

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

akadémiai doktori értekezés

Ilisz István

**Szegedi Tudományegyetem
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék**

**Szeged
2018**

Mottó:

„A megismerés és az átélt tudás szépsége felér a legmagasabb művészeti élménnyel, de nemcsak gyönyörködtet, hanem segít a természet erőinek megismerésében és felhasználásában, jövőnk építésében is.”

Öveges József

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	1
1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. A kiralitás fogalomrendszerének kialakulása	5
2.2. Az enantiomerek elválasztásának lehetőségei	6
2.2.1. Közvetett módszerek	7
2.2.2. Közvetlen módszerek	8
2.3. A királis felismerés jellegzetességei	10
2.4. Királis állófázisok	11
2.4.1. Aminosav alapú állófázisok	13
2.4.2. Fehérje alapú állófázisok	14
2.4.3. Ciklodextrin alapú állófázisok	15
2.4.4. Ciklofruktán alapú állófázisok	16
2.4.5. Koronaéter alapú állófázisok	18
2.4.6. Donor–akceptor (<i>Pirkle</i> -típusú) állófázisok	19
2.4.7. Szintetikus polimer alapú állófázisok	19
2.4.8. Molekuláris lenyomatú polimer alapú állófázisok	20
2.4.9. Ioncserélő alapú állófázisok	20
2.4.10. Makrociklusos antibiotikum (glikopeptid) alapú állófázisok	23
2.4.11. Poliszacharid alapú állófázisok	28
2.5. A királis állófázisok rövid, kritikai összehasonlítása	30
2.6. A hőmérséklet hatása a királis elválasztásra, a termodinamikai paraméterek és a retenciós mechanizmus összefüggései	33
2.7. A királis elválasztások enantioszelektív és nemenantioszelektív összetevőinek megkülönböztetése	36
2.8. A vizsgált vegyületek biológiai jelentősége	37
2.8.1. <i>N</i> -védett fehérjealkotó α -aminosavak	38
2.8.2. Ciklusos szekunder α -aminosavak	38
2.8.3. β -Aminosavak és származékaik	38
2.8.4. Hidroxámsavak	39
2.8.5. β -Laktámszármazékok	39
2.8.6. γ -Aminosavak	40
2.8.7. <i>transz</i> -Paroxetin	40
2.8.8. β -Karbolinok	40
2.8.9. 1,2,3,4-Tetrahidorizokinolinok	41
2.8.10. Naftol analógok	41
3. Célkitűzés	42

4.	Alkalmazott anyagok és módszerek	44
4.1.	A vizsgált molekulák	44
4.2.	Felhasznált anyagok	44
4.3.	Vizsgált állófázisok	44
4.3.1.	Ioncserelő kolonnák	44
4.3.2.	Makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák	45
4.3.3.	Cellulóz és amilóz alapú kolonnák	45
4.4.	Alkalmazott HPLC rendszerek és egyéb mérőkészülékek	46
5.	Kísérleti eredmények és értékelésük	47
5.1.	Elválasztások ioncserelő tulajdonságú állófázisokon	49
5.1.1.	A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra	49
5.1.2.	A szerkezet-retenciós tulajdonságok összefüggései <i>ZWIX(+)</i> és <i>ZWIX(-)</i> ikerionos állófázisokon	64
5.1.3.	Az elúciós sorrend alakulása kinin és kinidin alapú állófázisokon	71
5.1.4.	<i>N</i> -Fmoc-védett α -aminosavak sztereokémiai tisztaságának meghatározása	75
5.1.5.	A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra	76
5.2.	Elválasztások makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon	83
5.2.1.	A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra	83
5.2.2.	A szerkezet-retenciós tulajdonságok összefüggései <i>Chirobiotic</i> állófázisokon	92
5.2.3.	A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra <i>Chirobiotic</i> oszlopokon	98
5.2.4.	Az ioncserelő és a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok enantiomerfelismerő-képességének összehasonlítása	99
5.3.	Elválasztások poliszacharid alapú állófázisokon	99
5.3.1.	A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra	99
5.3.2.	A szerkezet-retenciós tulajdonságok összefüggései poliszacharid alapú állófázisokon	102
5.3.3.	A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra poliszacharid alapú állófázisokon	108
6.	Összefoglalás	110
6.1.	Elválasztások ioncserelő tulajdonságú állófázisokon	110
6.2.	Elválasztások makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon	113
6.3.	Elválasztások poliszacharid alapú állófázisokon	115
7.	Köszönetnyilvánítás	117
8.	Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények	119
9.	Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb saját közlemények	122
10.	Irodalomjegyzék	125
	Függelék	138

Rövidítések jegyzéke

ACHSA: aminociklohexán-szulfonsav

AcOH: ecetsav

AGP: α_1 -savas glikoprotein

BA: butil-amin

BSA: marha szérum albumin

BuOH: butanol

t-BuOH: terc-butanol

CAD: koronakisülési detektor (corona charge aerosol detector)

CBH: cellobiohidroláz I

CD: ciklodextrin

CE: kapilláris elektroforézis

CF: ciklofruktán

CIP: Cahn-Ingold-Prelog konvenció

CLEC: királis ligandumcserés folyadékkromatográfia

DEA: dietil-amin

EA: etil-amin

EtOH: etanol

FA: hangyasav

FDA: amerikai kormányhivatal (Food and Drug Administration)

Fmoc: 9-fluorenil-metiloxi-karbonil

GABA: γ -amino-vajsav

GC: gázkromatográfia

HIV: emberi immunhiányt-előidéző vírus

HPLC: nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

HO: hidro-organikus

HSA: humán szérum albumin

IPA: propán-2-ol

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

KH: értéke az egyes enantiomerek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás erősségét jellemzi

LOD: kimutatási határ (limit of detection)

LOQ: meghatározási határ (limit of quantitation)

MIP: molekula lenyomat alapú polimer (molecularly imprinted polymer)

MeCN: acetonitril

MeOH: metanol

MS: tömegspektrometria

NP: normál fázis

OVM: ovomucoid

PA: *n*-propil-amin

PI: poláris-ionos

PIM: poláris-ionos mód

PO: poláris-szerves

PrOH: *n*-propanol

QD: kinidin

QN: kinin

REL: értéke az egyes enantiomerek konformációs energiáját mutatja a minimális konformációs energiához képest

RP: fordított fázis

SCX: erős kationcserélő (strong cation exchanger)

SFC: szuperkritikus fluidkromatográfia

TBA: tri-*n*-butil-amin

TEA: trietil-amin

TEAA: trietil-ammóniumacetát

THF: tetrahidrofurán

TIQ: 1,2,3,4-tetrahidroizokinolin

TPA: tri-*n*-propil-amin

UV: ultraibolya (spektrum)

Vis: látható (spektrum)

WAX: gyenge anioncserélő (weak anion exchanger)

1. Bevezetés

A természetes vegyületek különböző megjelenési formákban létezhetnek. Azokat, amelyek ugyanazzal az összegképlettel, de eltérő szerkezettel rendelkeznek, izomereknek nevezzük. A sztereoizomerek olyan vegyületek, amelyeknek nincs tükrözéssel kapcsolatos szimmetriaelemük (és egymással nem azonosak). Ezek egyik formája egy vagy több centrálisan királis atomot tartalmaz, ahol a királis atom – szerves vegyületek esetén – jellemzően szénatom. Az ilyen sztereoizomerek tehát legalább egy királis szénatomjuk konfigurációjában különböznek egymástól. A tükörképi párokat enantiomereknek, a nem tükörképi pár sztereoizomereket diasztereomereknek nevezzük [1].

Ma már tudjuk, hogy az aszimmetria egyik megjelenési formája, a kiralitás jelensége egyetemes, a molekuláris szinten megjelenő kiralitás pedig kiemelkedő jelentőségű. A fehérjék, a fehérjéket alkotó aminosavak (a glicin kivételével), a cukrok, az enzimek mind királis vegyületek, sőt jellemzően homokirálisak, azaz azonos konfigurációjúak. (A fehérjealkotó α -aminosavak L, míg a természetes cukrok D konfigurációjúak.) Az enantiomerek – eltekintve az optikai aktivitásuktól – megegyező fizikai és kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Királis környezetbe kerülve viszont – a kialakuló sztereoszelektív kölcsönhatások miatt – az egyes enantiomerek eltérőképpen viselkedhetnek. Így érthető, hogy ha például egy racém (azaz az enantiomereket egyenlő arányban tartalmazó) gyógyszermolekula az élő szervezetbe kerül, annak enantiomerjei különbözhetnek a biológiai hasznosíthatóság, megoszlás, metabolizmus, kiürülés vagy a hatás típusában és mértékében.

Nem véletlen tehát, hogy a gyógyszeripar a biológiailag aktív anyagok kutatása területén megkülönböztetett figyelmet szentel a királis vegyületeknek. Az enantiomerek különböző viselkedésének feltérképezése a gyógyszermolekulák esetében óriási jelentőségű, hiszen amíg az enantiomerpárok egyik tagja az elvárt biológiai aktivitással rendelkezve pozitív szerepet játszik (eutomer), addig a másik enantiomer (disztomer) gyakran hatástalan, rosszabb esetben akár nemkívánatos problémákat (mellékhatásokat) okozhat. (Természetesen az is megtörténhet, hogy mindkét enantiomer ugyanolyan biológiai aktivitással rendelkezik.)

Ezek tudatában érthető, hogy az amerikai élelmiszereket és gyógyszereket felügyelő hatóság, az FDA előírta a gyógyszergyártók számára, hogy minden királis hatóanyagot tartalmazó gyógyszer esetén csak akkor hozható forgalomba racém termék, ha előállították a hatóanyag mindkét enantiomerét, az egyes enantiomereknek külön-külön és a racemát

elegyenek is megvizsgálták a farmakológiai hatását [2]. Ez sokszor annyira megdrágítja a gyógyszermolekulák fejlesztését és forgalomba hozatalát, hogy gazdaságosabb a tiszta enantiomer előállítása. A fentiek alapján érthető, hogy ma már a fejlesztések elsősorban enantiomertiszta vegyületek irányába folynak. Királis vegyületekkel természetesen nemcsak a gyógyszeripari termékek között találkozhatunk, az élelmiszer-adalékanyagok, mezőgazdaságban használt vegyszerek vagy éppen az illatanyagok képviselői között is igen jelentős számban fordulnak elő.

A tiszta enantiomerek előállítására három lehetséges mód kínálkozik:

- racém keverékek elválasztása,
- királisan tiszta forrás alkalmazásán alapuló előállítások,
- enantioszelektív szintézisek.

Bármelyik előállítási módot is választják, elengedhetetlen feltétel a királis tisztaság ellenőrzése. A mai modern analitikai kémia egyik fontos feladata így a királis vegyületek, különösen a biológiai és/vagy gyógyszerkémiailag jelentőséggel rendelkező anyagok enantiomerjeinek megkülönböztetése. Akár környezeti, akár élelmiszeripari minták analízise a feladat, akár gyógyszerfejlesztés vagy gyógyszerellenőrzés céljára kell analitikai meghatározást kidolgozni, jól reprodukálható, nagy érzékenységgű, sztereoszelektív és robusztus módszerekre van szükség. Ezeknek a feltételeknek leginkább a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) felel meg, de természetesen sok esetben a gázkromatográfia (GC), a szuperkritikus fluidkromatográfia (SFC) vagy a kapilláris elektroforézis (CE) is megfelelő megoldást kínálhat. Fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy amennyiben nagy mennyiségű, tiszta enantiomer előállítása a cél, az említett elválasztástechnikai módszerek közül a HPLC és az SFC kínálhat gazdaságos megoldást, királis állófázisok alkalmazásán keresztül.

Az utóbbi évtizedben kutatómunkánk elsődleges célja a HPLC technika alkalmazására épülő enantioszelektív elválasztások vizsgálata volt. Értekezésemben ennek megfelelően számos potenciális farmakon HPLC alapú, enantioszelektív elválasztása során nyert eredményeinket mutatom be.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A kiralitás fogalomrendszerének kialakulása

A XIX. sz. elején *Arago* fedezte fel, hogy a polarizált fény síkját a kvarckristályok képesek elforgatni. Néhány évvel később *Biot* is bekapcsolódott a jelenség tanulmányozásába. *Berzelius* (*Dalton* atomelméletének legfontosabb szószólója) 1830-ban megjelent közleményében bevezette az izomerek fogalmát [3]. Fontos megemlíteni, hogy ő is a borkősav (régebbi nevén szőlősav) és a „paraborkősav” (a racém borkősav) tanulmányozásával jutott el az izomerek létezésének felismeréséig. *Berzelius* feltételezte, hogy az izomereknél az atomok eltérő térbeli elrendeződése eredményezi az észlelt eltérő tulajdonságokat [4]. Emellett feltételezte azt is, hogy a kristályos formában létező izomerek az atomjaik eltérő elhelyezkedése miatt különböző kristályformákat alakítanak ki. *Berzelius* tanítványát, a krisztallográfiában jártas *Mitscherlichet* kérte meg a nátrium-ammónium-tartarát kristályok alaposabb vizsgálatára. *Mitscherlich* feljegyezte, hogy a tanulmányozott kristályok közül – a megjelenésüket tekintve – egyetlen kivétellel valamennyi kristály megegyezett. Érdekes módon az előzetesen kialakult helyes feltételezése ellenére sem közölte eredményeit. Mindeközben *Biot* az optikai forgatás tanulmányozása kapcsán jelentős számú kísérletet elvégezve leírta, hogy nem csak szilárd (kristályos) anyagok, hanem számos természetes anyag oldata esetében is hasonló jelenség tapasztalható. Megállapította, hogy míg a borkősav és sóinak oldata optikailag aktív, se a „paraborkősav”, se a sóinak oldata nem mutat optikai aktivitást. *Biot* *Mitscherlich*hel történő megbeszélést követően a párizsi Tudományos Akadémiának továbbította feljegyzését, melyben megfogalmazta gondolatait. Ezeket a gondolatokat megismerve és azokon elmélkedve a felhalmozott kísérleti tapasztalatok tudományos igényességű magyarázatát végül *Pasteur* adta meg [5]. Az optikai aktivitást nem mutató „paraborkősavat” vizsgálva a különböző alakú kristályokat szétválogatva rájött arra, hogy ezek a kristályok egymás tükörképei, egymástól csak annyiban különböznek, mint a jobb kéz a bal kéztől. Mivel a kétféle kristály feloldás után is megőrizte optikai aktivitását, megállapította, hogy az optikai aktivitást nem a molekulák elrendeződése okozza a kristályrácsban, hanem ez a molekulák tulajdonsága. Végül arra a következtetésre jutott, hogy a kristályokban található molekulák éppúgy egymás tükörképei, mint maguk a kristályok. Szintén *Pasteur* volt az, aki 1858-ban beszámolt arról, hogy a később *Penicillium glaucum*-ként azonosított penészgomba az izomerek közül gyorsabban bontotta

le a jobbra forgató ammónium-tartarátot, ezzel igazolva sejtését, a tapasztalt molekuláris aszimmetria élettani jelentőségéről [4].

A XIX. sz. közepe táján többen is dolgoztak a kémiai szerkezet grafikus ábrázolásán (pl. *Kekulé, Butlerov, Brown*), de csak kicsit később, a háromdimenziós szerkezet leírásán keresztül tudta *van't Hoff* és *Le Bel* összefüggésbe hozni a molekulák térbeli szerkezetét forgatóképességükkel [4]. A kiralitás mai napig érvényes definícióját, a „királis” terminológiát *Lord Kelvin* vezette be [6].

A királis felismerés legelterjedtebb szemléltetési módját, az ún. hárompontos illeszkedési modellt („three-point attachment”, majd később „three-point interaction”) *Easson* és *Stedman* [7] alapozta meg: az enantiomerek eltérő farmakológia hatásának értelmezéséhez feltételezték, hogy legalább három különböző, sztereoszelektív kölcsönható hely jelenléte szükséges. *Ogston* az enzim–szubsztrát kölcsönhatás értelmezésére használta a modellt [8], *Dalgliesh* pedig már aminosavak papírkromatográfiás elválasztását értelmezte segítségével [9], melyhez *Wilcox* és munkatársai fűztek kiegészítést [10]. *Baczkó* és munkatársai voltak valószínűleg az elsők, akik hatékony enantioszelektivitás elérése érdekében, egy királis állófázis tervezésekor figyelembe vették a modell jósolta követelményeket [11]. Mindeközben a sztereokémiai fogalmak fejlődésével 1966-ban megszületett a molekulák konfigurációjának egységes leírása, a *Cahn-Ingold-Prelog* (CIP) konvenció [12], melyet a későbbiekben IUPAC is elfogadott. *Lochmüller* és *Souter* [13], *Pirkle* és *Pochapsky* [14], majd *Davankov* [15] a területen mérföldkönek számító közleményekben az addigi eredmények összefoglalásán keresztül különböző kiegészítésekkel finomították a modellt; a vonzó kölcsönhatások mellett, már a taszító (pl. szterikus gátlás) kölcsönhatások lehetséges szerepét is felismerték, illetve kimondták, hogy a három szükséges kölcsönhatás közül legalább egynek sztereoszelektívnek kell lennie. Ugyan időközben többen is megkérdőjelezték a modell érvényességét, mégis ez képezi a királis megkülönböztetési folyamatok értelmezésének széles körben elfogadott alapját napjainkban is [16-18].

2.2. Az enantiomerek elválasztásának lehetőségei

Az azonos fizikai és kémiai tulajdonságaik miatt az enantiomerek elválasztása királis környezetet igényel. Ilyen körülmények között a vizsgált minta enantiomerjei diasztereomerpárokat képeznek a jelenlevő ún. szelektorral, ami az elválasztáshoz szükséges sztereospecifikus kémiai kölcsönhatásokat biztosítja (lásd később 1. és 2. egyenlet). Abban az esetben, ha a szelektort a mozgófázisban feloldva vagy az állófázishoz

rögzítve alkalmazzuk, közvetlen módszerről, míg ha a diasztereomerpárt az elválasztástól függetlenül, azt megelőzően alakítjuk ki, közvetett módszerről beszélünk.

2.2.1. Közvetett módszerek

A közvetett elválasztások királis reagens alkalmazására épülő származékképzésen alapulnak, azaz az enantiomerek elválasztását diasztereomerek elválasztására vezetjük vissza, ami már akirális környezetben megoldható. A közvetett módszerek nyújtottak elsőként lehetőséget az enantiomerek analitikai meghatározására és sokáig ezek a módszerek jelentették az egyedüli hatékony elválasztást a királis kémiai analízis területén. Ugyan a királis állófázisok napjainkra tapasztalt elterjedése számottevően csökkentette a közvetett módszereken alapuló alkalmazások számát, jelentőségük mégsem szűnt meg, hiszen számos kedvező tulajdonsággal rendelkeznek, például:

- a származékképző reagensek változatos szerkezettel (funkciós csoporttal), kedvező áron, megfelelő tisztaságban beszerezhetők, így a vizsgálható enantiomerek köre igen széles,
- hagyományos HPLC oszlopokon elvégezhető a diasztereomerek elválasztása,
- a származékképzés során befolyásolható a kialakuló vegyület kromatográfiás tulajdonsága, illetve csökkenthető a kimutatási határ (pl. kromofór, fluorofór beépítésével, különféle szerkezeti módosításokkal),
- az elúciós sorrend következtethető (nem feltétlenül igényli az abszolút konfiguráció meghatározását) és befolyásolható (antipód reagens alkalmazásával).

Természetesen előnyeik mellett röviden a hátrányokat is érdemes megemlíteni:

- a származékképzés idő- és munkaigényes feladat, ráadásul nem minden esetben automatizálható,
- az enantiomerek megfelelő funkciós csoporttal kell, hogy rendelkezzenek,
- az alkalmazott reakciónak viszonylag gyorsnak kell lennie és kvantitatívan végbe kell mennie,
- a származékképzés racemizációt okozhat (pl. magasabb hőmérséklet, hosszabb reakcióidő alkalmazása esetén), illetve kinetikai rezolúció léphet fel,
- a reagens feleslege és az esetleges melléktermékek zavaró csúcsokat okozhatnak,
- az egyes enantiomerek visszanyerése további műveleteket igényel.

Amint azt korábban említettem, sokáig a közvetett módszerek jelentették az egyedüli lehetőséget az enantiomerek elválasztására. Érthető így, hogy számos módszert dolgoztak ki és napjainkig ezres nagyságrendben jelentek meg közlemények ezen a területen. Ezek közül referenciaként itt csak néhány, a kutatócsoportunk által közölt összefoglaló cikket idézek [I–VI], hiszen értekezésemben a közvetlen módszerek alkalmazásával kapott eredményeinket mutatom be. Érdeemes azonban megemlíteni, hogy a közvetett módszerekre épülő alkalmazások napjainkban is jelentős szerepet töltenek be biológiai eredetű minták mikrokomponenseinek meghatározásában [19-21].

2.2.2. Közvetlen módszerek

A közvetlen meghatározások családjába tartoznak azok a módszerek, ahol királis állófázist, vagy mozgófázisban oldott királis adalékot alkalmaznak a sztereoszelektív kölcsönhatások kialakítására. Közvetlen meghatározást alkalmazva az elválasztás azon alapul, hogy a vizsgált vegyület időlegesen diasztereomerpárt képez az álló- vagy a mozgófázis királis komponensével, a szelektorról. A mozgófázisban oldott szelektor alkalmazásának ma már nincs gyakorlati jelentősége a HPLC-ben (a fő alkalmazási területe jelenleg a kapilláris elektroforézis), egyrészt a királisan tiszta vegyületek meglehetősen borsos ára, másrészt a felmerülő detektálási problémák miatt. Az értekezésemben bemutatott kísérleti anyag a királis állófázisok alkalmazásához kapcsolódik, így a későbbiekben ezen lehetőség részletes tárgyalására helyezem a hangsúlyt.

Az első királis állófázist 1966-ban írták le, ahol is α -aminosavszármazékok (észterek) enantiomerjeit választották el *N*-trifluoroacetyl-L-izoleucin-lauril-észterrel fedett kapilláris kolonnán, gázkromatográfiásan [22]. Néhány évvel később *Davankov* és *Rogozhin* vezette be a királis ligandumcserés kromatográfiát (CLEC), ezzel megjelentek az első folyadékkromatográfiás alkalmazások [23, 24]. Az 1970-es és 80-as évek folyadékkromatográfiás újításai a HPLC készülékek és a töltetes oszlopok intenzív fejlődéséhez vezettek. Ugyan a polimer alapú töltetek kis nyomástűrése, illetve a hordozóra fizikailag (adszorpcióval) kötött szelektorok kezdetben még nem tették lehetővé a királis állófázisok elterjedését, de a folyamatos fejlesztéseknek köszönhetően az 1980-as évek közepére a mechanikailag stabilis, szilikagél alapú töltetek kifejlesztésével és a szelektorok kémiai, kovalens kötással történő rögzítésével megszülettek az első stabilis, robusztus és reprodukálhatóan alkalmazható királis állófázisok.

A királis állófázisok alkalmazásán alapuló enantioszelektív elválasztások az 1990-es évek óta egyre inkább háttérbe szorítják a közvetett meghatározásokat, főként az alábbi kedvező tulajdonságaik miatt:

- nincs szükség speciális mintaelőkészítésre,
- a szelektor királis tisztasága nem kritikus,
- megfelelő reaktivitású funkciós csoporttal nem rendelkező enantiomerek is elválaszthatók,
- elhanyagolható a racemizáció esélye,
- az enantiomerek moláris abszorbanciája megegyezik, így a mennyiségi analízis egyszerűbben elvégezhető,
- az egyes enantiomerek az elválasztást követően kinyerhetők, azaz a módszer preparatív célra is kiválóan alkalmazható.

Természetesen itt is érdemes röviden megemlíteni a hátrányokat is:

- a sztereoszelektív kölcsönhatások kialakulása nem teljesen tisztázott, így az elúciós sorrend nem jósolható, az elválasztás optimalizálása sok esetben csak korábbi tapasztalatok alapján kivitelezhető („trial-and-error” módszer),
- általában kisebb az elméleti tányérszám,
- nincs univerzálisan alkalmazható állófázis,
- meglehetősen költségesek a királis állófázisok.

Az említett hátrányok ellenére megkérdőjelezhetetlen, hogy manapság a királis analízis területén a királis állófázisok alkalmazásán alapuló módszerek a meghatározók. Az 1990-es évek végére már több, mint 200 állófázis került piacra [25], az azóta eltelt időszakban a fokozódó igényeknek megfelelően még tovább nőtt a királis állófázisok száma. A nem lanyguló érdeklődést kiválóan jelzik a szinte naponta megjelenő, új királis állófázisokat leíró tudományos közlemények. Említést érdemel az a tény is, hogy az akirális állófázisok utóbbi évtizedben tapasztalt roppant intenzív fejlődése a királis állófázisokra is komoly hatást gyakorol. Egyelőre ugyan még csak kutatói/fejlesztői szinten, de már megjelentek az ún. tömörmagvú („mag-héj” típusú, core/shell, superficially porous particles, avagy pellikuláris) töltetek [26], illetve a 2 μm -nél kisebb szemcseméretű királis töltetek [27], melyekkel már a másodperces időskálán is lehetővé vált enantiomerek hatékony elválasztása. Úgy vélem, hogy a folyadékkromatográfiás technikák további

fejlődése a közeli jövőben még tovább erősíti majd a királis állófázisok meghatározó szerepét.

2.3. A királis felismerés jellegzetességei

A napjainkban leggyakrabban alkalmazott, szilikagélhez kovalens kötással rögzített szelektor enantiomerfelismerő-képességére épülő királis állófázisok alkalmazásakor a kromatográfiás elválasztás alapja az, hogy az elválasztandó enantiomer és a szelektor között kialakuló kölcsönhatások révén időlegesen diaszteromerpár képződik. (Ez alól a későbbiekben tárgyalt CLEC bizonyos értelemben kivétel.) Az állófázis felületén reverzibilisen végbemenő, diasztereomerpár képződését eredményező reakciókat az 1. és 2. egyenletek szemléltetik. Az eltérő retenciós viselkedés a diasztereomer képződéséhez vezető reakciók egyensúlyi állandóinak különbözőségére vezethető vissza.



A fenti egyenletekben $(R)\text{-Sz}$ az R konfigurációjú szelektort, $(S)\text{-E}$ és $(R)\text{-E}$ az S vagy R konfigurációjú enantiomert, K_S és K_R az S vagy R konfigurációjú enantiomer által a szelektorral kialakított diasztereomer komplexképződés egyensúlyi állandóját jelöli.

Nem nehéz belátni, hogy a „hagyományos” (akirális) kromatográfiás rendszerekhez hasonlóan, a királis elválasztások is nemkovalens kölcsönhatások kiépülésén keresztül valósulnak meg. Mivel a mozgófázis alkotói mind az állófázis, mind az elválasztandó enantiomerek szerkezetét és szolvatációját befolyásolhatják, megváltoztathatják a kialakuló kölcsönhatások milyenségét és erősségét, így nagyon komoly hatással lehetnek a képződési állandókra (K_S , K_R), azaz az enantiomerek megkülönböztetésére.

A diasztereomerpár kialakulása szempontjából meg szokás különböztetni távolabb ható kölcsönhatásokat („leading interactions”), ezek eredményezik azt, hogy az elválasztandó komponens a szelektor megfelelő közelségébe jut, ezenkívül meghatározó szerepet töltenek be a diasztereomer képződési folyamatában, és rövidebbre ható kölcsönhatásokat („supporting interactions”), melyek stabilizálják a kialakuló diasztereomert [28, 29]. A távolabb ható kölcsönhatások tipikusan a legerősebb (nemkovalens) kölcsönhatások, melyek a retenciós tulajdonságokat fogják meghatározni, míg a kisebb erősségű kölcsönhatások a királis felismerés szempontjából bírnak

jelentőséggel. Mivel a távolabb ható kölcsönhatások általában nem sztereoszelektívek, elválasztásra csak akkor számíthatunk, ha a sztereoszelektivitást biztosító kölcsönhatások megfelelő arányban jelen vannak [16].

Általánosságban elmondható, hogy a poláris oldószerek felerősíthetik az elektrosztatikus kölcsönhatásokat és érdemes kiemelni, hogy a hidrofób kölcsönhatások csak vizes mozgófázisok (pl. fordított fázis, hidro-organikus elválasztás) esetében játszhatnak meghatározó szerepet. Az erősebb, messzebbre ható ionos kölcsönhatások (amennyiben jelen vannak) általában meghatározók a retenció szempontjából. Jelentős szerepet tölthetnek be a szelektor és a vegyület között kialakuló komplex stabilizálásában, de nem sztereoszelektívek. A királis felismeréshez további, sztereoszelektív kölcsönhatás(ok) kialakulása szükséges. Ilyenek lehetnek például a rövidebb távon ható H-híd, π - π , van der Waals és sztérikus kölcsönhatások.

Ma már tudjuk, hogy nem csak a vonzó, hanem a taszító kölcsönhatások is fontos szerephez juthatnak a királis felismerés folyamatában. Egyes elképzelések szerint a királis felismerés akár két taszító jellegű kölcsönhatás jelenlétében is létrejöhet, abban az esetben, ha a harmadik, vonzó kölcsönhatás képes biztosítani legalább az egyik diasztereomer komplex képződését [15]. Érthető, hogy a sztérikus, hozzáférést gátló hatások bizonyos esetekben kiemelkedő jelentőséggel bírnak. Ennek megfelelően a szelektoron vagy az elválasztandó vegyületen elhelyezkedő nagyobb térkitöltésű csoportok megakadályozhatják (vagy éppen segíthetik) az egyes enantiomerek szelektorhoz történő hozzáférését, sokszor kiemelkedő enantioszelektivitást biztosítva. Tovább árnyalja a királis megkülönböztetés sajátosságait az a tény is, hogy bizonyos (pl. π - π , dipólusos) kölcsönhatások nem feltétlenül egy ponton jönnek létre, így a hárompontos illeszkedés modelljében több kölcsönható helyet is eredményezhetnek [14]. Arról sem szabad elfeledkezni, hogy az oldószermolekulák vagy akár a szorbens felülete is képes befolyásolni a sztereoszelektív kölcsönhatásokat [15].

2.4. Királis állófázisok

Az állófázis szelektoraként elvileg „bármilyen” királis molekula szóba jöhetne, mégis gyakorlati jelentőséggel csak az alább említettek rendelkeznek, így a későbbiekben csak ezeket tárgyalom:

- aminosavak,
- fehérjék,
- oligoszacharidok (ciklodextrinek, ciklofruktánok),

- poliszacharidok (derivatizált cellulóz vagy amilóz),
- makrociklusos molekulák (antibiotikumok, koronaéterek),
- ioncserélők,
- egyéb, kisebb jelentőségű (donor–akceptor típusú, szintetikus polimer és molekula-lenyomat alapú) szelektorok.

Az **1. Táblázatban** összefoglalom a gyakoribb állófázisokat, szelektoraikat és a rájuk jellemző fontosabb kölcsönhatásokat.

1. Táblázat

Gyakoribb királis állófázisok, szelektoraik és a királis felismerés szempontjából fontosabb kölcsönhatások

Állófázis típusa		Szelektor	Fontosabb kölcsönhatások
1.	ligandum cserés	aminosav–fém komplex	komplexxépződés
2.	fehérje alapú	természetes fehérjék	H-híd, ionos, diszperziós, π – π
3.-5.	zárványkomplex képzők	ciklodextrinek	zárványkomplex-képzés, ionos, hidrofób, H-híd, diszperziós, sztérikus, π – π
		ciklofruktánok	
		királis koronaéterek	
6.	donor–akceptor (Pirkle-típusú)	π -savas, π -bázikus vegyületek	H-híd, π – π , dipólusos
7.	szintetikus polimerek	poliakrilamid, polimetakrilát, poliizocianid, stb.	H-híd, π – π , sztérikus
8.	molekuláris lenyomatú polimerek	szelektív szorbensek (pl.: szerves kopolimerek)	sztérikus, H-híd, π – π
9.	ioncserélők	anion- és kationcserélők, ikerionos szerkezetű ioncserélők	ionos, H-híd, poláris, π – π , sztérikus
10.	makrociklusos antibiotikumok	makrociklusos glikopeptidek	elektrosztatikus, H-híd, π – π , hidrofób, sztérikus
11.	módosított poliszacharidok	módosított cellulóz és amilóz	H-híd, poláris, π – π , diszperziós

2.4.1. Aminosav alapú állófázisok

A CLEC bevezetését [23, 24] követően egy ideig az egyedüli lehetőséget jelentette a különböző, kelátkomplex képzésére hajlamos vegyületek (pl. aminosavak, diaminok, aminoalkoholok, diolok, kisebb peptidek) hatékony, származékképzés nélküli meghatározására. Ennek fényében érthető, hogy miért is fordultak a sztereokémia, a farmakológia, az enantioszelektív katalízis és az aszimmetrikus szintézisek területén dolgozó kutatók fokozott érdeklődéssel a CLEC felé.

A CLEC az egyedüli olyan királis elválasztástechnikai eljárás, ahol a királis felismerés nem igényli a szelektor és az enantiomer közvetlen kapcsolatát. Ennek magyarázata abban rejlik, hogy a központi fémion (leggyakrabban Cu(II)) Lewis savként viselkedve, datív kötésekkel keresztül koordinálja a ligandumokat, így kialakul egy átmeneti terner komplex, melyben az egyik ligandum az állófázison kötött (vagy a mozgófázisban oldott) szelektor, a másik pedig az elválasztandó enantiomer lesz. A kromatográfiás elválasztás tehát itt is a korábban tárgyalt módon, a reverzibilisen képződő, átmeneti diasztereomer komplexeken alapul, eltérést az eredményez, hogy nincs közvetlen kapcsolat a szelektor és az egyes enantiomerek között. Királis elválasztás abban az esetben mehet végbe, ha az egyes enantiomerekkel képződött komplexek eltérő i) stabilitással, ii) képződési sebességgel és/vagy iii) adszorpciós tulajdonságokkal rendelkeznek. A „hagyományos” HPLC módszerekhez hasonlóan adott állófázis mellett itt is a mozgófázis összetételének változtatása kínálja a legtöbb lehetőséget az elválasztás optimalizálására. A pH, az ionerősség és a központi fémion koncentrációja jelentik azokat a paramétereket, melyek összehangolásával a módszerfejlesztés elvégezhető. (A fémionok közül főként a Cu(II), ritkábban a Zn(II) és a Ni(II) alkalmazására találhatunk példákat; nem jellemző, hogy a módszerfejlesztésnél a kutatók vizsgálnák a fémion anyagi minőségének hatását az elválasztásra.) Természetesen nem szabad elfelejtkezni a komplexképződést befolyásoló egyéb paraméterek (pl. hőmérséklet, szerves módosítók, anion anyagi minősége) hatásáról sem.

Napjainkig számos királis molekulát alkalmaztak a CLEC szelektoraként (adszorbeált vagy kémiaiilag kötött formában), ezek közül komolyabb jelentőséggel az aminosavak és származékaik (pl. hidroxiprolin [30], cisztein [31], fenilalanin [32], szerin [33], penicillamin [VII]), illetve az aminoalkoholszármazékok (pl. leucinol [34]) rendelkeznek. Ugyan népszerűsége napjainkra számottevően csökkent, de kijelenthető, hogy a CLEC a mai napig alkalmazott technika, melyet az utóbbi években megjelent cikkek, összefoglalók és könyvfejezetek is bizonyítanak [VIII, IX] [35-38].

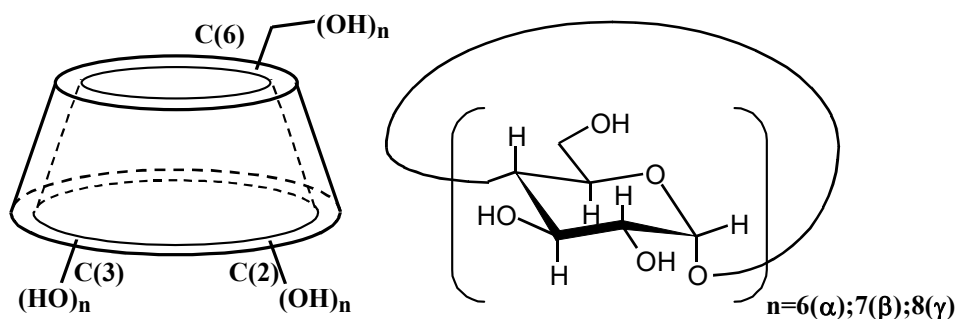
2.4.2. Fehérje alapú állófázisok

Az igen változatos szerkezeti elemekkel rendelkező fehérjék királis felismerőképességét már az 1950-es években leírták [39]. 1973-ban *Stewart* és *Doherty* marha szérum albumint (BSA) rögzített agaróz hordozóra és racém triptofánt választott el sikeresen, affinitás kromatográfiával [40]. A fehérje alapú oszlopokra épülő elválasztások elterjedését (hasonlóan a többi állófázishoz) a szilikagélen kémiaiilag kötött állófázisok megjelenése tette lehetővé az 1980-as években.

A fehérje alapú szelektorok komplexitása többféle lehetőséget biztosít az enantiomerek felismeréséhez, többnyire H-híd, dipólus–dipólus, π – π és ionos kölcsönhatásokon keresztül, így elvileg a királis vegyületek igen széles köre vizsgálható. Ennek ellenére ezek az állófázisok mégsem tudtak igazán széles körben teret hódítani. Ennek egyrészt az az oka, hogy a mozgófázisban bekövetkező viszonylag kicsi változások is igen jelentősen befolyásolják az állófázisok tulajdonságait [41], másrészt a szelektor összetett szerkezete még manapság sem teszi lehetővé az elválasztási mechanizmus részletes feltárását, ráadásul ezek az állófázisok meglehetősen érzékenyek a tárolási körülményekre. További nehézséget jelent, hogy a mozgófázis összetételének változtatása a vizsgált vegyületek kromatográfiás viselkedését nem igazán jósolható módon befolyásolja, így a módszerfejlesztés során inkább csak korábbi tapasztalatokra lehet hagyatkozni. A fehérje alapú állófázisok az 1980-as években fontos szerepet játszottak a királis elválasztások területén, mára azonban a közlemények száma egyértelműen mutatja, hogy jelentőségük erősen visszaesett. Arról azonban nem szabad elfelejtkezni, hogy ezek az állófázisok kiváló lehetőséget biztosítanak a fehérje és valamely potenciális gyógyszerhatóanyag kölcsönhatásának vizsgálatára. A manapság kereskedelmi forgalomban elérhető állófázisok alapját képező fehérjék közül említést érdemel a humán szérum albumin (HSA), az α_1 -savas glikoprotein (AGP), az ovomucoid (OVM) és a cellobiohidroláz I (CBH). A HSA elsősorban savas, a CBH inkább bázikus vegyületek meghatározására bizonyult alkalmasnak, míg az AGP és az OVM szélesebb enantiomerfelismerő-képességgel rendelkezik, semleges, savas és bázikus komponensek enantioszelektív meghatározása is megoldható alkalmazásukkal [16].

