

Značaj ispitivanja žučnih soli i njihovih derivata kao građevnih elemenata supramolekulskih domaćina u svrhu liječenja

Tea Mihelj i Vlasta Tomašić*

Institut "Ruđer Bošković", Zavod za fizičku kemiju,
Laboratorij za sintezu i procese samoorganizacije organskih molekula,
P.P. 180, HR – 10002, Zagreb, RH

*Autor za korespondenciju:
Dr. sc. Vlasta Tomašić
Ruđer Bošković Institute
Bijenička c. 54, P.O.Box 180
HR-10002 Zagreb, Croatia
Tel.: +385-1-4571-211 / Fax: +385-1-4680-245
E-mail address: vlasta.tomasic@irb.hr

Stručni članak
UDK 616.376-085
Prispjelo: 12. prosinca 2011.

Prikazan je niz fizikalno-kemijskih metoda i tehnika korištenih u ispitivanju modelnih žučnih sustava. Ispitano je međudjelovanje anionske, biološke površinski aktivne tvari, natrijevoga kolata i sintetskih jednonančaninih i dvanančaninih površinski aktivnih tvari, te natrijeva kolata i metalnih iona rastućega naboja.

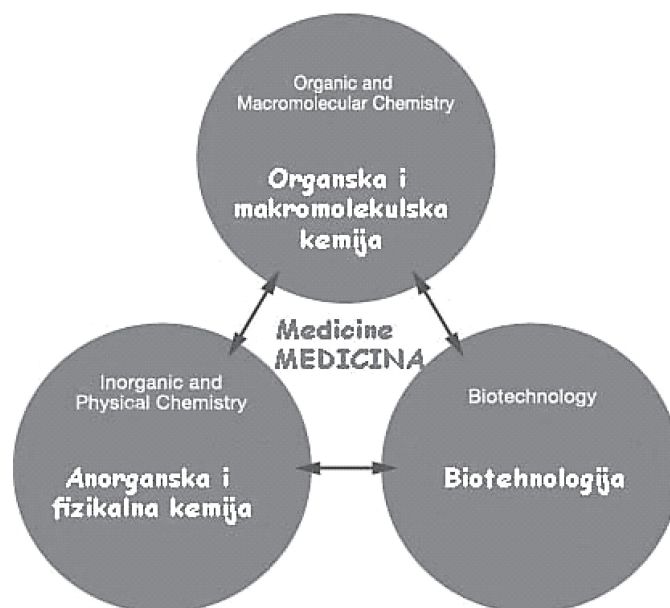
Sustavi omogućuju novi pogled na kompleksne postupke taloženja, vezikulacije i geliranja, te bolje razumijevanje procesa koji se odvijaju u živom organizmu. Utvrđena je zavisnost svojstava molekula žučnih soli i njihovih derivata o molekulskim međudjelovanjima, molekulskom pakiranju i svojstvima kristalnoga taloga, tako da se mogu koristiti kao supramolekulski receptori za različite vrste gostujućih molekula i iona, te u dizajnu budućih materijala. Takva istraživanja nalaze svoj značaj u fiziologiji (u dijagnozi ili razvoju novih farmakoloških pripravaka) ili patofiziologiji (u sprječavanju štetnih reakcija, kao npr. taloženja), ukazujući na usku povezanost medicine s biotehnologijom, organskom, makromolekulskom, anorganskom i fizikalnom kemijom.

Ključne riječi: Površinski aktivne tvari – analiza, kemija, dijagnostička uporaba, metabolizam, farmakologija, fiziologija, terapijska uporaba; Žučne kiseline i soli – analozi i derivati, analiza, kemija, dijagnostička uporaba, metabolizam, farmakologija, fiziologija, terapijska uporaba

UVOD

Proces spontane samoorganizacije molekula u veće strukture određene uređenosti važan je fenomen, kako u svakodnevnom životu, tako i u prirodnim znanostima. Medicina je usko povezana s biotehnologijom, organskom i makromolekulskom, anorganskom i fizikalnom kemijom (Slika 1.). Uređeni molekulski agregati čine strukturnu bazu života; počevši od nanometarske skale, kao građevni elementi biomembrana, do mikrometarske skale koja odgovara polimerima za izgradnju citoskeleta. Ugljik, kao jedan od važnijih biogenih elemenata, ističe se zbog raznolikosti molekula koje gradi; od strukturne raznolikosti do posljedično tomu, raznih kemijskih i fizikalnih svojstava molekula, što omogućuje prilagod-

ljivost sustava okolini, a presudno je za životne procese. Proteini, nukleinske kiseline, lipidi i ugljikohidrati jesu biomolekule koje sudjeluju u izgradnji živoga svijeta i važne su za mnoge procese u organizmu. Različite klasifikacije lipida bazirane su uglavnom prema strukturi osnovnoga kostura. Kompleksni ili saponificirajući lipidi sadrže kao komponente masne kiseline, a uključuju acilglicerole, fosfogliceride, sfingolipide i voskove. Drugu grupu čine jednostavni ili nesaponificirajući lipidi, a oni uključuju terpene, steroide i prostaglandine. Svi su steroidi derivati zasićenih tetracikličkih ugljikovodika, a razlikuju se po broju i položaju dvostruke veze, tipu, lokaciji i broju funkcionalnih grupa, konfiguraciji veze između jezgre i supstituiranih grupa, te međusobnoj konfiguraciji prstenova. Steroli su steroidni alkoholi,



SLIKA 1.

Povezanost medicine s biotehnologijom, organskom, makromolekulskom, anorganskom i fizikalnom kemijom
FIGURE 1.

Relationship between biotechnology, organic, macromolecular, inorganic and physical chemistry

od kojih je najzastupljeniji nezasićeni alkohol kolesterol. On omogućuje normalno funkcioniranje esencijalnih membranskih enzima i prekursor je mnogih drugih steroida u tkivu, uključujući žučne soli.

Koncentracija žučnih soli u ljudskom organizmu iznosi 10–50 mmoldm⁻³ u žučnim kamencima, 4–20 mmoldm⁻³ u crijevima, oko 5 mmoldm⁻³ u jetri, 0,1 mmoldm⁻³ u venskoj krvi, te 5–20 mmoldm⁻³ u perifernoj krvi. Stanice jetre stvaraju oko 1,3 mmola soli žučnih kiselina (Tablica 1.) na dan, tijekom metabolizma masti, ili pak iz kolesterola što ga dobivamo hranom, preko kolne i deoksikolne kiseline, a zatim gliko- i taurokonjugirane kiseline (1). Soli žučne kiseline (Na⁺, K⁺) pohranjene su u žučnoj vrećici te imaju važne funkcije u probavnom traktu, a po prirodi su biološki aktivne, anionske površinski aktivne tvari (PAT). PAT su molekule koje karakterizira specifična amfifilna građa, odnosno hidrofobni/lipofilni, te hidrofилni/lipofobni dio molekule. Promatrajući samu građu molekule žučnih soli, primjerice natrijeva kolata (sistematskoga imena natrijeva sol 3 α -, 7 α -, 12 α -trihidroksi kolne kiseline), hidroksilne grupe leže ispod ravnine steroidnog kostura, geometrija prstenova uključuje *cis* konfiguraciju A i B prstena, s obzirom na B prsten, te *trans* konfiguraciju ostalih prstenova. Nasuprot lipofilne steroidne strukture, molekula sadrži kraći razgranati alifatski lanac, koji završava izrazito hidrofилnom karboksilnom grupom (Slika 2. a.). Pokretljivost postranoga lanca omogućuje polarnoj grupi da leži u istoj ravnini s hidroksilnim grupama, pa molekula poprima polarni karakter i djelomično je topljiva u vodi (2).

Priroda i koncentracija PAT-a, vrsta otapala, temperatura, tlak, te prisutnost različitih vrsta aditiva, smatraju se bitnim faktorima koji utječu na samoorganiziranje PAT-a u supramolekulske vrste (3); od monomera do micela, dvosloja ili lamelnih struktura i njihovih zatvorenih, fleksibilnih struktura, odnosno vezikula, zatim mikroemulzija, inverznih struktura, pa sve do tekućih kristala koji su zapravo anizotropne tekućine dalekometnoga orijentacijskog uređenja. Žučne soli u vodi agregiraju kontinuirano u širokom koncentracijskom području, stvarajući micelle (Slika 2. b) niskoga agregacijskog broja (do 10 monomera u prisutnosti elektrolita (4), zavisno o temperaturi). Energijski najpovoljnije uređenje najmanjih agregata, tzv. primarnih micela (Slika 3.), uključuje molekule aniona s hidrofobnim dijelovima okrenutima jedan prema drugom, dok su hidrofилne grupe okrenute prema van. Sekundarne micelle jesu agregati primarnih, međusobno povezanih vodikovim vezama intermolekulski, odnosno kod još viših agregata intermicelarno (5).

Svojstvo samoasociranja u micelle omogućava okruživanje lipofilnih tvari hidrofилnim molekulama žučnih soli, a time i povećanu topljivost te apsorpciju masnih kiselina, monoglicerida, kolesterola i drugih lipida te vitamina topljivih u mastima (1). Sljedeća njihova funkcija sastoji se u emulgatorskom djelovanju na čestice masti u hrani, čime smanjuju površinsku napetost čestica i tako omogućuju da se kapljice masti, miješanjem u probavnom traktu, razbiju u sasvim sitne kapljice (1). Osim toga, žučne soli diktiraju sadržaj kolesterola u organizmu, pridonose intestinalnoj mobilnosti, potiču holerezu odnosno potiču

