

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Kemijski odsjek

Franjo Sakoman

Student 1. godine poslijediplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

**Primjena spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju za analizu ciklodekstrinskih sustava**

**Kemijski seminar Ⅰ**

Zavod za analitičku kemiju

Prema radu: A. H. Mazurek, Ł. Szeleszczuk, *Int. J. Mol. Sci.* **24** (2023) 1–21.

Zagreb, 2025.

Sadržaj

[§ 1. UVOD 1](#_Toc195959676)

[§ 2. Prikaz odabrane teme 2](#_Toc195959677)

[2.1. Ciklodekstrini 2](#_Toc195959678)

[2.2. Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju 7](#_Toc195959679)

[2.3. Pristupi analizi ciklodekstrinskih sustava pomoću ssNMR 12](#_Toc195959680)

[2.3.1. Izravna polarizacija (DP) 14](#_Toc195959681)

[2.3.2. Eksperimenti s promjenjivim vremenom kontakta (VCT) 15](#_Toc195959682)

[2.3.3. Proučavanje drugih jezgri u CD sustavima 15](#_Toc195959683)

[2.3.4. Relaksacijska mjerenja 15](#_Toc195959684)

[2.3.5. Dvodimenzionalni (2D) ssNMR pristupi 16](#_Toc195959685)

[2.4. Kategorizacija primjene ssNMR-a u analizi CD kompleksa prema ulozi CD-a 16](#_Toc195959686)

[2.4.1. Proučavanje CD sustava kao nosače lijekova 16](#_Toc195959687)

[2.4.2. Nanospužve i funkcionalizirani CD-ovi 18](#_Toc195959688)

[2.4.3. CD sustavi kao odstranjivači onečišćivala i senzorski uređaji 19](#_Toc195959689)

[2.5. Ograničenja i izazovi primjene ssNMR spektroskopije u analizi CD sustava 20](#_Toc195959690)

[§ 3. ZAKLJUČAK 22](#_Toc195959691)

[§ 4. Popis oznakA, kraticA i simbolA (prema potrebi) 23](#_Toc195959692)

[§ 5. LITERATURNI IZVORI xxv](#_Toc195959693)

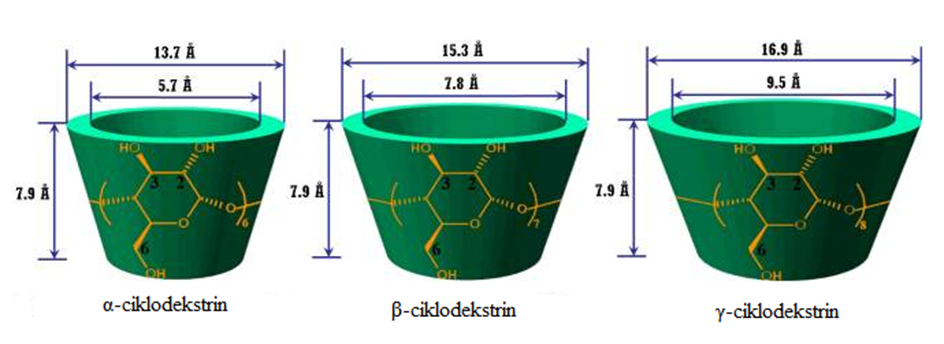
1. UVOD

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi građeni od glukopiranoznih jedinica povezanih α-1,4-glikozidnim vezama, a svojom strukturom nalikuju krnjem stošcu s hidrofobnom šupljinom. Ova struktura omogućuje formiranje inkluzijskih kompleksa s raznim molekulama gosta putem nekovalentnih interakcija, najčešće u središnjoj šupljini molekule CD-a. Takva sposobnost dovela je do široke primjene ciklodekstrina u brojnim industrijama (npr. farmaceutske, prehrambene, kozmetičke, tekstilne i ekološke) u svrhu poboljšanja topljivosti, stabilnosti, bioraspoloživosti i kontrole otpuštanja različitih aktivnih tvari. Zbog njihove biorazgradivosti, biokompatibilnosti i svestranosti, ciklodekstrini i materijali temeljeni na njima pronalaze sve širu primjenu u novim područjima. Iako se inkluzijski kompleksi CD-a mogu proučavati raznim metodama, spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju (ssNMR) nudi jedinstvene prednosti. Primjerice, primjenom ssNMR spektroskopije moguće je detaljno definirati unutarnju strukturu, proces kompleksiranja te molarni omjer između ciklodekstrina i molekule gosta.1 Za razliku od NMR spektroskopije u otopini, ssNMR omogućuje analizu uzoraka bez potrebe za otapanjem, što je posebno važno za amorfne, polikristalne i kristalne uzorke. U tom kontekstu, ssNMR je postala neizostavna metoda za analizu materijala kod kojih je kristalna struktura teško dostupna ili nerazlučiva drugim metodama.2

Prikazano je kako se ssNMR spektroskopija koristi za analizu ciklodekstrinskih sustava, s posebnim naglaskom na supramolekulske interakcije i karakterizaciju inkluzijskih kompleksa. Fokus je stavljen na primjenu ssNMR-a u farmaceutskim sustavima, sustavima za uklanjanje zagađivala, funkcionalnim nanospužvama te različitim derivatima i funkcionalizacijama CD-a. Uz pregled najčešće korištenih eksperimentalnih pristupa (npr. CP-MAS, DP, VCT, relaksacijska mjerenja i 2D korelacijske tehnike), također su naglašene mogućnosti, prednosti i ograničenja ove tehnike, kao i uloga ssNMR-a u razumijevanju molekulske dinamike i stabilnosti kompleksa.1

1. Prikaz odabrane teme
   1. Ciklodekstrini

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi građeni od glukopiranoznih jedinica međusobno povezanih α-1,4-glikozidnom vezom. Nastaju prirodnom enzimskom razgradnjom škroba djelovanjem ciklodekstrin-glikoziltransferaza (CGTaza), pri čemu su najzastupljeniji oni sa šest (α-ciklodekstrini), sedam (β-ciklodekstrini) i osam (γ-ciklodekstrini) glukopiranoznih jedinica. Struktura ciklodekstrina podsjeća na krnji stožac sa središnjom šupljinom, pri čemu se primarne hidroksilne skupine nalaze na užem, a sekundarne hidroksilne skupine na širem obodu molekule (slika 1).1,3–5



Slika 1. Strukture i dimenzije α, β i γ-ciklodekstrina (preuzeto i prilagođeno prema4).

