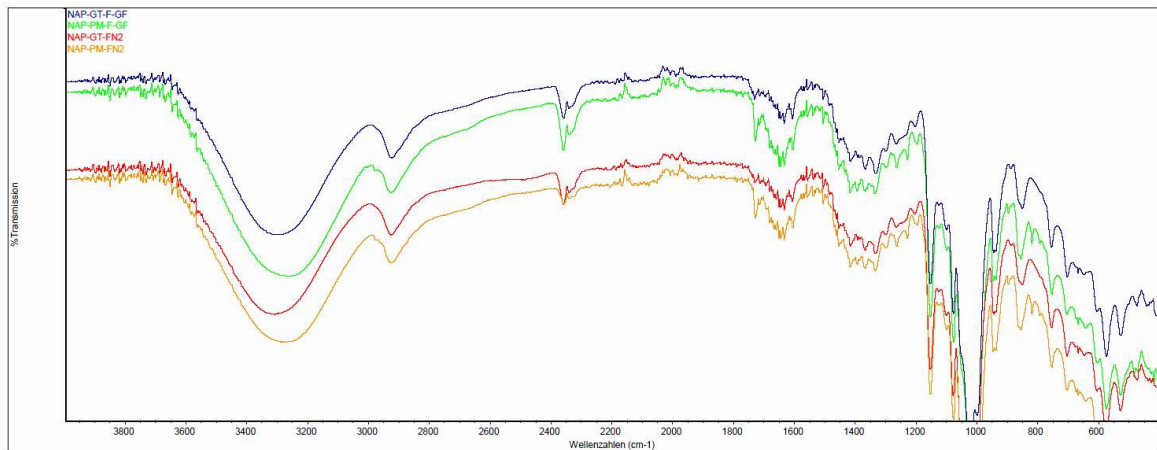
8.5.2.3 FT-IR-Spektren der Komplexe und ihrer physikalischen Mischungen

Ibuprofen

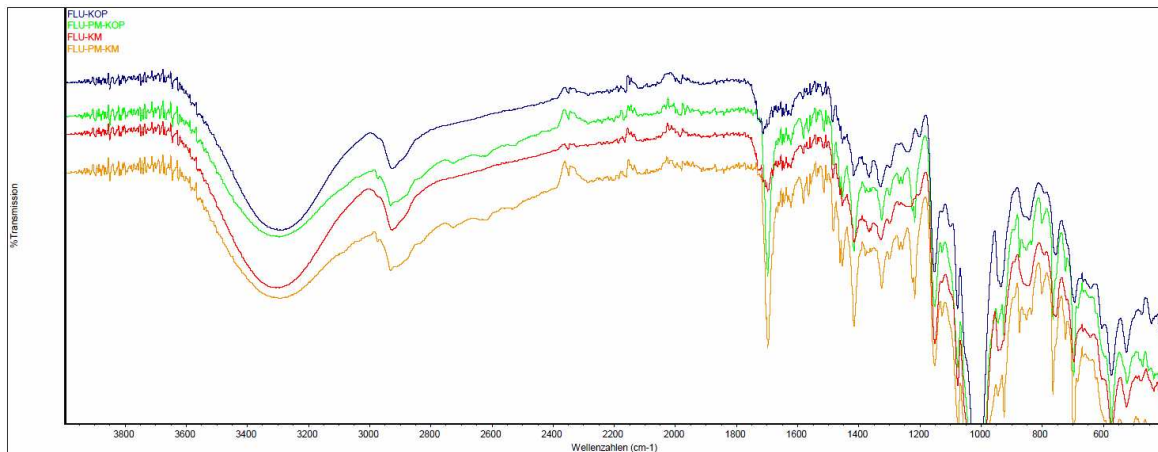
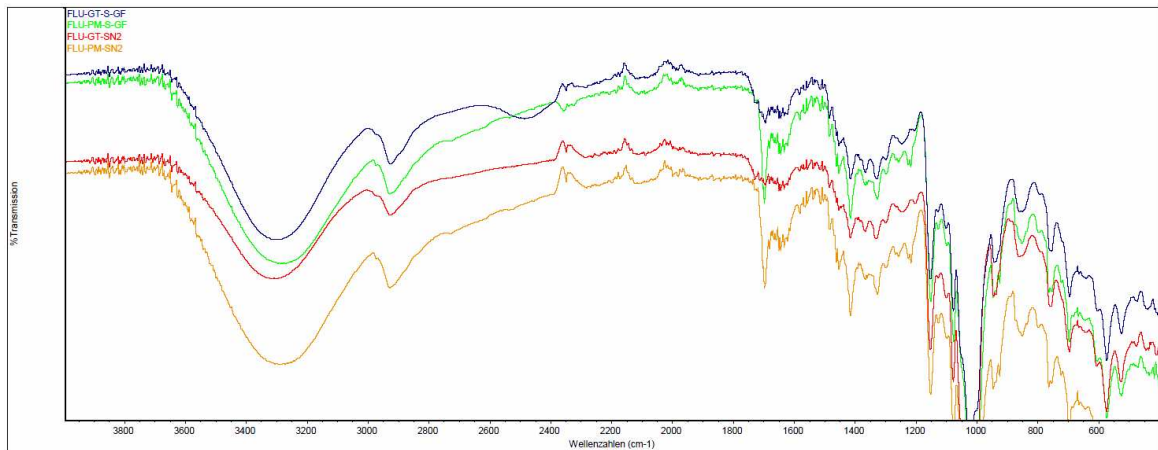
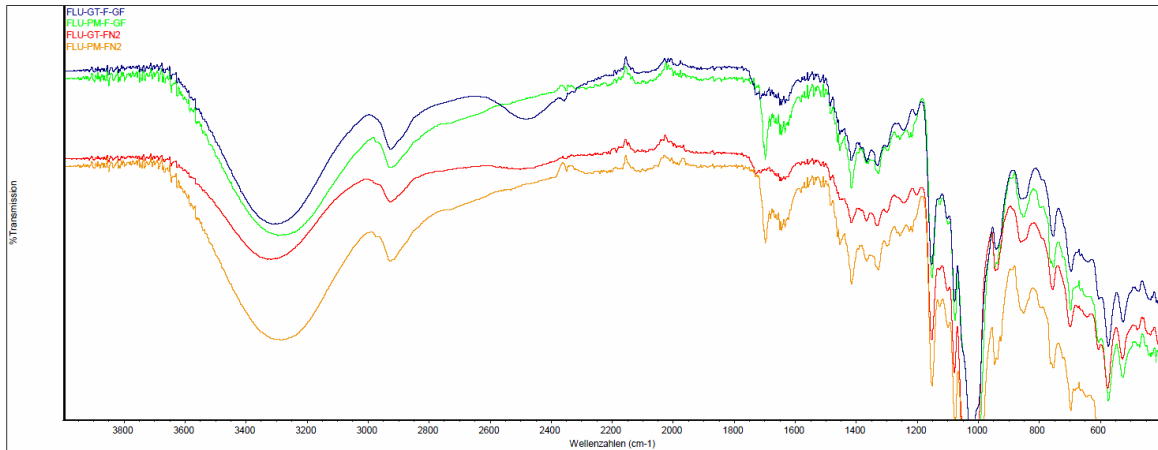


