

**Szerkezet–retenció összefüggések tanulmányozása
nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás rendszerekben királis
állófázisok alkalmazásával**

akadémiai doktori értekezés tézisei

Ilisz István

**Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék**

**Szeged
2018**

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	1
2.	Célkitűzés.....	1
3.	Alkalmazott anyagok és módszerek.....	2
4.	Új tudományos eredmények.....	3
5.	Az eredmények hasznosításának lehetőségei.....	8
6.	Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények.....	9
7.	Tudományometriai adatok.....	12

1. Bevezetés

A kiralitás jelensége különösen fontos szerepet játszik a földünkön kialakult életben. A molekuláris szintű aszimmetria a biológiai jelentőséggel rendelkező természetes molekulák igen jelentős hányadánál megjelenik. Ezen molekulák és a belőlük felépülő komplex rendszerek az élőszervezetekben fontos élettani szerepet töltenek be. Ezt a szerepet felismerve a gyógyszeripar már évtizedek óta fejleszt olyan királis molekulákat, amelyek valamilyen pozitív élettani hatással rendelkeznek. Bármilyen úton is történik a királis molekula előállítása, a királis tisztaság ellenőrzése elengedhetetlen feladat. Számos kedvező tulajdonsága miatt napjainkban erre a célra a királis állófázisok alkalmazására épülő nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia az egyik legjobb választás.

A királis állófázisok az elmúlt két évtized során jelentős fejlődésen mentek keresztül. Az egyértelműen kijelenthető, hogy a kezdeti nehézségeket követően a folyamatos fejlesztéseknek köszönhetően mára robusztus, sok esetben multimodális, széles körben alkalmazható állófázisok érhetők el, melyek jól reprodukálható eredményeket szolgáltatnak. Az értekezésemben három állófázis típus, az ioncserélő, a makrociklusos glikopeptid és a poliszacharid alapú állófázisokkal kapott eredményeinket mutatom be. Az értekezés nagyobb részét az ioncserélő állófázisok tanulmányozása során kapott eredményeink képezik. A HPLC oszlopok fejlesztésében az utóbbi néhány évben előtérbe került az ortogonalitás fogalma, egyre nagyobb felhasználói igény fogalmazódik meg a fordított fázisú oszlopok szelektivitásától eltérő szelektivitással rendelkező állófázisok fejlesztésére. Az ioncsere mechanizmusán alapuló állófázisok kiváló lehetőséget biztosítanak ezen igény kielégítésére. A makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok szerkezeti változatossága ideális alapot kínál az eltérő szelektivitás nyújtotta szélesebb körű alkalmazásokhoz. Az oszlopok multimodális jellege, kiemelkedő stabilitása és komplementer tulajdonságai biztosítják ezen állófázisok szélesebb körű elterjedéséhez szükséges hátteret. Az előbbiekben említett állófázisok kiváló lehetőséget biztosítanak ionos (vagy ionizálható) sztereoizomerek elválasztására. Sok esetben azonban az elválasztandó enantiomerek nem tartalmaznak ionizálható funkciós csoportot, így fontos, hogy olyan állófázisok is rendelkezésre álljanak, amelyek semleges vegyületek analizálására is alkalmazhatók. Ilyenek például a poliszacharid alapú állófázisok, amelyek napjainkban a legszélesebb körben alkalmazott oszlopokat képviselik.

2. Célkitűzés

Az elmúlt két évtized közleményei jelentősen gazdagították a királis elválasztások irodalmát, a felhalmozott adatok értelmezése azonban sokszor nem egyértelmű. A királis felismerés folyamatának mélyebb megismerése elengedhetetlenül szükséges az enantioszelektív elválasztások tervezéséhez, új állófázisok kialakításához. A kutatómunkánk során tanulmányozott vegyületek változatos szerkezettel rendelkeznek, de minden esetben átgondoltan úgy épülnek fel, hogy a biológiai hatás és a molekulaszerkezet közötti kapcsolatok felderíthetők legyenek. Ez a szerkezeti változatosság kiváló lehetőséget teremt a szerkezet és a retenciós tulajdonságok közötti összefüggések elemzésére. Ennek megfelelően munkánk során az alábbi főbb célokat fogalmaztuk meg:

1. potenciális farmakonok, mint modellvegyületek vizsgálatával az enantioszelektív elválasztás során alkalmazható királis szelektorok feltérképezése,
2. a modellvegyületek kromatográfiás paramétereinek meghatározásán keresztül az eluensösszetétel és a különféle adalékok minősége és mennyisége elválasztásra gyakorolt hatásának értelmezése,
3. jelentős szerkezeti analógiát mutató vegyületek segítségével a szerkezeti jellemzők változtatásával járó hatások tanulmányozása, a szerkezet királis felismerésre gyakorolt hatásának értelmezése,

4. a hőmérséklet kromatográfiás paraméterekre gyakorolt hatásának tanulmányozása, termodinamikai paraméterek meghatározása, az elválasztási folyamatokban tapasztalt azonosságok és különbségek termodinamikai értelmezése,
5. az elválasztás lehetséges mechanizmusának feltérképezése.