2.4.3. Ciklodextrin alapú állófázisok

A ciklodextrinek (CD) α -D-glükopiranoz-egységekből álló ciklikus, nem redukáló oligoszacharidok. Az egyes ciklodextrineket az alkotó glükózegységek száma alapján szokás megkülönböztetni, így α - (6), β - (7) és γ - (8) ciklodextrinekről beszélhetünk. A ciklodextrineket alkotó glükopiranoz egységek egy csonkakúp-palást felületén helyezkednek el, egy üreget körülhatárolva. Az üreg átmérője a ciklodextrint felépítő glükopiranoz egységek számával nő, így a ciklodextrin helyes megválasztásával elérhető, hogy bizonyos molekulák beférjenek az apoláris üregbe (ott ezáltal különböző erősségű kölcsönhatások kialakulására nyílik lehetőség, ún. „gazda–vendég” kölcsönhatás), míg más molekulák méretük miatt nem jutnak be az üregbe, vagy nem illeszkednek elég szorosan benne. A királis felismerés létrejöttében szerepet játszhatnak a hidrogénkötés, hidrofób–hidrofób, ionos és van der Waals kölcsönhatások, illetve különböző szterikus hatások. A hidrogénkötés csak igen kis távolságon belül tud kialakulni, így különösen fontos, hogy a molekula jól illeszkedjen a ciklodextrin üregébe. Fontos megemlíteni azt is, hogy a ciklodextrin belseje (ürege) a hidrogénatomok és glikozidos oxigénhidak révén enyhén apoláris tulajdonságú. A csonkakúp keskenyebb nyílását a primer, míg a szélesebbet a szekunder hidroxilcsoportok határolják (1. ábra).



1. ábra

A ciklodextrinek általános szerkezeti sémája

A molekula két peremének poláris jellege miatt – a β -ciklodextrin kivételével – a ciklodextrinek jól oldódnak vízben. A hidroxilcsoportok jelenléte a ciklodextrinek módosítására nyújt kiváló lehetőséget, így napjainkban számos ciklodextrinszármazék szolgál királis szelektorként. A módosított ciklodextrinek javíthatják a királis felismerést azzal, hogy további kölcsönhatást biztosítanak a minta számára, vagy azzal, hogy megváltoztatják a ciklodextrin üregének méretét és ezzel a mintamolekula illeszkedését, ezáltal természetes formájuktól jelentősen eltérő viselkedést mutathatnak. A ciklodextrinek

és származékaik vízdoldhatósága és megfizethető ára lehetővé teszi királis szelektorként történő alkalmazásukat a kapilláris elektroforézisen alapuló elválasztásokban is [X-XIII].

Az első nagy borítottságú, stabilis, ciklodextrint tartalmazó állófázist *Armstrong* és *Demond* fejlesztette [42], amelyet 1983-ban már forgalomba is hoztak. Az új állófázissal való kezdeti kísérletek királis aromás vegyületek, akirális aromás származékképzővel módosított aminosavak, szerkezeti izomerek és diasztereomerek elválasztására irányultak [42-44]. A ciklodextrinek királis felismerésben betöltött szerepének értelmezésekor vizes közegű vizsgálatoknál szinte mindig feltételezik a zárványkomplex kialakulását, azaz a molekula ciklodextringyűrűjébe történő (legalábbis részleges) bejutását. Természetesen a molekula bejutása a CD üregébe még nem jelenti feltétlenül a királis felismerés kialakulását, ehhez általában további kölcsönhatások létrejötte is szükséges. Említést érdemel azonban az a tény, hogy az irodalomban ezzel ellentétes mechanizmuselképzelések is napvilágot láttak, ahol arra a következtetésre jutottak, hogy a zárványkomplex kialakulása nem előfeltétele a királis felismerésnek [45-47].

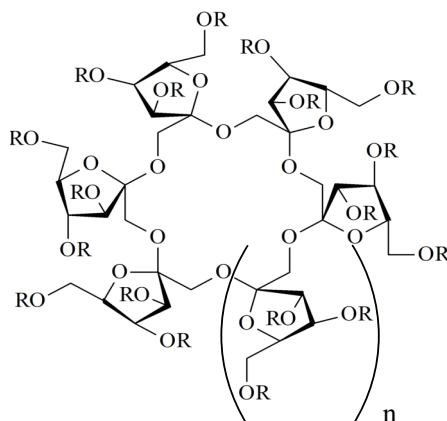
Normál fázisú (NP) körülmények között, illetve poláris-szerves (PO) és poláris-ionos (PI) módban a ciklodextrin hidrofób üregét kitöltik az oldószer molekulái, és így zárványkomplex kialakulása termodinamikailag kedvezőtlené válik, az üreg belsejében hidrofób kölcsönhatások kialakítására nincs lehetőség. (Poláris-szerves módnál poláris tulajdonságú szerves oldószerek elegyből áll az eluens, míg ha egy ilyen elegyhez megfelelő sav vagy bázis módosítót adagolunk, akkor poláris-ionos módról beszélünk.) A mintamolekula ebben az esetben a hidrofíl részével tud kötődni a ciklodextrin poláris felületéhez, az enantiomerek elválasztása az így kialakuló poláris kölcsönhatások erősségén alapul [48].

A ciklodextrin alapú királis állófázisok „multimodálisak”, egyaránt lehet őket használni NP, fordított fázisú (RP), PO és PI módban. A ciklodextrin alapú állófázisok bevezetésüktől kezdve napjainkig közkedvelt oszlopoknak számítanak, melyeket mi is számos esetben alkalmaztunk enantioszelektív elválasztásokra [XIV-XX].

2.4.4. Ciklofruktán alapú állófázisok

A makrociklusos oligoszacharidok családjának legismertebb képviselői a korábban tárgyalt ciklodextrinek, amelyek kitüntetett szerepet foglalnak el a királis elválasztástechnikában. Ugyanezen családba tartoznak a ciklofruktánok (CF) is, amelyek azonban a ciklodextrinektől szerkezetükben és viselkedésükben is jelentősen különböznek.

A ciklofruktánok 6 vagy több, egymáshoz β -(1 $\rightarrow$ 2) helyzetben kapcsolódó D-fruktofuranóz alegységből épülnek fel, általános szerkezetüket a **2. ábrán** mutatom be.



2. ábra

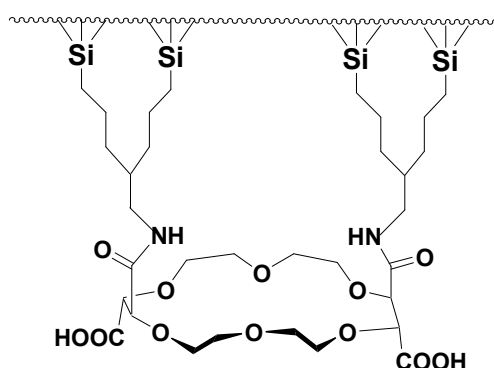
A ciklofruktánok általános szerkezeti sémája

A ciklofruktánok közül szelektorként a hat alegységből felépülő ún. CF6 rendelkezik komolyabb jelentőséggel, mivel tiszta formája könnyen elérhető és geometriája is jól meghatározott [49]. Fontos kiemelni, hogy a CF6 nem rendelkezik központi hidrofób üreggel, ellentétben a ciklodextrinekkal, ennek megfelelően hidrofób zárványkomplex képzésére nincs lehetőség. A módosítatlan CF6 esetén a hat fruktofuranóz egység mindegyike tartalmaz négy aszimmetriacentrumot és három OH-csoportot. Ezek központi magja megegyező struktúrát mutat a megfelelő koronaéterrel, az elválasztás szempontjából a protonált primer aminocsoport és az oxigénekből felépülő mag közti kölcsönhatás lesz a meghatározó. Természetesen az alapvegyület módosítása itt is lehetőséget biztosít a szelektor hatékonyságának növelésére, illetve a szelektivitás változtatására. A napjainkig felhalmozódott tapasztalatok azt mutatják, hogy a különböző szubsztituenssel módosított CF6 alapú állófázisok esetén eltérő elválasztási mechanizmussal mennek végbe az enantioszelektív elválasztások. Az alifás, minimálisan funkcionizált CF6 szerkezete „laza”, nyitott központi résszel rendelkezik. Ezzel szemben a nagyobb szubsztitúciós fokkal bíró aromás szubsztituenseket tartalmazó CF6 esetén lényegesen „zsúfoltabb” a gyűrű szerkezete, amely megakadályozza a szelektor belső részéhez történő hozzáférést, de ugyanakkor a külső részén különböző kölcsönhatások kialakulását biztosítja [50]. A ciklofruktán alapú oszlopok fejlesztése *Armstrong* és csoportjához köthető. Az első közlemény 2009-ben jelent meg, melyben primer aminok elválasztásáról számoltak be természetes és módosított CF6 állófázison [50]. Az alig néhány éve kereskedelmi forgalomban kapható oszlopok szakirodalma még igen szűk, alkalmazásukkal mind az SFC, mind a HPLC területén értünk el fontos eredményeket [XXI-XXIII].

2.4.5. Koronaéter alapú állófázisok

A makrociklusos vegyületek családjába tartozó poliéterek alkáli- és alkáliföldfém-ionokkal, illetve az ammóniumionnal képesek komplexeket alkotni, amelyben a poliéter „megkoronázza” a gyűrűjébe illeszkedő központi iont [51]. Ezt a tulajdonságukat kihasználva a koronaéter alapú állófázisok leginkább olyan vegyületek elválasztására alkalmasak, melyek tartalmazzak az alkáli-, illetve az alkáliföldfém-ionokhoz hasonló méretű primer aminocsoportot. Az aminocsoportból savas körülmények között keletkező alkil/aril-ammóniumion zárványkomplex képződésén keresztül kapcsolódik a koronaéterhez, így a királis felismerésben a sztérikus hatások meghatározó szerepet töltenek be.

1979-ben *Sogah* és *Cram* számolt be először polisztirolvázhhoz kötött, koronaéter alapú királis állófázison végzett enantioszelektív elválasztásról [52]. Mintegy két évtizeddel később *Hyun* és munkatársai [53], illetve *Machida* és munkatársai [54] írták le kémiaileg kötött, koronaéter alapú állófázisok szintézisét és alkalmazását primer aminocsoportot tartalmazó vegyületek enantiomerjeinek elválasztására. Az elmúlt évtizedek során több koronaétert vizsgáltak meg. Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a királis elválasztásokra szélesebb körben alkalmasnak bizonyult koronaéterek közül a binaftilgyűrűt vagy tetrakarbonsavat tartalmazó származékok érdemelnek említést [55]. A hordozón kívül, hasonlóan a makrociklusos glikopeptidekhez, a koronaétereknél is a szelektoron és/vagy a szelektort a hordozón rögzítő karon elhelyezett funkciós csoportok befolyásolják számottevően a kromatográfiás tulajdonságokat és a királis megkülönböztetés mértékét. A koronaéter alapú állófázisok szelektorára a **3. ábrán** mutatok be egy példát.



3. ábra

(+)-(18-Korona-6)-2,3,11,12-tetrakarbonsav szelektor szilikagélen rögzítve [56]

Minden koronaéter alapú állófázisra igaz, hogy az ammóniumion–koronaéter komplex létrejötte szükséges (de nem feltétlenül elégséges) a királis felismeréshez, így ezek az állófázisok igazán széles körben nem terjedtek el. Koronaéter alapú állófázisokkal primer aminocsoportot tartalmazó vegyületek esetén sok esetben sikeres elválasztást értünk el [XXIV-XXIX].

2.4.6. Donor–akceptor (*Pirkle*-típusú) állófázisok

A donor–akceptor (pl. H-kötés, π – π) kölcsönhatásokat kínáló, kis molekulatömegű, a hordozóra kovalensen rögzített állófázisokat a királis állófázisok területén végzett fejlesztő tevékenysége [57] elismeréseként az irodalomban igen gyakran *Pirkle*-típusú állófázisként emlegetik. Ezen jó kinetikai hatékonysággal jellemezhető állófázisok esetén az egyedi szelektormolekulákkal egyenletesen borított hordozó könnyen hozzáférhető felületet kínál az elválasztandó enantiomerek számára, míg a hordozó és a szelektor közötti kovalens kötés termikus stabilitást biztosít. Tipikusan normál fázisú körülmények között, illetve poláris-szerves módban alkalmazott állófázisok, ahol a szelektor sok esetben mindkét enantiomer (tiszta) formájában elérhető, így az oszlopok cseréjét követően lehetőség nyílik az elúciós sorrend megváltoztatására. A *Pirkle*-típusú állófázisok nem tartoznak a legnépszerűbb oszlopok közé és az utóbbi években az alkalmazások száma is csökkent [58-60].

2.4.7. Szintetikus polimer alapú állófázisok

A természetes polimerek (pl. poliszacharidok) mellett szintetikus úton előállított polimerek is alkalmazhatók királis elválasztásokra. A királis monomer egységből polimerizáció révén létrejövő szelektorok (pl. poliakrilamid, polimetakrilát, poliiizocianidok, stb.) a természetes polimerekhez hasonló enantiomerfelismerő-képességgel rendelkezhetnek. Előállításukra általában kétféle megközelítést alkalmaznak, i) a polimert a hordozótól függetlenül szintetizálják, majd a képződött polimert rögzítik (pl. kopolimerizációval) a felületen, ii) a polimert a hordozó felületére szintetizálják [61]. Annak ellenére, hogy több ilyen állófázis is elérhető kereskedelmi forgalomban, az utóbbi időben királis vegyületek elválasztását leíró közlemény meglehetősen kevés jelent meg a nemzetközi szakirodalomban [62, 63]. (Akirális HPLC és ionkromatográfiás alkalmazások esetén a polimer alapú állófázisok alapvető fontosságúak.)

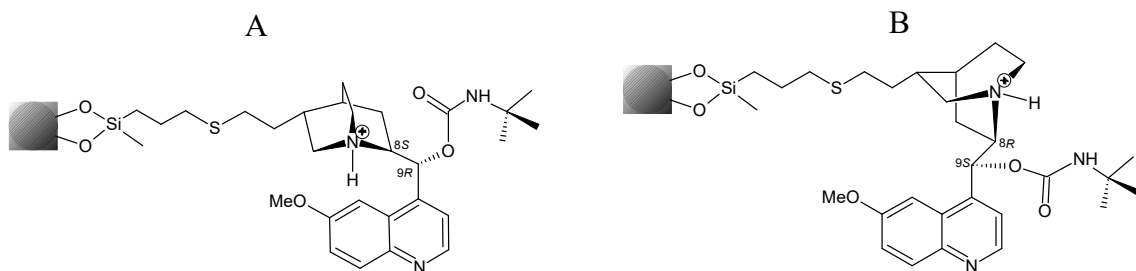
2.4.8. Molekuláris lenyomatú polimer alapú állófázisok

A molekuláris lenyomatú polimerek (MIP) kialakítása tipikusan három lépésből áll i) oldatfázisú reakció esetén az ún. templát (avagy lenyomat) molekula körül meghatározott rendben elhelyezkednek a monomer egységek, ii) a kopolimerizáció során a templát molekula beépül a polimer szerkezetébe, iii) a templát eltávolítását követően a merev mátrixban létrejött kötőhely szelektív felismerésre lesz képes. A molekuláris lenyomatú szintetikus polimerek alkalmazására sok példa lelhető fel a kémia különböző területein [64]. Erre az elgondolásra alapozva kromatográfiás állófázisok is kialakíthatók, a fentebb említett eljárást követően a képződött polimert megfelelő méretűvé alakítva lehetőség nyílik kromatográfiás töltetként történő alkalmazásra is. Királisan tiszta templát molekulát alkalmazva királis állófázis is kialakítható, azonban annak vegyületspecifikussága miatt egy adott oszloptól széleskörű alkalmazást nem várhatunk. Ennek fényében érthető, hogy az utóbbi években igen kevés olyan közlemény született, ami a MIP-ek királis állófázisként történő használatáról számol be [65]. (Ma már kijelenthető, hogy a MIP-ek leginkább mintaelőkészítésben használhatók.)

2.4.9. Ioncserélő alapú állófázisok

A kinin (QN) és annak az ún. pszeudoenantiomer izomere a kinidin (QD) a legjelentősebb képviselői a kinafa kérgéből kivont alkaloidoknak. (A pszeudoenantiomer kifejezés arra utal, hogy a két sztereoizomer egymással diasztereomer viszonyban áll, a királis felismeréseket tekintve viszont igen gyakran enantiomerként viselkednek.) Az első tudományos cikkek a kinafa kérgéből kinyert cinkóna alkaloidok királis elválasztásra történő alkalmazásáról az 1980-as években jelentek meg [66, 67]. Az ionpár képzésen alapuló analízisek sikerei után olasz kutatók 1985-ben közöltek eredményeket szilikagélen rögzített kinin alapú állófázison elvégzett királis elválasztásokról [68]. Az ezt követő években számos közlemény jelent meg a kinin és kinidin alapú állófázisok szintéziséről és az előállított oszlopokon végrehajtott enantioszelektív analízisekről, de az állófázisok nem megfelelő stabilitása, meglehetősen szűk körű alkalmazhatósága, illetve a tapasztalt kicsiny enantioszelektivitások nem tették lehetővé a szélesebb körű elterjedést. Az 1990-es években *Lindner* és munkatársai számoltak be arról, hogy a szekunder C9-es hidroxilcsoportot karbamoilcsoportra cserélve jelentősen növekedett a gyenge anioncserélő (WAX) típusú állófázis enantiomerkelimeső-képessége, különböző királis karbonsavak elválasztása esetén [69]. Ezeket az anioncserélő állófázisokat 2002-ben a Bischoff Chromatography vezette be elsőként a piacra, majd 2005-től *Chiralpak QN-AX*, illetve

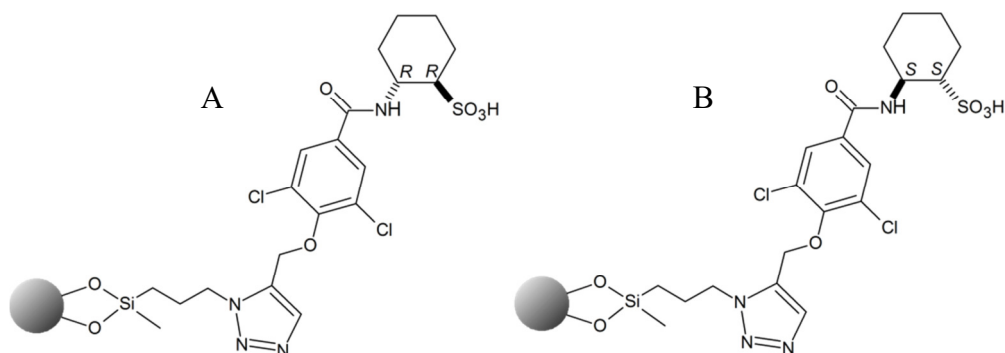
Chiralpak QD-AX néven forgalmazza a Chiral Technologies Europe. Az állófázisok szerkezetét a **4. ábrán** mutatom be.



4. ábra

A *Chiralpak QN-AX* (A) és *QD-AX* (B) oszlopok szelektorai

Az anioncserélő fázisok sikereire alapozva *Lindner* és munkatársai aminociklohexán-szulfonsav alapú csoportot rögzítve a kromatográfiás hordozóra, kationcserélő állófázisokat állítottak elő [70]. A szelektor hordozóra történő rögzítését továbbfejlesztve – az általunk is alkalmazott – erős kationcserélő (SCX) állófázisokat állítottak elő [71]. Ez utóbbiak szerkezetét az **5. ábrán** mutatom be.



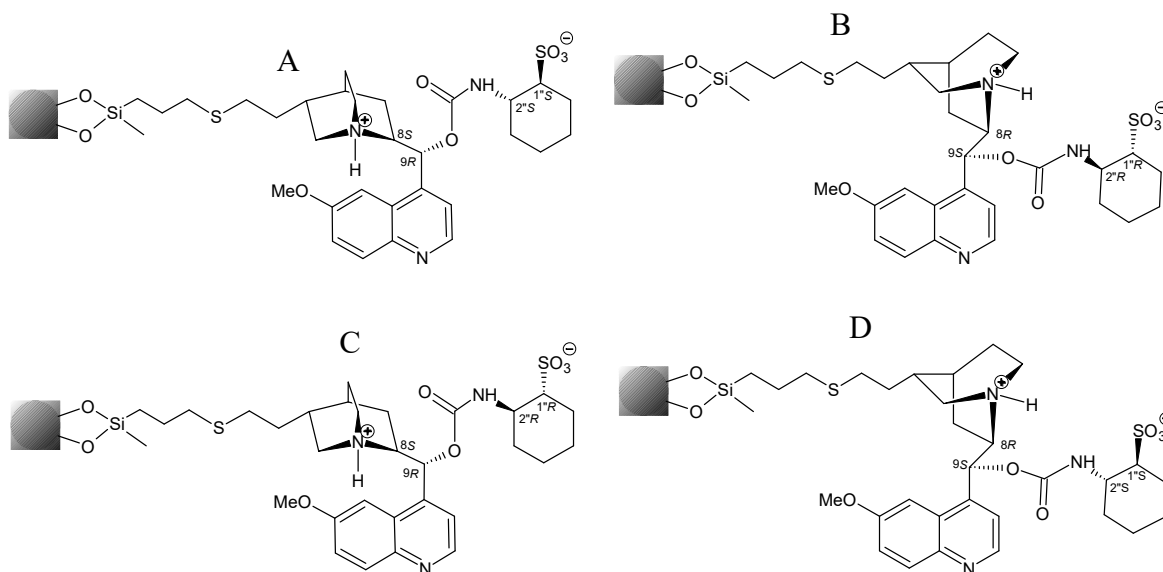
5. ábra

A *DCL-RR* (A) és a *DCL-SS* (B) jelű kationcserélő állófázisok szerkezete

Lindner és munkatársai a korábban tárgyalt anioncserélő szerkezetének további módosításával karbamátkötéssel az erős kationcserélőknél alkalmazott aminociklohexán-szulfonsav alapú csoportot beépítve egy ikerionos, anion- és kationcserélő tulajdonsággal egyaránt rendelkező királis szelektorhoz jutottak [72].

A két alegység (QN vagy QD és *(R,R)*- vagy *(S,S)*-aminociklohexán-szulfonsav, ACHSA) kombinációjával négyféle szelektor alakítható ki. A Chiral Technologies Europe az előállítás jogokat megvásárolva, *Chiralpak ZWIX(+)* néven hozza forgalomba a QN és *(S,S)*-ACHSA, és *ZWIX(-)* néven a QD és *(R,R)*-ACHSA egységekből felépülő szelektorokat tartalmazó oszlopokat. A másik két változat a *ZWIX(+A)* (QN és *(R,R)*-

ACHSA) és a *ZWIX(-A)* (QD és *(S,S)*-ACHSA) egyelőre kereskedelmi forgalomban nem kapható. Az említett 4 oszlop szelektorait a **6. ábrán** mutatom be.



6. ábra

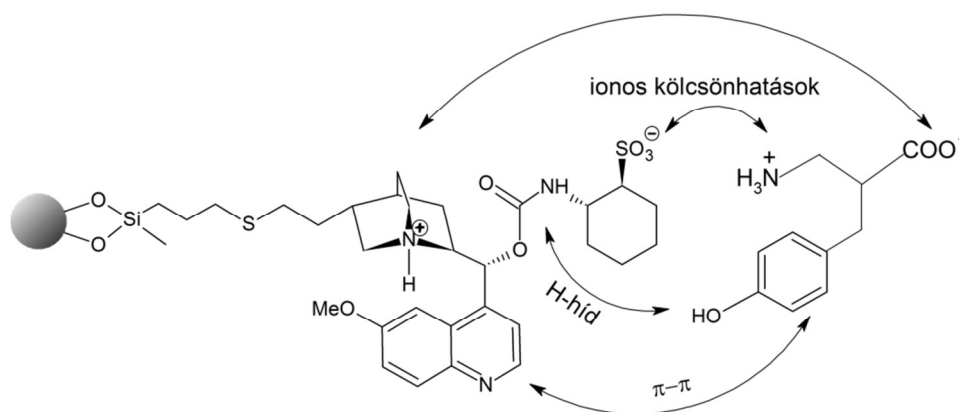
Ikerionos kolonnák szelektorai

A: *ZWIX(+)*, B: *ZWIX(-)*, C: *ZWIX(+A)*, D: *ZWIX(-A)*

Ioncserén alapuló elválasztás esetén a retenció elsődlegesen az oldatban levő ionok és az állófázison rögzített, töltéssel rendelkező funkciós csoportok között kialakuló ionos kölcsönhatás révén jön létre. Az ionos kölcsönhatás mellett a hidrogénhidas, π - π és van der Waals kölcsönhatások segítik elő a királis felismerést. Annak érdekében, hogy a szelektor és az elválasztani kívánt vegyületek megfelelő töltéssel rendelkezzenek, sav és bázis módosítókat kell a mozgófázishoz adagolni.

Az ikerionos típusú állófázisoknál egyidejűleg két ionpár képződésére nyílik lehetőség a szelektor gyenge anioncserélő (tercier amin) és az erős kationcserélő (szulfonsav) része, illetve az elválasztandó vegyület (pl. aminosavak esetén az amino- és a karboxilcsoport) között kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatások révén. A királis felismerésben fontos szerepet betöltő másodlagos kölcsönhatások a H-híd, van der Waals, π - π és szterikus kölcsönhatások lehetnek, amint azt a **7. ábra** mutatja.

Az ikerionos állófázisok kereskedelmi forgalomban még csak néhány éve érhetők el, de mára már több alkalmazást is megemlíthetünk [73-80] [E1-E17].



7. ábra

Ikerionos típusú állófázisok lehetséges kölcsönhatásai

2.4.10. Makrociklusos antibiotikum (glikopeptid) alapú állófázisok

A makrociklusos antibiotikumok királis szelektorként történő alkalmazását elsőként *Armstrong* és munkatársai írták le 1994-ben [81]. Az intenzív fejlesztő munkának köszönhetően rövid időn belül robusztus, széleskörűen alkalmazható állófázisokat sikerült előállítani és kereskedelmi forgalomba hozni, melyek komoly népszerűsége tettek szert az elmúlt két évtized során.

A makrociklusos glikopeptid alapú állófázisok „közkeletűsége” elsősorban azzal magyarázható, hogy a szelektorként alkalmazott antibiotikumok többféle minőségében és erősségében eltérő kölcsönhatás kialakítására képesek. A többi szelektorról ellentétben ebbe a családba molekulák százai tartoznak, melyek roppant változatos szerkezettel, és meglehetősen eltérő kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Általánosan elmondható, hogy képviselőik molekulatömege 600 és 2200 g/mol közé esik. Vannak közöttük savas, bázikus és semleges vegyületek egyaránt, többségüknek nincs számottevő elnyelése az UV-Vis-tartományban. (Ennek a tulajdonságnak ma már inkább csak a kapilláris elektroforetikus alkalmazásoknál van jelentősége, ahol fontos szempont, hogy a háttélelektrolitban oldott szelektor ne rendelkezzen jelentős UV-elnyeléssel.) A HPLC-ben szelektorként alkalmazott fontosabb képviselők néhány fizikai és kémiai jellemzőjét a **2. Táblázatban** mutatom be [XXX].

2. Táblázat

Néhány fontosabb makrociklusos antibiotikum fizikai-kémiai tulajdonságai [XXX]

Tulajdonságok	Anszamicinek		Glikopeptidek							Poliipeptidek
	Rifamicin B	Rifamicin SV	Avoparcin	Teikoplanin A ₂₋₂	Teikoplanin A-40,926	Teikoplanin aglikon	Risztoctin A	Vankomicin	Norvankomicin	Tiosztrepton
Molekulatömeg	755	698	α = 1908 β =1942	1877	B ₀ =1732 B ₁ =1718	1197	2066	1449	1435	1665
Kiralitáscentrumok száma	9	9	32	23	B ₀ =19 B ₁ =18	8	38	18	18	17
Makrociklusok száma	1	1	3	4	4	4	4	3	3	2
Aromás gyűrűk száma	2	2	7	7	7	7	7	5	5	1
Monomer cukorrészek száma	0	0	5	3	2	0	6	2	2	0
Hidrofób lánc	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Hidroxilcsoportok száma	4	5	16	15	11	7	21	9	9	5
Aminocsoportok száma	0	0	2	1	0	1	2	2	2	1
Szekunder aminok száma	0	0	1	1	2	0	0	1	1	1
Amidcsoportok száma	1	1	6	7	6	6	6	7	7	11
Karboxilcsoportok száma	1	0	1	1	2	1	0	1	1	0
Metoxilcsoportok száma	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Metoxi-észterek száma	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Előállítás	<i>Nocardia mediterranei</i>	<i>Nocardia mediterranei</i>	<i>Streptomyces candidus</i>	<i>Actinoplanes teicomyceticus</i>	<i>Actinoplanes teicomyceticus</i>	szintetikus úton teikoplaninból	<i>Nocardia lurida</i>	<i>Streptomyces orientalis</i>	<i>Streptomyces orientalis</i>	<i>Streptomyces azureus</i>

A makrociklusos antibiotikum alapú szelektorok összetett szerkezetük és többféle funkciós csoportjuk révén sokféle kölcsönhatás kialakítására képesek (pl. elektrosztatikus, hidrofób–hidrofób, π – π , H-híd, szterikus gátlás, stb.), így érthető, hogy segítségükkel a vegyületek igen széles köre vizsgálható [E18–E28, XXX–XXXII]. Amint azt már több állófázisnál is megjegyeztem, a szélesebb körű elterjedésben ebben az esetben is fontos szerepet játszott az oszlopok stabilitása. Napjainkban a kereskedelmi forgalomban kapható *Chirobiotic* márkanevű oszlopok állófázisa szilikagélhez kémiaiilag kötött makrociklusos antibiotikum. A szerkezeti változatosság mellett további előnyként említést érdemel, hogy az oszlopok (a CD alapú oszlopokhoz hasonlóan) multimodálisak, azaz többféle kromatográfiás módozatban is alkalmazhatók.

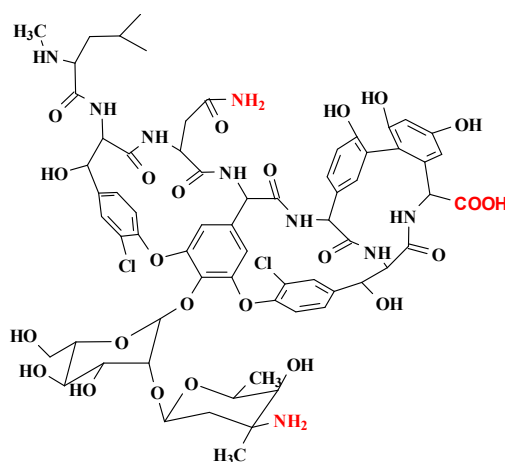
Egy HPLC oszlop megválasztásánál az utóbbi években egyre fontosabbá váló szempont az, hogy az elválasztó rendszer kapcsolható legyen tömegspektrometriás (MS) detektálással. Ennek a feltételnek ezek az oszlopok kiválóan megfelelnek, hiszen nagy hatékonysággal működtethetőek PI és PO módban. Fontos azonban kiemelni, hogy a kromatográfiás módok (NP, PO, PI, RP) változtatása a már említett szerkezeti változatosság miatt még egy adott szelektor esetén is a korábban tapasztalttól jelentősen eltérő enantioszelektivitáshoz vezethet, hiszen a mozgófázis összetételének változtatásával más-más mechanizmusok kerülhetnek előtérbe az enantiomerek felismerésében. Ez egyben további lehetőségeket teremt a módszerfejlesztésben.

Az antibiotikum alapú szelektorok egyik legfontosabb jellemzője az ionos sajátság. Az ionos illetve ionizálható funkciós csoportok fontos szerepet játszhatnak a királis felismerés folyamatában, így az elválasztandó enantiomerek szerkezetének ismeretében az oszlop és a kromatográfiás mód helyes megválasztása nagymértékben gyorsítja a módszerfejlesztés folyamatát. A *Chirobiotic* oszlopok igen gyakran komplementer tulajdonságokat mutatnak egymással, azaz amennyiben az egyik oszloppal részleges elválasztást sikerül elérni, jó esély van rá, hogy egy másik *Chirobiotic* oszlopon biztosítható lesz az alapvonalra történő elválasztás. Ez a tulajdonság az oszlopok analóg szerkezetére vezethető vissza. Valamennyi *Chirobiotic* oszlopra jellemző, hogy a szelektora rendelkezik egy peptid vázzal, ami H-kötés és dipólus–dipólus kölcsönhatások kialakítására nyújt lehetőséget. Ionos vegyületek elválasztásakor a korábban említett ionizálható funkciós csoportok (amino- és/vagy karboxilcsoport) természetesen ionos kölcsönhatások kialakulásának lehetőségét kínálják. Amennyiben a szelektor cukoregységeket is tartalmaz, azok további H-kötések létrejöttében játszhatnak szerepet, illetve térbeli elhelyezkedésükkel segíthetik vagy gátolhatják az enantiomerek megkülönböztetését. Végül arról sem szabad

megfelelkezni, hogy a makrociklusok kosárszerű szerkezetet vehetnek fel, így fordított fázisú körülmények között (a ciklodextrineknél tárgyalt módon) zárványkomplexek kialakulása is megtörténhet. Újra fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy az említett kölcsönhatások királis felismerésben betöltött szerepe a mozgófázis összetételével jelentősen változhat, ez további lehetőséget biztosít a hatékony elválasztás kidolgozására. A következőkben röviden tárgyalom az egyes *Chirobiotic* állófázisok szerkezeti jellemzőit.

A vankomicin

A természetes vankomicint (**8. ábra**) a *Streptomyces orientalis* baktérium termeli [82], tömege 1449 g/mol és 18 kiralitás centrum található a molekulában. A vankomicin jól oldódik vízben, ez a tulajdonsága poláris karakterére utal. Három makrociklusos részből épül fel, melyek együttesen apoláris belsővel rendelkező kosárszerű szerkezetet képeznek. Ennek a szerkezetnek tulajdonítható a hidrofób–hidrofób kölcsönhatások létrejötte, illetve az enantioszelektivitásban sok esetben meghatározó szerepet betöltő szterikus hatás is, melyhez a vankomicin két cukor egysége is hozzájárul. A π – π kötések kialakításáért a szelektorban található öt aromás gyűrű a felelős, míg a két klórszubsztituenst tartalmazó aromás gyűrű π -savas jellegével főként normál fázisban járul hozzá a királis felismeréshez (**8. ábra**). Az ionos kölcsönhatás kialakításért két primer amino-, egy szekunder amino- és egy karboxilcsoport a felelős.



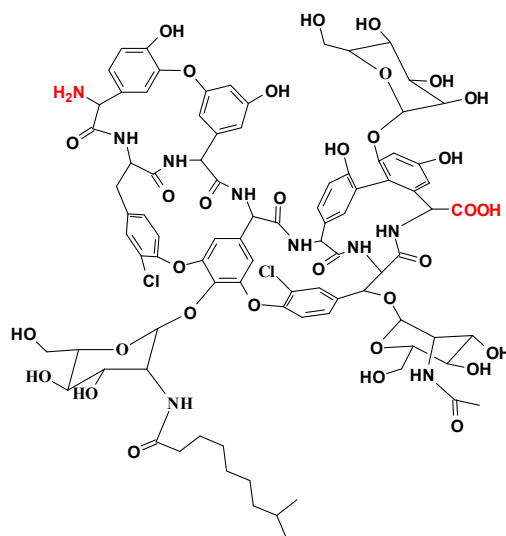
8. ábra

A vankomicin szerkezete

A teikoplanin és teikoplanin aglikon

A teikoplanin az *Actinoplanes teichomyceticus* baktérium által termelt makrociklusos glikopeptid, ami öt, szerkezetében igen hasonló molekula keveréke [83]. Közülük a

legnagyobb mennyiségben termelt teikoplanin A₂₋₂ (**9. ábra**) képezi az alapját a *Chirobiotic T* és *T2* oszlopnak, így ennek a szerkezeti jellemzőit röviden ismertetem. Hasonlóan a vankomicinhez, itt is megtalálható a kosárszerű szerkezet, de itt ezt négy makrociklus hozza létre. A hét aromás gyűrű, amelyek közül kettő egy-egy klórszubsztituenszt tartalmaz π - π kötések, illetve π -sav, π -bázis kölcsönhatás kialakításában vehet részt. A teikoplanin ionos jellegéért egy karboxil- (pK~2,5), illetve egy primer aminocsoport (pK~9,2) a felelős. (Fordított fázisú kromatográfiás mérések esetén ezen állófázisok ideális pH-tartományában, pH=3,5–8,0 között a molekula ikerionos állapotban van.)



9. ábra

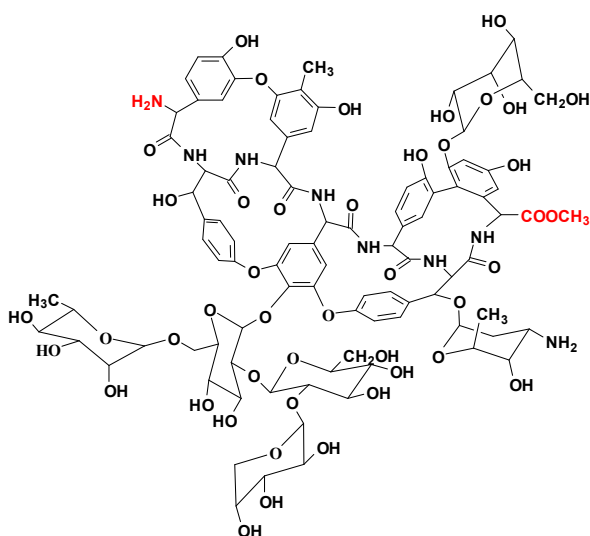
A teikoplanin A₂₋₂ molekula szerkezete

Fontos megemlíteni, hogy a teikoplanin aglikon vázához három cukorrész kapcsolódik, két D-glükózamin és egy D-mannóz, a hidrofób–hidrofób kölcsönhatás kialakításért felelős nonillánc a D-glükózaminhoz kötődik. A cukorrész lehetséges hozzájárulását a királis felismerési folyamathoz három pontban lehet összefoglalni [84]:

- sztérikusan gátolhatja a kosár belsejéhez való hozzáférést,
- meggátolhatja a lehetséges kölcsönhatás kialakítását az aglikon két fenolos és egy alkoholos hidroxilcsoportjával, amelyeken keresztül a három cukorrész kapcsolódik a natív teikoplanin esetén,
- a cukorrészen lévő alkoholos hidroxil-, éter- és amidcsoportok, valamint a nonillánc további kölcsönhatási lehetőséget biztosítanak a minta molekulákkal.

A risztocetin A

A 2066 g/mol tömegű és 38 kiralitás centrummal rendelkező risztocetin A (**10. ábra**) a *Nocardia lurida* fermentációs terméke [85]. A risztocetin A 21 darab hidroxilcsoportjának köszönhetően a legpolárisabb szelektor, amit a hidrofób nonillánc hiánya tovább erősít. A korábbiakhoz hasonlóan itt is megtalálható a kosárszerű szerkezettel rendelkező aglikon, amit négy makrociklus hoz létre. Jelentős különbség viszont, hogy nincs szabad karboxilcsoport, helyette metilészter-csoportot tartalmaz a szelektor, ami kationos jellegű vegyületekkel gyengébb kölcsönhatást eredményezhet.



10. ábra

A risztocetin A molekula szerkezete

2.4.11. Poliszacharid alapú állófázisok

1951-ben *Kotake* és munkatársai számoltak be először cellulóz állófázison végrehajtott elválasztásról, ahol is aminosavak enantiomerjeit választották el papírkromatográfiával [86]. Az 1960-as és 70-es években hordozó nélküli cellulózszármazékokon hajtottak végre sikeres elválasztásokat [87, 88]. A kísérleti tapasztalatok alapján az 1980-as évekre felismerték, hogy ugyan a hordozó nélküli állófázisok nagyobb mintakapacitást és hatékonyabb elválasztást nyújthatnak, de a szélesebb körű alkalmazhatóság érdekében növelni kell az oszlopok mechanikai stabilitását és szélesíteni az elválasztás során alkalmazható oldószerek körét. Ennek tükrében érthető, hogy miért is számít mérföldkönek *Okamoto* és munkatársai 1984-es közleménye, melyben szilikagélen rögzített cellulózszármazék (fenilkarbamát) alkalmazását írták le néhány eltérő szerkezetű királis vegyület enantiomereinek megkülönböztetésére [89]. A további fejlesztéseknek köszönhetően az 1990-es években megjelentek a kereskedelmi forgalomban kapható

poliszacharid alapú oszlopok, melyek kedvező tulajdonságaiknak köszönhetően mára a legnépszerűbb királis állófázisokká váltak.