**Steroidni kostur/
Steroid skeleton**

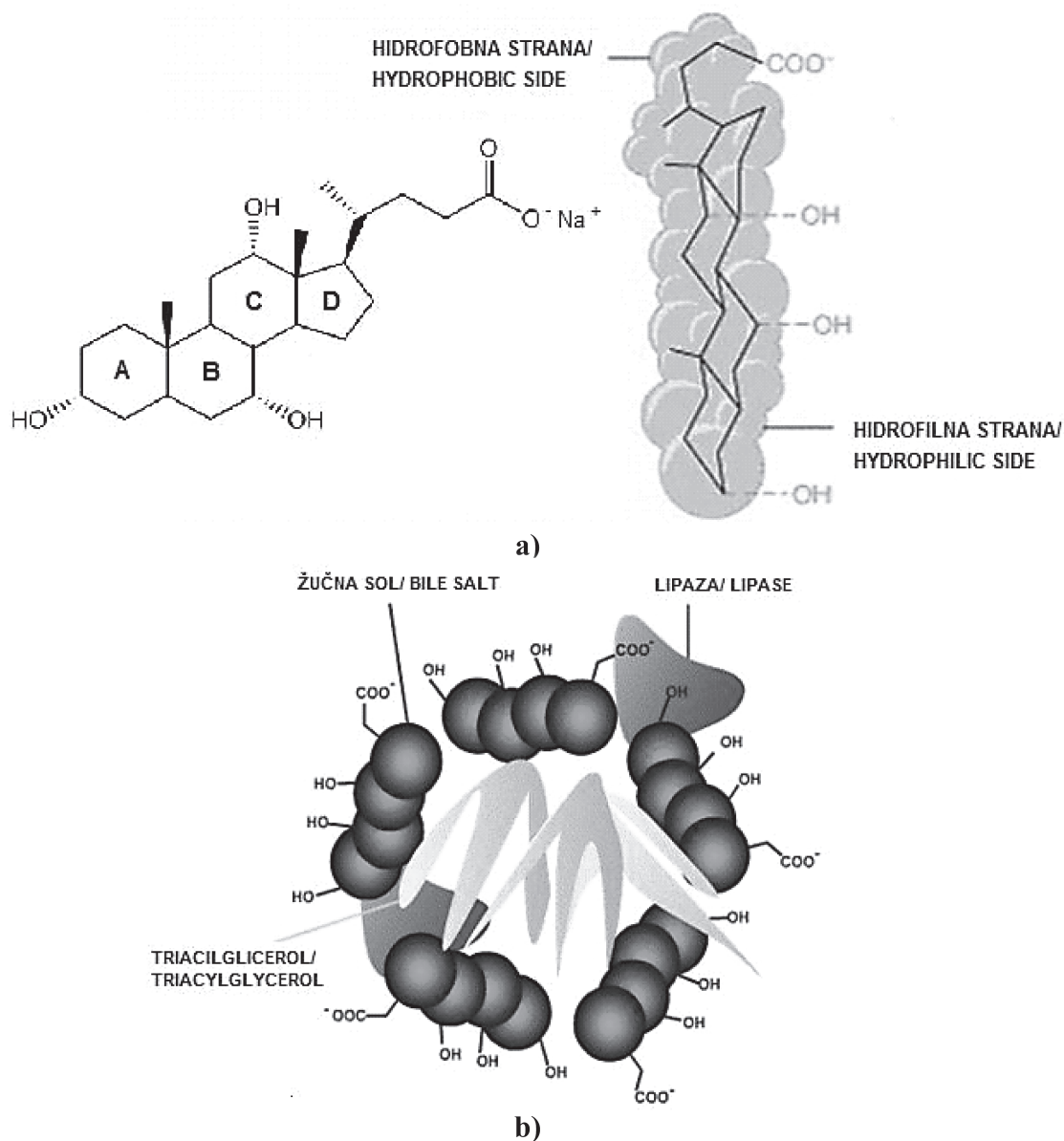
Ime / name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Kolanska kiselina/ Cholanic acid	H	H	H	OH
Kolna kiselina/ Cholic acid	OH	OH	OH	OH
Kenodeoksikolna kiselina/ Chenodeoxycholic acid	OH (α)	OH (α)	H	OH
Deoksikolna kiselina/ Deoxycholic acid	OH	OH	OH	OH
Ursodeoksikolna kiselina/ Ursodeoxycholic acid	OH (α)	OH (β)	H	OH
Litololna kiselina/ Litocholic acid	OH	H	H	OH
Glikokolna kiselina/ Glicocholic acid	OH	OH	OH	NHCH ₂ COO ⁻
Taurokolna kiselina/ Taurocholic acid	OH	OH	OH	NHCH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻

TABLICA 1.
 Strukture najzastupljenijih žučnih kiselina kod ljudi (4)
 TABLE 1.
 Structures of the most abundant bile acids in humans (4)

jetrene stanice (hepatocite) u stvaranju žuči te aktiviraju rad pankreatičke lipaze (6). Općenito, bez žučnih soli, većina lipida iz hrane bi nerazgrađena izašla iz organizma. Pored svega, djeluju i kao baktericidi, uništavajući mnoge mikroorganizme prisutne u hrani, te sprječavaju prekomjerni rast bakterija u tankom crijevu (7).

Danas su kolna kiselina i žučne soli zbog svojih interesantnih fizikalno-kemijskih svojstava postale predmet istraživanja mnogih znanstvenika. Žučne kiseline i njihove soli karakterizira svojstvo stvaranja multimolekulskih agregata, tzv. facijalna amfifilnost, odnosno hidrofilno (hidroksilana i terminalna karboksilna grupa) – hidrofobni (naborana površina steroidnoga prstena) karakter molekule (Slika 2.), kiralnost (molekula posjeduje 11 kiralnih centara, s mogućnošću stvaranja 2¹¹ stereoizomera i 2046 diastereoizomera, te inkluzijska svojstva u kristalnom stanju) (8). Njihove kristalne forme predstavljaju jednostavno varirane hijerarhijski strukturirane sklopove, zahvaljujući asimetričnim molekulskim strukturama i slabim kooperativnim međudjelovanjima (8), prije svega zahvaljujući mreži vodikovih veza. Hidrofilne i hidrofobne strane takvih molekula mogu se slagati na različite načine, tipa glava-rep ili glava-glava, u dvoslojevima paralelnih ili antiparalelnih kombinacija (8). Ovisno o obliku molekule (Slika 4.), nastaju najče-

šći obrasci reprezentativnih kristalnih struktura, prikazani na Slici 5. (9). Steroidi, vrlo slično proteinima, sklone su stvaranju hijerarhijskih struktura, asociirajući po dvije molekule u bimolekulski, pa spiralni sklop, sve do snopova takvih spiralnih lanaca (8), koji između spirala u valjkastim šupljinama mogu udomiti molekulu gosta, kako je prikazano na Slici 6. Osim molekulske kiralnosti jedne molekule, takvi različiti sklopovi posjeduju visok stupanj supramolekulskih trodimenzionalnih kiralnosti: ukošenu, spiralnu, kiralnost snopa i kiralnost krutine određene prostorne grupe (8), uz puno kombinacija lijevo ili desno orijentiranih zavojnica što dodatno može mijenjati prisutnost molekule gosta, otvarajući bezbrojne puteve kristalnoga inženjeringa. Supramolekulske strukture nastaju raznim vrstama nekovalentnih međudjelovanja (Slika 7.), ili raznim koordinacijama s metalnim ionima. Od takvih funkcionalnih molekulskih struktura s krutim steroidnim kosturom kreće se u modeliranje, dizajniranje i sinteze različitih, medicinski potencijalno korisnih molekula prikladnih za liječenje metaboličkih poremećaja, promjenom pojedinih funkcionalnih grupa, cikliziranjem molekula, ili ciljanom ugradnjom molekule gosta. Ujedno, smatra se da za nastanak života na Zemlji zahvaljujemo prvobitnim povoljnim uvjetima molekulske organizacije u dvomolekulske strukture, pa preko supramolekulskih struktura u samo-organizirane i



SLIKA 2.

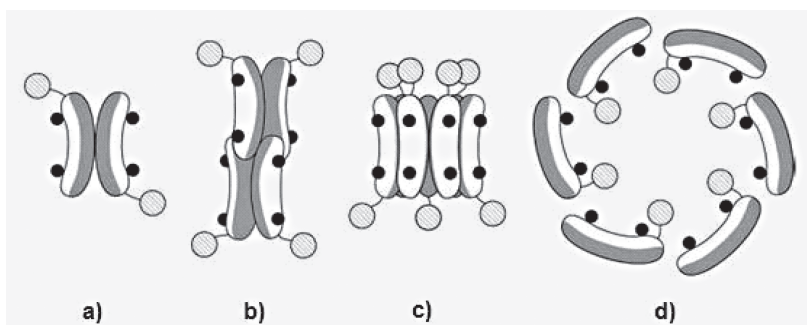
a) Strukturna formula natrijeva 3 α -, 7 α -, 12 α -trihidroksi kolan-24-oata (natrijeva kolata, lijevo) te prikaz facijalne amfifilnosti aniona žučne soli (desno). Nasuprot lipofilne/hidrofobne steroidne strukture, molekula sadrži kraći razgranati alifatski lanac, koji završava izrazito hidrofilnom karboksilnom grupom te hidroksilne grupe koje leže ispod ravnine steroidnoga kostura.

b) Miješana micela sastavljena od žučnih soli, triacilglicerola i pankreatičke lipaze. Prilikom formiranja micela hidrofobni dio molekule žučne soli okreće se prema unutrašnjosti micela, a hidrofilni dio prema otapalu (u ovom slučaju vodi).

FIGURE 2.

a) Structural formula of sodium 3 α -, 7 α -, 12 α -trihydroxycholestan-24-oate (sodium cholate, left) and view of facial amphiphilic property of bile salt anion (right). Besides lipophilic/ hydrophobic steroid structure, molecule contains short branched alkyl chain that ends with extremely hydrophilic carboxylic group, and hydroxylic groups that are under the steroid skeleton plane.

b) Mixed micelle formed by bile salts, triacylglycerols and pancreatic lipase. During the micelle formation, hydrophobic part of the bile salt molecule is in the micelle interior, whilst hydrophilic part is in the contact with surrounding solvent (in this case water).

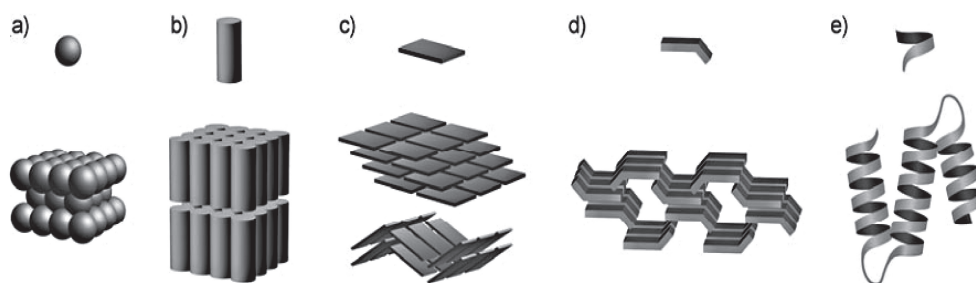


SLIKA 3.

Shematski prikaz različitih micelarnih struktura: a) i b) strukture primarnih micela; c) diskolike micelle; d) poprečni presjek helikoidne micelle (5).

FIGURE 3.

Schematic representation of different micellar structures: a) and b) primary structures of micelles; c) disc-like micelle; d) cross cut of the helical micelle (5).

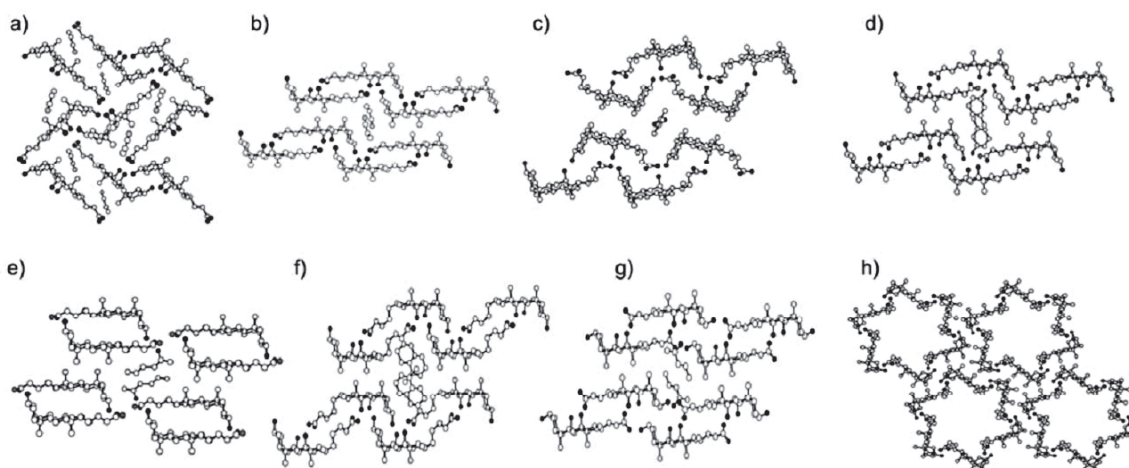


SLIKA 4.