3. Alkalmazott anyagok és módszerek

A vizsgált molekulák túlnyomórészt szintetikus anyagok, melyek együttműködő partnereink laboratóriumaiban készültek. Méréseink során HPLC tisztaságú oldószereket és nagytisztaságú vizet használtunk. A vizsgált állófázisok három családba sorolhatók:

- ioncserélő kolonnák: kationcserélő *DCL-RR* és *DCL-SS*, kinin és kinidin alapú anioncserélők *Chiralpak QN-AX* és *QD-AX*, és ikerionos *ZWIX(+)*, *ZWIX(-)*, *ZWIX(+A)* és *ZWIX(-A)*,
- makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák: *Chirobiotic T*, *T2*, *TAG*, *V*, *VAG* és *R*,
- poliszacharid alapú kolonnák: *Kromasil CelluCoat*, *Kromasil AmyCoat*, *Chiralcel OD-H*, *Lux Cellulose-1*, *Lux Cellulose-2*, *Lux Cellulose-3*, *Lux Cellulose-4*, *Lux Amylose-1* és *Lux Amylose-2*.

Méréseink során három HPLC rendszert alkalmaztunk:

- Az I. rendszer Waters 1525 bináris HPLC pumpából, Waters kolonnatermosztátból, Waters 2487 kétcsatornás UV-Vis detektorból, 717 plus automataadagolóból és Waters Breeze Data Manager illetve Empower 2 adatfeldolgozó programból áll.
- A II. rendszert Waters M-600 gradiens HPLC pumpa, Waters M-2996 fotodiódasoros detektor, Waters Millenium 32 Chromatography Manager illetve Empower 2 adatfeldolgozó program és Spark Mistral kolonnatermosztát alkotja.
- A III. rendszer egy 1100 sorozatszámú Agilent HPLC, amely oldószer gázmentesítőből, pumpából, automata mintaadagolóból, kolonnatermosztátból, egy ötcsatornás UV-Vis-detektorból és egy ESA Biosciences Inc. koronakisülési detektorból (Corona CAD) épül fel. Az adatok gyűjtéséhez és értékeléséhez ChemStation adatfeldolgozó programot használtunk.

4. Új tudományos eredmények

4.1. A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra

A szerkezet-retenció közötti összefüggések felderítése során ioncserélő tulajdonságú, makrociklusos antibiotikum és poliszacharid alapú állófázisokat alkalmaztunk. Ezen vizsgálatok minden esetben kiindulópontot jelentettek az optimális kromatográfiás körülmények meghatározására. Valamennyi rendszernél tanulmányoztuk a mozgófázist alkotó összetevők hatását a kromatográfiás jellemzőkre [E1–E36]. Kapott eredményeink mindhárom tanulmányozott oszlopcsaládnál sok esetben megerősítették a korábban közölt megfigyeléseket.

Az eluens növekvő MeCN-tartalmával az ikerionos (ZWIX(+)) és ZWIX(–)) állófázisokon minden általunk vizsgált vegyületre növekvő visszatartást kaptunk [E1–E14, E16, E17]. Új eredményként az ioncserélő állófázisokon kapott, korábban közlöttől eltérő retenciós viselkedés értelmezését fogalmazom meg.

4.1.1. Anioncserélő (QN-AX [E15] és QD-AX [E17]) állófázisokon Fmoc és más védőcsoporttal rendelkező α -aminosavak esetén a MeCN-tartalom növekedésével tapasztalt csökkenő retenciót az ikerionos és az anionos szelektorok eltérő solvatációjával értelmeztük.

4.1.2. Az anionos vegyületekre ikerionos állófázisokon az anioncserélő állófázisokon észlelthez képesti kisebb retenciót az ikerionos állófázisok kationcserélő funkciós csoportjainak taszító hatásával értelmeztük. Megállapítottuk, hogy a negatív töltésű funkciós csoportok számottevő taszító hatást gyakorolnak az elválasztandó anionos vegyületekre, így csökkentve azok visszatartását.

4.2. Analitikai meghatározás kidolgozása N-védett α -aminosavak sztereokémiai tisztaságának meghatározására

4.2.1. Kisebbs mint 0,01% szennyezés kimutatására képes módszert fejlesztettünk N-Fmoc-védett α -aminosavak sztereokémiai tisztaságának meghatározására. Bizonyítottuk, hogy az anioncserélő tulajdonságú kinin és kinidin alapú állófázisok kiváló választás a védett aminosavak (izomer)tisztaságának ellenőrzésére. A kinin és kinidin alapú állófázisok pszeudoenantiomer jellegét kihasználva az állófázisok cseréjével biztosítani tudtuk, hogy a kisebb mennyiségben jelenlevő (szennyező) enantiomer eluálódjon elsőként. Módszerünkkel 0,01%-nál kisebb mennyiségben jelenlevő izomer szennyezést egyértelműen azonosítani lehet UV-detektálás segítségével [E15]. A kidolgozott módszert részlegesen validáltuk.