Ugyan az elmúlt három évtized során számos poliszacharid (illetve származék) királis állófázisként történő alkalmazási lehetőségét vizsgálták, közülük gyakorlati jelentőséggel csak a cellulóz és az amilóz alapú karbamát- és észterszármazékok rendelkeznek. (Módosítás nélkül a természetes poliszacharid alapú állófázisok előállítása meglehetősen nehézkes, ráadásul az ilyen állófázisok a tapasztalatok szerint kisebb hatékonyságúak, mint a módosított változataik.) Az utóbbi években ezen állófázisok fejlesztése során a polimerlánchoz rögzített aromás gyűrű szubsztituensének a minősége és helyzete optimalizálására helyezik a hangsúlyt. Egy gyártói szabadalom lejártát követően komoly piaci verseny alakult ki, ami azt eredményezte, hogy számos, elvileg ugyanazzal a szelektorrall rendelkező oszlop kapható jelenleg kereskedelmi forgalomban. Fontos megjegyezni, hogy ezek az oszlopok a hordozó (szilikagél) minőségében, az amilóz és cellulózlánc polimerizációs fokában, és a szelektor állófázishoz való rögzítésének módjában is jelentősen különbözhetnek egymástól, ezért szelektivitásukban is lényeges különbségek jelentkezhetnek.

A D-glükózegységekből felépülő polimerlánc cellulóznál 1β -4, míg amilóznál 1α -4 kapcsolódású, így a két poliszacharid szerkezete eltérő lesz. A polimer királis felismerőképességét három hatásra szokás visszavezetni:

- i) „molekuláris kiralitás”, a glükózegységekben jelenlevő királis centrumok hatása;
- ii) „konformációs kiralitás”, az egyedi láncok szerkezetének hatása;
- iii) „szupramolekuláris kiralitás”, a számos polimerlánc alkotta rendezett szerkezet hatása [90].

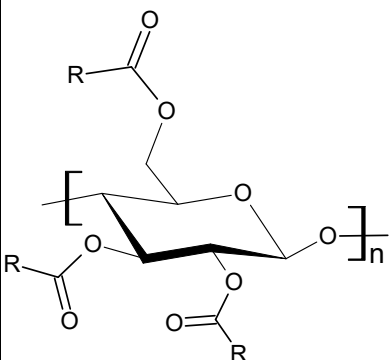
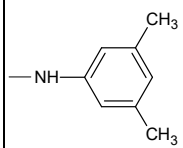
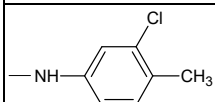
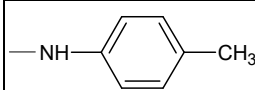
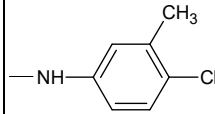
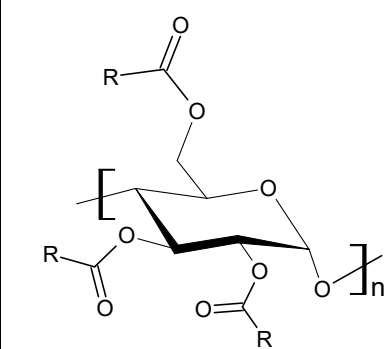
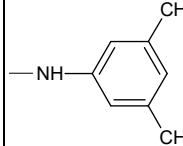
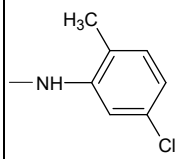
Poliszacharid alapú állófázisoknál a H-híd és a dipólus–dipólus kölcsönhatások töltenek be kiemelkedő fontosságú szerepet a királis felismerésben, így érthető, hogy lehetőség szerint érdemes kerülni a víz hozzáadását az eluenshez, hiszen az H-híd kölcsönhatások kialakításán keresztül (kompetitív hatás) jelentősen csökkentheti az állófázis enantioszelektivitását. Természetesen következik ebből, hogy ezeket az állófázisokat inkább normál fázisú körülmények között célszerű használni. Hexán vagy heptán és alkohol (pl. propán-2-ol) valamilyen arányú elegye az esetek többségében jól alkalmazható kiinduló eluensként a módszerfejlesztés folyamatában. Fontos azonban megemlíteni, hogy az utóbbi időben a kereskedelmi forgalomban megjelentek már a fordított fázisú körülményekre fejlesztett poliszacharid alapú állófázisok is, amiket nem célszerű normál fázisú körülmények között használni. (A kromatográfiai módok váltogatása egy adott

oszlop esetén a retenciós idők megváltozásához, illetve csökkent hatékonysághoz és eltérő enantioszelektivitáshoz vezethet.)

Az értekezésben tárgyalt kísérleti eredményekhez kapcsolódó poliszacharid alapú szelektorokat az **3. Táblázatban** mutatom be.

3. Táblázat

Az alkalmazott cellulóz és amilóz alapú kolonnák szerkezete

Polimer lánc	R	Szelektor elnevezése
		cellulóz- <i>trisz</i> -(3,5-dimetil-fenilkarbamát) <i>Chiracel OD-H</i> <i>Cellucoat</i> <i>Cellulose-1</i>
		cellulóz- <i>trisz</i> -(3-klór-4-metil-fenilkarbamát) <i>Cellulose-2</i>
		cellulóz- <i>trisz</i> -(4-metil-benzoát) <i>Cellulose-3</i>
		cellulóz- <i>trisz</i> -(4-klór-3-metil-fenilkarbamát) <i>Cellulose-4</i>
		amilóz- <i>trisz</i> -(3,5-dimetil-fenilkarbamát) <i>Amycoat</i> <i>Amylose-1</i>
		amilóz- <i>trisz</i> -(5-klór-2-metil-fenilkarbamát) <i>Amylose-2</i>

Az alkalmazások számát tekintve a cellulóz és amilóz alapú állófázisok napjainkban valószínűleg a leggyakrabban használt oszlopok, a nem ionizálható vegyületek királis analízisének nélkülözhetetlen eszközei [E29–E38, XIV].

2.5. A királis állófázisok rövid, kritikai összehasonlítása

Az állófázisok összehasonlítására több szempont is kínálkozik, például az állófázisok működési mechanizmusa, szerkezeti sajátosságai, a velük elválasztható komponensek kémiai

tulajdonságai, szerkezete, a mozgófázisként szóba jöhető oldószerek köre, az alkalmazható hőmérséklet- és pH-tartomány, kapcsolható detektálási lehetőségek, MS-kompatibilitás, stb. A korábban említett állófázisok közül ebben a fejezetben csak a leggyakrabban alkalmazottakat tárgyalom. (A *Pirkle*-típusú, a fehérje, szintetikus polimer és molekuláris lenyomatú polimer alapú állófázisok alkalmazási köre meglehetősen korlátozott, ezek az állófázisok mára sokat veszítettek jelentőségükből.)

A ligandumcserés állófázisok elválasztási mechanizmusának alapja egy terner komplex képzése a hordozóhoz kötött szelektor, a mozgófázisban lévő fémion és az elválasztandó komponens között. A koordináció létrejöttében szelektorként többnyire aminosavak és származékaik vesznek részt. (Természetesen a vizes közegű komplexképződési folyamatokhoz hasonlóan, a vízmolekulák itt is koordinálódhatnak a fémionhoz.) Eluensként tipikusan a fémsó savas oldatát alkalmazzák, módosítóként különböző (vízzel elegyedő) szerves oldószerek jöhetnek szóba. A módszer a két, illetve három donoratomot tartalmazó vegyületek elválasztására alkalmas, mint például aminosavak, hidroxisavak, aminoalkoholok és diolok. Az eluensben jelenlevő fényelnyelő ionok a HPLC-ben leggyakrabban alkalmazott UV-detektálás szempontjából kifejezetten hátrányosak, a tipikusan alkalmazott viszonylag nagy fémsó-koncentráció (1–10 mM) szűkíti az alkalmazható detektálási technikákat, gátolja az MS-detektor kapcsolását. A HPLC-ben megszokott hőmérséklettartomány egésze kihasználható, viszont a fémionok oldhatósága korlátot szab az alkalmazható pH-nak. A ligandumcserés elválasztások tehát a vegyületek viszonylag szűk körére vethetők be, az újabb kolonna típusok fejlesztésével jelentőségük sokat csökkent az elmúlt évtized során.

A zárványkomplex képző állófázisok közül a ciklodextrin alapúak a legelterjedtebbek. Az elválasztás szempontjából kifejezetten előnyös, ha a minta aromás gyűrűt tartalmaz, ezt sokszor származékképzéssel építik be (pl. fenil-, benzil-, naftil-, danzilszármazékok, stb.) a molekulába. A királis felismerést alapvetően az szabja meg, hogy az aromás rész milyen szorosan helyezkedik el a CD üregében, ez az állófázis kiválasztásának egyik alapja. Természetesen ez nem elégséges feltétele a királis felismerésnek. A mozgófázis szempontjából előnyösebb a vizes rendszerek használata, szerves oldószerek kiszoríthatják a minta komponenseket a CD hidrofób üregéből. A CD alapú oszlopok a megfelelő oldószerkompatibilitás és viszonylag széleskörű alkalmazhatóság révén közkedvelt állófázisoknak számítanak.

A zárványkomplex képzésre hajlamos koronaéter és ciklofruktán állófázisok gyakorlatilag csak a primer aminocsoportot tartalmazó aminok és aminosavak esetében

rendelkezik megfelelő szelektivitással. A protonált ammóniumion jól illeszkedik a koronaéter üregébe, a magot alkotó oxigénatomokkal kialakuló kölcsönhatásokon kívül a királis felismeréshez további, másodlagos kölcsönhatások is szükségesek. Az állófázisok csak erősen savas közegben működnek, ez hátrányt jelenthet savérzékeny vegyületek esetén.

Manapság poliszacharid alapú állófázisokat használnak leggyakrabban a királis HPLC területén. Módosított változataik kiválóan alkalmazhatók semleges nagymolekulájú, többnyire aromás rendszerek analízisére. Elválasztási mechanizmusuknak megfelelően (főként H-híd, diszperziós, szterikus és π - π kölcsönhatások) többnyire NP vagy PO módban alkalmazhatók. Sajnos ionos vagy ionizálható vegyületek elválasztására nem alkalmasak, mivel maguk sem tartalmaznak ionizálható csoportokat.

A makrociklusos glikopeptidek és az ioncserélő állófázisok szerkezetüknél fogva elsősorban ionos vagy ionizálható vegyületek elválasztására alkalmasak (pl. aminosavak, szerves savak, aminosavak), de sok esetben semleges alifás vagy aromás vegyületek is elválaszthatók segítségükkel.

A tárgyalt állófázisok közül néhány multimodális, azaz egyaránt alkalmazható NP, RP, PO és PI módban. Ilyenek a CD alapú *Cyclobond*, a makrociklusos glikopeptid alapú *Chirobiotic* és az ioncsere alapú *ZWIX* és *QN/QD-AX* oszlopok, melyek esetén a módszerek váltogatása nem okoz hatékonyságvesztést. Az újonnan kifejlesztett kémiailag kötött „I”-jelű poliszacharid állófázisok is elvileg multimodálisak, azonban a kromatográfiás módozatok váltogatása ezeknél az oszlopoknál sokszor a szelektivitás csökkenését eredményez.

A napjainkban kereskedelmi forgalomban levő oszlopok túlnyomórészt kovalens kötéssel rögzített szelektorokat tartalmaznak, így ezek kiváló kémiai stabilitással rendelkeznek; az állófázis nem korlátozza a detektálási lehetőségeket. Nem szabad azonban arról elfelejtkezni, hogy többségük szilikagél hordozójú, így az állófázisok tipikusan savas és semleges pH-n használhatók. Az akirális oszlopoktól eltérően az alkalmazott hőmérséklettartomány királis állófázisok esetén szigorúbban korlátozott, a felső határ általában nem haladhatja meg a 40–50 °C-ot.

A fentiekben bemutattam, hogy az elválasztani kívánt modellvegyület szerkezete és kémiai tulajdonságai hogyan segítik az állófázis kiválasztását, de emellett a detektálási szempontokra is érdemes figyelemmel lenni. Fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy nincs, és jelenlegi tudásunk alapján nem is lesz univerzálisan használható királis állófázis. Így aztán érthető, hogy a sztereoszelektív kölcsönhatások kialakulásának tanulmányozása és az

enantioszelektív felismerés kialakulásának megértése miatt is különösen fontos ezen a területen.

2.6. A hőmérséklet hatása a királis elválasztásra, a termodinamikai paraméterek és a retenciós mechanizmus összefüggései

Akirális, fordított fázisú elválasztásokkal összehasonlítva, a királis elválasztások sok esetben lényegesen erősebb hőmérsékletfüggést mutatnak, így fontos ezen folyamatok tárgyalása (és vizsgálata). A hőmérséklet növelése csökkenti az eluens viszkozitását, illetve növeli az oldott anyag diffúziós állandóját. Ezen ún. kinetikai hatások kedvezően befolyásolják az elválasztást, hiszen a mozgó- és az állófázis között gyorsabban lejátszódó anyagátadási folyamatok megnövelik a kinetikai hatékonyságot [91]. A kinetikai hatás mellett azonban fellép egy ún. termodinamikai hatás is, az enantioszelektivitás az esetek többségében csökken a hőmérséklet növekedésével [92]. (Az eredményeink tárgyalásánál ettől eltérő tapasztalatról is be fogok számolni.) Ennek háttérében az áll, hogy a megoszlási hányados függ a hőmérséklettől, így a mozgó- és az állófázis között lejátszódó anyagátadási folyamatokat kísérő szabadentalpia-változás is hőmérsékletfüggő. (Ionos összetevők esetén a disszociációs állandó(k) hőmérsékletfüggése tovább bonyolítja a rendszert.) A szelektivitás csökkenése, illetve a kinetikai hatékonyság növelése ellentétesen hat a felbontásra, azaz a gyakorlati szempontból fontos felbontás hőmérsékletfüggését csak kísérleti úton tudjuk meghatározni. A fentieknek megfelelően enantiomerek elválasztása esetén megkülönböztetett figyelmet érdemes fordítani a hőmérséklet hatásának tanulmányozására.

A kromatográfiás jellemzők hőmérsékletfüggésének vizsgálata a retenciós mechanizmus feltérképezésének egyik lehetséges módja, hiszen a termodinamikai paraméterek értékes információkat hordozhatnak a retenciós mechanizmus szempontjából meghatározó szerepet betöltő folyamatokról.

Az egyensúlyi folyamatok standard szabadentalpiája kifejezhető az egyensúlyi állandóval,

$$-\Delta G^{\circ} = RT \ln K \quad (3)$$

ahol ΔG° a standard szabadentalpia-változás, R az egyetemes gázállandó és K az egyensúlyi állandó. A standard szabadentalpia-változás ismert a Gibbs-Helmholtz összefüggésből:

$$\Delta G^o = \Delta H^o - T\Delta S^o \quad (4)$$

ahol ΔH^o a standard entalpiaváltozás, ΔS^o a standard entrópiaváltozás. A 3. és a 4. egyenlet kombinálásával kapjuk az alábbi összefüggést:

$$\ln K = -\left(\frac{\Delta H^o}{RT} - \frac{\Delta S^o}{R}\right) = -\frac{\Delta H^o}{RT} + \frac{\Delta S^o}{R} \quad (5)$$

A retenciós tényező az egyensúlyi állandó és a fázisarány szorzataként adható meg,

$$k = K\phi = K \frac{V_s}{V_m} \quad (6)$$

ahol ϕ a fázisarány, V_s az állófázis térfogata, V_m a mozgófázis térfogata a kolonnában. (A disszertációban a fázisarányt a IUPAC ajánlásától eltérően, annak reciprokaként használok.)

Behelyettesítést követően az alábbi egyenlethez jutunk,

$$\ln k = -\frac{\Delta H^o}{RT} + \frac{\Delta S^o}{R} + \ln \phi \quad (7)$$

amely megadja az adott komponens retenciójára jellemző retenciós tényezőt a termodinamikai paraméterek függvényében. Az ún. van't Hoff féle megjelenítéssel az $\ln k$ értékeket az $1/T$ függvényében ábrázolva az egyenes meredekségéből és tengelymetszetéből termodinamikai adatok határozhatók meg. Az enantioszelektív felismerés alapját képző komplexek kialakulása (1. és 2. egyenlet) tehát termodinamikai oldalról is jellemezhető. Így a királis felismerésben meghatározó szerepet betöltő komplexek képződése egy, a molekulák közötti kölcsönhatásra utaló entalpiataggal és egy, a rendezettség változását leíró entrópiataggal hozható összefüggésbe. A spontán végbemenő komplexképződés feltétele természetesen ebben az esetben is a negatív szabadentalpia-változás. Az esetek többségében az átmeneti diasztereomerpár képződését kísérő rendezettség növekedést az entalpiatag felülmúlva biztosítja a szabadentalpia csökkenését egy ún. entalpiavezérelt folyamatban. Amennyiben mind az entalpiaváltozás,

mind az entrópiaváltozás pozitív előjelű, az entrópiatag nagyobb hozzájárulása biztosítja a szabadentalpia csökkenését, ekkor entrópiavezérelt folyamatról beszélhetünk.

A HPLC-s kolonnánál nem ismert az állófázis térfogata, így a fázisarány pontos értéke sem, sem annak esetleges hőmérsékletfüggése, így a retenció hőmérsékletfüggéséből csak abban az esetben lehet valós termodinamikai értékeket számolni, ha a fázisarány független mérésekkel meghatározható [93]. Azt sem szabad elfelejteni, hogy abból, hogy a van't Hoff ábrázolás egyenes összefüggést mutat, nem következik az, hogy a fázisarány állandó lenne [93]. Királis elválasztás esetén elfogadható feltételezésnek tekinthetjük, hogy a két enantiomer az elválasztás során ugyanazt a fázisarányt „tapasztalja meg”, azaz látszólagos termodinamikai adatok – a 7. egyenlet alapján – meghatározhatók lesznek. (Az egyenes tengelymetszetéből számolt ΔS^0 értéke $\ln\phi$ -t is tartalmazni fogja.)

Figyelembe véve a szelektivitás definícióját, miszerint

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (8)$$

ahol α a szelektivitás, k_1 és k_2 a korábban illetve később eluálódó enantiomer visszatartási tényezője, könnyű belátni, hogy a 7. egyenlet az alábbi formában is felírható,

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta(\Delta H^0)}{RT} + \frac{\Delta(\Delta S^0)}{R} \quad (9)$$

ahol $\Delta(\Delta H^0) = \Delta H^0_2 - \Delta H^0_1$: a két enantiomer standard entalpiaváltozásának különbsége, $\Delta(\Delta S^0) = \Delta S^0_2 - \Delta S^0_1$: a két enantiomer standard entrópiaváltozásának különbsége. A 9. egyenlet alapján $\ln\alpha$ -t $1/T$ függvényében ábrázolva egyenest kapunk, melynek meredeksége $-\Delta(\Delta H^0)/R$, tengelymetszete pedig $\Delta(\Delta S^0)/R$, azaz az egyes enantiomerekre vonatkozó termodinamikai jellemzők különbségei meghatározhatók. Feltételezve, hogy a két enantiomer elválasztása alapvetően ugyanolyan felismerési mechanizmussal történik, az entrópiatag és az entalpiatag hozzájárulása az egyes enantiomerek szabadentalpiaváltozásához jelentősen nem különbözik, a kettő arányával jellemezhetjük az elválasztást.

$$Q = \frac{\Delta(\Delta H^0)}{T\Delta(\Delta S^0)} \quad (10)$$

(Az egyenletben szereplő T itt egy referencia hőmérsékletet jelent, az értekezésben és közleményeinkben 298 K-re határoztuk meg Q értékét.)

Amennyiben Q abszolút értéke nagyobb egynél entalpiavezérelt, ha kisebb egynél entrópiavezérelt folyamatról beszélhetünk. Az enantiomerek elválasztása szempontjából érdekes következmény, hogy létezik egy olyan hőmérséklet, az ún. „izoeutróp” hőmérséklet (T_{iso}), ahol a két enantiomer együtt eluálódik, mivel az entrópia és az entalpia változása kiegyenlíti egymást. A hőmérséklet változtatása eltérőképpen befolyásolhatja az egyes enantiomerek anyagátadási folyamatait jellemző termodinamikai paramétereket, így a hőmérséklet változtatása lehetőséget teremthet az együtt eluálódó enantiomerek megkülönböztetésére. Az izoeutróp hőmérséklet általában kívül esik a HPLC elválasztásoknál alkalmazott hőmérséklettartományon, de néhány esetben sikerült kimutatni, hogy a szobahőmérséklet közelében tapasztalt együttes elúció alacsonyabb és magasabb hőmérsékleten megszűnik, az elúciós sorrend megváltozik és az enantiomerek elválaszthatók lesznek [E8, E33, E34] [94, 95].

2.7. A királis elválasztások enantioszelektív és nemenantioszelektív összetevőinek megkülönböztetése

Az enantioszelektív elválasztás során észlelt retenció enantioszelektív (k_{sz}) és nemenantioszelektív (k_{nsz}) összetevőkből áll, ahol a nemszelektív összetevő mindkét enantiomerre megegyezik [96-98], így az észlelt retenciós tényezők az alábbi módon adhatók meg.

$$k_1 = k_{nsz} + k_{sz1} \quad (11)$$

$$k_2 = k_{nsz} + k_{sz2} \quad (12)$$

Ennek megfelelően az adott rendszerben észlelt (ún. látszólagos) enantioszelektivitás a 13. egyenletnek megfelelően írható fel.

$$\alpha = (k_{nsz} + k_{sz2}) / (k_{nsz} + k_{sz1}) \quad (13)$$

A 13. egyenletből kitűnik, hogy az enantioszelektivitás úgy növelhető, hogy csökkentjük a nemszelektív és/vagy növeljük a szelektív kölcsönható helyek számát. Az észlelt (látszólagos) enantioszelektivitás a nemszelektív kölcsönhatások miatt mindig kisebb lesz a „termodinamikai” (valós) enantioszelektivitásnál. Azt is érdemes szem előtt tartani, hogy ugyanazon kölcsönható hellyel kialakított újabb kölcsönhatás ugyan növeli a kötés erősségét, de nem vezet hatékonyabb megkülönböztetéshez [99]. Ezeknek a felismeréseknek különösen fontos szerepük van a királis állófázisok tervezésében.

Közleményeinkben – a fentebbi tárgyalásnak megfelelően – a termodinamikai adatok meghatározása során nem törekedtünk a szelektív és nemszelektív kölcsönhatások különválasztására, mivel erre az általunk alkalmazott lineáris kromatográfia nem nyújt megfelelő lehetőséget [97, 100, 101]. Az enantioszelektív és nemenantioszelektív folyamatok kromatográfiás adatokon nyugvó megkülönböztetése komoly nehézségekbe ütközik, hiszen mind az állófázis tulajdonságai (pl. hordozó anyagi minősége, fizikai tulajdonságai, szelektor anyagi minősége, borítottság, kötési módozat, stb.), mind a mozgófázis összetétele jelentősen befolyásolja az adott elválasztásban szerepet játszó szelektív és nemszelektív kötőhelyek számát. Jelenleg az adszorpciós izotermák meghatározása és kiértékelése a leginkább elfogadott módszer a kétféle kötőhely megkülönböztetésére [102-105]. Természetesen ennek a megközelítésnek is megvannak a maga korlátai; jelenleg nincs olyan általánosan elfogadott modell, amely képes lenne a szelektív és a nemszelektív kölcsönhatások további összetevőinek megkülönböztetésére.

Fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy az értekezésemben bemutatott termodinamikai adatok ($\Delta(\Delta H^0)$, $\Delta(\Delta S^0)$, $\Delta(\Delta G^0)$) – a fentieknek megfelelően – az enantioszelektív és a nemszelektív kölcsönhatásokból együttesen származó látszólagos értékeket takarnak. Az alkalmazhatóság korlátait mindvégig szem előtt tartva az általunk is használt egyszerűsítés, az ugyanolyan körülmények (adott állófázis, állandó összetételű mozgófázis) mellett nyert kromatográfiás jellemzőkre épülő kiértékelés jelentős szerkezeti analógiát mutató modellvegyületek esetében véleményem szerint járható út, amely képes a mechanizmus jobb megértése szempontjából hasznos információkat szolgáltatni.

2.8. A vizsgált vegyületek biológiai jelentősége

Az értekezésben tárgyalt vegyületek fontosabb tulajdonságait, farmakológiai jelentőségét az alábbiakban röviden tárgyalva kívánom megvilágítani a modellvegyületek kiválasztásának szakmai hátterét.

2.8.1. *N*-védett fehérjealkotó α -aminosavak

A fehérjealkotó α -aminosavak biológiai jelentőségének tárgyalása messze túlmutat a disszertáció keretein. A peptidek szintézise során *N*-védett α -aminosavak szolgálnak igen gyakran építőelemként. Az előállított peptidek tisztasága természetesen függ a kiindulási aminosavak sztereokémiai tisztaságától, érthető így, hogy gyakorlati szempontból miért is fontos feladat a védett aminosavak tisztaságának jellemzése. A szabad és a védett aminosavak enantioszelektív elválasztásának irodalma roppant szerteágazó, itt csak néhány, az utóbbi években megjelent közleményt idézek [I–VI] [63, 106-108]. Az értekezésben tárgyalt *N*-védett aminosavak szerkezetét a Függelék 1–19 képletei mutatják.

2.8.2. Ciklusos szekunder α -aminosavak

A nem fehérjealkotó aminosavak peptidekbe történő beépítése az eredeti tulajdonságaitól eltérő jellemzőkkel rendelkező peptid kialakítására nyújthat lehetőséget. A ciklusos szekunder aminosavaknál az aminocsoport nitrogénatomja tagja a gyűrűnek, így egy (vagy több) ilyen aminosavat valamely peptidbe beépítve módosítható a peptid szerkezete, H-híd kialakító képessége. Amennyiben az *N* terminális végén helyezkedik el H-donorként, míg a láncba beépítve, illetve a peptid *C* terminális végén elhelyezve a létrejött amidcsoport H-akceptorként viselkedve jelentős változásokat eredményezhet a létrejött peptid tulajdonságaiban. Ennek tükrében érthető, hogy a sztereoizomerek elválasztása ebben az esetben is elengedhetetlen. Szekunder aminosavak királis elválasztásáról korábban már jelentek meg közleményeink [VII] [109-112]. Az értekezésben tárgyalt ciklusos szekunder α -aminosavak szerkezetét a Függelék 20–45 képletei mutatják.

2.8.3. β -Aminosavak és származékaik

A β -aminosavakat nem természetes („unnatural” vagy „unusual”) vagy másként nem fehérjealkotó aminosavaknak szokás nevezni. A legegyszerűbb képviselőjük az akirális β -amino-propionsav (β -alanin), ami létfontosságú része sok biológiailag aktív vegyületnek, mint például a B3-vitaminnak (pantoténsav) [113]. A nyílt láncú β -aminosavak három típusát különböztetjük meg, attól függően, hogy a szubsztitúció a karboxilcsoportot hordozó szénatomon (α -pozíció), az aminocsoportot hordozó szénatomon (β -pozíció) történik, vagy mindkét helyen (α,β -diszubsztitúció) végbe megy. Seebach és munkatársai [114, 115] javasolták a β^2 - és β^3 -aminosav elnevezést, ahol a számok az oldalláncok helyét

jelölik, azaz a β^2 egy α -szubsztituált, a β^3 pedig egy β -szubsztituált aminosav. Ma már tudjuk, hogy a β -aminosavak képviselői ugyan sokkal kisebb mennyiségben, mint az α -analógiák, de megtalálhatók a természetben, például peptidekben és más természetes vegyületekben [113]. Fontos kiemelni, hogy a β -aminosavak szabad formájukban is több, kiaknázásra érdemes farmakológiai hatást mutatnak, illetve szintetikus kiindulási anyagai más, jelentős biológiai aktivitással rendelkező vegyületnek [113, 116].

A β -aminosavakat tartalmazó peptideket a „szokásostól” eltérő kémiai tulajdonságaik miatt az utóbbi években jelentős érdeklődés kíséri. Megállapították, hogy számos stabil másodlagos szerkezetet vehetnek fel, kevésbé hajlamosak a proteolízisre [117], továbbá ún. hibrid peptidek állíthatók elő alkalmazásukkal – ezek α -aminosavakat tartalmaznak szisztematikusan elhelyezett β -aminosavakkal együtt –, így ígéretes peptidmimetikumként használhatók a humán gyógyászatban [118]. Néhány β -aminosav enantioszelektív elválasztását *Hyun* és munkatársai koronaéter alapú állófázisokon [119-124], míg *D'Acquarica* és munkatársai [125], illetve *Péter* és munkatársai [126-129] makrociklusos glikopeptid alapú állófázison tanulmányozta. Az értekezésben tárgyalt β -aminosavak és származékaik szerkezetét a Függelék 46–117 képletei mutatják.

2.8.4. Hidroxámsavak

Farmakológiai hatásaiknak köszönhetően a hidroxámsavak (ciklusos β -aminosavszármazékok) egyre nagyobb figyelmet kapnak napjainkban [130]. Képesek kelátképző fémionokkal kölcsönhatások kialakítására [131], így hatásos inhibitorai fontos metalloenzimeknek [132]. Ezen kívül antioxidáns [133], antimikrobiális [134], asztma elleni [135], gyulladáscsökkentő [136] és neuroleptikus [137] tulajdonságokkal is rendelkeznek. Tekintettel a hidroxámsavak jelentős farmakológiai potenciáljára, tanulmányoztuk e vegyületcsalád néhány képviselőjének enantioszelektív elválasztását. Számos példát találhatunk hidroxámsavak akirális környezetben történő analízisére hagyományos HPLC technika alkalmazásával, de királis elválasztásról még kevés közlemény született [138-141]. Az értekezésben tárgyalt β -aminohidroxámsavak szerkezeteit a Függelék 118 és 119 képletei mutatják.

2.8.5. β -Laktámszármazékok

A β -laktámok gyakorlati jelentőségét főként az orvosi és a szintetikus kémiai alkalmazások adják. Antibakteriális tulajdonságuknak köszönhetően napjainkban igen

széles körben használt antibiotikumok, de szintetikus kémiai jelentőségük (pl. β -aminosavak szintézise) sem elhanyagolható [142, 143]. A β -laktám antibiotikumok hatócsoportja a β -laktám gyűrű, az ehhez kapcsolódó oldalláncok (illetve gyűrűk) határozzák meg a származék antibakteriális spektrumát, farmakokinetikáját és a vegyület stabilitását a baktériumok által termelt β -laktamáz enzimekkel szemben. Biológiai aktivitásuk jelentősen függ sztereokémiai tulajdonságaiktól, így a β -laktámok és származékaik királis elválasztása fontos feladat. Az értekezésben tárgyalt β -laktámszármazékok szerkezetét a Függelék **120–138** képletei mutatják.

2.8.6. γ -Aminosavak

A γ -aminosavak – hasonlóan a β -aminosavakhoz – fontos szerepet játszanak bizonyos fehérjék, egyes gyógyszerhatóanyagok, különféle szintetikus vegyületek felépítésében, illetve számos biológiailag aktív vegyület fontos alkotói. Legismertebb képviselőjük a γ -amino-vajsav, ismertebb nevén a GABA, mely egy gátló hatású neurotranszmitter számos különböző emlős fajban, valamint felelős a normális izomtónus kialakításáért is [144, 145]. Másik fontos képviselője a vegyületcsaládnak a vigabatrin, ami a GABA egy szerkezeti analógja, melyet epilepsziás betegségek kezelésére használnak [146]. Az értekezésben tárgyalt γ -aminosavak szerkezetét a Függelék **139–141** képletei mutatják.

2.8.7. *transz*-Paroxetin

A szekunder aminocsoportot tartalmazó vegyületek családjába sorolható *transz*-paroxetin több kereskedelmi forgalomban kapható gyógyszer (pl. *Paxil*, *Pexeva*, *Seroxat*) hatóanyaga. Szelektív szerotonin újrafelvétel-gátló antidepresszánsként elsősorban depresszió, kényszerbetegség, pánikbetegség, szociális szorongásos zavar, traumákat követő stressz betegség és általános szorongásos zavar kezelésére használják [147]. A *transz*-paroxetin szerkezetét a **142** képlet mutatja a Függelékben.

2.8.8. β -Karbolinok

A tetrahidro- β -karbolin vázas vegyületek biológiai aktivitása már régóta ismert [148, 149]. Értékes farmakológia tulajdonságaik miatt még napjainkban is komoly érdeklődéssel fordulnak a kutatók ezen vegyületcsalád képviselői felé [150-152]. Akár mesterségesen előállított, akár természetes eredetű vegyületek képezik a vizsgálat célját, a királis tisztaság meghatározása elengedhetetlen feladat. Ennél a vegyületcsaládnál is számos példát találhatunk az akirális elválasztásokra, de királis állófázis alkalmazásáról saját munkáinkon

kívül [153, 154] tudomásom szerint egyedül *Lipka* és munkatársai jelentettek meg közleményt [155]. A tanulmányozott tetrahidro- β -karbolin vázas vegyületek szerkezetét a **143–148** képletek mutatják a Függelékben.

2.8.9. 1,2,3,4-Tetrahidroizokinolinok

Az 1,2,3,4-tetrahidroizokinolin (TIQ) vázzal rendelkező vegyületek fontos alkotói számos természetes alkaloidnak [156]. Kiaknázható farmakológiai tulajdonságaik miatt komoly jelentőséggel rendelkeznek a szintetikus kémia és a hatóanyag-kutatás területén [157]. Több, jelenleg is forgalomban levő gyógyszerben található TIQ analóg (pl. Yondelis®), de említést érdemel a vegyületcsalád antitumor hatása [158] vagy emberi immunhiányt-előidéző vírus (HIV) ellenes hatása is [159]. Természetesen az észlelt farmakológiai hatások térszerkezettől függően jelennek meg, így ezen vegyületeknél is fontos az enantiomerek megkülönböztetése. TIQ analógok származékképzésen alapuló elválasztását vizsgálták gázkromatográfiásan [160, 161], míg ilyen célra csoportunk HPLC módszert dolgozott ki [XIV]. Közvetlen meghatározás során β -CD-ket mozgófázis adalékként [162-164], illetve állófázisként [165-169] is alkalmaztak. *Hyun* és munkatársai koronaéter alapú állófázison [170], míg mi korábban makrociklusos antibiotikum állófázison vizsgáltuk TIQ analógok enantioszelektív elválasztását [171]. A vizsgált TIQ analógok szerkezetét a **149–180** képletek mutatják a Függelékben.

2.8.10. Naftol analógok

A múlt század elején írta le *Betti* az 1-(α -aminobenzil)-2-naftol szintézisét, amelyet benzaldehidből, 2-naftolból és ammóniából állított elő [172, 173]. Azóta az ilyen típusú vegyületeket Betti-bázisként is említik. Az aminonaftol analógok jól használható, viszonylag olcsó optikailag aktív vegyületek. Alkalmazzák őket királis katalizátorként, valamint sok hasznos molekula „építőköveként”, mivel az amino- és a hidroxifenilcsoportok átalakítása sokféle vegyület előállítását teszi lehetővé. A királis aminonaftolok jelentőségét az adja, hogy sztereospecifikus reakciókban hatékony katalizátorok, de antibakteriális aktivitásukról is számoltak már be közlemények [174]. A vizsgált naftol analógok szerkezetét a **181–221** képletek mutatják a Függelékben.

3. Célkitűzés

A királis állófázisok az elmúlt két évtized során nagyon komoly 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 az elmúlt bő egy évtized kutatómunkája kapcsán három állófázis típus, az ioncserélő, a makrociklusos glikopeptid és a poliszacharid alapú állófázisokkal kapott eredményeinket mutatom be.

Az elmúlt két évtized közleményei jelentősen gazdagították a királis elválasztások irodalmát, a felhalmozott adatok értelmezése azonban sokszor nem egyértelmű. A lejátszódó folyamatok nagyon összetettek, egyértelmű és általánosan érvényes összefüggések csak nagyon ritkán fogalmazhatók meg. Vizsgálatainkat általában kettős cél jellemzi: egyrészt az együttműködő partnereink által előállított anyagok enantiomertisztaságának jellemzésére alkalmas módszer fejlesztése, ahol a rendelkezésre álló királis állófázisok alkalmazásával feltérképezzük, hogy a különböző állófázisok közül, melyeket érdemes az adott feladatra felhasználni, másrészt egy adott állófázis tulajdonságainak, elválasztóképességének, enantioszelektivitásának kromatográfiás jellemzése különböző modellvegyületek segítségével.

Munkánk során elsődleges célunk a szelektor és a mintavegyület molekuláris szerkezete és a retenciós tulajdonságok közötti összefüggések feltárása. A vizsgált potenciális farmakonok eltérő biológiai és kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, de a szerkezeti analógiák és a vizsgálatok során alkalmazott királis állófázisok jó alapot szolgáltatnak a szerkezet és retenciós tulajdonságok között megfigyelt összefüggések értelmezésére. 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.

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 retenció sajátosságok felderítése 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.

4. Alkalmazott anyagok és módszerek

4.1. A vizsgált molekulák

A vizsgált molekulák túlnyomórészt szintetikus anyagok voltak, melyek együttműködő partnereink laboratóriumaiban készültek. Előállításuk rövidített változata eredeti közleményeinkben megtalálható, így ennek ismertetésére értekezésemben nem térek ki. Az *N*-Fmoc-védett aminosavakat az alábbi cégektől szereztük be: Reanal Kft (Budapest, Magyarország), Orpegen Pharma GmbH (Heidelberg, Németország), GL Biochem Ltd (Shanghaj, Kína), Iris Biotech GmbH (Marktredwitz, Németország), Merck (Darmstadt, Németország), Bachem AG (Bubendorf, Svájc), AK Scientific Inc. (Union City, USA), Advanced ChemTech (Louisville, USA). A vegyületek szerkezeti képleteit a Függelékben mutatom be (*1–19* képletek).

4.2. Felhasznált anyagok

Méréseink során az eluens készítéséhez használt HPLC tisztaságú oldószereket metanol (MeOH), etanol (EtOH), acetonitril (MeCN), hexán, propán-1-ol (PrOH), 2-propán-ol (IPA), bután-1-ol (BuOH), *terc*-butanol (*t*-BuOH), tetrahidrofuran (THF) és a különböző adalékokat ammónia (NH₃), etil-amin (EA), dietil-amin (DEA), trietil-amin (TEA), *n*-propil-amin (PA), tri-*n*-propil-amin (TPA), *n*-butil-amin (BA), tri-*n*-butil-amin (TBA), hangyasav (FA) és ecetsav (AcOH)) a VWR-től (Radnor, PA, USA) szereztük be. A nagy tisztaságú vizet egy Puranity TU UV/UF típusú (VWR), illetve egy Milli-Q (Millipore, Molsheim, Franciaország) víztisztító berendezéssel állítottuk elő.

A koronakisüléssel detektort (Corona CAD) 4.5 tisztaságú nitrogéngázzal (Linde, Magyarország) üzemeltettük.

4.3. Vizsgált állófázisok

4.3.1. Ioncserélő kolonnák

Méréseinkhez a kinin és kinidin alapú *Chiralpak QN-AX* és *QD-AX* (150 x 3,0 mm, 5 µm szemcseméret), illetve *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)* oszlopokat (150 x 3,0 mm, 3 µm szemcseméret) alkalmaztunk, forgalmazójuk a Chiral Technologies Europe (Illkirch, Franciaország). A kereskedelmi forgalomban nem kapható *ZWIX(+A)* (150 x 3,0 mm, illetve 150 x 4,0 mm, 3 és 5 µm szemcseméret) és *ZWIX(-A)* (150 x 3,0 mm, 3 µm szemcseméret) oszlopokat *Lindner* és munkatársai állították elő [E11] [73, 74]. A kationcserélő oszlopokat *DCL-RR* és *DCL-SS* (150 x 4,0 mm, 5 µm szemcseméret) szintén

Lindner és munkatársai készítették [71]. A holtidő meghatározására metanolban oldott acetont adagoltunk, és 280 nm-nél mértük az elnyelést.

