

KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

**Syklodekstriinin isäntä–vieras-kompleksit ja niiden
sovellukset biolääketieteessä**

Kandidaatintutkielma
19.5.2022
Matias Lönnblad



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Tiivistelmä

Tässä kandidaatintutkielmassa keskitytään syklodekstriinien ja syklodekstriinipohjaisten molekyylien sovelluksiin biolääketieteessä, sekä tutustutaan erilaisiin syklodekstriinijohdannaisiin ja niiden ominaisuuksiin. Tutkielmassa käydään läpi erilaisten syklodekstriinien rakenteita, synteesejä ja käyttöä lääkkeiden, sekä geenien kuljetuksessa. Syklodekstriinien käyttö biolääketieteessä perustuu niiden kykyyn muodostaa isäntä–vieras-komplekseja erilaisten molekyylien kanssa. Syklodekstriineistä valmistettuja farmaseuttisia tuotteita tunnetaan monia, joista vain pieni osa on hyväksytty yleiseen käyttöön.

Esipuhe

Tämä kandidaatin tutkielma on tehty Jyväskylän yliopiston kemian laitokselle kevään 2022 aikana. Tutkielman kirjoittaminen aloitettiin tammikuussa ja saatiin päätökseen toukokuussa. Tiedonhaku suoritettiin pääasiassa käyttämällä Jykdok- ja Web of science-tiedonhakupalveluita. Kandidaatintutkielman ohjaajana toimi professori Kari Rissanen. Tahdon kiittää ohjaajaani Kari Rissasta ohjauksesta ja hyvästä aiheesta. Haluan myös kiittää opiskelukavereitani vertaistuesta.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	iii
Esipuhe	iv
Sisällysluettelo.....	v
Käytetyt lyhenteet	vi
1 Johdanto.....	1
2 Syklodekstriinit yleisesti	1
2.1 Rakenne	1
2.2 Synteesi.....	2
3 Amfifiiliset syklodekstriinit	3
3.1 Rakenne ja synteesi.....	3
3.2 Amfifiiliset syklodekstriininanopartikkelit	4
4 Syklodekstriinin isäntä–vieras-kompleksit.....	6
4.1 Muodostuminen	6
4.2 Isäntä–vieras-vuorovaikutusten tutkiminen.....	8
5 Syklodekstriinit lääkkeenkuljettajina	9
5.1 Syklodekstriini lääkemolekyylin osana	9
5.2 Amfifiiliset syklodekstriinit lääkkeenkuljettajina	11
6 Syklodekstriinipohjaiset geeninkuljetussysteemit	13
7 Yhteenveto.....	14
Kirjallisuusluettelo	16

Käytetyt lyhenteet

Lyhenne	Merkitys
CD	Syklodekstriini
API	Vaikuttava farmaseuttinen aine
CGTaasi	Syklodekstriiniglykosyylitransferaasi
siRNA	Pieni häiritsevä RNA
pDNA	Plasmidi-DNA

1 Johdanto

Uusia molekyyilejä tutkitaan jatkuvasti lääketieteellisiin käyttötarkoituksiin ja kiinnostus supramolekyylien käytöstä lääkkeiden ja geenien kuljettajina on lisääntynyt.¹ Monet lääkeaineet ovat heikosti vesiliukoisia ja kulkeutuvat huonosti elimistössä. Syklodekstriinit (CD) ovat suuria rengasrakenteisia hiilihydraatteja, jotka koostuvat useista sokeriyksiköistä. Syklodekstriinejä ja niiden johdannaisia on käytetty onnistuneesti supramolekulaaristen systeemien rakentamisessa ja hyödynnetty biolääketieteessä lääkkeiden ja geenien kuljettajina.^{1,2}

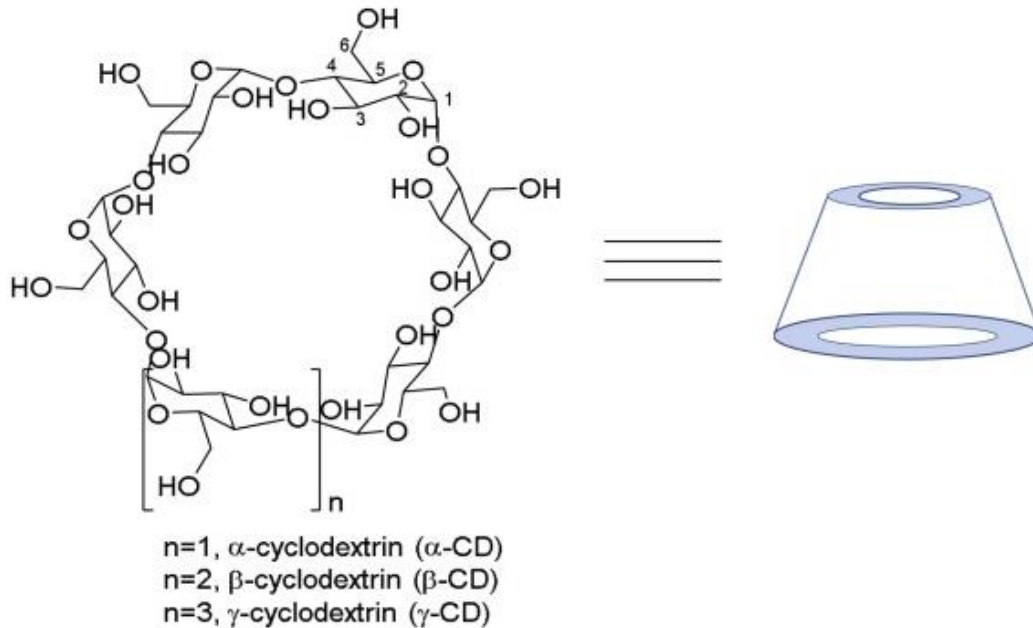
Syklodekstriinien käyttö lääkeaineen kuljettajana perustuu niiden kykyyn muodostaa isäntä–vieras-komplekseja, jossa lääkeaine stabiloituu syklodekstriinin hydrofobiseen eli vettä hylkivään onkaloon. Onkaloon sitoutunut lääkeaine on helpompi kuljettaa elimistössä, sillä sen kyky vuorovaikuttaa elimistön biomolekyylien kanssa on rajoittunut.^{1,3}

Syklodekstriinejä tutkitaan biolääketieteen lisäksi monella muulla teollisuuden osa-alueella, kuten ruoka- ja tekstiiliteollisuudessa, nanoteknologian osa-alueilla, kromatografiassa ja kosmetologiassa.⁴ Tässä kirjallisuuskatsauksessa keskitytään syklodekstriinien käyttöön biolääketieteessä etenkin lääkkeiden ja geenien kuljettajina.

