**ΟΔΗΓΙΕΣ**

Η ακόλουθη παράγραφος έχει την επιθυμητή μορφοποίηση – να εφαρμόσεται την ίδια μορφοποίηση και στο υπόλοιπο κείμενο φροντίζοντας και για την αισθητική εμφάνιση του κειμένου.

**Γ. Παρασκευή στερεών συμπλόκων ρισπεριδόνης με κυκλοδεξτρίνες**

Παρασκευάσθηκαν στερεά μίγματα με ισομοριακές αναλογίες βιοδραστικής ουσίας και κυκλοδεξτρίνης. Το στερεό που λαμβανόταν μετά από κάθε μέθοδο παρασκευής υφίστατο ξηρή λειοτρίβηση προκειμένου να επιτευχθεί μείωση μεγέθους και περισσότερο ομοιόμορφη κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων. Όλα τα στερεά μίγματα μετά την παρασκευή τους φυλάχθηκαν σε ξηραντήρα προστατευμένα από το φως σε αδιαφανείς περιέκτες. Όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία η ρισπεριδόνη είναι φωτοευαίσθητη, υφίσταται διάσπαση κατά την έκθεση της στο φως, και απαιτείται προστασία της σε κατάλληλους περιέκτες. Η παρασκευή των στερεών μιγμάτων με διάφορες τεχνικές είχε ως σκοπό τον προσδιορισμό της συγκεκριμένης τεχνικής/-ών με τις οποίες σχηματίζεται σύμπλοκο έγκλεισης ανάμεσα στην ρισπεριδόνη και τις κυκλοδεξτρίνες που αναφέρονται στον Πίνακα Π1.

**Ακολουθεί το κείμενο για μορφοποίηση**

# Γ.1. Μέθοδοι παρασκευής

*Α) Παρασκευή φυσικών μιγμάτων (physical mixtures)*

Έγινε σταδιακή ανάμιξη επακριβώς ζυγισθέντων ισομοριακών ποσοτήτων κυκλοδεξτρίνης και ρισπεριδόνης μέσα σε αχάτινο ιγδίο υπό συνεχή ξηρή λειοτρίβηση του μίγματος. Αφού παρασκευάσθηκαν ομογενή φυσικά μίγματα, ακολούθως αυτά φυλάχθηκαν προστατευμένα από το φώς σε ξηραντήρα.

*Β) Παρασκευή μιγμάτων με την μέθοδο της πάστας (kneading or paste method)*

*Ορισμένη ποσότητα κυκλοδεξτρίνης τοποθετήθηκε σε ιγδίο πορσελάνης, ακολούθως προστέθηκε μικρή ποσότητα υδατικού διαλύματος αιθυλικής αλκοόλης (αναλογία όγκων 1:1) και το περίπου υδαρές στερεό λειοτριβήθηκε έως ότου εξατμίσθηκε ο διαλύτης. Ακολούθως προστέθηκε μικρή ποσότητα ρισπεριδόνης, μερικές σταγόνες του παραπάνω διαλύματος και έγινε νέα λειοτρίβηση έως ότου εξατμίσθηκε ο διαλύτης. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε μέχρι να προστεθεί όλη η ποσότητα της ρισπεριδόνης. Ακολούθησε νέα προσθήκη διαλύτη και νέου λειοτρίβηση μέχρι να δημιουργηθεί λευκή παχύρρευστη μάζα. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε τρεις φορές για ολόκληρη την ποσότητα του μίγματος. Τα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν για ξήρανση σε φούρνο στους 50°C για 24 ώρες και στη συνέχεια φυλάχθηκαν προστατευμένα από το φώς σε ξηραντήρα.*

*Γ) Παρασκευή λυοφιλοποιημένων συμπλόκων (freeze drying)*

Σε υδατικό διάλυμα της κυκλοδεξτρίνης όγκου 5ml και συγκέντρωσης 100mM προστέθηκε ποσότητα στερεής ρισπεριδόνης. Το παραχθέν εναιώρημα τοποθετήθηκε για 5 λεπτά σε λουτρό υπερήχων και αφέθηκε υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου, προστατευμένο από το φως, για 48 ώρες. Ακολούθως, η στερεή ρισπεριδόνη που δεν διαλύθηκε απομακρύνθηκε με διήθηση διαμέσου ηθμού μεμβράνης 0.45μm, και το διήθημα λυοφιλοποιήθηκε για δύο μέρες μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του ύδατος και την παραγωγή λευκού στερεού υπολείμματος. Στη συνέχεια, λειοτριβήθηκε μέχρι την παραγωγή λευκής κόνεως και φυλάχθηκαν προστατευμένα από το φώς σε ξηραντήρα.

