

# Ciklodekstrini kao lijekovi

---

Šipek, Valerija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:578995>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Valerija Šipek**

# **Ciklodekstrini kao lijekovi**

## **DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019. godina.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Oblikovanje lijekova Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Maria Juga.

Ponajprije zahvaljujem mentoru, izv. prof. dr. sc. Mariju Jugu, na uloženom vremenu i trudu, korisnim savjetima te maksimalnoj susretljivosti prilikom pisanja ovog diplomskog rada.

Od srca hvala mami, tati i sestri Moniki što su me slušali, podupirali i motivirali, a pogotovo zato što su vjerovali u mene čak i kad sama nisam.

Hvala mojim prijateljima koji su mi uljepšali i olakšali studentske dane, s kojima su brige bile lakše i zbog kojih nikad neću zaboraviti ovaj period života.

Na kraju, želim se zahvaliti Mateu, na pruženoj ljubavi, strpljenju i razumijevanju tijekom studiranja.

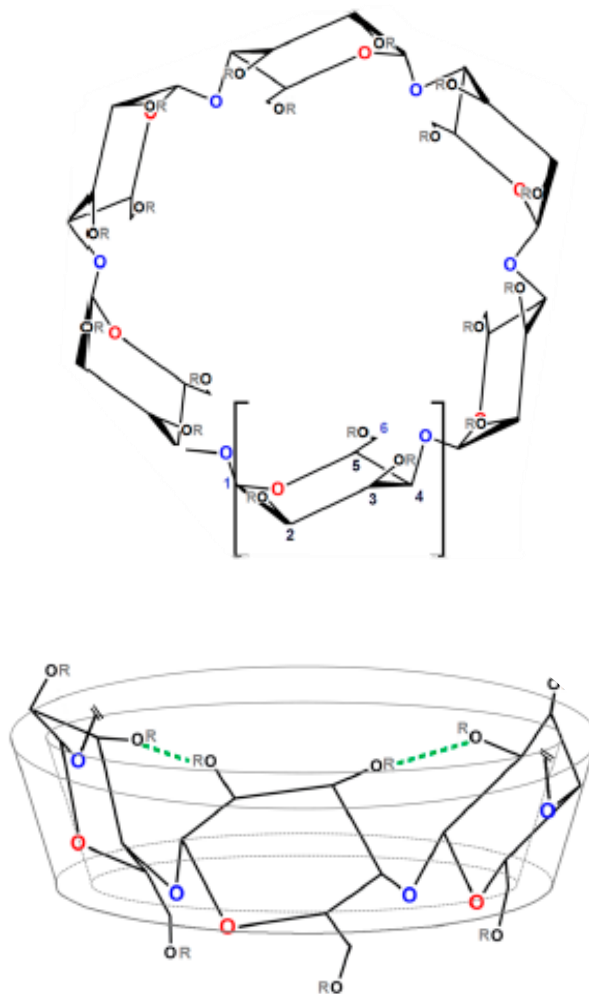
## SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
1.1.	Kemijska struktura ciklodekstrina .....	1
1.2.	Primjena i sigurnosni profil ciklodekstrina .....	3
2.	OBRAZLOŽENJE TEME .....	5
3.	MATERIJALI I METODE .....	6
4.	RASPRAVA.....	7
4.1.	Mehanizam djelovanja ciklodekstrina .....	7
4.2.	Djelovanje ciklodekstrina na stanične membrane.....	8
4.3.	Interakcija ciklodekstrina s biološkim makromolekulama .....	9
4.4.	Primjena ciklodekstrina u prehrani i suvremenoj dijetetici .....	10
4.4.1.	Primjena ciklodekstrina u prevenciji hiperlipidemije.....	10
4.4.2.	Primjena ciklodekstrina u regulaciji postprandijalne glikemije i kao pomoć pri mršavljenju.....	12
4.5.	Ciklodekstrini kao nositelji terapijske učinkovitosti.....	13
4.5.1.	Sugamadeks.....	13
4.5.1.1.	Struktura sugamadeksa i mehanizam vezanja supstrata .....	14
4.5.1.2.	Farmakokinetika sugamadeksa .....	15
4.5.1.3.	Klinička učinkovitost sugamadeksa.....	16
4.5.1.4.	Primjena sugamadeksa u posebnim skupinama bolesnika.....	18
4.5.1.5.	Sigurnost i nuspojave .....	20
4.5.1.6.	Interakcije sugamadeksa s drugim lijekovima.....	22
4.5.1.7.	Farmakoekonomski aspekt primjene sugamadeksa .....	23
4.5.2.	Primjena ciklodekstrina u liječenju karcinoma .....	23
4.5.3.	Primjena ciklodekstrina u <i>in vitro</i> oplodnji.....	24
4.5.4.	Primjena ciklodekstrina u liječenju degenerativne neurološke bolesti .....	25
4.5.4.1.	Niemann-Pickova bolest tipa C .....	25
4.5.4.2.	Alzheimerova bolest .....	29
4.5.4.3.	Parkinsonova bolest .....	30
4.5.5.	Ciklodekstrini u antimikrobnoj terapiji .....	30
	<i>Antraks toksin</i> .....	30
	<i>Alfa hemolizin iz Staphylococcus aureusa</i> .....	32
	<i>Epsilon toksin</i> .....	33
	<i>Ostali toksini koji stvaraju pore</i> .....	33
5.	ZAKLJUČAK .....	35
6.	LITERATURA.....	36
7.	SAŽETAK/SUMMARY .....	40

## 1. UVOD

### 1.1. Kemijska struktura ciklodekstrina

Ciklodekstrini (CD) su kemijski spojevi prirodnog podrijetla nastali bakteriološkom razgradnjom škroba pomoću enzima ciklodekstrin glikozil transferaze. Sastoje se od glukopiranoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 vezama u cikličku strukturu. Ovisno o broju glukopiranoznih jedinica po molekuli razlikujemo  $\alpha$ -ciklodekstrine ( $\alpha$ -CD) koji imaju 6,  $\beta$ -ciklodekstrine ( $\beta$ -CD) koji imaju 7 i  $\gamma$ -ciklodekstrine ( $\gamma$ -CD) koji imaju 8 jedinica. Te molekule nalikuju šupljem krnjem stošcu s hidrofobnom unutrašnjom šupljinom i hidrofilnom vanjskom površinom. S vremenom su otkriveni ciklodekstrini s više glukoznih jedinica, čak i do nekoliko stotina jedinica, međutim, takvi spojevi još nisu značajni u industriji jer se tek istražuju njihova svojstva i mogućnosti primjene.



Slika 1. Shematski prikaz molekule ciklodekstrina (Di Cagno, 2017)

$\beta$ -CD i njegovi derivati su najčešće korišteni i istraživani, a nakon njega slijede  $\alpha$  i  $\gamma$ -CD. Stvaranje stabilnih inkluzijskih kompleksa s tvarima koje karakterizira slaba topljivost i lipofilnim obilježjima prepoznate su kao karakteristike s velikim potencijalom za prehrambenu, kozmetičku i farmaceutsku industriju (Di Cagno, 2017). Neke od mogućnosti upotrebe ciklodekstrina su stabilizacija fotoosjetljivih tvari, zaštita tvari od utjecaja kisika ili mikroorganizama, modifikacija reaktivnosti, topljivosti, maskiranje neugodnih okusa i mirisa, kontrolirano oslobađanje hlapljivih tvari iz kompleksa itd. (Del Valle, 2004).

Broj glukoznih jedinica definira promjer unutarnje šupljine.  $\alpha$ -CD imaju promjer unutarnje šupljine otprilike 0,50 nm,  $\beta$ -CD oko 0,65 nm, a  $\gamma$ -CD oko 0,80 nm. Najmanje je topljiv  $\beta$ -CD što se može objasniti postojanjem intramolekularnih vodikovih veza između hidroksilnih skupina susjednih glukoznih jedinica. Unatoč slaboj topljivosti,  $\beta$ -CD je iznimno zanimljiv u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji zbog veličine njihove unutarnje šupljine koja je optimalna za uklapanje velikog broja kemijskih spojeva. Kako bi se riješio problem ograničene topljivosti  $\beta$ -CD, sintetizirani su derivati kojima je promijenjena jedna ili više hidroksilnih skupina na položajima 2, 3 ili 6. Neki od derivata s većom topljivošću od  $\beta$ -CD su 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (HP- $\beta$ -CD), metil- $\beta$ -ciklodekstrin (M- $\beta$ -CD) i sulfobutileter- $\beta$ -ciklodekstrin (SBE- $\beta$ -CD). Sintetizirani su i polimerni derivati, npr. polietilenglikol- $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD-PEG) i dekstran- $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD-dekstran). Ovakvim modifikacijama postižu se željena svojstva (Di Cagno, 2017).

Tablica 1. Neka svojstva najvažnijih ciklodekstrina na 25°C (Di Cagno, 2017)

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
<i>Broj glukoznih jedinica</i>	6	7	8
<i>Promjer unutrašnje šupljine (Å)</i>	5,2	6,6	8,4
<i>Volumen unutrašnje šupljine (Å<sup>3</sup>)</i>	100	160	250
<i>Topljivost u vodi (M)</i>	0,12	0,016	0,17

## 1.2. Primjena i sigurnosni profil ciklodekstrina

U prehrambenoj industriji ciklodekstrini se najviše koriste kao aditivi za primjenu lipofilnih tvari kao što su vitamini, arome i boje te kao inhibitori kvarenja hrane uzrokovanog svjetlom ili toplinom. Osim toga  $\beta$ -CD se koristi u proizvodnji hrane sa smanjenim udjelom kolesterola jer ima sposobnost ekstrakcije molekule kolesterola iz mlijeka ili žumanjka jajeta. Također se sve više koriste u kozmetičkim proizvodima, ponajprije za postizanje stabilnosti i topljivosti (Buschmann and Schollmeyer, 2002; Di Cagno, 2017).

U farmaceutskoj industriji iskoristilo se svojstvo stvaranja inkluzijskih kompleksa da bi se povećala topljivost slabo topljivih aktivnih tvari u vodi. Danas je registrirano više od 40 farmaceutskih oblika s ciklodekstrinima na tržištu, prvenstveno  $\beta$ -CD (Di Cagno, 2017).

Prirodni ciklodekstrini svrstavaju se u GRAS (eng. *generally recognised as safe*) kategoriju s obzirom na sigurnost oralne primjene (J. Stella and He, 2008). Apsorpcija oralno primijenjenih ciklodekstrina u njihovom nepromijenjenom obliku je zanemariva, a apsorbirani dio se eliminira putem urina, također nepromijenjen. Iz te činjenice proizlazi njihova sigurna per os upotreba, što se također može zaključiti iz  $LD_{50}$  vrijednosti dobivenih za oralno primijenjene ciklodekstrine koje su navedene u Tablici 2. Kad dospiju u cekum i kolon, metabolizira ih crijevna mikroflora do linearnih malto-oligosaharida koji se dalje hidroliziraju i fermentiraju do kratkolančanih masnih kiselina koje se mogu apsorbirati (Fenyvesi, Vikmon and Szenté, 2016).

Intravenski primijenjeni ciklodekstrini se vrlo brzo izlučuju nepromijenjeni putem urina. Eliminacija ovisi o bubrežnom klirensu pa će bubrežna oštećenja nepovoljno utjecati na izlučivanje ciklodekstrina. Toksičnost parenteralnom primjenom pokazuju  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD te ponajviše M- $\beta$ -CD što se pripisuje jačim interakcijama sa staničnim lipidima i duljim zadržavanjem ovog derivata u bubregu.  $\beta$ -CD s kolesterolom stvara netopljive komplekse koji se talože u tubulima bubrega i izazivaju oštećenja pa se zato ne može koristiti parenteralno. Za parenteralnu primjenu su prikladni HP- $\beta$ -CD, SBE- $\beta$ -CD i  $\gamma$ -CD jer ne uzrokuju oštećenja bubrega (J. Stella and He, 2008).

M- $\beta$ -CD se primjenjuje samo nazalno i okularno zbog nuspojava kao što je hemoliza. Smatra se da je uzrok hemolizi izdvajanje kolesterola iz membrana eritrocita (Di Cagno, 2017).

Tablica 2. LD<sub>50</sub> vrijednosti oralno i intravenski primijenjenih ciklodekstrina kod štakora kao pokazatelj njihove toksičnosti (Del Valle, 2004).

	<i>LD<sub>50</sub> oralno, štakor</i> <i>(mg/kg)</i>	<i>LD<sub>50</sub> intravenski,</i> <i>štakor (mg/kg)</i>
<i>α-CD</i>	>10000	500 – 750
<i>β-CD</i>	>5000	450 – 790
<i>γ-CD</i>	>>8000	~4000



## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Ciklodekstrini su poznati već više od 100 godina, a više od 50 godina u upotrebi su u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji, prvenstveno kao pomoćne tvari i nosači lijekova. Nakon što je sugamadeks odobren za primjenu kao aktivna djelatna tvar za reverziju neuromuskularnog bloka, interes za istraživanje dodatnih mogućnosti primjene ciklodekstrina kao djelatnih tvari raste. Rezultati dostupnih istraživanja su pokazali veliki potencijal za njihovu primjenu u različitim područjima: ateroskleroza, dislipidemija, dijabetes, neurodegenerativne bolesti, tumori, *in vitro* oplodnja itd.

Cilj ovog rada je napraviti pregled dosadašnjih istraživanja o primjeni ciklodekstrina kao terapijski aktivne djelatne tvari. S obzirom na to da je temeljni mehanizam kojim ciklodekstrini ostvaruju terapijski učinak interakcija s biološkim molekulama te ksenobioticima, posebna pažnja je usmjerena na proučavanje potencijalnih terapijskih meta, mehanizama kojim se navedene interakcije odvajaju te prikaz farmakološki korisnih ishoda navedenih interakcija (Coisne *et al.*, 2016; Arima, Motoyama and Higashi, 2017; Di Cagno, 2017).

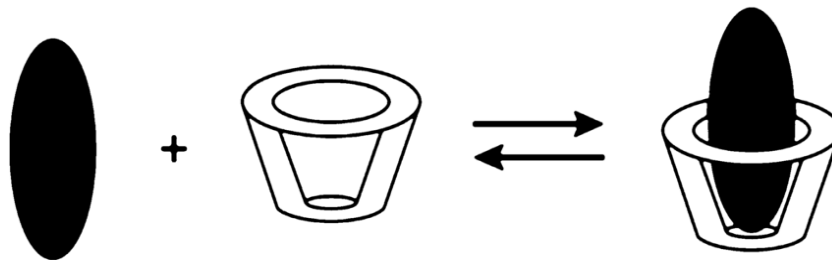
### 3. MATERIJALI I METODE

U izradi ovog teorijskog diplomskog rada korišteni su različiti preglednici znanstvene literature kao što su baze podataka (PubMed, PubFacts, Science Direct), društvena mreža Research Gate, znanstvene i stručne knjige te mrežne stranice sa srodnom tematikom. Više od 90% ovog diplomskog rada temeljeno je na radovima objavljenima u znanstvenim časopisima. Metode rada uključivale su uglavnom pretraživanje uz pomoć ključnih riječi vezanih za određeno potpoglavlje ovog diplomskog rada.