Zahvaljujući takvoj strukturi ciklodekstrini imaju hidrofilni vanjski dio topljiv u vodi te hidrofobni (lipofilni) unutrašnji dio, što im omogućuje stvaranje ''domaćin:gost'' odnosa sa širokim rasponom drugih molekula, kao i sudjelovanje u stvaranju složenijih makromolekula.1,3–5 Broj glukopiranoznih jedinica određuje unutarnji promjer središnje šupljine i njezin volumen, a središnja šupljina β-ciklodekstrina je pogodna za kompleksiranje aromata i heterocikličkih spojeva, zbog čega su oni najkorišteniji. U usporedbi s α i γ-ciklodekstrinima, β-ciklodekstrine karakterizira slabija topljivost u vodenom mediju zbog prisutnih sedam vodikovih veza koje nastaju između C2-OH i C3-OH susjedne glukopiranozne jedinice. Ograničena topljivost u vodenom mediju ograničava njihovu primjenu, ali su podložni derivatizaciji korištenjem različitih reagensa kako bi se dobili derivati poboljšane topljivosti. Sinteza derivata uključuje esterifikaciju, eterifikaciju ili aminaciju primarne ili sekundarne hidroksilne skupine. Kako bi se dobili homogeni derivati ciklodekstrina, bez smjese različitih izomera, nužna je primjena regioselektivnih reagensa, optimizacija reakcijskih uvjeta te odvajanje konačnih produkata. Ovisno o vrsti kemijske skupine, derivati ciklodekstrina razlikuju se u volumenu hidrofobne središnje šupljine, topljivosti, stabilnosti, enantioselektivnosti i interakciji s molekulom gosta.3,5 Oralna bioraspoloživost prirodnih ciklodekstrina i njihovih najčešće korištenih derivata općenito je manja od 4 % zbog njihove hidrofilnosti, velike molekulske mase, brojnih donorskih i akceptorskih mjesta za vodikove veze te osjetljivosti na bakterijsku razgradnju. Toksikološka istraživanja pokazala su da su ciklodekstrini uglavnom netoksični jer se ne apsorbiraju u gastrointestinalnom sustavu. Iznimka je nasumično metilirani derivat β-ciklodekstrina, čija je bioraspoloživost povećana (iznosi oko 12 %) zbog veće lipofilnosti i smanjenog broja donora vodikovih veza. Zbog potencijalne oralne toksičnosti, njegova primjena ograničena je isključivo na nazalne i topikalne formulacije.3,6,7

Kao što je ranije navedeno, ciklodekstrini mogu tvoriti inkluzijske komplekse s različitim molekulama u čvrstom, tekućem i plinovitom stanju. Kako bi se stvorio inkluzijski kompleks samo dio molekule mora ući u središnju šupljinu, odnosno jedna ili dvije molekule gosta mogu stvarati kompleks s jednom, dvjema ili više molekula ciklodekstrina. Najčešći stehiometrijski omjer nastanka kompleksa gost:ciklodekstrin je 1:1.7,8



Slika 2. Shematski prikaz inkluzijskih kompleksa različitih stehiometrija8

Nastanak inkluzijskih kompleksa ne uključuje cijepanje ili stvaranje kovalentnih veza već se molekula gosta nalazi u dinamičkoj ravnoteži slobodnog i vezanog oblika. Smatra se da pokretačka sila, potrebna za stvaranje inkluzijskih komplekasa, dolazi iz različitih izvora, npr. od otpuštanja molekula vode visoke entalpije iz središnje šupljine, van der Waalsove interakcije, vodikove veze, smanjenje napetosti ciklodekstrinskog prstena itd. Međutim, da bi molekula gosta i ciklodekstrin formirali inkluzijski kompleks, potrebno je osigurati povoljnu steričnu okolinu i odgovarajuće termodinamičke interakcije. Cijeli proces nastajanja inkluzijskog kompleksa mora imati povoljan ukupan energijski učinak kako bi uopće došlo do uklapanja molekule gosta u središnju šupljinu CD. Ukoliko molekula gosta ili neka njezina funkcionalna skupina nisu odgovarajuće veličine u odnosu na ciklodekstrin, inkluzijski kompleks neće nastati. Kada molekula gosta uđe u središnju šupljinu CD, ona prolazi kroz konformacijske prilagodbe kako bi maksimalno iskoristila slabe van der Waalsove sile. Također, dolazi do zamjene nepovoljnih polarno-nepolarno interakcija između molekula vode i središnje šupljine CD s povoljnijim nepolarno-nepolarno interakcijama inkluzijom hidrofobnog gosta, čime se smanjuje napetost CD prstena i dolazi do njegove stabilizacije.3,5,9

Uklapanje velikog broja spojeva u čvrstom, tekućem ili plinovitom stanju u središnju šupljinu ciklodekstrina može dovesti do povoljnih fizikalno-kemijskih modifikacija koje inače nisu ostvarive. To korisno svojstvo ciklodekstrina da se koriste kao pomoćne (farmaceutske) tvari pronašlo je široku primjenu u različitim područjima, neke od kojih su obuhvaćene s primjerima u tablici 1.1,3

Tablica 1. Sažeti prikaz primjene ciklodekstrina u različitim industrijama1

|  |  |
| --- | --- |
| Industrija | Primjeri primjene ciklodekstrina |
| Farmaceutska | Poboljšanje topljivosti (bioraspoloživosti) i stabilnosti lijekova, zaštita od razgradnje/vanjskog utjecaja, maskiranje neugodnih okusa i mirisa |
| Biomedicina | Nosači lijekova za ciljanu dostavu i kontrolirano oslobađanje, biokompatibilni materijali za medicinske primjene |
| Kozmetika | Stabilizacija aktivnih sastojaka, poboljšanje mirisa i produljenje učinkovitosti |
| Prehrambena | Zaštita okusa, boja i mirisa, produljenje roka trajanja, poboljšanje topljivosti lipofilnih sastojaka |
| Tekstilna | Antimikrobna svojstva, povećanje otpornosti na vlaku i mrlje |
| Ekologija | Uklanjanje organskih zagađivala i teških metala iz vode i tla, poboljšanje procesa pročišćivanja |
| Materijali i nanotehnologija | Razvoj nanospužvi, polimernih materijala, funkcionalnih površina, kontrolirano otpuštanje aktivnih tvari |

Priprava ciklodekstrinskih kompleksa moguća je u otopinama i u čvrstom stanju, a izbor metode pripreme je važan korak u razvoju tih formulacija. U mnogim je slučajevima odabrana metoda za pripravu kompleksa značajno utječe na strukturu i svojstva konačnog produkta, pri čemu kruti kompleks može poprimiti amorfnu ili kristaličnu fazu, a ponekad čak dolazi i do razlika u omjeru molekula domaćina i gosta.1 Priprava inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina u čvrstom stanju dijeli se na tri glavne skupine: metode u otopini, metode u polu-čvrstom stanju i metode u čvrstom stanju. Metode u otopini uključuju otapanje molekule gosta i ciklodekstrina u vodi ili smjesi vode i organskog otapala, pri čemu se temperatura i pH prilagođavaju kako bi se postigla maksimalna interakcija između komponenti. Iako su ove metode široko korištene, njihovi glavni nedostaci su visoka potrošnja energije, vremena i organskih otapala poput etanola i metanola, čije uklanjanje može biti zahtjevno, a njihova prisutnost u konačnom čvrstom proizvodu može uzrokovati toksične učinke, što dodatno ograničava primjenu ovih metoda. Za razliku od metoda u otopini, metode u polu-čvrstom stanju temelje se na gnječenju smjese molekule gosta i ciklodekstrina uz dodatak male količine vode ili smjese vode i etanola, čime nastaje homogena masa koja se zatim suši i prevodi u prah. Međutim, ove metode često rezultiraju samo djelomičnim kompleksiranjem molekule gosta i ciklodekstrina, što može utjecati na konačna svojstva proizvoda. Kod metoda u čvrstom stanju primjenjuju se mikrovalno zračenje, blago zagrijavanje u zatvorenoj posudi na temperaturi ispod točke taljenja spojeva te mehanokemijska aktivacija mljevenjem smjese molekule gosta i ciklodekstrina u različitim vrstama mlinova. Za razliku od mikrovalnog zračenja i zagrijavanja, pri kojima može doći do razgradnje molekule gosta, mljevenje se ističe kao jednostavna, brza, ekološki prihvatljiva i učinkovita metoda za pripravu inkluzijskih kompleksa u čvrstom stanju. Procesi priprave u čvrstom stanju poput zajedničkog mljevenja, gnječenja, liofilizacije, koprecipitacije i isparavanja otapala široko su opisani u literaturi.1,10,11

Proučavanje procesa kompleksacije ciklodekstrinima, kao i detaljna karakterizacija nastalih kompleksa, predstavlja složen eksperimentalni izazov. U tu svrhu obično je potrebno upotrijebiti više analitičkih tehnika, pri čemu se dobiveni rezultati zajednički interpretiraju, jer svaka metoda pruža uvid u određeno svojstvo gosta ili samog kompleksa. Temeljita i višestruka karakterizacija nužna je za detaljnije razumijevanje interakcija koje se uspostavljaju između ciklodekstrina i molekule gosta, što u konačnici omogućuje pravilan odabir najpogodnijeg ciklodekstrina ili njegovog derivata za određenu primjenu. Većina tih tehnika temelji se na detekciji promjena fizikalnih ili kemijskih svojstava molekule gosta koje nastaju kao posljedica interakcije s ciklodekstrinom.