2 Syklodekstriinit yleisesti

2.1 Rakenne

Syklodekstriinit (CD) ovat joukko makrosyklisiä oligosakkarideja, jotka kiinnittyvät toisiinsa α -1,4-glykosididisidoksin. Syklodekstriinien rakenne voidaan luokitella kolmeen pääkategoriaan, riippuen montako glukoosiyksikköä molekyylissä on kiinni. Alfa-syklodekstriini (α -CD) koostuu kuudesta glukoosiyksiköstä, β -CD seitsemästä ja γ -CD kahdeksasta (Kuva 1). Ne ovat kartion muotoisia molekyyilejä, joissa on kaksi vastakkaisella puolella sijaitsevaa aukkoa. Pienemmän aukon puolta kutsutaan primääripuoleksi ja suuremman aukon puolta kutsutaan sekundääripuoleksi. CD:n ulkoinen pinta on polaarinen ja hydrofiilinen, kun taas sisäosan onkalo on pooliton ja hydrofobinen. CD:n onkalon syvyys on 0,79 nanometriä. Alfa-1,4-glykosididisidos muodostuu yhden monosakkaridin 1-hiilen ja toisen monosakkaridin 4-hiilen hydroksyyliyhdyntien kondensaatioreaktiossa^{1,3}.



Kuva 1. Syklodekstriinin rakenne ja konformaatio.³ Reprinted from ref. 3, Copyright 2020, with permission from Elsevier.

Syklodekstriinit voivat toimia isäntämolekyyleinä eli ne pystyvät hydrofobisen onkalonsa ansiosta kaappaamaan vierasmolekyylin sisäänsä. Isäntä- ja vierasmolekyylin välillä vallitsee ei-kovalenttisia vuorovaikutuksia, joiden ansiosta vierasmolekyyli pysyy isäntämolekyylin sisällä. Näitä ei-kovalenttisia vuorovaikutuksia ovat vetysidokset, ioni-dipolisidokset ja elektrostaattiset vuorovaikutukset. Tällaisia kahden tai useamman molekyylin yhteenliittymiä kutsutaan yleisesti inkluusiokomplekseiksi tai isäntä–vieras-komplekseiksi ja molekyylien välistä vuorovaikutusta isäntä–vieras-vuorovaikutukseksi. Syklodekstriinien rakennetta voidaan muokata lisäämällä molekyyliin polaarisia, lipofiilisiä tai muita ryhmiä tai jopa polymerisoimalla niitä.^{1,3,5}

2.2 Synteesi

Syklodekstriinejä muodostuu tärkkelyksen entsyymaattisissa hajoamisreaktioissa. Entsyymeinä toimivat syklodekstriiniglykosyylitransferaasi eli 1,4- α -D-glukaani-4- α -D-(1,4- α -D-glukaano)-transferaasi (CGTaasi) ja osittain α -amylaasi. Tiettyä syklodekstriiniä voidaan syntetisoida selektiivisesti käyttämällä orgaanisia kompleksoivia aineita (liuotinprosessi). Jos orgaanisia kompleksoivia aineita ei käytetä (liotinvapaaprosessi), syntyy seos α -, β - ja γ -

syklodekstriinejä. Saatavaan seossuhteeseen voidaan vaikuttaa käyttämällä erilaisia CGTaa-entsyymejä ja muokkaamalla reaktio-olosuhteita.⁶

Alfa- (α -), beta- (β -), ja gamma- (γ -)syklodekstriinien vesiliukoisuus vaihtelee huomattavasti, jonka ansiosta ne voidaan erottaa ja puhdistaa suhteellisen vaivattomasti. Varsinkin β -CD, jonka vesiliukoisuus on vain 18,5 g/l voidaan erottaa helposti α - ja γ -syklodekstriineistä (vesiliukoisuudet 145 ja 232 g/l). Tämän vuoksi β -CD:n tuottaminen on halvempaa verrattuna muihin syklodekstriineihin. Saatu CD on yleensä kuivaa, hienoa ja kiteistä jauhetta.⁶

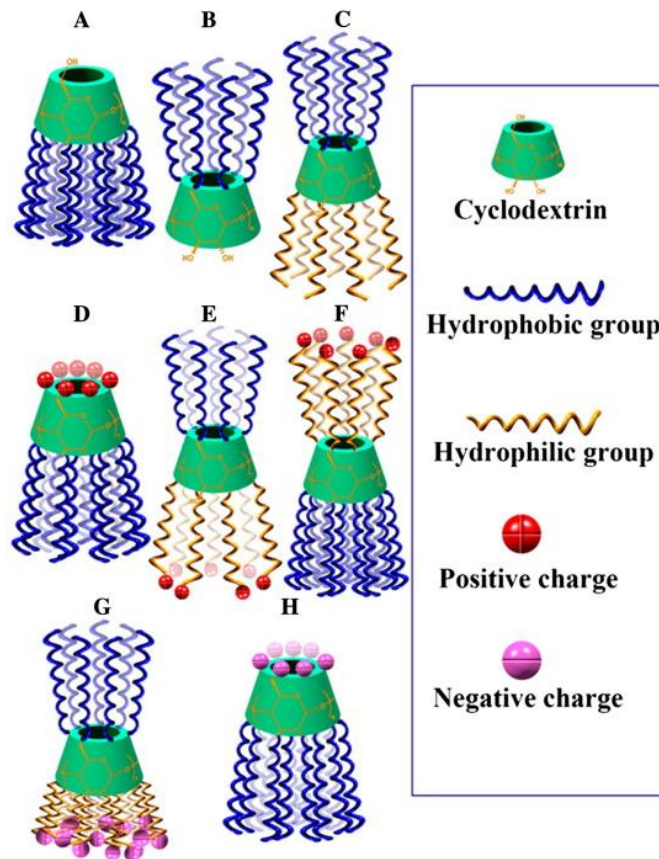
3 Amfifiiliset syklodekstriinit

3.1 Rakenne ja synteesi

Amfifiilinen molekyyli sisältää sekä hydrofiilisiä (vesiliukoisia) että lipofiilisiä (rasvaliukoisia) ominaisuuksia. Amfifiilisiä syklodekstriinejä saadaan liittämällä ei-aromaattisia hiiliketjuja CD:n primääri- tai sekundääripuolelle. Hiiliketjut sisältävät yleensä ester- tai amidiryhmiä.⁵ Amfifiiliset CD:t voivat järjestäytyä yksi- tai kaksikerroksiseksi vesikkeliksi, miselliksi tai nestekidenanopartikkeliksi. Kuvassa 2 on esitelty erilaisia amfifiilisiä syklodekstriinejä, joita ovat neutraalit, kationiset ja anioniset CD:t.^{1,5} Amfifiilisiä syklodekstriinejä syntetisoidaan pääasiassa lääkkeiden ja geenien kuljettajiksi.⁵

Amfifiilisten syklodekstriinien syntetisointiin käytetään usein β -syklodekstriiniä.^{5,7} CD:n kumpaakin päätyä voidaan muokata amfifiilisuuden saavuttamiseksi. Glukoosiyksiköistä voidaan korvata yksittäisiä tai useampia 2-,3- tai 6-hydroksyyli-ryhmiä lipofiilillä ryhmällä substituutioreaktioiden avulla. Useamman lipofiilisen ryhmän sisältävä CD liukenee kuitenkin huonosti veteen. Tästä johtuen molekyylin hydrofiilisyyttä voidaan tasapainoittaa lisäämällä syklodekstriiniin myös hydrofiilisiä ryhmiä.⁵⁻⁸