## 4. RASPRAVA

### 4.1. Mehanizam djelovanja ciklodekstrina

Zajednička i najvažnija karakteristika svih ciklodekstrina je sposobnost stvaranja inkluzijskih kompleksa s različitim spojevima. Kada se ciklodekstrin, kao ligand, nađe u vodenoj otopini zajedno s kompatibilnom molekulom, supstratom, zajedno će spontano stvoriti inkluzijski kompleks. Pri tome ne dolazi do kidanja ili nastajanja novih kemijskih veza, već se interakcija odvija nastankom slabih kemijskih veza (van der Waalsove interakcije i vodikove veze) između unutrašnje šupljine ciklodekstrina i supstrata (Di Cagno, 2017). Molekula ili sterički kompatibilni dio molekule koji je hidrofoban, ući će u hidrofobnu šupljinu ciklodekstrina, a hidrofилnost vanjske površine učinit će čitavi kompleks topljivim u vodi. Iz toga proizlazi uloga ciklodekstrina kao nosača koji poboljšavaju svojstva raznih spojeva, pri čemu je naglasak na lijekovima. Moguće je poboljšati stabilnost, bioraspoloživost, oralnu primjenu i interakciju lijeka s biološkim membranama ili stanicama (Coisne *et al.*, 2016).



Slika 2. Shematski prikaz nastajanja inkluzijskog kompleksa u vodenom mediju (J. Stella and He, 2008)

Ciklodekstrini ulaze u interakciju s:

- lipidima
  - kolesterolom
  - trigliceridima
  - fosfolipidima
- proteinima
- bakterijskim toksinima
- lijekovima

Osim samog uklapanja molekula u strukturu ciklodekstrina, pokazano je da  $\gamma$ -CD ima učinak na postprandijalnu razinu glukoze u krvi jer se ponaša kao prehrambeno vlakno koje se sporo, ali u potpunosti probavlja u tankom crijevu. Specifična struktura  $\gamma$ -CD usporava

hidrolitičko djelovanje amilaze pa je porast razine inzulina i glukoze u krvi postupan (Asp *et al.*, 2006). Iako se  $\gamma$ -CD počinje probavljati već u ustima pod utjecajem  $\alpha$ -amilaze, dio  $\gamma$ -CD ostaje neprobavljen kad dođe do crijeva u kojima počinje fermentacija od strane crijevne mikrobiote. Zbog toga se  $\gamma$ -CD smatra prebiotikom. Za razliku od  $\gamma$ -CD,  $\alpha$  i  $\beta$ -CD su neprobavljivi, no i njih fermentiraju bakterije prisutne u debelom crijevu pa i njih smatramo prebioticima (Fenyvesi, Vikmon and Szente, 2016).

S obzirom na to da se nastanak aterosklerotskih plakova povezuje s upalnim odgovorom, istražuje se utjecaj ciklodekstrina na sam upalni proces. Apolipoprotein E (ApoE) je apolipoprotein kojeg nalazimo u različitim lipoproteinskim česticama. Nužan je za normalnu razgradnju triglicerida u lipoproteinima, a istraživanja pokazuju ulogu ApoE u različitim imunološkim procesima. U istraživanjima na ApoE deficijentnim miševima pokazano je da primjenom 2-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrina dolazi do smanjenja količine T limfocita u aterosklerotskim plakovima, bez učinka na ostale stanice imunološkog sustava, što je važno u modulaciji Th1 upalnog odgovora. Još jedan derivat je proučavan u kontekstu učinka na imunološki sustav. Radi se o HP- $\beta$ -CD, čijom se primjenom postigao smanjeni upalni odgovor kod aterogeneze. Smanjena je produkcija reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) i proupalnih kemokina povezanih s Th1 imunskim odgovorom. Razina kolesterola u plazmi ostala je ista, međutim pozitivan učinak na ateroskleroza bio je vidljiv kroz nekoliko pokazatelja. Mehanizmi pomoću kojih ciklodekstrini djeluju na upalni odgovor uključuju signalni put povezan s jetrenim receptorom X (LXR). Taj signalni put je značajan u regulaciji prometa kolesterola u stanici pa u konačnici dovodi do povećanog izbacivanja kolesterola iz makrofaga te pozitivnog utjecaja na ateroskleroza (Coisne *et al.*, 2016).

#### 4.2. Djelovanje ciklodekstrina na stanične membrane

Postoji značajna interakcija između sastavnica staničnih membrana i ciklodekstrina.  $\beta$ -CD mogu iz membrana izvlačiti kolesterol, fosfolipide, pa čak i neke proteine, pri čemu dolazi do promjene sastava a posljedično i svojstava membrane. Pretpostavljeni mehanizam ekstrakcije kolesterola započinje brzim vezanjem dimera ciklodekstrina na površinu membrane, koji, ako su u povoljnoj orijentaciji, obavljaju ekstrakciju spontano. Brzina procesa je limitirana desorpcijom kompleksa CD-kolesterol s površine membrane. Nadalje, dokazano je da M- $\beta$ -CD može kompleksirati i solubilizirati kolesterol iz vodene disperzije, a osim njega to možemo postići s hidrofilnim polimernim derivatima  $\beta$ -CD, npr. s  $\beta$ -CD-dekstranom. Kao što je već navedeno, različite vrste  $\beta$ -CD imaju sposobnost izvući kolesterol i kolesteril-estere iz fosfolipidnog dvosloja što je pokazano na velikim unilamelarnim vezikulama sastavljenim od

fosfatidilkolina i kolesterola. Dapače, proces je spontan kad su takve vezikule izložene M- $\beta$ -CD i  $\beta$ -CD-dekstranu u vodenom mediju. Nedavno je pokazana sposobnost hidrofobnih derivata  $\beta$ -CD (M- $\beta$ -CD) da razlažu lipoproteinske čestice niske gustoće (LDL) tako da izvlače iz njih lipide što značajno smanjuje sklonost oksidaciji – jedan od ključnih okidača za razvoj ateroskleroze (Di Cagno, 2017).

Takve promjene mogu omogućiti bolje dopremanje lijekova preko bioloških barijera koje inače štite organizam od ksenobiotika. Izvlačenje kolesterola iz membrana direktno utječe na strukturu i sastav lipidne splavi koje su uključene u brojne stanične signalne putove. Izmijenjeni sastav lipidnih splavi dovodi i do promjene aktivnosti P glikoproteina (P-gp), odnosno smanjeno je djelovanje P-gp kao efluksne pumpe koja izbacuje ksenobiotike iz stanica. Osim toga, utjecaj na membranske lipide mijenja količinu unutarstaničnih lipida što dovodi do aktivacije određenih signalnih putova povezanih s ekspresijom transportnih proteina važnih za promet kolesterola. U konačnici, dolazi do inhibiranja upalnog odgovora i smanjenja aterosklerotskih plakova *in vivo*. Navedeni učinci su prepoznati i dodatno se istražuju s ciljem razvoja novih terapijskih mogućnosti za razne bolesti, uključujući i aterosklerozu (López, de Vries and Marrink, 2011; Coisne et al., 2016).

U *in vitro* studijama je uočena smanjena vijabilnost nekih eukariotskih staničnih linija (npr. eritrociti) kada su inkubirane sa značajnim količinama  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ -CD. Pritom je segregacija kolesterola iz staničnih membrana prepoznata kao ključan okidač hemolize. Međutim, još uvijek nije sasvim jasno kojim mehanizmom dolazi do stanične smrti nakon gubitka kolesterola iz membrana. Jedan mogući mehanizam mogao bi biti povezan s narušavanjem membranskih domena, tzv. lipidnih splavi u membranama jer su povezane s nekoliko membranskih receptora i reguliraju velik broj intrastaničnih signalizacijskih putova (Di Cagno, 2017).

#### 4.3. Interakcija ciklodekstrina s biološkim makromolekulama

Stupanje CD u interakcije s proteinima dovodi do promjene njihove stabilnosti i sklonosti agregaciji. Smatra se da se interakcije temelje na inkluziji aromatskih dijelova aminokiselina koje čine proteine (triptofan, fenilalanin, tirozin). Vrlo zanimljiva interakcija jest ona između dijela inzulina s M- $\beta$ -CD i HP- $\beta$ -CD što je rezultiralo stabilizacijom proteina u različitim vodenim medijima i na različitim temperaturama. Taj učinak je spriječio agregaciju molekula inzulina u otopini. Osim inzulina, interesantan peptid u istraživanju je  $\beta$ -amiloid kojeg nalazimo u plakovima koji nastaju u mozgu oboljelih od Alzheimerove bolesti. Pokazano je da  $\beta$ -CD mogu stvarati inkluzijske komplekse s dijelovima peptida što onda smanjuje tendenciju agregaciji u vodenim otopinama. Učinak je pokazan također *in vitro* (Di Cagno, 2017).

#### 4.4. Primjena ciklodekstrina u prehrani i suvremenoj dijetetici

Ciklodekstrini su ugljikohidratni spojevi bez okusa i mirisa, slabo probavljivi ili neprobavljivi, koje razgrađuju bakterije u debelom crijevu. Imaju niski glikemijski indeks i smanjuju glikemijski indeks druge hrane. S obzirom na sve navedeno, možemo ciklodekstrine smatrati prehranbenim vlaknima i prebioticima. Donedavno se nije znalo da se ciklodekstrini pojavljuju prirodno u različitoj hrani koja sadrži enzime ili u hrani sa škrobom koja se toplinski obrađuje. To znači da su ciklodekstrini prisutni u ljudskoj prehrani već tisućama godina. Međutim, tek su se u sedamdesetim godinama prošlog stoljeća ciklodekstrini počeli upotrebljavati u prehranbenoj tehnologiji kao nosači lipofilnih sastojaka, npr. aroma, boja, masti, s ciljem zaštite od svjetlom i toplinom induciranih promjena. Stvaranje inkluzijskih kompleksa s različitim sastojcima hrane dovodi do smanjenja oksidacije, hlapljivosti, sublimacije i poboljšanja stabilnosti. Nadalje, primjenom ciklodekstrina moguće je ukloniti neželjene okuse i mirise te time poboljšati organoleptička svojstva proizvoda. U istom periodu ciklodekstrini dobivaju GRAS (eng. *generally recognised as safe*) status i odobrenje za upotrebu u prehranbenoj industriji diljem svijeta. U Europskoj uniji  $\beta$ -CD je registriran kao aditiv E-459. GRAS status ima još i razgranati ciklički dekstrin, a neki derivati ciklodekstrina (HP- $\alpha$ -CD, HP- $\beta$ -CD, HP- $\gamma$ -CD, RAME $\alpha$ , RAME $\beta$ , RAME $\gamma$ , SBE- $\beta$ -CD) su odobreni kao pomoćne tvari u proizvodnji lijekova (Fenyvesi, Vikmon and Szente, 2016).

##### 4.4.1. Primjena ciklodekstrina u prevenciji hiperlipidemije

Bioraspoloživost lipida može se promijeniti uslijed interakcije s ciklodekstrinima. Ponekad je poželjna povećana bioraspoloživost lipida, npr. kod poremećaja u apsorpciji (cistična fibroza, pankreatitis) ili kod primjene vitamina A, D, E i K te fitosterola, omega-3 masnih kiselina i karotenoida. S druge strane, kod pretilih osoba ili onih s povećanim rizikom razvoja kardiovaskularnih oboljenja nastoji se postići smanjena bioraspoloživost lipida. Pretilost se može definirati pomoću indeksa tjelesne mase (BMI) kada je  $BMI > 30 \text{ kg/m}^3$ , a prekomjernu tjelesnu masu imaju osobe s  $BMI > 25 \text{ kg/m}^3$ . Prekomjerman unos masti i posljedična pretilost okidač su za metabolički sindrom, disfunkciju  $\alpha$  i  $\beta$  stanica gušterače te inzulinsku rezistenciju, odnosno povećava se rizik za razvoj različitih kroničnih bolesti poput šećerne bolesti tipa II i kardiovaskularnih bolesti (KVB). Unatoč napretku u terapijskim mogućnostima, kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok smrti u razvijenim zemljama. Zato je važno što više utjecati na rizične faktore poput hiperlipidemije, pušenja, fizičke neaktivnosti, pretilosti i nezdrave prehrane. Trenutno su statini najučinkovitiji lijekovi u smanjenju rizika od razvoja KVB. Na tržištu postoje i sekvestranti žučnih kiselina, ali imaju neugodne gastrointestinalne

nuspojave, loš okus i potrebne su velike količine za postizanje učinka. Često se preporučuje povećanje udjela prehrambenih vlakana u svakodnevnoj prehrani s ciljem smanjenja razine kolesterola u krvi. Kao novi pristup u smanjenju pretilosti istražuje se primjena ciklodekstrina uz obroke s visokim udjelom masti i kolesterola. S obzirom na veliki afinitet  $\alpha$  i  $\beta$ -CD prema masnim kiselinama te  $\alpha$ -CD prema kolesterolu *in vitro*, može se pretpostaviti smanjenje apsorpcije lipida te u konačnici održavanje ili smanjenje tjelesne mase. Ključno je da molekula ciklodekstrina ostane nepromijenjena u crijevu gdje treba kompleksirati lipide, ako ih želimo primjenjivati kao prehrambene namirnice. Zato je važno saznanje da su  $\alpha$  i  $\beta$ -CD neprobavljivi.