4.3.2. Makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák

Munkánk során kereskedelmi forgalomban kapható makrociklusos antibiotikum királis szelektorrall ellátott *Chirobiotic* kolonnákat alkalmaztunk. A *Chirobiotic T* és *Chirobiotic T2* teikoplanint, *Chirobiotic TAG* teikoplanin aglikont, *Chirobiotic R* risztocetin A-t, *Chirobiotic V* vankomicint, míg a *Chirobiotic VAG* vankomicin aglikont tartalmaz királis szelektorként. A *Chirobiotic T2* abban különbözik a *Chirobiotic T* oszloptól, hogy a „kar” („spacer”) mintegy kétszerese a *Chirobiotic T*-n lévőnek, valamint, hogy a hordozóként alkalmazott szilikagél a *Chirobiotic T* esetén 120 Å, míg a *Chirobiotic T2* esetén 200 Å pórusátmérőjű. Valamennyi *Chirobiotic* oszlop mérete (250 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő) és gyártója (Astec, Whippany, NJ, USA) megegyezik. A holtidőt metanolos aceton oldat vagy 1,3,5-tri-*t*-butilbenzol oldatának adagolásával határoztuk meg.

4.3.3. Cellulóz és amilóz alapú kolonnák

A *Kromasil CelluCoat* és *Chiralcel OD-H* királis szelektora egyaránt cellulóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát), míg a *Kromasil AmyCoat* szelektora amilóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát). A *Kromasil* oszlopok gyártója az Eka Chemicals AB (Bohus, Svédország), míg a *Chiralcel* oszlopé a Daicel cég (Tokió, Japán). Ezekre az oszlopokra egyaránt jellemző fizikai paraméterek: 150 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő.

A *Lux Cellulose-1* kolonna szelektora cellulóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát), a *Lux Cellulose-2* kolonnáé cellulóz-*trisz*-(3-klór-4-metil-fenilkarbamát), a *Lux Cellulose-3* kolonnáé cellulóz-*trisz*-(4-metil-benzoát), a *Lux Cellulose-4* kolonnáé cellulóz-*trisz*-(4-klór-3-metil-fenilkarbamát), a *Lux Amylose-1* kolonnáé amilóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát), a *Lux Amylose-2* kolonnáé amilóz-*trisz*-(5-klór-2-metil-fenilkarbamát). A *Lux Cellulose-1* oszlop fizikai paramétere a 150 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő, míg a többi oszlopokra egyaránt: 250 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő jellemző, gyártójuk a Phenomenex (Torrance, CA, USA). A holtidő meghatározására 1,3,5-tri-*t*-butilbenzol oldatát használtuk.

4.4. Alkalmazott HPLC rendszerek és egyéb mérőkészülékek

Méréseink során három HPLC rendszert alkalmaztunk. Az I. rendszer Waters 1525 bináris HPLC pumpát, Waters kolonnatermosztátot, Waters 2487 kétcsatornás UV-Vis detektort, 717 plus automataadagolót és Waters Breeze Data Manager illetve Empower 2 (Milford, USA) adatfeldolgozó szoftvert tartalmazott (Waters, Milford, MA, USA).

A II. rendszert Waters M-600 gradiens HPLC pumpa, Waters M-2996 fotodiódasoros detektor, Waters Millenium 32 Chromatography Manager illetve Empower 2 (Milford, USA) adatfeldolgozó rendszer és Spark Mistral kolonnatermosztát (Spark Holland, Emmen, Netherlands) alkotta. Mindkét kromatográfiás rendszer Rheodyne 7125 20 µl-es mintaadagolóval volt ellátva (Cotati, CA, USA). Az eluens gázmentesítését Rotring Sonic Cleaner ultrahangos fürdő (Rotring GmbH, Hamburg, Germany) alkalmazásával, valamint He átbuborékoltatással oldottuk meg.

A III. rendszer egy 1100 sorozatszámú Agilent Technologies (Waldbronn, Németország) HPLC volt, amely oldószer gázmentesítőből, pumpából, automata mintaadagolóból, kolonnatermosztátból, egy ötcsatornás UV-Vis-detektorból és egy ESA Biosciences Inc. koronakisülési detektorból (Corona CAD, Chelmsford, MA, USA) állt. Az adatok gyűjtéséhez és értékeléséhez ChemStation adatfeldolgozó szoftvert használtunk.

A hőmérsékletfüggés vizsgálata során vagy az említett HPLC rendszerek termosztátját, vagy egy Alpha RA 8 (Lauda, Németország) folyadék termosztátot alkalmaztunk. A pH méréseket egy Thermo Orion 420 pH mérővel (Orion, USA), míg a tömegméréseket egy Pioneer PA 214 C (Ohaus, USA) digitális mérleggel végeztük el.

5. Kísérleti eredmények és értékelésük

Az értekezésemben bemutatott eredményeink három királis állófázis-család alkalmazásához kapcsolódnak. Az értekezés nagyobb részét az ioncserélő állófázisok tanulmányozása során kapott eredményeink képezik. A HPLC módszerek fejlesztése során az utóbbi néhány évben előtérbe került az ortogonalitás fogalma, egyre nagyobb felhasználói igény fogalmazódik meg a „klasszikus” fordított fázisú oszlopok szelektivitásától eltérő szelektivitással rendelkező állófázisok fejlesztésére. Az ioncsere mechanizmusán alapuló állófázisok kiváló lehetőséget biztosítanak ezen igény kielégítésére. Eredményeink hozzájárulhatnak az ioncserélő típusú állófázisok továbbfejlesztéséhez, a királis felismerés mechanizmusának mélyebb megértéséhez, valamint az alkalmazások körének bővítéséhez.

A makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok szerkezeti változatossága ideális alapot kínál a sokrétű alkalmazásokhoz. Több közleményben is beszámoltunk eltérő szerkezetű farmakonok elválasztásához kapcsolódó eredményeinkről, ezeket összefoglaló cikkeinkben is ismertettük. Az oszlopok multimodalitása és kiemelkedő stabilitása biztosítja ezen állófázisok szélesebb körű elterjedéséhez szükséges háttérrel. Fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy az antibiotikum alapú szelektormolekulák ionos funkciós csoportjai alapot nyújtottak az ioncserélő tulajdonságú szelektorokkal kapott eredményeinkkel történő összevetésre is.

Az előbbieken 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 analízisére is bevetethők. Ilyenek például a poliszacharid alapú állófázisok, amelyek napjainkban a legszélesebb körben alkalmazott, közkedveltnek számító oszlopokat képviselnek. Mind a HPLC, mind pedig a napjainkban egyre népszerűbbé váló SFC területén találhatunk jó néhány példát az alkalmazásokra.

A királis elválasztások területén említésre érdemes eredményeket értünk el kapilláris elektroforézissel [X–XIII], illetve SFC-vel is [E16, E17, XXXIII, XXXIV], az értekezés terjedelmi korlátai azonban nem teszik lehetővé, hogy ezeket érdemben tárgyaljam.

Ugyan logikusan adódik az elképzelés, miszerint egyazon modellvegyület-családot valamennyi állófázison vizsgálva az állófázisok tulajdonságait összehasonlítva értékes információkat nyerhetünk, azonban az említett három állófázis-család meglehetősen eltérő

tulajdonságokkal rendelkeznek; a poliszacharid alapú állófázisok aromás rendszer, az ikerionos állófázisok ionizálható funkciós csoportok jelenlétét igénylik a modellvegyület részéről, így az ilyenfajta összehasonlításra csak ritkán nyílik lehetőség. (Természetesen további problémát vet fel az alkalmazott mozgófázisok különbözősége is.) Ennek megfelelően az említett három állófázis-családdal kapott eredményeinket az értekezésben három külön fejezetben tárgyalom, a könnyebb érthetőség kedvéért az egyes fejezeteket ugyanazon logika mentén felépítve.

Az értekezésben szerepeltetett ábrákon az ismételhetőséget jellemző szórást nem tüntettem fel, a bemutatott ábrák egy-egy tipikusnak nevezhető kísérletsorozat eredményeit tükrözik. Munkánk során jellemzően két-három párhuzamos mérést végezve elsődleges célunk a változások alapvető irányainak a feltérképezése. Az eredményeket a (több mérési pont által meghatározott) változások jellemzőire alapozva értelmezzük, így véleményem szerint az egyes adatpontok szórása kevésbé releváns.

A HPLC területén a királis felismerést létrehozó folyamatok kvantitatív jellemzésére napjainkban még kevés lehetőség áll rendelkezésre. (A CE alapú királis elválasztások bizonyos értelemben egyszerűbben kezelhetők, mivel a hordozó nélküli rendszerekben a szelektor és az elválasztandó komponens kölcsönhatásai „könnyebben” vizsgálhatók.) A kvalitatív összefüggések feltárása a későbbiekben minden bizonnyal kiváló alapot szolgáltat majd a (szemi)kvantitatív összefüggések felállításához. Természetesen ezen a területen is léteznek különböző modellek alkalmazásán alapuló számítások – értekezésemben is kitérek ilyen eredmények ismertetésére – ezek azonban jelenleg még nem szolgálnak általánosan érvényes megállapítások alapjául.

A termodinamikai adatok meghatározása az enantioszelektivitás értékek alapján történt, a szelektivitást pedig a retenciós tényezőkől számoltuk, melyek relatív szórása jellemzően 1–3 %. Amint azt az irodalmi áttekintésben tárgyaltam, az általunk alkalmazott egyszerűsítés nem teszi lehetővé a szelektív és nemszelektív kölcsönhatások elkülönítését, így látszólagos termodinamikai értékeket kaptunk. Ezek a termodinamikai adatok kvalitatív jellemzésre adnak lehetőséget, a szelektor, illetve a modellvegyület szerkezetében bekövetkező változások hatásainak mélyebb megértését szolgálva.

5.1. Elválasztások ioncserélő tulajdonságú állófázisokon

5.1.1. A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra

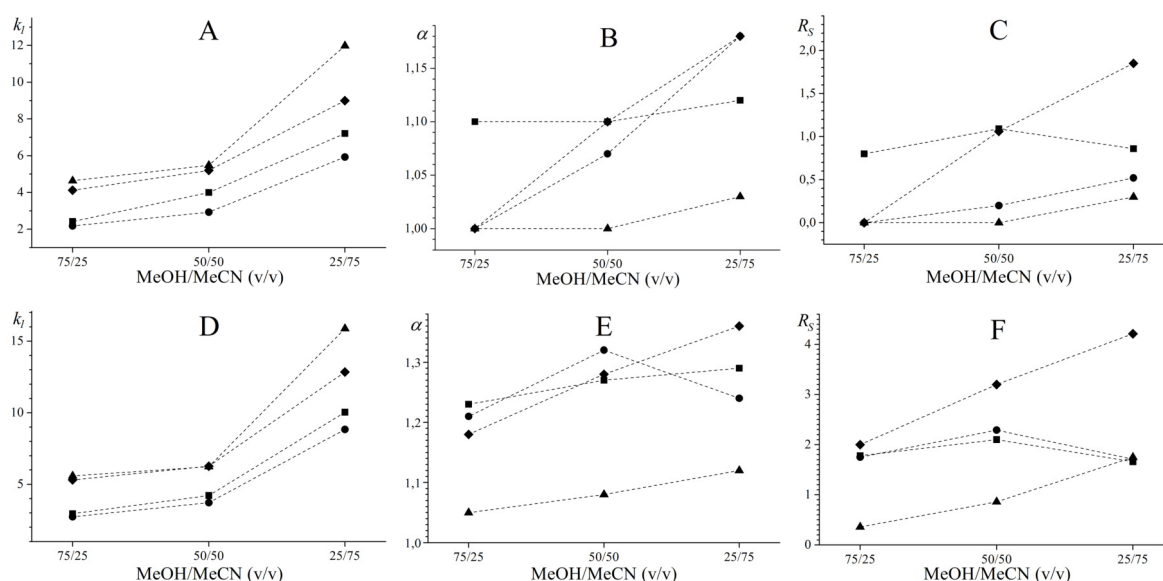
5.1.1.1. Az eluens alkotó oldószerek hatása az elválasztásra

Poláris szerves oldószerek eluensként történő alkalmazása a legelterjedtebb a QN és QD alapú ioncserélő királis állófázisok esetén [70, 72, 73]. A MeOH protikus karaktere révén jelentősen csökkentheti az ionos kölcsönhatások és a H-híd kialakulásának esélyét az állófázissal, illetve a poláris molekulákat nagyobb mértékben szolvatálva csökkentheti a retenciót. Az aprotikus MeCN viszont elősegíti az ionos, és nagymértékben befolyásolhatja a π - π kölcsönhatások kialakulását. A két oldószer ilyen módon bizonyos értelemben „komplementerként” viselkedik, azaz a kromatográfiás tulajdonságok (mint a retenció és a szelektivitás) az ioncserélő tulajdonságú állófázisok esetén „hangolhatók” a MeOH/MeCN különböző arányokban történő alkalmazásával. A mozgófázist alkotó oldószerek megválasztása mellett megfelelő savak és bázisok eluenshez történő adagolásával az elválasztani kívánt vegyületek és a szelektor ionizáltságának beállítására, állandó értéken tartására nyílik lehetőség.

Munkánk során ioncserélő tulajdonságú állófázisokon az eluens összetételének elválasztásra gyakorolt hatását vizsgáltuk poláris-ionos módban (PIM), melyhez eluensként nemvizes poláris oldószereket (MeOH, MeCN) alkalmaztunk különböző arányokban, illetve sav és bázis módosítókat állandó koncentrációban [E1–E17]. Elsőként β^2 - és β^3 -aminosavakra (46–85) kapott eredményeink közül néhány jellemző esetben elemzem a MeOH/MeCN arány változtatásának hatását a kromatográfiás jellemzőkre [E7]. Ezen kísérletek során a MeOH/MeCN arányt 25/75–75/25 (v/v) tartományban változtattuk, miközben a sav (AcOH, 25 mM) és a bázis (PA, 50 mM) arányát állandó értéken tartottuk. Amint azt a **11. ábrán** bemutatott adatok érzékeltetik, mindkét vizsgált ikerionos állófázison a MeCN-tartalom növelésével a retenció folyamatosan növekedett. Néhány α - és egy β -aminosav vizsgálata esetén hasonló viselkedésről számoltak be *Hoffmann* és munkatársai is [73]. Fontos kiemelni, hogy az eluens növekvő MeCN-tartalmával az ikerionos (ZWIX(+)) és ZWIX(–) állófázisokon minden általunk vizsgált vegyületre növekvő visszatartást kaptunk [E1–E14, E16, E17].

Tapasztalataink szerint az eluens MeCN-tartalmát 75% fölé már nem érdemes növelni, mivel ebben az esetben a megnövekedett retenciós idők miatt a csúcsok elnyúltak, aszimmetrikussá váltak. Az eluens összetételének fent említett hatása kapcsán valószínűsíthető, hogy az aprotikus MeCN arányának növelése csökkenti az (iker)ionos

modellvegyületek szolvatáltságát és egyben növeli a szelektorral kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatások esélyét, így növelve a retenciós időt.



11. ábra

A MeOH/MeCN arány változtatásának hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A, B, C: *ZWIX*(+), D, E, F: *ZWIX*(-);
mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25, 50/50, 25/75 v/v) és AcOH (50 mM) és PA (25 mM);
áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; vegyületek: ■: 46, ●: 62, ▲: 61, ◆: 73

Érdemes megemlíteni, hogy a tárgyalt viselkedéstől eltérő módon anioncserélő (*QN-AX* [E15] és *QD-AX* [E17]) állófázisokon Fmoc és más védőcsoporttal rendelkező α -aminosavak esetén (1–19) a MeCN-tartalom növekedésével csökkenő retenciót tapasztaltunk. Amint azt a 4. és a 6. ábra szemlélteti, az anioncserélő és az ikerionos kolonnák szerkezete a *t*-butil-, illetve az ACHSA-csoportban különbözik. Ez a különbség feltételezésem szerint azt okozza, hogy MeCN jelenlétében a két szelektor eltérőképpen szolvatálódik. A semleges *t*-butilcsoporttal rendelkező anioncserélő szelektort a növekvő MeCN tartalmú eluens egyre erősebben szolvatálva képes csökkenteni az állófázis és az említett modellvegyületek között kialakuló kölcsönhatást, emiatt csökkennek a retenciók.

Az anioncserélő állófázisokon észlelt retenciós időket összehasonlítva az ikerionos állófázisokon mért retenciós időkkal kijelenthető, hogy az ikerionos állófázisok kevésbé tudták visszatartani ezeket, az alkalmazott körülmények között anionos tulajdonságú vegyületeket. A retenciós tulajdonságokban tapasztalt különbségek az ikerionos állófázisok negatív töltésű kationcserélő funkciós csoportjaira vezethetők vissza. Az ACHSA-csoportok számottevő taszító hatást gyakorolnak az elválasztandó anionos vegyületekre,

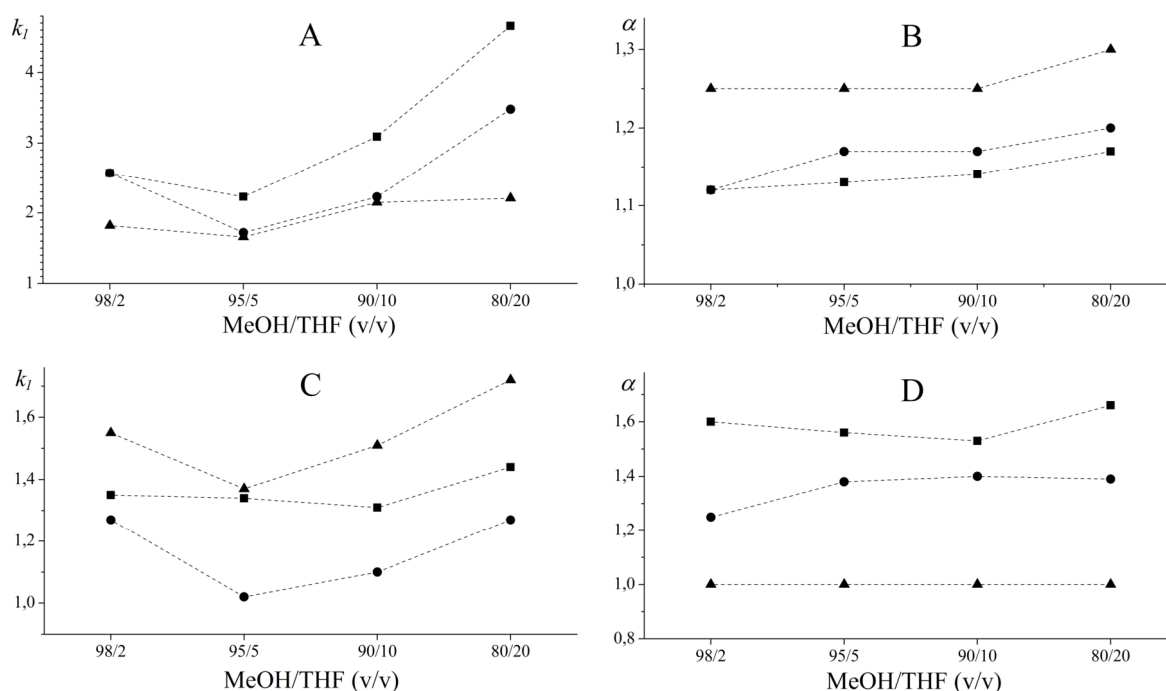
így csökkentve azok visszatartását. Anioncserélő állófázisokon ennek a taszító hatásnak a hiányával értelmezhető a tapasztalt nagyobb retenció.

A MeCN-tartalom enantioszelektivitásra kifejtett hatása kapcsán kijelenthető, hogy az esetek többségében a szelektivitás kismértékben növekedett a MeCN-tartalom növekedésével, ami az erősödő ionos és a H-híd kölcsönhatásokkal értelmezhető. Ezzel ellentétes viselkedést észleltünk aromás oldallánccal rendelkező ciklusos szekunder aminosavaknál [E5]. Ezen vegyületek (25–33) esetén a MeCN-tartalom növelése – ellentétben az alifás oldallánccal bíró aminosavakkal – kisebb szelektivitásokhoz vezetett, ami viszont jól értelmezhető a MeCN π – π kölcsönhatásokra kifejtett gátló hatásával.

Protikus oldószerekben a protonátmenet a szolvatációs folyamatok fontos részét képezheti, így a MeOH számottevő hatást gyakorolhat az ioncsere folyamatokra. A MeOH-tartalom növelése az ionos vegyületek szolvatáltságának növelésével csökkenti a visszatartás szempontjából meghatározó ionos és H-híd kölcsönhatásokat, csökkentve a retenciós időket és a szelektivitást. A felbontás változása kapcsán ennyire általános következtetés már nem fogalmazható meg. A vizsgált vegyületek többségére kijelenthető, hogy a felbontás a MeCN-tartalom növekedésével kisebb-nagyobb mértékben növekedett, de több esetben is 50/50 MeOH/MeCN aránynál maximumot ért el, ahogyan azt részben a **11. ábrán** bemutatott adatok is tükrözik néhány β^2 - és β^3 -aminosav esetén. A MeCN-tartalom további növelése több esetben is a felbontás csökkenéséhez vezetett [E2, E12, E14, E15], amiért a nagyobb retenciós idők miatti csúcskiszélesedés, illetve a csúcsok aszimmetrikus elnyúlása okolható. A folyamatok értelmezésekor nem szabad arról sem megfeledkezni, hogy az eluens összetételének megváltozása a sav-bázis egyensúlyokra is jelentős hatást gyakorol, ezen keresztül pedig a kromatográfiás viselkedés tovább módosulhat.

A vizsgált ioncserélő tulajdonságú állófázisok kapcsán kijelenthető (az irodalmi adatokkal összhangban), hogy a MeOH és a MeCN különböző arányú elegye jó kiindulási alap a módszerfejlesztés folyamatában. Az oldószerek polaritásának változtatásával a szolvatációs viszonyok is változhatnak, és ez befolyásolhatja a retenciós viselkedést. Ciklusos szekunder aminosavak enantiomereinek vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy a MeOH helyett IPA-t alkalmazva jelentősen megnöttek a retenciós idők, de az esetek többségében ezzel párhuzamosan se a szelektivitás, se a felbontás nem növekedett [E5]. A MeOH-nál apolárisabb IPA vélhetően kevésbé tudja szolvatálni a szekunder aminosavakat nagyobb retenciókat eredményezve, de alkalmazása nem kedvezett az állófázis enantiomerfelismerő-képességének.

Ciklusos β -aminosavak vizsgálatakor több esetben is csak részleges felbontást tudtunk elérni ikerionos állófázisokon MeOH/MeCN mozgófázissal [E14]. Ezeknél a rendszereknél MeOH/THF rendszert alkalmaztunk, változó összetétellel. A retenció tulajdonságok alakulását tekintve elmondható, hogy a THF a MeCN-hez hasonlóan viselkedett; 5 v% felett növelve a mozgófázis THF-tartalmát növekvő visszatartást kaptunk (12. ábra).



12. ábra

A MeOH/THF arány változtatásának hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A, B: ZWIX(-); C, D: ZWIX(+A); mozgófázis: MeOH/THF (98/2, 95/5, 90/10, 80/20 v/v) és AcOH (50 mM) és DEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; vegyületek: ■: 86ab, ●: 87ab, ▲: 91ab

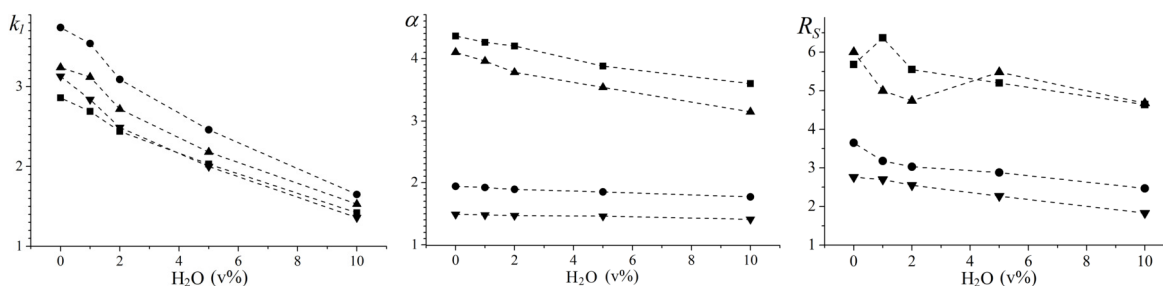
A 12. ábrán bemutatott viselkedés vélhetően THF jelenlétében is az eluent alkotó két oldószer eltérő szolvatációs tulajdonságaival értelmezhető. Fontos megemlíteni, hogy a THF alkalmazásakor csak néhány modellvegyület esetében tapasztaltunk számottevő növekedést a szelektivitásban és a felbontásban. A THF jelenlétében a kromatográfiás adatok értékében bekövetkezett változások nagyon erősen függtek mind a modellvegyület, mind a szelektor szerkezetétől, így általános következtetések nem vonhatók le a THF sztereoselektív felismerésben betöltött szerepéről.

Ahogy korábban már említettem, az ioncserélő királis állófázisok leggyakrabban nemvizes körülmények között használatosak, de vizet tartalmazó eluensrendszerek is szóba jöhetnek [73, 75]. Hoffman és munkatársai ikerionos állófázisok tanulmányozásakor

aminosavakat és savas karakterű anyagokat alkalmaztak modellvegyületként [73]. A MeOH-tartalmú eluensrendszerhez hozzáadott víz (20 v%) hatására a poláris aminosavak retenciója csökkent. A víztartalmat tovább növelve (maximum 80 v%) ellentétes hatást figyeltek meg, a retenció növekedett.

Ikerionos állófázisokon *Zhang* és munkatársai is vizsgálták az eluenshez adott víz hatását aminosavak enantiomereinek elválasztására [75]. A víz eluenshez történő hozzáadásakor 2,0 v% víz jelenlétében kisebb retenciókat és nagyobb felbontást figyeltek meg. A mozgófázis víztartalmának 20 v%-ra (vagy még nagyobbra) való növelése drasztikusan csökkentette a visszatartást, és ezzel együtt a felbontás is nagymértékben csökkent.

Az irodalmi előzmények alapján fontosnak tartottuk, hogy a tanulmányozott rendszereinknél vizsgáljuk a víz hatását és szerepét a királis felismerésben. Eredményeink közül itt az aminosavak elválasztására (118, 119) *ZWIX(-A)* oszlopon kapott, tipikusnak mondható tapasztalatainkat mutatom be [E12]. Annak érdekében, hogy a mozgófázis víztartalmának elválasztásra gyakorolt hatását tanulmányozhassuk, 0–10 v% közötti víztartalmú eluensekkel végeztük méréseinket, állandó MeOH/MeCN (50/50 v/v) arány mellett, sav (AcOH, 50 mM) és bázis (TEA, 25 mM) módosítók jelenlétében. A kromatográfiás jellemzők függését az eluens víztartalmától a **13. ábra** szemlélteti.



13. ábra

Az eluenshez hozzáadott víz hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: *ZWIX(-A)*; mozgófázis: MeOH/MeCN/H₂O (50/50/0, 49,5/49,5/1, 49/49/2, 47,5/47,5/5 és 45/45/10 v/v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM);

áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; vegyületek: ▲:118ab, ▼:118cd, ■: 119ab, ●: 119cd

Eredményeink 0–10 v% víztartalmú mozgófázis alkalmazásával sok esetben megegyeztek a fentebb leírt észrevételekkel. Az ionos vagy ionizálható vegyületek esetén a víz nagymértékben befolyásolja az ionos kölcsönhatásokat, ezáltal jelentős hatást gyakorolhat a retenció mechanizmusára, emellett az enantioszelektivitás kialakulásában fontos szerepet betöltő H-híd kölcsönhatásokat is módosíthatja. Az esetek többségében a

csökkenő retenció csökkenő szelektivitással és felbontással járt együtt (**13. ábra**), bár néhány esetben a mozgófázis kis víztartalma (1–2 v%) pozitívan befolyásolta az elválasztást és nagyobb felbontás volt megfigyelhető, hasonlóan *Zhang* és munkatársai által közölt tapasztalatokhoz [75].

A megfigyelteket azzal értelmezhetjük, hogy amikor vizet adunk a poláris-ionos mozgófázishoz, az eluens a poláris vegyületeket hatékonyabban szolvatálja, a poláris vegyületek szívesebben tartózkodnak a mozgófázisban, mint az állófázisban, azaz az állófázis kisebb mértékben lesz képes visszatartani az elválasztandó molekulákat. Természetesen a szolvatációs hatásokba, amint már korábban említettem, az eluens sav-bázis karaktere is jelentősen beleszól. Ennek változása víz hozzáadása esetén lényegesen erősebben befolyásolhatja a kromatográfiás jellemzők alakulását, mint más szerves oldószer (pl. THF, IPA) alkalmazásakor. Más szerzők által leírt, a hozzáadott víz arányától függő változások is jól értelmezhetők ily módon, hiszen a szolvatációs hatások mellett az ionos kölcsönhatások is erős eluensfüggéssel rendelkeznek. A nagyobb víztartalomnál tapasztalt kisebb eluenserősség vélhetően arra vezethető vissza, hogy 20 v% feletti víztartalom esetén már inkább a fordított fázisú kromatográfiás körülményekre jellemző, hidrofób kölcsönhatásokon alapuló elúciós mechanizmus lesz a meghatározó. A víz hatásának értelmezésekor természetesen arról sem szabad megfeledkezni, hogy a királis megkülönböztetés szempontjából fontos szerepet betöltő H-híd kölcsönhatásoknál versengésre lehet számítani a víz és az elválasztani kívánt enantiomerek esetén.

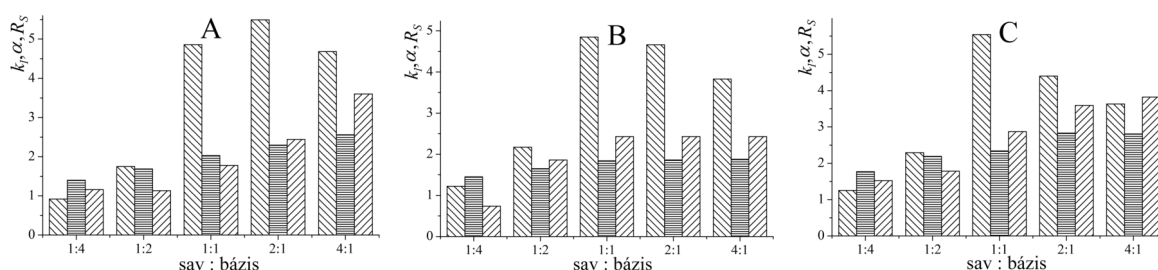
Rövid összegzésként tehát elmondható, hogy a vizsgált ikerionos állófázisoknál az esetek túlnyomó többségében a MeOH/MeCN eluensrendszer jó esélyt kínál a hatékony elválasztásra, az 50/50 arányú eluenseleg pedig (a későbbiekben részletezett módosítók hozzáadásával) megfelelő kiindulási pont a módszerfejlesztés folyamatában. Más szerves oldószer második vagy harmadik komponensként (ritkán főkomponensként) történő használata bizonyos esetekben megoldást kínálhat megfelelő enantioszelektivitás elérésére, de szélesebb körben nem várható számottevő hatékonyságnövekedés. Külön érdemes kiemelni, hogy a vizet tipikusan 5 v%-ot nem meghaladó mértékben tartalmazó eluensrendszerekkel a retenció csökkentésével és a szelektivitás módosításával több esetben is gyorsabb analízis és nagyobb felbontás érhető el.

5.1.1.2. Sav és bázis módosítók hatása a kromatográfiás viselkedésre

5.1.1.2.1. A sav:bázis arány hatása az elválasztásra

A korábbiakban említett eluensalkotó oldószerek anyagi minősége és aránya mellett a mozgófázishoz adott sav és bázis minősége és mennyisége is jelentősen befolyásolja az elválasztandó komponensek kromatográfiás viselkedését, hiszen a sav és a bázis mind a szolvatációs viszonyokra, mind a szelektor és az elválasztani kívánt vegyületek ionizáltságára, illetve az ionerősségre is hatással van. A retenciós viselkedés mélyebb megértésében fontos szerepet játszik az adalékként alkalmazott savak és bázisok hatásának feltérképezése.

Vizsgáltuk, hogy miként befolyásolja az elválasztást az eluenshez adott sav és bázis mennyiségének aránya. Mind irodalmi, mind saját tapasztalataink azt mutatták, hogy általában jó eredményeket érhetünk el, amikor AcOH-t és TEA-t használunk sav és bázis módosítóként az eluensben. Ennek megfelelően a sav:bázis arány elválasztásra gyakorolt hatásának vizsgálatokor AcOH és TEA adalékokat használtunk különböző arányokban (1:4, 1:2, 1:1, 2:1 és 4:1) MeOH/MeCN állandó arányú elegyből álló mozgófázisban [E12]. *ZWIX(-)* oszlopon aminosavak esetén mért eredményeinket a **14. ábrán** mutatom be.



14. ábra

Sav:bázis arány hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: oszlop: *ZWIX(-)*; mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és
 i) AcOH (25 mM) és TEA (100 mM), ii) AcOH (25 mM) és TEA (50 mM), iii) AcOH (25 mM) és TEA (25 mM), iv) AcOH (50 mM) és TEA (25 mM), v) AcOH (100 mM) és TEA (25 mM);
 áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; $\square$: k_f , $\blacksquare$: α , $\square$: R_s ; vegyületek: A: *119ab*, B: *119cd*, C: *118ab*

Összhangban más modellvegyületekkel és más eluensrendszerekkel kapott saját [E5, E8], illetve mások eredményeivel [73] azt tapasztaltuk, hogy az ikerionos oszlopokon végrehajtott elválasztásokra jellemző, hogy a retenció maximális értéket ér el az 1:1–2:1 sav:bázis tartományban. A szelektivitás és a felbontás értékei az 1:1–2:1 sav:bázis arányig általában növekednek, tovább növelve a savfelesleget számottevően nem változnak, vagy kismértékben csökkennek. Feleslegben alkalmazott bázis minden esetben csökkentette a

retenciót, a szelektivitást és a felbontást. A **14. ábrán** bemutatott aminosavak semleges, illetve protonált formában lehetnek jelen az oldatban. Savfelesleg esetén a protonált forma a jellemző, kialakulhatnak a retenció szempontjából fontos ionos kölcsönhatások. Bázisfelesleg csökkenti a protonált forma arányát, a töltés nélküli forma megjelenésével megszűnik a szelektorral kialakuló ionos kölcsönhatás; csökken a retenció és az enantioszelektivitás.

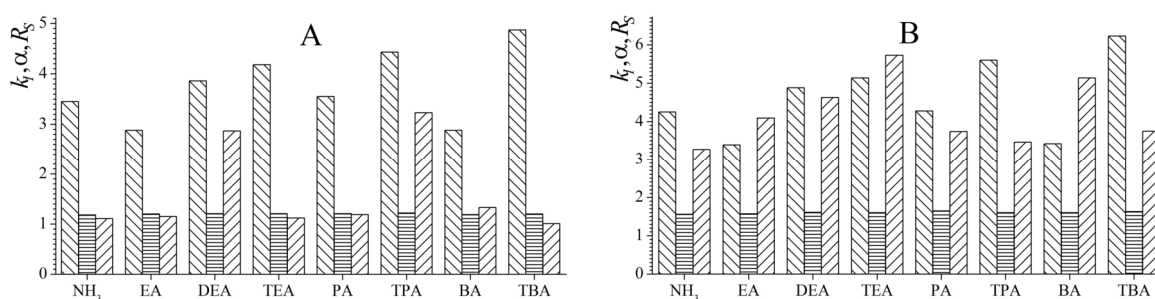
Aminosavak esetén a fentiekkel megegyező tapasztalatokat azzal értelmezhetjük, hogy mind az aminosavak (vagy más pozitív és negatív funkciós csoporttal rendelkező vegyületek), mind a szelektor ikerionos szerkezetet vesz fel, így az anionos és kationos funkciós csoportok a korábban tárgyalt módon biztosítják az optimális kölcsönhatások kialakulását. (A vizsgált aminosavak esetén a karboxilcsoport pK értékei 2–3, míg az aminocsoport pK értékei 9–10 között változnak. A kinuklidin gyűrűben elhelyezkedő nitrogén illetve a szulfonsav csoport pK értéke 9,8 és 1,0 [69]. Természetesen nem szabad arról elfelejtenünk, hogy a megadott pK értékek vizes közegre érvényesek, szerves oldószerekben ettől jelentősen eltérhetnek.) Nagyon nagy savfelesleg (sav:bázis $\geq$ 10) már rontja az elválasztás hatékonyságát, mivel a karboxilcsoport deprotonálódásának visszaszorítása miatt csökken a szelektor kationos funkciós csoportjával kialakítható kölcsönhatás szerepe. Csökkentve a savfelesleget (sav:bázis $<$ 1) csökken az aminocsoport protonáltsága, így a visszatartáshoz elengedhetetlen kationos kölcsönhatások mértéke is csökken. Bázisfelesleg esetén vélhetően sem a szelektor anioncserélő funkciós csoportja, sem az aminosav aminocsoportja nincs kellő mértékben protonálva, így nincs lehetőség elegendően erős ionos kölcsönhatások kialakulására, a kicsi visszatartást kismértékű enantioszelektivitás kíséri.

5.1.1.2.2. A sav és bázis anyagi minőségének hatása az elválasztásra

Ionkromatográfiában ellenionnak nevezik azokat az ionokat, melyek töltése megegyezik az elválasztandó ion töltésével (anioncserélő funkciós csoport esetén negatív, kationcserélő funkciós csoport esetén pozitív), kísérő ionnak azokat az ionokat, melyek töltése ellentétes az elválasztandó ion töltésével. Értekezésemben semleges molekulák tanulmányozása során kapott eredményeket mutatok be, de ezek a semleges molekulák az alkalmazott körülmények között ionos jellegűek, a kialakuló ionos kölcsönhatások pedig meghatározó szerepet töltenek be az elválasztásban. Ennek megfelelően a királis elválasztások értelmezésére az ionkromatográfiában alkalmazott fogalmakat használok majd.

Az előzőekben láttuk, hogy ikerionos típusú állófázisokon a legtöbb esetben az eluensben alkalmazott savfelesleg szükséges az enantioszelektív megkülönböztetés eléréséhez. A korábbi tapasztalatokra építve a mozgófázishoz adagolt sav koncentrációját 50 mM-nak, a vizsgált bázisok koncentrációját pedig 25 mM-nak választva, állandó MeOH/MeCN aránynál (50/50 v/v) vizsgáltuk a különböző anyagi minőségű (báziserősségű és szubsztituáltsági fokú) bázisok hatását a kromatográfiás jellemzőkre. (A mozgófázisban alkalmazott savfelesleg biztosította, hogy a bázisként jelenlevő aminok protonált formában legyenek jelen.) A vizsgált modellvegyületek közül értekezésemben két β^3 -aminosav (**62**, **70**) példáján keresztül mutatom be az adalékként alkalmazott bázis anyagi minőségének hatását [E10]. A kísérletsorozatban nyolc különböző bázist használtunk (NH₃, EA, DEA, TEA, PA, TPA, BA és TBA, melyek pK értékei sorra: 9,25; 10,70; 10,84; 10,75; 10,60; 10,65; 10,78 és 10,89 [175]).