Povezanost molekulske i kristalne strukture: a) kuglasta, b) valjkasta, c) plošna, d) zasvođena i e) lančana molekula.

FIGURE 4.

Relationship between molecular structures and crystal structures: a) spherical, b) axial, c) flat, d) arched, and e) chain molecule.

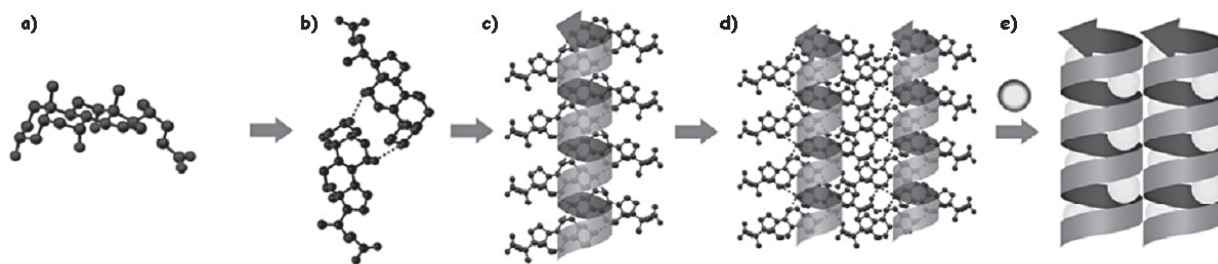


SLIKA 5.

Reprezentativne kristalne strukture žučnih soli i derivata: a) ukrštena struktura s kavezastim šupljinama. b) do g) dvoslojna struktura s kanalićastim šupljinama, te h) sačasta struktura s heksagonalnim kanalićima.

FIGURE 5.

Representative crystal structures of bile salts and their derivatives: a) crossing structure with cage-like cavities, b) to g) bilayered structures with channel-like cavities, and a honeycomb structure with hexagonal channels.

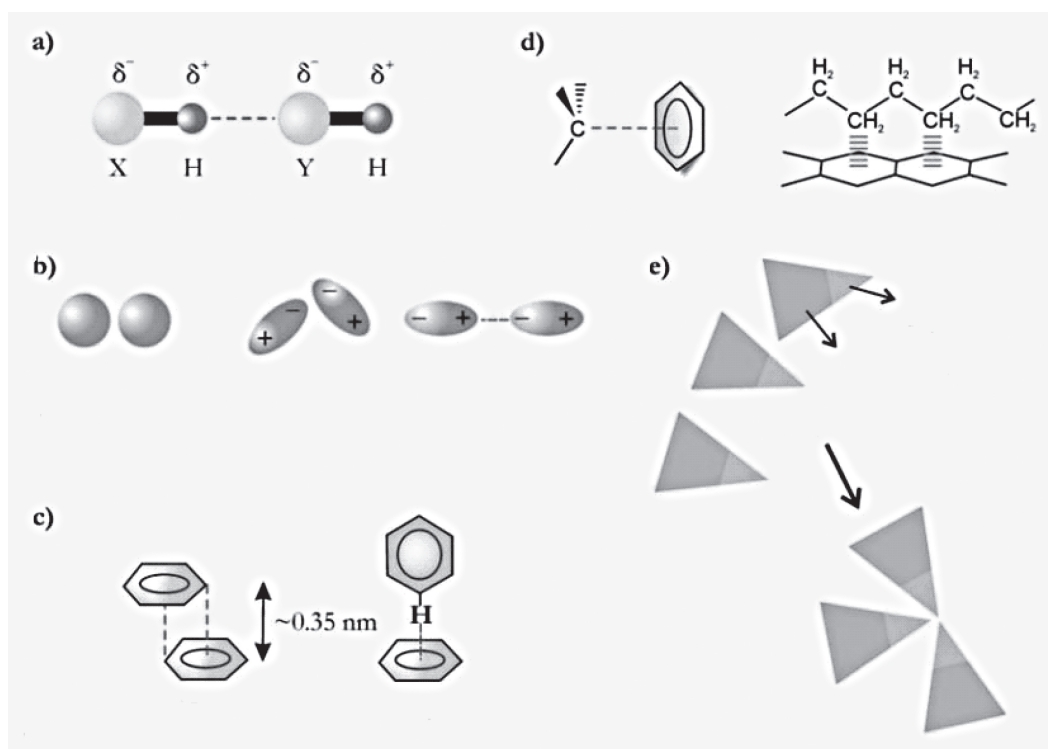


SLIKA 6.

Hijerarhijska asocijacija molekula žučnih kiselina i njihovih soli (a) u bimolekulske sklopove (b), spiralne sklopove (c), te u snopove spiralnih sklopova (d), koji u spiralnim valjkastim šupljinama mogu udomiti molekule gosta (e).

FIGURE 6.

Hierarchical association of bile acids and their salts (a) in bimolecular assembly (b), helical assembly (c), and into bundle of the helical assembly (d), which can accomodate guest molecules in cylinder- like cavities (e).

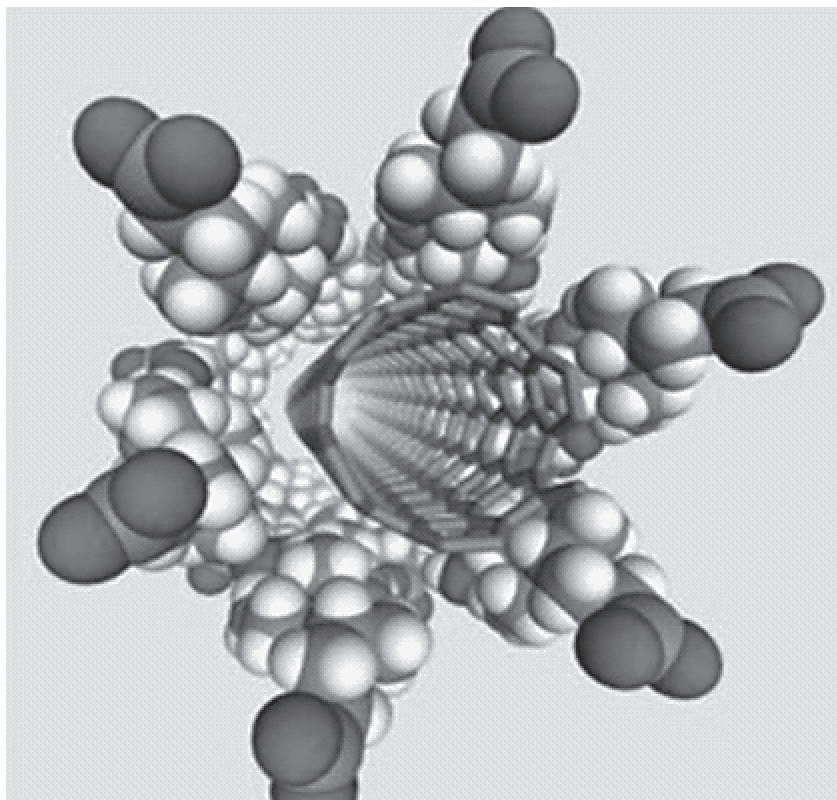


SLIKA 7.

Različita nekovalentna međudjelovanja uključena u supramolekulsko samoasociranje: a) međudjelovanja vodikovim vezama, b) inducirani dipoli između dvije neplanarne molekule, c) π - π međudjelovanja, predavanje naboja, d) hidrofobna privlačenja i e) hidrofilno-hidrofobne orijentacije.

FIGURE 7.

Various non- covalent interactions involved in supramolecular self- assembly: a) hydrogen bonding interactions, b) induced dipoles between two non- planar molecules, c) π - π charge-transfer interactions, d) hydrophobic attractions, and e) hydrophilic- hydrophobic orientations.

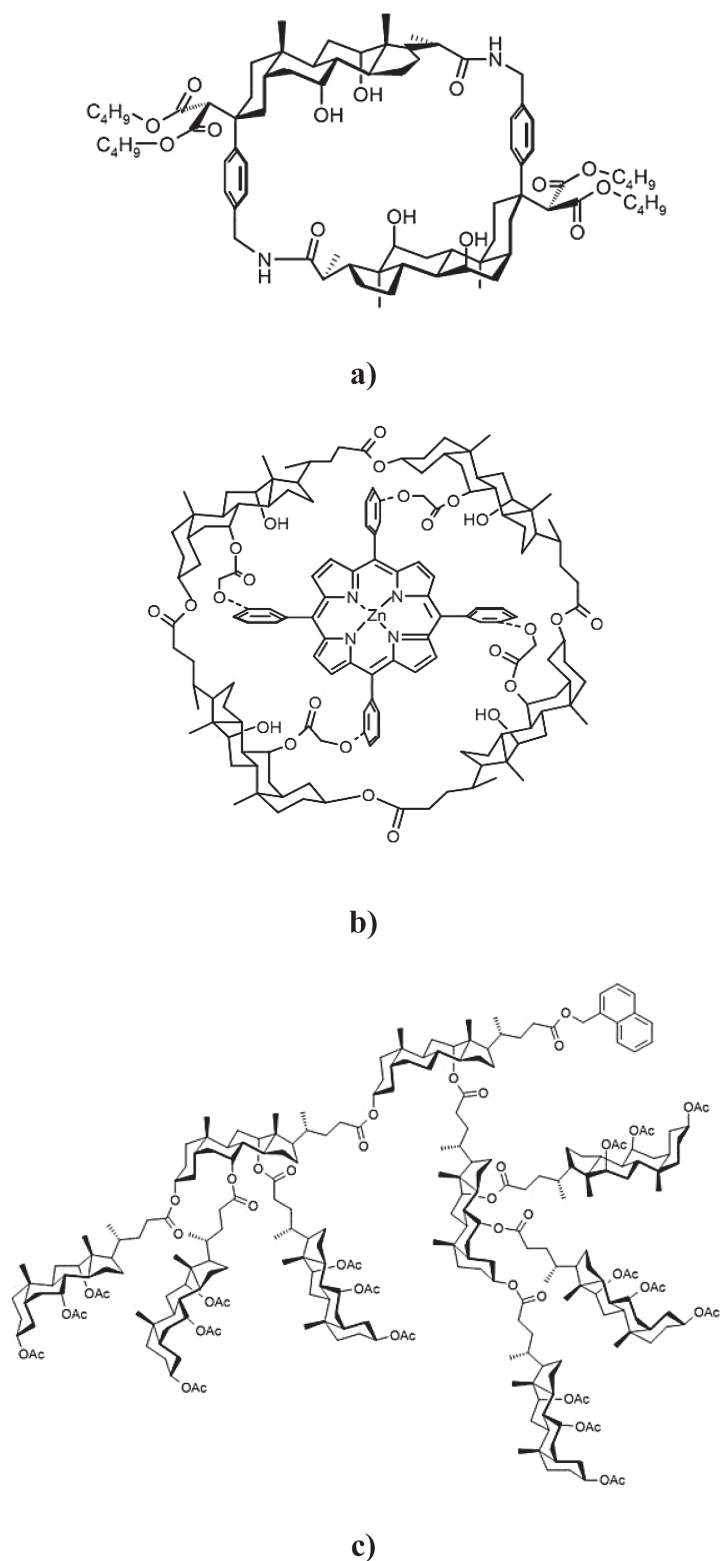


SLIKA 8.
Model ugljikove nanocijevi prekrivene slojem natrijeva kolata
FIGURE 8.
Model of a sodium cholate suspended carbon nanotube