U pokusima na svinjama i štakorima pokazano je da se primjenom  $\beta$ -CD uz prehranu bogatu kolesterolom može prevenirati povećanje razine kolesterola, tj. triglicerida u plazmi. Osim toga, povećava se sinteza i izlučivanje žučnih kiselina, smanjuju se zalihe kolesterola u jetri, a stimulira se sinteza – ubrzan je promet i pregradnja kolesterola. Slični rezultati postignuti su i na životinjama kojima je davana hrana s niskim udjelom masti. U studijama na štakorima zamijećeno je manje debljanje pa čak i smanjenje tjelesne mase u tretiranoj skupini životinja. Međutim,  $\beta$ -CD je pokazao hepatotoksičnost na štakorima, a primijećena je i povećana incidencija žučnih kamenaca zbog taloženja kolesterola.  $\alpha$ -CD nije hepatotoksičan, a ima slična pozitivna svojstva kao i  $\beta$ -CD – smanjeno povećavanje tjelesne mase te snižavanje razine triglicerida i kolesterola u krvi kada je davan životinjama uz masnu prehranu. Smatra se da  $\alpha$ -CD sprječava degradaciju lipida tako da oblaže lipidne kapljice i blokira pristup lipazama. Pozitivnim učincima dodatno pridonosi inhibicija  $\alpha$ -amilaza, tj. smanjena apsorpcija ugljikohidrata. Zabilježeni su rezultati prema kojima  $\alpha$ -CD selektivan za zasićene masne kiseline i trans masti. Osim toga, veći afinitet ima prema neesterificiranim masnim kiselinama. Na američkom, kanadskom i australskom tržištu postoji  $\alpha$ -CD sa zaštićenim trgovačkim imenom FBCx, tj. Calorees za koje proizvođači navode da smanjuju apsorpciju masnoća ako se uzmu uz mastan obrok iako ne postoje čvrsti dokazi učinkovitosti *in vivo*. Provedeno je kliničko istraživanje na pretilim osobama sa šećernom bolesti tipa II koji su uzimali 6 g  $\alpha$ -CD dnevno kroz 3 mjeseca. Grupa koja je uzimala  $\alpha$ -CD nije dobila na tjelesnoj masi, dok je kontrolna grupa imala statistički značajno povećanje tjelesne mase i indeksa tjelesne mase (BMI). Dodatno, istraživanja na ljudima su pokazala značajno poboljšanje lipidnog profila, međutim rezultati smanjenja tjelesne mase nisu opravdali očekivanja s obzirom na rezultate na životinjama. Razlog bi mogao biti to što je životinjama prehrana bila strogo kontrolirana, a ljudima je dopušteno da nastave sa svojim uobičajenim prehrambenim navikama. Također, istraživanja na zdravoj populaciji dovela su do zaključka da je  $\alpha$ -CD učinkovitiji u poboljšanju lipidnog profila kod pretilih osoba i osoba sa šećernom bolesti tipa II. Činjenica da se  $\alpha$ -CD

smatra prebiotikom govori u prilog tome da su pozitivni rezultati možda ipak posljedica djelovanja na crijevnu mikrobiotu što je povezano s metabolizmom lipida i inzulinskom osjetljivošću (Gallaher and Plank, 2015; Amar *et al.*, 2016; Fenyvesi, Vikmon and Szente, 2016).

#### 4.4.2. Primjena ciklodekstrina u regulaciji postprandijalne glikemije i kao pomoć pri mršavljenju

Između ostalog, posljedica pretilosti može biti i šećerna bolest tipa 2. Porast broja pretilih osoba prati sve veća incidencija šećerne bolesti tipa 2. Dokazano je da smanjeni glikemijski indeks hrane može djelovati pozitivno u prevenciji i liječenju nekoliko metaboličkih poremećaja, uključujući šećernu bolest, pretilost i metabolički sindrom. Postprandijalni skok koncentracije glukoze u krvi značajan je faktor rizika za razvoj navedenih bolesti, a prehrana koja omogućuje manju postprandijalnu koncentraciju GUK (glukoze u krvi) smanjuje taj rizik. Postprandijalna glikemija postupno može voditi do hiperinzulinemije, a u konačnici do razvoja inzulinske rezistencije. Zato se razmatra mogućnost utjecanja na postprandijalne razine GUK, što bi uz ostale mjere i strategije pridonijelo prevenciji i liječenju pretilosti te bolesti povezanih s pretilošću. Niski glikemijski indeks imaju namirnice koje su bogate prehranbenim vlaknima. Osim što su ciklodekstrini prepoznati kao prehranbena vlakna korisna u smanjenju apsorpcije masti i kolesterola te smanjenju tjelesne mase, pokazano je da mogu inhibirati enzim amilazu tako da se vežu na aktivna mjesta enzima. Pritom se  $\beta$ -CD također veže na škrob i smanjuju njegovu stabilnost. U istraživanjima na štakorima koji su uz hranu konzumirali ciklodekstrine, rezultati su pokazali značajno smanjeno nakupljanje masti, razinu glukoze u krvi te razinu triglicerida u serumu i jetri. Pozitivni rezultati zapaženi su i na ljudima – smanjena je razina glukoze u krvi i razina inzulina kada je u krumpirov škrob dodan  $\beta$ -CD, a povećan je osjećaj sitosti. Provedeni su pokusi sa škrobom modificiranim pomoću  $\beta$ -CD i takav škrob se najsporije probavljao, a imao je najmanji glikemijski indeks.  $\alpha$ -CD je također smanjio glikemijski odgovor, a povećao sitost ovisno o dozi, međutim, pri višim dozama pojavile su se blaže probavne smetnje (nadutost, bol u abdomenu i mučnina). Za  $\alpha$ -CD je pokazano da inhibira gušteračnu amilazu i usporava gastrično pražnjenje te tako smanjuje metabolizam ugljikohidrata i postprandijalnu razinu glukoze, tj. inzulina u krvi. S obzirom na dosadašnja istraživanja, prihvaćena je zdravstvena tvrdnja: unos  $\alpha$ -CD doprinosi smanjenju povećanja razine GUK nakon konzumacije obroka sa škrobom. Doza  $\alpha$ -CD bi trebala biti najmanje 5 grama na svakih 50 g škroba. Za razliku od  $\alpha$  i  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD je u potpunosti probavljiv. Prilikom konzumacije pića s  $\gamma$ -CD zapaženo je skromno i postupno povećanje razine GUK i inzulina.



Razina GUK se mijenjala vrlo sporo za razliku od kontrolne skupine kod koje se dogodio očekivani skok GUK, zatim naglo i jako lučenje inzulina i brzo spuštanje razine glukoze, čak do hipoglikemije. Nuspojave nisu zabilježene. Primjenom ugljikohidrata u obliku  $\gamma$ -CD mogu se izbjeći veliki skokovi u razini GUK, odnosno može se postići dobra kontrola glikemije kod oboljelih od šećerne bolesti. Dodatno, visokouglikohidratna prehrana mogla bi biti bolji izbor od visokoproteinske prehrane kod osoba s komorbiditetima kao što su kardiovaskularne bolesti, gastropareza kao posljedica neuropatije i renalna insuficijencija. Primjena ciklodekstrina u razvoju prehrambenih proizvoda s niskim glikemijskim indeksom daje obećavajuće rezultate, ne samo za osobe sa šećernom bolesti već i za druge kronične metaboličke bolesti te zdrave pojedince koji žele prehranu s nižim glikemijskim indeksom s ciljem održavanja zdravlja (Asp *et al.*, 2006; Buckley *et al.*, 2006; Fenyvesi, Vikmon and Szente, 2016; Grunberger *et al.*, 2007).

#### 4.5. Ciklodekstrini kao nositelji terapijske učinkovitosti

##### 4.5.1. Sugamadeks

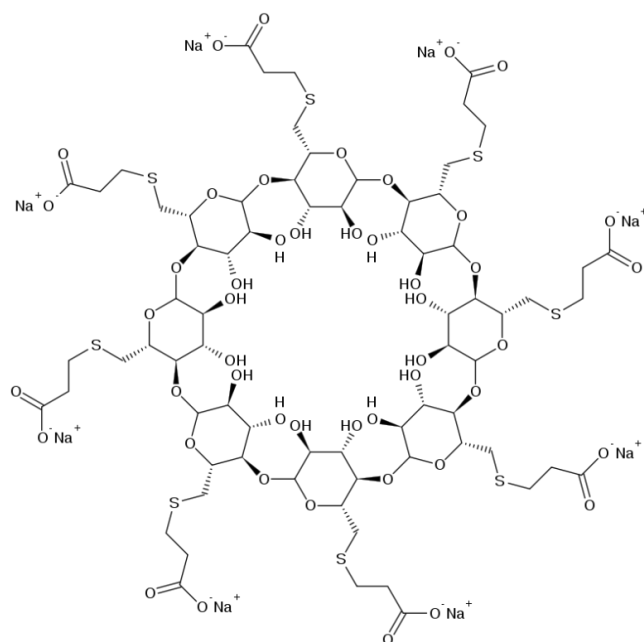
Sugamadeks je selektivni blokator mišićnih relaksansa. Nakon parenteralne primjene u plazmi stvara kompleks s rokuronijem ili vekuronijem te tako smanjuje količinu slobodnog neuromuskularnog blokatora koji se može vezati za nikotinske receptore neuromišićne sinapse. Zbog toga dolazi do reverzije neuromuskularne blokade izazvane rokuronijem ili vekuronijem.

Relaksansi skeletnog mišićja ili neuromuskularni blokatori (NMB) danas se često koriste kao dio terapije za postizanje anestezije. Mete djelovanja NMB-a su nikotinski receptori za acetilkolin. NMB se vežu na receptore i blokiraju vezanje acetilkolina te posljedičnu kontrakciju mišićnih vlakana. Miorelaksanse su koristili još domoroci s područja Amazone koji su vrhove strijela za lov premazivali otrovom biljke *Chondrodendron tomentosum* pa su pogođene životinje uginule od paralize skeletnih mišića. S vremenom su razvijeni neuromuskularni blokatori koje danas dijelimo na depolarizirajuće (sukcinkolin) i nedepolarizirajuće (rokuronij, verukonij, pankuronij). Uz njih su istraživani odgovarajući antidoti s ciljem prevencije rezidualne neuromuskularne blokade koja može dovesti do respiratorne insuficijencije. Prvi je predložen piridostigmin, ali nije dovodio do potpunog oporavka muskulature, a potom se počeo koristiti neostigmin. Prekid neuromuskularnog bloka uzrokovanog NMB-om događa se postupno i spontano, zbog razrjeđivanja koncentracije i metabolizma lijeka no potrebno je dugo vremena za potpun oporavak. Brži oporavak se može postići primjenom antidota, inhibitora acetilkolinesteraza, kao što su piridostigmin i neostigmin. Oni dovode do povećanja koncentracije acetilkolina u neuromuskularnoj sinapsi

koji zatim istiskuje NMB-e s nikotinskih receptora i prekida blokadu. Ti antidoti pojačavaju parasimpatičku aktivnost pa se na nastale nuspojave (bradikardija, hipersalivacija, abdominalni bolovi) često mora djelovati pomoću dodatnih lijekova. Problematično je uskladiti potrebne doze antidota i miorelaksansa zbog razlike u njihovim poluvremenima eliminacije. Treća mogućnost je primjena sugamadeksa, selektivnog inhibitora steroidnih neuromuskularnih blokatora. Radi se o derivatu  $\gamma$ -CD koji unutar svoje strukture enkapsulira NMB-e te onemogućava njihovo vezanje na acetilkolinске receptore na neuromuskularnoj ploči. Prvo je otkriveno djelovanje na rokuronij, a kasnije i na druge neuromuskularne blokatore – verukonij i pankuronij, čija je zajednička karakteristika aminosteroidna struktura. (Akha *et al.*, 2010; Fink and Schaller, 2013).

#### 4.5.1.1. Struktura sugamadeksa i mehanizam vezanja supstrata

Kao i drugi ciklodekstrini, sugamadeks ima oblik konusnog stošca s hidrofilnom površinom i lipofilnom unutrašnjošću. Molekularna težina sugamadeksa iznosi 2178 Da. Na prirodnom  $\gamma$ -CD su na položaju 6 zamijenjene hidroksilne skupine s 8-karboksitioeterskim grupama koje povećavaju dubinu lipofilne šupljine sugamadeksa. Svaka 8-karboksitioeterska grupa je negativno nabijena pa se međusobno te grupe odbijaju i drže unutrašnju šupljinu ciklodekstrina otvorenom, a kad molekula dođe u kontakt s NMB-ima, dolazi do stvaranja elektrostatskih veza s pozitivno nabijenom amino skupinom lijeka. Pri tome nastaju nekovalentni kompleksi 1:1. stabilnost kompleksa temelji se na intermolekularnim van der Waalsovima interakcijama, vodikovim vezama i hidrofobnim interakcijama. Sugamadeks ima 2.5 puta veći afinitet prema rokuroniju u odnosu na verukonij, a najmanji afinitet ima prema pankuroniju. Nesteroidni mišićni relaksansi (sukcinilkolin, cisatrakurij, atrakurij, mivakurij) se ne uklapaju u lipofilnu unutrašnjost sugamadeksa i njih sugamadeks neće inaktivirati (Akha *et al.*, 2010; Cada, Levien and Baker, 2016).



Slika 3. Struktura sugamadeksa

([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sugammadex\\_sodium.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sugammadex_sodium.svg))

#### 4.5.1.2. Farmakokinetika sugamadeksa

U *in vitro* pokusima je pokazano da se ni slobodni sugamadeks ni kompleks sugamadeksa i rokuronija ne vežu se za proteine u plazmi niti za eritrocite. U pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima nije opažen niti jedan metabolit sugamadeksa. Ustanovljeno je da je jedini put eliminacije izlučivanje lijeka putem bubrega u neizmijenjenom obliku. U odraslih anesteziranih bolesnika s normalnom funkcijom bubrega, poluvrijeme eliminacije ( $t_{1/2}$ ) sugamadeksa iznosi približno 2 sata. Više od 90% doze izluči se unutar 24 sata. Mokraćom se izluči 96% doze, pri čemu je udio neizmijenjenog sugamadeksa najmanje 95%. Manje od 0,02% doze izlučuje se fecesom ili izdahnutim zrakom. U farmakokinetičkom ispitivanju, u kojem su uspoređivani bolesnici s teškim oštećenjem funkcije bubrega s onima koji imaju normalnu funkciju bubrega, razine sugamadeksa u plazmi bile su slične prvi sat nakon doziranja, a zatim su se razine brže snižavale u kontrolnoj skupini (ispitanici s normalnom bubrežnom funkcijom). Kod bolesnika s teškim oštećenjem funkcije bubrega, ukupna izloženost sugamadeksu bila je 17 puta veća (Sažetak opisa svojstava lijeka: Bridion 100 mg/ml otopina za injekciju). Proces vezanja rokuronija se odvija u središnjem odjeljku (plazma). Sugamadeks intravenskom injekcijom direktno dopijeva u plazmu i odmah veže slobodne molekule rokuronija. Nevezane molekule sugamadeksa se zadržavaju u središnjem odjeljku. Uspostavlja se koncentracijski gradijent molekula rokuronija u plazmi u odnosu na neuromišićnu ploču pa se molekule rokuronija oslobađaju s veznog mjesta na receptorima na neuromišićnoj ploči i pomiču u

središnji odjeljak gdje nastaju kompleksi rokuronija i sugamadeksa bez fiziološke aktivnosti (Fink and Schaller, 2013).