U analizi inkluzijskih i nespecifičnih kompleksa ciklodekstrina u otopinama najčešće se primjenjuju spektroskopske metode, među kojima se ističu UV/Vis apsorpcijska spektroskopija, cirkularni dikroizam, spektrofluorimetrija, spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije te elektronska spinska rezonancija. Također se koriste elektroanalitičke tehnike (polarografija, voltametrija, potenciometrija i konduktometrija), tehnike odjeljivanja tj. separacije (tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti i kapilarna elektroforeza), polarimetrija te izotermna titracijska kalorimetrija.9

S druge strane, za karakterizaciju kompleksa u čvrstom stanju uobičajeno se koriste tehnike termičke analize (diferencijalna pretražna kalorimetrija, DSC i termogravimetrijska analiza, TGA), tehnike temeljene na difrakciji rendgenskih zraka (na monokristalu i na polikristalnim uzorcima), spektroskopske tehnike (infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom, tehnika prigušene totalne refleksije te Ramanova spektroskopija) i pretražna elektronska mikroskopija (engl. *scanning electron microscopy,* SEM).10 Osim navedenih tehnika za analizu kompleksa gost:ciklodekstrin u čvrstom stanju, u posljednje vrijeme sve češće se primjenjuju i različiti oblici spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju (engl. *solid–state nuclear magnetic resonance*, ssNMR).1

* 1. Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju

Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju analitička je nedestruktivna tehnika s raznovrsnom primjenom za određivanje kemijske strukture, 3D strukture te dinamičkih svojstava čvrstih i polučvrstih tvari. Za razliku od mnogih drugih analitičkih tehnika, značajna prednost spektroskopije NMR čvrstog stanja je mogućnost analize uzoraka u njihovom izvornom stanju bez potrebe za prethodnom kemijskom modifikacijom ili kristalizacijom. Spektri se često snimaju na uzorcima pri prirodnoj izotopnoj zastupljenosti (bez izotopnog obogaćivanja), a rotori koji se koriste kao spremnici omogućuju izravno pakiranje ili centrifugiranje praškastih, pastoznih, gelastih, vlaknastih ili membranskih materijala. Obzirom da su rotori hermetički zatvoreni, moguće je proučavati osjetljive i hidratizirane uzorke, bez izlaganja zraku ili gubitka vlage. Spektroskopija NMR u čvrstom stanju omogućuje detaljnu analizu strukture, dinamike i sastava uzoraka, postoji veliki izbor pulsnih sljedova i eksperimenata te je primjenjiva na širok raspon materijala. Također se sve češće koriste računalne metode kao nadopuna eksperimentalnim podatcima spektroskopije NMR, jer pomažu u pouzdanijoj interpretaciji dobivenih rezultata. Međutim, glavni nedostatci ssNMR-a su niska osjetljivost, duga vremena akvizicije, kompleksna interpretacija podataka, zahtjevno izotopno obogaćivanje za pojedine uzorke (npr. za 13C ili 15N) i skupa oprema.2,12

U spektroskopiji NMR čvrstog stanja sudjeluju različite vrste interakcija, uključujući dipolne, kvadrupolne, spin-spin te Zeemanove interakcije. Sve su te interakcije anizotropne prirode, odnosno ovise o orijentaciji molekula u odnosu na smjer vanjskog magnetskog polja. Među njima se osobito ističe anizotropija kemijskog pomaka. Za razliku od spektara NMR u otopini, gdje su učinci anizotropije i dipol-dipol sprezanja zanemarivi i rijetko se očituju (brzo izotropno kretanje molekula uprosječuju te interakcije na nulu), u čvrstom stanju oni značajno utječu na spektar. Zbog njih su signali u ssNMR spektrima obično prošireni i imaju znatno lošiju rezoluciju u usporedbi sa spektrima u otopini. Kod spektroskopije NMR čvrstog stanja potrebno je primijeniti određene tehnike kako bi se smanjile anizotropne interakcije, poboljšala rezolucija, povećala osjetljivost (omjer signal/šum) jezgri s malim magnetožirnim omjerom (konstanta koja ovisi o magnetskom momentu ispitivane jezgre) i prirodnom zastupljenošću, te skratilo vrijeme relaksacije i vremena potrebnog za eksperiment (povećanjem efikasnosti relaksacije spin-rešetka). Od tih se tehnika posebno ističu vrtnja pri magičnom kutu (engl. *magic angle spinning*, MAS) te križna polarizacija (engl. cross–polarization, CP). Uz tehnike za suzbijanje anizotropnih i dipolarnih interakcija također postoje moderne tehnike (engl. *recoupling*) kojima se selektivno, u određenom dijelu eksperimenta, ponovno uvode prethodno uklonjene anizotropne interakcije. Tako se uz zadržavanje rezolucije može dobiti strukturna informacija sustava iz anizotropnih interakcija.2,12,13

Vrtnja pri magičnim kutom (MAS) uklanja učinke anizotropije kemijskog pomaka te pomaže pri smanjenju učinka heteronuklearnog i homonuklearnog dipolnog sprezanja. Uzorak se smjesti u cilindrični rotor duž osi z i rotira pod kutem *θ* = 54,7° u odnosu na vektor primijenjenog magnetskog polja *B*0 te se na taj način nastoji oponašati kretanje molekula u otopini (slika 3).

Slika na kojoj se prikazuje dijagram, tekst, skeč, crta

Sadržaj generiran umjetnom inteligencijom može biti netočan.

Slika 3. Vrtnja uzorka pri magičnom kutu unutar cilindričnog rotora. Uzorak rotira pri magičnim kutem *θR*  (kut rotacije uzorka oko osi vrtnje) u odnosu na primijenjeno magnetsko polje *B*0. Tenzor zasjenjenja je prikazan elipsoidom, pri čemu je *θ* kut između *B*0 i z osi tenzora zasjenjenja, a β kut između z osi tenzora zasjenjenja i osi oko koje rotira uzorak. Preuzeto i prilagođeno prema2

Prosječna ovisnost orijentacije interakcije nuklearnog spina (3cos2 *θ* – 1) prikazana je izrazom:

(1)

pri čemu su: *θR* kut rotacije uzorka oko osi vrtnje, *B*0 vektor primijenjenog magnetskog polja, *θ* kut između *B*0 i z osi, β kut između z osi tenzora zasjenjenja i osi oko koje rotira uzorak.