4.3. A szerkezet-retenciós tulajdonságok összefüggései Kvalitatív összefüggések

Az alifás lánc és az aromás gyűrű hatása közötti különbségek

Az alapján, hogy a modellvegyület alifás illetve aromás szubsztituenst tartalmazott, jelentős különbséget tapasztaltunk a vizsgált három állófázis-család képviselői között.

4.3.1. Ikerionos ZWIX(+)) állófázison a nagyobb térkitöltésű, merevebb szerkezetű aromás gyűrűt tartalmazó β^2 -aminosavak alifás vegyületekhez képesti számottevően nagyobb retencióját a szelektor kinolingyűrűje és az aromás rendszerek között kialakuló π - π kölcsönhatásokkal értelmeztük [E1].

4.3.2. Megállapítottuk, hogy a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon az alifás és az aromás szubsztituens tartalmazó vegyületek ugyanazon az állófázison meghatározott visszatartásában nincs jelentős különbség [E22]. Az aromás szubsztituens tartalmazó aminosavaknál észlelt nagyobb enantioszelektivitást és felbontást a π - π kölcsönhatások és a sztérikus hatások kialakulásával értelmeztük.

4.3.3. Megállapítottuk, hogy a poliszacharid alapú állófázisok enantiomerfelismerő-képességét számottevően javíthatják a kialakuló π - π kölcsönhatások. Poliszacharid alapú állófázisoknál naftol analógok vizsgálata során az aromás gyűrűvel és az alifás oldallánccal rendelkező szubsztituenseket összehasonlítva a retenciók között nem észleltünk jelentős különbséget, ellenben az enantioszelektivitások lényegesen nagyobbak az aromás gyűrűt tartalmazó szubsztituensek esetén [E29].

Elektronküldő és elektronvonzó szubsztituensek hatása

Tapasztalataink szerint a modellvegyület aromás gyűrűjén elhelyezkedő elektronküldő és elektronvonzó szubsztituensek eltérő hatással lehetnek a retencióra és az enantioszelektivitásra.

4.3.4. Az elektronvonzó fluor- és klórtartamú vegyületeknél ikerionos ZWIX(+) és ZWIX(-) állófázisokon β^3 -aminosavak esetén mindkét kromatográfiás módban (PI, HO) a legtöbb esetben tapasztalt kissé nagyobb visszatartást és szelektivitást a H-híd kölcsönhatások előtérbe kerülésével értelmeztük [E10]. Az elektronküldő metilcsoport nem okozott számottevő változást a kromatográfiás adatok értékében.

4.3.5. Makrociklusos antibiotikum alapú Chirobiotic T és TAG oszlopokon β -laktámok fordított fázisú körülmények közötti vizsgálata során megállapítottuk, hogy az aromás gyűrűn végrehajtott CH_3 -, Cl- vagy Br-szubsztitúció mindkét állófázison növelte a retenciót és kismértékben az enantioszelektivitást a szubsztituens elektronvonzó, illetve elektronküldő jellegétől függetlenül [E18].

4.3.6. Cellulóz alapú Chiralcel OD-H és CelluCoat kolonnáknál naftol analógok esetén, az aromás gyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek hatását vizsgáltuk és értelmeztük. Megállapítottuk, hogy az elektronküldő metilcsoport alig fejtett ki hatást a visszatartásra, de markánsan csökkentette az enantioszelektivitást [E29]. A metoxycsoport jelenléte jelentősen növelte a retenciót, de csökkentette az állófázisok enantiomerfelismerő-képességét. Az elektronvonzó halogénszubsztituensek $\text{F} < \text{Cl} < \text{Br}$ sorrendben növelték ugyan a visszatartást, vélhetően a vegyületek π -sav jellegének változásán keresztül, de ezzel párhuzamosan az enantiomerfelismerő-képesség csökkent. A leginkább π -savas karaktert eredményező nitrocsoport jelenléte erősen megnövelte a visszatartást és csökkentette az enantioszelektivitást.

β -Laktám gyűrű tagszámának hatása

4.3.7. β -Laktámok enantiomereinek amilóz és cellulóz alapú állófázisokon történő elválasztása során összefüggést tártunk fel a laktámgyűrűhöz kapcsolódó gyűrű mérete és a retenciós tulajdonságok között [E31]. A gyűrű méretének növekedése sztérikus hatásokon keresztül egy ideig (hét szénatomig) segítette az amilóz- és cellulóz-trisz-(3,5-dimetil-fenilkarbamát) szelektorokkal kialakuló visszatartásért felelős

kölcsönhatásokat. A gyűrű méretének enantioszelektív kölcsönhatásokra kifejtett hatása erősen függött az alkalmazott körülményektől.