Rokuronij se uobičajeno eliminira putem mokraćne i žuči, a nakon primjene sugamadeksa povećava se udio mokraćom izlučenog rokuronija. Osim toga, mijenja se i rokuronijev volumen raspodjele ( $V_D$ ) s 50 na 15 L (Schaller and Lewald, 2016).

#### 4.5.1.3. Klinička učinkovitost sugamadeksa

U meta analizi iz 2017. godine pokazano je da primjena sugamadeksa u usporedbi s neostigminom dovodi do značajno bržeg postoperativnog otpuštanja pacijenta nakon opće anestezije iz operativne sale u postanestezijsku jedinicu te iz postanestezijske jedinice na odjel. Objektivni pokazatelj oporavka muskulature od djelovanja NMB-a je TOF omjer (engl. *Train-of-Four*) kojim se jačina mišićne kontrakcije prikazuje u rasponu od 0 kod potpuno relaksiranog bolesnika do 1 kod potpunog oporavka do vrijednosti prije relaksacije. Smatra se da je TOF omjer  $\geq 0,9$  prihvatljiv za procjenu oporavka mišićne funkcije. Ovisno o korištenom neuromuskularnom blokatoru i postignutoj dubini blokade, primjenjuju se različite doze sugamadeksa. Potrebno je postići TOF omjer od 0,9 u prosječnom vremenu od 3 minute. Doze do 96 mg/kg sugamadeksa su se pokazale sigurnima za upotrebu kod zdravih odraslih pacijenata. Prilikom doziranja sugamadeksa važno je postići potpuni prekid neuromuskularnog bloka, prevenirati rezidualni blok, a da se pritom ne upotrebljava nepotrebno visoka doza što povećava cijenu liječenja i otežava ponovnu uspostavu neuromuskularnog bloka ako je to potrebno. Da bi se prevenirala česta nuspojava uzrokovana oporavkom neuromuskularne funkcije – kašljanje, u jednom istraživanju je doza sugamadeksa podijeljena na dva dijela. Umjesto bolusa od 2 mg/kg primijenjeno je 1 mg/kg sugamadeksa za postizanje prekida neuromuskularnog bloka, a još 1 mg/kg je primijenjeno neposredno nakon ekstubacije što je omogućilo postupni oporavak i smanjilo pojavu nuspojava, ponajprije kašlja.

Tablica 3. Doze sugamadeksa potrebne za postizanje TOF omjera 0,9 unutar 3 minute za određene indikacije

<i>Doza sugamadeksa</i>	<i>Indikacija</i>	<i>Vrijeme do postizanja TOF omjera 0,9</i>
16 mg/kg	Neposredan prekid blokade nakon primjene 1,2 mg/kg rokuronija	1,5 min
4 mg/kg	Rutinski prekid dubokog neuromuskularnog bloka	3 min
2 mg/kg	Rutinski prekid umjerenog neuromuskularnog bloka	2 min

Za prekid dubokog ili umjerenog neuromuskularnog bloka nakon primjene verukonija preporučaju se doze sugamadeksa kao i za rokuronijem uzrokovan blok, no zbog manjeg afiniteta za verukonij, brzina oporavka je nešto sporija – 3,3 minute nakon primjene 4 mg/kg sugamadeksa kod dubokog neuromuskularnog bloka, tj 2,3 minute nakon primjene 2 mg/kg sugamadeksa kod umjerenog neuromuskularnog bloka. Doza od 1mg/kg sugamadeksa bila je dovoljna za prekid neuromuskularnog bloka uzrokovanog verukonijem, no nije prevenirala ponovnu pojavu blokade. Ponovni neuromuskularni blok povezan je s komplikacijama poput hipoksije, slabosti mišića i zatajenjem disanja. Da bi se povećala sigurnost pacijenta i smanjio mortalitet potrebno je primijeniti adekvatne doze sugamadeksa (Kvolik, Ikić and Jukić, 2011; Fink and Schaller, 2013; Asztalos *et al.*, 2017; Carron *et al.*, 2017; Loh *et al.*, 2017).

Pipekuronij je dugodjelujući neuromuskularni blokator steroidne strukture, vrlo povoljnog sigurnosnog profila. Međutim, upotreba pipekuronija je ograničena zbog rizika od postoperativnih komplikacija koje su posljedica njegovog dugog djelovanja. Afinitet pipekuronija prema sugamadeksu je čak 10 puta veći u odnosu na rokuronij što implicira primjenu manjih doza sugamadeksa (2 mg/kg) za prekid dubokog neuromuskularnog bloka postignutog primjenom pipekuronija. Učinkovitost dvostruko manje doze sugamadeksa je potvrđena u istraživanju te se razmatra daljnja primjena pipekuronija kao neuromuskularnog blokatora zbog značajnog smanjenja cijene terapije (Tassonyi *et al.*, 2018).

Primjena neuromuskularnih blokatora povezana je sa smanjenom potrebom anestetika. Moguće objašnjenje je da mišićni receptori rastezanja šalju signale do mozga pa u opuštenom stanju ne prenose bolne podražaje kao što bi prenosili inače. Uzimajući to u obzir, prilikom

prekida neuromuskularnog bloka moglo bi doći do obrnutog procesa i nedostatne anestezije jer se vraća mogućnost podraživanja mišićnih receptora i odašiljanja signala boli. Dosadašnji rezultati na temu povezanosti prekida neuromuskularne blokade i dubine anestezije su kontradiktorni. Provedeno je istraživanje hoće li sugamadeks, primijenjen sam u odsutnosti neuromuskularnih blokatora utjecati na anesteziju i zaključeno je da ne utječe na dubinu anestezije niti na hemodinamiku što se može objasniti činjenicom da sugamadeks ne prolazi krvno-moždanu barijeru. Međutim, kada se primjenjuje za prekid neuromuskularnog bloka, postoje naznake da se dubina anestezije može promijeniti iako se te tvrdnje još moraju dokazati (Fassoulaki, Chondrogiannis and Staikou, 2017).

#### 4.5.1.4. Primjena sugamadeksa u posebnim skupinama bolesnika

##### *Djeca*

Ovisno o specifičnoj dobi pedijatrijskih pacijenata, velike su razlike u odgovoru na neuromuskularne blokatore, ali i u vremenu potrebnom za oporavak. Unatoč činjenici da se sugamadeks u pojedinim slučajevima primjenjuje kod djece, malo je prikupljenih podataka zbog poteškoća pri dobivanju informiranog pristanka u ovoj populaciji. U istraživanjima na približno 200 pedijatrijskih pacijenata pokazano je da sugamadeks postiže brži i jači učinak na rokuronijem uzrokovan neuromuskularni blok u odnosu na neostigmin. Također je zapaženo da u preporučenim dozama za odrasle, sugamadeks kod djece postiže brži učinak. Zasad je sugamadeks odobren za primjenu kod djece starije od 2 godine u dozi od 2 mg/kg za prekid umjerenog neuromuskularnog bloka. U hitnim slučajevima, anestetičar se može odlučiti za „off-label“ primjenu sugamadeksa (Schaller and Lewald, 2016; Tobias, 2017).

##### *Stariji bolesnici*

Starenjem se događaju fiziološke promjene u svim organskim sustavima, uključujući dišni, krvožilni i mokraćni sustav koji su vrlo važni kada govorimo o anesteziji. Neki čimbenici povezani upravo sa starenjem doprinose povećanom postoperativnom morbiditetu i mortalitet kod starijih pacijenata. Značajna je razlika u incidenciji nepotpunog oporavka od neuromuskularnog bloka kod starijih i mlađih pacijenata, a simptomi koji se javljaju su: slabost mišića, opstrukcija dišnih puteva, hipoksemija, postoperativne respiratorne komplikacije (pneumonija), zatajenje disanja. Kod pacijenata starijih od 65 godina vrijeme oporavka od neuromuskularnog bloka primjenom sugamadeksa je produljeno s <2 minute na <4 minute. Smatra se da je odgođeno vrijeme nastupa neuromuskularne blokade posljedica smanjenog srčanog minutnog volumena i smanjenog protoka krvi, no te tvrdnje se još moraju potvrditi. Dodatni čimbenici koji utječu na vrijeme oporavka su promijenjena farmakokinetika i

farmakodinamika neuromuskularnih blokatora te ostale fiziološke promjene povezane sa starenjem. Slično vrijedi i za učinak sugamadeksa zato što je postizanje konačne koncentracije sporije pa je i oporavak od neuromuskularnog bloka sporiji u odnosu na mlađe pacijente. Općenito kod starijih pacijenta prilagodba doze nije potrebna, ali je važno imati na umu da se vrijeme oporavka produljuje i potrebne su značajno veće doze (dodatnih 1 mg/kg) sugamadeksa za postizanje adekvatnog oporavka unutar 2 minute u odnosu na mlađu populaciju. Preporučuje se primjena najmanje učinkovite doze zbog mogućih postoperativnih komplikacija, tj. potrebe za ponovnim operativnim zahvatom neposredno nakon primarne operacije, a povećane doze se mogu razmotriti kada je važno postići vrlo brzi prekid dubokog neuromuskularnog bloka u hitnim situacijama (Fink and Schaller, 2013; Shin *et al.*, 2016; Carron, Bertocello and Ieppariello, 2018).

#### *Pretili bolesnici*

Za pretila pacijenta se doza rokuronija izračunava prema idealnoj tjelesnoj masi, a doza sugamadeksa se izračunava prema stvarnoj tjelesnoj masi jer je doza dobivena za idealnu tjelesnu masu nedovoljno učinkovita za oporavak od dubokog i umjerenog neuromuskularnog bloka. Konačne preporuke za doziranje kod pretilih pacijenata nisu usuglašene, ali je svakako preporučeno dodatno nadgledanje pacijenta zbog mogućeg ponovnog neuromuskularnog bloka, ako je doza sugamadeksa bila premala. Doza sugamadeksa izračunata na temelju stvarne tjelesne mase omogućuje učinkovit i brz oporavak od neuromuskularnog bloka, jednako kod pacijenata normalne tjelesne mase i kod pretilih pacijenata te nisu potrebne dodatne prilagodbe doze (Fink and Schaller, 2013; Monk *et al.*, 2015; Schaller and Lewald, 2016).

#### *Bubrežni bolesnici*

U dva otvorena ispitivanja uspoređena je djelotvornost i sigurnost primjene sugamadeksa u kirurških bolesnika s teškim oštećenjem funkcije bubrega i onih bez takvog oštećenja. U jednom je ispitivanju sugamadeks primijenjen nakon blokade izazvane rokuronijem u dozi 4 mg/kg, a u drugom u dozi 2 mg/kg. Oporavak od blokade trajao je nešto dulje u bolesnika s teškim oštećenjem funkcije bubrega u odnosu na bolesnike bez oštećenja funkcije bubrega. U tim ispitivanjima nije prijavljena rezidualna neuromuskularna blokada niti povrat neuromuskularne blokade u bolesnika s teškim oštećenjem funkcije bubrega, ali je rokuronij detektiran čak 7 dana nakon primjene sugamadeksa. Kod blagog i umjerenog oštećenja funkcije bubrega (klirens kreatinina  $\geq 30$  i  $< 80$  ml/min) preporučuju se iste doze kao i za odrasle bolesnike koji nemaju oštećenje funkcije bubrega (Schaller and Lewald, 2016).

### *Trudnice i dojilje*

Studije na životinjama nisu pokazale negativne pojave kod fetusa, prilikom poroda niti kod postnatalnog razvoja, ali ne postoje klinička istraživanja na ljudima. Ne zna se izlučuje li se sugamadeks u majčino mlijeko. U istraživanjima na životinjama zamijećeno je izlučivanje u mlijeko, međutim, oralna apsorpcija sugamadeksa je mala pa se ne očekuju negativne pojave kod dojenčeta. Primjena sugamadeksa se smatra sigurnom prilikom dojenja (Fink and Schaller, 2013).

#### 4.5.1.5. Sigurnost i nuspojave

Najznačajnije nuspojave sugamadeksa pojavljuju se zbog prebrzog oporavka mišića od neuromuskularne blokade kada se nastavlja s anestezijom. Pacijenti u tom slučaju mogu kašljati, pomicati se, raditi grimase, sisati endotrahealnu cijev, a potrebno je primijeniti dodatne doze anestetika i/ili opioida. Reakcije preosjetljivosti na lijek pojavljuju se manje često ( $\geq 1/1000$  i  $< 1/100$ ). Ove su se reakcije kretale od izoliranih kožnih reakcija do ozbiljnih sistemskih reakcija, tj. anafilaksije. Značajna je mogućnost ponovne pojave neuromuskularne blokade. Nakon primjene sugamadeksa, molekule rokuronija se premještaju iz neuromuskularne sinapse u plazmu zbog koncentracijskog gradijenta. Ako je doza sugamadeksa preniska, tada će se nevezane molekule rokuronija ponovno vraćati u neuromuskularnu sinapsu i uzrokovati blok. Da bi doza sugamadeksa bila adekvatna, potrebno je primjenjivati objektivne metode praćenja pacijenata i izračunavati dozu upravo za pojedini slučaj i dubinu neuromuskularnog bloka. U kliničkim ispitivanjima u kojima su ispitanici primili rokuronij ili vekuronij, gdje je sugamadeks primijenjen u dozi propisanoj za određenu dubinu neuromuskularne blokade, opažena je ponovna pojava neuromuskularne blokade uz incidenciju od 0,20%. Ne preporučuje se primjena doza nižih od preporučene jer može dovesti do povećanog rizika od ponovne pojave neuromuskularne blokade nakon inicijalne reverzije. U rijetkim slučajevima, opažena je značajna bradikardija unutar nekoliko minuta nakon primjene sugamadeksa za reverziju neuromuskularne blokade. Bradikardija može u nekim slučajevima dovesti do srčanog zastoja. U bolesnika se moraju pomno pratiti hemodinamske promjene tijekom i nakon reverzije neuromuskularne blokade. Ako se pojavi klinički značajna bradikardija treba primijeniti terapiju antikolinergičkim lijekovima kao što je atropin. Najčešće postoperativne nuspojave vezane uz anesteziju i operaciju su mučnina i povraćanje, a mogu dovesti do značajnih komplikacija. Navedene nuspojave mogle bi se povezati s primjenom inhibitora acetilkolinesteraza i njihovim muskarinskim djelovanjem na gastrointestinalni trakt, odnosno na centar za povraćanje u mozgu. U istraživanju koje je uspoređivalo utjecaj



neostigmina i sugamadeksa na postoperativnu mučninu i povraćanje, broj pacijenata koji su doživjeli nuspojave je bio manji u grupi koja je primala sugamadeks, no rezultat nije bio statistički značajan. Predlažu se daljnja istraživanja radi potvrde rezultata.