Hydroksyyli-ryhmien substituutio voidaan suorittaa halogeenijohdannaisien kautta, sillä ne osallistuvat helposti nukleofiilisiin reaktioihin. Substituutioreaktio on selektiivinen 2-hydroksyyli-ryhmään, sillä se on kaikista happamimmalla paikalla ja 3-hydroksyyli-ryhmä on vaikeapääsyisessä asemassa. Suojaavana ryhmänä käytetään yleensä tert-butyyldimetyylisilyyliä.⁸



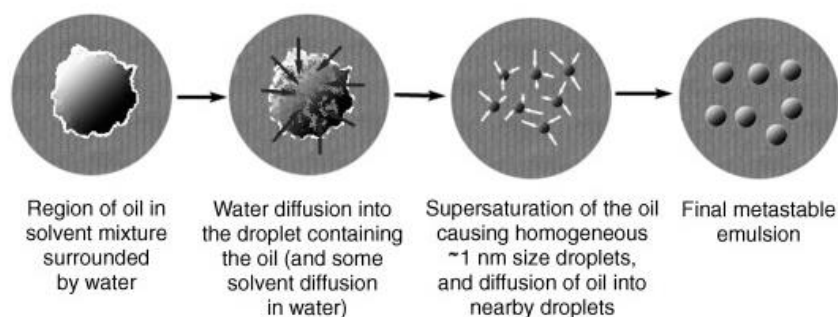
Kuva 2. Erilaisia amfifiilisiä syklodekstriinejä.¹ Reprinted from ref. 1, Copyright 2013, with permission from Elsevier.

3.2 Amfifiiliset syklodekstriininanopartikkelit

Amfifiiliset CD:t muodostavat itsenäisesti nanopartikkeleita vesiliuoksessa. Amfifiiliseksi muokattuja syklodekstriinejä on kehitetty pääasiassa lääkkeiden tai geenien kuljettajiksi. Muokkauksilla pyritään pääasiassa parantamaan lääkkeiden sitomis- ja vapautumiskykyä, parantamaan vuorovaikutuksia solujen kanssa ja lisäämään tai vähentämään sytotoksisuutta eli solumyrkyllisyyttä.^{5,9}

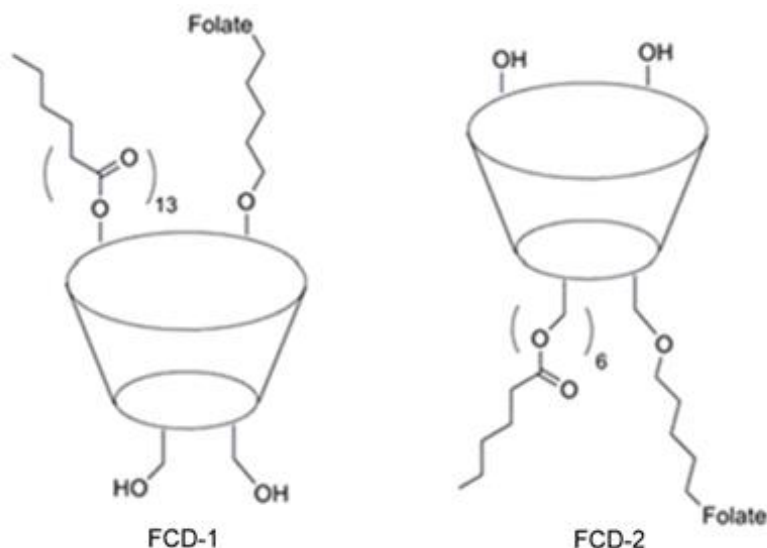
CD:t muodostavat kahdenlaisia nanopartikkeleita: nanokapseleita ja nanopalloja (nanosphere). Nanokapseli koostuu polymeerikalvosta sekä nestemäisestä ytimestä, joka on yleensä öljyä. Nanopallo muodostaa tiheän polymeerimatriksin. Nanopartikkelin koko voi vaihdella tyypillisesti 10–1000 nanometrin välillä. Öljy-ydin mahdollistaa lipofiilisten molekyylien sitoutumisen nanokapselin sisään.⁹

Nanopartikkeleita muodostetaan yleensä saostamalla ouzo-efektin avulla.¹⁰ Kaksi erilaista faasia (liotin- ja ei-liuotinfaasi) muodostaa rajapinnalle turbulenssin, jota hyödynnetään nanokapselin tai nanopallon kokoamisessa. Liuotinfaasiin, joka koostuu yleensä etanolista tai asetonista lisätään amfifiilista syklodekstriiniä, haluttua molekyyliä ja öljyä. Ei-liuotinfaasina toimii puhdas vesi ja usein ei-ioninen pinta-aktiivinen aine. Liotinfaasi kaadetaan ei-liotinfaasiin samalla sekoittaen, jolloin nanokapseleita syntyy spontaanisti. Vesi diffusoituu öljyä sisältäviin liotinpisaroihin, jolloin öljy ylikyllästyy, emulgoituu ja muodostaa nanokapseleita, jonka sisälle sieppautuu haluttuja molekyyliä.^{9,10} Nanopartikkeliön syntymekanismia tutkivat ensimmäisinä Quintanar-Guerrero *et al.*⁹ vuonna 1997. On myös muita tapoja muodostaa nanopartikkeleita, kuten inkluusiokompleksin muodostaminen valmiiksi lääkeaineesta ja CD:stä ja koota ne suoraan nanopartikkeleiksi.



Kuva 3. Ouzo-efekti.¹⁰ Reproduced from ref. 10, Copyright 2005, with permission from John Wiley and Sons.

Nanopartikkeliön kokoon voidaan vaikuttaa muuttamalla CD:n konsentraatiota saostusliuoksessa. Suurempi konsentraatio liuotinfaasissa lisää saostumisen määrää. Orgaanisen faasin viskositeetin kasvettua CD:n dispergoivuus eli hajoamiskyky huononee, jonka seurauksena syntyy suurempia nanopartikkeleita. Esimerkiksi β -syklodekstriineistä muokatut FCD-1- ja FCD-2-molekyylit (kuva 4) muodostavat nanopartikkeleita vesiliuoksessa. Niiden primääri- tai sekundaaripuolille on lisätty heksanoaatti- ja alkyyliryhmä yhdessä folaatin kanssa.⁵ FCD-1- ja 2-molekyyleistä koostuvia nanokapseleita käytetään kaappaamaan lääkemolekyylejä. Syöpälääkkeenä käytettävää paklitakselin sitoutumista tutkittiin erilaisilla FCD-molekyyliden konsentraatiolla. FCD-1-molekyyliden konsentraatiota kasvattamalla huomattiin nanokapseleiden koon kasvavan, joka lisäsi paklitakselin sitoutumista FCD-1-molekyylin sisään.⁵