Za optimalnu redukciju anizotropnih interakcija u spektroskopiji ssNMR, nužno je odabrati odgovarajuću brzinu vrtnje pod magičnim kutem pri kojoj je linija (engl. *peak*) signala najuža. Ta brzina mora biti otprilike tri do četiri puta veća od intenziteta anizotropne interakcije koja se želi ukloniti. Ako brzina vrtnje nije dovoljna (frekvencija vrtnje je manja od anizotropije kemijskog pomaka), uz liniju izotropnog kemijskog pomaka pojavljuju se dodatne bočne linije, tzv. *spinning sidebands*, koje nestaju pri višim brzinama vrtnje. Izotropna linija jedina ostaje nepromijenjena pri različitim brzinama vrtnje, što omogućuje njezino određivanje. U slučajevima kada se ne može postići dovoljna brzina vrtnje, koristi se posebni pulsni slijed TOSS (engl. *Total Suppression of Spinning Sidebands*), koji uključuje početni 90° puls za generiranje transverzalne magnetizacije, praćen nizom 180° pulseva koji rotiraju magnetizaciju oko osi x i time uklanjaju artefakte (lažne signale, odnosno spektralne smetnje) uzrokovane nedovoljnom vrtnjom. Iako je cilj ukloniti *spinning sidebands*, oni se mogu i iskoristiti za dobivanje informacija o prirodi anizotropnih interakcija. Kritično je i precizno postavljanje magičnog kuta (*θ* ≈ 54,7°), jer odstupanja uzrokuju proširenje linija u spektru. Za pravilno postavljanje, koristi se uzorak s izraženim signalima pri umjerenoj brzini vrtnje (~3 Hz), snima se više spektara, odabire se spektralno najintenzivniji središnji signal i podešava frekvencija rezonancije. Kada je kut optimalno postavljen, moguće je detektirati desetak ili više *spinning sidebands* sa svake strane središnjeg signala.2,12

Križna polarizacija (CP) je iduća najčešće korištena tehnika kod ssNMR-a, koja se primjenjuje zbog olakšavanja snimanja spektara i poboljšavanja signala uzoraka kod kojih je mala vjerojatnost prisutnosti više od jedne magnetski aktivne jezgre unutar molekule. Odnosno, CP tehnika omogućuje prijenos magnetizacije putem heteronuklearnih dipolarnih interakcija s jezgri visoke prirodne zastupljenosti i visokog magnetožirnog omjera (1H) na manje zastupljene magnetski aktivne jezgre (npr. 13C). Najveće moguće povećanje intenziteta signala odgovara omjeru žiromagnetskih konstanti dviju jezgri. Pri snimanju spektara slabo zastupljenih jezgri (X) veliki problem često predstavlja nepovoljan omjer signala i šuma te duga relaksacijska vremena, zbog kojih je potrebno između pojedinih snimanja uvesti pauze koje mogu trajati i do nekoliko minuta. Pulsni slijed križne polarizacije (slika 4.) učinkovito prevladava probleme niske osjetljivosti i dugih relaksacijskih vremena kod prirodno slabo zastupljenih jezgri na način da omogućuje prijenos magnetizacije s protona na ciljanu jezgru. Može se zamisliti da se spinski sustavi obje jezgre nalaze u rotirajućem koordinatnom sustavu oko z-osi, koja odgovara smjeru vanjskog magnetskog polja *B*0.2

Slika na kojoj se prikazuje snimka zaslona, dijagram, tekst, crta

Sadržaj generiran umjetnom inteligencijom može biti netočan.

Slika 4. Pulsni slijed križne polarizacije. Preuzeto i prilagođeno prema2

U početnoj fazi eksperimenta, primjenjuje se inicijalni puls koji generira transverzalnu magnetizaciju usmjerenu duž -y osi. Nakon toga, na obje se jezgre istovremeno primijeni kontaktni puls kako bi se ta magnetizacija stabilizirala i održala u istom smjeru, čime se omogućuje učinkoviti prijenos signalne informacije. Za razumijevanje mehanizma prijenosa magnetizacije u križnoj polarizaciji, koristi se koncept dvostruko rotirajućeg referentnog sustava u kojem se radiofrekvencijski impulsi primijenjeni na obje vrste jezgri (¹H i X) čine statičnima duž y-osi tijekom trajanja kontaktnog pulsa. U tom sustavu, u trenutku početka kontaktnog pulsa jezgre X još uvijek nisu polarizirane. Prijenos magnetizacije između jezgri omogućuje dipolna sprega, koja djeluje kroz komponente okomite na kvantizacijsku os spina. Budući da ti operatori ne mogu mijenjati ukupnu polarizaciju duž glavne osi magnetskog polja niti ukupnu energiju spinskog sustava, prijenos magnetizacije se odvija u obliku kompenzacijskih promjena – rotacija jednog spina (1H) uzrokuje istovremenu i suprotnu promjenu drugog spina (X). Taj proces je energetski uravnotežen, odnosno neto promjena energije iznosi nula. Kada su frekvencije rotacije u oba sustava izjednačene, što se postiže ispunjenjem Hartmann–Hahnovog uvjeta, prijenos magnetizacije je najdjelotvorniji. Hartmann-Hahnov uvjet je prikazan izrazom (2):

(2)

pri čemu su i žiromagnetski omjeri za jezgre X i 1H, a (X) i (¹H) radiofrekvencijska polja 1H i jezgre X.2

Prije provođenja križne polarizacije na uzorku, eksperimentalni uvjeti se optimiziraju pomoću standardnog referentnog uzorka, koji mora sadržavati obje vrste jezgri u razumnoj koncentraciji i međusobnoj prostornoj blizini. Takav uzorak omogućuje dobar prijenos polarizacije. Poželjno je da jezgra s koje se prenosi magnetizacija (najčešće 1H) ima relativno kratko relaksacijsko vrijeme, čime se omogućuje brzo snimanje testnih spektara. Istovremeno, jezgra X na koju se prenosi polarizacija trebala bi pokazivati signale unutar sličnog spektralnog raspona kao u mjerenom uzorku. U slučaju da se koristi vrtnja pri magičnim kutem (engl. *cross-polarization magic angle spinning*, CP-MAS), prije svega treba odrediti optimalnu brzinu vrtnje za eksperiment. Brzina ne smije biti previsoka u odnosu na jačinu dipolnih interakcija koje omogućuju prijenos magnetizacije, jer u suprotnom učinkovitost polarizacijskog prijenosa može znatno opasti. Većina modernih CP pulsnih programa uključuje i rasprezanje tijekom akvizicije (prikupljanja signala) kako bi se dodatno poboljšala kvaliteta spektra (smanjilo širenje linija signala). Odnosno, rasprezanje (engl. *decoupling*) je kontinuirano radiofrekvencijsko polje primijenjeno na protonskoj frekvenciji tijekom trajanja akvizicije, čime se učinkovito uklanjaju heteronuklearne dipolne i skalarne interakcije između jezgri te time postiže veća kvaliteta dobivenih podataka. U početnoj fazi eksperimenta, kanal za 1H jezgre se postavlja na rezonantnu frekvenciju te se određuje približno trajanje 90° pulsa, što ne mora biti potpuno precizno jer će se kasnije bolje optimizirati tijekom eksperimenta križne polarizacije. Završna faza uključuje precizno podešavanje snage radiofrekvencijskih polja za obje jezgre kako bi se zadovoljio Hartmann–Hahnov rezonantni uvjet, čime se osigurava optimalan prijenos magnetizacije. Kada su svi uvjeti pravilno postavljeni na standardnom uzorku, mogu se iskoristiti za mjerenje ostalih uzoraka.2,12