Jedina apsolutna kontraindikacija za primjenu sugamadeksa je preosjetljivost. Povećani oprez je potreban kod pacijenata s poremećajima zgrušavanja krvi, s oštećenom funkcijom bubrega i kod pacijenata koji u terapiji imaju toremifen ili fusidatnu kiselinu. Prilikom faze I kliničkog istraživanja, primjena 4-16 mg/kg sugamadeksa zdravim dobrovoljcima dovela je do produljenja aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (aPPT) i protrombinskog vremena (PT). Učinak na aPPT i PT je bio vremenski ograničen (30 min) i klinički beznačajan, međutim, ako pacijent ima povećan rizik krvarenja preporučuje se obratiti pozornost na ove parametre, pogotovo kod primjene većih doza sugamadeksa. U istraživanju na pacijentima s povećanim rizikom od krvarenja zbog primjene tromboprolifaktičnih lijekova prilikom opsežnih operativnih zahvata potvrđeno je malo povećanje aPPT i PT u kratkom trajanju. Konačna incidencija krvarenja nije bila značajno veća kod pacijenata koji su primili sugamadeks (4 mg/kg) u odnosu na pacijente s drugom uobičajenom terapijom. Važno je napomenuti da se sugamadeks daje na kraju zahvata kad je hemostaza već postignuta što dodatno smanjuje rizik od krvarenja (Rahe-meyer *et al.*, 2014). Zbog renalnog puta eliminacije, sugamadeks se ne preporučuje primjenjivati pacijentima s teškim oštećenjem bubrega (klirens kreatinina <30 ml/min) ili pacijentima na dijalizi. U kostima i zubima mladih štakora primijećen je rezidualni sugamadeks, no ispitivanja u mladih odraslih i zrelih štakora pokazala su da sugamadeks nema štetnih utjecaja na boju zuba ili kakvoću, strukturu odnosno metabolizam kostiju. Potrebna su dodatna istraživanja na pedijatrijskoj populaciji da bi se utvrdio utjecaj na rast kostiju i zubi.

Ako pacijent mora ponavljati operaciju neposredno nakon prvog zahvata i prve primjene sugamadeksa, razmatraju se tri mogućnosti za reverziju neuromuskularnog bloka: upotreba sukcinilkolina, upotreba benzilizokinolinskog mišićnog relaksansa ili druga primjena sugamadeksa. Još traju rasprave oko pitanja koja opcija od tri je najbolja. Dosadašnja istraživanja pokazuju da se rokuronij može ponovno koristiti nakon što je primijenjen sugamadeks, ali može imati sporiji početak djelovanja i kraće trajanje djelovanja. Zato se doza rokuronija mora prilagoditi ovisno o vremenu koje je prošlo od primjene sugamadeksa te ovisno o primijenjenoj dozi sugamadeksa. Nužno je praćenje svakog pojedinog slučaja s ciljem postizanja adekvatnog neuromuskularnog bloka. Ako je potrebno primijeniti neuromuskularni blokator prije preporučenog vremena čekanja, treba izabrati nesteroidni neuromuskularni blokator. Za drugi prekid neuromuskularnog bloka rokuronijem ili verukonijem može biti

potrebna veća doza sugamadeksa ('Sažetak opisa svojstava lijeka', 2013; Fink and Schaller, 2013; Cada, Levien and Baker, 2016; Schaller and Lewald, 2016; Iwasaki *et al.*, 2017).

#### 4.5.1.6. Interakcije sugamadeksa s drugim lijekovima

Unatoč činjenici da je sugamadeks sintetiziran tako da specifično veže rokuronij, postoji mogućnost interakcije s drugim lijekovima, posebice s toremifenom – modulatorom estrogenskih receptora te s fusidatnom kiselinom – bakteriostatskim antibiotikom. Kod pacijenata koji koriste navedene lijekove očekuje se produljeno vrijeme oporavka od neuromuskularnog bloka. Postoji teorijska mogućnost da ti lijekovi istisnu neuromuskularni blokator iz kompleksa sa sugamadeksom te da dođe do ponovne pojave neuromuskularne blokade.

Poznato je da sugamadeks može vezati progesteron, a takva interakcija može utjecati na primjenu hormonske kontracepcije. Jedan bolus sugamadeksa smatra se ekvivalentan jednoj propuštenoj dozi oralne kontracepcije pa je potrebno zaštititi se nehormonskim metodama za sprječavanje začeca idućih 7 dana. Provedeno je istraživanje interakcija sugamadeksa sa steroidnim hormonima, s obzirom na to da ciklodekstrini mogu inkapsulirati steroidne strukture. Ključna razlika u navedenim interakcijama je postojanje negativno nabijenih karboksilnih skupina na sugamadeksu koje stupaju u interakciju s kvaternim amonijevim ionima na rokuroniju i verukoniju, a odgovarajućeg pozitivnog naboja nema kod steroidnih hormona. Afinitet steroidnih hormona prema sugamadeksu je nizak također zbog toga što su steroidni hormoni često vezani na transportne proteine u plazmi i kao takvi, nedostupni sugamadeksu. Zapaženo je privremeno povećanje razine aldosterona i testosterona nakon primjene 4 mg/kg sugamadeksa, međutim učinak je bio zanemariv. Potrebno je dodatno istražiti učinak sugamadeksa u drugim dozama.

Određene skupine lijekova mogu pojačati aktivnost neuromuskularnih blokatora ako se koriste prije operacije, što uključuje nekoliko antibiotika. Osim toga, neki antibiotici mogu smanjiti učinkovitost neostigmina u prekidu neuromuskularne blokade jer inhibiraju oslobađanje acetilkolina u sinapsu. Istraživan je učinak antibiotika na učinkovitost sugamadeksa prilikom prekida neuromuskularnog bloka uzrokovanog rokuronijem te je potvrđena hipoteza da antibiotici nemaju značajan utjecaj na sugamadeks jer je mehanizam njegovog djelovanja različit od dosadašnjih lijekova (Hudson, Rietbergen and Chelly, 2014; Cada, Levien and Baker, 2016; Gunduz Gul *et al.*, 2016; Schaller and Lewald, 2016).

#### 4.5.1.7. Farmakoekonomski aspekt primjene sugamadeksa

Sugamadeks je odobren za kliničku primjenu u Europi 2008. godine. Jedna bočica od 200 mg sugamadeksa košta otprilike 80 € (~600 kn) plus porez. Konačnu isplativost sugamadeksa teško je odrediti zbog razlika između zemalja, pa i pojedinih bolnica. Ipak, farmakoekonomske analize procjenjuju primjenu sugamadeksa isplativom. Tvrdnje se temelje na više različitih čimbenika: smanjenju vremena provedenog u operativnoj sali, smanjenom vremenu ekstubacije, smanjenom vremenu provedenom u postanestezijskoj jedinici. Osim toga, produljeno vrijeme u operativnoj sali može dovesti do odgađanja drugih zakazanih operacija što dovodi također do povećanih troškova zaposlenika ako moraju raditi prekovremeno. Troškove smanjuje i manji rizik od postoperativnih komplikacija u odnosu na neostigmin. Pretpostavlja se da će manje odgoda dovesti do povećane produktivnosti i smanjenja troškova zaposlenika. Neka od važnih pitanja koja se moraju razmatrati prilikom određivanja isplativosti sugamadeksa je pravilna indiciranost sugamadeksa, učinkovitost praćenja neuromuskularnog bloka i pacijenta neposredno nakon operativnog zahvata te mogućnosti prilagodbe doze. Doza sugamadeksa ne smije biti nedostatna zbog povećanog rizika od ponovne pojave neuromuskularnog bloka i komplikacija koje slijede. Učinkovito praćenje pacijenta bi trebalo omogućiti točno određivanje dubine postignutog neuromuskularnog bloka te se prema tome mora izračunati odgovarajuća doza sugamadeksa. Dosadašnje farmakoekonomske studije nisu donijele jedinstveni zaključak te isplativost sugamadeksa izrazito varira ovisno o raznovrsnim uvjetima (Carron *et al.*, 2017; De Boer, Carlos and Brull, 2018)

#### 4.5.2. Primjena ciklodekstrina u liječenju karcinoma

Za  $\beta$ -CD i njegove derivate topljivi u vodi (npr. M- $\beta$ -CD i HP- $\beta$ -CD) dokazano je citostatično/citotoksično djelovanje na različitim staničnim linijama u dozama od 6,6 do 180 mmol/L povezano s izdvajanjem kolesterola (Leroy-Lechat *et al.* 1994). Smatra se da ekstrakcija kolesterola uslijed interakcije s ciklodekstrinima dovodi do spontane aktivacije apoptotičkih ili nekrotičnih mehanizama. Još nije utvrđeno koji su mehanizmi zaduženi za takvu aktivaciju, međutim, pretpostavlja se da poremećaj u membranskim lipidnim splavima pokreće kaskadu signalnih puteva koji vode stanicu u apoptozu, odnosno nekrozu. Membranske lipidne splavi su uključene u regulaciju proliferacije malignih stanica, diferencijaciju, apoptozu i migraciju što ukazuje na povezanost poremećaja lipidnih splavi i inhibicije rasta te migracije malignih stanica, uključujući staničnu smrt. Nekoliko je istraživanja koja su proučavala potencijal ciklodekstrina kao kemoterapeutika. Intraperitonealne injekcije vodene otopine M- $\beta$ -CD značajno su inhibirale rast ljudskih solidnih tumora (stanične linije karcinoma dojke ili

jajnika) implantiranih u miševе. Intratumorske injekcije M- $\beta$ -CD su pokazale još bolje rezultate. Primjenom tamoksifena u kombinaciji s M- $\beta$ -CD značajno je umanjena veličina i težina tumora kod miševa, za čak 75%. Pritom su miševi dobivali normalnu prehranu, a grupa miševa s povećanim udjelom kolesterola u prehrani nisu postigli značajno smanjenje tumora. Može se zaključiti da kolesterol ima ključnu ulogu u rastu tumora, a da M- $\beta$ -CD direktno utječe na izvlačenje kolesterola iz organizma. Da bi se postigao još bolji antiproliferativni učinak, znanstvenici su konjugirali folat na M- $\beta$ -CD i primijenili takav kompleks intratumorski i intravenski kod solidnih tumora te supkutano kod melanoma. Nuspojave su bile zanemarive. Jači učinak prilikom dodavanja folata na ciklodekstrinsku bazu pripisuje se postojanju većeg broja receptora za folat na tumorskim stanicama u odnosu na zdrave stanice. Također je demonstrirano antitumorsko djelovanje HP- $\beta$ -CD na leukemijske stanice *in vitro* te *in vivo*. HP- $\beta$ -CD također smanjuje razinu kolesterola u stanicama što u konačnici dovodi do apoptoze. Na mišjem modelu leukemije, preživljavanje nakon primjene HP- $\beta$ -CD se značajno poboljšalo (Arima, Motoyama and Higashi, 2017; Di Cagno, 2017).

#### 4.5.3. Primjena ciklodekstrina u *in vitro* oplodnji

Oplodnja *in vitro* je vrlo složena i skupa procedura koja uključuje spajanje spermija i jajne stanice izvan maternice, u laboratoriju. Nakon što se u takvom, izoliranom okružju formira embrij, stavlja se unutar maternice gdje nastavlja svoj razvoj (<https://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/5384/Sto-je-umjetna-oplodnja.html>). U nekim slučajevima pristupa se zamrzavanju sjemena, s ciljem njegove pohrane za kasniju umjetnu oplodnju. U istraživanjima na miševima otkriveno je da se primjenom M- $\beta$ -CD može značajno poboljšati uspješnost *in vitro* oplodnje korištenjem zamrznutog sjemena, što se pripisuje sposobnosti M- $\beta$ -CD da izvlači kolesterol iz membrane spermija, čime se poboljšava *in vitro* kapacitacija sjemena, uslijed čega raste njegov potencijal da probije ovojnicu jajne stanice te uspješno izvrši oplodnju. Pritom se nisu uočeni nikakvi negativni učinci tretmana sjemena s ciklodekstrinima na reproduktivnu sposobnost potomstva. Standardan postupak krioprezervacije sjemena uključuje uporabu 18% rafinoze i 3% obranog mlijeka kao krioprotektanata, no uspješnost *in vitro* korištenjem tako tretiranog sjemena je izrazito varijabilna. Iz prikazanih rezultata, čini se da bi ciklodekstrini mogli predstavljati bolju alternativu u krioprezervaciji sjemena (Arima, Motoyama and Higashi, 2017).

#### 4.5.4. Primjena ciklodekstrina u liječenju degenerativne neurološke bolesti

##### 4.5.4.1. Niemann-Pickova bolest tipa C

Niemann-Pickova bolest tipa C je rijetka, fatalna, nasljedna, neurodegenerativna bolest karakterizirana opsežnim nagomilavanjem kolesterola i glikosfingolipida u lizosomima i kasnim endosomima zbog poremećaja u intracelularnom prometu lipida. Bolest nastaje zbog mutacije u genima koji kodiraju dva proteina, NPC1 i NPC2, uključenih u prijenos kolesterola. Simptomi koji se javljaju su: ascites, poremećaji jetre i pluća, distonija, ataksija, smetnje vida, demencija, zastoje u razvoju i hipotonija. Očekivano trajanje života osoba varira ovisno o dobi u kojoj se pojavila bolest (Megías-Vericat *et al.*, 2017; Singhal *et al.*, 2018).

Većinu staničnih potreba za kolesterolom zadovoljava endocitoza lipoproteina niske gustoće (LDL) iz plazme. Nastali endosom se spaja s lizosomom u kojem se nalaze kisele lipaze i hidroliziraju kolesteril estere iz LDLa pri čemu se oslobađa kolesterol spreman otići ili do stanične membrane ili do endoplazmatskog retikuluma gdje ima svoje strukturne i regulatorne uloge. Mehanizmi prijenosa kolesterola između staničnih odjeljaka, npr. između stanične membrane i endoplazmatskog retikuluma putem lizosoma, nisu u potpunosti objašnjeni, a smatra se da bi bolje razumijevanje tih procesa bilo ključno u otkrivanju novih terapijskih mogućnosti za lizosomske bolesti nakupljanja, među kojima je i NPC. Predložen je model prijenosa kolesterola u kojem NPC2 protein veže kolesterol unutar lumena lizosoma, a potom ga prenosi do membranskog NPC1 proteina. Nakon toga, nepoznatim mehanizmom kolesterol izlazi iz lizosoma (Singhal *et al.*, 2018).