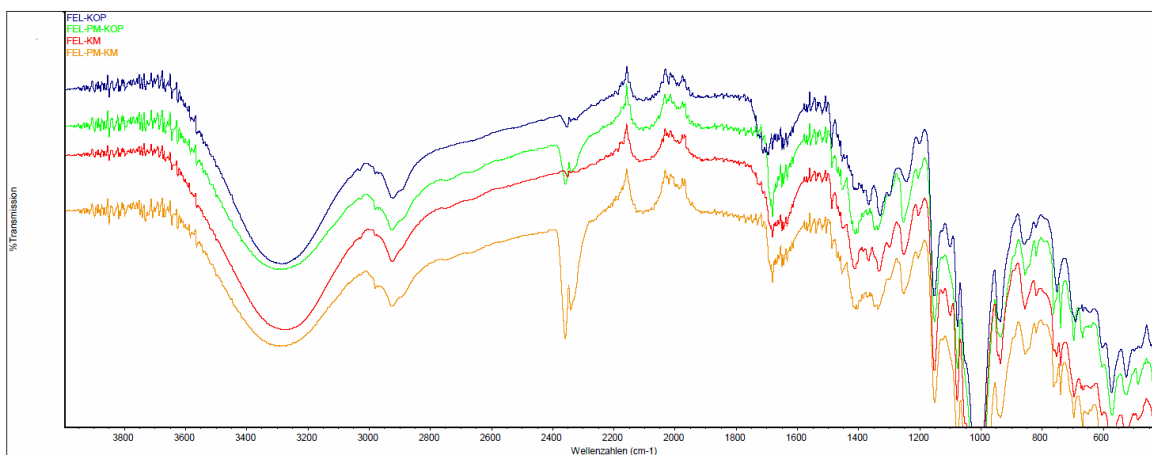
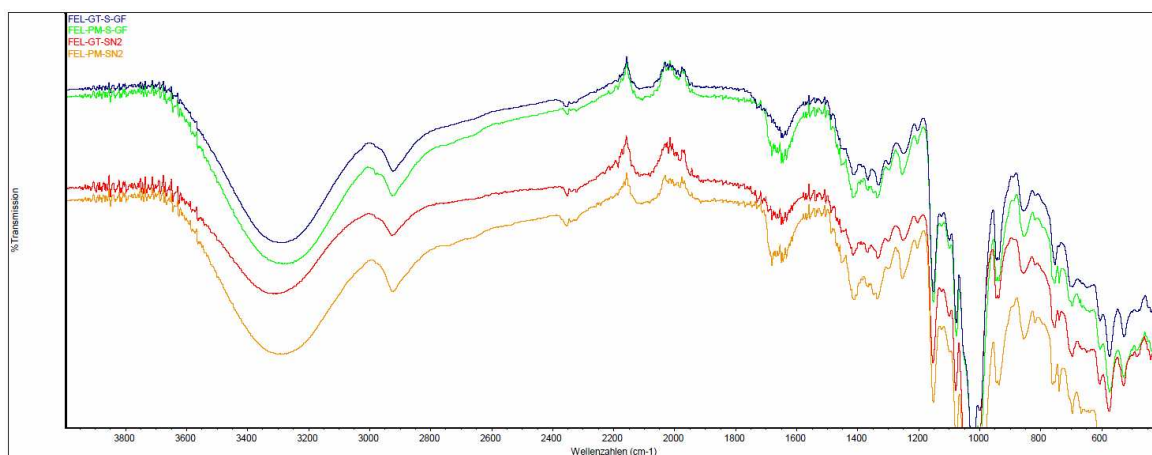
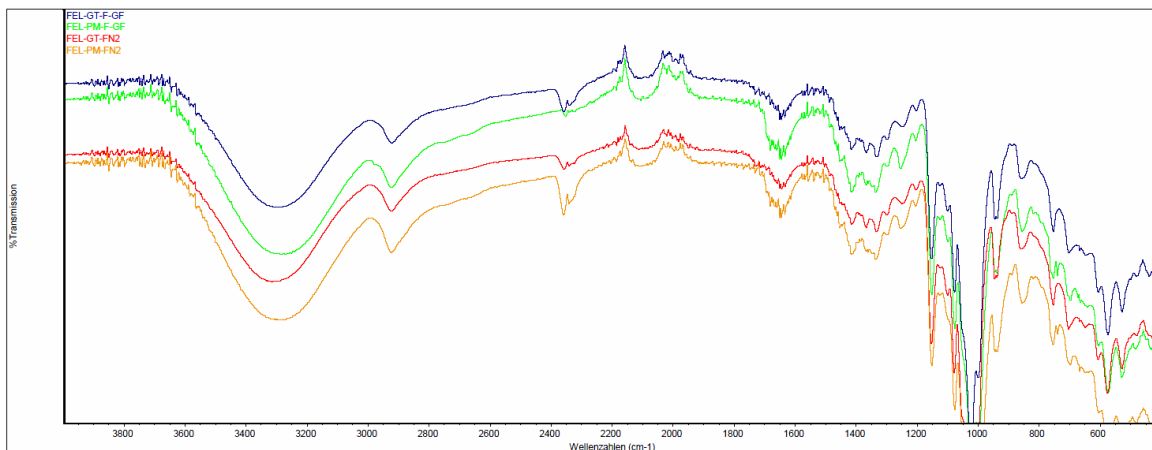
Ketoprofen