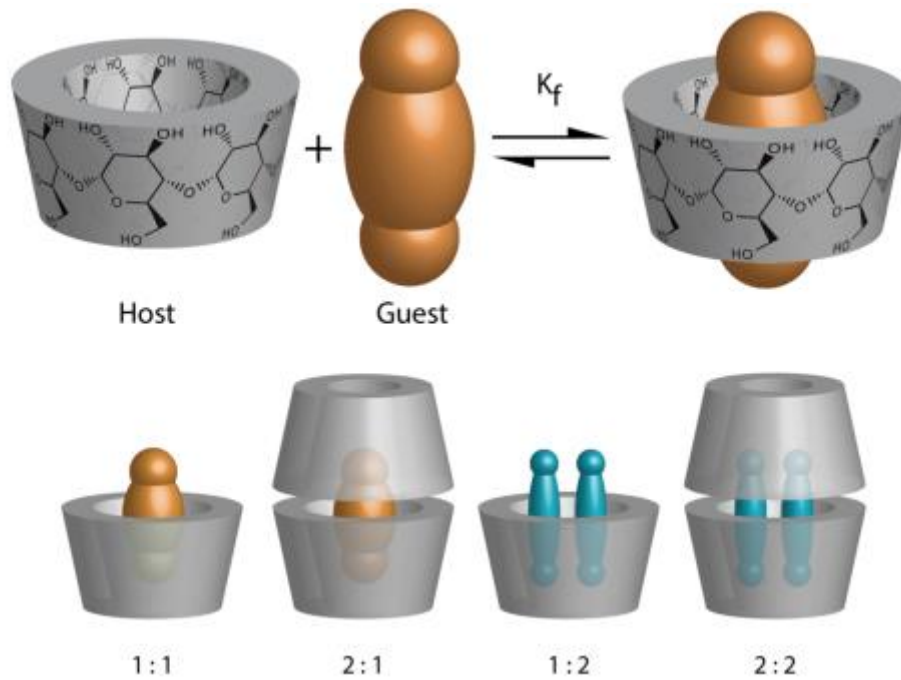
Kuva 4. FCD-1 ja FCD-2 molekyylit.⁵

4 Syklodekstriinin isäntä–vieras-kompleksit

4.1 Muodostuminen

Vesiliuoksessa CD:n onkalossa esiintyvät vesimolekyylit ovat energisesti epäsuotuisassa ympäristössä, johtuen onkalon hydrofobisesta luonteesta. Vesimolekyylejä poolittomat molekyylit voivat helposti korvata isäntämolekyylin sisällä olevat vesimolekyylit. Useampi kuin yksi vierasmolekyyli voi liittyä isäntämolekyylin sisään, mutta yleensä kompleksoituminen tapahtuu 1:1 suhteessa. Syntyvää kompleksia kutsutaan isäntä–vieras- tai inkluusiokompleksiksi. Vesiliuoksessa olevien CD-molekyyliden ja vierasmolekyyliden dissosiaation ja liittymisen välillä vallitsee kemiallinen tasapaino.^{11,4} Kuvassa 5 on esitetty inkluusiokompleksin muodostuminen isäntä- ja vierasmolekyyleistä sekä erilaisia inkluusiokomplekseja.

Syklodekstriinejä käytetään lääketieteessä vaikuttavan farmaseuttisen aineen (API) kuljettajana. API-molekyylin sitoutumiseen CD:n sisään vaikuttavat useat tekijät. API-molekyylissä on oltava hydrofobinen osa, jotta se voi vuorovaikuttaa hyvin isäntä-molekyylin hydrofobisen onkalon kanssa. Jos API-molekyylillä ei ole hydrofobista osaa, se ei pysty muodostamaan tarpeeksi pysyviä isäntä–vieras-vuorovaikutuksia CD:n kanssa. API-molekyylin funktionaaliset ryhmät sekä syklodekstriinien reunojen ja API-molekyylin väliset ei-kovalenttiset vuorovaikutukset vaikuttavat myös kompleksin syntyyn.²



Kuva 5. Inklusiokompleksin muodostuminen isäntä- ja vierasmolekyyleistä sekä erilaisia inklusiokomplekseja.⁴ Reprinted with permission from ref. 4. Crini, G., Review: A History of Cyclodextrins, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 10940–10975. Copyright 2014 American Chemical Society

API-molekyylin koko ja CD:n onkalo on syvyys ja reunojen leveys voivat rajoittaa sitoutumista. Jos onkalo on liian kapea, sen sisään voi mahtua vain osa API-molekyylin rakenteesta, kuten ohut suora hiilivetyketju. Jos CD:n onkalo on puolestaan liian leveä, molekyylien väliset vuorovaikutukset ovat liian heikkoja muodostaakseen pysyviä rakenteita.² Joissain tapauksissa isäntämolekyylin onkaloon voi mahtua kaksi API-molekyyliä, muodostaen 1:2 isäntä–vieras-komplekseja. Jos API-molekyyli sisältää aromaattisia renkaita, niin 1:2-sitoutuminen tapahtuu helpommin π - π vuorovaikutusten ansiosta, kun molekyylit pinoutuvat toistensa päälle. Isäntämolekyylit voivat myös isännöidä pidempiä molekyylejä, jos vieras molekyylin on mahdollista taittua isäntämolekyylin sisään. Tämä riippuu osittain konformaalisesta joustavuudesta. Lisäksi sitoutumiseen vaikuttaa synteessissä käytetty liuottimet, kuten vesi, alkoholi tai orgaaniset liuottimet.¹¹

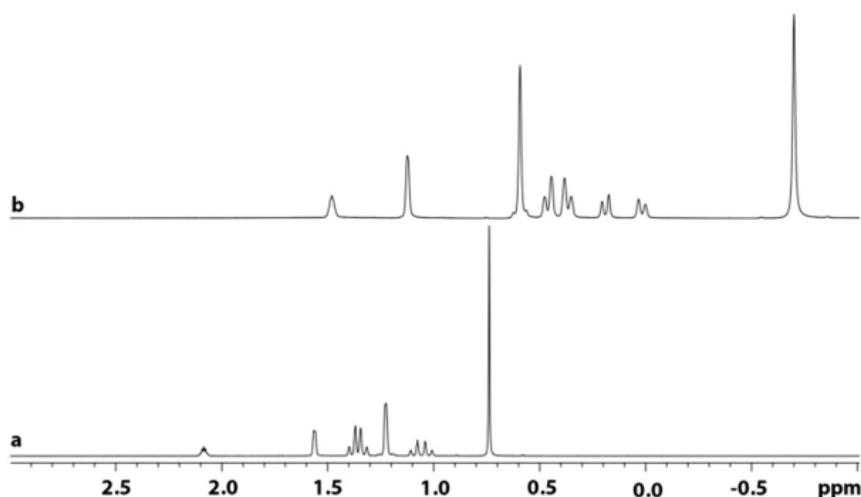
4.2 Isäntä–vieras-vuorovaikutusten tutkiminen

Makrosyklisen molekyylien isäntä–vieras-vuorovaikutuksia voidaan tutkia laajasti spektroskooppisilla menetelmillä. Spektroskopiaa voidaan hyödyntää määrittämään sidosten lujuuksia, molekyylien orientaatioita CD:n sisällä ja määrittämään mitkä osat molekyylistä ovat isäntämolekyylin sisällä. Wankar *et al.*¹² ovat tutkineet syöpälääkkeenä käytetyn etionamidin sitoutumista polymeerisiin β -CD-nanopartikkeleihin liukoisuusfaasidiagrammien, sirkulaaridikroismin, UV-Vis-spektroskopian ja fluoresenssin avulla. Tuloksia verrattiin β -CD-monomeereihin.