Ova bolest je neizlječiva, ali se može vrlo dobro kontrolirati pomoću simptomatske terapije. Pritom se misli na redovito praćenje samog pacijenta i po potrebi tretiranja poremećaja u pokretljivosti, gutanju, govoru, spasticiteta, disfunkcije crijeva ili mokraćnog mjehura, kognitivnih poremećaja itd. Jedini registrirani lijek koji utječe na tijek bolesti (eng. *disease-modifying*) je miglustat, pod trgovačkim imenom Zavesca. Cilj ovakve terapije je usporiti ili odgoditi progresiju bolesti. Ukupni podatci istraživanja pokazuju da liječenje Zavescom može smanjiti progresiju klinički relevantnih neuroloških simptoma u bolesnika s Niemann-Pickovom bolesti tipa C. Neurološke manifestacije se smatraju posljedicom abnormalnog nakupljanja glikosfingolipida u živčanim i glijalnim stanicama. Miglustat je inhibitor glukozilceramid sintaze, enzima odgovornog za prvi korak u sintezi većine glikolipida. Trenutno se još provode klinička istraživanja HP- $\beta$ -CD primjenjenog intratekalno i oralnog lijeka Arimoclomola (Geberhiwot *et al.*, 2018; Sažetak opisa svojstava lijeka: Zavesca).

Kad se prvi put koristio ciklodekstrin u istraživanju učinka na NPC, korišten je HP- $\beta$ -CD koji je služio kao nosač za alopregnanolon jer je razina tog neurosteroida bila smanjena kod miševa s nedostatkom *Npc1*. Nakon primjene 7 dana starim miševima *Npc1*<sup>-/-</sup> došlo je do značajnog poboljšanja stanja, što je uključivalo odgođenu degeneraciju, a životni vijek životinja se udvostručio. Ista zapažanja primijećena su nekoliko godina kasnije prilikom primjene samog ciklodekstrina HB- $\beta$ -CD. Ključno svojstvo ciklodekstrina bila je njihova sposobnost vezanja kolesterola (Coisne *et al.*, 2016).

Na različitim animalnim modelima pokazana je smanjena akumulacija kolesterola i sfingolipida, poboljšanje funkcije jetre, manje histoloških pokazatelja neurodegeneracije i značajna prolongacija života nakon primjene HP- $\beta$ -CD intravenski (IV), supkutano (SC), intracerebroventrikularno (ICV) ili intratekalno (IT). S obzirom na te rezultate, provedena su istraživanja na ljudima koja su pokazala da učinkovitost može ovisiti o ranom početku terapije i stadiju bolesti. Naime, čini se da pacijenti u ranijim stadijima bolesti kojima je primjenjen HP- $\beta$ -CD imaju bolju prognozu u odnosu na pacijente s napredovalom bolešću. Intratekalna primjena se pokazala najpogodnijom zbog toga što HP- $\beta$ -CD ne prelazi dovoljno dobro preko krvno-moždane barijere da bi lijek primjenjivao samo intravenski. Kombinacija oba puta primjene je poželjna zbog istovremenog postojanja neuroloških i perifernih simptoma. Intracerebroventrikularna primjena kao moguća alternativa, dovela je do komplikacija zbog kolonizacije *P. acnes*. Slično učincima pokazanima na životinjama, na ljudima je ustanovljeno usporenje progresije bolesti, pojačani metabolizam i aktivnost mozga te smanjenje neuroloških oštećenja. Općenito je lijek dobro podnošljiv, međutim najčešće prijavljivana nuspojava je gubitak sluha, a uočena je već u istraživanjima provedenim na životinjskim modelima (Megías-Vericat *et al.*, 2017).

Ototoksičnost uzrokovana primjenom HP- $\beta$ -CD je prvi put zapažena kod mačaka koje, za razliku od ljudi s NPC, nemaju poremećaje sluha povezane sa samom bolešću. Ototoksičnost je povezana kako s perifernom, tako i s centralnom primjenom HP- $\beta$ -CD, kod vrlo visokih doza koje se koriste kod NPC. Istraživanja na miševima su potvrdila brz razvoj ove nuspojave i njenu ovisnost o dozi. Oštećenje zahvaća vanjske stanice s dlačicama, osjetne stanice smještene u Cortijevom organu u pužnici uha. Kod pojave gubitka sluha zbog učinka na vanjske stanice s dlačicama, druge strukture unutar uha i drugi organi nisu zahvaćeni štetnim učincima. Uspoređena je pojavnost nuspojave prilikom primjene drugih ciklodekstrina, između ostalih, HP- $\gamma$ -CD. Ototoksičnost je bila smanjena, ali je pritom i učinkovitost bila manja. Rezultati iz faze 1 kliničkog istraživanja na ljudima pokazuju očekivan brz gubitak sluha i zahvaćenost vanjskih osjetnih stanica s dlačicama. Ova nuspojava smatra se prihvatljivom s obzirom na

samu prirodu bolesti. Ono što je ostalo nepoznato jest razvoj ototoksičnosti prilikom kronične primjene terapije jer je spomenuto istraživanje trajalo 18 mjeseci. Važno je razmotriti omjer koristi i rizika, pogotovo s obzirom na ranu primjenu lijeka kada pacijent još nije razvio govor i razumijevanje jezika, a s druge strane isti pacijent može imati veliku korist od ranog početka terapije. Neki od razmatranih mehanizama ototoksičnost pretpostavljaju da je toksičnost posljedica interakcije HP- $\beta$ -CD i kolesterola. Utjecaj na membranu s dlačicama prilikom izvlačenja kolesterola moglo bi dovesti do promjena u strukturi i integritetu membrane koje uzrokuju smrt stanica. Osim toga, ciklodekstrini mogu endocitozom ući u stanice i tada doći u interakciju s membranama staničnih organela te dovesti do aktivacije određenih signalnih putova. Promjene u sastavu membrane stanica s dlačicama mogu se odraziti na funkciju specifičnih kanala i dovesti do fatalnog disbalansa. Promet elektrolita i drugih tvari može biti narušen u slučaju da HP- $\beta$ -CD narušava međustanične spojeve (npr. tight junctions). U konačnici, niti jedan mehanizam nije dokazan kao mehanizam ototoksičnosti i potrebna su daljnja istraživanja kako bi bilo moguće ciljano rješavati ovu nuspojavu (Crumling, King and Duncan, 2017).

Točan mehanizam djelovanja HP- $\beta$ -CD kao lijeka nije objašnjen. Iz tog razloga, napravljeno je istraživanje na ljudskim fibroblastima iz zdravih i bolesnih donora te je napravljena usporedba ekspresije staničnih proteina prije i poslije primjene HP- $\beta$ -CD, tj HP- $\gamma$ -CD. Stanice zdravih donora značajno su se razlikovale od stanica NPC pacijenata, a razlika u ekspresiji staničnih proteina bila je još veća nakon primjene ciklodekstrina. Od mogućih proteina kandidata, izabran je jedan za daljnja istraživanja, LAMP-1, što ne znači da drugi proteini nisu uključeni u regulaciju homeostaze kolesterola u stanici. LAMP-1 (lysosomal associated membrane protein 1) je, kao što mu ime govori, lizosomski membranski glikoprotein. Sastoji se od kratke citoplazmatske domene, transmembranske domene i vrlo glikozilirane luminalne domene. Pokazano je da prekomjerna ekspresija LAMP-1 može spriječiti farmakološki (U18666A) inducirano nakupljanje kolesterola u HeLa stanicama s Npc1 ili Npc2 mutacijom. S druge strane, kada je ekspresija LAMP-1 smanjena (knockdown) nije došlo do nakupljanja kolesterola u netretiranim HeLa stanicama koje su imale funkcionalni NPC1 i NPC2 protein. Takvi rezultati navode na zaključak da postoji međusobna povezanost između ekspresije LAMP-1 i NPC1/2 proteina što pridonosi regulaciji homeostaze kolesterola. Ipak, hipoteza da će u slučaju nedostatka NPC1 proteina ekspresija LAMP-1 biti veća i da će na sebe preuzeti ulogu prijenosa kolesterola nije potvrđena jer u ovom istraživanju stanice s mutacijom Npc1 nisu imale povišenu ekspresiju LAMP-1. Dapače, stanje je bilo suprotno i mutirane stanice su imale nižu razinu LAMP-1 naspram kontrolnih stanica. Ova zapažanja bi

trebalo dodatno istražiti na drugim staničnim linijama. Istraživanje je otkrilo novu ulogu LAMP-1 u regulaciji homeostaze kolesterola u stanici s mogućom primjenom u razvoju terapijskih strategija za NPC bolest (Singhal *et al.*, 2018).

Unatoč obećavajućim rezultatima, upotreba HP- $\beta$ -CD je ograničena zbog potrebe za visokim dozama, ototoksičnosti i intratekalne primjene zbog nemogućnosti prolaska krvno-moždane barijere. Da bi se zaobišao problem lošeg farmakokinetičkog profila, sintetiziran je prolijek ORX-301. ORX-301 može se sintetizirati iz  $\beta$ -CD kao ishodnog materijala pri čemu nastaje linearna polimerna molekula, veličine  $\sim 33$  kDa sačinjena od monomernih jedinica  $\beta$ -CD povezanih kratkim razgradivim poveznicama. Poboljšanja u odnosu na HP- $\beta$ -CD su niže doze za postizanje istog učinka, mogućnost intravenske i supkutane primjene te bolji sigurnosni profil. Na zdravim miševima, primijenjen intravenski i supkutano, ORX-301 imao je značajno poboljšanu bioraspodjelivost (62%) naspram HP- $\beta$ -CD i 5 do 6 puta manji klirens. Za razliku od HP- $\beta$ -CD koji nestaje iz plazme unutar 24 sata, ORX-301 se mogao detektirati i do 48 sati nakon primjene. Oba lijeka eliminiraju se putem bubrega, međutim manji klirens i poboljšana bioraspodjelivost daju novom lijeku značajnu prednost zbog mogućnosti primjene manjih doza uz postizanje jednakih rezultata. Osim toga, distribucija ORX-301 i njegovo nakupljanje u tkivima bilo je značajno veće naspram HP- $\beta$ -CD, u jetri 70% veće, a u slezeni čak 13 puta veće. Ovakvi rezultati ukazuju na moguće povoljno djelovanje lijeka istovremeno na periferno pogođene organe, kao i na središnji živčani sustav. Permeabilnost preko krvno-moždane barijere je 4 puta veća i omogućava i.v. te s.c. primjenu lijeka. Istraživanja sigurnosnog profila na miševima u dozama do 2000mg/kg pokazala su dobru podnošljivost. Istraživanja učinkovitosti provedena su na *Npc1*<sup>nmf164</sup> miševima koji imaju djelomično nefunkcionalan NPC1 protein, model za blaži fenotip bolesti što odgovara velikom broju realnih slučajeva. Odrasli miševi (otprilike 7 tjedana stari) koji još nisu ispoljili simptome bolesti tretirani su tjednim dozama od 800 mg/kg ORX-301. Uobičajeno se u toj dobi počinju pojavljivati simptomi bolesti: postepeno smanjenje tjelesne težine i motorički problemi. Primjenom ORX-301 odgođeni su simptomi za 4-5 tjedana, a značajno je i produljenje života za 4 tjedna. Prilikom usporedbe učinka HP- $\beta$ -CD i ORX-301 pokazano je da je smanjenje tjelesne težine sporije kod primjene HP- $\beta$ -CD za razliku od *Npc1*<sup>nmf164</sup> netretiranih miševa, no kod primjene ORX-301 tjelesna težina je ostala jednaka zdravim miševima kroz dugi vremenski period. Motorički simptomi su samo privremeno popravljani i to kod mlađih miševa s HP- $\beta$ -CD, dok su kod ORX-301 značajno poboljšani. Ukupno je postignuto 55% poboljšanje u preživljavanju miševa na terapiji s ORX-301, a 35% kod primjene HP- $\beta$ -CD u jednakoj dozi. Supkutano primijenjen ORX-301 može postići jednaki učinak kao HP- $\beta$ -CD u dozi od 4000 mg/kg



(produljenje života za 170-180 dana) pri dozama oko 1/5 doze HP- $\beta$ -CD. Potrebna su dodatna istraživanja ovog novog lijeka, uključujući i praćenje kronične primjene, određivanje adekvatne doze i režima doziranja te mogućih nuspojava zbog njegovog velikog potencijala da postane alternativa ili nadopuna dosadašnjim terapijskim mogućnostima (Kulkarni *et al.*, 2018).

#### 4.5.4.2. Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest (AB) je kronična, progresivna, degenerativna bolest središnjeg živčanog sustava karakterizirana nakupljanjem  $\beta$ -amiloida u mozgu. Postoje brojni dokazi koji povezuju razvoj bolesti s poremećenim metabolizmom kolesterola. Jedan od rizičnih faktora za razvoj AB je hiperkolesterolemija, a pokazano je da može ubrzati progresiju bolesti kod miševa. Osim toga, sastav lipida i kolesterola u staničnim membranama povezuje se s utjecajem na aktivnost enzima važnih za nastanak  $\beta$ -amiloidnih plakova. Prilikom primjene lijekova za sniženje razine kolesterola, postignuto je smanjenje u stvaranju  $\beta$ -amiloida na mišjim modelima i smanjenje progresije kod pacijenata.

Ciklodekstrini izvlačenjem kolesterola i fosfolipida iz staničnih membrana uzrokuju smanjenje intrastaničnih zaliha lipida. Taj proces dovodi do aktivacije signalnog puta povezanog s jetrenim receptorom X (LXR) koji regulira ekspresiju ABCA1 i ABCG1 transportnih proteina. Posljedično se modificira nastanak i lipidacija HDL čestica. U tkivu iz ApoE  $-/-$  životinja primjena ciklodekstrina dovodi do povećane ekspresije ABC transportera i većeg unosa kolesterola u stanicu. Apolipoprotein E je glavni protein s kojim se povezuje kolesterol u mozgu. Pokazano je da LXR agonist može *in vivo* prijeći krvno-moždanu barijeru i smanjiti nakupljanje  $\beta$ -amiloida kod APP23 miševa, modelnog organizma za Alzheimerovu bolest. Promjene su korelirale s povećanom ekspresijom ABCA1 proteina u astrocitima i neuronima. U ranijim istraživanjima na APP23 miševima pokazano je da miševi kojima je uklonjen *abca1* gen pokazuju pojačano odlaganje amiloida u odnosu na kontrolnu skupinu. Ovakvi rezultati pokazuju velik terapijski potencijal ciklodekstrina kod pacijenata s Alzheimerovom bolešću. Osim toga, istražuje se sposobnost  $\beta$ -CD da se direktno vežu na  $\beta$ -amiloid i tako smanje njegove neurotoksične učinke. Dosad je napravljeno istraživanje na miševima kojima je primjenjen HP- $\beta$ -CD, a rezultati su pokazali poboljšanje u prostornom učenju i pamćenju, smanjeno nakupljanje  $\beta$ -amiloida te povećanu ekspresiju *abca1* i *npc1* gena. Osim toga, kod Npc1-deficijentnih miševa HP- $\beta$ -CD je povećao životni vijek i umanjio fizičke patološke promjene te promjene u ponašanju (Coisne *et al.*, 2016).