sve kompleksnije tvari, do funkcionalne žive tvari (10). U zadnje vrijeme se intenzivirala sinteza i transformacije u organiziranim medijima poput micela, tekućih kristala, krunskih etera, kriptanida, ciklodekstrina, otopina dendrimera, zeolita i sl. Posebno treba izdvojiti reakcije izvođene u gelovima pripremljenim iz tvari niskih molekularnih masa (11) ili iz protein- površinski aktivne tvari gelova. Od ostalih reakcija važne su sve one koje uključuju žučne soli i njihove derivate, uz promjene koncentracije, temperature, elektrolita, dodatak površinski aktivnih tvari, polisaharida, polimera, lipida ili proteina (3), pri čemu se stvaraju amorfne ili uređene faze, kombinacijom djelovanja elektrostatskih faktora, vodikovih veza i hidrofobno- hidrofилnih ravnoteža (12–14).

Kao potencijalni građevni elementi, kolna kiselina i žučne soli jako su važne u sintetskoj makrocikličkoj kemiji i preparaciji molekula koje mogu prepoznati druge molekule i vezati se s njima u svojim definiranim šupljinama ili na njihovim površinama, pa se često nazivaju “sintetski enzimi”, služe u konstrukciji sustava za pohranu informacija na molekularnoj razini, ili u dizajnu i sintezi molekularnih aktivatora, čije molekule podliježu promjenama oblika kao odgovor na vanjske uvjete, odnosno stimulanse. Navedena svojstva novih sintetskih struktura

povezana su sa zahtjevima dobro kontrolirane i definirane geometrije molekula temeljenih na krutoj okosnici, za što je velika i komercijalno lako dostupna steroidna jezgra odličan izbor početnoga materijala. Farmakološka primjena žučnih soli tako dobiva veliki značaj pri konstrukciji molekularnih i supramolekulskih sklopova, s naglaskom na dizajnu novih antibiotika (15,16), kationskih (17) i anionskih (18,19) receptora, dvodimenzionalnih (20) i trodimenzionalnih (21,22) kalupa tzv. template-a i scaffold-a, novih materijala (23) (Slika 8., prema ref. (24)), umjetnih ionskih kanala (25), vezikula za ciljanu isporuku lijeka, tzv. „pametni lijekovi“ (26), te novih PAT-ova (27). Slika 9. prikazuje neke od supramolekulskih vrsta kojima žučne kiseline služe kao građevni element. Makrociklički spojevi sastavljeni od dvije do četiri jedinice žučnih kiselina, međusobno povezanih različitim grupama, tzv. kolafani (Slika 9.a, prema ref. (28)) jednostavniji su primjeri i potencijalni transmembranski nosioci aniona (29). Uz kolafane, ciklokolati odnosno makrociklički poliesteri (dvije do šest steroidnih jedinica povezane ciklizacijom tipa glava-rep), često se koriste u izgradnji gost-domaćin kompleksa i u biomimetičkom/molekulskom prepoznavanju (Slika 9.b, prema ref. (30)). Zbog svojeg oblika i nanometarskih dimenzija, znanstveni interes bude i tzv. kiralni dendroni (Sli-

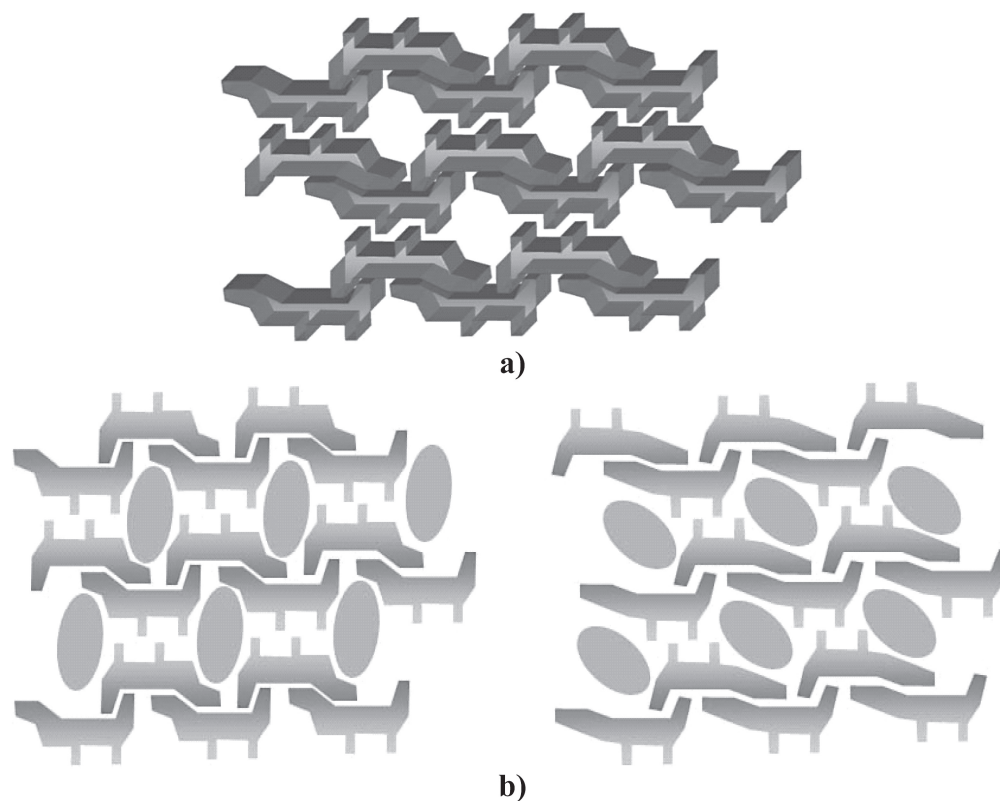


SLIKA 9.

Žučne kiseline kao građevni elementi supramolekulskih vrsta: a) kolafan; b) porfirin kapsuliran unutar ciklokolata - primjer gost - domaćin kompleksa; c) kiralni dendron na bazi kolne kiseline.

FIGURE 9.

Bile acids as building blocks of supramolecular forms: a) cholaphane; b) cyclocholelate-capped porphyrin - sample of host - guest complex; c) bile acid - based chiral dendron.



SLIKA 10.

a) Kristalna struktura kolne kiseline bez gosta, prikaz prema ref. 32. b) Struktura kolne kiseline s malim gostom, tipa α (lijevo) ili β (desno), prema ref. 33.

FIGURE 10.

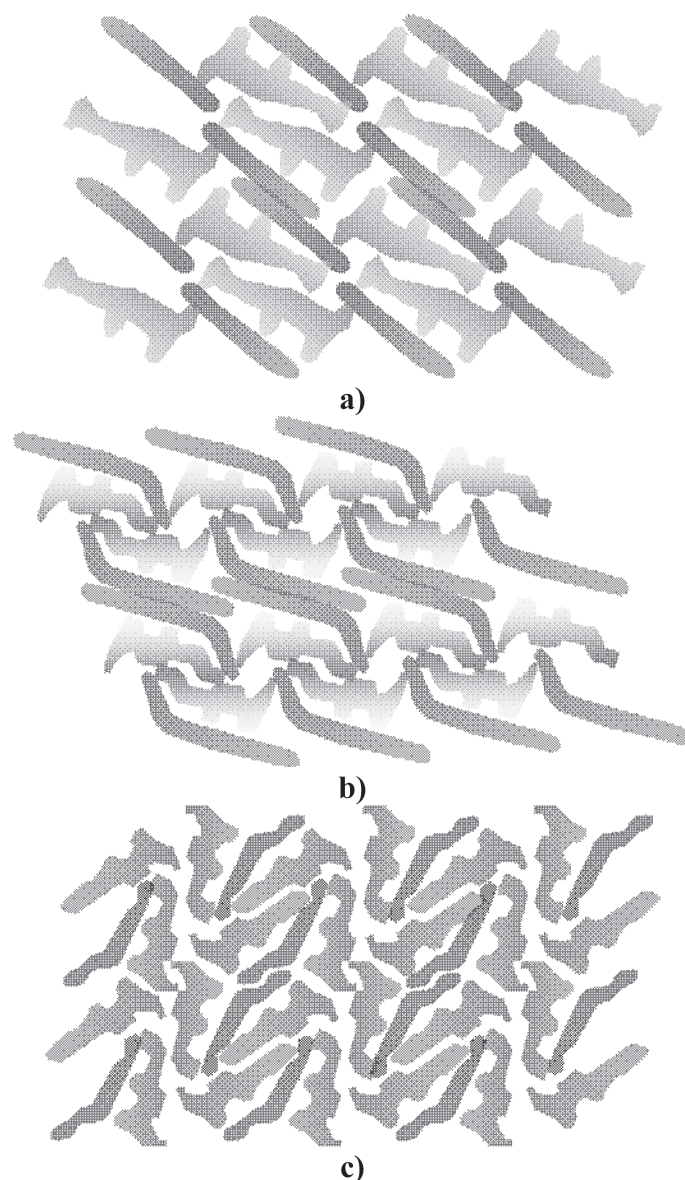
a) The crystal packing of cholic acid guest free, according to ref. 32. b) Structure of cholic acid with small guest, type α (left) and β (right), according to ref. 33.

ka 9.c) na bazi žučnih kiselina (31). Kolna kiselina kao biološka PAT posjeduje antibakterijska, antifungalna, te antialergijska svojstva. Jedna je od važnijih molekula za pripremu organometalnih kompleksa, budući da produkt interakcije posjeduje jače antifungalne i antibakterijske aktivnosti zbog sinergističkoga učinka i kolne kiseline i metalnih iona. Tijekom sinteze i lučenja žučnih soli u žuč se izlučuje i kolesterol, ali u otprilike deset puta manjoj količini. Nije poznata specifična funkcija kolesterola u žuči i zato se pretpostavlja da je on naprosto popratni proizvod pri stvaranju i lučenju žučnih soli (1). Međutim, u abnormalnim fiziološkim uvjetima dolazi do poremećaja odnosa žučnih kiselina i kolesterola, a kao posljedica talože se i stvaraju žučni kamenci. Nastanak žučnih kamenaca može se objasniti prekomjernim lučenjem kolesterola u žuč, odnosno smanjenim metabolizmom kolesterola u žučne kiseline i steroidne hormone. Još neki od razloga mogu biti i prekomjerna apsorpcija vode iz žuči ili pak žučnih soli i lecitina iz žuči, zatim upalni procesi i infekcije žučnoga mjehura (1).