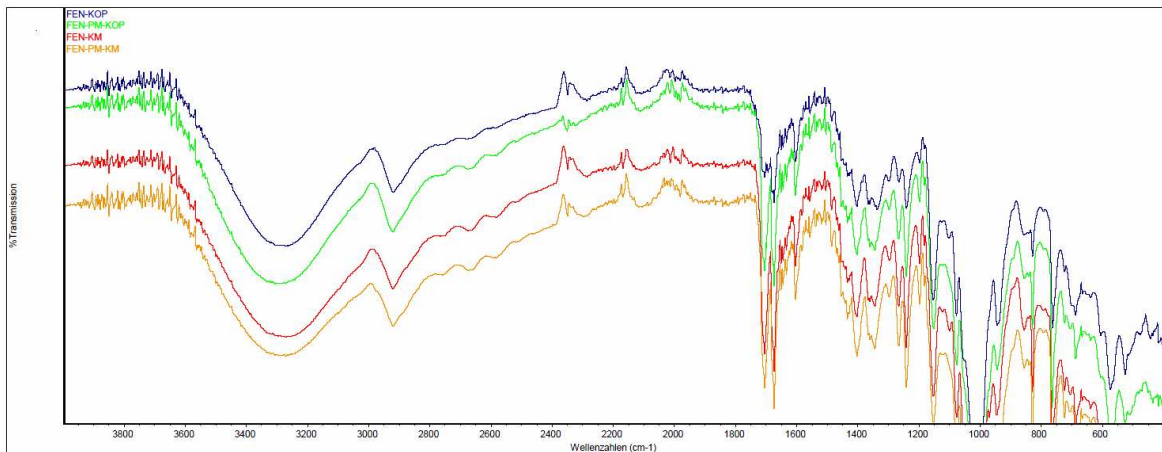
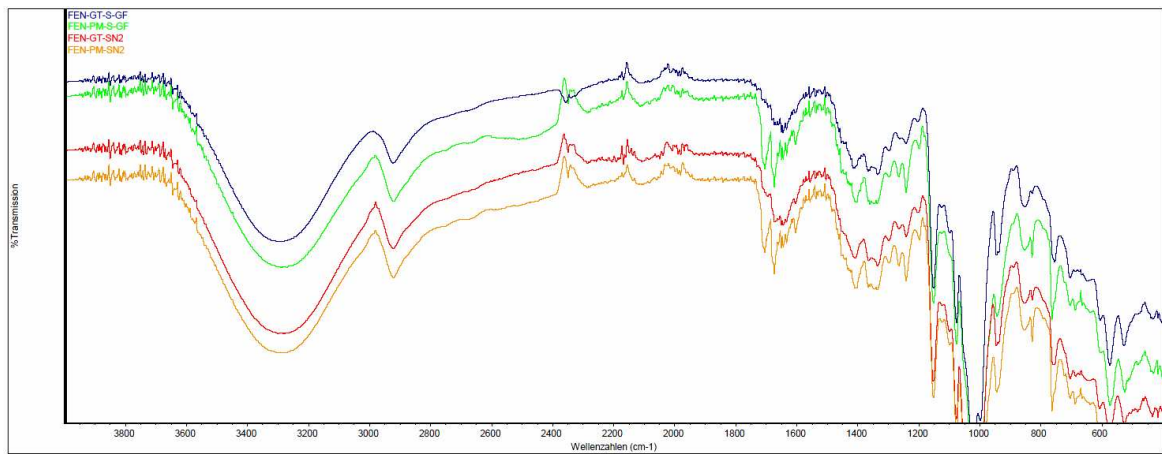
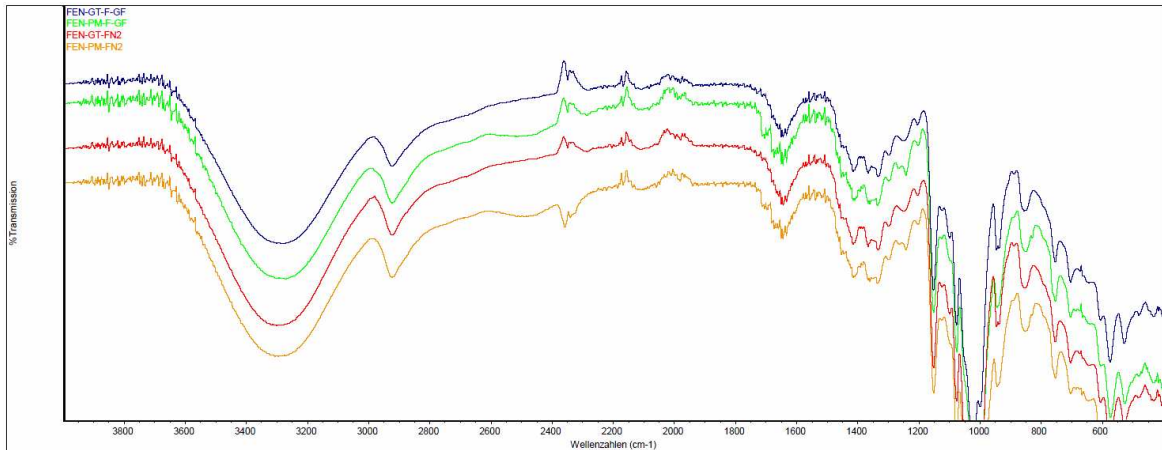
Naproxen

Flurbiprofen



Felbinac

Fenbufen



9 Literaturverzeichnis

- [1] Szejtli, J.: *Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry*. Chemical Reviews 98 (1998), S. 1743-1753
- [2] Loftsson, T., Duchêne, D.: *Cyclodextrins and their pharmaceutical applications*. International Journal of Pharmaceutics 329 (2007), S. 1-11
- [3] Frömring, K.-H., Szejtli, J.: *Cyclodextrins in Pharmacy*. 1. Auflage, Dordrecht: Kluwer academic publishers, 1994
- [4] European Pharmacopeia 7th Edition (7.2); online-Zugriff über Bibliothek der Universität Würzburg
- [5] Wacker Chemie AG: Technical data sheet for CAVAMAX[®] W6 Pharma. Version 1.3, 07.01.2008
- [6] Wacker Chemie AG: Technical data sheet for CAVAMAX[®] W7 Pharma. Version 1.0, 16.11.2007
- [7] Wacker Chemie AG: Technical data sheet for CAVAMAX[®] W8 Pharma. Version 1.1, 10.01.2008
- [8] Saenger, W., Jacob, J., Gessler, K., Steiner T., Hoffmann, D., Sanbe, H., Koizumi, K., Smith, S. M., Takaha, T.: *Structures of the common cyclodextrins and their larger analogues - beyond the doughnut*. Chemical Reviews 98 (1998), S. 1787-1802
- [9] Harata, K.: *Crystallographic study of cyclodextrins and their inclusion complexes*. In: Cyclodextrins and Their Complexes. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [10] Villiers, A.: *Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique*. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences 112 (1891), S. 536-538, zitiert in [2]
- [11] Schardinger, F.: *Über thermophile Bakterien aus verschiedenen Speisen und Milch, sowie über einige Umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen Nährlösungen, darunter krystallisierte Polysaccharide (Dextrine) aus Stärke*. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel 6 (1903), S. 865-880, zitiert in [2]
- [12] Freudenberg, K., Jacobi, R.: *Über Schardinger Dextrine aus Stärke*. Liebigs Annalen der Chemie 518 (1935), S. 102-108, zitiert in [2]
- [13] Freudenberg, K., Meyer-Delius, M.: *Über die Schardinger-Dextrine aus Stärke*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 71 (1938), S.1596-1600
- [14] French, D., Rundle, R. E.: *The molecular weights of the Schardinger alpha and beta dextrins*. Journal of the American Chemical Society 64 (1942), S. 1651-1653
- [15] Freudenberg, K., Cramer, F.: *Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ* . Zeitschrift für Naturforschung 3b (1948), S. 464
- [16] Cramer, F.: *Einschlussverbindungen*. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1954
- [17] Szejtli, J., Sebestyén, G.: *Resorption, metabolism, and toxicology studies on the peroral application of beta-cyclodextrin*. Starch/Stärke 31 (1979), Nr. 11, S. 385-389
- [18] United States Pharmacopeia 28th Edition (2005), zitiert in [2]
- [19] Japanese Pharmaceutical Codex, zitiert in [2]