Kvantitatív összefüggések az alkilszubsztituensek mérete és a retenciós viselkedés között

Az alkilszubsztituensek hatásának mélyebb megértése érdekében tanulmányoztuk a Meyer-paraméter és a kromatográfiás jellemzők összefüggését.

4.3.8. β -Aminosavak esetén ikerionos állófázisok, míg aminonaftol analógok esetén Chiralcel OD-H és CelluCoat kolonnák alkalmazásával megfelelő jósággal leírható lineáris kapcsolatot találtunk az alkilszubsztituens mérete és a retenciós tényező, illetve a szelektivitás között [E7, E10, E29]. Megállapítottuk, hogy a nagyobb térkitöltésű szubsztituens csökkenti a visszatartást és növeli a vizsgált állófázisok enantiomerfelismerő-képességét.

4.4. Az elúciós sorrend alakulására vonatkozó eredmények

Az elúciós sorrend megállapításának kiemelkedő fontossága van a sztereoizomerek elválasztásában; mind a minőségi azonosítás, mind a mennyiségi meghatározás megbízhatósága jelentősen függ attól, hogy a kisebb mennyiségben jelenlévő szennyező a főkomponens előtt vagy után eluálódik. A makrociklusos antibiotikum, illetve a poliszacharid alapú állófázisokon az elúciós sorrend nem jósolható. Ezzel ellentétben a pszeudoenantiomer viszonyban álló kinin és kinidin alapú ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál az elúciós sorrend megfordul. Elsők között világítottunk rá és szolgáltunk bizonyítékkal a várttól eltérő elúciós sorrendre.

4.4.1. A két alegységből felépülő (kinin vagy kinidin és aminociklohexán-szulfonsav) alapú szelektoroknál a szelektort felépítő alegységek retenciós sorrendre kifejtett hatását vizsgálva megállapítottuk, hogy a vizsgált β -aminosavaknál a kationcserélő funkciós csoport konfigurációja a meghatározó az enantiomerek elúciós sorrendjének szempontjából [E14].

4.4.2. Aminocsoporton metilezett enantiomerek elúciós sorrendjét a nem metilezett aminosavak enantiomereinek sorrendjével összevetve megállapítottuk, hogy egyetlen kivételtől eltekintve a metilálás mindegyik vizsgált állófázis esetén fordított elúciós sorrendet eredményezett. A metilcsoport beépítése révén változik a molekula térkitöltése, H-híd kialakító képessége és az ioncsere folyamatokban fontos szerepet betöltő bázikus karaktere. A kölcsönhatások módosulása révén megváltozhat a szelektorral kialakított diasztereomer komplex stabilitása, illetve képződési sebessége, végső soron megfordulhat az enantiomerek elúciós sorrendje.

4.4.3. Megállapítottuk, hogy az ikerionos szelektorokat felépítő egyes funkciós csoportok királis felismerésben betöltött szerepe erősen függ az elválasztandó vegyületek szerkezetétől és az alkalmazott körülményektől, így a kialakuló elúciós sorrend a két irányító csoport együttes hatásán keresztül valósul meg. Mivel a kromatográfiás körülmények változtatása nem feltétlenül egyenlő mértékben érinti a felismerés szempontjából meghatározó csoportokat, így a felismerés folyamatában betöltött szerepük és jelentőségük változhat az alkalmazott körülményekkel. Az enantiomerek egyedi azonosítása kinin és kinidin alapú állófázisok esetén sem kerülhető el.

4.5. Igazoltuk az ionos kölcsönhatás elválasztási mechanizmusban betöltött szerepét

Az ioncserén alapuló retenciós viselkedés jellemzésére a sztöchiometrikus helyettesítési modellt alkalmaztuk. Mind kation-, mind anioncserélők, mind ikerionos állófázisok esetén vizsgáltuk a modell alkalmazhatóságát a lejátszódó folyamatok leírására. Összességében megállapítottuk, hogy a sztöchiometrikus helyettesítési modellnek megfelelően az $\lg k_1 - \lg C_{\text{ellenion}}$ függvények meredeksége attól függően változik, hogy a szelektor monoionos vagy ikerionos módban működik.

4.5.1. Erős kationcserélő állófázisokon (DCL-RR és DCL-SS) β -karbolin analógok esetén megállapítottuk, hogy az elsőként eluálódó izomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmusa lineárisan csökken az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusával. A vizsgált modellvegyületeknél az egyenesek meredekségének abszolút értéke mindkét erős kationcserélő állófázison egy körül alakult (1,00–1,04), ami kiválóan egyezik a sztöchiometrikus helyettesítési modell által az effektív töltésre jósolt 1-gyel [E13].