A protonált aminok erős ionos kölcsönhatás kialakítására lehetnek képesek akár az aminosavak karboxilátcsoportjával (vagy más modellvegyület anionos funkció csoportjával), akár a szelektor anionos kölcsönható helyével, így jelentős hatást fejthetnek ki a retenciós viselkedésre. Amint az a **15. ábrán** bemutatott eredményekből kitűnik, a vizsgált bázisok anyagi minősége számottevően befolyásolja a retenciós tulajdonságokat.



15. ábra

A bázis anyagi minőségének hatása a kromatográfiás adatokra

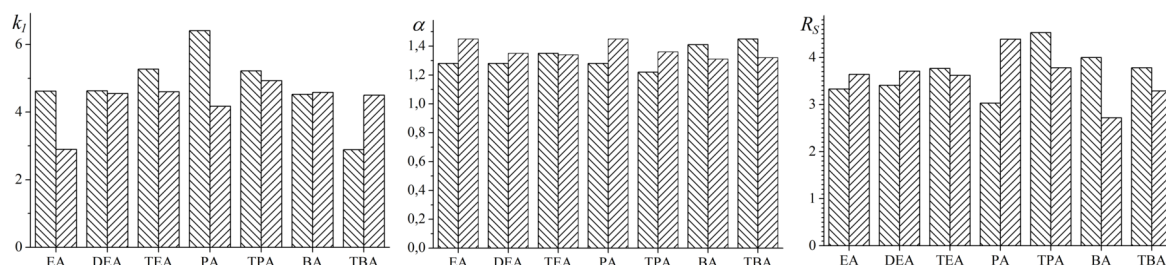
Kromatográfiás körülmények: kolonna: ZWIX(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és bázis (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; $\square$: k , $\blacksquare$: α , $\blacksquare$: R_S ; vegyületek: A: **62**, B: **70**

A retenciós tényező többnyire növekedett a nitrogénatom szubsztituáltságának növekedésével ($k_{EA} < k_{DEA} < k_{TEA}$; $k_{PA} < k_{TPA}$; $k_{BA} < k_{TBA}$). Az alkilánc méretét figyelembe véve kijelenthető, hogy általában az etil- és a propilszubsztituált aminok nagyobb retenciót eredményeztek, mint az *n*-butilszubsztituált bázisok. A monoszubsztituált bázisokkal összevetve kijelenthető, hogy az apolárisabb di- és triszubsztituált bázisok kedvezőtlenül befolyásolták a vizsgált ionos vegyületek szolvatációját, nagyobb retenciót eredményezve. Eredményeink azt mutatták, hogy az aminok bázicitása közvetlenül nem hozható

kapcsolatba a retencióra kifejtett hatásukkal, inkább a korábban tárgyalt szerkezeti jellemzők a meghatározók.

A retencióra kifejtett hatásokkal ellentétben a vizsgált bázisok anyagi minősége sokkal kisebb hatással volt az észlelt enantioszelektivitásra (**15. ábra**). Az enantioszelektivitás az alifás oldalláncú **62** esetén 1,18–1,22, míg az aromás gyűrűvel rendelkező **70** esetén 1,56–1,65 között változott. Általánosságban kijelenthető, hogy a bázis anyagi minősége számottevően nem befolyásolja az ikerionos fázisok enantioszelektivitását. A felbontásra kapott eredmények kapcsán teljesen egyértelmű irány nem fogalmazható meg, az alkalmazott bázis anyagi minőségének hatása a felbontás értékére erősen függött a vizsgált vegyület szerkezetétől. β^2 -Aminosavak (**46–61**) esetén például $\text{TEA} < \text{DEA} < \text{EA} \leq \text{PA} \leq \text{NH}_3$ sorrendben csökkenő retencióval az esetek többségében nőtt a felbontás [E1].

A bázis anyagi minőségének hatása mellett több esetben is vizsgáltuk a sav anyagi minőségének hatását a kromatográfiás viselkedésre [E1, E4–E6, E8, E9]. A **16. ábrán** az izoxazolinok (**102–105**) közül a **102ab** enantiomerpár elválasztása során kapott eredményeinkből egy tipikusnak mondható példát mutatok be [E8]. Hét különböző anyagi minőségű bázis (EA, DEA, TEA, PA, TPA, BA, TBA) mellett vizsgáltuk a FA és az AcOH hatását állandó kromatográfiás körülmények között. A **16. ábra** jól tükrözi, hogy az alkalmazott sav anyagi minőségének nincs igazán jelentős hatása az elválasztásra.



16. ábra

A sav anyagi minőségének hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: állófázis: *ZWIX*(+); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és sav (50 mM) és bázis (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; : FA, : AcOH; vegyület: **102ab**

Ugyanazon bázis mellett akár FA-t, akár AcOH-t alkalmaztunk sav módosítóként, csak kicsi különbségeket észleltünk a retenció tényezőben, az enantioszelektivitásban és a felbontásban egyaránt. Ezek a különbségek még szerkezetileg igen hasonló vegyületeknél sem voltak igazán egyirányba mutatók, így általánosan érvényes irányvonalak az alkalmazott sav anyagi minősége és a tapasztalt kromatográfiás viselkedés között nem fogalmazhatók meg.

Annak érdekében, hogy az ioncserélő tulajdonságú állófázisok működését mélyebben megérthessük fontos tisztázni, hogy az eluenshez adott savak és bázisok retencióra kifejtett hatása anion- és kationcserélők esetén ellentétes [73]. *Lindner* és munkatársai [73, 74] kinin alapú anioncserélő, kationcserélő illetve ikerionos fázisokat vizsgálva korábbi irodalmi előzményeket [70, 176, 177] figyelembe véve a **17. ábrán** bemutatott módon összegezték a savak és bázisok elúcióra kifejtett hatását. Ikerionos állófázisoknál mind anion-, mind kationcserélő funkciós csoport jelen van egyazon szelektor molekulán belül. Természetesen ez többek között azzal a fontos következménnyel jár, hogy mind a savas, mind a bázikus módosító az adott rendszerben egyidejűleg ellenionként és kísérő ionként is viselkedik. Vagyis ikerionos szelektoroknál a hozzáadott bázis (és ugyanígy a sav) a két ellentétes töltésű funkciós csoport jelenléte miatt összetett módon befolyásolja a retenciós viselkedést. A szelektor funkciós csoportjai királis felismerésben betöltött szerepének hierarchiája nem csak az alkalmazott mozgófázis összetételétől, de adott körülmények között a vizsgált komponens szerkezetétől is függhet.

mód	elúciós erősség →				
	ellenion	AcOH	FA	TFA	
anioncserélő	kísérő ion	NH ₃	EA	DEA	TEA
kationcserélő	ellenion	TEA	DEA	EA	NH ₃
	kísérő ion	AcOH	~ FA	~ TFA	

17. ábra

Az elúciós erősség változása a savak és bázisok anyagi minőségétől függően ioncserélő állófázisok esetén [73]

Jelenleg még nem tudjuk elméleti úton jósolni, hogy adott rendszer esetén melyik funkciós csoport tölt be meghatározó szerepet a királis felismerésben, vagyis nem tudjuk, hogy melyik ellenion (a protonált bázis vagy a deprotonált sav) játszik fontosabb szerepet. Ezt az összetett képet még tovább árnyalja az a tény, hogy az ikerionos állófázisok szelektora szintén ellen- és kísérő ionként viselkedhet [72-74]. Ez azt jelenti, hogy az állófázison kötött szelektor – a fordított fázisú elválasztásoknál alkalmazott akirális ikerionos állófázisokhoz hasonlóan – funkciós csoportjai révén átveszi a mozgófázisban oldott ellen-, illetve kísérő ionok szerepét. A retenciós viselkedéseket tekintve az ikerionos állófázisok rövidebb retenciós időkkal teszik lehetővé az analízist összevetve egy, csak az egyik funkciós csoportot tartalmazó monoionos állófázissal. Ugyan a rutin analízisek során nem ajánlott sav és bázis adalékok nélkül használni az ikerionos kolonnákat, de mivel a

szelektor kation- és anioncserélő funkciós csoportokat egyaránt tartalmaz, azok ellenionként viselkedve lehetővé teszik a visszatartott komponensek elúcióját. Fontosnak tartom megjegyezni, hogy ez inkább csak elvi lehetőséget jelent, nem biztosítja a retenciós viselkedés korábban tárgyalt módon történő szabályozását, ráadásul sav és bázis módosítók hiányában változik az ionerősség, csúcskettőződés és csúcstorzulás léphet fel.

Mind a saját, mind az irodalmi tapasztalatok azt mutatják, hogy a kísérő és az ellenionok a fent elemzett összetett hatások miatt bizonyos értelemben kiegyensúlyozzák egymást. Ez áll annak a háttérben, hogy ellentétben az egyféle ionos funkciós csoportot tartalmazó anion- vagy kationcserélőkkel, a kísérő és az ellenionok minőségének változtatása nem okoz igazán jelentős változásokat a kromatográfiás viselkedésben ikerionos szelektorok esetén.

Ma már gyakorlati okok miatt azzal is érdemes foglalkozni, hogy a felhasználni kívánt eluensrendszer használható-e a tömegspektrometriás detektálással. Amint az eluens összetételének illetve az alkalmazott módosítók hatásainak tárgyalásából kiderült, az ikerionos szelektorral rendelkező állófázisok megfelelő oldószerkompatibilitással rendelkeznek és az alkalmazott sav és bázis anyagi minőségének nincs igazán jelentős hatása az enantioszelektív felismerésre. Ezek alapján kijelenthető, hogy a tárgyalt állófázisok az MS alkalmazására épülő analízisek esetén is kiváló lehetőséget biztosítanak az enantioszelektív elválasztásokra.

5.1.1.2.3. Az ellenionok koncentrációjának hatása

A hagyományos kation- vagy anioncserélők esetén a retenció könnyedén módosítható a mozgófázishoz adagolt ellenionok koncentrációjának változtatásával. Az ioncserén alapuló retenciós viselkedés leírására leggyakrabban a sztöchiometrikus helyettesítési modellt hívják segítségül [178-180], ami az ellenionok hatását például kationcserélő esetén az alábbi egyenleten keresztül értelmezi:



ahol P^{m+} az elválasztandó iont, A^{n+} az elleniont, X a kationcserélő funkciós csoportot jelöli. A modell azt jósolja, hogy a retenciós tényező logaritmusának lineáris összefüggésben áll az ellenion koncentrációjának logaritmusával, a 15. egyenletnek megfelelően.

$$\lg k = \lg K_Z - Z \lg c_{\text{ellenion}} \quad (15)$$

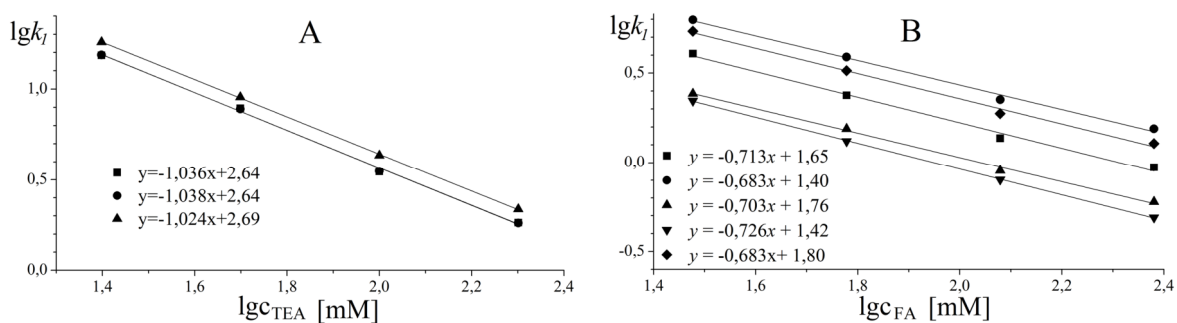
K_Z a rendszer állandó, c_{ellenion} az ellenionok oldatbeli koncentrációja, $Z=m/n$: az elválasztandó és az ellenion töltésének aránya (ún. effektív töltés). A K_Z állandó a 16. egyenletnek megfelelően kapcsolatban áll az ioncserét leíró egyensúlyi állandóval (K), az állófázison rendelkezésre álló ioncserélő helyek számával (q_x) a felület nagyságával (S) és a mozgófázis térfogatával (V_m).

$$K_Z = \frac{KS(q_x)^Z}{V_m} \quad (16)$$

Vagyis az $\lg k - \lg c_{\text{ellenion}}$ függvény lineáris összefüggést mutat, ahol az egyenes meredeksége arányos az ioncsere során megjelenő effektív töltéssel, míg a tengelymetszet az ioncsere egyensúlyi állandójáról hordoz információt.

Azért, hogy mélyebb betekintést nyerjünk a retenciós mechanizmus részleteibe, több esetben is vizsgáltuk az ellenionok koncentrációjának hatását a retencióra [E10–E17]. Elsőként a *DCL-RR* és *DCL-SS* erős kationcserélő állófázisokon (**5. ábra**) β -karbolin analógokra (**143-148**) kapott eredményeinket tárgyalom [E13]. A kísérletsorozathoz az AcOH és a TEA koncentrációját rendre 50 mM-ról 400 mM-ig, illetve 25 mM-ról 200 mM-ig növeltük, míg a sav-bázis arányt 2:1 értéken tartottuk, egyébként állandó körülményeket alkalmazva. Eredményeink (**18.A ábra**) kiváló összhangban vannak a sztöchiometrikus helyettesítési modell által jósolt viselkedéssel, az elsőként eluálódó izomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmusával lineárisan csökken az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusával.

A vizsgált modellvegyületeknél (**144, 146, 148**) az egyenesek meredekségének abszolútértéke mindkét erős kationcserélő állófázison egy körül alakult (1,00–1,04), ahogyan azt az említett modell alapján várhatjuk. (Mind az ellenionok (protonált TEA), mind a protonált β -karbolinok egyszeres töltésűek, így a korábban említett effektív töltés értéke is egy körül kell legyen.) Hasonló eredményeket kaptak Hoffmann és munkatársai is királis aminok elválasztásának vizsgálata során erős kationcserélő állófázison [70].



18. ábra

Az ellenion koncentrációjának hatása az elsőként eluálódó enantiomer retenciós tényezőjére (k_I) hagyományos (monoionos) ioncserélő állófázisoknál

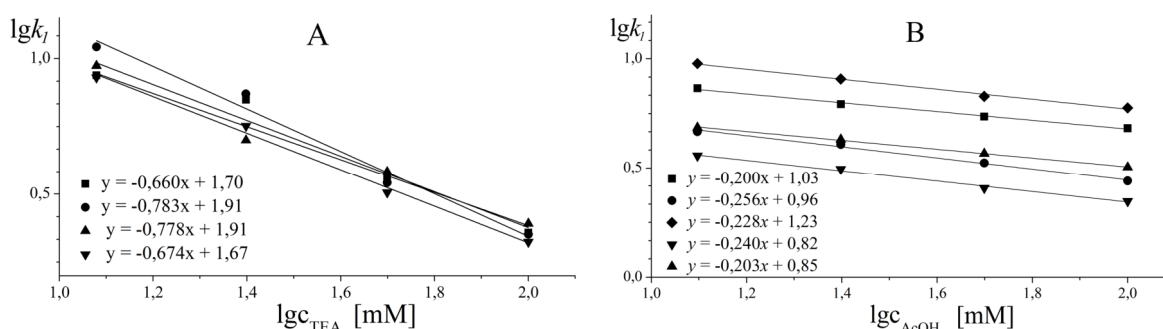
Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *DCL-RR*, B: *QN-AX*; mozgófázis: A: MeOH és AcOH (50 mM–400 mM) és TEA (25 mM–200 mM); B: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (30 mM–240 mM) és TEA (15 mM–120 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; vegyületek: A: ■: 144, ●: 146, ▲: 148; B: ■: 15, ●: 12, ▲: 3, ▼: 17, ◆: 6

Ugyan abszolútértékben kisebb (0,7 körüli) meredekséggel, de szintén lineáris kapcsolatot találtunk az $\lg k_I - \lg C_{ellenion}$ függvényre anioncserélő (*QN-AX* és *QD-AX*) állófázisokon α -aminosavak Fmoc-származékainál (**1–19**) [E15], ahol a védőcsoporttal ellátott modellvegyületek nagyobb apolaritása vélhetően már számottevő hatással volt az ioncserén alapuló retenciós mechanizmusra, eltérést eredményezve az egy körüli meredekségtől (**18.B ábra**).

Fontosnak tartottuk annak a vizsgálatát, hogy vajon az ikerionos állófázisok eltérőképpen viselkednek-e az előbbieken tárgyalt hagyományos, monoionos ioncserélő állófázisoktól abban az esetben, ha az ikerionos állófázis – a vizsgált minták monoionos jellegének megfelelően – csak monoionos módban működhet. Ennél a kísérletsorozatnál a vizsgált modellvegyületek aminosavak voltak (**118–119**), melyek protonálható aminosavaknak köszönhetően kationként viselkedtek, vagyis ebben az esetben az ikerionos állófázisokat kationcserélő módban alkalmaztuk, az elúcióhoz trietilammóniumiont használva ellenionként [E12]. (A hidroxámsavak a megfelelő karbonsavaknál lényegesen gyengébb savak, pK_a értékük vizes oldatban 8–9 körül van [181].) A *ZWIX(-)*TM és *ZWIX(+)*TM oszlopok alkalmazása során az AcOH és a TEA koncentrációját rendre 25 mM-ról 200 mM-ra, illetve 12,5 mM-ról 100 mM-ra változtattuk, míg a sav-bázis arányt 2:1 értéken tartottuk állandó MeOH/MeCN (50/50 v/v) arány mellett. Mind a *ZWIX(-)*, mind a *ZWIX(+)* állófázisokon elvégzett méréseink azt mutatták, hogy növekvő ellenion koncentráció hatására csökkent a retenciós tényező értéke, míg az $\lg k_I - \lg C_{ellenion}$ függvények meredeksége abszolútértékben kifejezve a *ZWIX(-)* esetén 0,5–0,6, a *ZWIX(+)* oszlopnál pedig 0,7–0,8 (**19.A ábra**) volt.

Eredményeink kiváló összhangban vannak *Lindner* kutatócsoportjának korábban közölt tapasztalataival, miszerint bázikus modellvegyületek ikerionos állófázisokon történő elválasztásánál 0,5–0,8 közötti meredekségeket határoztak meg [74]. A vizsgált vegyületek körét tovább bővítve, *transz*-paroxetin esetén (**142**) *ZWIX*(+), *ZWIX*(+A) és *ZWIX*(–) oszlopokon 0,7–0,8 közötti abszolútértékű meredekségeket határoztunk meg kationcserélő módban [E11].

Az ikerionos oszlopokat ikerionos módban, azaz ikerionos vegyületek elválasztására alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy *ZWIX*(+) és *ZWIX*(–) oszlopokon β^3 -aminosavaknál [65, 77] abszolútértékben 0,21–0,29 tartományban [E10], *ZWIX*(+), *ZWIX*(–), *ZWIX*(+A) és *ZWIX*(–A) oszlopokon ciklusos β -aminosavaknál (**86b**, **106a**, **88c**, **108c**, **91b**) 0,20–0,34 tartományban [E14] változtak a meredekségek (**19.B ábra**), ami jellegzetes különbséget mutat az ikerionos és a hagyományos ioncserélő állófázisok között.



19. ábra

Az ellenion koncentrációjának hatása az elsőként eluálódó enantiomer retenciós tényezőjére (k_I) ikerionos ioncserélő állófázisoknál

Kromatográfiai körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(–); mozgófázis: A: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (25 mM–200 mM) és TEA (12,5 mM–100 mM), B: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (12,5 mM–100 mM) és DEA (6,25 mM–50 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc^{–1}; vegyületek: A: ■: **119b**, ●: **119d**, ▲: **118b**, ▼: **118d**; B: ■: **86b**, ●: **106a**, ◆: **88c**, ▼: **108c**, ▲: **91b**

Érdemes kiemelni tehát, hogy az ellenionok koncentrációja az ikerionos állófázisok esetén sokkal kisebb hatással van a retencióra, mint a hagyományos monoionos ionkromatográfiai oszlopok alkalmazása során; erre magyarázatként az állófázis szelektormolekuláinak korábban említett ellenion hatása adható.

A retenciós tulajdonságok mellett azt is érdemes alaposabban szemügyre venni, hogy az ellenionok koncentrációja hogyan befolyásolja az enantioszelektivitást. Eredményeink tükrében egyértelműen kijelenthető, hogy az ellenionok koncentrációjának változása nem okozott számottevő változást az enantioszelektivitásban se a monoionos, se az ikerionos állófázisoknál. Tapasztalataink szerint az egyes enantiomerek az ellenionok koncentrációjának változására egyformán reagálnak, vagyis az enantiomerek

viselkedésében nincs jelentős különbség az ioncsere folyamatában. Ebből következik, hogy a másodikként eluálódó enantiomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmusát az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusára függvényében ábrázolva hasonló meredekségű egyenest kapunk, csak a tengelymetszetben (azaz a K_z értékében) mutatkozik különbség. A vizsgált ikerionos állófázisok jellemzője tehát, hogy a retenciós tulajdonságokat hangolhatjuk az ellenion koncentrációjának változtatásával anélkül, hogy a szelektivitás számottevően megváltozna.

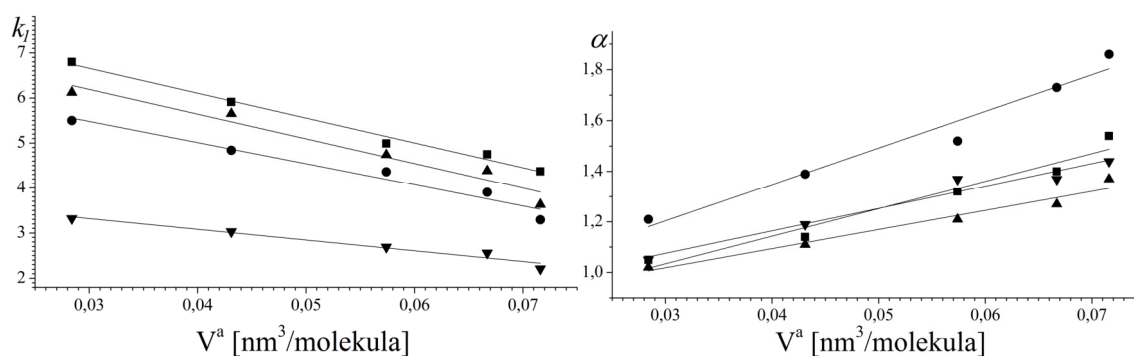
5.1.2. A szerkezet–retenciós tulajdonságok összefüggései *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)* ikerionos állófázisokon

A 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 egyúttal lehetőséget teremt a szerkezet és a retenciós tulajdonságok közötti összefüggések elemzésére. Ikerionos állófázisok alkalmazásával közleményeinkben nagyszámú modellvegyület vizsgálati eredményeiről számoltunk be, a terjedelmi korlátok miatt a következőekben néhány kiragadott példán keresztül kívánom bemutatni a fontosabb összefüggéseket. Ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál természetes követelmény a modellvegyületek ionos állapota; aminosavaknál a karboxil- és az aminocsoport biztosítja a retenció szempontjából meghatározó ionos kölcsönható helyeket, így ikerionos szerkezetük révén kiváló lehetőségét biztosítanak az állófázissal kialakuló kölcsönhatások tanulmányozására.

β^2 -Aminosavak (**46–61**) esetében (többféle eluensrendszer esetén is) azt tapasztaltuk, hogy az alifás lánc hosszának növekedésével (**46–49**) a retenciós tényező kismértékű változása mellett a szelektivitás növekedett [E1]. MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerénél *ZWIX(+)* állófázison például $k_1=6,93–7,38$, $\alpha=1,12–1,28$ között, míg *ZWIX(-)* oszlopon $k_1=5,50–6,11$, $\alpha=1,31–1,38$ között változott. Az elágazást tartalmazó alifás láncsal rendelkező vegyületeknél (**50**, **51**) kisebb visszatartást és nagyobb szelektivitást észleltünk. Markáns különbség mutatkozott az **50** és **51** vegyület viselkedése között; az **50** vegyületnél észlelt nagyobb enantioszelektivitás ($\alpha_{ZWIX(+)}=1,50$, $\alpha_{ZWIX(-)}=1,30$) jelentősen csökkent az **51** vegyületnél ($\alpha_{ZWIX(+)}=1,18$, $\alpha_{ZWIX(-)}=1,20$). Az egy metilén-csoporttal hosszabb lánc növelte a molekula „rugalmasságát” és apolaritását nagyobb visszatartást eredményezve, de nem kedvezett a molekuláris felismerésnek. Általánosságban elmondható, hogy az alifás szubsztituenst tartalmazó β^2 -

aminosavak (**46–51**) esetén az alkillánc növekedése kedvezően hatott a szelektorból és a modellvegyületből álló komplex képződésére.

Az alkilszubsztituensek hatásának mélyebb megértése érdekében β^3 -aminosavak (**62–66**) esetében tanulmányoztuk az ún. Meyer-paraméter és a kromatográfiás jellemzők összefüggését [E10]. (A Meyer-paraméter (V^a) a szubsztituens méretét jellemzi, mértékegysége $\text{nm}^3/\text{molekula}$ [182].) A **20. ábra** tanúsága szerint a Meyer-paraméter növekedésével mindkét állófázison, mind PI, mind HO módban csökkent a retenció és növekedett a szelektivitás. A nagyobb térkitöltésű szubsztituens tehát csökkentette a visszatartást és egyben kedvezett a királis megkülönböztetésnek. Fontosnak tartom megemlíteni, hogy az elúciós sorrendet nem befolyásolta a szubsztituens mérete, azaz a többpontos kölcsönhatásokon keresztül kialakuló királis megkülönböztetésben az ionpárképződés meghatározó szerepe érvényesül.



20. ábra

A szubsztituens méretének hatása a kromatográfiás jellemzőkre β^2 -aminosavak esetén
 Kromatográfiás körülmények: kolonna: ZWIX(+) és ZWIX(-); mozgófázis: PIM: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); HO: H₂O/MeCN (10/90 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM);
 áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; ■: PIM-ZWIX(+), ●: PIM-ZWIX(-), ▲: HO-ZWIX(+),
 ▼: HO-ZWIX(-); vegyületek: **62, 63, 64, 65, 66**

Az aromás gyűrűt tartalmazó β^2 -aminosavak (**52–61**) térkitöltése nagyobb, szerkezetük merevebb. Adott eluensösszetételnél (MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH) ZWIX(+) állófázison tapasztalataink azt mutatták, hogy ezek a vegyületek az alifás vegyületekkel összevetve számottevően nagyobb retenciós idővel eluálódtak ($k_{I,ZWIX(+)}=8,73\text{--}12,07$; $k_{I,ZWIX(-)}=6,18\text{--}9,73$), de az észlelt enantioszelektivitás ($\alpha_{ZWIX(-)}=1,11\text{--}1,20$; $\alpha_{ZWIX(+)}=1,00\text{--}1,08$) lényegesen kisebb volt [E1]. A megnövekedett visszatartás jól értelmezhető a szelektor kinolin gyűrűje és az aromás rendszerek között kialakuló $\pi\text{--}\pi$ kölcsönhatásokkal, de ezek a kölcsönhatások nem növelték az enantiomerfelismerő-képességet. A benzolgyűrűn elhelyezkedő metil- (**53**) vagy

dimetilaminocsoport (54) nem befolyásolta számottevően a kromatográfiás jellemzőket. H-híd kölcsönhatások kialakításán keresztül a klór (55), a hidroxilcsoport (56, 57) vagy az éterkötésű oxigénatom (58) jelenléte ugyan nagyobb visszatartást eredményezett, de ezt általában nem kísérte a szelektivitás számottevő növekedése. A visszatartás 61 vegyületnél észlelt jelentős növekedése ($k_{I,ZWIX(+)}=12,07$; $k_{I,ZWIX(-)}=9,73$) a naftilgyűrű jelenléte miatti megnövekedett π - π kölcsönhatásokkal magyarázható, de ezt ebben az esetben sem kísérte a szelektivitás javulása.

A β^2 -aminosavakhoz hasonlóan az aromás gyűrűt tartalmazó β^3 -aminosavak (70–72) is hosszabb retenciós idővel eluálódtak (PI módban $k_I=5,14$ – $7,62$), de itt nem volt jelentős a szelektivitásban bekövetkezett csökkenés ($\alpha=1,10$ – $1,60$) a kinin és kinidin alapú állófázisokon [E10]. Az aromás rendszer az erősebb π - π kölcsönhatásokon keresztül növelte az állófázissal kialakított kölcsönhatásokat, de nem eredményezett számottevő változást az enantioszelektivitásban. A benzolgyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek, például a metilcsoport – helyzetétől függetlenül (74, 75) – nem okozott számottevő változást a kromatográfiás adatok értékében. A fluor- és klórtartamú vegyületeknél (76, 77) a legtöbb esetben mindkét kromatográfiás módban (PI, HO) és mindkét állófázison kissé nagyobb visszatartást és szelektivitást tapasztaltunk, ami a H-híd kölcsönhatások előtérbe kerülésével értelmezhető. A nitrogén-, oxigén-, kéntartalmú vegyületeknél (78–84) csak kismértékű változásokat figyelhettünk meg a visszatartásban és a szelektivitásban [E10]. A heteroatomok térbeli helyzete szterikus hatásokat indukált; a kén- és az oxigénatomok *meta* helyzetben (81, 83) nagyobb visszatartást és szelektivitást eredményeztek, mint *orto* helyzet (82, 84) esetén. Az *orto* helyzetű kén- és oxigénatomok valószínűleg a királis centrumhoz közelebb elhelyezkedve szterikusan gátolt helyzetben vannak a H-hidas kölcsönhatások kialakításához. Itt is fontos kiemelni, hogy az elúciós sorrendet a fentebb említett szerkezeti változások nem befolyásolták, a királis felismerés a korábbiakban elemzettel összhangban játszódtott le.

Amint korábban említettem akkor hasonlíthatunk össze kromatográfiás rendszereket, ha az alkalmazott körülmények gyakorlatilag megegyeznek és a vizsgált vegyületek a lehető legnagyobb szerkezeti hasonlóságot mutatják. Erre a célra kiváló lehetőséget biztosított az izobár β^2 - és β^3 -aminosavak kromatográfiás tulajdonságainak meghatározása, melynek eredményeit a 4. Táblázatban mutatom be [E7]. Állandó összetételű eluenst alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy a β^2 -aminosavak mindkét oszlopon hosszabb retenciós idővel eluálódtak, azaz mind a kinin, mind a kinidin alapú szelektorokkal erősebb kölcsönhatást tudtak kialakítani, mint a β^3 megfelelőik. A szelektivitás értékek összevetése

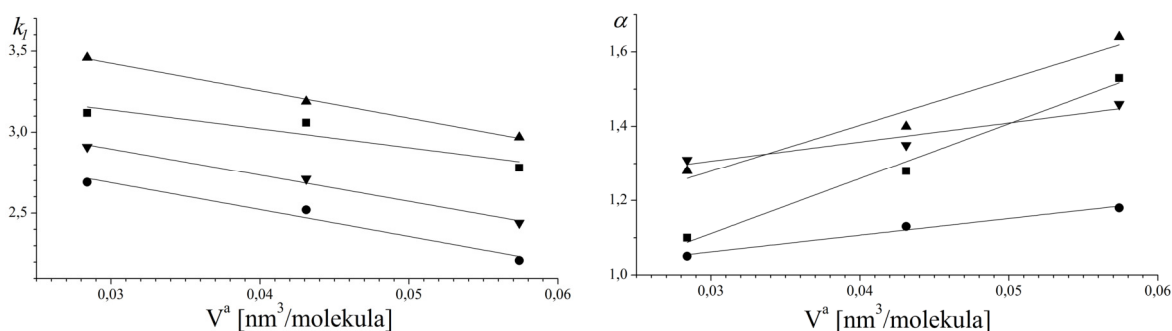
alapján kijelenthető, hogy az alifás szubsztituenseknél a β^2 -, míg az aromás szubsztituenseknél a β^3 -aminosavak enantiomerei voltak elválaszthatók nagyobb szelektivitással. A szubsztituensek kromatográfiás viselkedésre gyakorolt hatását ebben az esetben is a Meyer-paraméterrel fennálló összefüggés vizsgálatán keresztül jellemezhetjük. A **21. ábrán** bemutatott adatok alapján kijelenthető, hogy lineáris összefüggés áll fenn a Meyer-paraméter és a retenciós tényező, valamint a szelektivitás között.

4. Táblázat

Izobár β^2 - és β^3 -aminosavak kromatográfiás jellemzői *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)* oszlopokon

Vegyület	k_I		α	
	<i>ZWIX(+)</i>	<i>ZWIX(-)</i>	<i>ZWIX(+)</i>	<i>ZWIX(-)</i>
46 (β^2)	3,12	3,46	1,10	1,28
62 (β^3)	2,69	2,91	1,05	1,31
47 (β^2)	3,06	3,19	1,28	1,40
63 (β^3)	2,52	2,71	1,13	1,35
50 (β^2)	2,78	2,97	1,53	1,64
64 (β^3)	2,21	2,44	1,18	1,46
61 (β^2)	5,16	5,60	1,00	1,08
73 (β^3)	4,22	4,92	1,10	1,31
53 (β^2)	3,92	4,27	1,03	1,12
75 (β^3)	3,26	3,59	1,10	1,36
55 (β^2)	4,51	4,92	1,00	1,12
76 (β^3)	3,82	4,39	1,14	1,35

Kromatográfiás körülmények: kolonna: *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)*; mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és BA (25 mM)); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹



21. ábra

A szubsztituens méretének hatása a kromatográfiás jellemzőkre izobár β^2 - és β^3 -aminosavak esetén

kolonna: *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)*; mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és BA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; ■: β^2 -ZWIX(+), ●: β^3 -ZWIX(+), ▲: β^2 -ZWIX(-), ▼: β^3 -ZWIX(-); vegyületek: β^2 : **46**, **47**, **50**, β^3 : **62**, **63**, **64**

A szubsztituens méretének növekedésével csökkenő visszatartás és növekvő szelektivitás volt megfigyelhető. A szubsztituens növekvő mérete vélhetően sztérikusan gátolja egyes kölcsönható helyekhez való hozzáférést, csökkentve a nemszelektív kölcsönhatásokat és a retenciót, de egyben növeli a különbséget az egyes enantiomerek szelektorral való kölcsönhatásában. Szerkezeti adataink birtokában kijelenthetjük, hogy az alifás vagy aromás oldalláncot tartalmazó aliciklusos β^2 - és β^3 -aminosavak *ZWIX*(+) oszlopon általában nagyobb retenciós idővel eluálódtak, mint *ZWIX*(-) oszlopon, ellenben a szelektivitások fordítva alakultak a két állófázison.

A merevebb szerkezettel rendelkező ciklusos β -aminosavak (**86–101**) kromatográfiás viselkedésének elemzésekor egyértelmű, általánosan érvényes irányokat nehezebb megfogalmazni [E2, E4, E8, E9, E14]. Ennek valószínű oka a ciklusos β -aminosavak jelentősen eltérő szerkezete, amely erősen befolyásolja a kromatográfiás viselkedést.

ZWIX(+) és *ZWIX*(-) állófázisokon a ciklusos β -aminosavak (**86–88, 91**) és *N*-metilezett származékaik (**106–109**) összehasonlító vizsgálatával megállapítottuk, hogy az amino- és a karboxilcsoport helyzetét tekintve a *transz*-származékok (**86cd, 88cd, 89cd**) az esetek többségében nagyobb retenciós idővel és nagyobb szelektivitással eluálódtak, mint a *cisz* helyzetűek (**86ab, 88ab, 89ab**) [E9, E14] (**Függelék, F1. Táblázat**). A *transz* állás kedvezett a retenció szempontjából meghatározó kettős ionpár képződésének, nagyobb visszatartást és szelektivitást eredményezve. A szabad aminocsoportot és *N*-metilezett származékait tartalmazó ciklusos β -aminosavak (**86ab** vs. **106ab, 87ab** vs. **107ab, 88ab** vs. **108ab, 88cd** vs. **108cd és 91ab** vs. **109ab**) kromatográfiás viselkedését összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a metilcsoport jelenléte minden esetben jelentősen csökkentette a retenciót és egyúttal számottevően növelte a szelektivitást (**F1. Táblázat**) [E14]. A metilcsoport beépítésével kialakuló merevebb szerkezet csökkentette ugyan az állófázissal való kölcsönhatást (kisebb k_I), de segítette a királis megkülönböztetést (nagyobb α). A ciklusos β -aminosavak esetén a kettős kötés jelenléte a molekula polaritásának megváltozásán keresztül befolyásolhatja a retenciós viselkedést. A kettős kötést tartalmazó származékok – a várakozással ellentétben – egy kivételtől eltekintve (**89ab**) kisebb retenciós idővel és szelektivitással eluálódtak, mint a telített változataik (**86ab** vs. **87ab, 88ab** vs. **89ab, 88cd** vs. **89cd és 106ab** vs. **107ab**). Vélhetően a poláris–poláris kölcsönhatások kisebb szerepet játszanak ilyen körülmények között az enantioszelektív elválasztás során.

Biciklusos β -aminosavak esetén a *transz* (**92cd**) és az *exo-endo* (**93cd**) helyzetben elhelyezkedő funkciós csoportok egyértelműen segítették a szelektorral kialakuló komplex

képződését, nagyobb retenciót és *ZWIX*(+) állófázison nagyobb szelektivitást eredményezve (**F1. Táblázat**) [E4]. Az amino- és karboxilcsoportok *transz* és *exo-endo* helyzetben a *cisz* (**92ab**) és *diendo* (**93ab**) helyzethez képest távolabb helyezkednek el egymástól, kedvezve így a sztereoszelektív kölcsönhatások kialakulásának.

2-Aminociklopentán-karbonsavat metil- és etilszubsztituált izoxazolingyűrűvel kondenzálva nagy térkitöltésű, merevebb szerkezetű származékokhoz jutunk (**86** vs. **102-105**) [E8]. Abban az esetben, ha az izoxazolin gyűrűjén elhelyezkedő metil- vagy etilcsoport az aminocsoporthoz képest távolabb helyezkedik el (**102** vs. **104**, **103** vs. **105**) a retencióban csökkenést, a szelektivitásban növekedést tapasztaltunk (**F1. Táblázat**). Az amino- és a karboxilcsoport *cisz* és *transz* helyzetét figyelembe véve az alapul szolgáló 2-aminociklopentán-karbonsav (**86ab** és **86cd**) esetén egyértelműen előnyös a *transz* helyzet. Az izoxazolingyűrűvel kondenzált származékok közül a **102** és **103** vegyületekre mindig, míg a **104** és **105** β -aminosavak esetén kevés kivételtől eltekintve igaz, hogy a *transz* helyzetű enantiomerek kisebb retenciós idővel és nagyobb α értékkel rendelkeztek. A metil- és etilszubsztituensek hatását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a metilszubsztituált analógok (**102**, **104** vs. **103**, **105**) erősebb kölcsönhatást tudtak kialakítani az állófázissal; a nagyobb visszatartást általában nagyobb szelektivitás és felbontás kísérte. Az izoxazolingyűrűvel kondenzált 2-aminociklopentán-karbonsavak jól példázzák, hogy már kis szerkezeti változás is milyen jelentőst hatást fejthet ki a királis felismerésre kinin- és kinidin alapú ikerionos állófázisok esetén.

Monoterpénvázas β -aminosavak esetén (**98–101**) ismételten a *cisz*- és a *transz*-izomerek összehasonlítására nyílik lehetőség. Tapasztalatunk szerint ezen vegyületeknél is az amino- és karboxilcsoportok *transz* helyzete (**98cd** vs. **98ab**; **101ab**) kedvezett a retenció szempontjából meghatározó kettős ionpár képződésének (**F1. Táblázat**) [E2].