- [20] Szejtli, J.: *Cyclodextrin technology*. Chinoi Pharmaceutical Chemical-Works. Budapest, Hungary; Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1988
- [21] Dodziuk, H.: *Molecules with Holes – Cyclodextrins*. In: *Cyclodextrins and Their Complexes*. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [22] Trotta, F., Zanetti, M., Camino, G.: *Thermal degradation of cyclodextrins*. *Polymer Degradation and Stability* 69 (2000), S. 373-379
- [23] Szejtli, J.: *Interaction of hydrochloric acid with cyclodextrin*. *Die Stärke* 29 (1977), Nr. 12, S. 410-413
- [24] French, D.: *The Schardinger dextrins*. *Advances in Carbohydrate Chemistry* 12 (1957), S. 189-280
- [25] Gelb, R. I., Schwartz, L. M., Bradshaw, J. J., Laufer, D. A.: *Acid dissociation of cyclohexaamylose and cycloheptaamylose*. *Bioorganic Chemistry* 9 (1980), S. 299-304
- [26] Gelb, R. I., Schwartz, L. M., Laufer, D. A.: *Acid dissociation of cyclooctaamylose*. *Bioorganic Chemistry* 11 (1982), S. 274-280
- [27] Buvári-Barcza, Á., Barcza, L.: *Changes in the solubility of β -cyclodextrin on complex formation: guest enforced solubility of β -cyclodextrin inclusion complexes*. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 36 (2000), S. 355-370
- [28] Schlee, C.: *Untersuchungen zu Cyclodextrinkomplexen von Sulfonamidarzneistoffen*. Dissertation, Würzburg 2011
- [29] Dodziuk, H.: *Rigidity versus flexibility. A review of experimental and theoretical studies pertaining to the cyclodextrin nonrigidity*. *Journal of Molecular Structure* 614 (2002), S. 33-45
- [30] Inoue, Y., Okuda, G., Chûjô, R.: *A high-resolution C.P.-M.A.S. ^{13}C -N.M.R. study of solid-state cyclomaltohexaose inclusion-complexes: chemical shifts and structure of the host cyclomaltohexaose*. *Carbohydrate Research*, 141 (1985), S. 179-190
- [31] Usha, M. G., Wittebort, R. J.: *Structural and dynamical studies of the hydrate, exchangeable hydrogens, and included molecules in β - and γ -cyclodextrins by powder and single-crystal deuterium magnetic resonance*. *Journal of the American Chemical Society* 114 (1992) Nr. 5, S. 1541-1548
- [32] Prabhakaran, M., Harvey, S. C.: *Asymmetric oscillations in cyclodextrin – a molecular dynamics study*. *Biopolymers* 26 (1987), S. 1087-1096
- [33] Saenger, W., Betzel, C., Hingerty, B., Brown, G. M.: *Flip-Flop Hydrogen Bonds in β -Cyclodextrin – A generally valid Principle in Polysaccharides?* *Angewandte Chemie International Edition in English* 22 (1983) Nr. 11, S.883-884
- [34] Khan, A. R., Forgo, P., Stine, K. J., D'Sozua, V. T.: *Methods for selective modifications of cyclodextrins*. *Chemical Reviews* 98 (1998), S. 1977-1996
- [35] Gattuso, G., Nepogodiev, S. A., Stoddart, J. F.: *Synthetic cyclic oligosaccharides*. *Chemical Reviews* (98) 1998, S. 1919-1958
- [36] Hashimoto, H.: *Cyclodextrin applications in food, cosmetic, toiletry, textile and wrapping material fields*. In: *Cyclodextrins and Their Complexes*. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [37] Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., Khar, R. K.: *Cyclodextrins in drug delivery: an updated review*. *AAPS*

- PharmSciTech 6 (2) Artikel 43 (2005), S. E329-E357
- [38] Davis, M. E., Brewster, M. E.: *Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future*. Nature reviews 3 (2004), S.1023-1035
- [39] Loftsson, T., Brewster, M. E., Másson, M.: *Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery*. American Journal of drug delivery 2 (2004), Nr. 4, S. 261-275
- [40] Uekama, K., Hirayama F., Arima, H. *Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives*. In: Cyclodextrins and Their Complexes. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [41] Gloe, K., Gloe, K., Heßke, H, Lindoy, L. F.: *Supramolekulare Chemie: Vom Einzelmolekül zur komplexen Funktionseinheit*. Wissenschaftliche Zeitschrift der Technischen Universität Dresden (Nanowelt) 56 (2007) Nr. 1-2, S. 32-38
- [42] Müllen, K.: *Supramolekulare organische Chemie – Wege zu neuen Materialien*. Akademie-Journal 1 (2003), S. 26-30
- [43] Miller, L. A., Carrier, R. L., Ahmed, I.: *Practical considerations in development of solid dosage forms that contain cyclodextrin*. Journal of pharmaceutical sciences 96 (2007), S.1691-1707
- [44] Bissantz, C., Kuhn, B., Stahl, M.: *A medicinal chemist's guide to molecular interactions*. Journal of medicinal chemistry 53 (2010), S. 5061-5084
- [45] Reich, R.: *Thermodynamik. Grundlagen und Anwendungen in der allgemeinen Chemie*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1993, 2. Auflage
- [46] Connors, K. A.: *The stability of cyclodextrin complexes in solution*. Chemical Reviews 97 (1997), S. 1325-1357
- [47] Rekharsky, M. V., Inoue, Y.: *Complexation thermodynamics of cyclodextrins*. Chemical Reviews 98 (1998), S. 1875-1917
- [48] Ross, P. D., Rekharsky, M. V.: *Thermodynamics of hydrogen bond and hydrophobic interactions in cyclodextrin complexes*. Biophysical Journal 71 (1996), S. 2144-2154
- [49] Charumanee, S., Titwan, A., Sirithunyalug, J., Weiss-Greiler, P., Wolschmann, P., Viernstein, H., Okonogi, S.: *Thermodynamics of the encapsulation by cyclodextrins*. Journal of chemical technology and biotechnology 81 (2006), S. 523-529
- [50] Leuenberger, H. (Hrsg.): *Martin – Physikalische Pharmazie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2002, 4. Auflage
- [51] Ammon, H. P. T.: *Hunnius – Pharmazeutisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 2004, 9. Auflage
- [52] Rekharsky, M. V., Inoue, Y.: *Microcalorimetry*. In: Cyclodextrins and Their Complexes. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [53] Saenger, W., Noltemeyer, M. Manor, P. C., Hingerty, B., Klar, B.: *"Induced-Fit"-type complex formation of the model enzyme α -cyclodextrin*. Bioorganic Chemistry 5 (1976), S. 187-195
- [54] Koshland, D. E. (Jr.): *The key-lock theory and the induced fit theory*. Angewandte Chemie, Int. Ed. Engl. 33 (1994), S 2375-2378