Sirkulaaridikroismi-spektroskopia on menetelmä, jolla voidaan tutkia optisesti aktiivisia kiraalisia molekyyliä, joita myös CD:t ovat. Valo voi olla sirkulaarisesti polarisoitunut vasemmalle tai oikealle ja absorboituvat eri tavalla optisesti aktiiviseen molekyyliin. Eikiraalisena molekyylinä etionamidi ei anna sirkulaaridikroismi-signaalia, mutta antaa signaalin, jos molekyyli on β -CD:n onkalossa, jossa on kiraalinen ympäristö. Sirkulaaridikroismi-spektrissä huomataan usein selkeämpiä muutoksia verrattuna UV-Vis-spektriin. Menetelmä on erityisen hyvä, kun tutkitaan α -CD, β -CD ja γ -CD syklodekstriinejä, jotka ovat luonnostaan kiraalisia molekyyliä.^{12,13}

Isäntämolekyyli varjostaa laajalti vierasmolekyyliä, joten ^1H -NMR-spektroskopia on osoittautunut erittäin hyödylliseksi tutkimusmenetelmäksi. Protonit isäntämolekyylin sisällä antavat varjostuksen seurauksena pienempiä siirtymiä kuin ulkopuolella olevat. Suuremmat siirtymät kertovat puolestaan protonien olevan isäntämolekyylin ulkopuolella tai reunalla. Tätä tietoa voidaan hyödyntää selvittäessä isäntä–vieras-vuorovaikutusten voimakkuutta ja laajuutta.² Kuvassa 6 on esitetty ^1H -NMR-spektrit memantiinista liuoksessa ja memantiinista liuoksessa yhdessä makrosyklin kanssa, osoittaen kompleksoitumisen.

UV-Vis-spektroskopiaa hyödynnetään usein inkluusiokompleksin muodostumisen tutkimisessa. Molekyylien absorptio muuttuu, kun vierasmolekyyli sitoutuu isäntämolekyylin onkaloon. Näin saadaan tietoa sitoutumisesta ja inkluusiokompleksin konsentraatiosta. Bakirci *et al.*¹³ tutkivat kaksirenkaisten atsoalkaanien sitoutumista β -CD:n sisään. Allonpituuden huomattin kasvavan inkluusiokompleksin muodostuessa.



Kuva 6. ^1H -NMR-spektri (a) memantiinista liuoksessa ja (b) memantiinista liuoksessa yhdessä makrosyklin kanssa samoilla konsentraatiolla, osoittaen kompleksoitumisen.²

Reprinted by permission from Springer nature license: Springer Nature, Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Macrocycles as drug-enhancing excipients in pharmaceutical formulations, Alice Gu *et al.*, copyright 2021.

5 Syklodekstriinit lääkkeenkuljettajina

5.1 Syklodekstriini lääkeainemolekyylien osana

Biolääketieteessä syklodekstriinejä käytetään pääasiassa lääkkeenkuljettajina tai komponentteina nanopartikkelien muodostuksessa.^{1,2,5} CD pystyy muodostamaan inkluusiokomplekseja API-molekyylien kanssa, jolloin koko API-molekyyli on kapseloitunut CD:n sisälle. Joissain tapauksissa itse syklodekstriiniä voidaan käyttää aktiivisena farmaseuttina aineena. Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston hyväksymiä syklodekstriineistä muodostettuja farmaseuttisia tuotteita tunnetaan yli 30. Taulukossa 1 on esimerkkejä kaupallisista syklodekstiinilääkevalmisteista.²

Monet lääkeaineet liukenevat huonosti veteen ja tarvitsevat liuottimen tai kuljettajamolekyylin toimiakseen elimistössä. Makrosyklisiä kantajamolekyyliä suositetaan, sillä muut vaihtoehdot, kuten API-molekyylin muokkaaminen tai nanopartikkelien käyttäminen voi huonontaa API-molekyylin stabiilisuutta, turvallisuutta ja tehokkuutta.² Makrosyklinen kantajamolekyyli voi myös muuttaa API-molekyylin pKa-arvoa, jolla on merkitystä lääkeaineen tehokkuuden kannalta. Sitoutuminen makromolekyylin sisään lisää

samalla API-molekyylin kemiallista ja termistä stabiilisuutta. Useat lääkeaineet hajoavat varastoinnin aikana tai kun ne saapuvat elimistöön. Esimerkiksi syövän hoidossa käytetty sisplatiini sitoutuu elimistössä tiolia sisältäviin peptideihin ja proteiineihin, jotka poistavat lääkkeen amiiniligandeja. API-molekyylin sitoutuminen makrosykliseen molekyylisiin voi ehkäistä lääkkeen hajoamista estämällä vuorovaikutukset API-molekyylin ja kehon molekyylin kanssa. Sitoutuminen voi myös estää API-molekyylin lämpöhajoamista. Lämpö voi muuttaa aineen kristallirakennetta tai olomuotoa, joka voi huonontaa liukoisuutta, imeytymistä ja tehokkuutta.²

Taulukko 1. Esimerkkejä kaupallisesti käytetyistä farmaseuttisista tuotteista, joissa syklodekstriini toimii lääkkeenkuljettajana.²

Kaupallinen nimi	API	Syklodekstriini	Käyttötarkoitus
Caverject Dual	Alprostadiili	α -syklodekstriini	Erektiohäiriöt
Opalmon	Limaprosti	α -syklodekstriini	Kipu, tunnottomuus, haavaumat
Omebeta	Omepratsoli	β - syklodekstriini	Gastroesofageaalinen refluksi
Cetirizin	Setiritsiini	β - syklodekstriini	Allergiat
CadrioTec	Teknetium-99	γ - syklodekstriini	Kuvantaminen
Propulsid	Sisapridi	HP- β - syklodekstriini*	Närästys
MitoExtra	Mitomysiini	HP- β - syklodekstriini*	Kemoterapia
Voltaren Ophtha	Diklofenaakki	HP- γ - syklodekstriini*	Silmätulehdus
Baxdela	Delafoksasiini	SBE- β -syklodekstriini**	Ihon infektiot
Carnexiv	Karbamatsepiini	SBE- β -syklodekstriini**	Epilepsia