Ciklusos β -aminohidroxámsavak (**118**, **119**) szerkezeti jellemzői kromatográfias adatokra gyakorolt hatásának vizsgálata során megfigyeltük, hogy a funkciós csoportok *diexo* helyzete (**118ab**, **119ab**) az ikerionos állófázis szerkezetétől függetlenül nagyobb szelektivitást eredményezett a *diendo* (**118cd**, **119cd**) helyzetű funkciós csoportokhoz képest (**F2. Táblázat**) [E12]. A retenció kapcsán egyértelmű következtetések nem fogalmazhatók meg. Említést érdemel még a kettős kötés befolyásoló hatása is. Megfigyeléseink szerint a *diendo* helyzetben lévő funkciós csoportot tartalmazó vegyületeknél (**119cd**) a kettős kötés jelenléte mindkét kolonnán nagyobb k_1 , α és R_S értékekhez vezetett. Ezzel ellentétesen a *diexo* helyzetben levő funkciós csoportot tartalmazó izomereknél (**119ab**) a kettős kötés jelenléte csak a *ZWIX*(-) oszlopon

eredményezett nagyobb k_I , α és R_S értékeket, *ZWIX*(+) kolonnán a kettős kötés jelenlétében k_I , α és R_S kisebbek voltak, hasonlóan a ciklusos β -aminosavaknál tapasztaltakhoz. Az eddig tárgyaltakhoz hasonlóan, vélhetően a molekula egészének szerkezete és a funkciócsoportok elhelyezkedése a döntő a királis felismerés szempontjából. A kettős kötés indukálhat ugyan további, a retenció, illetve a felismerés szempontjából fontos kölcsönhatásokat, de ennek hatása nehezen jósolható.

Értékes szerkezeti hatásokat figyelhetünk meg az 1,2,3,4-tetrahydroizokinolinszármazékok (**149–159**) tanulmányozása során (**F3. Táblázat**) [E6]. A metoxicsoportok jelenléte (**149** vs. **150**, **154** vs. **155**) növelte a retenciót és a szelektivitást mindkét oszlopon (**155** nem volt elválasztható *ZWIX*(-) állófázison). A szterikus hatások mellett, ezekben az esetekben minden bizonnyal a H-híd segíti a szelektorról létrejövő komplex kialakulását. Az alkilszubsztituens méretének növelése (**150–153**), ellentétben az aliciklusos β -aminosavaknál tapasztaltakkal, ennél a vegyületcsoportnál nem kedvezett a királis felismerésnek. Az alkillánc növekvő mérete valószínű szterikus gátláson keresztül kisebb k_I és α értékeket eredményezett. Az alifás szubsztituensen megjelenő hidroxilcsoport (**150** vs. **156–158**) erősen gátolta az állófázissal kialakuló kölcsönhatást, jelentősen csökkentve k_I és α értékét.

Megegyező kromatográfiai körülmények alkalmazásával állandó szelektorszerkezetet biztosítva lehetőség nyílik a szerkezeti analógiát mutató vegyületek kromatográfiai viselkedésének tanulmányozására. Tapasztalataink alapján kijelenthető, hogy a szelektorról kialakuló kölcsönhatások erősen függenek a vizsgált molekula szerkezetétől, sokszor igen kicsi szerkezeti változás is jelentős hatást gyakorol a királis felismerésre. Kinin és kinidin alapú ikerionos állófázisokon az alapvető ionos kölcsönhatások mellett a másodlagos kölcsönhatások (hidrofób–hidrofób, H-híd, π – π , dipólus–dipólus, szterikus gátlás, stb.) is fontos szerepet töltenek be. Adott vegyületcsoportnál érvényesnek talált szerkezeti hatások nem minden molekulára terjeszthetők ki, azonban néhány korlátozottan érvényes általános megállapítást az ikerionos állófázisok jellemző kölcsönhatásaira tehetünk:

- i) Aliciklusos β^2 - és β^3 -aminosavak esetén az alkillánc hosszának növelése kedvezőtlen a visszatartásért felelős kölcsönhatások szempontjából (szterikus hatás), de kedvezően hat a királis felismerésre (k_I csökken, α nő). Alkillánccal szubsztituált 1,2,3,4-tetrahydroizokinolin analógok esetén a növekvő alkillánc kedvezőtlenül befolyásolta a királis felismerést.
- ii) Aromás rendszert tartalmazó aliciklusos β^2 - és β^3 -aminosavak π – π kölcsönhatás révén erősebb kölcsönhatást tudnak kialakítani az állófázissal, de ez a kölcsönhatás

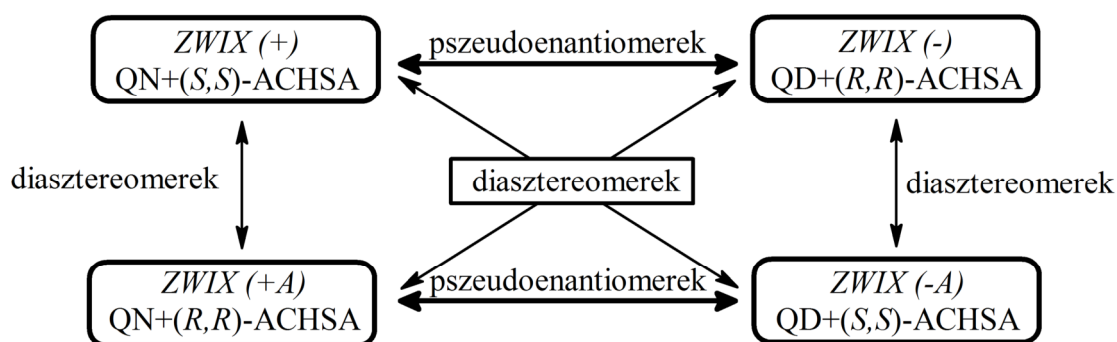
nemszelektív (k_I nő, α csökken). Az aromás gyűrű $-\text{OCH}_3$, $-\text{OH}$, $-\text{O}-$ (éter) és halogén szubsztituensei H-híd kialakítására képesek, a visszatartás nő, az enantioszelektivitás változása nem követ egyértelmű irányt. Metoxisubsztituált 1,2,3,4-tetrahidroizokinolin-származékok esetén a H-híd pozitív hatása mind a retencióban, mind a szelektivitásban megmutatkozik. Az aromás gyűrűn lévő szubsztituensek helyzete számottevő hatást fejt ki a kromatográfiás viselkedésre. A feszültebb molekulaszervezetet biztosító *orto* helyzetű szubsztitúció kisebb k_I és α értékeket eredményezett a *meta* helyzetű szubsztitúcióhoz képest.

- iii) Ciklusos β -aminosavak esetén az amino- és karboxilcsoportok *cisz* vagy *transz* helyzetben lehetnek. A *transz* helyzet általában kedvezőbb az állófázissal való kölcsönhatás kialakítása szempontjából, k_I és α nagyobb. Biciklusos β -aminosavak esetén az *exo-endo* és a *diexo* elhelyezkedés kedvezőbb a királis felismerés szempontjából a *diendo* konfigurációhoz képest.
- iv) A kettős kötés jelenléte poláris kölcsönhatásokon keresztül befolyásolhatja a visszatartást és a szelektivitást. A molekula és az állófázis szerkezete együttesen határozza meg a kromatográfiás viselkedést, a kettős kötés módosító hatásáról egyértelmű megállapításokat nem lehet tenni.
- v) Az ikerionos kinin és kinidin alapú állófázisokat összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy általában a kinidin alapú állófázis szerkezete kedvezőbb a molekula-szelektor komplex kialakítása szempontjából, nagyobb retenciót és szelektivitást eredményezve.

5.1.3. Az elúciós sorrend alakulása kinin és kinidin alapú állófázisokon

Az elúciós sorrend megállapításának kiemelkedő fontossága van a sztereoizomerek elválasztásában; mind a minőségi azonosítás, mind a mennyiségi meghatározás megbízhatósága jelentősen függhet attól, hogy a kisebb mennyiségben jelenlévő szennyező a főkomponens előtt vagy után eluálódik. Amint azt korábban említettem a kinin és a kinidin öt királis centrumából három konfigurációja megegyezik, míg a királis felismerés szempontjából meghatározó jelentőségű 8. és 9. szénatom ellentétes konfigurációjú, így a két molekula pszeudoenantiomer viszonyban áll egymással. Az anioncserélő tulajdonságú *QN-AX* és *QD-AX* állófázisokon védőcsoportot tartalmazó α -aminosavak esetén (**1–19**) kettő kivételtől eltekintve (**11**, **14**) bizonyítékkal szolgáltunk az ellentétes elúciós sorrendre [E15]. Említést érdemel, hogy a vegyületcsoport esetén (**1–19**) az anioncserélő tulajdonságú *QN-AX* kolonnán meghatározott sorrenddel megegyező sorrendet

tapasztaltunk az ikerionos, szintén kinin alapú *ZWIX*(+) kolonnán, és az elúciós sorrend még SFC körülmények között sem változott [E16]. Ehhez hasonlóan a kinidin alapú *QD-AX* és *ZWIX*(-) oszlopokon meghatározott elúciós sorrendek is megegyeztek [E17]. A *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) oszlopokon kapott eredményeink sok esetben bizonyították a pszeudoenantiomer jelleg érvényesülését; a két oszlopon ellentétes elúciós sorrend alakult ki β -aminosavak [E1–E4, E7, E9, E10, E14], szekunder aminosavak [E5], tetrahidroizokinolin analógok [E6], izoxazolinok [E8] és aminohidroxámsavak esetén [E12]. Az ikerionos állófázisok alkalmazásával tehát egyszerűen az oszlopok cseréjét követően (a kromatográfiás körülmények számottevő változtatása nélkül) lehetőség nyílik az elúciós sorrend megváltoztatására, ami jelentős előnyökkel jár, különösen, ha kicsi koncentrációban jelenlevő komponens mennyiségi meghatározása a feladat. Az ikerionos állófázisok kationcserélő funkciós csoportot hordozó alegysége (ACHSA) két királis centrumot tartalmaz, így a kinin és kinidin alegységekhez kapcsolva elvileg nyolc különböző szelektor kialakítása lehetséges. Amint azt korábban említettem ebből kettő kereskedelmi forgalomban van (*ZWIX*(+) és *ZWIX*(-)), míg másik kettő (*ZWIX*(+A) és *ZWIX*(-A)) kutatási célokra számunkra elérhető. (*cis*-ACHSA beépítésével eddig nem állítottak elő szelektort.) Az egyes állófázisok sztereokémiai kapcsolatát a **22. ábrán** mutatom be.



22. ábra

Az alkalmazott ikerionos szelektorok sztereokémiai viszonyai

A sztereoizomerek elúciós sorrendjét végső soron a szelektor és az egyes sztereoizomerek között kialakuló kölcsönhatások erőssége fogja meghatározni. Természetesen ez az abszolút konfigurációk és a „konformációs flexibilitás” által meghatározott térbeli elrendeződés függvénye lesz. A vizsgált szelektorok az elúciós sorrend tanulmányozásán keresztül kiváló lehetőséget biztosíthatnak a királis felismerés szempontjából meghatározó kölcsönhatások feltérképezésére. Az említett négy oszlop

fontosabb fizikai paramétere megegyeznek, így az elúciós sorrend vizsgálatán keresztül lehetőség nyílik a szelektorokat felépítő alegységek királis felismerésben betöltött szerepének jellemzésére.

A szelektort felépítő alegységek retenciós sorrendre kifejtett hatását ciklusos β -aminosav enantiomerek (**86–88**, **91**, **106–109**) elválasztása során kapott eredményeken keresztül mutatom be [E14]. A négy oszlopon tapasztalt elúciós sorrendet állandó összetételű eluenst (MeOH/MeCN 50/50 v/v és 50 mM AcOH és 25 mM DEA) alkalmazva az **5. Táblázatban** adtam meg. Amint azt a **22. ábrán** bemutattam, a $ZWIX(+)$ és a $ZWIX(-)$, illetve a $ZWIX(+A)$ és a $ZWIX(-A)$ oszlopok egymással pszeudoenantiomer viszonyban állnak, míg minden más összevetésben diasztereomerek.

5. Táblázat

Ikerionos állófázisokon tapasztalt elúciós sorrend néhány β -aminosav enantiomer esetén

Vegyület	Sorrend			
	$ZWIX(+)$	$ZWIX(-)$	$ZWIX(+A)$	$ZWIX(-A)$
86	$a < b$	$b < a$	$b < a$	$a < b$
106	$b < a$	$a < b$	<i>nm</i>	$b < a$
87	$a < b$	$b < a$	$b < a$	$a < b$
107	$b < a$	$a < b$	<i>nm</i>	$b < a$
<i>cisz-88</i>	$a < b$	$b < a$	$b < a$	$a < b$
<i>cisz-108</i>	$b < a$	$a < b$	$a < b$	$b < a$
<i>transz-88</i>	$b < a$	$a < b$	$b < a$	$a < b$
<i>transz-108</i>	$b < a$	$a < b$	<i>nm</i>	$a < b$
91	$a < b$	$b < a$	$b < a$	$a < b$
109	$b < a$	$a < b$	$a < b$	$b < a$

nm: Az adott eluensrendszerrel nem váltak el az enantiomerek.

Az **5. Táblázatban** feltüntetett adatokból kiválóan látszik, hogy az elúciós sorrend minden esetben ellentettjére változik az egymással pszeudoenantiomer viszonyban levő állófázisokon. Érdekes kiemelni, hogy egyetlen kivételtől (*transz-88*) eltekintve a $ZWIX(+)$ és a $ZWIX(+A)$, illetve a $ZWIX(-)$ és a $ZWIX(-A)$ (*transz-108* kivételével) oszlopokon is fordított elúciós sorrendet tapasztaltunk, azaz a kationcserélő ACHSA alegység konfigurációjának megváltoztatása elegendő az elúciós sorrend megfordításához. Eredményeink alapján kijelenthető, hogy az esetek többségében a vizsgált β -

aminosavaknál a kationcserélő funkciós csoport konfigurációja a meghatározó az enantiomerek elúciós sorrendjének szempontjából.

Magyarázatként elmondható, hogy a vizsgálati körülmények között alkalmazott savfelesleg kedvez az aminocsoport protonálódásának, míg kevésbé kedvez a karboxilcsoport deprotonálódásának. Ennek megfelelően az anionos és kationos kölcsönhatások nem egyenlő mértékben vesznek részt a királis felsimerés szempontjából meghatározó jelentőségű, a szelektorról átmenetileg képződő diasztereomer kialakulásában, így a kationcsere folyamata lesz a meghatározó.

Az elúciós sorrend tárgyalásánál a szelektor szerkezeti jellemzői mellett az elválasztandó enantiomerek szerkezeti sajátosságait is meg kell említeni. Az aminocsoporton metilezett enantiomerek elúciós sorrendjét a nem metilezett aminosavak enantiomerjeinek sorrendjével összevetve (**5. Táblázat**) kitűnik, hogy egyetlen kivételtől eltekintve (a *transz-88* és *transz-108* enantiomerpárok) a metilálás mindegyik vizsgált állófázis esetén fordított elúciós sorrendet eredményezett. Ez a kísérleti tapasztalat rávilágít arra, hogy a vizsgált vegyületek szerkezetében bekövetkező relatíve kicsi változás milyen jelentős hatással lehet a királis felismerés folyamatára. 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 szelektorról kialakított diasztereomer komplex stabilitása, illetve képződési sebessége, végső soron megfordulhat az enantiomerek elúciós sorrendje.

Az elúciós sorrend elemzésénél érdemes röviden kitérni a megszokottól eltérő viselkedés tárgyalására is. *transz*-Paroxetin (**142**) enantiomereinek elválasztása során *ZWIX(+A)* és *ZWIX(-A)* oszlopokon a korábbi tárgyalásnak megfelelően fordított sorrendet, míg *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)* oszlopokon – meglehetősen váratlan módon – megegyező sorrendet kaptunk. Az enantiomerek viselkedésének feltérképezésére együttműködő partnereink segítségével *in silico* kísérleteket végeztünk nyolc virtuális enantiomer-szelektor rendszerrel, MeOH/THF (80/20 v/v) eluensben [E11]. Érdekes módon a szimulációval kapott eredmények az elvárásoknak megfelelő elúciós sorrendet jósoltak, de nem voltak összhangban a tapasztalattal. *ZWIX(+)* oszlopon a (-)-paroxetin enantiomer kisebb REL értéke és a (+)-paroxetinnél erősebb kölcsönhatásra utaló KH értéke alapján (+) < (-) sorrend lenne várható, ellentétben a tapasztalt (-) < (+) sorrenddel. (A számítás során kapott KH értéke az egyes enantiomerek és az állófázis között kialakuló kölcsönhatás erősségét jellemzi, míg a REL értéke az egyes enantiomerek konformációs energiáját mutatja a minimális konformációs energiához képest.)

A modellezéssel kapott eredmények és a tapasztalt elúciós sorrend eltérése az *in silico* számítás korlátaira világít rá. Ugyan az általunk alkalmazott modell más, de hasonlóan mondható körülmények között megfelelő jósággal írta le a tapasztaltakat [76, 183], mégis kijelenthető, hogy kisebb enantioszelektivitással jellemezhető elválasztásoknál nem minden esetben ad megfelelő eredményt. Természetesen fontos hangsúlyozni, hogy az összes többi esetben az alkalmazott modell megfelelően írta le a tapasztalt elúciós sorrendet.

Általánosságban elmondható, hogy az ikerionos állófázisok esetén a szelektor mindkét ionos funkciós csoportja részt vehet a királis felismerés folyamatában. Az 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.

5.1.4. *N*-Fmoc-védett α -aminosavak sztereokémiai tisztaságának meghatározása

Amint azt a tanulmányozott modellvegyületek jelentőségének bemutatásánál említettem, a peptidek szintézise során *N*-védett α -, β - és γ -aminosavak szolgálnak építőelemként, ezért gyakorlati szempontból különösen fontos feladat a védett aminosavak tisztaságának jellemzése. Anioncserélő *QN-AX* és *QD-AX* kolonnák elvileg kiváló lehetőséget kínálnak a peptidszintézisnél alkalmazott *N*-Fmoc-védett aminosavak (**1-19**) királis tisztaságának ellenőrzésére. A kereskedelmi forgalomban kapható *N*-Fmoc-védett aminosavakat, a módszerfejlesztést követően, MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (30 mM) és TEA (15 mM) mozgófázissal vizsgáltuk [E15]. Említést érdemel, hogy az elsőként eluálódó enantiomerek retenciós tényezői alig különböztek a két oszlopon, míg az enantioszelektivitás és a felbontás az esetek többségében a *QD-AX* oszlopon nagyobbak voltak. Amint korábban már említettem a két oszlopon két kivételtől eltekintve (**11** és **14**) ellentétes elúciós sorrendet kaptunk a védett L- és D-aminosavak esetén. A két állófázis pszeudoenantiomer jellege kiváló lehetőséget teremtett arra, hogy az állófázisok cseréjével biztosítani tudjuk, hogy a kisebb mennyiségben jelenlevő (szennyező) enantiomer eluálódjon elsőként. Ezt a tulajdonságot kihasználva módszerünkkel 0,01%-ban jelenlevő izomerszennyezést egyértelműen lehet azonosítani. Néhány, 0,01%-ban hozzáadott izomer szennyezőt tartalmazó minta kromatogramját az **F1. ábrán** mutatok be. Módszerünkre

részleges validálást követően meghatároztuk a fontosabb analitikai teljesítményjellemzőket, melyeket a **6. Táblázatban** soroltam fel.

6. Táblázat

UV-detektáláson alapuló részleges validálás során kapott teljesítményjellemzők értékei néhány védett α -aminosav esetén

Vegyület	érzékenység [10^{10} L mol ⁻¹]		LOD [pmol]		LOQ [pmol]	
	<i>QN-AX</i>	<i>QD-AX</i>	<i>QN-AX</i>	<i>QD-AX</i>	<i>QN-AX</i>	<i>QD-AX</i>
3	3,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1	5,4 ± 0,2	5,1 ± 0,2
6	3,2 ± 0,2	3,1 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	3,9 ± 0,2	4,2 ± 0,2
12	3,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	3,6 ± 0,2	3,9 ± 0,2
15	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,3	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	3,6 ± 0,2	3,3 ± 0,2
17	3,3 ± 0,2	3,5 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	3,3 ± 0,2	3,0 ± 0,2

Kromatográfias körülmények: mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (30 mM) és TEA (15 mM);
áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹, detektálás: UV, $\lambda=262$ nm

Megállapíthatjuk, hogy az anioncserélő tulajdonságú kinin és kinidin alapú állófázisok kiváló választás lehetnek a peptidszintézist megelőző védett aminosavak (izomer)tisztaságának ellenőrzésére. A változtatható elúciós sorrend lehetőséget teremt a kisebb mennyiségben jelenlevő szennyező optimális mennyiségi meghatározására és az esetlegesen együttesen eluálódó egyéb szennyezések zavaró hatásának kimutatására.

5.1.5. A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra

Az eluensben oldott anyag mozgófázisból az állófázisba történő átjutását kísérő folyamat tipikusan exoterm, az entalpia csökkenésével jár. Az állófázissal kialakított kölcsönhatások miatt csökken az oldott anyag szabadsági fokainak száma, csökken az entrópia. Természetesen arról sem szabad elfeledkezni, hogy a mozgófázisban oldott komponens állófázison történő megkötődése során mind az oldott anyagot, mind a szelektort körülvevő szolvátszférában is változások következnek be. Az oldószermolekulák kilépve a szolvátburokból bekerülnek a tömbfázisba, hozzájárulva ezzel a bruttó entrópiaváltozáshoz. (Általában feltételezhető, hogy az oldószermolekulák többsége a tömbfázisban van, a szolvátburokot alkotó oldószermolekulák lényegesen kisebb számban vannak jelen, így az említett hozzájárulás vélhetően igen kicsi.) A hőmérséklet változása befolyásolhatja mind a szelektor, mind az elválasztandó vegyület konformációját, azaz jelentős hatással lehet a kölcsönható helyek elhelyezkedésére, vagyis a kialakuló kölcsönhatások erősségére. (Az említett hatások mellett a mozgófázis összetétele is

befolyásolhatja a megkötődés folyamatát, ionos összetevők esetén pedig a disszociációs állandó is jelentősen függhet a hőmérséklettől.)

Ha a királis megkülönböztetés mechanizmusában nem következik be változás a vizsgált hőmérséklettartományban, akkor a retenció (a 7. egyenletnek megfelelően) növekedni fog a hőmérséklet csökkentésével. A szelektivitás hőmérsékletfüggését vizsgálva (a 9. egyenletnek megfelelően) csökkenő hőmérséklettel szintén növekedés jósolható. A mozgófázisból az állófázisba történő átjutás termodinamikai értelemben akkor lesz kedvezményezett, ha a negatív entalpiaváltozást nem haladja meg az entrópiatag. Ilyen ún. entalpiavezérelt elválasztásra jó néhány példát találhatunk a királis elválasztások irodalmában, erre közleményeinkben is több utalás található [E3–E14]. Az ún. entrópiavezérelt elválasztások meglehetősen ritkák, a jelenséget enantiomerek folyadékkromatográfiás elválasztásánál elsőként poliszacharid alapú állófázisokon figyelték meg [184]. Értekezésemben számos új példát mutatok be entrópiavezérelt elválasztásokra olyan rendszerekben, melyek eddig nem voltak megfigyelhetők [E1, E3–E9, E11, E14].

A hőmérséklet meglehetősen összetett módon képes befolyásolni a királis elválasztásokat, a retenciós tulajdonságok és az enantioszelektivitás akár egy, akár különböző irányba is változhat. Az ioncserélő tulajdonságú állófázisok alkalmazása során növekvő hőmérséklettel négyféle viselkedési formát tapasztaltunk:

- i) csökkenő visszatartás és csökkenő enantioszelektivitás (tipikus viselkedés) [E3–E14],
- ii) csökkenő visszatartás és növekvő enantioszelektivitás [E1, E8, E9],
- iii) növekvő visszatartás és csökkenő enantioszelektivitás [E4–E6],
- iv) növekvő visszatartás és növekvő enantioszelektivitás [E3, E4].

A megszokottól eltérő viselkedést (ii, iii és iv) az alábbiakban röviden, néhány kiragadott példán keresztül mutatom be.

5.1.5.1. Növekvő hőmérséklettel csökkenő visszatartás és növekvő enantioszelektivitás

β^2 -Aminosavak (**46-61**) esetén MeOH/MeCN (70/30 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerrel azt tapasztaltuk, hogy *ZWIX*(+) oszlopon minden vizsgált vegyület kisebb visszatartással, szelektivitással és felbontással eluálódott a hőmérséklet növelésének (–5–55 °C) hatására [E1]. Ezzel ellenben *ZWIX*(–) oszlopon a hőmérséklet növelésével ugyan kismértékben, de határozott irányt követve növekedett a szelektivitás

az **52**, **53**, **55** és **61** vegyületek esetén. A van't Hoff-egyenlet alapján számolt termodinamikai adatokat a **7. Táblázatban** mutatom be.

7. Táblázat
 β^2 -Aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

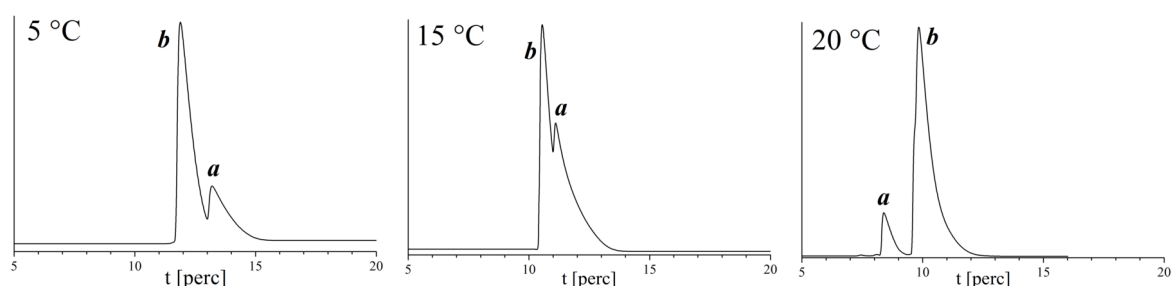
Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
46	-1,0	-1,0	-2,3	-1,6	-0,3	-0,6
51	-1,0	-0,8	-2,2	-1,1	-0,4	-0,4
52	-0,9	0,1	-2,6	1,4	-0,2	-0,3
53	-0,8	0,3	-2,3	2,1	-0,1	-0,3
55	-1,4	0,3	-4,4	2,1	-0,1	-0,3
56	-0,8	-0,5	-2,0	-0,6	-0,2	-0,3
61	–	1,2	–	4,6	–	-0,2

Kromatográfias körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (70/30 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

ZWIX(+) oszlopon mind a $\Delta(\Delta H^\circ)$, mind a $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékei negatívnak adódtak, $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékét az entalpiatag határozta meg, vagyis entalpiavezérelt folyamat volt a meghatározó a kinin alapú ikerionos állófázison. Ezzel ellentétesen a *ZWIX*(-) oszlopon az **52**, **53**, **55** és **61** vegyületekre mind a $\Delta(\Delta H^\circ)$, mind a $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékei pozitívnak adódtak. Ezekkel a vegyületekkel a kinidin alapú szelektor a hőmérséklet növelésével vélhetően kedvezőbb konformációt felvéve erősebb kölcsönhatásokat tudott kialakítani. $\Delta(\Delta G^\circ)$ negatív értékeit az entalpiatagot meghaladó entrópiatag hozzájárulása biztosította, így a kinidin alapú szelektoron az elválasztás entrópiavezéreltnek tekinthető.

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak (**102–105**) kromatográfias adatainak hőmérsékletfüggését a 10–50 °C tartományban elemezve megállapítottuk, hogy egyetlen kivételtől eltekintve (*transz-105cd*) minden esetben csökkent a retenciós tényező a hőmérséklet növelésével mind a *ZWIX*(+), mind a *ZWIX*(-) oszlopon [E8]. Azonban a csökkenő visszatartást néhány esetben növekedő szelektivitás kísérte; *ZWIX*(+) oszlopon a **103ab** vegyület MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerrel, míg a **102ab** vegyület MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerrel, illetve *ZWIX*(-) oszlopon a **104cd** vegyület MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerrel növekvő hőmérséklettel egyre nagyobb enantioszelektivitással volt elválasztható. A számolt

termodinamikai adatok ezekben az esetekben is pozitív $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket mutattak (**F4. Táblázat**) [E8]. Érdekes módon ennél a vegyületcsaládnál *ZWIX*(+) oszlopon kaptuk a kisebb $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket, azaz a kinin alapú szelektor ezekben az esetekben hatékonyabb kölcsönhatást tudott kialakítani, mint a kinidin alapú szelektor. Az eddig említett termodinamikai adatokon kívül számos esetben meghatároztuk az izoeluotróp hőmérsékletet (T_{iso}), ahol is az entrópia és az entalpia változása kiegyenlíti egymást, azaz az enantioszelektivitás értéke 1,0 (9. egyenlet), vagyis a két enantiomer együtt eluálódik. Ez a valóságban nem egy adott hőmérsékletet jelent, hanem egy hőmérséklettartományt, ami általában kívül esik a HPLC elválasztásoknál tipikusan alkalmazott hőmérséklettartományon. A **103ab** vegyületre számolt T_{iso} érték *ZWIX*(+) oszlopon viszont 16 °C-on jósolt együttes elúciót. Amint azt a **23. ábrán** bemutatott kromatogramok szemléltetik ebben az esetben az 5–20 °C hőmérséklettartományban az elúciós sorrend megfordult.



23. ábra

A hőmérséklet hatása a **103ab** enantiomerpár elválasztására

Kromatográfiai körülmények: kolonna: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

Említést érdemel, hogy az elúciós sorrend hőmérsékletváltozás hatására történő megfordulásáról igen kevés közlemény tesz említést [94, 184-187], ráadásul ezek a közlemények az általunk tapasztaltnál [E8, E32] lényegesen kisebb enantioszelektivitásokról számolnak be.

Ciklusos β -aminosavak (**86–90**) elválasztásának hőmérsékletfüggését vizsgálva egyetlen esetben tapasztaltunk a szokásostól eltérő viselkedést: *ZWIX*(-) kolonnán a **86ab** enantiomerpár növekvő hőmérséklettel egyre kisebb visszatartással és egyre nagyobb enantioszelektivitással volt elválasztható MeOH/MeCN (25/75 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerrel [E9]. A számolt $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékek a korábbiakban bemutatott módon alakultak; mindkét állófázison negatív értékeket kaptunk

minden vizsgált vegyületre, kivéve a rendhagyó módon viselkedő **86ab** enantiomerpárt, amelynél mind a $\Delta(\Delta H^\circ)$, mind a $\Delta(\Delta S^\circ)$ pozitívnak adódott (**F5. Táblázat**).

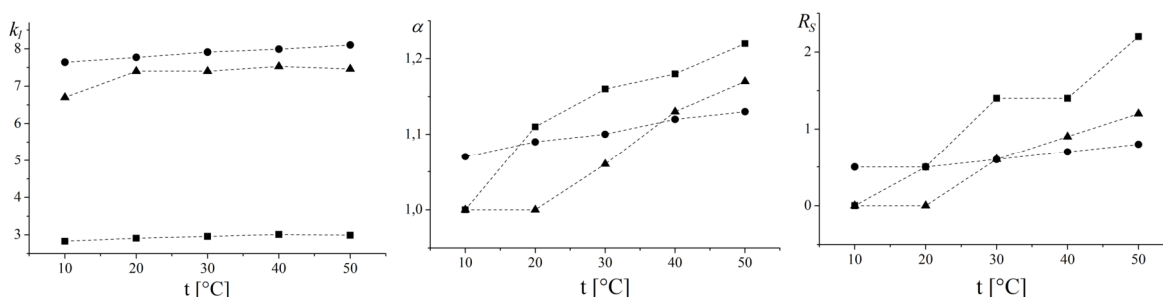
5.1.5.2. Növekvő hőmérséklettel növekvő visszatartás és csökkenő enantioszelektivitás

Szekunder α -aminosavak (**20–45**) esetén a -5 – 55 °C tartományban változtatva a hőmérsékletet vizsgáltuk a kromatográfiás jellemzők alakulását *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon [E5]. *ZWIX*(+) oszlopon – a korábban említettekhez hasonlóan – a vizsgált vegyületek egyetlen kivételtől eltekintve (**21ab**) „megszokott módon” viselkedtek; növekvő hőmérséklettel csökkent mind a retenciós tényező, mind a szelektivitás. Ezzel ellentétben *ZWIX*(-) oszlopon a hőmérséklet növekedésével valamennyi vizsgált vegyületnél növekvő visszatartást és csökkenő szelektivitást tapasztaltunk. Ezen szokatlan viselkedés értelmezése kapcsán feltételezhető, hogy a növekvő hőmérséklettel nagyobb mértékben mehet végbe az elválasztani kívánt szekunder α -aminosavak karboxilátcsoportjának deprotonálódása, így a kinuklidin gyűrű tercier aminocsoportjával kialakított erősebb ionos kölcsönhatás megnövekedett visszatartást eredményezhet. Hasonlóan az előzőekhez, a van't Hoff-egyenlet (9. egyenlet) alapján ebben az esetben is meghatároztuk a fontosabb termodinamikai adatokat, melyeket az **F6. Táblázatban** mutatok be. Ezeknél a vegyületeknél a $\Delta(\Delta H^\circ)$ értékei $-3,0$ és $1,1$ kJ mol⁻¹ között változtak *ZWIX*(+), illetve $-4,0$ és $-0,3$ kJ mol⁻¹ között *ZWIX*(-) oszlopon. A $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeinek változása a $\Delta(\Delta H^\circ)$ értékeihez hasonlóan alakult. Csakúgy, mint korábban, ezeknél a vegyületeknél is kisebb (negatívabb) $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket határoztunk meg *ZWIX*(-) oszlopon, vagyis a kinidin alapú ikerionos szelektorrall hatékonyabb kölcsönhatást tudtak kialakítani a szekunder α -aminosavak.

1,2,3,4-Tetrahidroizokinolinszármazékok (**149–159**) bizonyos esetekben a hőmérséklet növekedésével növekvő visszatartással és csökkenő szelektivitással eluálódtak [E6]. Érdekes módon 10 – 50 °C hőmérséklettartományban *ZWIX*(-) oszlopon egyetlen kivételtől eltekintve (**153**) valamennyi vizsgált vegyület hasonlóan viselkedett, míg *ZWIX*(+) oszlopon csak szűkebb (10 – 30 °C) hőmérséklettartományban tapasztaltunk hasonló viselkedést a **149**, **150**, **153**, **155** és **157** vegyületeknél. A tanulmányozott α - és β -aminosavakhoz hasonlóan itt is a *ZWIX*(-) oszlopon kaptunk kisebb $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket. Néhány jellemző termodinamikai adatot az **F7. Táblázatban** mutatok be.

5.1.5.3. Növekvő hőmérséklettel növekvő visszatartás és növekvő enantioszelektivitás

Monoterpénvázás ciklusos β -aminosavak (**98–101**) esetén 10–50 °C tartományban *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon különböző eluensrendszereket alkalmazva vizsgáltuk a kromatográfiás jellemzők hőmérsékletfüggését [E3]. Az esetek többségében növekvő hőmérséklettel csökkenő visszatartást és szelektivitást tapasztaltunk. Ettől eltérően a **98cd**, **99ab** és **101ab** vegyületek *ZWIX*(-) kolonnán, MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és TEA (25 mM) eluensrendszerben növekvő hőmérséklettel nagyobb visszatartással, szelektivitással és felbontással eluálódtak (24. ábra).



24. ábra

A hőmérséklet hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; vegyületek: ■: **99ab**, ●: **98cd**, ▲: **101ab**

Akirális elválasztások kapcsán több közleményben is említenek hasonló eredményeket [188, 189], míg királis vegyületeknél meglehetősen ritkán; *Matarashvili* és munkatársai írtak le hasonló szokatlan viselkedést poliszacharid alapú állófázison [184]. Érdekes kiemelni, hogy a szokatlan kromatográfiás viselkedést csak a *ZWIX*(-) kolonnán észleltük, és csak akkor, ha az eluens FA-t tartalmazott. Vélhetően a szolvatációs folyamatok, illetve az átmeneti komplex szerkezetének eltérő hőmérsékletfüggése eredményezheti a tapasztalt szokatlan viselkedést. Amint azt korábban megállapítottam, ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál a vizsgált molekulák nagy többségénél a sav anyagi minősége nem befolyásolta számottevően a kromatográfiás viselkedést. Ebben az esetben viszont az a tapasztalat, hogy egyébként állandó körülmények mellett AcOH-t alkalmazva a retenciós tulajdonságok az „elvárt” módon változnak, míg FA-t alkalmazva a visszatartás hőmérsékletfüggése jelentősen megváltozik, ráirányítva a figyelmet a királis felismerés mechanizmusának összetett voltára. A rendszer viselkedésének mélyebb megértése végett a kromatográfiás adatok hőmérsékletfüggése alapján termodinamikai adatokat számoltunk [E3], melyek közül néhányat a 8. Táblázatban mutatok be. Azokban az esetekben, amikor a szelektivitás növekedett a hőmérséklet növekedésével mind a $\Delta(\Delta H^\circ)$, mind a $\Delta(\Delta S^\circ)$

pozitívnak adódott. A nagyobb (pozitív) $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket (*ZWIX*(–) esetén) a szokatlan viselkedést mutató **98cd**, **99ab**, **100ab** és **101ab** vegyületeknél kaptuk (8. Táblázat).

8. Táblázat

Monoterpénvázas ciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
98ab	–2,1	–2,7	–5,6	–5,6	–0,4	–1,0
98cd	0,9	1,0	3,4	4,3	–0,1	–0,3
99ab	0,5	2,2	1,9	8,7	–0,1	–0,4
100ab	0,5	–1,6	2,0	–2,7	–0,1	–0,8
101ab	–0,7	3,9	–2,2	13,9	–0,1	–0,4

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(–); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

Ekkor az entrópiatag nagyobb hozzájárulása eredményezte a negatív szabadentalpia-változást. A két kolonna összevetése kapcsán kijelenthető, hogy a *ZWIX*(–) állófázison meghatározott negatívabb $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékek egyértelműen bizonyították a kinidin alapú oszlop adott körülmények között érvényesülő jobb enantiomerfelismerő-képességét.

Hasonló szokatlan viselkedést tapasztaltunk biciklusos β -aminosavak (**92**, **93**) kromatográfiás adatai hőmérsékletfüggésének vizsgálatakor [E4]. A MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM) elunsrendszerben a **93cd** növekvő hőmérséklettel nagyobb visszatartással, szelektivitással és felbontással eluálódott, de csak a *ZWIX*(–) kolonnán. Az előzőekben tárgyalt vegyületek viselkedésével teljesen analóg módon itt is a szokatlan viselkedést mutató vegyület (**93cd**) esetén kaptuk a legnagyobb $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket (F8. Táblázat) [E4].

A termodinamikai jellemzők elemzése rávilágít arra a fontos megfigyelésre, hogy ugyan a két pszeudoenantiomer állófázis az esetek túlnyomó többségében nagyon hasonlóan viselkedik, de a hőmérséklet változása nem ugyanúgy hat a két oszlop szelektorára. A kinin és a kinidin solvatációs szférája, illetve háromdimenziós szerkezete eltérőképpen változik a hőmérséklettel, így az enantiomerfelismerő-képességük is másként alakul. Természetesen arról sem szabad megfeledkezni, hogy a hőmérséklet változása az elválasztandó molekulákra is hatással lehet, azok szerkezetében, térbeli elrendeződésében

is változások mehetnek végbe, melyek szintén beleszólhatnak a királis felismerés kialakulásába.

Az ioncserélő tulajdonságú kolonnákkal kapott néhány jellemző enantioszelektív elválasztásra az **F2.–F5. ábrákon** mutatok be példát.