#### 4.5.4.3. Parkinsonova bolest

Parkinsonova bolest (PB) je progresivna degenerativna bolest središnjeg živčanog sustava u kojoj dolazi do agregacije i pogrešnog smatanja proteina  $\alpha$ -sinukleina. Uzrok pogrešnom smatanju i nakupljanju su promjene u ubikvitin-proteasomskom sustavu i sustavu za autofagiju putem lizosoma. Regulacija potonjeg sustava povezana je s aktivacijom transkripcijskog faktora EB (TFEB). Pokazano je da HP- $\beta$ -CD može aktivirati TFEB koji zatim stimulira autofagno-lizosomski sustav pri čemu je povećano uklanjanje agregata  $\alpha$ -sinukleina u ljudskim staničnim linijama. Na taj način bi se primjenom HP- $\beta$ -CD moglo postići smanjenje progresije bolesti. Također je pokazan utjecaj RAME $\beta$  u redukciji agregacije  $\alpha$ -sinukleina kod štakora, *in vitro* te kod transgeničnog miša s pretjeranom ekspresijom  $\alpha$ -sinukleina, *in vivo*. Mehanizam je još nerazjašnjen i ne zna se ima li utjecaj CD na metabolizam kolesterola značajnu ulogu u djelovanju na progresiju Parkinsonove bolesti (Coisne *et al.*, 2016).

#### 4.5.5. Ciklodekstrini u antimikrobnoj terapiji

Ciklodekstrini su potencijalni novi lijekovi u terapiji bakterijskih infekcija. Njihovo djelovanje se zasniva na inhibitornom učinku ciklodekstrina prema bakterijskim toksinima čiji je mehanizam virulencije stvaranje pora u staničnim membranama. Glavna karakteristika visokopotentnih inhibitora je simetrija jednaka ciljanim porama koje nastaju prilikom djelovanja toksina. Neki od njih su antraks toksin (*Bacillus anthracis*),  $\alpha$ -hemolizin (*Staphylococcus aureus*),  $\epsilon$ -toksin (*Clostridium perfringens*), C2 toksin (*Clostridium botulinum*) te toksini A, B i CDT (*Clostridium difficile*).

##### *Antraks toksin*

Bedrenica ili antraks (crni prišt) je zarazna bolest životinja i ljudi koju uzrokuje *Bacillus anthracis*. Prema načinu infekcije, u ljudi nastaje kožni antraks (crni prišt), crijevni antraks i rjeđe plućni. Ljudi su otporniji na bedrenicu od životinja i liječe se antibioticima, a smrtnost iznosi oko 9% (<http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=6580>).

U ovom trenutku ne postoji djelotvorna terapija za inhalacijski antraks (bedrenicu). Jedina opcija jest primjena antibiotika što brže nakon izlaganja, a što je vremenski period koji prođe između izlaganja i primjene antibiotika veći, šanse za preživljavanje se drastično smanjuju. Jednom kad bakterija proizvede dovoljno toksina, antibiotici su sasvim neučinkoviti.

Dva su antraks toksina: letalni (LeTx) i edem toksin (EdTx). LeTx se sastoji od dva različita proteina: protektivni antigen (PA) i letalni faktor (LF), a EdTx se sastoji od PA i edem faktora (EF).

Mehanizam aktivacije toksina započinje vezanjem PA monomera u originalnom obliku od 83 kDa na neki od staničnih receptora. To može biti tumorski endotelni marker 8 (TEM8 ili ATR ili ANTXR1) ili protein 2 za kapilarnu morfogenezu (eng. *capillary morphogenesis protein 2*). Nakon toga proteaza furin odstranjuje amino kraj PA tako da nastane segment od 63 kDa. Takvi monomeri se slažu u heptamernu pre-poru na koju se može vezati LF ili EF. Kompleks se endocitira i ulazi u endosom. Niski pH u endosomu omogućuje konformacijsku promjenu pre-pore u funkcionalnu transmembransku poru koja omogućuje izlazak LF i EF u citoplazmu. LF je metaloproteinaza koja kida MAPK kinazu (kinaza mitogenom aktivirane proteinske kinaze) što pokreće unutarstaničnu signalnu kaskadu koja završava smrću makrofaga. EF je kalmodulin-ovisna adenilat ciklaza koja prevodi ATP u cAMP, što u konačnici dovodi do edema i narušene funkcije neutrofila.

Nakon bioterorističkog napada antraksom u 2001. godini intenzivno se istražuju potencijali antidota te je postignut značajan napredak u razvoju novih inhibitora antraks toksina. Između ostalog, kao najnapredniji proizvodi pokazala su se monoklonska protutijela usmjerena na PA. Međutim, u studijama na majmunima, preživljavanje nakon izloženosti sporama antraksa bilo je tek 64%. Osim toga, radi se o velikim molekulama kompleksne strukture pri čemu je jedini mogući put primjene parenteralni. Proteini su kemijski i fizički nestabilni lijekovi s ograničenom bioraspoloživošću te visokom cijenom. Zbog toga su male molekule privlačnije kao potencijalni novi lijekovi. U tu skupinu spadaju i  $\beta$ -CD.

Sintetizirano je oko dvije stotine  $\beta$ -CD s različitim supstituentima na položaju 6. Većina derivata nosila je pozitivno nabijene grupe zato što lumen PA pore pretežito sadrži negativno nabijene aminokiseline. U istraživanju na staničnoj liniji mišjih makrofaga (RAW 264.7) ispitala se sposobnost pojedinih derivata da inhibiraju citotoksičnost LeTx. Čak je nekoliko desetaka sintetiziranih spojeva pokazalo je inhibitornu aktivnost s  $IC_{50}$  (polovica maksimalne inhibitorne koncentracije) u niskim mikro i submikromolarnim koncentracijama. Jedan od inhibitora je inhibirao i EdTx u sličnim koncentracijama kao i za LeTx što je dodatno doprinijelo učinku.

Učinkovitima su se pokazali još i  $\gamma$ -CD, no  $\alpha$ -CD nisu. Smatra se da je za učinkovitu inhibiciju vrlo važna struktura ciklodekstrina, tj. odgovarajuća veličina, konformacija i simetrija.

Osim što su inhibirali citotoksičnost LeTx i EdTx, neki derivati su inhibirali provodljivost kroz PA kanale u lipidnom dvosloju u nanomolarnim koncentracijama što podupire tvrdnju da  $\beta$ -CD inhibiraju antraks toksin blokadom PA kanala. Dakle, potencijalni

inhibitori antraks toksina blokiraju već nastale transmembranske pore, a osim toga mogu se vezati na pre-poru i spriječiti transformaciju u transmembranski kanal.

U *in vivo* studijama, miševi, štakori i zečevi su dobro podnosili doze do 20 mg/kg intravenski primijenjenog inhibitora. Farmakokinetička svojstva dobivena na zečevima: poluvrijeme eliminacije per-6-S-(3-aminometil)benziltio- $\beta$ -ciklodekstrin (AMBnT- $\beta$ -CD) iznosilo je 4.7 h i zaključeno je da se eliminacija odvija putem bubrega. Djelotvornost je proučavana na štakorima koji su u potpunosti bili zaštićeni od inače smrtonosne doze LeTx od 85 ug po štakoru. Na miševima koji su zaraženi sporama *B. anthracis* u dozi koja je odgovarala 10 LD<sub>50</sub> djelotvornost je iznosila 90% kada im je 1 dan nakon infekcije primijenjena kombinacija AMBnT- $\beta$ -CD u dozi 2,5 mg/kg (i.v.) i ciprofloksacina u dozi 50 mg/kg (i.p.) u trajanju od 10 dana. Sve ostale životinje – netretirane, tretirane samo antibiotikom ili samo anti-toksinom su uginule.

Razvijen je inhibitorski peptid (HTSTYWWLDGAPC) koji sprječava vezanje LF i EF na PA. Sedam kopija tog peptida vezano je na  $\beta$ -CD preko polietilenglikolnih poveznica različitih duljina. Nekoliko ovakvih heptavalentnih inhibitora pokazalo je učinak na staničnim linijama u nanomolarnim koncentracijama, a *in vivo* rezultati dobiveni su na štakorima kojima je uz LeTx ubrizgana doza od ~0,7 mg inhibitora po štakoru te je šest od sedam štakora preživjelo.

#### *Alfa hemolizin iz Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* je gram pozitivna bakterija koja je razmjerno čest uzročnik bolničkih infekcija. Danas su infekcije bakterijom *S. aureus* sve raširenije jer je bakterija postala otporna na penicilinske pripravke, te postoje mnogi sojevi tzv. meticilin-rezistentni stafilokoka (MRSA) (<http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=57689>).

$\alpha$ -hemolizin ili  $\alpha$ -toksin ima jednostavnu strukturu koju čini jedan polipeptidni lanac od 33 kDa. Bakterija izlučuje monomere topljive u vodi koji se vežu na stanične membrane i tada nastaju heptamerni kompleksi. Konformacijske promjene omogućuju stvaranje pore koja narušava integritet membrane, a u konačnici i smrt stanice. Promjer kanala koji stvara  $\alpha$ -hemolizin sličan je vanjskom promjeru  $\beta$ -CD. U istraživanjima je korištena ista knjižnica ciklodekstrinskih derivata kao i za antraks toksin i pronađeni su derivati koji inhibiraju hemolizu zečjih eritrocita u niskim mikromolarnim koncentracijama. Inhibitorski učinak je potvrđen i na ljudskoj staničnoj liniji THP-1. U ovom slučaju  $\alpha$  i  $\gamma$ -CD nisu imali inhibitorski učinak što je još jednom potvrdilo važnost strukture same molekule ciklodekstrina.

Ispitivan je inhibitorski učinak na već inkorporirani kanal  $\alpha$ -hemolizina u membrani i pokazano je da je inhibicija ireverzibilna, za razliku od učinka na PA u slučaju antraks toksina. Također je pokazano da inhibitor neće utjecati na oligomerizaciju, vezanje na membranu niti stvaranje kanala, nego da je glavni mehanizam djelovanja inhibitora blokiranje transmembranske pore koja je nastala.

Istraživanja na ljudskim alveolarnim A549 epitelnim stanicama kao i ona *in vivo* na miševima s pneumonijom te zečevima s kornealnim oštećenjima uzrokovanih infekcijom *S. aureus*om potvrdila su učinak per-6-[(N<sup>α</sup>-Boc-L-ornitinil)amino]- $\beta$ -ciklodekstrin (ANBO- $\beta$ -CD). Derivati  $\beta$ -CD se potencijalno mogu koristiti i za kožne infekcije uzrokovane  $\alpha$ -hemolizinom.

#### *Epsilon toksin*

$\epsilon$ -toksin (ETX) koji proizvodi bakterija *Clostridium perfringens* jedan je od najsmrtonosnijih bakterijskih toksina. Ne postoji ciljana terapija nego se primjenjuju antibiotici koji mogu ubiti ili inhibirati rast bakterije, ali oni ne djeluju na toksin koji uđe u cirkulaciju.

ETX nastaje kao 33 kDa prototoksin i on se može brzo pretvoriti u zreli toksin uz pomoć intestinalnih proteaza. Zatim se toksin veže na neki stanični receptor i koristi lipidne splavi za formiranje heptamernih pora u membrani specifičnih stanica (MDCK) ili u umjetnim membranama. Jedan od najaktivnijih inhibitora koji su testirani je [per-6-(n-pentilamino)- $\beta$ -ciklodekstrin (NP- $\beta$ CD) koji također inhibira LeTx. Smatra se da se inhibitori ovog toksina vežu samo na pre-poru, ali ne i na nastali transmembransku poru.

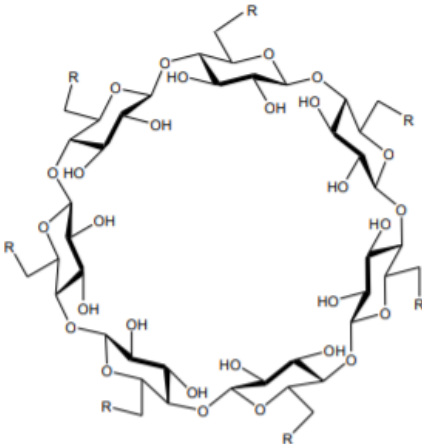
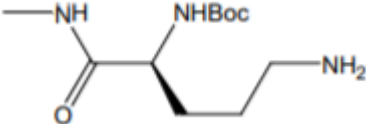
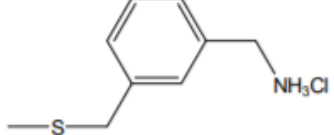
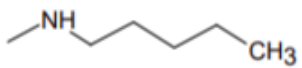
#### *Ostali toksini koji stvaraju pore*

C2 je toksin koji proizvodi bakterija *C. botulinum*, a  $\iota$ -toksin proizvodi *C. perfringens*. Otkriveno je da neki derivati  $\beta$ -CD, koji inhibiraju antraks toksin, mogu inhibirati i ove toksine blokirajući nastale pore u lipidnim dvoslojima *in vitro*.

AMBnT- $\beta$ -CD je istraživan kao inhibitor A, B i CDT toksina koje proizvodi *C. difficile* i potvrđen je njegov učinak u niskim mikromolarnim koncentracijama.

Ovakvi rezultati govore u prilog tome da bi se u budućnosti mogao razviti neki od derivata  $\beta$ -CD koji će postati inhibitor za više različitih meta i upotrebljavati kao širokospektralni lijek u terapiji određenih bakterijskih infekcija (Karginov, 2013).