EKSPERIMENTALNI DIO

Priprava sustava

Kruti spojevi pripremljeni su miješanjem vodenih otopina biološke anionske površinski aktivne tvari, natrijeva kolata, u ekvolumnom i ekvimolnom odnosu s odgovarajućim kationskim, alkilamonijevim površinski aktivnim tvarima s variranom duljinom alkilnoga lanca od 10 do 16 C-atoma (decilamonijev-, dodecilamonijev-, tetradecilamonijev, i heksadecilamonijev sulfat); te s didodecildimetilamonijevim bromidom. Miješanje je provedeno određeno vrijeme pri povišenoj temperaturi od oko 80°C. Nakon tri dana starenja suspenzije talozi se odvajaju filtriranjem ili centrifugiranjem, suše u vakuum sušioniku na sobnoj temperaturi tijekom 2-3 dana i čuvaju od vlage. Reakcije s metalnim ionima rastućih naboja, tj. valencije (Ag^+ , Ba^{2+} , La^{3+}) provedene su neutralizacijom kolne kiseline s odgovarajućim metalnim hidroksidima na sobnoj temperaturi.



SLIKA 11.

Struktura kolne kiseline s alkilamonijevim kationima 1:1 kao gostima: a) decilamonij, b) heksadecilamonij, c) dodecilamonij 1:2 (prema ref. 13.).

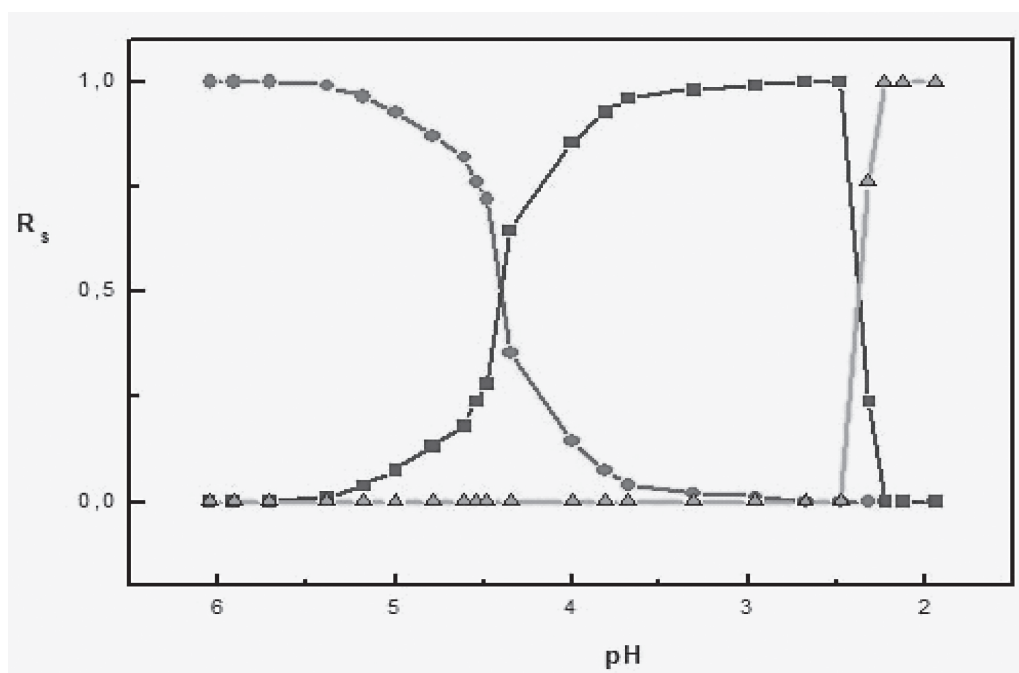
FIGURE 11.

Structure of cholic acid alkylammonium cations 1:1 as guests: a) decylammonium, b) hexadecylammonium, c) dodecylammonium 1:2 (according ref. 13).

Mjerne metode

U svrhu potvrde identifikacije, ispitivani se uzorci prvo podvrgavaju elementnoj, IR i NMR analizi. Teksture vodenih otopina katanionskih uzoraka, kao i morfološke promjene njihovih krutina uzrokovane povišenjem i sniženjem temperature, promatrane su optičkim polarizacijskim mikroskopom Leitz - Orthoplan opremljenim grijaćim stolićem (Linkam THMS 600) i snimani digitalnim Olympus N547 fotoaparatom. Kristalna struktura odre-

đivana je Enraf Nonius CAD4 X- ray difraktometrom s monokromnim Cu K α zračenjem ($\lambda = 1,5412 \text{ \AA}$) pri sobnoj temperaturi. Uzorci su otopljeni u vodi i ostavljeni nekoliko mjeseci u hladnjaku na -4°C da otapalo polaganog hlapi. Kristalne strukture prikladnih uzoraka rješavane su i prikazivane računalnim paketima SHELXS97, PLATON98 i MERCURY. Pretražnim elektronskim mikroskopom (SEM) uz povećanje od 1000 puta snimani su neki kruti uzorci precipitata na sobnoj temperaturi.



SLIKA 12.

Izračunata raspodjela kolatnih vrsta, alkilamonij : kolat = 1:1 (●), alkilamonij : kolat = 1:2 (■), te kolna kiselina (▲), u talogu alkilamonijeva kolata, u ovisnosti o pH vrijednosti vodene otopine smjese.

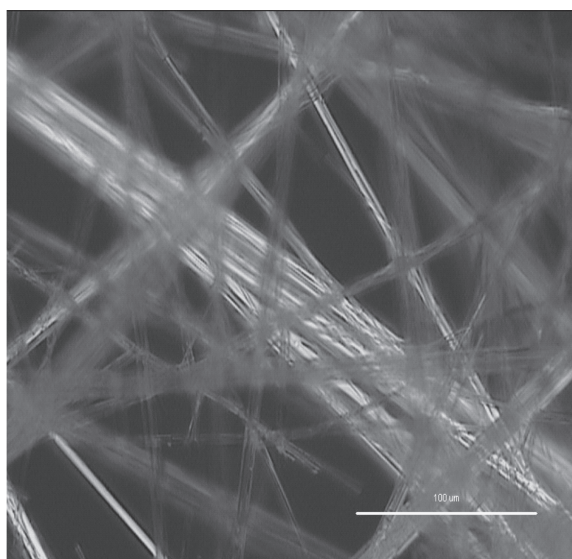
SLIKA 12.

Calculated distribution of cholic type, alkylammonium : cholate = 1:1 (●), alkylammonium : cholate = 1:2 (■), and cholic acid (▲), in precipitate of alkylammonium cholates, versus pH of aqueous solutions.

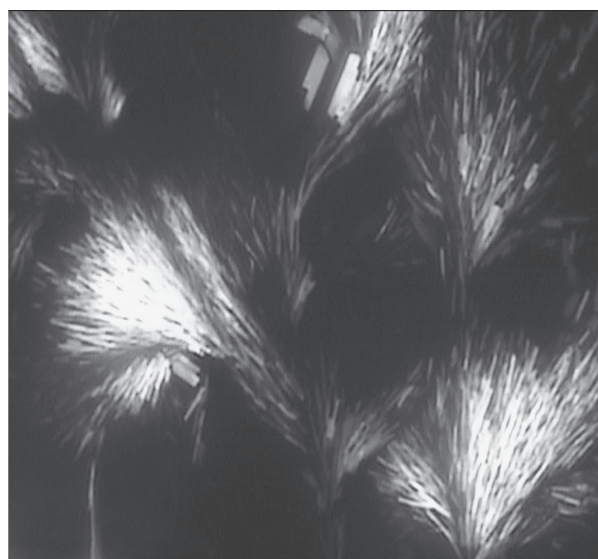
REZULTATI I RASPRAVA

Steroidni kostur izrazito je zastupljen u živoj prirodi, susreće se kod gljiva, biljaka, kolesterol je komponenta stanične membrane, a značajnoga je i fiziološkoga učinka (metabolit, prekursor i sudionik u građi hormona). Kemijska struktura žučnih kiselina svih kralježnjaka vrlo je slična, a derivati se međusobno razlikuju po broju, tipu, orijentaciji i lokaciji supstituenata, te strukturi postranog lanca. Osim u liječenju, žučne kiseline su važne u biologiji, fiziologiji, medicini, supramolekularnoj, biomimetičkoj i prebiotičkoj kemiji. Stabilna slojevita kristalna struktura kolne kiseline već je dugo poznata, karakterizira ju facijalna amfifilnost i definirana geometrija tipa glava-rep (32), kristalizira u ortorompskom sustavu, prostorne grupe $P 2_1 2_1 2_1$ (Slika 10.). Unutrašnjost molekula može ugostiti tvari različite prirode, pri čemu se struktura domaćina dramatično mijenja, omogućujući kreaciju nove generacije funkcionalnih i “pametnih” materijala i potencijalnih novih lijekova. Tip slagaline supramolekulskoga domaćina mijenja se inkluzijom organskoga gosta, ovisno o steričkim dimenzijama i konformacijama gosta, promjenama pH vrijednosti, temperature, vremena starenja sustava, te međudjelovanjem s drugim vrstama kationa i metalnim ionima.

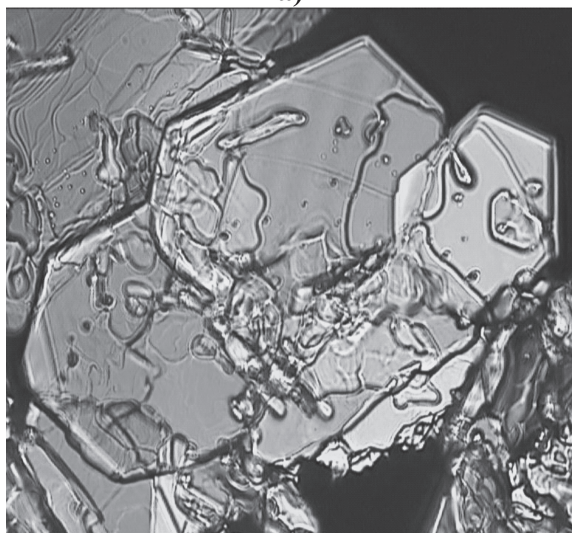
U slučaju male molekule kao gosta (monosupstituirani derivati benzena) nastaje slojevita struktura α ili β tipa, ovisno o *trans* ili *gauche* konformacijskom položaju lanca na petočlanom prstenu, tj. iznosu glavnih torzijskih kutova. Veće nakupine molekula karakteriziraju jednodimenzionalne šupljine, tj. kanalići, jer dolazi do pomaka kumuliranih slojeva (33). Međudjelovanja s većim molekulama, kao npr. s alkilamonijevim spojevima, karakteriziraju sasvim nova svojstva nastalih spojeva, jer su domaćin - kolatni anion i gosti -alkilamonijevi kationi, podjednake veličine. Dolazi do drastične promjene u monoklinsku kristalnu rešetku, do rearanžiranja mreže intermolekulskih vodikovih veza, izomerizacije molekula domaćina i reorijentacije kolatnih iona u tip “glava-glava”, slojevite tzv. “bilayer-like” ili “sandwich-like” strukture, ako je odnos kation : anion = 1:1, te anizotropne promjene dimenzija jedinične ćelije (Slika 11.a i b). Naprotiv, ako je odnos kation : anion = 1:2, nastaju ukrštene dvoslojne, tzv. “crossing-bilayer” strukture (Slika 11.c). Sve te promjene slijede promjene dimenzija jedinične ćelije, ali samo osi a i c, dok dimenzija osi b ostaje uvijek konstantna u iznosu $b = 8 \text{ \AA}$. Od 227 literaturno pretraženih ispitivanih kristalnih struktura derivata kolne kiseline, 173 kristaliziraju u $P 2_1$, a većina ima os $b \sim 8 \text{ \AA}$.