Osnovu većine analiza čini 1D MAS ili CP-MAS, a višedimenzijska NMR spektroskopija čvrstog stanja omogućuje dobivanje preciznih informacija o međuatomskim interakcijama koje nisu dostupne konvencionalnim tehnikama. Među takvim eksperimentima ističe se heteronuklearna korelacija kemijskih pomaka (engl. *heteronuclear correlation*, HETCOR), kojom se povezuju signali različitih vrsta jezgri (najčešće 1H i 13C), čime se dobiva uvid u njihov prostorni raspored i međusobnu blizinu.2,12

* 1. Pristupi analizi ciklodekstrinskih sustava pomoću ssNMR

Zbog raznolikosti dostupnih eksperimenata, spektroskopija NMR čvrstog stanja nudi niz pristupa za karakterizaciju ciklodekstrinskih kompleksa. Unatoč rastućem interesu za ovakve sustave, broj CD kompleksa čija je analiza potkrijepljena kristalnim strukturama i dalje je vrlo ograničen. To se ponajprije može pripisati činjenici da su mnogi od tih kompleksa amorfni ili polikristalni, dok se kod kristalnih uzoraka, čak i kada je stehiometrija jasno definirana, rijetko može dobiti kristal dovoljne veličine i kvalitete za snimanje difrakcijom na monokristalu. Ipak, za potpuno razumijevanje supramolekulskih promjena koje nastaju prilikom kompleksiranja, ključno je poznavanje molekulske strukture materijala na bazi ciklodekstrina. Upravo tu značajnu prednost donosi ssNMR, budući da pruža informacije koje drugim analitičkim metodama često ostaju nedostupne. Osobito je korisna za određivanje orijentacije molekule gosta unutar šupljine CD-a te za procjenu stabilnosti kompleksa u čvrstom stanju. Osim toga, omogućuje kvantitativnu analizu različitih faza, uključujući razlikovanje kompleksiranih i slobodnih molekula gosta, kao i praćenje lokalne molekulske dinamike i prirode međumolekulskih interakcija između gosta i domaćina.1

Pregled relevantne literature pokazuje da je 13C CP-MAS NMR spektroskopija jedna od najčešće primjenjivanih tehnika u analizi ciklodekstrinskih sustava u čvrstom stanju. Riječ je o logičnom odabiru za analizu molekulskih čvrstih tvari i njihovih smjesa, budući da ova metoda omogućuje snimanje spektra visoke rezolucije, čak i kod strukturno složenih i djelomično amorfnih uzoraka. Kao što je prethodno spomenuto, tehnika križne polarizacije temelji se na heteronuklearnim dipolnim interakcijama, zbog čega je osjetljiva na međuatomske udaljenosti i dinamička svojstva molekula. Upravo ta svojstva omogućuju da se CP-MAS koristi za praćenje molekulske dinamike u složenim sustavima, što je od osobite važnosti kod supramolekulske organizacije poput inkluzijskih kompleksa. 13C CP-MAS spektar pruža informacije o kemijskim i strukturnim značajkama uzorka, a koristan je i za detekciju promjena u stupnju kristaličnosti i formiranju inkluzijskih kompleksa. Ključni spektralni parametri koji se u tom kontekstu prate uključuju cijepanje signala, promijene kemijskih pomaka te promjene širine linija (engl. *linewidths*). U mnogim slučajevima se, radi jasnije interpretacije rezultata, uzorci uspoređuju s odgovarajućim fizičkim smjesama komponenti, čime se potvrđuje proces uključenja (engl. *inclusion*) i dobiva uvid u prirodu interakcije između molekula domaćina i gosta.1 Na slici 5 prikazane su opisane spektralne promjene (cijepanje signala, promjene kemijskih pomaka i širine linija), gdje su Braga i sur. uspoređivali 13C CP-MAS spektre lijeka efavirenza, γ-ciklodekstrina i njihovih kompleksa.14

Slika na kojoj se prikazuje tekst, dijagram, Plan, karta

Sadržaj generiran umjetnom inteligencijom može biti netočan.

Slika 5. 1H→13C CP-MAS ssNMR spektri (a) efavirenza (EFV), (b) γ-ciklodekstrina (γ-CD), (c) kompleksa (γ-CD)₃:(EFV)₂ i (d) kompleksa γ-CD:EFV, uz odgovarajuće strukture. Preuzeto i prilagođeno prema14

Uz standardne ¹³C CP-MAS eksperimente, u literaturi su zabilježeni i primjeri primjene složenijih ssNMR pristupa, čija je svrha proširiti spektroskopsku karakterizaciju ovih sustava. U nastavku će biti sažeto prikazani ti pristupi, uz isticanje najzanimljivijih primjera.1

* + 1. Izravna polarizacija (DP)

U slučajevima kada je molekula gosta slabo protonirana, prednost se često daje izravnoj polarizaciji (engl. *direct polarization*, DP) koja uključuje izravnu pobodu 13C jezgri bez posredovanja protona. Cilj DP eksperimenta je istaknuti signal molekule gosta, obzirom da to može rezultirati povećanjem omjera intenziteta signala gosta u odnosu na domaćina. Osim toga, budući da se 13C CP-MAS spektroskopija temelji na prijenosu magnetizacije putem dipolne sprege, a DP metoda ne ovisi o tom mehanizmu, usporedba CP i DP spektara može pružiti komplementarne informacije i doprinijeti detaljnijem razumijevanju međumolekulskih odnosa između domaćina i gosta u kompleksu.1

* + 1. Eksperimenti s promjenjivim vremenom kontakta (VCT)

Jedan eksperiment koji se rijetko primjenjuje je eksperiment s varijabilnim vremenom kontakta (engl. *variable contact time*, VCT). Ova tehnika se temelji na činjenici da sustavi na bazi ciklodekstrina mogu pokazivati razlike u protonskom relaksacijskom vremenu u rotirajućem sustavu (*T*₁ρ), što omogućuje dodatnu razlučivost među prisutnim fazama. Snimanjem ¹³C CP/MAS spektara pri različitim vremenima kontakta moguće je dobiti niz spektara u kojima se relativni intenziteti signala različitih komponenti mijenjaju ovisno o njihovom okruženju. Na taj način VCT pristup ne samo da omogućuje detekciju broja faza, već i selektivno pojačavanje ili potiskivanje određenih signala, što može biti korisno u asignaciji. Posebna primjena ove tehnike zabilježena je u istraživanju nanospužvi (poroznih polimernih nanočestica) s i bez prisutnih molekula gosta, gdje se osim strukturnih značajki prati i molekulska dinamika sustava. Rezultati obrade VCT podataka često se interpretiraju kao "dinamički otisak prsta" sustava, koji može poslužiti za karakterizaciju polimer–lijek kompleksa, osobito u slučajevima kada strukturne razlike između vezanih i ne vezanih sustava nisu jasno izražene.1

* + 1. Proučavanje drugih jezgri u CD sustavima

Obzirom na elementarni sastav ciklodekstrina, 13C NMR u čvrstom stanju se najčešće koristi za njihovu analizu. Ostale jezgre, poput ¹H i ²H, primjenjuju se rjeđe; pritom se ²H NMR koristi za detaljnu analizu odabranih dijelova sustava, osobito u strukturno složenim. U određenim slučajevima, spektroskopija drugih jezgri kao što su ⁷Li, ¹⁵N ili ³¹P može biti vrlo korisna, ovisno o sastavu molekule gosta. Takvi eksperimenti omogućuju određivanje omjera domaćin:gost u čvrstom stanju te detekciju prisutnosti različitih faza, budući da se kemijski pomaci istih jezgri razlikuju kod kompleksirane i slobodne molekule gosta.1