*HP eli 2-hydroksipropyli

**SBE eli Sulfobutyylileetteri

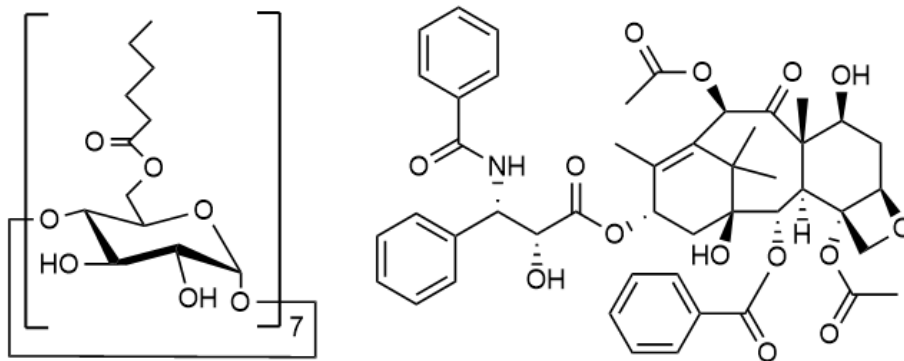
Lääkkeenkuljettajien lisäksi syklodekstriinejä tutkitaan itsenäisinä lääkeaineina. CD voi toimia itse API-molekyylinä, jolloin vaikutus perustuu yleensä halutun molekyylin kaappaamiseen elimistössä. Esimerkiksi ruokailun yhteydessä nautittava CD-valmiste voi potentiaalisesti kaapata kolesterolimolekyylejä ja estää sen imeytymistä kehoon. Verenkierrossa olevia haitallisia molekyylejä tai lääkeainemolekyylejä voidaan potentiaalisesti poistaa makrosyklisten molekyylin avulla.² Joitakin syklodekstriinejä tutkitaan itsenäisinä lääkkeinä esimerkiksi syövän hoidossa.¹⁴

5.2 Amfifiiliset syklodekstriinit lääkkeenkuljettajina

Yksinkertainen kompleksi syklodekstriinien kanssa tuottaa usein ongelmia lääkeaineen kuljetuksessa. Liuenneena dissosiaatio tapahtuu liian helposti, jolloin lääkeaineen kuljetuskyky heikkenee.⁵ Amfifiilisiä syklodekstriinejä tutkitaan potentiaalisina lääkkeiden kuljettajina huonosti liukeneville molekyyleille. Amfifiilisten syklodekstriinien yksi tärkeimmistä ominaisuuksista on niiden itsenäinen kyky muodostaa nanopartikkeleita vesiliuoksessa ilman pinta-aktiivisia aineita. Pinta-aktiiviset aineet vähentävät pintajännitystä ja helpottavat nanopartikkelin kokoamista, mutta ovat usein myrkyllisiä. Monia CD-johdannaisia on tutkittu etenkin syövänhoidossa. Syöpälääkkeillä pakatut nanopartikkelit kohdennetaan syöpäsoluihin. Peruseriaatteena on vähentää verisuonten muodostumista syöpäsolujen ympärille ja vähentää imunesteen poistumista kudoksesta. Tämän seurauksena lääkeainemolekyylit, nanopartikkelit ja muut makromolekyylit kertyvät syöpäsoluihin aiheuttaen solukuolemaa. Monet lääkkeet ovat huonosti vesiliukoisia, jota on parannettava liuottimien tai makrosyklisen kuljetussysteemien avulla. Tunnettuja huonosti liukenevia syöpälääkkeitä ovat esimerkiksi paklitakseli ja dosetakseli.^{5,15,16}

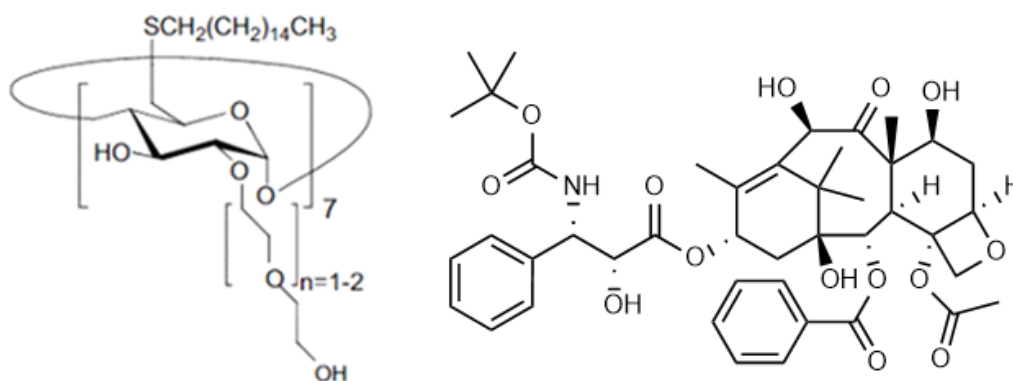
Bilensoy *et al.*¹⁵ tutkivat 6-O-Capro- β -syklodekstriinistä ja paklitakselistä muodostetuiden nanopartikkelien vaikutusta soluihin käyttämättä pinta-aktiivisia aineita. Paklitakseli on voimakas syöpälääke, joka huonon liukoisuutensa vuoksi tarvitsee liuottimen tai kuljettajan vaikuttaakseen elimistössä. Kaupallisesti käytetään usein Cremophor EL[®]-lääkkeenkuljettajan ja etanolin 50:50 seosta. 6-O-Capro- β -syklodekstriiniä verrattiin soluviljelmässä paklitakselin kaupalliseen Cremophor EL[®]-lääkkeenkuljettajaan. *In vitro* Myrkyllisuuskokeen tulokset osoittivat, että 6-O-Capro- β -CD:n muodostamat anioniset nanopartikkelit eivät häirinneet solujen lisääntymistä soluviljelmässä eivätkä aiheuttanut punasolujen kuolemaa. Cremophor EL[®] aiheutti punasolujen kuolemaa ja paklitakselia sisältävien 6-O-Capro- β -CD-nanokapselien huomattiin tuhoavan tehokkaammin syöpäsoluja.^{5,15} Varan *et al.*¹⁴ havaitsivat vuonna 2021 syklodekstriineistä muodostetuiden nanopartikkeleiden tuhoavan syöpäsoluja ilman erillistä lääkeainetta. Tutkimuksessa muodostettiin erilaisia CD-nanopartikkeleita erilaisilla pintavarauksilla, joilla suoritettiin *in vivo*- ja *in vitro*-syöpäkokeita. Tyhjiä CD-nanopartikkeleita verrattiin paklitakselilla varustettuihin nanopartikkeleihin. Johtopäätöksissä todettiin etenkin tyhjiä CD-nanopartikkeleilla olevan potentiaalia syöpälääkkeinä, sillä paklitakselin

myrkyllisyys halutaan välttää. Kuvassa 7 on esitetty 6-O-Capro β -CD:n ja paklitakselin rakennekaavat.