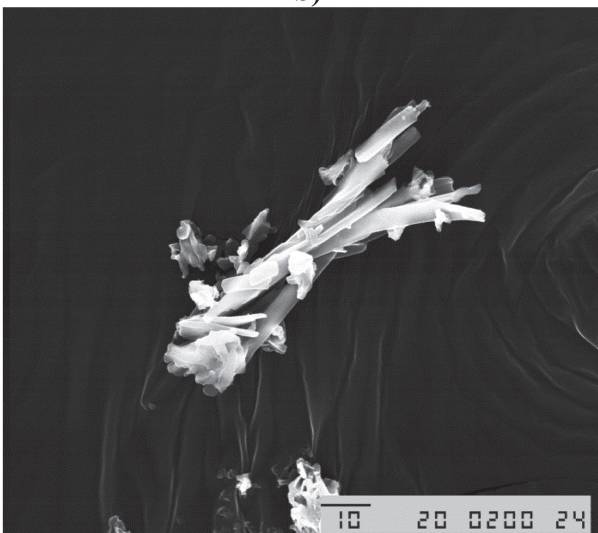
a)



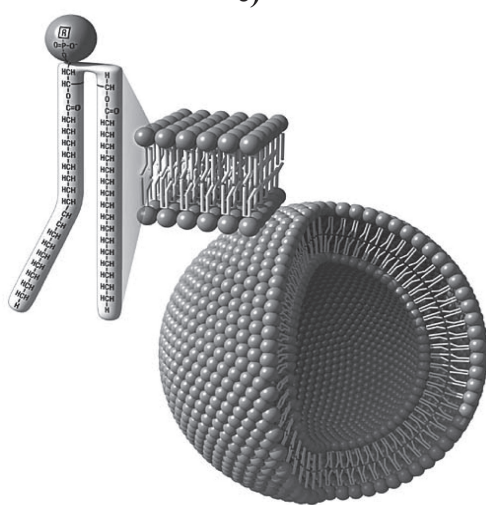
b)



c)



d)



e)



f)

SLIKA 13.
FIGURE 13.

SLIKA 13.

Morfološke transformacije precipitata iz vodenih otopina alkilamonijevih kolata: 1 : 1, pH = 6.08 (a); 1:2 (b) pH = 4.20; kolna kiselina (c) pH = 2.05, te d) SEM mikrofotografija lisnate morfologije didodecildimetilamonijevo kolata (povećanje 1000 puta). Slika e) predstavlja shemu dvo-lančane molekule fosfolipida, odgovarajuću kuglastu vezikulu i plošnu lamelu, a f) smjesa vezikula i taloga didodecildimetilamonijeva kolata, snimljene svjetlosnim mikroskopom pod polarizacijom. Oznaka predstavlja veličinu objekta od 100 μm .

FIGURE 13.

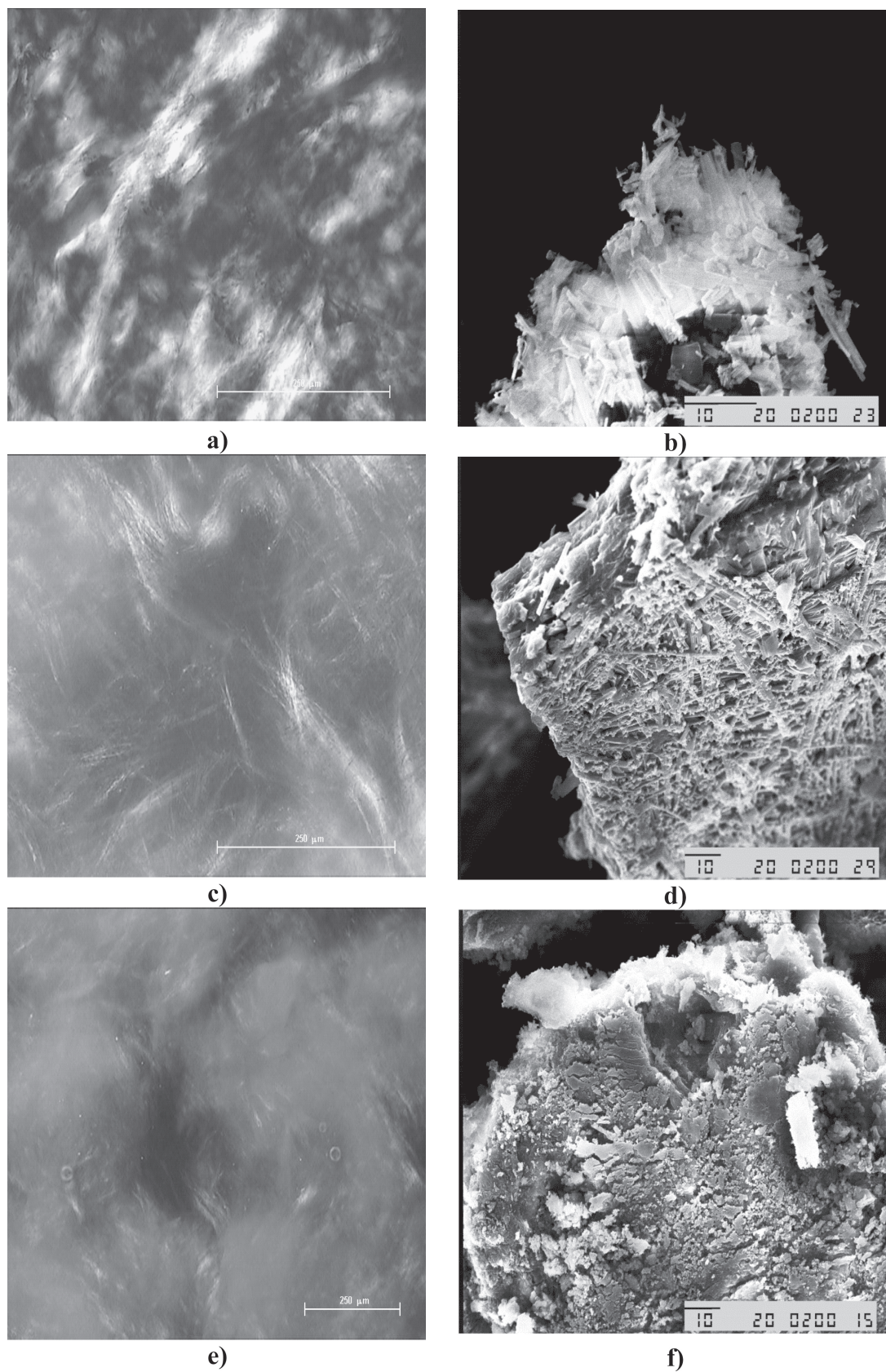
Morphological transformations of alkylammonium cholate precipitates in aqueous solutions: 1 : 1, pH = 6.08 (a); 1:2 (b); cholic acid (c), and d) SEM micrograph of laminated morphology of didodecyldimethylammonium cholate (magnification 1000 X). The figure e) represents the scheme of double-tailed molecule of phospholipid, relevant spherical vesicle and planar lamela, and f) mixtures of vesicles and precipitate of didodecyldimethylammonium cholate, recorded by light microscope under crossed polarizers. The bar represents 100 μm .

Ispitivana je i pH osjetljivost sustava vodenih otopina alkilamonijevih halogenida i natrijeva kolata (14). Ustanovljeno je da stehiometrijski sastav taloga i molna frakcija nastalih komponenti izrazito ovise o pH vrijednostima sustava. U neutralnom i slabo kiselom mediju preferirano nastaju spojevi tipa 1 : 1 s obzirom na odnos kationske i anionske komponente, u kiselom (do pH = 3) preferirano talože spojevi tipa 1 : 2, a u jako kiselom području (pH = 2) taloži sama kolna kiselina (Slika 12. i 13.) (14). Morfologije nastalih vrsta prikazane su na Slici 13.a–c. Najnovija ispitivanja s modelnom površinski aktivnom tvari kao gostom, didodecildimetilamonijevim bromidom s dva hidrofobna dodecilna lanca slično kao kod prirodnih fosfolipida, ukazuju na nove mehanizme i morfologije stvaranja kolata, tako da se paralelno s taloženjem didodecildimetilamonijeva kolata pojavljuju vezikulske disperzije (Slika 13.f), slično kako je utvrđeno prethodno s dioktadecildimetilamonijevim kloridom (34). Vezikule, kao liotropne strukture tekućih kristala, predstavljaju zaokružene dvoslojeve složenih molekula u trodimenzionalnoj sferičnoj strukturi. Slično svojstvima fosfolipida i kolesterola u biološkim membranama, vezikule najčešće nastaju spontano, zahvaljujući hidrofilno-hidrofobnim ravnotežama, a u njihovom središtu i okolini prevladava otopina. Stvaranje i stabilnost vezikula izrazito ovise, osim o geometrijskim faktorima pakiranja, o temperaturi i entropiji sustava, tj. indirektno o koncentraciji sustava. Postupno, tijekom vremena starenja sustava, vezikule se transformiraju fuzijom u veće nakupine, klastere i blastule, do konačnoga formiranja lamelnoga taloga. U navedenom slučaju za to je bilo potrebno desetak dana, ali niti nakon godine dana nije se uspjelo dobiti kristal prikladan za analizu. Mikrofotografije snimljene na SEM-u (Slika 13.d.) ukazuju na lisnatu morfologiju didodecildimetilamonijeva kolata.