* + 1. Relaksacijska mjerenja

Relaksacijska mjerenja, osobito određivanje spin-rešetka relaksacijskog vremena (T₁), često se koriste za praćenje molekulske mobilnosti u ciklodekstrinskim sustavima. Primjerice, u istraživanju CD–limaprost kompleksa15 pomoću ²H NMR, T₁ vrijednosti deuteriranih atoma ukazale su na to da mobilnost voda unutar CD šupljine igra ključnu ulogu u stabilizaciji kompleksa. U drugom primjeru16, temperaturno ovisna analiza CD–polianilinskog kompleksa pokazala je da uključenje gosta u ciklodekstrin potiče torzijsko gibanje polianilinskog lanca, smanjuje intermolekulske π–π interakcije i time dodatno olakšava dinamiku sustava.1

* + 1. Dvodimenzionalni (2D) ssNMR pristupi

Iako se većina informacija o ciklodekstrinskim kompleksima u čvrstom stanju dobiva primjenom jednodimenzionalnih (1D) ssNMR eksperimenata, u literaturi su zabilježeni i izolirani složeniji primjeri uz primjenu dvodimenzionalnih (2D) tehnika, poput WISE (engl. *two-dimensional WIde-line SEparation*), HETCOR (engl. *two-dimensional HETeronuclear chemical shift CORrelation experiments*), GCOSY (engl. *Gradient Correlation SpectroscopY*) i GHSQC (engl. *Gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*). Te se metode koriste kada postoji velik rizik preklapanja signala ili kada je cilj dobiti detaljniji uvid u dinamička i strukturna svojstva sustava.1

* 1. Kategorizacija primjene ssNMR-a u analizi CD kompleksa prema ulozi CD-a
     1. Proučavanje CD sustava kao nosače lijekova

Najčešća i najraširenija primjena ciklodekstrina u farmaceutskim sustavima odnosi se na njihovu ulogu nosača lijekova. U tom kontekstu, ssNMR spektroskopija u čvrstom stanju koristi se primarno za dokazivanje stvaranja kompleksa, karakterizaciju njihove strukture te određivanje čimbenika koji doprinose stabilnosti uključenja lijeka u šupljinu CD-a. Budući da se ciklodekstrini najčešće primjenjuju kako bi se poboljšala topljivost i bioraspoloživost farmaceutskih tvari, ssNMR se često koristi i za razlikovanje amorfnih i kristaličnih oblika kompleksa, kao i za usporedbu različitih metoda priprave. Dodatni motiv za primjenu ssNMR-a u tim sustavima jest određivanje ili procjena molarnog omjera između CD-a i molekule gosta.1

Primjer takvog pristupa je prikazan u radu Arrúa i sur.17, gdje su 13C i 15N CP-MAS NMR spektroskopijom potvrđene interakcije između prazikvantela i različitih derivata β-ciklodekstrina (metilirani i hidroksipropilirani β-CD). Spektralna analiza ukazala je na stvaranje stabilnih kompleksa s molarnim omjerom gosta i domaćina 1:2, pri čemu je utvrđeno da se aromatski dio molekule prazikvantela smješta unutar šupljine CD-a. Značajno proširenje signala u kompleksima u odnosu na slobodni lijek također je sugerirao prijelaz u amorfnu formu, što je važna karakteristika za poboljšanje topljivosti. Prikazani rezultati ističu sposobnost ssNMR-a da razlikuje kompleksirane i slobodne komponente te pruži podatke o lokalnoj strukturi i dinamici sustava. Na slici 6 prikazani su odabrani ¹³C CP-MAS spektri prazikvantela, β-CD-a i njihovih kompleksa s različitim derivatima CD-a koji vizualno potvrđuju razlike u kemijskim pomacima i širini linija između kompleksiranih i slobodnih komponenti.17

Slika na kojoj se prikazuje dijagram, skeč, crtež, tekst

Sadržaj generiran umjetnom inteligencijom može biti netočan.

Slika 6. 13C CP-MAS spektri dobiveni za kristalni prazikvantel (PZQ), amorfni PZQ te za sustave PZQ s β-CD, metiliranim β-CD (Me-β-CD) i hidroksipropiliranim β-CD (HP-β-CD) u molarnom omjeru 1:2 (odozdo prema gore). Spektralna područja koja prikazuju rezonancije PZQ prikazane su s proširenom vertikalnom skalom. Preuzeto i prilagođeno prema17

Također značajan primjer integrirane primjene različitih analitičkih pristupa predstavlja rad Carvalhoa i sur.18 o inkluzijskim kompleksima furazolidona i derivata β-ciklodekstrina. U ovom istraživanju, spektroskopija NMR u čvrstom stanju (13C CP-MAS) korištena je za potvrdu kompleksiranja te za razlikovanje kompleksiranih i slobodnih komponenti, pri čemu su promjene u spektrima, poput širenja linija i gubitka jasnoće signala, ukazivale na prijelaz iz kristalične u amorfnu fazu. Autori su usporedili dvije metode priprave (gnječenje i liofilizaciju) te zaključili da je liofilizacija, osobito u molarnom omjeru 1:2, rezultirala stabilnijim i strukturno definiranijim kompleksima, što je potvrđeno kombinacijom ssNMR, Raman spektroskopije i XRD analize. Osim toga, predložena je i moguća geometrija uključenja furazolidona unutar šupljine ciklodekstrina.18

U usporedbi s radom Arrúa i sur.17, koji se također ističe kombinacijom više ssNMR eksperimenata, određivanjem molarnog omjera i analizom kristaličnosti na primjeru prazikvantela, rad Carvalho i sur. dodatno doprinosi sustavnoj karakterizaciji uključujući više metoda priprave, kvantitativnu procjenu stupnja amorfizacije te istraživanje utjecaja različitih derivata CD-a na efikasnost kompleksiranja. Time ovaj rad objedinjuje gotovo sve prethodno istaknute komponente analize ssNMR-om ciklodekstrinskih sustava.1,18

Još jedno zanimljivo istraživanje bavi se kompleksom albendazola sa sukciniliranim β-CD u uzorcima dobivenima raspršnim sušenjem. S obzirom na to da albendazol može postojati u nekoliko tautomernih oblika, usporedbom kemijskih pomaka kompleksa s referentnim oblicima, ssNMR je omogućio određivanje udjela pojedinih tautomera prisutnih u analiziranom kompleksu.1,19

U zasebnu skupinu spadaju kompozitni sustavi u kojima su CD-ovi kovalentno vezani na celulozne matrice, poput vlakana ili hidrogelova. Takvi materijali imaju primjenu u kontroliranom otpuštanju lijekova i antimikrobnoj aktivnosti, a pritom se ciklodekstrini koriste kao funkcionalni nositelji. Dosadašnja istraživanja tih sustava pokazala su da je ssNMR ključna tehnika ne samo za strukturnu karakterizaciju kompleksa, već i za potvrdu uspješnosti kovalentnog vezanja CD-a na celuloznu osnovu.1