Kuva 7. 6-O-Capro β -syklodekstriini¹⁵ ja paklitakseli¹⁷

Quaglia *et al.*¹⁶ käyttivät amfiifilisiä CD-nanopartikkeleita dosetakselin kuljettamiseen. Dosetakseli on syöpälääke, jota käytetään usein rinta- ja kivessyövän hoitoon. Nanopartikkelit muodostettiin heptakis (2-O-oligo(etyleenioidi)-6-heksadekyylitio-)- β -CD-molekyyleistä. Kaupallisesti käytetty Taxotere[®] -lääkkeenkuljettaja aiheuttaa hemolyysikokeiden perusteella punasolujen kuolemaa, mutta CD-nanopartikkelit eivät. Dosetakselilla varustetut CD-nanopartikkelit toimivat huomattavasti tehokkaammin syöpäsoluja vastaan verrattuna dosetakselilla varustettuun Taxotere[®]-lääkkeenkuljettajaan. Vaikutuksen katsottiin perustuvan CD-nanopartikkelin hitaaseen lääkkeenvapautuskykyyn, jonka ansiosta solujen mitosi pysähtyi pitkäaikaisesti. Kuvassa 8 on esitetty Heptakis (2-O-oligo(etyleenioidi)-6-heksadekyylitio-)- β -CD:n ja dosetakselin rakennekaavat.



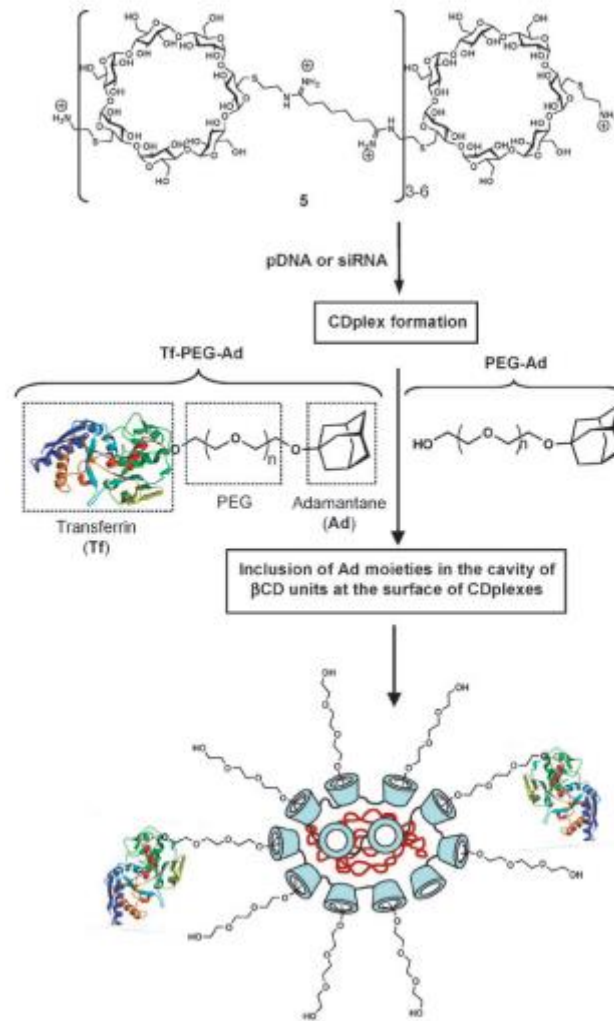
Kuva 8. Heptakis (2-O-oligo(etyleenioidi)-6-heksadekyylitio-)- β -CD¹⁶ ja dosetakseli¹⁸

6 Syklodekstriinipohjaiset geeninkuljetussysteemit

Tavanomaisten lääkkeiden lisäksi CD:t voivat muodostaa inkluusiokomplekseja biomolekyylien, kuten geenien kanssa. Käytännössä biomolekyylien teho riippuu laajalti käytetystä kuljetussysteemistä (delivery system). Virukset tarjoavat hyvän alustan geenien kuljettamiselle soluihin, mutta niiden käyttöä rajoittaa myrkyllisyys, immunogeenisuus eli vastustuskykyyn liittyvät ongelmat ja tuotanto-ongelmat. Tämän vuoksi myös niin kutsuttuja ei-virusvektoreita, kuten makrosyklejä tutkitaan potentiaalisina geeninkuljetussysteeminä. Monia erilaisia CD-johdannaisia tutkitaan geeninkuljetuksessa. Yleisimpiä lienee CD-pohjaiset polymeerit, polyrotaksaanit, dendriimeerit ja monodispersoidut CD:t.¹⁹

Kuten tavanomaisten lääkkeiden kohdalla, myös biomolekyylit hyötyvät syklodekstriinien kuljetuskyvystä. Syklodekstriinien on huomattu lisäävän oligonukleotidien stabiilisuutta ja suojaavan niitä endonukleaaseilta. Oligonukleotidit ovat pieniä DNA- tai RNA-molekyylejä ja niitä hyödynnetään usein geeninkuljetuksessa. Endonukleaasit ovat entsyymejä, jotka katkaisevat fosfodiesterisidoksen polynukleotidiketjusta. Kun nukleiinihappoja kuljetetaan aitotumalliseen soluun ei-virusvektorin avulla, puhutaan transfektiosta.¹⁹

Syklodekstriinejä käytetään usein helpottamaan jo valmiiksi luotuja geenivektoreita läpäisemään solukalvoja vaikuttamalla sen kolesteroliin.¹⁹ Roesler *et al.*²⁰ tutkivat ensimmäisinä transfektiota polymeeripohjaisten DNA-kuljetussysteemien ja syklodekstriinien välillä. Tulokset osoittivat β -CD:n parantavan polymeeripohjaisen DNA-kuljetussysteemin transfektiota 200-kertaisesti. Sulfatonta anioninen CD osoittautui parhaaksi kuljetussysteemiksi. CD-pohjaisten kuljetussysteemien on huomattu parantavan transfektiota lukuisissa muissa tutkimuksissa. Hyväksytyjä geeninkuljetussysteemejä on hyvin vähän. Vuonna 2008 ensimmäinen CD-pohjainen siRNA:n (pieni häiritsevä RNA) kuljetussysteemi CALAA-01 hyväksyttiin kliiniseen tutkimukseen. CALAA-01:n aktiivinen aine on pieni häiritsevä RNA (siRNA), joka estää syöpäsolujen lisääntymistä. siRNA:ta suojaa plasmidi-DNA:sta (pDNA) ja syklodekstriinistä valmistettu polymeeri CDpleksi (CDplex).¹⁹ Kuvassa 9 on kaaviokuva transferriinikohdistetun pDNA- tai siRNA-CDpleksi-nanopartikkelin valmistuksesta. Useita CD-pohjaisia kuljetussysteemejä tutkitaan jatkuvasti.^{19,21}



Kuva 9. Kaaviokuva transferriinikohdistetun pDNA- tai siRNA-CDpleksi-nanopartikkelin valmistuksesta.¹⁹ Republished with permission of Royal Society of Chemistry, Cyclodextrin-based gene delivery systems, Mellet, C. O. *et al*, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40, copyright 2011; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.