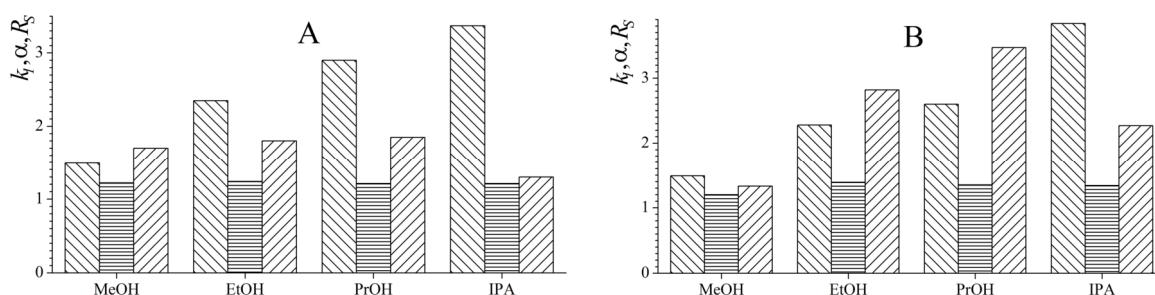
5.2. Elválasztások makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon

5.2.1. A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra

5.2.1.1. Az eluent alkotó oldószerek hatása az elválasztásra

Ahogy az korábban is említettem, az enantioszelektív elválasztások számos különböző kölcsönhatás kialakulásán keresztül valósulnak meg. A változatos szerkezeti elemekkel rendelkező makrociklusos antibiotikum alapú szelektorok alkalmazásakor a π – π , dipólus–dipólus, H–híd, ionos kölcsönhatások mellett a kosárszerű szerkezet jelenléte miatt sztérikus és további hatások fellépésével is számolni kell. Az egyes enantiomerek a kosár belsejében többek között hidrofób–hidrofób kölcsönhatásokon keresztül képesek a megfelelő illeszkedés kialakítására. Az eluent alkotó oldószerek és egyéb adalékok természetesen hatással lehetnek a szelektor és az elválasztani kívánt enantiomerek között kialakuló kölcsönhatások milyenségére és erősségére.

A mozgófázis összetételének hatását számos esetben vizsgáltuk makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokkal végrehajtott enantioszelektív elválasztáskor [E18–E28]. Az alkalmazott alkohol anyagi minőségének hatását elsőként ciklusos mono- és dihidroxib-aminosavakkal (**110–113**) kapott eredményeinkkel mutatom be. A **111ab** és a **112ab** vegyületek esetén állandó v%-os összetétel mellett változtatva az alkohol anyagi minőségét (MeOH, EtOH, PrOH, IPA) vizsgáltuk a kromatográfiás adatok alakulását [E21]. Mérési eredményeinket a **25. ábrán** mutatom be.



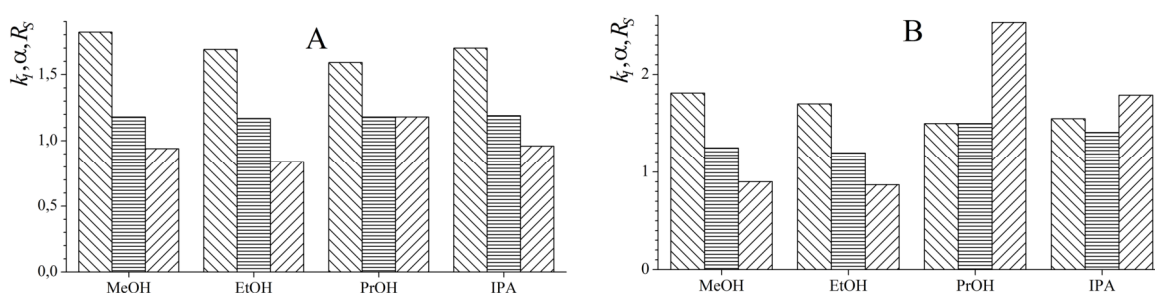
25. ábra

Az alkohol, mint eluens összetevő anyagi minőségének hatása a kromatográfiás adatokra
Chirobiotic T2 oszlopon

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/alkohol (20/80 v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹; vegyületek: A: **111ab**, B: **112ab**; ▨: k' , ▤: α , ▩: R_S ;

Ennél a kísérletsorozatnál állandó térfogatszázalékos összetételt alkalmaztunk, így az alkoholok növekvő moláris tömegével csökkent a moláris koncentráció. A retenciós tényezőkben az alkohol szénláncának növekedésével megfigyelt növekedés így két hatásra vezethető vissza; i) az egyre nagyobb szénatomszámú alkoholok növelik az eluens apolaritását, ezáltal csökkentik a poláris komponensek mozgófázisban való oldhatóságát, ii) a moláris tömeg növekedésével csökkenő koncentráció viszont csökkenti az eluens apolaritásának növekedését. Érdekes módon az alkohol anyagi minősége az enantioszelektivitást számottevően nem befolyásolta, míg a felbontás változására általánosan érvényes megállapítás nem fogalmazható meg.

Az eluensben alkalmazott alkohol anyagi minőségének hatását *Chirobiotic TAG* oszlopon is vizsgáltuk limonénvázas β -aminosavaknál (**97**) úgy, hogy az alkoholok (MeOH, EtOH, PrOH, IPA) állandó moláris koncentrációban (0,25 M) voltak jelen [E28]. (Ez MeOH: 10, EtOH: 14,5, PrOH: 18,5, IPA: 19,1 v%-ot jelent.) A **26. ábrán** a **97ab** és **97gh** enantiomerpárokkal elvégzett vizsgálatok eredményeit mutatom be.



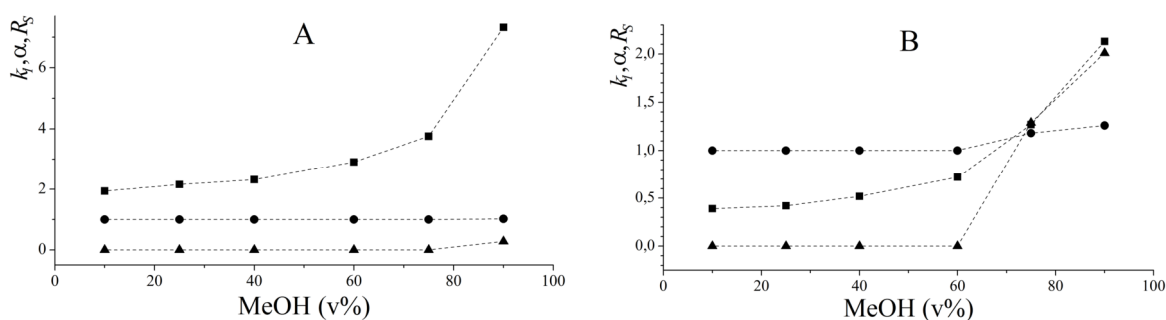
26. ábra

Az alkohol, mint eluens összetevő anyagi minőségének hatása a kromatográfiás adatokra
Chirobiotic TAG oszlopon

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/alkohol (0,25 M);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹; vegyületek: A: **97ab**, B: **97gh**; : k' , : α , : R_S ;

Ennél a rendszerrel eredményeink azt mutatták, hogy a különböző anyagi minőségű alkoholokat állandó moláris koncentrációban alkalmazva a retenciós tényező sokkal kisebb mértékben változott, mint az előzőekben tárgyalt esetben. PrOH és MeOH alkalmazásakor kaptuk a legkisebb illetve legnagyobb visszatartást, de az alkohol polaritása nem hozható közvetlen összefüggésbe a retencióval. Az enantioszelektivitás a **97ab** vegyületnél 1,17–1,19, a **97gh** vegyületnél 1,20–1,50 között változott. A legnagyobb felbontást PrOH alkalmazásával kaptuk. Természetesen továbbra is fontos hangsúlyozni, hogy az eluenst alkotó összetevők hatása az elválasztani kívánt enantiomerek szerkezetétől is függ.

A makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokat enantioszelektív elválasztásra leggyakrabban RP és PI módban szokás alkalmazni. Ilyen esetekben MeOH-t, vagy MeOH és víz elegyét, mint poláris oldószert, ionos adalékként bázist (pl. TEA), savat (pl. AcOH), illetve sót (pl. trietil-ammoniumacetát, TEAA) használnak. A módszerfejlesztés során valamennyi esetben vizsgáltuk az eluens MeOH-tartalmának hatását az elválasztásra [E18-E28]. A *Chirobiotic* oszlopok tapasztalataink szerint a fordított fázisú körülmények között megszokottól eltérően viselkedtek, az eluens MeOH-tartalmának növekedésével általában nőtt a vizsgált komponensek visszatartása. Erre egy példát a γ -aminosavakon (**139–141**) keresztül mutatok be. A MeOH-tartalmat 10–90 v% tartományban változtatva vizsgáltuk a kromatográfiás adatok alakulását *Chirobiotic T* és *R* oszlopon [E23]. Amint azt a **27. ábra** mutatja a MeOH-tartalom növekedésével mindkét állófázison jelentősen növekedett a visszatartás, amit a korábbiakhoz hasonlóan azzal értelmezhetünk, hogy a poláris aminosavak kevésbé szívesen tartózkodnak az egyre apolárisabbá váló mozgófázisban.



27. ábra

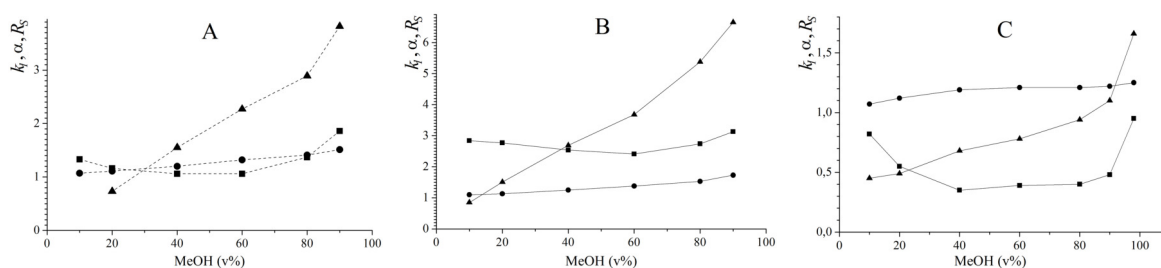
Az eluens MeOH-tartalmának hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *Chirobiotic T*, B: *Chirobiotic R*; mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (90/10–10/90 v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹; vegyület: **139**; ■: k' , ●: α , ▲: R_S

Számottevő enantioszelektivitás (és felbontás) csak a *Chirobiotic R* oszlopon alakult ki 60 v% MeOH-tartalom felett, vagyis hiába voltak jelen már kisebb MeOH-tartalomnál a visszatartásért felelős kölcsönhatások, a szolvatációs viszonyok változása szükséges volt ahhoz, hogy az állófázis enantiomerfelismerő-képessége létrejöhessen.

Több esetben is a fentiekől kismértékben eltérő viselkedést tapasztaltunk, a MeOH-tartalom növekedésével minimumot ért el a retenciós tényező értéke [E20, E22, E24-E26, E28]. A **28. ábrán** ilyen U alakú görbére mutatok be néhány példát [E26]. Ez a viselkedés nagyobb hidrofóbicitású vegyületekre volt jellemző (pl. aromás, ciklusos illetve biciklusos β -aminosavak [E20, E22, E28, E26], monoterpén [E24] és izoxazolin analógok [E25]), így magyarázatként feltételezhető, hogy a hidrofób–hidrofób kölcsönhatások jelentősebb

szerepet játszanak a vizsgált vegyületek visszatartásában. A kisebb MeOH-tartalmú eluensekben (tipikusan MeOH < 40 v%) tapasztalt retenciónövekedés vélhetően a szelektor „zsebében” kialakuló hidrofób–hidrofób kölcsönhatásokra vezethető vissza. Ezek a kölcsönhatások nagyobb MeOH-tartalomnál már csak kisebb mértékben szólhatnak bele a retenciós viselkedésbe. Nagyobb MeOH-tartalomnál (a PI módhoz közelítve) inkább a dipólusos és az ionos kölcsönhatások kerülnek előtérbe.



28. ábra

Az eluens MeOH-tartalmának hatása a kromatográfiás adatokra

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *Chirobiotic T*, B: *Chirobiotic TAG*, C: *Chirobiotic R*;
mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (90/10–2/98 v/v); áramlási sebesség: 1 mL perc⁻¹;
vegyület: A és B: **93ab**; C: **92ab**; ■: k' , ●: α , ▲: R_S

A retenciós görbe alakja, minimumának helye függ az elválasztandó komponens szerkezetétől és az alkalmazott állófázistól is. A MeOH-tartalom növekedésével az esetek többségében kisebb-nagyobb mértékben mind az enantioszelektivitás, mind a felbontás növekedett.

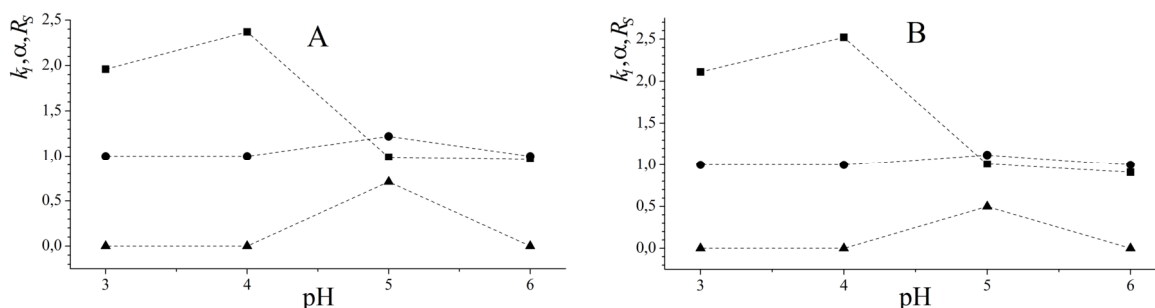
A fentiekől számottevően eltérő viselkedést tapasztaltunk β -laktámszármazékok esetében (**132–138**) [E18]. Mind a *Chirobiotic T*, mind a *TAG* oszlopon fordított fázisú viselkedést tapasztaltunk, az eluens növekvő MeOH-tartalmával jelentősen csökkentek a retenciós idők. A polárisabb aminosavaktól való eltérő viselkedésre magyarázatul a β -laktámszármazékok hidrofóbabb karaktere mellett a sztérikus hatások fellépése szolgálhat.

5.2.1.2. Az eluens pH-jának hatása az elválasztásra

Mind a makrociklusos antibiotikum alapú szelektorok, mind a vizsgált vegyületek rendelkeznek ionos vagy ionizálható funkciós csoportokkal. A teikoplanin ionos jellegét egy karboxilcsoport (pK~2,5), illetve egy primer aminocsoport (pK~9,2) biztosítja. A vizsgált aminosavak hasonló pK értékekkel rendelkeznek, így az alkalmazott pH-tartományban (pH=3–7) mind a szelektor, mind az aminosavak ikerionos szerkezetet vesznek fel. Az eluens pH-jának elválasztásra gyakorolt hatását vizsgálva értékes

információkat nyerhetünk az enantioszelektív elválasztás mechanizmusáról. Az eluent alkotó vizes fázis pH-jának hatását tanulmányoztuk *Chirobiotic T* [E24], *T2* [E21] és *TAG* [E24, E27] oszlopon. Mindegyik vizsgált oszlopon azt tapasztaltuk, hogy a vizes fázis pH-jának csökkentésével növekedtek a retenciós tényezők. *Chirobiotic T* oszlopon hasonló eredményről számoltak be *Armstrong* és munkatársai is [190].

A retenciós pH csökkentésével tapasztalt növekedése kiválóan jelzi, hogy a makrociklusos antibiotikum alapú szelektorok esetén milyen fontos szerepet játszanak az elektrosztatikus kölcsönhatások. Egy limonénvázas β -aminosav (**97**) enantiomerei esetén az eluens pH-jának hatását úgy vizsgáltuk, hogy a nagy víztartalmú mozgófázisban a szerves módosító hozzáadását követően pH-mérő alkalmazása mellett állítottuk be a pH-t [E28]. Az így kialakuló „aktuális” pH hatását a **29. ábrán** szemléltetem. A bemutatott adatok alapján elmondható, hogy a szelektivitás és a felbontás több esetben is maximumot ért el a vizsgált pH-tartományban.



29. ábra

Az eluens pH-jának hatása a kromatográfiás adatokra *Chirobiotic T* oszlopon

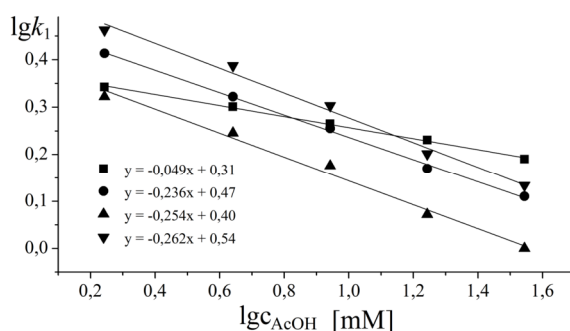
Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=3–6)/MeOH (90/10 v/v);

áramlási sebesség: 0,8 mL per⁻¹; vegyület: A: **97ab**, B: **97gh**; $\blacksquare$: k' , $\bullet$: α , $\blacktriangle$: R_s

A pH csökkentése tehát a visszatartásban jelentős szerepet betöltő ionos kölcsönhatások erősödésén keresztül megnövekedett retenciós időket eredményezett, de amint azt már korábban tárgyaltam, ezek a kölcsönhatások többségükben nemszelektívek, így az enantiomerek megkülönböztetésére nem gyakorolnak feltétlenül pozitív hatást. Az eluens pH-jának változtatása mind a szelektor, mind az elválasztani kívánt vegyület ionizáltságát befolyásolhatja, így mind a retenciós viselkedésre, mind az enantioszelektivitás kialakulására jelentős hatással lehet.

5.2.1.3. Az ellenionok koncentrációjának hatása

Az ioncserélő tulajdonságú állófázisok tárgyalásánál részletesen bemutattam az elúció szempontjából meghatározó szerepet betöltő ellen- és kísérő ionok hatását. Az előzőekben láttuk, hogy a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisoknál is fontos szerepet játszanak az ionos kölcsönhatások, hiszen ezek a szelektorok is tartalmaznak ionos funkció csoportokat. Fontosnak tartottuk annak a kérdésnek a tisztázását, hogy ezeknél az állófázisoknál a korábban már tárgyalt helyettesítési modell vajon megfelelő jósággal írja-e le a tapasztalt viselkedést. A kérdés eldöntésére *Chirobiotic TAG* oszlopon MeOH-t valamint AcOH-t és TEA-t 1:1 arányban, de különböző koncentrációban (0,01/0,01, 0,025/0,025, 0,05/0,05, 0,1/0,1 and 0,2/0,2 v/v) tartalmazó eluenst alkalmazva vizsgáltuk a **97** vegyület kromatográfiás jellemzőinek alakulását [E28]. A **30. ábrán** bemutatott adatok jól tükrözik, hogy az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusa és az elsőként eluálódó enantiomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmusa között megfelelő jósággal ($R^2 \geq 0,98$) leírható lineáris kapcsolat áll fenn.



30. ábra

Az ellenion koncentrációjának hatása az elsőként eluálódó enantiomer retenciós tényezőjére *Chirobiotic TAG* állófázison

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: MeOH és AcOH/TEA (0,01/0,01–0,2/0,2 v/v);
áramlási sebesség: 0,8 mL perc⁻¹; ■: 97a, ●: 97d, ▲: 97e, ▼: 97g

Az $lgk_1 - lgc$ egyenesek meredeksége (abszolút értékben 0,05–0,26) az ikerionos állófázisokon ikerionos vegyületeknél tapasztalt meredekségekhez hasonlóan alakult a vizsgált teikoplanin aglikon szelektoron.

A makrociklusos antibiotikum alapú szelektorok multimodálisak, RP, NP, PO és PI módozatban egyaránt használhatók. Fordított fázisú körülmények között a szelektor „zsebét” vízmolekulák töltik ki, a hidrofób–hidrofób kölcsönhatások meghatározóak a visszatartás szempontjából. Poláris ionos módozatban a protikus, de kevésbé poláris MeOH-lal helyettesítve a vizet, a hidrofób–hidrofób kölcsönhatások visszaszorulnak, az

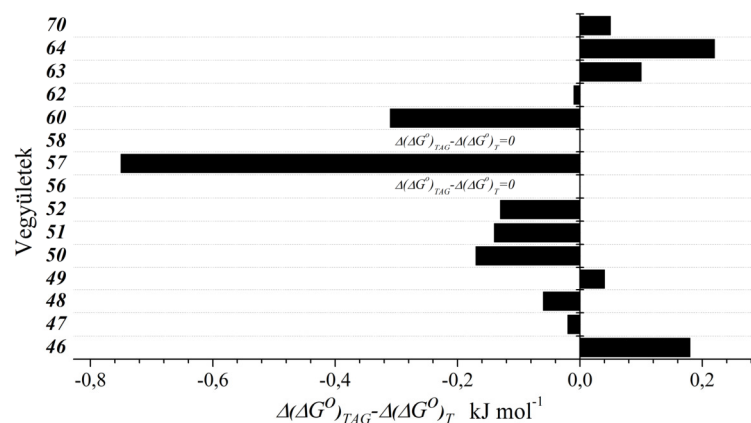
ionos kölcsönhatások kerülnek előtérbe. Az alkalmazott körülmények között (sav:bázis=1:1) mind a szelektor, mind az aminosav ikerionos szerkezettel jellemezhető, az ellentétes töltésű funkciós csoportok között kialakuló ionos kölcsönhatások meghatározó szerepet töltenek be a retencióban. Ilyen körülmények között az ioncserélő tulajdonságú állófázisokon tapasztalható hasonló viselkedés alakul ki, az ellenionok koncentrációjának növelése csökkenő visszatartást eredményez. A királis felismeréshez természetesen további (szelektív) kölcsönhatások kialakulása is szükséges, ezeket a makrociklusos antibiotikum szelektor egyéb kölcsönhatói helyei tudják biztosítani.

5.2.1.4. A cukoregységek hatása

A makrociklusos antibiotikum alapú oszlopok között a teikoplanin és a teikoplanin aglikon szelektorok rendelkeznek a legszélesebb körű felhasználással. Amint azt a 2.4.10. fejezetben tárgyaltam a két szelektor egymástól a cukor egységek meglétében különbözik. Állandó összetételű mozgófázis alkalmazásával a kromatográfiás adatok összevetésén keresztül értékes információkat nyerhetünk a cukoregységek elválasztásban betöltött szerepéről.

A szénhidrát egységek hatását termodinamikai oldalról a $[\Delta(\Delta G^\circ)_{\text{TAG}} - \Delta(\Delta G^\circ)_T]$ különbséggel jellemezhetjük, ahol $\Delta(\Delta G^\circ)_{\text{TAG}}$ a teikoplanin aglikonon, $\Delta(\Delta G^\circ)_T$ a teikoplanin szelektoron adott enantiomerpárra számolt szabadentalpia-változás különbsége. A negatív $[\Delta(\Delta G^\circ)_{\text{TAG}} - \Delta(\Delta G^\circ)_T]$ érték azt jelenti, hogy az adott sztereoizomer elválasztása kedvezőbb a teikoplanin aglikon szelektort tartalmazó állófázison, míg a pozitív érték a szénhidrát egységeket tartalmazó teikoplanin állófázison való hatékonyabb elválasztásra utal. A **31. ábrán** néhány β^2 - és β^3 -aminosav esetére számolt $[\Delta(\Delta G^\circ)_{\text{TAG}} - \Delta(\Delta G^\circ)_T]$ értékeket mutatok be [E20, E22].

Általánosan kijelenthető, hogy a szelektorhoz történő hozzáférés során a β^2 -aminosav enantiomerek legtöbbjének a teikoplaninon lévő szénhidrát csoportok szterikus gátat jelentenek, csökkentve ezáltal az elválasztás hatékonyságát. Ez a szterikus gátló hatás a teikoplanin aglikon esetében nem érvényesül, emellett a két fenolos és az egy alkoholos hidroxil csoport szabaddá válása növelheti az aminosavakkal kialakított kölcsönhatások számát, illetve erősségét. Hasonló következtetésre jutottak Péter és munkatársai α -aminosavak vizsgálata esetén [191].



31. ábra

A szénhidrát egységek hatása teikoplanin és a teikoplanin aglikon szelektorokon végrehajtott elválasztáskor β^2 - és β^3 -aminosavak esetén

Kromatográfiai körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (30/70 v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

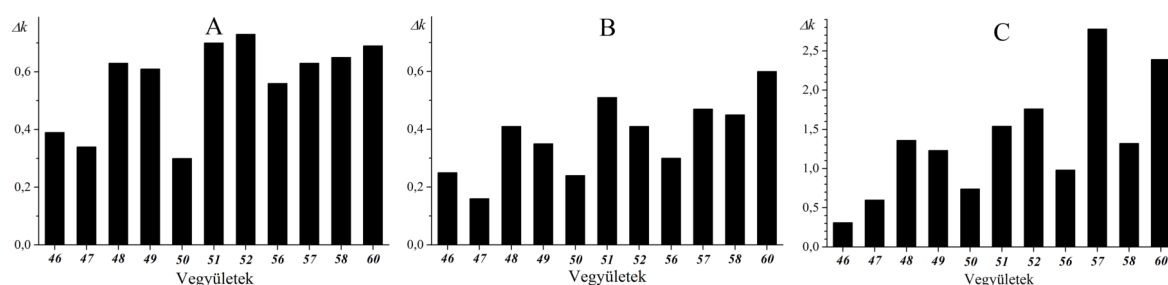
Feltételezhetően az oldallánc eltérő helyzetéből adódóan β^3 -aminosavak esetén a királis szénhidrát egységekkel való kölcsönhatás elősegíti a királis felismerést, így ezen vegyületeknél a teikoplanint tartalmazó *Chirobiotic T* illetve *T2* oszlop hatékonyabb az aminosavakon lévő oldallánc minőségétől függetlenül. β -Laktámok [E18, E19], ciklusos β -aminosavak és származékaik [E19, E21, E24, E28], γ -aminosavak [E23], izoxazolingyűrűvel kondenzált β -aminosavak [E25] esetén is az esetek túlnyomó többségében a teikoplanin aglikon szelektor biztosított hatékonyabb felismerést. A szénhidrát egységek enantioszelektivitás kialakulásához való hozzájárulását vizsgálva tehát kijelenthető, hogy eredményeink a korábbi tapasztalatokat megerősítve azt mutatják, hogy a cukorrészek összetett szerepet töltenek be az enantiomerek felismerésének folyamatában. Egyrészt elfedve a makrociklusos üregeket, illetve az elektrosztatikus kölcsönhatások kialakítására képes amino- és karboxilcsoportokat gátolhatják a királis felismerést, másrészt viszont a cukorrészekben levő kiralitáscentrumok és további kölcsönhatásokat (pl. hidrogénkötést) kínáló csoportok jelenlétével segíthetik a királis megkülönböztetést.

Amint azt a 2.7. fejezetben tárgyaltam, a retenciós tényező szelektív és nemszelektív összetevők összegeként adható meg (11. és 12. egyenlet). Enantiomerek esetén feltételezhetjük, hogy a két enantiomer az állófázissal ugyanolyan (minőségű és erősségű) nemszelektív kölcsönhatást alakít ki, így a két retenciós tényező különbsége a szelektív kölcsönhatásokról hordoz információt [192].

$$\Delta k = k_2 - k_1 = (k_{nsz} + k_{sz2}) - (k_{nsz} + k_{sz1}) = k_{sz2} - k_{sz1}$$

17

Nagyfokú szerkezeti hasonlóságot mutató β^2 -aminosavak esetén különbözőképpen rögzített teikoplanin (*T* és *T2*) és teikoplanin aglikon (*TAG*) állófázisokon a 17. egyenletnek megfelelően számoltuk a retenciós tényezők különbségét [E22]. Egy adott eluensösszetételnél [0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH=30/70 (v/v)] k_I értéke a **46–57** vegyületekre *Chirobiotic T* oszlopon 2,07–2,60, *T2* oszlopon 1,63–2,14, míg *TAG* oszlopon 3,40–4,60 között változott utalva arra, hogy a nemenantioszelektív kölcsönhatások erőssége a vegyületek homológ során belül viszonylag állandó. (Az **58** és **60** vegyületek k_I értéke kissé nagyobbak adódott.) Amint azt a **32. ábra** szemlélteti a teikoplanin szelektorról rendelkező *Chirobiotic T* és *T2* oszlopokon hasonló Δk értékeket kaptunk. A szelektor rögzítési módja, illetve a hordozó eltérő pórusmérete nem befolyásolta igazán jelentősen a szelektív kölcsönhatások alakulását. Érdekes azt is kiemelni, hogy a homológ sorot alkotó vegyületek hasonló módon kötődnek a szelektorhoz, a szerkezeti változások nem okoznak jelentős eltérést a szelektív kölcsönhatásokban, a Δk értékek hasonlóan alakultak. Sokkal nagyobb Δk értékek voltak megfigyelhetők a *Chirobiotic TAG* oszlopon, és ezek molekulánként egymáshoz képest is nagyobb mértékben változtak.

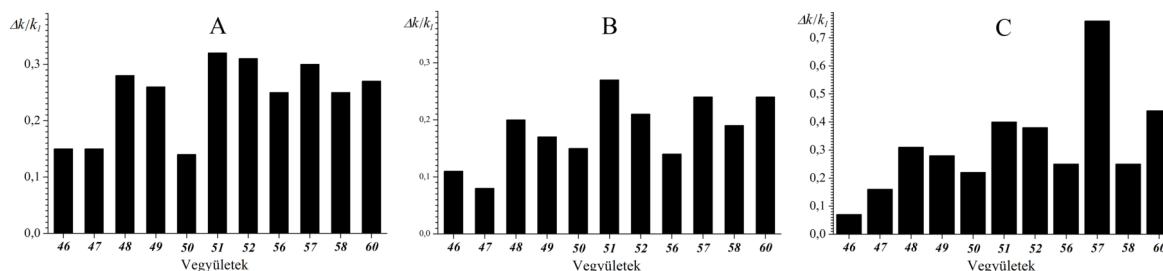


32. ábra

Szelektív kölcsönhatások alakulása β^2 -aminosavak esetén

Kromatográfiai körülmények: kolonna: A: *Chirobiotic T*, B: *Chirobiotic T2*, C: *Chirobiotic TAG*
mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (30/70 v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

Az enantioszelektív és a nemenantioszelektív kölcsönhatások hozzájárulását a retencióhoz a $\Delta k/k_I$ hányadoson keresztül is vizsgálhatjuk (**33. ábra**). A β^2 -aminosavak esetén mindhárom kolonnán a **46**, **47** és **50** molekulák mutatták a legkisebb $\Delta k/k_I$ értéket, vagyis a nemenantioszelektív kölcsönhatásra jutó enantioszelektív hozzájárulás viszonylag kicsi, míg az **51**, **52**, **57** és **60** vegyületek esetén nagyobb szerepet kapnak a szelektív kölcsönhatások, melyek nagyobb enantioszelektivitásban is megmutatkoztak [E22].



33. ábra

Szelektív kölcsönhatások alakulása β^2 -aminosavak esetén

Kromatográfiai körülmények: kolonna: A: *Chirobiotic T*, B: *Chirobiotic T2*, C: *Chirobiotic TAG*; mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (30/70 v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

Az azonos királis szelektorról rendelkező *Chirobiotic T* és *T2* oszlopokon a $\Delta k/k_I$ értékek hasonlóak voltak, bár a *Chirobiotic T* esetén kicsit nagyobbak. A *Chirobiotic TAG* oszlopon ez a hányados már jelentősen nagyobb volt, és emellett a $\Delta k/k_I$ értékek is nagyobb mértékben változtak az egyes molekulákra nézve. A különböző Δk és α értékek, melyeket az 52, 56 és 57 vegyület esetében tapasztaltunk a *Chirobiotic TAG* oszlopon, valószínűleg szterikus okokkal magyarázhatók. Az 56 és 57 molekulán lévő –OH-csoport szterikusan gátolja vagy éppenséggel elősegíti a molekula és a szelektor között kialakuló H-híd kölcsönhatást, és ezáltal segítheti vagy akadályozhatja a királis felismerést. Mindhárom kolonnán a legnagyobb retenciós tényező különbségeket azok a vegyületek adták, melyek egy aromás gyűrűvel és egy további –OH, C₂H₅–O- vagy –O-csoporttal rendelkeznek, így képesek π – π , H-kötés, dipólus–dipólus, illetve hidrofób kölcsönhatás kialakítására az állófázissal.

5.2.2. A szerkezet–retenciós tulajdonságok összefüggései *Chirobiotic* állófázisokon

A makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok enantiomerfelismerő-képességét alapvetően befolyásolja az elválasztandó molekula azon sajátága, hogy miként tud illeszkedni a királis szelektor kosarába. A hidrofób zsebbe való illeszkedés mellett a π – π , a dipólus–dipólus, a H-híd, az elektrosztatikus kölcsönhatások és a szterikus gátlás játszik döntő szerepet.

β -Laktámok (132–138) fordított fázisú körülmények közötti vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az aromás gyűrűn végrehajtott metil-, Cl- vagy Br-szubsztitúció mindkét állófázison növelte a retenciót [E18]. A retenció növekedését azonban nem feltétlenül kísérte hatékonyabb elválasztás (F9. Táblázat). A Cl atom helyzetének változása (135–137) jelentős hatást gyakorolt a retenciós tulajdonságokra; a *para* helyzet (137), kedvezve az enantiomerfelismerés kialakulásának, eredményezte a legnagyobb enantioszelektivitást

és felbontást (**F9. Táblázat**). A *T* és *TAG* oszlopokat összevetve elmondható, hogy az aglikon szelektor minden esetben nagyobb visszatartást és szelektivitást eredményezett, vélhetően a szénhidrát egységek gátló hatásának hiánya miatt, amint azt korábban elemeztem. Az enantiomerek elúciós sorrendje a két állófázison megegyezett ($S < R$) minden vizsgált molekulánál, tehát se a királis szelektor szénhidrát egységeinek, se az aromás gyűrű szubsztituensének nem volt hatása az elúciós sorrendre.

Biciklusos β -aminosavak (**94–96**) és triciklusos β -laktámok (**127–129**) enantioszelektív elválasztását *Chirobiotic T*, *TAG*, *R*, *V* és *VAG* kolonnákon vizsgáltuk fordított fázisú, poláris-szerves és poláris-ionos módozatban [E19]. Fordított fázisú körülmények között az elsőként eluálódó enantiomerek retenciós tényezőit *T* illetve *TAG* állófázison állandó mozgófázisösszetétel mellett összehasonlítva elmondható, hogy teikoplanin és teikoplanin aglikon szelektorokon a β -aminosavak nagyobb visszatartással eluálódtak, mint a hasonló szerkezetű β -laktámok (**F10. Táblázat**). Ez a határozott különbség a két vegyületcsoport között az állófázissal kialakult kölcsönhatások különbségéből adódik, és rávilágít arra a fontos tényre, hogy a β -aminosavak esetében az ionos funkciós csoportok által létrehozott elektrosztatikus kölcsönhatások meghatározó szerepet töltenek be a retenciós tulajdonságok kialakulásában.

A poláris-szerves és a poláris-ionos körülmények között meghatározott kromatográfiás adatok alapján (**F11. Táblázat**) megállapítható, hogy a teikoplanin alapú szelektorok az esetek többségében nagyobb visszatartással rendelkeznek poláris-ionos módban mind a β -laktámok, mind a β -aminosavak esetében. Sav illetve bázis jelenléte az eluensben meghatározza az elválasztandó vegyület és a szelektor, valamint az állófázison található szabad szilanolcsoportok protonáltsági állapotát is, így befolyásolja a létrejövő elektrosztatikus kölcsönhatások kialakulását és erősségét. Az eluensben az ecetsav mennyiségét 0,01 v%-ról 0,1 v%-ra növelve és a TEA 0,01 v% értéken tartásával β -aminosavaknál általában a visszatartás csökkenését figyeltük meg, ami a karboxilcsoportok deprotonálódásának visszaszorulásával, így az ionos kölcsönhatások csökkenésével értelmezhető. Amint azt az **F11. Táblázat** adatai is megerősítik, a nemszelektív ionos kölcsönhatások csökkenése nem okozott számottevő változást az enantioszelektivitásban.

Mind poláris-szerves, mind poláris-ionos módban adott eluensösszetételnél a **96** vegyületre kapott k_I értékeket különböző oszlopokon összehasonlítva megállapítható, hogy a legkisebb visszatartást a *V* és *VAG* kolonnákon kaptuk. Ez azzal magyarázható, hogy a viszonylag nagy térkitöltésű biciklusos aminosav a *V* és *VAG* három makrociklusa által formált kisebb kosárban nem tud megfelelően elhelyezkedni, szemben a *T* illetve *TAG*

négy makrociklusa által létrehozott nagyobb kosarával. A *V* és *VAG* oszlopok alkalmazásakor kapott retenciós adatokat összehasonlítva a **94** vegyület esetén nem látunk jelentős különbségeket, míg a **96** vegyületnél a szelektivitás és felbontás szempontjából a szénhidrát egységeket tartalmazó *V* tűnik előnyösebbnek. A risztocetin A szelektort tartalmazó *R* oszlop esetében tapasztalt kisebb visszatartás a *T* és *TAG* oszlopokhoz viszonyítva az állófázis polárisabb jellegével (több cukorrész, nincs nonillánc), illetve a szabad karboxilcsoport hiányával magyarázható.

Azokban az esetekben, amikor az elválasztás lehetővé tette ($R_s > 0,4$), meghatároztuk az enantiomerek elúciós sorrendjét is (**F11. Táblázat**). A *Chirobiotic T* és *TAG* állófázisoknál egységesen *R,R*<*S,S* sorrendet kaptunk mind a hat vegyületre vonatkozóan. Ettől eltérően a *V* és *VAG* kolonnán a **94** vegyületnél, míg *R* oszlopon a **95** és **96** vegyületnél ellentétes elúciós sorrendet figyeltünk meg.

Értékes szekezeti összefüggéseket tártunk fel teikoplanin és teikoplanin aglikon szelektorokon β^2 -aminosavak enantioszelektív elválasztásának tanulmányozásával [E22]. A rövid alkálláncsal rendelkező **46** és **47** vegyületek esetén tapasztaltuk a legkisebb szelektivitást és felbontást (**F12. Táblázat**), ami azt mutatta, hogy ugyan elegendő visszatartás alakult ki ($k > 2$), de a rövid oldallánc nem tudott megfelelően erős szelektív kölcsönhatásokat biztosítani. Bár a retenciós tényezőkben inkább csökkenés figyelhető meg, a szelektivitás és felbontás értékek jelentősen javulnak a hosszabb alkálláncsal rendelkező **48–51** vegyületek esetén. Az **50** vegyületnél tapasztalt viszonylagosan kisebb enantioszelektivitásokról arra lehet következtetni, hogy a 2-propilszubsztituens nem kedvez az enantiomerek felismerésének. Az elágazó láncsal rendelkező **50** és **51** vegyületeknél egy metilén-csoport beépítése mindhárom kolonnán nagyobb visszatartást és szelektivitást eredményezett. Az alifás (**46–51**) és az aromás (**52–60**) szubsztituens-t tartalmazó vegyületek kromatográfiás adatait elemezve kijelenthető, hogy ugyanazon az állófázison a visszatartásokban nincs igazán jelentős különbség. Az enantioszelektivitás és a felbontás általában nagyobb az aromás szubsztituens-t tartalmazó aminosavaknál, vélhetően a π - π kölcsönhatásoknak és a szterikus hatásoknak köszönhetően. Az **56** és **57** vegyületeknél az **52** vegyülethez képest kisebb, míg az **58** és **59** vegyületeknél megnövekedett visszatartást tapasztaltunk. A jelenségre egyértelmű magyarázat nem adható, de vélhetően a H-híd kialakítására képes O atom és a szterikus hatások együttese eredményezi a tapasztalt viselkedést.