- [55] Cooper, A., Nutley, M., MacLean, E. J., Cameron, K., Fielding, L., Mestres, J., Palin, R.: *Mutual induced fit in cyclodextrin-rocuronium complexes*. *Organic & Biomolecular Chemistry* 3 (2005), S. 1863-1871
- [56] Zhang, H., Feng, W., Li, C., Tan, T.: *Investigation of the inclusions of puerarin and daidzin with β -cyclodextrin by molecular dynamics simulation*. *Journal of Physical Chemistry B* 114 (2010), S. 4876-4883
- [57] Krees, S.: *Wirt-Gast-Komplexe mit Cyclodextrinen – Strukturelle Merkmale und didaktisches Potenzial*. Bergische Universität Wuppertal, Dissertation, 2009
- [58] Loftsson, T., Jarho, P., Másson, M., Järvinen, T.: *Cyclodextrins in drug delivery*. *Expert Opinion on Drug Delivery* 2 (2005), Nr.2, S. 335-351
- [59] Brewster, M. E., Loftsson, T.: *Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers*. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007), S. 645-666
- [60] Hedges, A. R.: *Industrial applications of cyclodextrins*. *Chemical Reviews* 98 (1998), S. 2035-2044
- [61] Wacker Chemie AG: *Complexation with natural CAVAMAX[®] Cyclodextrins*. Version 2.00, 15.09.2005
- [62] Wacker Chemie AG: *Complexation with CAVASOL[®] Cyclodextrin Derivatives*. Version 2.00, 15.09.2005
- [63] Orgoványi, J., H.-Otta, K., Pöpl, L., Fenyvesi, É., Záray, G.: *Spectrophotometric and thermoanalytical study of cypermethrin/cyclodextrin complexes*. *Microchemical Journal* 79 (2005), S. 77-82
- [64] Salústio, P. J., Feio, G., Figueirinhas, J. L., Pinto, J. F., Cabral Marques, H. M.: *The influence of the preparation methods on the inclusion of model drugs in a β -cyclodextrin cavity*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 71 (2009), S. 377-386
- [65] Connors, K. A.: *Binding Constants – The Measurement of molecular complex stability*. John Wiley & Sons, 1987, 2. Auflage
- [66] Higuchi, T., Connors, K. A.: *Phase-Solubility Techniques*. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* 4 (1965), S. 117-212
- [67] Höltje, H.-D., Sippl, W., Rognan, D., Folkers, G.: *Molecular Modeling. Basic Principles and Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, 2003, 2. Auflage
- [68] Gasteiger, J., Engel, T.: *Cheminformatics*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, 2003
- [69] Lipkowitz, K. B.: *Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins*. *Chemical Reviews* 98 (1998), S. 1829-1873
- [70] Kozár, T., Venanzi, C. A.: *Reconsidering the conformational flexibility of β -Cyclodextrin*. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* 395-396 (1997), S. 451-468
- [71] Immel, S., Brickmann, J., Lichtenthaler, F. W.: *Small-Ring Cyclodextrins: Their geometries and hydrophobic topographies*. *Liebigs Annalen* (1995), S. 929-942
- [72] Lipkowitz, K. B., Green, K., Yang, J.-A.: *Structural characteristics of cyclodextrins in the solid state*. *Chirality* 4 (1992), S. 205-215, zitiert in [83]
- [73] Lichtenthaler, F. W., Immel, S.: *Cyclodextrins, Cyclomannins, and cyclogalactins with five and six (1 \rightarrow 4)-linked sugar units: a comparative assessment of their conformations and hydrophobicity potential profiles*. *Tetrahedron: Asymmetry* 5 (1994), Nr. 11, S. 2045-2060

- [74] Koehler, J. E. H., Saenger, W., Van Gunsteren, W. F.: *Molecular dynamics simulation of crystalline β -cyclodextrin dodecahydrate at 293 K and 120 K*. European Biophysics Journal 15 (1987), S. 211-224
- [75] Van Helden, S. P., Van Eijck, B. P., Janssen, L. H. M.: *The conformational behaviour of complexes of α -cyclodextrin with *p*-chlorophenol and *p*-hydroxybenzoic acid in water as studied by molecular dynamics simulations*. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics 9 (1992) Nr. 6, S. 1269-1283
- [76] Wertz, D. A., Shi, S.-H., Venanzi, C. A.: *A comparison of distance geometry and molecular dynamics simulation techniques for conformational analysis of β -cyclodextrin*. Journal of computational chemistry 13 (1992), Nr. 1, S. 41-56
- [77] Mark, A. E., Van Helden, S. P., Smith, P. E., Janssen, L. H. M., van Gunsteren, W. F. J.: *Convergence Properties of free energy calculations: α -Cyclodextrin complexes as a case study*. Journal of American chemical society 116 (1994), S. 6293-6302, zitiert in [83]
- [78] Lu, Z., Chen, R., Liu, H., Hu, Y., Cheng, B., Zou, G.: *Study of the complexation of resveratrol with cyclodextrins by spectroscopy and molecular modeling*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 63 (2009), S. 295-300
- [79] Yu, Y., Chipot, C., Cai, W., Shao, X.: *Molecular dynamics study of the inclusion of cholesterol into cyclodextrins*. Journal of Physical Chemistry B 110 (2006), S. 6372-6378
- [80] Kitagawa, M., Hoshi, H., Sakurai, M., Inoue, Y., Chûjô, R.: *A molecular orbital study of cyclodextrin inclusion complexes. I. The calculation of the dipole moments of α -cyclodextrin-aromatic guest complexes*. Bulletin of the chemical society of Japan 61 (1988), S. 4225-4229, zitiert in [83]
- [81] Faucci, M. T., Melani, F., Mura, P.: *Computer-aided molecular modeling techniques for predicting the stability of drug-cyclodextrin inclusion complexes in aqueous solutions*. Chemical Physics Letters 358 (2002), S. 383-390
- [82] Steffen, A., Thiele, C., Tietze, S., Strassnig, C., Kämper, A., Lengauer, T., Wenz, G., Apostolakis, J.: *Improved cyclodextrin-based receptors for camptothecin by inverse virtual screening*. Chemistry – A European Journal 13 (2007), S. 6801-6809
- [83] Dodziuk, H.: *Modeling of CyDs and their complexes*. In: Cyclodextrins and Their Complexes. Edited by H. Dodziuk, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006
- [84] Castro, E. A., Barbiric, D. A. J.: *Molecular Modeling and Cyclodextrins: A relationship strengthened by complexes*. Current Organic Chemistry 10 (2006), S. 715-729
- [85] Pérez, S., Imbert, A., Engelsen, S. B., Grza, J., Mazeau, K., Jimenez-Barbero, J., Poveda, a., Espinosa, J.-F., van Eyck, B. P., Johnson, G., French, A. D., Kouwijzer, M. L. C.E., Grootenuis, P. D.j'J., Bernardi, A., Raimondi, L., Senderowitz, H., Durier, V., Vergoten, G., Rasmussen, L.: *A comparison and chemometric analysis of several molecular mechanics force fields and parameter sets applied to carbohydrates*. Carbohydrate Research 314 (1998), S. 141-155
- [86] Momany, F. A., Willett, J.L.: *Computational studies on carbohydrates: in vacuo studies using a revised AMBER force field, AMB99C, designed for α -(1 \rightarrow 4) linkages*. Carbohydrate Research 326 (2000), S. 194-209
- [87] Leach, A. R.: *Molecular Modelling: Principles and Applications*. Prentice Hall, Pearson Education Limited, 2. Auflage, 2001