*Δ) Παρασκευή στερεών με την μέθοδο της συγκαταβύθισης ή συνεξάτμισης (co-precipitation or co-evaporation)*

Ίσοι όγκοι ισομοριακών διαλυμάτων ρισπεριδόνης και κυκλοδεξτρίνης σε μεθανόλη αναμίχθηκαν σε σφαιρική φιάλη και αναδεύθηκαν για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως το διάλυμα τοποθετήθηκε σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα (rotary evaporator). Εφαρμόσθηκε κενό και το διάλυμα θερμάνθηκε σε θερμοκρασία 40°C μέχρι την πλήρη εξάτμιση του διαλύτη. *Στην συνέχεια το στερεό τοποθετήθηκε σε ξηραντήρα μέχρι την επίτευξη σταθερού βάρους. Ακολούθως το στερεό απομακρύνθηκε από την υάλινη σφαιρική φιάλη, και λειοτριβήθηκε (ξηρή λειοτρίβηση) σε αχάτινο ιγδίο μέχρι να δημιουργηθεί λευκή κόνις με περίπου ομοιόμορφο μέγεθος σωματιδίων. Με αυτή την τεχνική εκτός από διαλύτη μεθανόλη, παρασκευάσθηκαν και ορισμένα μίγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης απόλυτη αιθανόλη, μίγμα νερού-μεθανόλης και μίγμα νερού-αιθανόλης με αναλογία όγκων 1:1.*

***Γ.2. Ανάλυση στερεών μιγμάτων κυκλοδεξτρινών με ρισπεριδόνη***

##### Α) Χαρακτηρισμός και ταυτοποίηση των στερεών μιγμάτων

*Για τον χαρακτηρισμό των στερεών μιγμάτων της ρισπεριδόνης με τις κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω τεχνικές ανάλυσης:*

*Α1) Περίθλαση ακτίνων-Χ (Χ-RD)*

Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων-Χ (ΧRD) ελήφθησαν στις συσκευές περίθλασης ακτίνων-Χ α) Philips XRD PW 1840/30 και β) Bruker D8Advance κάτω από τις ακόλουθες συνθήκες: φίλτρο Ni, δυναμικό 40 kV, ένταση ρεύματος 30 mA, σταθερά χρόνου 2sec. Τα φάσματα ελήφθησαν στην περιοχή γωνιών 2Θ από 10° έως 50° και η ταχύτητα σάρωσης ήταν 1°/λεπτό. Εκτός από τα φάσματα των μιγμάτων που παρασκευάσθηκαν με τις παραπάνω τεχνικές ελήφθησαν και τα φάσματα XRD των καθαρών συστατικών : ρισπεριδόνης και των κυκλοδεξτρινών που αναφέρονται στον Πίνακα Π1.