* + 1. Nanospužve i funkcionalizirani CD-ovi

Nanospužve predstavljaju porozne polimerne nanočestice koje se primjenjuju kao sustavi za uklanjanje toksina ili kao nosači lijekova. Prvi sintetizirani nanospužvasti sustavi sadržavali su ciklodekstrine, zbog čega se za njih koristio naziv „ciklodekstrinske nanospužve”. Nanospužve su strukture građene od CD-a i umrežavajućih (engl. *cross-linking agents*) sredstava, čime se formira stabilna trodimenzionalna mreža. U kontekstu karakterizacije nanospužvi, ssNMR spektroskopija koristi se za potvrdu formiranja sustava, strukturnu analizu umreženog materijala i dokazivanje uključenja molekule gosta u CD šupljinu. Zanimljiv primjer upotrebe ssNMR-a uključuje istraživanje u kojem su ispitivani učinci pomoćnih tvari (engl. *excipients*) na osnovi relaksacijskih vremena ugljikovih jezgri. Temeljni princip pritom je da mobilniji atomi ugljika sporije relaksiraju, što se interpretira kao plastificirajući učinak pomoćne tvari. Dok su prvi nanospužvasti sustavi izrađeni isključivo od nativnih ciklodekstrina, danas se sve češće primjenjuju derivatizirani CD-ovi. Tako je pokazano da metiliranje CD-a povećava njegovu sposobnost ugradnje u polimernu mrežu, vjerojatno zbog povećane hidrofobnosti. Nanospužve nisu jedini polimerni sustavi temeljeni na ciklodekstrinima, također se izrađuju i mikrosfere koje se mogu analizirati ssNMR-om kako bi se odredila njihova unutarnja struktura.1

Posebno područje istraživanja čini i funkcionalizacija ciklodekstrina, tj. ciljane kemijske modifikacije koje se provode isključivo na CD-u. Tako se primjerice modifikacijom β-CD fosfornim skupinama dobiva materijal prikladan za primjenu u vatrootpornim premazima prihvatljivima za okoliš. Budući da fosfor sudjeluje u građi takvih sustava, za potvrdu strukture koristi se ³¹P ssNMR spektroskopija.1

* + 1. CD sustavi kao odstranjivači onečišćivala i senzorski uređaji

Nakon primjene u farmaceutici, druga po učestalosti uloga ciklodekstrinskih kompleksa je njihova primjena kao sustava za uklanjanje onečišćivala. Takvi sustavi ciljano vežu organske zagađivače iz vode, uključujući toksične spojeve poput p-nitrofenola, naftalena ili kemikalije koje ometaju endokrini sustav, kao što su bisfenol A i drugi estrogeni spojevi. Ovi funkcionalni sustavi mogu biti izrađeni i u obliku matrica na bazi silikagela koje sadrže ciklodekstrine. Spektroskopija NMR čvrstog stanja omogućuje sveobuhvatnu analizu sustava za uklanjanje onečišćivala: strukturna karakterizacija sustava i potvrde uključenja molekule gosta, usporedbe metoda kristalizacije te određivanje kristalične ili amorfne prirode dobivenog materijala. Drugim riječima, ssNMR nudi detaljan uvid u prirodu samog kompleksa i dokazuje formiranje interakcija između CD-a i onečišćivala. Jedan od takvih primjera uključuje sustav za uklanjanje p-nitrofenola, gdje je ssNMR analizom ustanovljeno da dolazi do smanjenja intenziteta signala jedne karbonilne skupine, što se tumači kao esterifikacija karboksilne skupine poliakrilne kiseline prilikom vezanja s ciklodekstrinom. Nadalje, za razliku od usko definiranih signala hidratiziranih CD-ova, široke rezonancijske linije u spektru dobivenom nakon priprave sustava ukazuju na njegov amorfni karakter.1

Tematski odvojeno, ali tehnički srodno područje je primjena CD-ova u senzorskim sustavima za detekciju iona. U tim slučajevima ssNMR se koristi kako bi se potvrdilo uključivanje određenog iona u ciklodekstrinsku strukturu.1

* 1. Ograničenja i izazovi primjene ssNMR spektroskopije u analizi CD sustava

Unatoč brojnim prednostima i širokom primjenom spektroskopije NMR u čvrstom stanju u analizi ciklodekstrinskih sustava, važno je spomenuti i neke njezine izazove i nedostatke koji mogu utjecati na eksperimentalni plan i interpretaciju rezultata.1

Rezultati dobiveni ovom metodom nisu uvijek jednoznačni ni lako protumačivi. Naime, očekivane promjene u spektrima ciklodekstrinskih sustava često se mogu pokazati nedovoljno izraženima ili teško razlučivima, što može proizlaziti iz nekoliko razloga. Jedan od najčešćih uzroka su slabe međumolekulske interakcije između domaćina i gosta, što rezultira samo neznatnim razlikama u kemijskim pomacima između kompleksirane i nekompleksirane (slobodne) molekule gosta. Osim toga, sastav uzorka dodatno može zakomplicirati spektroskopsku analizu: u ¹³C spektrima ciklodekstrina, slobodnih ili kompleksiranih, javlja se velik broj signala unutar širokog raspona od približno 50 do 100 ppm, zbog čega se signali gosta često preklapaju sa signalima CD-a. U određenim slučajevima, podešavanje eksperimentalnih parametara kao što su vrijeme kontakta u CP eksperimentu ili trajanje relaksacijskog vremena između akvizicija može omogućiti selektivno pojačanje signala molekule gosta. No, takav pristup najčešće nije dostatan, budući da su razlike u relaksacijskim svojstvima između gosta i domaćina često premale da bi ih se uspješno iskoristilo za razdvajanje signala.1

Dodatni izazov proizlazi iz agregatne faze uzorka. Za razliku od spektara otopina, gdje brza molekulska gibanja uprosječuju anizotropne interakcije, rezultirajući spektri u čvrstom stanju odražavaju puni hamiltonijan međuatomskih interakcija. Zbog toga dolazi do značajnog proširenja linija u spektru, nerijetko izvan dostupnog spektralnog raspona. Kako bi se smanjila širina signala, u čvrstom stanju se primjenjuje rotacija uzorka pri magičnom kutu (MAS), kojom se postiže fizikalno uprosječenje tenzora anizotropije kemijskog pomaka i smanjenje dipolarnih interakcija. Iako MAS pri frekvencijama rotacije oko 15 kHz (što je standard za većinu ssNMR sondi) značajno poboljšava rezoluciju, u potpunosti ne uklanja dipolne sprege, osobito one koje uključuju protone. Zbog toga se tijekom prikupljanja signala često primjenjuje visokosnažno rasprezanje kako bi se dodatno suzbile te interakcije.1

Uz tehničke izazove vezane uz interpretaciju signala, prisutni su i praktični nedostaci metode. To uključuje relativno visoku cijenu analize, ali i dulje trajanje mjerenja potrebnog za dobivanje spektra zadovoljavajuće kvalitete, osobito kada se uspoređuje s jednostavnijim i bržim tehnikama kao što su infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy,* FT-IR) ili rendgenska difrakcija na prahu (engl. *powder X-ray diffraction*, PXRD).1