- [88] Lengauer, T., Rarey, M.: *Computational methods for biomolecular docking*. Current Opinion in structural biology 6 (1996), S. 402-406
- [89] Kämper, A., Apostolakis, J., Rarey, M., Marian, C. M., Lengauer, T.: *Fully automated flexible docking of ligands into flexible synthetic receptors using forward and inverse docking strategies*. Journal of Chemical Information and Modeling 46 (2006), S. 903-911
- [90] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., Olson, A. J.: *Automated Docking using a Lamarckian Genetic Algorithm and an empirical free energy function*. Journal of Computational Chemistry 19 (1998), Nr. 14, S. 1639-1662
- [91] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Huey, R., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R., Olson, A. J.: *AutoDock – User's Guide*. The Scripps Research Institute. Internetseite: www.scripps.edu
- [92] Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H. K., Ruth, P., Schäfer-Korting, M.: *Mutschler Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2008, 9. Auflage
- [93] Péhourcq, F., Matoga, M., Jarry, C., Bannwarth, B.: *Study of the lipophilicity of arylpropionic non-steroidal anti-inflammatory drugs. A comparison between *I_c* retention data on a polymer-based column and octanol-water partition coefficients*. Journal of Liquid chromatography and related technology 24 (14) (2001), S. 2177-2186
- [94] Hartke, K., Hartke, H., Wichtl, M., Bracher, F., Heisig, P., Langguth, P., Mutschler, E., Rücker, G., Scriba, G., Stahl-Biskup, E., Troschütz, R. (Hrsg.): *Kommentar zum Europäischen Arzneibuch*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Govi-Verlag – Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn, 38. Aktualisierungslieferung 2011, Stand: Kommentar zur Ph. Eur. 6.0, 30. Lfg, 2008
- [95] Mortimer, C. E.: *Chemie. Das Basiswissen der Chemie*. Übersetzt und bearbeitet von Ulrich Müller. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2001, 7. Auflage
- [96] Schmidtchen, F. P.: *Isothermal titration calorimetry in supramolecular chemistry*. In: Analytical methods in supramolecular chemistry. Edited by C. A. Schalley. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KgA, Weinheim, 2007
- [97] Pierce, M. M., Raman, C. S., Nall, B. T.: *Isothermal titration calorimetry of protein-protein interactions*. Methods 19 (1999), S. 213-221
- [98] Origin 7[®], Version 7.0, Januar 2004, OriginLab corporation, Northhampton, USA
- [99] Schneider, H.-J., Hacket, F., Rüdiger, V., Ikeda, H.: *NMR Studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes*. Chemical Reviews 98 (1998), S. 1755-1785
- [100] Rücker, G., Neugebauer, M., Willems, G. G.: *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2001, 3. Auflage
- [101] Friebolin, H.: *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*. Wiley-VCH, Weinheim, 1999, 3. Auflage
- [102] Waibel, B.: *NMR-Methoden zur Identifizierung von Makromolekül-Ligand-Interaktionen*. Dissertation, Universität Würzburg, 2008
- [103] Guéron, M., Plateau, P., Decorps, M.: *Solvent signal suppression in NMR*. Progress in NMR Spectroscopy 23 (1991) S. 135-209
- [104] Li, Z.-Z., Guo, Q.-X., Ren, T., ZHU, X.-Q., Liu, Y.-C.: *Can TMS and DSS be used as NMR references*

- for cyclodextrin species in aqueous solution?* Journal of Inclusion Phenomena and Molecular recognition in chemistry 15 (1993), S. 37-42
- [105] Fielding, L.: *Determination of association constants (K_a) from solution NMR data*. Tetrahedron Report Number 536, Tetrahedron 56 (2000), S. 6151-6170
- [106] Bruker Biospin GmbH: Topspin 3.0
- [107] Kessler, H., Gehrke, M., Griesinger, C.: *Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen und Übersicht über die Experimente*. Angewandte Chemie 100 (1988), S.507-554
- [108] Chemical Computing Group Inc., Montreal: *MOE (Molecular Operating Environment) 2007_09*, 2008-10 und 2009-10; www.chemcomp.com
- [109] Halgren, T. A., Nachbar, R. B.: *Merck Molecular Force Field. IV. Conformational energies and geometries for MMFF94**. Journal of Computational Chemistry, Vol. 17 (1996), Nr. 5&6, S. 587-615
- [110] Tripos Inc., St. Louis: *SYBYL 8.0*; www.tripos.com
- [111] Steiner, T., Koellner, G.: *Crystalline β -cyclodextrin hydrate at various humidities: fast, continuous, and reversible dehydration studied by x-ray diffraction*. Journal of the American Chemical Society, 116 (1994), S. 5122-5128; CSD-Code: BUVSEQ01
- [112] Cambridge Crystallographic Data Centre: *Cambridge Structural Database*. Cambridge, Version 5.30, Stand: November 2008
- [113] Naidoo, K. J., Gamildien, M. R., Chen, J. Y.-J., Widmalm, G. Maliniak, A.: *Glucose orientation and dynamics in α -, β - and γ -Cyclodextrins*. Journal of Physical Chemistry B 112 (2008), S. 15151-15157
- [114] Schrödinger, LLC, *The PyMOL Molecular Graphics System*, Version 0.99rc6, www.pymol.org
- [115] Miller, L. A., Carrier, R. L., Ahmed, I.: *Practical considerations in development of solid dosage forms that contain cyclodextrin*. Journal of Pharmaceutical Sciences 96 (2007), Nr. 7, S. 1691-1707
- [116] Setaram Instrumentation: Setsoft 2000, Version 3.0 Révision 5
- [117] Ehlers, E.: *Analytik II: Kurzlehrbuch Quantitative und instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2002, 10. Auflage
- [118] Perkin Elmer: *FT-IR Spectroscopy – Attenuated total reflectance (ATR)*. 2005, las.perkinelmer.com/content/TechnicalInfo/TCH_FTIRATR.pdf, Stand: 10.08.2010
- [119] García-Zubiri, Í., González-Gaitano, G., Sánchez, M., Isasi, J.-R.: *Infrared study of solid dispersions of β -cyclodextrin with naphthalene derivatives*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 49 (2004), S. 291-302
- [120] Thermo Electron Corporation: Omnic 7.0, Copyright 1992 - 2003
- [121] Kortüm, G., Lachmann, H.: *Einführung in die chemische Thermodynamik – Phänomenologische und statistische Behandlung*. Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel: Verlag Chemie; Göttingen: Vandenhoeck & Rupprecht, 1981, 7. Auflage
- [122] Bettinetti, G. P., Mura, P., Liguori, A., Bramanti, G.: *Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state*. Il farmaco 44 (2) (1989), S. 195-213
- [123] Otagiri, M., Imai, T., Hirayama, F., Uekama, K., Yamasaki, M.: *Inclusion complex formations of the*