4.5.2. Monoionos módban működő anioncserélő (QN-AX és QD-AX) állófázisokon ugyan abszolút értékben kisebb (0,7 körüli) meredekséggel, de szintén lineáris kapcsolatot találtunk az $\lg k_1 - \lg C_{\text{ellenion}}$ függvényre α -aminosavak Fmoc-származékainál [E15]. A kisebb meredekséget a védőcsoporttal ellátott modellvegyületek nagyobb apolaritásával értelmeztük.

4.5.3. Jellegzetes különbséget tártunk fel ikerionos (ZWIX(+)) és ZWIX(–) állófázisok viselkedésében monoionos, illetve ikerionos módban alkalmazva azokat. Aminohidroxámsavak, mint modellvegyületek alkalmazásával monoionos módban vizsgálva [E12] az $\lg k_1 - \lg C_{\text{ellenion}}$ függvények meredeksége abszolút értékben kifejezve ZWIX(+) kolonna esetén 0,7–0,8, míg ZWIX(–) oszlopnál 0,5–0,6 volt. Az ikerionos oszlopokat ikerionos módban, azaz ikerionos vegyületek elválasztására alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy ZWIX(+) és ZWIX(–) oszlopokon β^3 -aminosavaknál abszolút értékben 0,21–0,29 tartományban [E10], ZWIX(+), ZWIX(–), ZWIX(+A) és ZWIX(–A) oszlopokon ciklusos β -aminosavaknál 0,20–0,34 tartományban [E14] változtak a meredekségek, ami jellegzetes különbséget mutat az ikerionos és a monoionos ioncserélő állófázisok között.

4.5.4. Megállapítottuk, hogy vizsgált rendszereinkben az egyes enantiomerek az ellenionok koncentrációjának változására egyformán reagálnak, az enantiomerek viselkedésében (az enantioszelektivitásban) nincs jelentős különbség az ioncsere folyamatában. A vizsgált ikerionos állófázisok karakterisztikus jellemzője, hogy a retenciós tulajdonságokat hangolni lehet az ellenion koncentrációjának változtatásával anélkül, hogy a szelektivitás számottevően megváltozna.

4.5.5. Makrociklusos glikopeptid alapú állófázison a sztöchiometrikus helyettesítési modell alkalmazásával elsőként igazoltuk, hogy az ioncsere folyamat is része az elválasztás mechanizmusának [E28]. Az $\lg k_1 - \lg C_{\text{ellenion}}$ függvény meredeksége alapján megállapítottuk, hogy a teikoplanin alapú szelektor az ikerionos állófázisokhoz hasonlóan viselkedik β -aminosavak elválasztása során.

4.6. Termodinamikai összefüggések

A hőmérséklet meglehetősen összetett módon képes befolyásolni a királis elválasztásokat, a retenciós tulajdonságok és az enantioszelektivitás akár egy, akár különböző irányba is változhat. Elsőként rendszereztük a hőmérséklet növekedésével tapasztalt – elméletileg lehetséges – négyféle viselkedést,

- k_1 csökken, α csökken (tipikus viselkedés)
- k_1 csökken, α nő
- k_1 nő, α csökken
- k_1 nő, α nő

amit az tett lehetővé, hogy a szokásostól eltérő valamennyi viselkedésre (még a korábban nem ismert k_1 nő, α csökken esetére is) tudtunk példát bemutatni.

Új eredményként az alábbiakat fogalmazom meg.

4.6.1. A meglehetősen szokatlan – az irodalomban tudomásom szerint korábban csak egyszer említett (*I. Matarashvili és mtsai, J. Sep. Sci., 36 (2013) 140*), de nem értelmezett – a növekvő hőmérséklettel növekvő visszatartásra és növekvő enantioszelektivitásra találtunk több példát ikerionos ZWIX(–) kolonnán, monoterpénvázas, ciklusos β -aminosavak néhány képviselőjénél MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerben [E3], illetve egy biciklusos β -aminosav esetén MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerben [E4]. A termodinamikai számítások során a szokatlan viselkedést mutató enantiomerpárokra kaptuk a legnagyobb $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket. A jelenséget a szolvatációs folyamatok, illetve az átmeneti komplex szerkezetének eltérő hőmérsékletfüggésével értelmeztük.

4.6.2. Új típusú viselkedést találtunk szekunder α -aminosavaknál ZWIX(–) oszlopon MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és DEA (25 mM) eluensrendszerben; a hőmérséklet növekedésével valamennyi vizsgált vegyületnél növekvő visszatartást és csökkenő szelektivitást tapasztaltunk [E5]. A megfigyelt viselkedést a kinuklidinyűrűvel kialakult erősödő ionos kölcsönhatással értelmeztük. Ezt támasztották alá a számolt negatívabb $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékek is. Ehhez hasonló viselkedést tapasztaltunk 1,2,3,4-tetrahidroizokinolinszármazékoknál ikerionos ZWIX(+) és ZWIX(–) kolonnákon [E6]. A kinin és kinidin alapú szelektorokon kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy az enantiomerek felismerése szempontjából pszeudoenantiomer viselkedést mutató állófázisok a hőmérséklet változására eltérően reagálnak.