Sve se te promjene odražavaju na arhitekturu i fizikalno-kemijsku prirodu molekulskih šupljina, tj. kanalića, tako da takva istraživanja s različitim spojevima molekula gosta omogućuju zaključke o finom podešavanju i kontroli svojstava molekulskih šupljina, kao potencijalnih

nositelja lijekova ili dijagnostika, jer se u šupljine mogu ugraditi drugi (ljekoviti) spojevi ili ih se može ispuniti (ljekovitim) otapalom. Ujedno, ta svojstva uključuju kolnu kiselinu u rijetku skupinu molekula važnih u molekulskom preopoznavanju, odnosno biomimeticima, kao gost - i pH - senzitivne tvari, jer prepoznaju gosta po veličini, obliku, polarnosti i kiralnosti. Ta svojstva molekula kolne kiseline potvrđuju ih kao nositelja molekulskih informacija, izražavajući molekulske informacije preko svojstava sklopa, a ne preko pojedinačnih molekula.

Drugu skupinu naših istraživanja predstavlja ispitivanje međudjelovanja kolatnoga aniona i metalnih iona u vodenim otopinama. Za tu je skupinu spojeva karakteristična pojava potpunoga i trenutačnoga geliranja kompletnoga sadržaja ispitivanih smjesa vodenih otopina. Elementarna analiza, IR i NMR ispitivanja pokazuju da nastaju Ag-kolat, Ba-dikolat i La-trikolat, tj. ionski kompleks biološkoga amfifila i metala u stehiometrijskom omjeru, a najvjerojatnije radi intenzivnih vodikovih veza, u formu neprozirnoga i bijeloga gela uklopljen je kompletan sadržaj vode. Porastom valencije metalnoga iona u gelu identificiraju se sve tanji i sitniji igličasti kristaliti, kako je vidljivo na Slici 14., jer porast naboja izaziva sve intenzivniju i bržu reakciju, pa produkt ima sve manje vremena za uredan rast. Nažalost, niti u ovom slučaju, nije se uspjelo dobiti kristal određene veličine prikladan za kristalografsku obradu i rješavanje pripadnih struktura, ali je interesantno njihovo svojstvo imobilizacije cjelokupnoga sadržaja vode. U laboratorijskim uvjetima i pri koncentracijama znatno višim od onih koje prevladavaju u živim organizmima ispitivana su tri, podjednako značajna svojstva žučnih soli, konkretno natrijeva kolata, a to su taloženje, vezikuliranje i geliranje (Slika 15.). Poznajući uvjete pri kojima dolazi do navedenih procesa, moguće je novim izborom i promijenjenim uvjetima te nepoželjne procese izbjeći, npr. štetno taloženje kame-naca. Pod pojmom «precipitacija» podrazumijeva se stvaranje krutine iz otopine ili smjese otopina, tijekom neke kemijske reakcije, pri čemu se nastali talog odvaja spontanom taloženjem djelovanjem prirodne gravitacije,



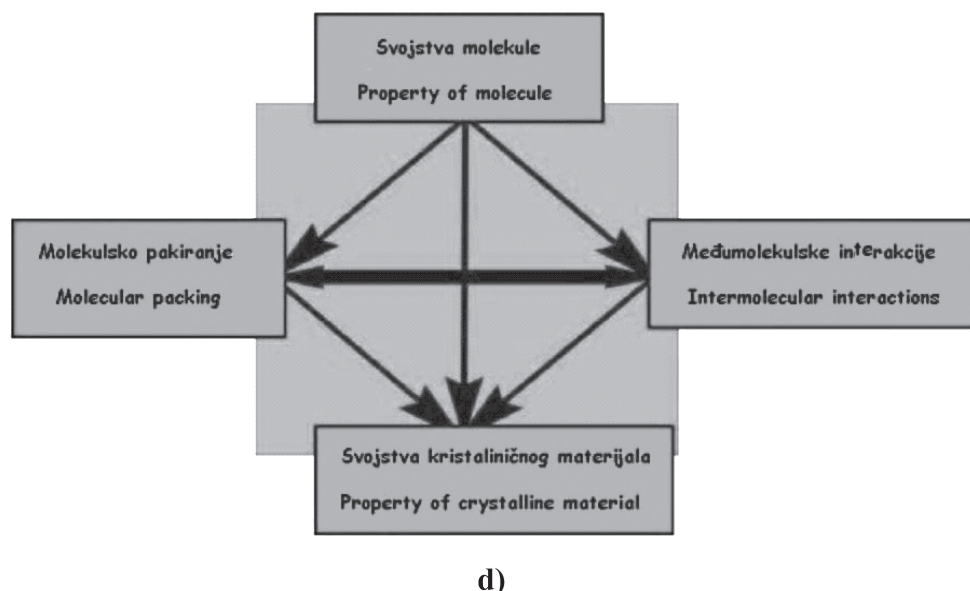
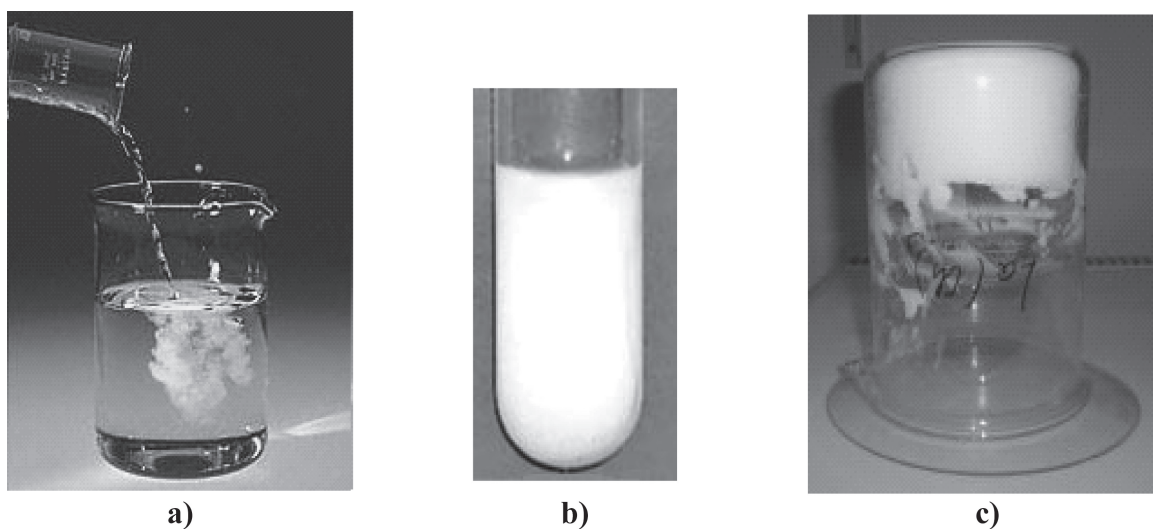
SLIKA 14.
FIGURE 14.

SLIKA 14.

Mikroskopske slike gelova Ag-kolata (a, b), Ba-dikolata (c, d) i La-trikolata (e, f) snimljene svjetlosnim mikroskopom pod polarizacijom (lijevo) i slike pretražnoga elektronskog mikroskopa (desno) na sobnoj temperaturi. Oznaka predstavlja veličinu objekta od 250 μm , a SEM je snimljen uz povećanje od 1000 puta.

FIGURE 14.

Micrographs of gels of Ag-cholate (a, b), Ba-dicholate (c, d) and La-tricholate (e, f) taken by light microscope under crossed polarizers (left) and SEM (right), at room temperature. The bar represents 250 μm , and SEM micrographs are taken at magnification of 1000 X.



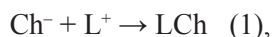
SLIKA 15.

Međudjelovanje ispitivanih komponenata rezultira procesima taloženja (a), vezikuliranja (b) i geliranja (c). Shema (d) prikazuje ovisnost svojstava molekula o molekulskim međudjelovanjima, molekulskom pakiranju i svojstvima kristalnoga taloga.

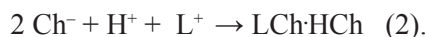
FIGURE 15.

Interactions of investigated components results in processes of precipitation (a), vesiculation (b) and gelation (c). The scheme (d) represents the dependence of molecule properties on molecular interactions, molecular packing and properties of crystalline material.

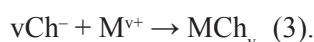
filtriranjem ili upotrebom centrifuge. U našem slučaju, međudjelovanje kolatnoga aniona, Ch^- , s kationom površinski aktivnih tvari, L^+ , u neutralnom pH dolazi do elektrostatske interakcije i nastajanja precipitata LCh , u omjeru $\text{L} : \text{Ch} = 1 : 1$, prema kemijskoj jednadžbi (1):



dok je u kiselom mediju odnos $\text{L} : \text{Ch} = 1 : 2$, te se odvija reakcija prema jednadžbi (2):



Reakcija s metalnim ionima, M^+ , određene valencije v , može se opisati kemijskom jednadžbom (3):



Naprotiv, u istraživanjima svojstava i prirode biomembrana česte su reakcije vezikuliranja koje ovise o hidrofилno-hidrofobnim ravnotežama među molekulama prirodnih ili sintetskih dvolančanih površinski aktivnih tvari. Nastajanje vezikula jest posljedica samoasociranja amfifila, definirano je koncentracijom i temperaturom, te valjkastim oblikom molekula. Spontano se odvija i u smjesama jednodlančanih površinski aktivnih tvari suprotnih elektrostatskih naboja, a energetska stabilizacija takvih miješanih vezikula ovisi i o elastičnosti zakrivljenoga dvosloja, prije njegove konačne transformacije u plošnu lamelu i precipitat. Kolati pri tome imaju negativan utjecaj na tekuću fazu dvoslojeva, svojom ugradnjom smanjuju fleksibilnost lipidnih lanaca, te izazivaju porast mehaničke čvrstoće dvoslojeva (35). Gelovi su definirani kao uglavnom meke, nekristalne, ispremežene tvari koje ne teku, tj. kao disperzije molekula tekućina u krutini, pri čemu je krutina kontinuirana faza, a tekućina diskontinuirana. Interna trodimenzionalna struktura može biti rezultat fizikalnih, kemijskih veza, ili rezultat prisutnih kristalita, kao u slučaju istraživanih metal-kolata hidrogelova. Djelovanje kolatnih iona u gelovima su još kompliciranija, jer formiraju izolirane otočiće lipidnih područja (36). Svoju primjenu takvi sustavi nalaze u istraživanjima umjetnoga tkiva, biosenzora, kontaktnih leća, implantanata, te kao rezervoari za lijekove u organizmu i slično.

Ovisno o početnim uvjetima u sustavu, svojstvima pojedinačnih molekula u ispitivanim sustavima, o prirodi njihovih molekulskih međudjelovanja, molekulskom pakiranju individualnih komponenti i pakiranju produkta reakcije, mijenjaju se i svojstva rezultatne supramolekulske nakupine (Slika 15.d). Kompeticija između entropijskih promjena agregacije, te aktivacijskih energija privlačnih hidrofobnih sila i vodikovih veza rezul-

tira stvaranjem različitih vrsta produkata, čije osnovne građevne jedinice mogu biti različitoga oblika, veličine i arhitekture, a koje se dalje organiziraju u jednoj, dvije ili tri dimenzije, što na makroskopskoj skali detektiramo kao gel, vezikulu ili talog izvjesnoga stupnja kristalnosti.