- antiinflammatory drug flurbiprofen with cyclodextrins in aqueous solution and in solid state. Acta pharmaceutica suecica* 20 (1983), S. 11-20
- [124] Orienti, I., Fini, A., Bertasi, V., Zecchi, V.: *Inclusion complexes between non steroidal antiinflammatory drugs and β -cyclodextrin*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 37 (2) (1991), S. 110-112
- [125] Mura, P., Bettinetti, G.P., Manderioli, A., Faucci, M. T., Bramanti, G., Sorrenti, M.: *Interactions of ketoprofen and ibuprofen with β -cyclodextrins in solution and in the solid state*. *International Journal of Pharmaceutics* 166 (1998), S. 189-203
- [126] Xing, S., Zhang, Q., Zhang, C., Zhao, Q., Ai, H., Sun, D.: *Isothermal titration calorimetry and theoretical studies on host-guest interaction of ibuprofen with α -, β - and γ -cyclodextrin*. *Journal of Solution Chemistry* 38 (2009), S. 531-543
- [127] Todorova, N. A., Schwarz, F. P.: *The role of water in the thermodynamics of drug binding to cyclodextrin*. *Journal of chemical Thermodynamics* 39 (2007), S. 1038-1048
- [128] Waters, L. J., Bedford, S., Parkes, G.M.B., Mitchell, J. C.: *Influence of lipophilicity on drug-cyclodextrin interactions: a calorimetric study*. *Thermochimica Acta* 511 (2010), S. 102-106
- [129] Díaz, D., Lianos, C. M. E., Bernad, M. J. B., Mora J. G.: *Binding, molecular mechanics, and thermodynamics of cyclodextrin inclusion complexes with ketoprofen in aqueous medium*. *Pharmaceutical Development and Technology* 3 (3) (1998), S. 307-313
- [130] Wang, J., Warner, I. M.: *Studies of the naproxen: β -cyclodextrin inclusion complex*. *Microchemical Journal* 48 (1993), S. 229-239
- [131] Ganza-Gonzalez, A., Vila-Jato, J. L., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F. J., Blanco-Méndez, J.: *A proton nuclear magnetic resonance study of the inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin*. *International Journal of Pharmaceutics* 106 (1994), S. 179-185
- [132] Salvadori, P., Uccello-Barretta, G., Balzano, F., Bertucci, C., Chiavacci, C.: *NMR investigation of the interaction of (+)- and (-)-flurbiprofen with β -cyclodextrin*. *Chirality* 8 (1996), S. 423-429
- [133] Puglisi, G., Santagati, N. A., Pignatello, R., Ventura, C., Bottino, F. A., Mangiafico, S., Mazzone, G.: *Inclusion complexation of 4-biphenylacetic acid with β -cyclodextrin*. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 16 (3) (1990), S. 395-413
- [134] Bratu, I., Gavira-Vallejo, J. M., Hernanz, A., Bogdan, M., Bora, GH.: *Inclusion complex of fenbufen with β -cyclodextrin*. *Biopolymers* 73 (2004), S. 451-456
- [135] Núñez-Agüero, C.-J., Escobar-Llanos, C.-M., Díaz, D., Jaime, C., Garduno-Juárez, R.: *Chiral discrimination of ibuprofen isomers in β -cyclodextrin inclusion complexes: experimental (NMR) and theoretical (MD, MM/GBSA) studies*. *Tetrahedron* 62 (2006), S. 4162-4172
- [136] Sadlej-Sosnowska, N., Kozerski, L., Bednarek, E., Sitkowski, J.: *Fluorometric and NMR studies of the naproxen-cyclodextrin inclusion complexes in aqueous solutions*. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 37 (2000), S. 383-394
- [137] Koehler, J. E. H., Saenger, W., Van Gunsteren, W. F.: *Conformational differences between α -cyclodextrin in aqueous solution and in crystalline form*. *Journal of Molecular Biology* 203 (1988), S. 241-250

- [138] Orgoványi, J., Pöpl, L., H.-Otta, K., Lovas, G. A.: *Thermoanalytical method for studying the guest content in cyclodextrin inclusion complexes*. Journal of thermal analysis and calorimetry 81 (2005), S. 261-266
- [139] Bratu, I., Hernanz, A., Gavira, J. M., Bora, GH.: *FT-IR Spectroscopy of inclusion complexes of β -cyclodextrin with fenbufen and ibuprofen*. Romanian Journal of Physics 50 (2005), S. 1063-1069
- [140] Braga, S. S., Gonçalves, I. S., Herdtweck, E., Teixeira-Dias, J. J. C.: *Solid state inclusion compound of S-ibuprofen in β -cyclodextrin: structure and characterisation*. New Journal of Chemistry 27 (2003), S. 597-601
- [141] Loftsson, T., Ólafsdóttir, B. J., Fridriksdóttir, H., Jónsdóttir, S.: *Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics*. European Journal of Pharmaceutical Science 1 (1993), S. 95-101
- [142] Khan, G. M., Zhu, J.-B.: *Ibuprofen- β -cyclodextrin inclusion complex: preparation, characterization, physico-chemical properties and in vitro dissolution behaviour*. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences 7 (2) (1998), S. 72-79
- [143] Hładon, T., Pawlaczyk, J., Szafran, B.: *Stability of ibuprofen in its inclusion complex with β -cyclodextrin*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 36 (2000), S. 1-8
- [144] Loftsson, T., Magnúsdóttir, A., Másson, M., Sigurjónsdóttir, J. F.: *Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs*. Journal of Pharmaceutical Sciences 91 (11) (2001), S. 2307-2316
- [145] Al Omari, M. M., Daraghme, N. H., El-Barghouthi, M. I., Zughul, M. B., Chowdhry, B. Z., Leharne, S. A., Badwan, A. A.: *Novel inclusion complex of ibuprofen tromethamine with cyclodextrins: Physico-chemical characterization*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 50 (2009), S. 449-458
- [146] Menard, F. A., Dedhiya, M. G., Rhodes, C. T.: *Physico-chemical aspects of the complexation of some drugs with cyclodextrins*. Drug Development and Industrial Pharmacy 16 (1) (1990), S. 91-113
- [147] Nerurkar, J., Beach, J. W.: *Solubility of (\pm)-ibuprofen and S (+)-ibuprofen in the presence of cosolvents and cyclodextrins*. Pharmaceutical Development and Technology 10 (2005), S. 413-421
- [148] Gavrilin, M. V., Pogrebnyak, A. V.: *Synthesis, characterization, and evaluation of the local irritant action of an ibuprofen- β -cyclodextrin inclusion complex*. Pharmaceutical Chemistry Journal 35 (7) (2001), S. 395-396
- [149] Wang, E., Chen, G., Peng, M.: *NMR studies of chiral discrimination of ibuprofen enantiomers in β -cyclodextrin inclusion complexes*. Chinese Journal of Magnetic Resonance 26 (2) (2009), S. 216-222
- [150] Klein, C. T., Polheim, D., Viernstein, H., Wolschmann, P.: *Predicting the free energies of complexation between cyclodextrins and guest molecules: linear versus nonlinear models*. Pharmaceutical Research 17 (3) (2000), S. 358-365
- [151] Saleh, S. I., Stamm, A.: *Inclusion complexation of ketoprofen with β -cyclodextrin and hydroxypropyl β -cyclodextrin in water and in solid state*. Saudi Pharmaceutical Journal 2 (1) (1994), S. 2-7
- [152] Vavia, P. R., Tayade, P. T.: *Inclusion complexation of ketoprofen with β -cyclodextrins*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 62 (2) (1999), S. 97-99
- [153] Mura, P., Faucci, M. T., Parrini, P. L.: *Effects of grinding with microcrystalline cellulose and cyclodextrins on the ketoprofen physicochemical properties*. Drug Development and Industrial Pharmacy 27 (2) (2001), S. 119-128