4.6.3. Az irodalomban nagyon ritkán említett, mind a legkisebb, mind a legnagyobb hőmérsékleten alapvonal elválasztást megközelítő, illetve meghaladó felbontással jellemezhető elúciós sorrend megváltozására mutattunk be példákat. Egy izoxazolingyűrűvel kondenzált β -aminosav enantiomerpár esetén 5–20 °C hőmérséklettartományban az elúciós sorrend megfordulásáról számoltunk be ZWIX(–) oszlopon MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) mozgófázist alkalmazva. *Lux Cellulose-1* oszlopon egy 2-naftol analóg esetén *n*-heptán/IPA/DEA (98/2/0,1 v/v/v) mozgófázist alkalmazva 10–40 °C hőmérséklettartományban tapasztaltunk hasonló viselkedést. Termodinamikai számításokkal több esetben meghatároztuk az izoeluotróp hőmérsékletet. Ez a vizsgált vegyületek többségénél – az

irodalmi tapasztalatokkal megegyezően – a HPLC-ben rutinszerűen alkalmazott hőmérséklettartományon kívül esett.

5. Az eredmények hasznosításának lehetőségei

A gyógyszeripar az utóbbi években folyamatosan növekvő igényt támaszt királis bioaktív vegyületek szintézisére. A királis tisztaság biztosítása és ellenőrzése alapvető igényként jelenik meg. A kutatómunkánk során kidolgozott eljárások ennek megfelelően gyakorlati szempontból is jelentősek. Az igen eltérő tulajdonságú modellvegyületek enantiomereinek elválasztása alapul szolgálhat hasonló szerkezeti sajátosságokkal rendelkező farmakonok enantioszelektív elválasztására.

Eredményeinket hasznosítva lehetőség nyílik gyógyszerkémiai és biológiai jelentőséggel rendelkező királisan tiszta vegyületek élő szervezetekben kifejtett hatásának tanulmányozására, célzott hatású készítmények kifejlesztésére. A szerkezet és a retenciós sajátosságok közötti összefüggések felderítése alapkutatásnak tekinthető, de egyben tudományos alapot biztosít a folyadékkromatográfiás királis állófázisok alkalmazási körének bővítéséhez, új típusú állófázisok tervezéséhez. Az általunk kidolgozott új, közvetlen nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározások alkalmasak az enantiomerek elválasztására, módszereink alapul szolgálhatnak különféle hatóanyagok királis tisztaságának ellenőrzésére, preparatív elválasztások kidolgozására.

6. Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények

- E1. **I. Ilisz**, N. Grecsó, A. Aranyi, P. Suchotin, D. Tymecka, B. Wilenska, A. Misicka, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Enantioseparation of β^2 -amino acids on *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases. Structural and temperature effects. *Journal of Chromatography A*, 1334 (2014) 44.
- E2. Z. Pataj, **I. Ilisz**, Z. Gecse, Z. Szakonyi, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Effect of mobile phase composition on the liquid chromatographic enantioseparation of bulky monoterpene-based β -amino acids applying chiral stationary phases based on *Cinchona* alkaloid. *Journal of Separation Sciences*, 37 (2014) 1075.
- E3. **I. Ilisz**, Z. Pataj, Z. Gecse, Z. Szakonyi, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Unusual temperature-induced retention behavior of constrained β -amino acid enantiomers on the zwitterionic chiral stationary phases ZWIX(+)TM and ZWIX(-)TM. *Chirality*, 26 (2014) 385.
- E4. **I. Ilisz**, N. Grecsó, M. Palkó, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Structural and temperature effects on enantiomer separations of bicyclo[2.2.2]octane-based 3-amino-2-carboxylic acids on *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 98 (2014) 130.
- E5. **I. Ilisz**, Z. Gecse, Z. Pataj, F. Fülöp, G. Tóth, W. Lindner, A. Péter, Direct high-performance liquid chromatographic enantioseparation of secondary amino acids on *Cinchona* alkaloid-based chiral zwitterionic stationary phases. Unusual temperature behavior. *Journal of Chromatography A*, 1363 (2014) 169.
- E6. **I. Ilisz**, N. Grecsó, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of cationic 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline analogs on *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407 (2015) 961.
- E7. **I. Ilisz**, N. Grecsó, A. Misicka, D. Tymecka, L. Lázár, W. Lindner, A. Péter, Comparison of separation performances of *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic stationary phases in the enantioseparation of β^2 - and β^3 -amino acids. *Molecules*, 20 (2015) 70.
- E8. **I. Ilisz**, Z. Gecse, G. Lajkó, M. Nonn, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Investigation of the structure-selectivity relationships and van't Hoff analysis of chromatographic stereoisomer separations of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on *Cinchona* alkaloid-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1384 (2015) 67.
- E9. **I. Ilisz**, Z. Gecse, G. Lajkó, E. Forró, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of cyclic β -amino acids applying zwitterionic chiral stationary phases based on *Cinchona* alkaloids. *Chirality*, 27 (2015) 563.
- E10. **I. Ilisz**, N. Grecsó, R. Papoušek, Z. Pataj, P. Barták, L. Lázár, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, High-performance liquid chromatographic separation of unusual β^3 -amino acid enantiomers in different chromatographic modes on *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases. *Amino Acids*, 47 (2015) 2279.
- E11. N. Grecsó, M. Kohout, A. Carotti, R. Sardella, B. Natalini, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, **I. Ilisz**, Mechanistic considerations of enantiorecognition on novel *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases from the aspect of the separation of trans-paroxetine enantiomers as model compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 124 (2016) 164.
- E12. G. Lajkó, T. Orosz, N. Grecsó, M. Palkó, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, **I. Ilisz**, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of cyclic β -amino hydroxamic acids on zwitterionic chiral stationary phases based on *Cinchona* alkaloids. *Analytica Chimica Acta*, 921 (2016) 84.