ZAKLJUČCI

Ispitivane su razne vrste međudjelovanja modelnih komponenti, natrijeva kolata, kao biološke površinski aktivne tvari i predstavnika žučnih soli, s različitim sintetskim površinski aktivnim tvarima, te metalnim ionima varirane valencije. S jednodlančanim površinski aktivnim tvarima ispitivana je kristalna rešetka kolne kiseline, te je ukazano na važnost takvih ispitivanja u molekulskom prepoznavanju, odnosno biomimeticima, a sustavi su opisani kao gost - i pH - senzitivni, budući da prepoznaju gosta po veličini, obliku, polarnosti i kiralnosti. Ta svojstva sustava molekula kolata kao domaćina s raznim molekulama gosta potvrđuju ih kao nositelje molekulskih informacija i to preko svojstava sklopa, a ne preko pojedinačnih molekula. Međudjelovanja s dvolančanim površinski aktivnim tvarima, kao modelima sličnima fosfolipidima, rezultiraju stvaranjem taloga i liotropnih tekućih kristala, vezikula. Reakcije natrijeva kolata s metalnim ionima jesu stehiometrijske; sitni kristali metalnih kolata uklopljeni su u strukturu stabilnih gelova. Iako su primijenjene komponente modelnoga karaktera, a koncentracije i temperature odvijanja reakcija nefiziološke, takva istraživanja dovode do boljega poznavanja prirode reakcija koje se odvijaju u živim organizmima, od patofiziologije do otvaranja puta prema sintezi novih lijekova i dijagnostičkih metoda.

Zahvala

Rad je financijski potpomognut sredstvima Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (Projekt br. 098-0982915-2949).

Acknowledgement

This work was supported by the Ministry of Education, Science and Sports of the Republic of Croatia (Project No. 098-0982915-2949).

LITERATURA

- Guyton AC. Jetra i žučni sistem. U: Pokrajac N, Boranić M, Fišter V, Čulo F, urednici. Medicinska fiziologija. 8. izd. Beograd: Medicinska knjiga; 1986. str. 1165-75.
- Hofmann AF. Bile Acids: The Good, the Bad, and the Ugly. *News Physiol Sci*. 1999;14(1):24-9.
- Calabresi M, Andreozzi P, La Mesa C. Supra-molecular association and polymorphic behaviour in systems containing bile acid salts. *Molecules*. 2007;12:1731-54.
- Monte MJ, Marin JJ, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol*. 2009;15(7):804-16.
- Carey MC, Small DM. Micelle formation by bile salts. Physical-chemical and thermodynamic considerations. *Arch Intern Med*. 1972;130(4):506-27.
- Koop I, Schindler M, Bosshammer A, Scheibner J, Stange E, Koop H. Physiological control of cholecystokinin release and pancreatic enzyme secretion by intraduodenal bile acids. *Gut*. 1996;39(5):661-7.
- Begley M, Gahan CG, Hill C. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev*. 2005;29(4):625-51.
- Miyata M, Tohnai N, Hisaki I. Supramolecular chirality in crystalline assemblies of bile acids and their derivatives; three-axial, tilt, helical, and bundle chirality. *Molecules*. 2007;12:1973-2000.
- Miyata M, Sada K. Deoxycholic acid and related hosts. U: Atwood JL, Davies JED, McNicol DD, Lehn JM, Vogtle F, Toda F, Bishop R, urednici. *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. Oxford: Pergamon; 1996. str. 147-96.
- Palmer LC, Velichko YS, de la Cruz MO, Stupp SI. Supramolecular self-assembly codes for functional structures. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*. 2007;365:1417-33.
- Bhat S, Maitra U. Hydrogels as reaction vessels: acenaphthylene dimerization in hydrogels derived from bile acid analogues. *Molecules*. 2007;12:2181-9.
- Vinceković M, Jurašin D, Tomašić V, Bujan M, Filipović-Vinceković N. Interactions in Aqueous Mixtures of Alkylammonium Chlorides and Sodium Cholate. *J Dispersion Sci Technol*. 2006;27(8):1099-111.
- Tomašić V, Štefanić Z. Cholic acid as host for long linear molecules: a series of co-crystals with n-alkylammonia. *Cryst Eng Comm*. 2007;9(11):1124-8.
- Tomašić V, Tušek-Božić L, Preočanin T, Kallay N. Influence of the pH on the Formation of the Catanionic n-Tetradecylammonium Cholate Surfactant Salt. *J Dispersion Sci Technol*. 2009;30:38-47.
- Savage PB. Design, Synthesis and Characterization of Cationic Peptide and Steroid Antibiotics. *Eur J Org Chem*. 2002;2002(5):759-68.
- Savage PB. Cationic Steroid Antibiotics. *Curr Medicinal Chem*. 2002;1(3):293-304.
- Nath S, Maitra U. A Simple and General Strategy for the Design of Fluorescent Cation Sensor Beads. *Org Lett*. 2006;8(15):3239-42.
- Davis AP, Joos J-B. Steroids as organising elements in anion receptors. *Coord Chem Rev*. 2003;240(1-2):143-56.
- Ghosh S, Choudhury AR, Guru Row TN, Maitra U. Selective and unusual fluoride ion complexation by a steroidal receptor using OH...F- and CH...F- interactions: a new motif for anion coordination?. *Org Lett*. 2005;7(8):1441-4.
- Bandyopadhyaya A, Sangeetha N, Maitra U. Highly diastereoselective synthesis of the 1,1'-binaphthol unit on a bile acid template. *J Org Chem*. 2000;65(24):8239-44.
- del Amo V, Siracusa L, Markidis T, Baragaña B, Bhattarai KM, Galobardes M, i sur. Differentially-protected steroidal triamines; scaffolds with potential for medicinal, supramolecular, and combinatorial chemistry. *Org Biomol Chem*. 2004;2(22):3320-8.
- Davis AP. Bile acid scaffolds in supramolecular chemistry: the interplay of design and synthesis. *Molecules*. 2007;12:2106-22.
- Soto Tellini VH, Jover A, Meijide F, Vázquez Tato J, Galantini L, Pavel NV. Supramolecular Structures Generated by a p-tert-Butylphenyl-amide Derivative of Cholic Acid: From Vesicles to Molecular Tubes. *Advan Mater*. 2007;19(13):1752-6.
- Hertel T. Ball and stick model of a sodium cholate suspended (6,5) carbon nanotube (Datum pristupa: 2.12.2011). Dostupno na URL adresi: http://www.nsf.gov/discoveries/disc_images.jsp?cntn_id=114159&org=DMR.
- Yoshii M, Yamamura M, Satake A, Kobuke Y. Supramolecular ion channels from a transmembrane bischolic acid derivative showing two discrete conductances. *Org Biomol Chem*. 2004;2(18):2619-23.
- Enhsen A, Kramer W, Wess G. Bile acids in drug discovery. *Drug Discov Today*. 1998;3(9):409-18.
- Alvarez Alcalde M, Jover A, Meijide F, Galantini L, Pavel NV, Antelo A, Vázquez Tato J. Synthesis and characterization of a new gemini surfactant derived from 3alpha,12alpha-dihydroxy-5beta-cholan-24-amine (steroid residue) and ethylenediamintetraacetic acid (spacer). *Langmuir*. 2008;24(12):6060-6.
- Bhattarai KM, Davis AP, Perry JJ, Walter CJ, Menzer S, Williams DJ. A new generation of "Cholaphanes": steroid-derived macrocyclic hosts with enhanced solubility and controlled flexibility. *J Org Chem*. 1997;62(24):8463-73.
- Judd LW, Davis AP. From cholapod to cholaphane transmembrane anion carriers: accelerated transport through binding site enclosure. *Chem Commun*. 2010;46(13):2227-9.
- Bonar-Law RP, Mackay LG, Sanders JKM. Morphine recognition by a porphyrin-cyclocholate molecular bowl. *J Chem Soc Chem Commun*. 1993;(5):456-8.
- Balasubramanian R, Maitra U. Design and synthesis of novel chiral dendritic species derived from bile acids. *J Org Chem*. 2001;66(9):3035-40.
- Miki K, Kasai N, Shibakami M, Chirachanchai S, Takemoto K, Miyata M. Crystal structure of cholic acid with no guest molecules. *Acta Crystallogr, Sect C: Cryst Struct Commun*. 1990;46:2442-5.
- Nakano K, Sada K, Kurozumi Y, Miyata M. Importance of packing coefficients of host cavities in the isomerization of open host frameworks: guest size dependent isomerization in cholic acid inclusion crystals with monosubstituted benzenes. *Chem Eur J*. 2001;7(1):209-20.
- Alves FR, Feitosa E. Interaction of sodium cholate with dioctadecyldimethylammonium chloride vesicles in aqueous dispersion. *Thermochim Acta*. 2006;450:76-80.
- Rubenstein JL, Smith BA, McConnell HM. Lateral diffusion in binary mixtures of cholesterol and phosphatidylcholines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979;76(1):15-8.
- Dietrich C, Volovyk ZN, Levi M, Thompson NL, Jacobson K. Partitioning of Thy-1, GM1, and cross-linked phospholipid analogs into lipid rafts reconstituted in supported model membrane monolayers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(19):10642-7.

IMPORTANCE OF INVESTIGATION OF BILE SALTS AND THEIR DERIVATIVES AS BUILDING BLOCKS OF SUPRAMOLECULAR HOSTS FOR THE PURPOSE OF TREATMENT

Tea Mihelj i Vlasta Tomašić*

“Rudjer Bošković” Institute, Department of Physical Chemistry
Laboratory for synthesis and processes of selfassembling of organic molecules
P. O. Box. 180, HR – 10002, Zagreb, Croatia

*Corresponding author
Dr. sc. Vlasta Tomašić
Ruđer Bošković Institute
Bijenička c. 54, P.O.Box 180
HR-10002 Zagreb
Croatia
Tel.: +385-1-4571-211
Fax: +385-1-4680-245
E-mail address: vlasta.tomasic@irb.hr

Professional paper

ABSTRACT

This article reports a variety of physico-chemical methods and techniques that have been used in the research of native, model bile systems. Interactions of the anionic biological surfactant, sodium cholate and synthetic single- and double- chained surfactants, as well as sodium cholate and metal ions with increasing charges, were examined.

These systems provide new insight into the complex processes of precipitation, vesiculation and gelation, and better understanding of those that take place in the living organism. The dependence of molecules of bile salts and their analogues on molecular interactions, molecular packing and properties of crystalline materials is established, so they can be utilized as supramolecular receptors for various types of guest molecules and ions, and for the design of novel materials. Such researches find their physiological (in diagnosis or developing new pharmacological applications) or pathophysiological relevance (in preventing harmful reactions, such as precipitation), and show close relationship between medicine and biotechnology, organic, macromolecular, inorganic and physical chemistry.

Key words: Surface-active agents – analysis, chemistry, diagnostic use, pharmacology, physiology, therapeutic use; Bile acids and salts – analogs and derivatives, analysis, chemistry, diagnostic use, metabolism, pharmacology, physiology, therapeutic use