***Α2) Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC)***

Χρησιμοποιήθηκε το διαφορικής σάρωσης θερμιδόμετρο Q100 της εταιρίας TA Instruments, εξοπλισμένο με σύστημα ψύξης ελεγχόμενο με παροχή υγρού αζώτου. Τα δείγματα ζυγίστηκαν με ακρίβεια (2-5mg) και τοποθετήθηκαν σε κατάλληλους αλουμινένιους περιέκτες όπου και κλείσθηκαν ερμητικά με την βοήθεια κατάλληλης συσκευής. Ο ρυθμός θέρμανσης των δειγμάτων ήταν 10°C ανά λεπτό και η περιοχή των θερμοκρασιών που μελετήθηκε ήταν από 20 έως 200°C με παροχή αερίου αζώτου 25 ml/min για την δημιουργία αδρανούς ατμόσφαιρας στο κελίο μέτρησης. Εκτός από τα θερμογραφήματα των μιγμάτων που παρασκευάσθηκαν με τις παραπάνω τεχνικές ελήφθησαν και τα θερμογραφήματα των καθαρών συστατικών : ρισπεριδόνης και των κυκλοδεξτρινών που αναφέρονται στον Πίνακα 9. Η μέγιστη θερμοκρασία σάρωσης καθορίσθηκε στους 200°C διότι το σημείο τήξεως της καθαρής ρισπεριδόνης είναι στους 167°C ενώ σε θερμοκρασία πάνω από τους 250°C, το σύνολο των κυκλοδεξτρινών τήκεται με ταυτόχρονη διάσπαση των. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι η Methyl-β-Cyclodextrin έχει σημαντικά χαμηλότερο σημείο, σε σύγκριση με τις υπόλοιπες κυκλοδεξτρίνες διότι τήκεται με ταυτόχρονη διάσπαση στους 180°C.

*Α3) Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM)*

Η μορφολογία των στερεών συμπλόκων εξετάστηκε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) (Zeiss SUPRA 35VP)***.*** Κάθε δείγμα στερεώθηκε σε ειδικές αλουμινένιες κυλινδρικές θήκες (Sigma) με διπλής όψεως κολλητική ταινία και στην συνέχεια επικαλύφθηκαν με χρυσό υπό κενό σε συσκευή επιμετάλλωσης SCD-004 (BAL-TEC). Επιπλέον, εξετάσθηκαν προς σύγκριση οι μορφολογίες της καθαρής ρισπεριδόνης και των κυκλοδεξτρινών.

##### Α4) Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (ΝΜR)

Με την τεχνική αυτή μελετήθηκε η αλληλεπίδραση της ρισπεριδόνης με την β-κυκλοδεξτρίνη σε διάλυμα. Τα φάσματα 1H-NMR ελήφθησαν από φασματοφωτόμετρο Brüker NMR 400 MHz DPX Avance. Τα φάσματα των καθαρών συστατικών (ρισπεριδόνη, β-κυκλοδεξτρίνη) καθώς και του ισομοριακού μίγματος ρισπεριδόνης/β-κυκλοδεξτρίνης ελήφθησαν σε δευτεριωμένο οργανικό διαλύτη d6-DMSO με εσωτερικό πρότυπο αναφοράς TMS (trimethylsilane). Χρησιμοποιήθηκε d6-DMSO εξαιτίας της περιορισμένης διαλυτότητας της ρισπεριδόνης σε δευτεριωμένο νερό (D2O). Αντίθετα, οι κυκλοδεξτρίνες διαλύονται εύκολα και στο d6-DMSO καθώς και στο D2O. Το εσωτερικό πρότυπο αναφοράς είναι απαραίτητο για τον επακριβή προσδιορισμό των χημικών μετατοπίσεων των κορυφών της ρισπεριδόνης και των κυκλοδεξτρινών. Με την τεχνική αυτή, γίνεται προσπάθεια να προσδιορισθεί ποιο τμήμα του μορίου της ρισπεριδόνης εισέρχεται στην υδρόφοβη κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Δυστυχώς, η πλειονότητα των μορίων που συμπλοκοποιούνται με τις κυκλοδεξτρίνες έχουν μεγάλο μέγεθος και δεν μπορούν να εισέλθουν ολόκληρα στην υδρόφοβη κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών. Από την άλλη πλευρά, είναι δυνατόν η μερική είσοδος των στην υδρόφοβη κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών να οδηγήσεις στον σχηματισμό ευδιάλυτου συμπλόκου και να αυξήσει έτσι την διαλυτότητα της δυσδιάλυτης βιοδραστικής ένωσης. Αυτό συμβαίνει και στην ρισπεριδόνη όπου υπάρχουν δύο προτεινόμενες διαμορφώσεις, οι οποίες και περιγράφονται παρακάτω στα αποτελέσματα, και με την τεχνική NMR γίνεται προσπάθεια να προσδιορισθεί ποια από τις δύο αυτές διαμορφώσεις είναι η κυρίαρχη κατά τον σχηματισμό του συμπλόκου της ρισπεριδόνης με τις κυκλοδεξτρίνες.