- E13. G. Lajkó, N. Grecsó, R. Megyesi, E. Forró, F. Fülöp, D. Wolrab, W. Lindner, A. Péter, **I. Ilisz**, Enantioseparation of β -carboline derivatives on polysaccharide- and strong cation exchanger-based chiral stationary phases. A comparative study. *Journal of Chromatography A*, 1467 (2016) 188.
- E14. N. Grecsó, E. Forró, F. Fülöp, A. Péter, **I. Ilisz**, W. Lindner, Combinatorial effects of the configuration of the cationic and the anionic chiral subunits of four zwitterionic chiral stationary phases leading to reversal of elution order of cyclic β^3 -amino acid enantiomers as ampholytic model compounds. *Journal of Chromatography A*, 1467 (2016) 178.
- E15. A. Péter, N. Grecsó, G. Tóth, F. Fülöp, W. Lindner, **I. Ilisz**, Ultratrace analysis of enantiomeric impurities in proteinogenic *N*-Fmoc-amino acid samples on *Cinchona* alkaloid-based chiral stationary phases. *Israel Journal of Chemistry*, 56 (2016) 1042.
- E16. G. Lajkó, N. Grecsó, G. Tóth, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, **I. Ilisz**, A comparative study of enantioseparations of *N*^α-Fmoc proteinogenic amino acids on *Quinine*-based zwitterionic and anion exchanger-type chiral stationary phases under hydro-organic liquid and subcritical fluid chromatographic conditions. *Molecules*, 21 (2016) 1579.
- E17. G. Lajkó, N. Grecsó, G. Tóth, F. Fülöp, W. Lindner, **I. Ilisz**, A. Péter, Liquid and subcritical fluid chromatographic enantioseparation of *N*-Fmoc proteinogenic amino acids on *Quinidine*-based zwitterionic and anion-exchanger type chiral stationary phases. A comparative study. *Chirality*, 29 (2017) 225.
- E18. R. Berkecz, **I. Ilisz**, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, LC enantioseparation of aryl-substituted beta-lactams using variable-temperature conditions. *Chromatographia*, 63 (2006) S29.
- E19. R. Berkecz, R. Török, **I. Ilisz**, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, LC enantioseparation of β -lactam and β -amino acid stereoisomers and a comparison of macrocyclic glycopeptide- and β -cyclodextrin-based columns. *Chromatographia*, 63 (2006) S37.
- E20. Z. Pataj, **I. Ilisz**, R. Berkecz, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, Comparison of performance of Chirobiotic T, T2 and TAG columns in the separation of β^2 - and β^3 -homoamino acids. *Journal of Separation Science*, 31 (2008) 3688.
- E21. R. Berkecz, **I. Ilisz**, G. Benedek, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of 2-aminomono- and dihydroxycyclopentanecarboxylic and 2-aminodihydroxycyclohexanecarboxylic acids on macrocyclic glycopeptide-based phases. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 927.
- E22. Z. Pataj, R. Berkecz, **I. Ilisz**, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic chiral separation of β^2 -homoamino acids. *Chirality*, 21 (2009) 787.
- E23. Z. Pataj, **I. Ilisz**, A. Aranyi, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, LC separation of γ -amino acid enantiomers. *Chromatographia*, 71 (2010) S13.
- E24. L. Sipos, **I. Ilisz**, Z. Pataj, Z. Szakonyi, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of monoterpene-based 2-amino carboxylic acids on macrocyclic glycopeptide-based phases. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 6956.
- E25. L. Sipos, **I. Ilisz**, M. Nonn, F. Fülöp, Z. Pataj, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1232 (2012) 142.