1. ZAKLJUČAK

Spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju (ssNMR) pokazala se iznimno korisnom analitičkom tehnikom u proučavanju supramolekulskih sustava temeljenih na ciklodekstrinima. Iako nije među najčešće korištenim tehnikama za ovu vrstu materijala, njezina svestranost i sposobnost detekcije lokalnih strukturnih i dinamičkih promjena čini ju posebno pogodnom za dublju karakterizaciju ovih kompleksnih sustava. Spektroskopija ssNMR omogućuje analizu uzoraka različitog stupnja uređenosti, od amorfnih, mikrokristaličnih i polimorfnih, pa sve do visoko kristaličnih materijala, ali i smjesa više faza. Korištenjem tehnika poput ¹³C CP-MAS, u kombinaciji s eksperimentima izravne polarizacije, varijabilnog vremena kontakta, 2D korelacijskih spektara ili relaksacijskih mjerenja, omogućena je detaljna karakterizacija kompleksnih sustava u čvrstom stanju. Tako je moguće dobiti informacije o prirodi i stabilnosti uključenja molekule gosta u šupljinu CD-a, omjeru domaćin:gost, stupnju kristaličnosti sustava te prisutnosti slobodnih i kompleksiranih komponenti u čvrstoj fazi. Dodatno, ssNMR omogućuje identifikaciju mjesta interakcije unutar molekule gosta, a razlike u kemijskim pomacima između kompleksiranog i slobodnog oblika mogu poslužiti za karakterizaciju tipa supramolekularne interakcije. U nekim slučajevima moguće je čak i odrediti energiju aktivacije reakcije kompleksiranja, što metodu čini korisnom i u kinetičkim istraživanjima.

Metoda je pronašla primjenu u različitim područjima, od farmaceutskih formulacija, funkcionaliziranih nosača, nanospužvi i senzorskih sustava, do sustava za uklanjanje onečišćivala iz okoliša. Unatoč tehničkim izazovima, poput dugog vremena mjerenja, preklapanja signala i ograničene osjetljivosti za neke jezgre, metoda pokazuje izniman potencijal za kompleksnu i nedestruktivnu analizu krutih materijala.

Obzirom na stalni napredak i sve širu dostupnost opreme, može se očekivati da će ssNMR spektroskopija uskoro postati standardni pristup u analizi svih tipova ciklodekstrinskih materijala u čvrstom stanju. Sposobnost ssNMR-a da istovremeno pruži informacije o sastavu, strukturi i dinamici čini je jedinstvenim i nezamjenjivim alatom.

1. Popis oznakA, kraticA i simbolA (prema potrebi)

α-CD ‒ α-ciklodekstrin (engl. *α-cyclodextrin*)

β-CD ‒ β-ciklodekstrin (engl. *β-cyclodextrin*)

CD ‒ ciklodekstrin (engl. *cyclodextrin*)

CP – križna polarizacija(engl. cross–polarization)

CP-MAS – vrtnja pri magičnim kutem uz križnu polarizaciju (engl. *cross-polarization magic angle spinning*)

DSC ‒ diferencijalna pretražna kalorimetrija (engl. *differential scanning calorimetry*)

DP – izravna polarizacija (engl. *direct polarization*)

EFV – efavirenz

FT-IR ‒ infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

γ-CD ‒ γ-ciklodekstrin (engl. *γ-cyclodextrin*)

GCOSY – (engl. *Gradient Correlation SpectroscopY*)

GHSQC – (engl. *Gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*)

HETCOR – heteronuklearna korelacija kemijskih pomaka (engl. *heteronuclear correlation*)

HPβCD ‒ hidroksipropil β-ciklodekstrin (engl. *hidroxypropyl β-cyclodextrin*)

MAS – vrtnja pri magičnom kutu (engl. *magic angle spinning*)

NMR spektroskopija ‒ spektroskopija nuklearne magnetne rezonancije (engl. *nuclear magnetic resonance spectroscopy*)

PZQ - prazikvantel

PXRD ‒ rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku (engl. *powder x*–*ray diffraction*)

RMβCD ‒ nasumično metilirani β-ciklodekstrin (engl. *randomly methylated β-cyclodextrin*)

ssNMR - spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije u čvrstom stanju (engl. *solid–state nuclear magnetic resonance*)

SEM ‒ pretražna elektronska mikroskopija (engl. *scanning electron microscopy*)

TGA – termogravimetrijska analiza (engl. *thermoravimetric analysis*)

TOSS - (engl. *Total Suppression of Spinning Sidebands*)

UV/Vis ‒ ultraljubičasto i vidljivo područje elektromagnetskog spektra (engl. *ultraviolet-visible*)

VCT - eksperiment s varijabilnim vremenom kontakta (engl. *variable contact time*)

WISE – (engl. *two-dimensional WIde-line SEparation*)

XRD – (engl. *X-ray diffraction analysis*)

XRPD ‒ rendgenska difrakcija na praškastom uzorku (engl. *X-ray powder diffraction*)

1. LITERATURNI IZVORI
2. A. H. Mazurek, Ł. Szeleszczuk, *Int. J. Mol. Sci.* **24** (2023) 3648, 1–21.
3. M. J. Duer, *Solid-state NMR Spectroscopy: Principles and applications*, Blackwell Science, Oxford, 2002.
4. E.M.M. Del Valle, *Process Biochem.* **39** (2004) 1033–1046.
5. J. Zhang, P. X. Ma, *Adv. Drug Delivery Rev.* **65** (9) (2013) 1215–1233.
6. M. Jug, M. Bećirević-Laćan, *Farm. Glas.* **58** (2002) 189–204.
7. T. Loftsson, M. E. Brewster, *J. Pharm. Pharmacol.* **62** (2010) 1607–1621.
8. P. Jansook, N. Ogawa, T. Loftsson, *Int. J. Pharm.* **535** (2018) 272–284.
9. N. Morin-Crini, S. Fourmentin, É. Fenyvesi, E. Lichtfouse, G. Torri, M. Fourmentin, G. Crini, 130 Years of Cyclodextrin Discovery for Health, Food, Agriculture, and the Industry: a Review, *Environ. Chem. Lett.* **19** (2021) 2581–2617.
10. P. Mura, *J. Pharma. Biomed. Anal.* **101** (2014) 238–250.
11. P. Mura, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **113** (2015) 226–238.
12. M. Jug, P. A. Mura, *Pharmaceutics* **10** (2018) 189.
13. M. Reif, S. E. Ashbrook, L. Emsley, M. Hong, *Nat. Rev. Methods Primers*, **1** (2) (2021) 1–23.
14. I. G. Shenderovich, H.-H. Limbach, *Solids* **2** (2021) 139–154.
15. S. S. Braga, F. El-Saleh, K. Lysenko, F.A. Almeida Paz, Molecules **26** (3) (2021) 1–12.
16. Y. Inoue, D. Iohara, N. Sekiya, M. Yamamoto, H. Ishida, Y. Sakiyama, F. Hirayama, H. Arima, K. Uekama, *Int. J. Pharm*. **509** (2016) 338–347.
17. Y. Hasegawa, Y. Inoue, K. Deguchi, S. Ohki, M. Tansho, T. Shimizu, K. Yazawa, *J. Phys. Chem. B* **116** (6) (2012) 1758–1764.
18. E. C. Arrúa, M. J. G. Ferreira, C. J. Salomon, T. G. Nunes, Int. J. Pharm. **496** (2) (2015) 812–821.
19. S. G. Carvalho, D. F. Cipriano, J. C. C. de Freitas, M. A. S. Junior, E. R. Y. Ocaris, C. B. G. Teles, A. de Jesus Gouveia, R. P. Rodrigues, M. S. Zanini, J. C. O. Villanova, *Drug. Deliv. and Transl. Res.* **10** (2020) 1788–1809.
20. J. Priotti, A. Garcia, D. Leonardi, M.J. Ferreira, M. C. Lamas, T. G. Nunes, *Materials Science and Engineering C*, **92** (2018) 694–702.