7 Yhteenveto

Syklodekstriinipohjaisia yhdisteistä on tutkittu biolääketieteellisissä sovelluksissa paljon viime vuosikymmenien aikana. Sovelluksia löytyy paljon etenkin lääkkeenkuljettajina. Syklodekstriinit voivat toimia isäntämolekyyleinä eli ne pystyvät hydrofobisen onkalonsa ansiosta kaappaamaan vierasmolekyylin sisäänsä. Syntynyttä yhdistettä kutsutaan isäntä–vieras-kompleksiksi, joka stabiloi vierasmolekyylin itsenä sisälle. CD:n sisälle voidaan kaapata epästabiileja tai huonosti veteen liukenevia lääkeainemolekyylejä.^{1,2,5}

CD:n rakennetta tarvitaan usein muokata etenkin vesiliukoisuuden ja amfiifilisuuden parantamiseksi. Rakennetta voidaan muokata liittämällä syklodekstriiniin erilaisia hiiliketjuja, funktionaalisia ryhmiä tai polymerisoinnilla. Etenkin lääkkeenkuljetuksessa CD:n vesiliukoisuus ja amfiifilisuus ovat tärkeitä ominaisuuksia, sillä yhdisteen on toimittava fysiologisessa ympäristössä.^{1,5} Lisäksi amfiifiliseksi muokatuista syklodekstriineistä voidaan muodostaa nanopartikkeleita, joiden sisään on mahdollista kaapata lääkeainemolekyylejä.^{9,10}

Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston hyväksymiä syklodekstriineistä muodostettuja farmaseuttisia tuotteita tunnetaan yli 30.² Syklodekstriinien avulla kuljetetaan monenlaisia lääkeaineita, joista moni syöpälääkkeitä.³ Tavanomaisten lääkeaineiden lisäksi CD:t pystyvät muodostamaan isäntä–vieras-komplekseja biomolekyylien, kuten geenien kanssa. Monia CD-pohjaisia geeninkuljetussysteemejä tutkitaan jatkuvasti, mutta käytössä niitä on hyvin vähän.¹⁹ Syklodekstriinejä tutkitaan myös itsenäisinä lääkeaineina.¹⁴ CD-pohjaisten sovelluksien kehittämistä on jatkettava ja tutkittavaa on selkeästi vielä paljon.

Kirjallisuusluettelo

1. Zhang, J. ja Ma, P. X., Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: Recent progress and future perspective, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2013**, *65*, 1215–1233.
2. Gu, A. ja Wheate, N. J., Macrocycles as drug-enhancing excipients in pharmaceutical formulations, *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, **2021**, *100*, 55–69.
3. Tian, B.; Hua, S. ja Liu, J., Cyclodextrin-based delivery systems for chemotherapeutic anticancer drugs: A review, *Carbohydrate Polymers*, **2020**, *232*, 115805.
4. Crini, G., Review: A History of Cyclodextrins, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 10940–10975.
5. Varan, G.; Varan, C.; Erdoğan, N.; Hincal, A. A. ja Bilensoy, E., Amphiphilic cyclodextrin nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, **2017**, *531*, 457–469.
6. Biwer, A.; Antranikian, G. ja Heinzle, E., Enzymatic production of cyclodextrins, *Appl Microbiol Biotechnol*, **2002**, *59*, 609–617.
7. Kraus, T.; Buděšínský, M. ja Závada, J., General Approach to the Synthesis of Persubstituted Hydrophilic and Amphiphilic β -Cyclodextrin Derivatives, *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 4595–4600.
8. Sallas, F. ja Darcy, R., Amphiphilic Cyclodextrins – Advances in Synthesis and Supramolecular Chemistry, *European Journal of Organic Chemistry*, **2008**, *2008*, 957–969.
9. Quintanar-Guerrero, D.; Allémann, E.; Doelker, E. ja Fessi, H., Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique, *Pharm Res*, **1998**, *15*, 1056–1062.
10. Ganachaud, F. ja Katz, J. L., Nanoparticles and Nanocapsules Created Using the Ouzo Effect: Spontaneous Emulsification as an Alternative to Ultrasonic and High-Shear Devices, *ChemPhysChem*, **2005**, *6*, 209–216.
11. Wankar, J.; Kotla, N. G.; Gera, S.; Rasala, S.; Pandit, A. ja Rochev, Y. A., Recent Advances in Host–Guest Self-Assembled Cyclodextrin Carriers: Implications for Responsive Drug Delivery and Biomedical Engineering, *Advanced Functional Materials*, **2020**, *30*, 1909049.
12. Wankar, J.; Salzano, G.; Pancani, E.; Benkovics, G.; Malanga, M.; Manoli, F.; Gref, R.; Fenyvesi, E. ja Manet, I., Efficient loading of ethionamide in cyclodextrin-based carriers offers enhanced solubility and inhibition of drug crystallization, *International Journal of Pharmaceutics*, **2017**, *531*, 568–576.

13. Bakirci, H.; Zhang, X. ja Nau, W. M., Induced Circular Dichroism and Structural Assignment of the Cyclodextrin Inclusion Complexes of Bicyclic Azoalkanes, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 39–46.
14. Varan, G.; Varan, C.; Öztürk, S. C.; Benito, J. M.; Esendağlı, G. ja Bilensoy, E., Therapeutic Efficacy and Biodistribution of Paclitaxel-Bound Amphiphilic Cyclodextrin Nanoparticles: Analyses in 3D Tumor Culture and Tumor-Bearing Animals In Vivo, *Nanomaterials*, **2021**, *11*, 515.
15. Bilensoy, E.; Gürkaynak, O.; Doğan, A. L. ja Hıncal, A. A., Safety and efficacy of amphiphilic β -cyclodextrin nanoparticles for paclitaxel delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, **2008**, *347*, 163–170.
16. Quaglia, F.; Ostacolo, L.; Mazzaglia, A.; Villari, V.; Zaccaria, D. ja Sciortino, M. T., The intracellular effects of non-ionic amphiphilic cyclodextrin nanoparticles in the delivery of anticancer drugs, *Biomaterials*, **2009**, *30*, 374–382.
17. PubChem, Paclitaxel, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/36314> (16.4.2022).
18. PubChem, Docetaxel, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/148124> (16.4.2022).
19. Mellet, C. O.; Fernández, J. M. G. ja Benito, J. M., Cyclodextrin-based gene delivery systems, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 1586–1608.
20. Roessler, B. J.; Bielinska, A. U.; Janczak, K.; Lee, I. ja Baker, J. R., Substituted β -Cyclodextrins Interact with PAMAM Dendrimer–DNA Complexes and Modify Transfection Efficiency, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2001**, *283*, 124–129.
21. Prasad, M.; Lambe, U. P.; Brar, B.; Shah, I.; J, M.; Ranjan, K.; Rao, R.; Kumar, S.; Mahant, S.; Khurana, S. K.; Iqbal, H. M. N.; Dhama, K.; Misri, J. ja Prasad, G., Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2018**, *97*, 1521–1537.