- E26. Z. Pataj, **I. Ilisz**, N. Grecsó, M. Palkó, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, Enantiomeric separation of bicyclo[2.2.2] octane-based 2-amino-3-carboxylic acids on macrocyclic glycopeptide chiral stationary phases. *Chirality*, 26 (2014) 200.
- E27. **I. Ilisz**, N. Grecsó, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic separation of paclitaxel intermediate phenylisoserine derivatives on macrocyclic glycopeptide and cyclofructan-based chiral stationary phases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 114 (2015) 312.
- E28. T. Orosz, N. Grecsó, G. Lajkó, Z. Szakonyi, F. Fülöp, D. Armstrong, **I. Ilisz**, A. Péter, Liquid chromatographic enantioseparation of carbocyclic β -amino acids possessing limonene skeleton on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 145 (2017) 119.
- E29. **I. Ilisz**, Z. Pataj, R. Berkecz, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, Comparison of separation performances of cellulose-based chiral stationary phases in LC enantioseparation of aminonaphthol analogues. *Chromatographia*, 70 (2009) 723.
- E30. **I. Ilisz**, Z. Pataj, R. Berkecz, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of aminonaphthol analogs on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2980.
- E31. Z. Pataj, **I. Ilisz**, R. Berkecz, E. Forró, F. Fülöp, A. Péter, Comparison of separation performances of amylose- and cellulose-based stationary phases in the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of stereoisomers of β -lactams. *Chirality*, 22 (2010) 120.
- E32. A. Aranyi, **I. Ilisz**, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of 1-(phenylethylamino)- or 1-(naphthylethylamino)methyl-2-naphthol analogs and a temperature-induced inversion of the elution sequence on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1218 (2011) 4869.
- E33. A. Aranyi, **I. Ilisz**, N. Grecsó, R. Csütörtöki, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, Development of the high-performance liquid chromatographic method for the enantioseparation of unusual glycine ester analogs on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 76 (2013) 183.
- E34. **I. Ilisz**, Z. Gecse, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of naphthol-substituted tetrahydroisoquinolines on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Biomedical Chromatography*, 28 (2014) 142.
- E35. N. Grecsó, **I. Ilisz**, Z. Gecse, L. Schönstein, F. Fülöp, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of amino alcohol analogues possessing 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline skeleton on polysaccharide-based chiral stationary phases. *Biomedical Chromatography*, 29 (2015) 788.
- E36. G. Lajkó, T. Orosz, L. Kiss, F. Fülöp, A. Péter, **I. Ilisz**, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of fluorinated cyclic β^3 -amino acid analogs on polysaccharide-based chiral stationary phases. Comparison with non-fluorinated counterparts. *Biomedical Chromatography*, 30 (2016) 1441.

7. Tudománymetriai adatok

Ilisz István tudományos munkásságának összefoglalása az MTA VII. Kémiai Tudományok Osztálya szabályai szerint (2017.12.18).

Tudományos közlemények	Az utolsó tud. fokozat (PhD megszerzése óta (1999-)	Összesen
1.0 Összes közleményeinek¹ száma (1.1 - 1.7 sorok összege)	101	108
1.1 Közlemények SCI referált folyóiratokban	77	82
Ebből levelező szerzőként	---	---
Ebből egy szerzős közlemény	0	1
1.2 Közlemények magyar nyelvű folyóiratokban	0	1
Ebből levelező szerzőként	---	---
Ebből egy szerzős közlemény	0	0
1.3 Megadott alapszabadalmak száma	1	1
1.4 Közlemény egyéb nemzetközi folyóiratokban	1	1
1.5 Közlemény egyéb magyar nyelvű folyóiratokban	0	0
1.6 Kongresszusi kiadványban (proceedings: teljes munka, nem rövid kivonat)	5	5
1.7 Összefoglaló művek	17	18
Összefoglaló cikk idegen nyelvű	9	9
Összefoglaló cikk magyar nyelvű	0	0
önálló könyv	1	2
könyvfejezet	4	4
szerkesztett könyv	3	3
felsőoktatási tankönyv	0	0
felsőoktatási tankönyvfejezet	0	0

Tudománymetriai adatok	<i>i, H</i>
Összes dolgozatának idézettsége ² , önhivatkozás nélkül (<i>i</i>)	1311
Szabadalmainak idézettsége ² , önhivatkozás nélkül (<i>i</i>)	0
Könyvfejezeteinek idézettsége ² , önhivatkozás nélkül (<i>i</i>)	6

Speciális adatok	Adat	Az összes %-ában
A utolsó tudományos fokozat (PhD-) utáni (1999-) közlemények száma	101	
Magyar nyelven megjelent közlemények száma és részaránya az összes közlemény százalékában	9	8,33%
Az öt legmagasabb független idézettségű közlemény idézettségi számai ²	480	---
Hirsch index az összidézettségre számolva ³	21	---

1 Teljes tudományos közlemények az MTA doktori eljárásban (részletek)

2 Hivatkozások (idéзések) a disszertáció és egyéb típusúak nélkül

3 disszertáció és egyéb típusú idézők nélkül