- [154] Mura, P., Faucci, M. T., Parrini, P. L., Furlanetto, S., Pinzauti, S.: *Influence of the preparation method on the physicochemical properties of ketoprofen-cyclodextrin binary systems*. International Journal of Pharmaceutics 179 (1999), S. 117-128
- [155] Cirri, M., Maestrelli, F., Mennini, N., Mura, P.: *Physical-chemical characterization of binary and ternary systems of ketoprofen with cyclodextrins and phospholipids*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 50 (2009), S. 683-689
- [156] Marini, A., Berbenni, V., Bruni, G., Mustarelli, P.: *Thermoanalytical and spectroscopic characterization of β -cyclodextrin/ketoprofen inclusion complexes*. Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry 22 (1995), S. 221-234
- [157] Liequn, W., Shu, J., Hongyu, Z., Yan, P., Jing, M.: *Inclusion complex between naproxen and β -cyclodextrin*. Zhongguo-yaoxue-zazhi 30 (1) (1995), S. 25-28
- [158] Blanco, J., Vila-Jato, J. L., Otero, F., Anguiano, S.: *Influence of method of preparation on inclusion complexes of naproxen with different cyclodextrins*. Development and Industrial Pharmacy 17 (7) (1991), S. 943-957
- [159] Otero-Espinar, F. J., Anguiano-Igea, S., García-González, N., Vila-Jato, J. L., Blanco-Méndez, J.: *Interaction of naproxen with β -cyclodextrin in solution and in the solid state*. International Journal of Pharmaceutics 79 (1992), S. 149-157
- [160] Cirri, M., Maestrelli, F., Corti, G., Furlanetto, S., Mura, P.: *Simultaneous effect of cyclodextrin complexation, pH, and hydrophilic polymers on naproxen solubilization*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 42 (2006), S. 126-131
- [161] Másson, M., Sigurdardóttir, B. V., Matthíasson, K., Loftsson, T.: *Investigation of drug-cyclodextrin complexes by a phase-distribution method: some theoretical and practical considerations*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 53 (8) (2005), S. 958-964
- [162] Sotiris, M., Ekaterini, A.-V.: *The contribution of simple NMR Spectroscopy techniques in the study of supramolecular interactions of cyclodextrins with various drugs*. Pharmakeutike 12 (3) (1999), S. 79-89
- [163] Zhang, G.-P., Pan, D.-L.: *Preparation of naproxen- β -cyclodextrin inclusion complex*. Chinese Journal of Synthetic Chemistry 15 (1) (2007), S. 65-68
- [164] Junco, S., Casimiro, T., Ribeiro, N., Da Ponte, M. N., Cabral Marques, H.: *A comparative study of naproxen – beta cyclodextrin complexes prepared by conventional methods and using supercritical carbon dioxide*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 44 (2002), S. 117-121
- [165] Chen, W., Chang, C.-E., Gilson, M. K.: *Calculation of cyclodextrin binding affinities: energy, entropy, and implications for drug design*. Biophysical Journal 87 (2004), S. 3035-3049
- [166] Cirri, M., Maestrelli, F., Orlandini, S., Furlanetto, S., Pinzauti, S., Mura, P.: *Determination of stability constant values of flurbiprofen-cyclodextrin complexes using different techniques*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 37 (2005), S. 995-1002
- [167] Cirri, M., Rangoni, C., Maestrelli, F., Corti, G., Mura, P.: *Development of fast-dissolving tablets of flurbiprofen-cyclodextrin complexes*. Drug Development and Industrial Pharmacy 31 (2005), S. 697-707
- [168] Govindarajan, R., Nagarsenker, M. S.: *Influence of preparation methodology on solid-state properties*

- of an acidic drug-cyclodextrin system.* Journal of Pharmacy and Pharmacology 56 (2004), S. 725-733
- [169] Lipkowitz, K. B., Green, K. M., Yang, J.-A., Pearl, G., Peterson, M. A.: *Theoretical study of enantiodifferentiation in solid state cyclodextrins.* Chirality 5 (1993), S. 51-57
- [170] Leherste, L., Latour, Th., Vercauteren, D. P.: *Topological analysis of electron density maps of chiral cyclodextrin-guest complexes: a steric interaction evaluation.* Supramolecular Science 2 (1995), S. 209-217
- [171] Bratu, I., Gavira-Vallejo, J. M., Hernanz, A.: *¹H-NMR study of the inclusion processes for α - and γ -cyclodextrin with fenbufen.* Biopolymers 77 (2005), S. 361-367
- [172] Sortino, S., Giuffrida, S., Fazio, S., Monti, S.: *Spectroscopic characterization and photochemical behavior of host-guest complexes between β -cyclodextrin and drugs containing a biphenyl-like chromophore.* New Journal of Chemistry 25 (2001), S. 707-713
- [173] Ventura, C. A., Puglisi, G., Giammona, G., Bottino, F. A.: *Comparative study on inclusion compounds of 4-Biphenylacetic acid with β -cyclodextrin, hydroxypropylated- β -cyclodextrins, and methylate- β -cyclodextrins.* Drug Development and Industrial Pharmacy 20 (14) (1994), S. 2245-2265
- [174] Vueba, M. L., Pina, M. E., Batista de Carvalho, L. A. E.: *Conformational stability of ibuprofen: assessed by DFT calculations and optical vibrational spectroscopy.* Journal of Pharmaceutical Sciences 97 (2008), S. 845-859
- [175] Bondesson, L., Mikkelsen, K. V., Luo, Y., Garberg, P., Ågren, H.: *Hydrogen bonding effects on infrared and raman spectra of drug molecules.* Spectrochimica Acta Part A 66 (2007), S. 213-224
- [176] Vueba, M. L., Pina, M. E., Veiga, F., Sousa, J. J., Batista de Carvalho, L. A. E.: *Conformational study of ketoprofen by combined DFT calculations and Raman spectroscopy.* International Journal of Pharmaceutics 307 (2006), S. 56-65
- [177] Wei, M., Shi, S., Wang, J., Li, Y., Duan, X.: *Studies on the intercalation of naproxen into layered double hydroxide and its thermal decomposition by in situ FT-IR and in situ HT-XRD.* Journal of Solid State Chemistry 177 (2004), S. 2534-2541
- [178] Sagdinc, S., Pir, H.: *Spectroscopic and DFT studies of flurbiprofen as dimer and its Cu(II) and Hg (II) complexes.* Spectrochimica Acta Part A 73 (2009), S. 181-194
- [179] Haman Bayari, S., Sagdinc, S.: *Molecular structure and vibrational spectra of γ -oxo [1,1'-biphenyl]-4-butanoic acid (fenbufen) and its interaction with ofloxacin.* Journal of structural Chemistry 19 (2008), S. 381-390
- [180] El-Barghouthi, M. I., Al-Degs, Y. S.: *Interactions of some organic compounds with α -, β - and γ -cyclodextrins: a molecular mechanics study.* Asian Journal of Chemistry 16 (1) (2004), S. 207-212