Tablica 4. Neki derivati  $\beta$ -CD koji djeluju kao inhibitori bakterijskih toksina (www.beiresources.org)

Osnovna molekula		
		
Inhibitor	Supstituent	Meta
AMBn-T- $\beta$ -CD		<ul style="list-style-type: none"> <li>– Antraks toksini LeTx i EdTx</li> <li>– <i>C. botulinum</i> C2 toksin</li> <li>– <i>C. perfringens</i> <math>\iota</math>-toksin</li> <li>– <i>C. difficile</i> toksini A, B i CDT</li> </ul>
NP- $\beta$ -CD		<ul style="list-style-type: none"> <li>– Antraks toksini LeTx i EdTx</li> <li>– <i>C. perfringens</i> <math>\epsilon</math>-toksin</li> </ul>
ANBO- $\beta$ -CD		<ul style="list-style-type: none"> <li>– <i>S. aureus</i> <math>\alpha</math>-toksin</li> </ul>

## 5. ZAKLJUČAK

U dosadašnjim istraživanjima ciklodekstrini su nedvojbeno pokazali velik potencijal kao aktivne farmaceutske tvari. Temeljni mehanizam djelovanja ciklodekstrina, tj. njihova sposobnost stvaranja inkluzijskih kompleksa, nastoji se iskoristiti kao ključan alat za liječenje različitih bolesti. Neke od njih u pozadini imaju poremećaj prometa lipida, posebice kolesterola. Pozitivni rezultati su dobiveni u istraživanju učinka ciklodekstrina na pretilost, dislipidemiju, hiperglikemiju, aterosklerozu i neke neurodegenerativne bolesti što se povezuje upravo s interakcijom između ciklodekstrina i lipida, odnosno kolesterola. Izvlačenje kolesterola iz staničnih membrana povezuje se s citotoksičnim djelovanjem pa se istražuje učinak ciklodekstrina na tumorske stanice. Neki derivati ciklodekstrina pokazali su inhibitorno djelovanje na bakterijske toksine koji stvaraju pore, zahvaljujući njihovoj strukturalnoj sličnosti. Prvi lijek ciklodekstrinske strukture, sugamadeks, već je pronašao svoje mjesto u suvremenoj anesteziologiji, međutim, još se procjenjuje isplativost njegove primjene s obzirom na relativno visoku cijenu. Glavna prepreka u daljnjem razvoju ciklodekstrina kao lijekova su nuspojave poput ototoksičnosti i nemogućnost prijelaza preko krvno-moždane barijere kod pacijenata s neurodegenerativnim bolestima. Osim toga, pitanje je hoće li se pozitivni rezultati dobiveni u istraživanjima na životinjama ponoviti i na ljudima. Iznimno je važno provesti opsežna ispitivanja na ljudima kako bi se utvrdila učinkovitost i sigurnost ciklodekstrina kao lijekova.

## 6. LITERATURA

Akha AS *et al.* Sugammadex: Cyclodextrins, development of selective binding agents, pharmacology, clinical development, and future directions. *Anesthesiol. Clin.*, 2010, 28, 691–708.

Amar MJA *et al.* Randomized double blind clinical trial on the effect of oral  $\alpha$ -cyclodextrin on serum lipids. *Lipids Health Dis*, 2016, 15, 1–8.

Arima H, Motoyama K, Higashi T. Potential Use of Cyclodextrins as Drug Carriers and Active Pharmaceutical Ingredients. *Chem Pharm Bull*, 2017, 65, 341–348.

Asp ML *et al.* Gamma-Cyclodextrin Lowers Postprandial Glycemia and Insulinemia without Carbohydrate Malabsorption in Healthy Adults. *J Am Coll Nutr*, 2006, 25, 49–55.

Asztalos L *et al.* Reversal of Vecuronium-induced Neuromuscular Blockade with Low-dose Sugammadex at Train-of-four Count of Four: A Randomized Controlled Trial. *Anesthesiology*, 2017, 127, 441–449.

Bedrenica, <http://www.enciklopedija.hr>, pristupljeno 2. 6. 2019.

De Boer HD, Carlos RV, Brull SJ. Is lower-dose sugammadex a cost-saving strategy for reversal of deep neuromuscular block? Facts and fiction. *BMC Anesthesiology*, 2017, 18, 1–5.

Buckley JD *et al.* Dose-dependent inhibition of the post-prandial glycaemic response to a standard carbohydrate meal following incorporation of alpha-cyclodextrin. *Ann Nutr Metab*, 2006, 50, 108–114.

Buschmann HJ, Schollmeyer E. Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review. *J cosmet sci*, 2002, 53, 185–91.

Cada DJ, Levien TL, Baker DE. Sugammadex. *Hosp Pharm*, 2016, 51, 585–596.

Di Cagno MP. The potential of cyclodextrins as novel active pharmaceutical ingredients: A



short overview. *Molecules*, 2017, 22, 1–14.

Carron M *et al.* Role of sugammadex in accelerating postoperative discharge: A meta-analysis. *J Clin Anesth*, 2017, 39, 38–44.

Carron M, Bertocello F, Iepariello G. Profile of sugammadex for reversal of neuromuscular blockade in the elderly: Current perspectives. *Clin Interv Aging*, 2018, 13, 13–24.

Catalog, 2012., <https://www.beiresources.org>, pristupljeno 3. 6. 2019.

Coisne C *et al.* Cyclodextrins as emerging therapeutic tools in the treatment of cholesterol-associated vascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 2016, 21, 1–22.

Fassoulaki A, Chondrogiannis K, Staikou C. Sugammadex at both high and low doses does not affect the depth of anesthesia or hemodynamics: a randomized double blind trial. *J Clin Monit Comput*, 2017, 31, 297–302.

Fenyvesi E, Vikmon M, Szente L. Cyclodextrins in Food Technology and Human Nutrition: Benefits and Limitations. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2016, 56, 1981–2004.

Fink H, Schaller SJ. Sugammadex as a reversal agent for neuromuscular block: an evidence-based review. *Core Evid*, 2013, 8, 57–67.

Gallaher DD, Plank DW.  $\alpha$ -Cyclodextrin as a food ingredient to reduce fat absorption. *Agro Food Ind Hi Tech*, 2015, 26, 5–7.

Gunduz Gul G *et al.* The effect of sugammadex on steroid hormones: A randomized clinical study. *J Clin Anesth*, 2016, 34, 62–67.

Hudson ME, Rietbergen H, Chelly JE. Sugammadex is effective in reversing rocuronium in the presence of antibiotics. *BMC Anesthesiology*, 2014, 1, 1–5.

Iwasaki H *et al.* Preparing for the unexpected: Special considerations and complications after sugammadex administration. *BMC Anesthesiology*, 2017, 17, 1–8.

Karginov VA. Cyclodextrin derivatives as anti-infectives. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13, 717–725.

Kvolik S, Ikić V, Jukić M. SUGAMADEKS , NOVI ANTAGONIST MIŠIĆNIH RELAKSATORA. *Liječn vjesn*, 2011, 133, 106-110.

Leroy-Lechat *et al.* Evaluation of the cytotoxicity of cyclodextrins and hydroxypropylated derivatives. *Int J Pharm*, 1994, 101, 97-103.

Loh PS *et al.* Staggering the dose of sugammadex lowers risks for severe emergence cough: A randomized control trial. *BMC Anesthesiology*, 2017, 17, 1–10.

Monk TG *et al.* Use of Sugammadex in Patients With Obesity. *Am J Ther*, 2015, 24, e507–e516.

Rahe-Meyer N *et al.* Effect of Reversal of Neuromuscular Blockade with Sugammadex versus Usual Care on Bleeding Risk in a Randomized Study of Surgical Patients. *Anesthesiology*, 2014, 121, 969-978.

Sažetak opisa svojstava lijeka. 2013, 1–183.

Schaller SJ, Lewald H. Clinical pharmacology and efficacy of sugammadex in the reversal of neuromuscular blockade. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12, 1097–1108.

Shin S *et al.* Elderly Patients Require Higher Doses of Sugammadex for Rapid Recovery from Deep Neuromuscular Block. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2016, 118, 462–467.

Stafilokoki, <http://www.enciklopedija.hr>, pristupljeno 2. 6. 2019.

Stella VJ, He Q. Cyclodextrins. *Toxicol Pathol*, 2008, 1, 805–817.

Što je "umjetna oplodnja"?, 2004., <https://www.plivazdravlje.hr>, pristupljeno 13. 9. 2019.

Tassonyi E *et al.* Reversal of Deep Pipecuronium-Induced Neuromuscular Block With Moderate Versus Standard Dose of Sugammadex. *Anesth Analg*, 2018, 127, 1344–1350.

Tobias JD. Current evidence for the use of sugammadex in children. *Paediatr Anaesth*, 2017, 27, 118–125.

Del Valle EMM. Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochem* 2004, 39, 1033–1046.

## 7. SAŽETAK/SUMMARY

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi prirodnog podrijetla. Sastoje se od glukopiranoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 vezama. Nalikuju šupljem krnjem stošcu s hidrofobnom unutrašnjom šupljinom i hidrofilnom vanjskom površinom. Stvaranje stabilnih inkluzijskih kompleksa sa tvarima koje karakterizira slaba topljivost i lipofilnim obilježjima prepoznate su kao karakteristike s velikim potencijalom za prehrambenu, kozmetičku i farmaceutsku industriju. Dosad su se ciklodekstrini koristili ponajviše kao farmaceutske pomoćne tvari i nosači lijekova. Novija istraživanja su pokazala veliki potencijal za njihovu primjenu kao aktivne farmaceutske tvari u različitim područjima: ateroskleroza, dislipidemija, pretilost, dijabetes, neurodegenerativne bolesti, tumori, *in vitro* oplodnja itd. Sugamadeks je prvi lijek sa strukturom ciklodekstrina, a odobren je za reverziju neuromuskularne blokade izazvane rokuronijem ili verukonijem u odraslih. Omogućuje brzu i predvidljivu reverziju neuromuskularne blokade bez značajnih nuspojava. Zbog vrlo dobre učinkovitosti i sigurnosti sugamadeksa, predviđa se da će se u budućnosti razvijti i istraživati nove molekule različitih ciklodekstrina s ciljem liječenja raznovrsnih bolesti. Cilj ovog rada je napraviti kratak pregled dosadašnjih istraživanja o primjeni ciklodekstrina kao terapijski aktivne djelatne tvari.

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides of natural origin composed of alfa-(1,4) linked glucopyranose subunits. They possess a cone-like supramolecular structure expressing a lipophilic cavity and a hydrophilic external surface that allows to spontaneously complex poorly soluble compounds in an aqueous environment. As a result of molecular complexation phenomena CDs are widely used in many fields, including cosmetic and food industries, and especially have been widely utilized as pharmaceutical excipients and drug carriers in the pharmaceutical field. Nowadays, several research groups all over the world are investigating their potential as active pharmaceutical ingredients (APIs) for the treatment of various illnesses (atherosclerosis, dyslipidemia, obesity, diabetes, neurodegenerative diseases, cancer, *in vitro* fertilization etc.). Sugammadex is first cyclodextrin approved as drug for reversal of neuromuscular blockade induced by rocuronium or veruconium in adults. It provides rapid and predictable reversal of neuromuscular blockade with little adverse reactions. Due to sugammadex effectiveness and safety profile it is expected that CD-based molecules will be developed further and contribute to improvement of quality of life of patients with a broad spectrum of diseases. The aim of this review is to briefly summarize the recent and future applications of cyclodextrins in pharmaceutics as new APIs.

# Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Samostalni kolegij Oblikovanje lijekova  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

## CIKLODEKSTRINI KAO LIJEKOVI

Valerija Šipek

### SAŽETAK

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi prirodnog podrijetla. Sastoje se od glukopiranoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 vezama. Nalikuju šupljem krnjem stošcu s hidrofobnom unutrašnjom šupljinom i hidrofilnom vanjskom površinom. Stvaranje stabilnih inkluzijskih kompleksa sa tvarima koje karakterizira slaba topljivost i lipofilnim obilježjima prepoznate su kao karakteristike s velikim potencijalom za prehrambenu, kozmetičku i farmaceutsku industriju. Dosad su se ciklodekstrini koristili ponajviše kao farmaceutske pomoćne tvari i nosači lijekova. Novija istraživanja su pokazala veliki potencijal za njihovu primjenu kao aktivne farmaceutske tvari u različitim područjima: ateroskleroza, dislipidemija, pretilost, dijabetes, neurodegenerativne bolesti, tumori, *in vitro* oplodnja itd. Sugamadeks je prvi lijek sa strukturom ciklodekstrina, a odobren je za reverziju neuromuskularne blokade izazvane rokuronijem ili verukonijem u odraslih. Omogućuje brzu i predvidljivu reverziju neuromuskularne blokade bez značajnih nuspojava. Zbog vrlo dobre učinkovitosti i sigurnosti sugamadeksa, predviđa se da će se u budućnosti razvijti i istraživati nove molekule različitih ciklodekstrina s ciljem liječenja raznovrsnih bolesti. Cilj ovog rada je napraviti kratak pregled dosadašnjih istraživanja o primjeni ciklodekstrina kao terapijski aktivne djelatne tvari.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 41 stranicu, 3 grafička prikaza, 4 tablice i 37 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: ciklodekstrini, sugamadeks, aktivne farmaceutske tvari, inkluzijski kompleksi

Mentor: **Dr. sc. Mario Jug**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Mario Jug**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Dr. sc. Anita Hafner**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2019.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Independent course  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### CYCLODEXTRINS AS ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

**Valerija Šipek**

#### SUMMARY

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides of natural origin composed of alfa-(1,4) linked glucopyranose subunits. They possess a cone-like supramolecular structure expressing a lipophilic cavity and a hydrophilic external surface that allows to spontaneously complex poorly soluble compounds in an aqueous environment. As a result of molecular complexation phenomena CDs are widely used in many fields, including cosmetic and food industries, and especially have been widely utilized as pharmaceutical excipients and drug carriers in the pharmaceutical field. Nowadays, several research groups all over the world are investigating their potential as active pharmaceutical ingredients (APIs) for the treatment of various illnesses (atherosclerosis, dyslipidemia, obesity, diabetes, neurodegenerative diseases, cancer, *in vitro* fertilization etc.). Sugammadex is first cyclodextrin approved as drug for reversal of neuromuscular blockade induced by rocuronium or vecuronium in adults. It provides rapid and predictable reversal of neuromuscular blockade with little adverse reactions. Due to sugammadex effectiveness and safety profile it is expected that CD-based molecules will be developed further and contribute to improvement of quality of life of patients with a broad spectrum of diseases. The aim of this review is to briefly summarize the recent and future applications of cyclodextrins in pharmaceuticals as new APIs.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 41 pages, 3 figures, 4 tables and 37 references. Original is in Croatian language.

Keywords: cyclodextrins, sugammadex, active pharmaceutical ingredients, inclusion complexes

Mentor: **Mario Jug, Ph.D.**, *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Mario Jug, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Anita Hafner, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019.