Chirobiotic T, *T2* és *TAG* kolonnákon összehasonlító analízist végeztünk izobár β^2 - és β^3 -aminosavak segítségével [E20]. Tapasztalataink azt mutatták, hogy a β^2 -aminosavak

mindhárom állófázison nagyobb retencióval és enantioszelektivitással eluálódtak, mint a β^3 -analógok (**F13. Táblázat**). A β^2 -aminosavak enantiomereit általában a teikoplanin aglikon, míg a β^3 -analógok enantiomereit a teikoplanin szelektor ismerte fel nagyobb szelektivitással.

Ciklusos mono- és dihidroxi- β -aminosavak (**110–113**) kromatográfiás viselkedését különböző makrociklusos antibiotikum alapú szelektorokon (*T*, *T2*, *TAG*, *R*) tanulmányoztuk [E21]. Az **F14. Táblázatban** bemutatott adatok alapján kijelenthető, hogy a szelektorok közül általában a risztocetin A kisebb visszatartással rendelkezett, és ezt kisebb enantioszelektivitás kísérte. Vélhetően a vizsgált vegyületek aminocsoportjával ionos kölcsönhatást kialakítani képes szabad karboxilcsoport hiánya okolható a tapasztalt viselkedésért. A legnagyobb visszatartást minden esetben a teikoplanin aglikon szelektor biztosította és ez – a **110ab** és **110cd** enantiomerpárok kivételével – egyben a leghatékonyabb enantiomerfelismerést is jelentette. A *T2*, a *TAG* és az *R* oszlop általában nagyobb enantioszelektivitást mutatott a *cis*-izomerek esetében. A szerkezeti analógokat összevetve elmondható, hogy a legnagyobb visszatartást általában a monohidroxiszármazékoknál (**110ab**, **110cd**) tapasztaltuk, viszont érdekes módon ugyanezeknél a vegyületeknél kaptuk a legkisebb enantioszelektivitást. A dihidroxiszármazékok kisebb visszatartással, de nagyobb enantioszelektivitással voltak elválaszthatók. Újabb hidroxilcsoport beépítése tehát kedvezett a szelektív kölcsönhatások előtérbe kerülésének. A gyűrű szénatomszámának növelésével (**111ab** vs. **112ab**, **111cd** vs. **112cd**) minden esetben csökkentek a retenciók, amit általában az enantioszelektivitás csökkenése kísérte. A hidroxilcsoportok molekulán belüli elhelyezkedése (**112** vs. **113**) kisebb mértékben befolyásolta a kromatográfiás viselkedést, általánosan érvényes megállapítás nem fogalmazható meg.

Ciklusos γ -aminosavak (**139–141**) elválasztását *Chirobiotic T*, *T2*, *TAG* és *R* oszlopokon tanulmányoztuk [E23]. Eredményeink (**F15. Táblázat**) azt mutatták, hogy a vizsgált γ -aminosavak ugyan erős kölcsönhatást tudtak kialakítani a szelektorokkal, de a visszatartásban a nemszelektív kölcsönhatások voltak a meghatározók (a viszonylag nagy visszatartást általában kicsi szelektivitás kísérte). A kettős kötés jelenléte (**140** vs. **139**) miatt kialakuló merevebb szerkezet általában kisebb visszatartást eredményezett, az enantioszelektivitáshoz való hozzájárulása azonban már erősen függött az alkalmazott szelektortól. Az aglikon szelektorról poláris-ionos módban mindhárom vegyület esetén szokatlanul erős kölcsönhatások alakultak ki, de ezek csak ritkán vezettek hatékony enantiomerfelismeréshez.

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak kromatográfiás viselkedését tanulmányoztuk *Chirobiotic T*, *T2*, *TAG*, *V* és *VAG* oszlopokon fordított fázisú, poláris-szerves és poláris-ionos módban [E25]. Az **F16. Táblázatban** fordított fázisú körülmények között meghatározott kromatográfiás adatokat mutatok be, melyek alapján kijelenthető, hogy a *transz*-izomerek jellemzően erősebb kölcsönhatást alakítottak ki a makrociklusos antibiotikum alapú szelektorokkal (nagyobb retencióval eluálódtak), de kevésbé hatékonyan ismerték fel őket a szelektormolekulák, mint a *cisz*-izomereket. A geometriai izoméria tehát mind a szelektív, mind a nonszelektív kölcsönhatásokat befolyásolta, de ellentétes módon. A metil- (**102**, **104**) és az etilszubsztituált (**103**, **105**) analógok kromatográfiás viselkedését összevetve elmondható, hogy az etilszubsztitúció valamennyi állófázison szinte mindig kisebb retenciókat eredményezett, miközben a szelektorok enantiomerfelismerő-képességét számottevő módon nem befolyásolta. A metilcsoport (**102** vs. **104**) illetve az etilcsoport (**103** vs. **105**) helyzete ugyan mind a retenció tulajdonságokat, mind a szelektor enantiomerfelismerő-képességét befolyásolta, de általánosan érvényes irányvonal nem fedezhető fel.

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak esetén a teikoplanin alapú szelektorok közül többségében az aglikon hatékonyabban tudta megkülönböztetni az enantiomereket. A vankomicin alapú szelektorok jellemzően kisebb enantiomerfelismerő-képességgel rendelkeztek, mint a teikoplanin alapú szelektorok. A vankomicin és a vankomicin aglikon szelektorok nagyon hasonlóan viselkedtek, a szénhidrát egységek ezeknél a rendszereknél nem mutattak jelentős befolyást a kromatográfiás jellemzőkre. Az enantiomerek elúciós sorrendjét meghatározva elmondható, hogy a *cisz*-izomerek a *T* és *T2* szelektorokon $a < b$ sorrendben eluálódtak, ez a sorrend a *TAG* oszlopon, illetve a vankomicin alapú szelektorokon több esetben is megfordult. A *transz*-izomerek elúciós sorrendje a *T* és *T2* oszlopokon megegyezett, míg *TAG* oszlopon minden esetben ellentétes sorrendet tapasztaltunk. Hasonlóan a monoterpénvázas ciklusos β -aminosavak esetén tapasztalt viselkedéshez [E24] ebben az esetben is elmondható, hogy a kromatográfiás mód változtatása több esetben is megváltoztatta az elúciós sorrendet, azaz az abszolút konfigurációk mellett más, az alkalmazott mozgófázistól függő hatások is jelentősen befolyásolták az enantiomerek állófázissal kialakított kölcsönhatásainak eredőjeként kialakuló elúciós sorrendet.

Ugyan a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon kapott eredményeink meglehetősen szerteágazóak, néhány általános megállapítás mégis tehető.

- i) Az esetek többségében a teikoplanin aglikon szelektor hatékonyabb elválasztást tett lehetővé, mutatva azt, hogy a szelektor enantiomerfelismerő-képessége erősen függ az aglikonvázon elhelyezkedő szénhidrát egységektől. A szénhidrát egységek sztérikus gátló hatása többször érvényesül, az általuk nyújtott további kölcsönhatások vegyületspecifikusan járulnak hozzá további szelektív kölcsönhatások kialakulásához.
- ii) Ionos kölcsönhatások kialakítására képes funkciós csoportokkal rendelkező vegyületek általában erősebb kölcsönhatást hoznak létre a makrociklusos antibiotikum alapú szelektorokkal. Az ionos kölcsönhatások jelentősen hozzájárulnak a retenció kialakulásához, de az enantiomerfelismerő-képességet meghatározó szelektív kölcsönhatásokra kifejtett hatásuk a szelektor és a vegyület szerkezetétől függő módon változik.
- iii) A geometriai izomerek kromatográfiás tulajdonságai között igen erős különbségek tapasztalhatók mind a retenció, mind az enantioszelektivitás kapcsán. A *transz*-izomerek a teikoplanin alapú szelektorokkal az esetek többségében erősebb kölcsönhatást tudtak kialakítani, de ezt a kölcsönhatást a nemszelektív összetevők határozták meg. A szelektorok enantiomerfelismerő-képessége *cisz*-izomerek esetén kedvezőbben alakult.
- iv) Nagyfokú szerkezeti azonosságot mutató β -aminosavak homológ sorozatán belül a szubsztituens alifás illetve aromás jellege nem befolyásolja számottevően a nem szelektív kölcsönhatásokat, de az aromás szubsztituens π - π kölcsönhatások kialakításán keresztül növeli a szelektív kölcsönhatások erősségét.
- v) Ellentétben az ioncserélő tulajdonságú állófázisokkal, makrociklusos antibiotikum alapú szelektoroknál az enantiomerek elúciós sorrendje nem jósolható, a mozgófázis összetételétől függő hatások is jelentősen befolyásolhatják a kialakuló sorrendet.
- vi) Az egyes antibiotikum alapú szelektorok komplementer tulajdonságúak, azaz ha valamelyik oszlopon legalább részleges elválasztást sikerül elérni, jó esély van rá, hogy a szerkezeti hasonlóságok miatt, egy másik oszlopon megfelelő elválasztást érjünk el.

5.2.3. A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra *Chirobiotic* oszlopokon

Amint azt az ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál tárgyaltam, a hőmérséklet összetett módon képes befolyásolni a királis felismerési folyamatokat, mind a retenciós tulajdonságokra, mind az enantioszelektivitásra jelentős hatást fejthet ki. A korábban tárgyaltaknak megfelelően a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisoknál is vizsgáltuk a hőmérséklet hatását és termodinamikai jellemzőket határoztunk meg. Az esetek túlnyomó többségében a korábban említett megszokott viselkedést tapasztaltuk, azaz a hőmérséklet növelésével mind a visszatartás, mind az enantioszelektivitás csökkent. Erről számoltunk be β -laktámoknál [E18, E19], β^2 - és β^3 -aminosavaknál [E19, E20, E22], γ -aminosavaknál [E23], monoterpénvázás β -aminosavaknál [E24], izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavaknál [E25], biciklusos β -aminosavaknál [E26], fenilizoserinszármazékoknál [E27] és limonénvázás β -aminosavaknál [E28]. A következőkben a szokásostól eltérő viselkedésre mutatok be néhány példát, amikor is a hőmérséklet növekedésével a csökkenő retenciót növekvő enantioszelektivitás kísérte.

Monoterpénvázás β -aminosavak közül a **101ab** vegyületnél *Chirobiotic T* oszlopon 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v) eluenst alkalmazva – a vegyületcsoport többi tagjától eltérően – a hőmérséklet növekedésével kismértékben nőtt az enantioszelektivitás [E24]. A számolt termodinamikai adatok összevetéséből kitűnik, hogy csak a **101ab** vegyületre kaptunk pozitív $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket (**F17. Táblázat**). Ebben az esetben tehát a nagyobb entrópiatag hozzájárulása révén a folyamat entrópiavezéreltnek tekinthető.

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavaknál a **105ab** vegyületnél *Chirobiotic TAG* oszlopon 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v) eluenst alkalmazva növekvő hőmérséklettel növekvő enantioszelektivitást figyeltünk meg [E25]. Ennél a vegyületcsoportnál is egyetlen képviselőnél (**105ab**) tapasztaltunk entrópiavezérelt elválasztást, minden más esetben a $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ negatív értékei entalpiavezérelt folyamatra utaltak (**F18. Táblázat**).

Biciklusos β -aminosavaknál (**92**, **93**) *Chirobiotic R* oszlopon 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (50/50 v/v) eluenst alkalmazva növekvő hőmérséklettel növekvő enantioszelektivitást figyeltünk meg a **92ab** vegyületnél [E26]. A számolt termodinamikai adatok (**F19. Táblázat**) az előző példákhoz hasonlóan itt is az eltérően viselkedő enantiomerpárra mutattak pozitív $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket.

Limonénvázás β -aminosavaknál *Chirobiotic TAG* oszlopon több esetben is entrópiavezéreltnek tekinthető folyamatot figyeltünk meg [E28]. A **97ef** és a **97gh**

enantiomerpárok MeOH/AcOH/TEA 100/0,01/0,01 (v/v/v) eluenssel, míg a **97cd** enantiomerpár mind MeOH/AcOH/TEA 100/0,01/0,01 (v/v/v), mind MeOH/AcOH/TEA 100/0,1/0,1 (v/v/v) összetételű eluenssel rendhagyóan viselkedett, a hőmérséklet növekedéssel csökkenő retenciót növekvő enantioszelektivitás kísérte. Az **F20. Táblázatban** bemutatott $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékek minden ilyen esetben pozitívnak adódtak, entrópiavezérelt folyamatok domináltak az elválasztásban. A makrociklusos antibiotikum alapú oszlopokon meghatározott termodinamikai jellemzők [$\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$, $\Delta(\Delta G^\circ)$] nagyságrendileg hasonlóan alakultak, mint az ioncserélő tulajdonságú oszlopokon.

5.2.4. Az ioncserélő és a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok enantiomerfelismerő-képességének összehasonlítása

Az előző fejezetekben láttuk, hogy az ionos kölcsönható csoportjaik elválasztásban betöltött meghatározó szerepe miatt a korábbiakban tárgyalt ioncserélő tulajdonságú és a makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok hasonlóságokat mutatnak. Ezek a hasonlóságok ugyan korlátozottan, de mégis alapul szolgálhatnak a két állófázis család összevetésére.

Ciklusos szekunder α -aminosavak esetén a makrociklusos antibiotikum alapú oszlopok tipikusan kisebb visszatartással és nagyobb szelektivitással rendelkeztek (**F21. Táblázat**), vagyis sokkal kedvezőbb volt az antibiotikum alapú szelektorról kialakított szelektív és a nemszelektív kölcsönhatások aránya. β -Aminosavak esetén a makrociklusos antibiotikum alapú oszlopok csakúgy, mint α -aminosavaknál kevésbé tartották vissza az enantiomereket, de az előzőekkel ellentétben a kisebb retenciót általában kisebb enantioszelektivitás kísérte. Néhány kiragadott példát a **F22. Táblázatban** mutatok be. β -Aminosavak enantiomereivel tehát az ioncserélő oszlopok erősebb szelektív kölcsönhatásokat tudtak kialakítani.

A makrociklusos antibiotikum alapú kolonnákkal kapott jellemző enantioszelektív elválasztásra az **F6. ábrán** mutatok be példát.

5.3. Elválasztások poliszacharid alapú állófázisokon

5.3.1. A mozgófázis alkotóinak hatása az elválasztásra

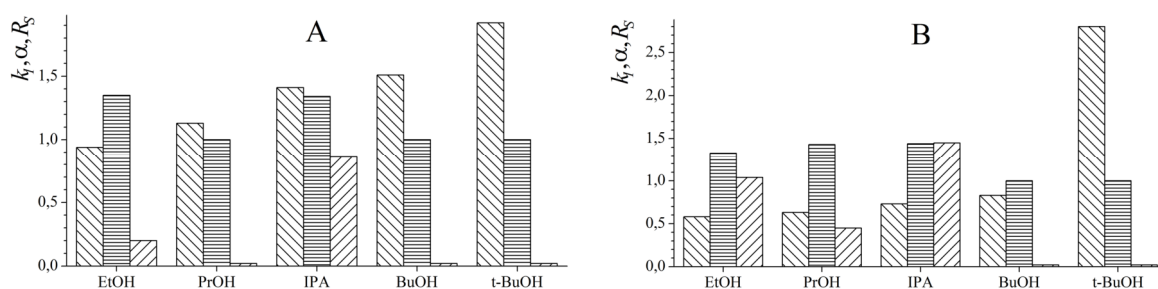
5.3.1.1. Az eluens alkotó oldószerek hatása az elválasztásra

A poliszacharid alapú állófázisok módosított amilóz vagy cellulóz szelektora főként π – π , dipólus–dipólus, illetve hidrogénhidas kölcsönhatásokat alakít ki az elválasztandó

vegyületekkel. A királis felismerésben mindemellett fontos szerepet játszhat a nagyobb méretű aromás gyűrű(k) sztérikus hatása is. A viszonylagosan merev, nagy térkitöltésű aromás szubsztituensek jelenléte igen erős sztérikus hatást fejthet ki, ez akár kivételesen nagy enantioszelektivitást is eredményezhet. Ha az aromás gyűrűn szubsztituensként elektronküldő, vagy elektronvonzó csoport helyezkedik el, akkor a szelektor és az elválasztandó vegyület között $\pi_{sav}-\pi_{bázis}$ kölcsönhatás alakulhat ki. Amint az irodalmi áttekintésben említettem, a poliszacharid oszlopok fejlesztésekor a karbamát-származékok alkalmazása során tapasztalt megnövekedett enantioszelektivitás jelentősen segítette az állófázisok elterjedését. A poláris karbamátcsoport fontos szerepet tölthet be az elválasztásban, H-híd, illetve dipólus-dipólus kölcsönhatás kialakítását teszi lehetővé.

Poliszacharid alapú kolonnákat leggyakrabban normál fázisú körülmények között szokás alkalmazni. Általános tapasztalat, hogy a hordozó szilikagél felületén lévő szabad szilanolcsoportok erős adszorptív sajátsága miatt az aminocsoportot tartalmazó vegyületek aszimmetrikus, „tailing”-es csúcs formájában eluálódnak. A csúcsok ilyen torzulásának elkerülése érdekében méréseink során (tipikusan 0,1 v%) alkilamint adtunk a mozgófázishoz.

Poliszacharid alapú állófázisokon számos esetben vizsgáltuk az alkohol, mint eluensalkotó anyagi minőségének hatását a kromatográfiás jellemzőkre [E29–E36]. Az alábbiakban egy kiragadott, tipikusnak mondható példán keresztül, glicinészter analógok esetén mutatom be az alkohol anyagi minőségének hatását [E33]. A **34. ábrán a 184** vegyülettel *Lux Cellulose-1* és *Cellulose-2* oszlopokon kapott eredményeinket szemléltetem, melyekből kiválóan tükröződik, hogy a különböző anyagi minőségű alkoholokat állandó moláris koncentrációban (0,261 M) alkalmazva az alkohol, mint eluensmódosító mind a retenciót, mind a szelektivitást, mind a felbontást erősen befolyásolta. Az alkalmazott vizsgálati körülmények között a retenciós tényező az alkohol apoláris jellegének növekedésével mindkét állófázison nőtt. A növekvő szénatomszám a poláris jellegű minta és az apolárisabbá váló mozgófázis közötti kölcsönhatások kialakítását gátolva növeli a retenciót. Ez a viselkedés különösen kifejezett *t*-BuOH esetén.



34. ábra

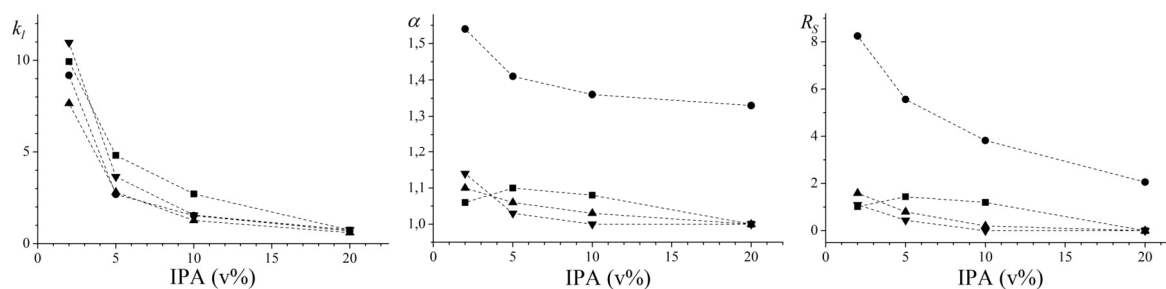
Az alkohol, mint eluens összetevő anyagi minőségének hatása a kromatográfiás adatokra
Lux Cellulose-1 és *Cellulose-2* kolonnán

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *Lux Cellulose-1*, B: *Lux Cellulose-2*; mozgófázis: *n*-hexán/alkohol (0,261 M) /DEA (0,1 v%); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹; vegyület: **184**; k' : , α : , R_S :

Wang és *Wenslow* az alkohol anyagi minőségének hatását poliszaharid alapú állófázisokon tanulmányozva közvetlen (spektroszkópiai) bizonyítékokkal szolgált arról, hogy az alkohol anyagi minőségétől és koncentrációjától függően befolyásolja az állófázis szerkezetét [193]. Eredményeik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az alkohol a hexánt fokozatosan kiszorítva beépül az állófázis szerkezetébe. Az egyenes szénláncú, illetve az elágazó láncú alkoholok a poliszacharid láncot felépítő glükózegységekre eltérő módon hatnak, így a szelektor szerkezetében kialakuló változások függeni fognak mind az alkohol szerkezetétől, mind a koncentrációjától. A szelektor szerkezeti változása a királis felismerésben is változásokat eredményezhet. Természetesen itt sem szabad elfelejteni arról, hogy az elválasztani kívánt vegyület szolvatációja is függhet az alkohol anyagi minőségétől, illetve koncentrációjától.

Az alkohol anyagi minőségének enantiomerfelismerő-képességre kifejtett hatása tehát meglehetősen összetett folyamatokon keresztül alakul ki. Vélhetően ez áll annak háttérében, hogy az enantioszelektivitás és a felbontás alkohol anyagi minőségétől való függésére egyértelmű és általánosítható megállapítás nem fogalmazható meg. Amint azt a **34. ábra** is mutatja, az alkoholok polaritása nem hozható közvetlen kapcsolatba a szelektivitás, illetve a felbontás változásával. A modellvegyületek és a poliszacharid alapú állófázisok szélesebb körét vizsgálva [E29–E36] kijelenthető, hogy az enantioszelektivitást, illetve a felbontást tekintve leginkább az IPA alkalmazása biztosítja az optimális elválasztást, bár itt is fontosnak tartom hangsúlyozni, hogy a modellvegyület és a szelektor szerkezetében, valamint a szolvatációs körülményekben bekövetkező változások jelenleg még nem jósolható módon befolyásolják a királis felismerést.

Az eluens alkoholtartalmának elválasztásra gyakorolt hatását a **35. ábrán** β -laktámok amilóz alapú állófázison történt elválasztásán keresztül mutatom be [E31].



35. ábra

Az eluens IPA-tartalmának hatása a kromatográfiás adatokra *Kromasil AmyCoat* kolonnán
 Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-hexán/IPA (98/2–80/20); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹;
 vegyületek: ■: 121, ●: 128, ▲: 130, ▼: 132

Amint azt a 35. ábra is szemlélteti, tapasztalataink szerint a visszatartási tényező erősen függ az eluens alkoholtartalmától. Minden esetben tipikus normál fázisú viselkedést figyelhetünk meg: az IPA koncentrációjának növekedésével csökkent a visszatartás. A mozgófázist alkotó poláris módosító arányának növelése kedvez az eleunssal kialakuló kölcsönhatásoknak; csökken az állófázis visszatartó ereje.

Az eluens összetétele nemcsak a retenciót befolyásolja, hatása van a szelektivitásra és felbontásra is. Az esetek többségében az eluens növekvő alkoholtartalmával kisebb-nagyobb mértékben csökkenő szelektivitást és felbontást tapasztaltunk, de amint azt már korábban is említettem, az eleunsmódosító adalékok enantioszelektivitásra kifejtett hatása nagyon erősen függ mind a szelektor, mind a vizsgált modellvegyület szerkezetétől.

5.3.2. A szerkezet–retenciós tulajdonságok összefüggései poliszacharid alapú állófázisokon

A HPLC alapú királis elválasztások területén a módosított poliszacharidok a napjainkban leggyakrabban alkalmazott állófázisok. Ezeknél a kolonnáknál a királis felismerésben a π – π kölcsönhatások különösen fontos szerepet töltenek be, aromás gyűrűt tartalmazó semleges vegyületek enantiomereinek elválasztása esetén a poliszacharid alapú állófázisok szinte mindig jó választásnak bizonyulnak. Vizsgált vegyületeink egy jelentős csoportját képezték a naftol analógok. A fentieknek megfelelően ezeknél az aromás gyűrűt tartalmazó vegyületeknél vizsgáltuk a vegyület szerkezete és a kromatográfiás jellemzők összefüggéseit.

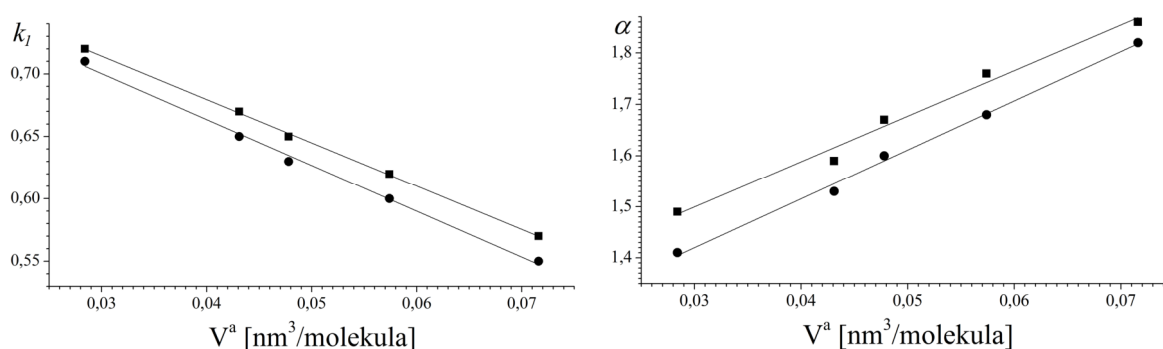
Ugyanazon szubsztituenst tartalmazó 1- és 2-naftol analógok enantiomereinek elválasztását cellulóz alapú *CelluCoat* és *Chiralcel OD-H* oszlopon vizsgáltuk [E29]. Mindkét oszlop állófázisa szilikagélen rögzített cellulóz-*tris*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát). A két oszlopot összehasonlítva az F23. és F24. Táblázat adatainak tükrében kijelenthető,

hogy az elsőként eluálódó enantiomerek mind az 1-naftol ($k_1=1,07-1,98$), mind a 2-naftol analógok ($k_1=0,60-1,17$) esetén viszonylag kicsi visszatartással egy igen keskeny retenciós tartományban eluálódtak mindkét állófázison. A *CelluCoat* kolonnán az elsőként eluálódó enantiomerekre bár csak kis mértékben, de kisebb retenciókat tapasztaltunk. A nemszelektív kölcsönhatások szempontjából tehát nincs igazán jelentős különbség a két kolonna között. A vegyületek szerkezeti eltérései ennél a rendszernél nem okoztak drasztikus különbségeket a visszatartás szempontjából meghatározó kölcsönhatásokban. A másodikként eluálódó enantiomerek kromatográfiás adatai már jelentősebb eltéréseket mutatnak. A *CelluCoat* oszlop a másodikként eluálódó 2-naftol sztereoizomereket kevésbé, míg az 1-naftol sztereoizomereket általában erősebben visszatartotta, vagyis a szelektív kölcsönhatások kapcsán már határozottabb különbségek léptek fel a két oszlop között. Az 1- és 2-naftol analógok között az enantioszelektivitás kapcsán markáns eltérés rajzolódik ki; az 1-naftolokra a *CelluCoat*, a 2-naftolokra a *Chiralcel OD-H* oszlop mutatott nagyobb enantioszelektivitást. Ennek ellenére a felbontás minden esetben a *CelluCoat* oszlopon volt nagyobb, vélhetően azért, mert a nemszelektív kölcsönhatások okozta csúcskiszélesedés kevésbé volt meghatározó a *CelluCoat* oszlopon.

Az előzőekben tárgyalt 1- és 2-naftol analógok kromatográfiás viselkedését összevetve elmondható, hogy az 1-naftol analógok erősebb kölcsönhatást alakítottak ki a vizsgált állófázisokkal, de kisebb enantioszelektivitással eluálódtak [E29]. Az aromás gyűrűt tartalmazó 1- és 2-naftol analógok (**191–200** és **201–211**) esetén a gyűrű helyzete mind a retenciót, mind a királis felismerés kialakulását befolyásolta. Az aromás gyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek hatását vizsgálva elmondható, hogy a metilszubsztitúció (**191** vs. **192**; **201** vs. **202**) alig fejtett ki hatást a visszatartásra, de markánsan csökkentette az enantioszelektivitást. A metoxicsoport jelenléte (**193** vs. **191**; **203** vs. **201**) jelentősen növelte a retenciót, de csökkentette az állófázisok enantiomerfelismerő-képességét. A halogénszubsztituensek $F < Cl < Br$ sorrendben növelték ugyan a visszatartást, vélhetően a vegyületek π -sav jellegének változtatásán keresztül, de ezzel párhuzamosan az enantiomerfelismerő-képesség csökkent. A leginkább π -savas karaktert eredményező nitrocsoport jelenléte erősen megnövelte a visszatartást és csökkentette az enantioszelektivitást. Az aromás illetve heterociklusos szubsztituensek jellemzőinek összevetése (**191** vs. **199**, **200** illetve **201** vs. **210**, **211**) azt mutatja, hogy a visszatartás szempontjából az 1- és 2-naftol alapvázal kialakuló kölcsönhatások a meghatározók, de az enantioszelektivitásra a szubsztituens is jelentős hatással lehet. Az alifás oldallánccal rendelkező vegyületek (**212–216**) kromatográfiás viselkedését összevetve az aromás

gyűrűvel rendelkező szubsztituensekével (**201–209**) elmondható, hogy a retenciók között nem volt jelentős különbség, ellenben az enantioszelektivitások lényegesen nagyobbak az aromás gyűrűt tartalmazó szubsztituensek esetén. Az állófázisok enantiomerfelismerő-képességét számottevően javíthatják a létrejövő π – π kölcsönhatások.

Poliszacharid alapú állófázisoknál a sztérikus hatások is fontos szerepet tölthetnek be a királis felismerés kialakulásában. Hasonlóan a már tárgyalt ioncserélő tulajdonságú állófázisokhoz, a szubsztituensek kromatográfiás viselkedésre gyakorolt hatását ebben az esetben is a Meyer-paraméterrel fennálló összefüggés vizsgálatán keresztül jellemezhetjük. Állandó eluensösszetétel mellett aminonaftol analógok esetén *Chiralcel OD-H* és *CelluCoat* kolonnákon vizsgáltuk az alkilszubsztituens hatását [E29]. A **36. ábrán** bemutatott adatok kiválóan szemléltetik, hogy az alkilszubsztituens méretét jellemző Meyer-paraméter és a retenció, illetve a szelektivitás között lineáris kapcsolat áll fenn. Az alkilszubsztituens méretének növekedésével mindkét vizsgált állófázison csökkent a visszatartás és növekedett az enantioszelektivitás.



36. ábra

A szubsztituens méretének hatása a kromatográfiás jellemzőkre aminonaftol analógok esetén

Kromatográfiás körülmények: állófázis: ■: *Chiralcel OD-H*; ●: *CelluCoat*; mozgófázis: *n*-heptán/IPA/DEA (40/60/0,1 v/v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹; vegyületek: **212–216**

Elmondható tehát, hogy az alkilszubsztituens méretének növekedése csökkentette a nemszelektív kölcsönhatások eredményezte visszatartást és növelte a vizsgált állófázisok enantiomerfelismerő-képességét, hasonlóan, mint az ioncserélő tulajdonságú állófázisok esetében.

A fentiekhez hasonlóan glicinészter naftol analógok esetében is vizsgáltuk az alkillánc méretének hatását [E33]. Mind az öt poliszacharid alapú állófázisnál hasonló viselkedést tapasztaltunk, az alkillánc méretének növekedése (**182–185; 187–190**) gátolta az állófázissal kialakuló retenciót eredményező kölcsönhatásokat [E33].

Aromás gyűrűvel szubsztituált 2-naftoloknál, amennyiben az aromás szubsztituens N-atomot tartalmazott, a N-atom helyzete erősen befolyásolta a királis felismerést [E30]. A királis szénatom közelében, *orto* helyzetben elhelyezkedő N-atom (**217** vs. **219**) gátolta a molekula és az amilóz-, illetve cellulóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát) szelektorok közötti kölcsönhatások kialakulását. Az esetek többségében kisebb visszatartást, enantioszelektivitást és felbontást tapasztaltunk (**F25. Táblázat**). Az aszimmetriás szénatomtól távolabbi *meta* (**220**) vagy *para* (**221**) helyzetű N-atom viszont jelentősen kedvezett mind a szelektív, mind a nemszelektív kölcsönhatások kialakulásának. A naftolváz fenilszubsztituensének naftilgyűrűvel történő helyettesítése (**217** vs. **218**) a cellulóz alapú állófázison mind a retencióban, mind az enantiomerfelismerő-képességben jelentős növekedést eredményezett. Az amilóz alapú állófázis ettől eltérően viselkedett, a retenció csökkent, míg az enantioszelektivitás itt is növekedett. A naftilgyűrű által kínált π - π kölcsönhatások tehát jelentősen hozzájárulnak a királis felismeréshez. A nagyobb térkitöltésű szubsztituens hatása a cellulóz és az amilóz eltérő szerkezete miatt eltérőképpen jelentkezik.

β -Laktámok enantiomereinek amilóz és cellulóz alapú állófázisokon történő elválasztása során összefüggést figyeltünk meg a laktámgyűrűhöz kapcsolódó gyűrű mérete és a retenció tulajdonságok között [E31]. A gyűrű méretének növekedése (**120** vs. **121** vs. **124** vs. **125**) szterikus hatásokon keresztül egy ideig (hét szénatomig) segítette az amilóz- és cellulóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát) szelektorokkal kialakuló visszatartásért felelős kölcsönhatásokat (**F26. Táblázat**). A szterikus hatás összetett szerepére kiválóan rávilágít az a tapasztalat, hogy a megnövelt visszatartást nem kísérte minden esetben nagyobb enantioszelektivitás, vagyis a gyűrű méretének enantioszelektív kölcsönhatásokra kifejtett hatása erősen függött az alkalmazott körülményektől. Megegyező tagszámú gyűrűk esetén a kettős kötés (**121** vs. **122** és **123**; **125** vs. **126**; **130** vs. **131**) megjelenése általában nagyobb visszatartáshoz vezetett, ezt azonban nem minden esetben kísérte nagyobb enantioszelektivitás. A kondenzált aromás gyűrűs vegyületeknél (**120** vs. **127**; **121** vs. **128**; **124** vs. **129**) az aromás gyűrű minden esetben jelentősen megnövelte mind a visszatartást, mind az enantiomerfelismerő-képességet, rávilágítva ezzel a π - π kölcsönhatások fontos szerepére. Az aromás gyűrű halogénszubsztitúciójával (**134**, **137**, **138**) F<Cl<Br sorrendben növekedett a visszatartás. A halogénatom mérete, polarizálhatósága tehát a poláris kölcsönhatásokon keresztül befolyásolta a szelektorral kialakuló kölcsönhatásokat. A klórszubsztituens helyzete (**135**, **136**, **137**) egy adott állófázison a nemszelektív kölcsönhatásokat nem befolyásolta számottevően, ellenben az

enantioszelektivitásban és a felbontásban jelentős különbségek mutatkoztak. Míg a *para* helyzetben szubsztituált **137** vegyületet mindkét állófázis hasonló szelektivitással ismerte fel, addig az *orto* helyzetű klórszubsztituens tartalmazó enantiomerpárt (**135**) csak a cellulóz, a *meta* helyzetben szubsztituált enantiomerpárt (**136**) pedig csak az amilóz állófázis különböztette meg. Ez a tapasztalat kiválóan tükrözi, hogy a királis felismerés folyamatában a poliszacharidlánc milyen fontos szerepet tölthet be.

Ciklusos β -aminosavszármazékok enantiomereinek elválasztását ugyanazon gyártótól származó, megegyező fizikai méretekkel jellemezhető, különböző szelektorú amilóz és cellulóz alapú kolonnákon vizsgáltuk [E36]. A szerkezet–retenció kapcsolatokat illetően fontos megemlíteni, hogy a kettős kötés megléte hogyan befolyásolja a visszatartás alakulását (**F27. Táblázat**). Ezt a **116cd** vs. **114ab** illetve a **117gh** vs. **115ab** vegyületek kromatográfiás viselkedésének összehasonlításával tehetjük meg. Valamennyi cellulóz alapú királis állófázison nagyobb visszatartást kaptunk azon vegyületek esetén, melyek kettős kötést tartalmaztak. A nagyobb visszatartás azonban csak egyetlen szelektornál (a dimetil-fenilkarbamáttal módosított cellulóznál) párosult hatékonyabb enantiomerfelismeréssel. Tapasztalataink szerint a $-\text{CO}_2\text{Et}$ és $-\text{NHBoc}$ csoportok *cisz* vagy *transz* elrendeződése jelentős hatással van a kromatográfiás viselkedésre. A *transz* állás a legtöbb esetben nagyobb visszatartást, szelektivitást és felbontást eredményezett mind a cellulóz, mind az amilóz alapú kolonnákon. Ennek feltehetőleg az az oka, hogy a $-\text{CO}_2\text{Et}$ és $-\text{NHBoc}$ csoportok *transz* állása jobb illeszkedést biztosít mind a lineáris, mind a helikális szerkezetű poliszacharid alapú állófázis esetén. Érdeemes röviden tárgyalni a fluorszubsztitúció hatását is a szelektorral kialakuló kölcsönhatásokra. A gyűrűn elhelyezkedő fluor hatással van a polarításra és a szterikus elrendeződésre, melynek köszönhetően a szelektor és a vizsgált vegyületek közötti kölcsönhatások módosulhatnak. Az **F27. Táblázat** adatai alapján kijelenthetjük, hogy a fluorozott származékokat hatékonyabban tudták visszatartani a vizsgált állófázisok. Tapasztalataink szerint a fluorozott származékoknál a nagyobb retenció nagyobb α és R_S értékekkel járt együtt. Mindez arra enged következtetni, hogy a fluorozott analógok vélhetően H-kötés kialakítására képesek a szelektor karbamátcsoportjával.

Adataink alapján elmondható, hogy a vizsgált ciklusos β -aminosavak és fluorozott származékaik esetén a cellulóz alapú állófázisok közül a cellulóz-4-metil-benzoát volt a legkevésbé hatékony. A *trisz*-3-klór-4-metil-fenilkarbamáttal (*Cellulose-2*) illetve a *trisz*-4-klór-3-metil-fenilkarbamáttal (*Cellulose-4*) módosított oszlopokkal kapott eredményeket összevetve megfigyelhető, hogy a *Cellulose-4* kolonnán tapasztalt visszatartások

nagyobbak voltak, ám α és R_S értékei a *Cellulose-2* oszlopnál bizonyultak nagyobbak. Az eredményeink azt mutatják, hogy mind a fluorozott, mind a fluort nem tartalmazó ciklusos β -aminosavszármazékok erősebb nemszelektív kölcsönhatások kialakítására képesek a *Cellulose-4* királis állófázissal, viszont a *Cellulose-2* oszlopnál az enantioszelektív kölcsönhatások erősebbek. A cellulóz és az amilóz alapú szelektorok összehasonlításakor elmondható, hogy a retenció általában nagyobb volt az amilóz alapú oszlopokon. Az *Amylose-1* kolonna általában nagyobb szelektivitással ismerte fel az enantiomereket, mint a *Cellulose-1* oszlop. Mindez arra enged következtetni, hogy a helikális szerkezettel rendelkező amilóz alapú szelektorokkal való kölcsönhatás kedvezőbb a vizsgált modellvegyületek esetében. Összességében elmondható, hogy a ciklusos β^3 -aminosavak és fluorozott analógaik elválasztására alkalmazott hat poliszacharid alapú királis kolonna tulajdonságaik tekintetében kiegészítik egymást, hisz mindegyik rendelkezik bizonyos fokú elválasztási képességgel, és a hat közül legalább egy hatékonynak bizonyult.

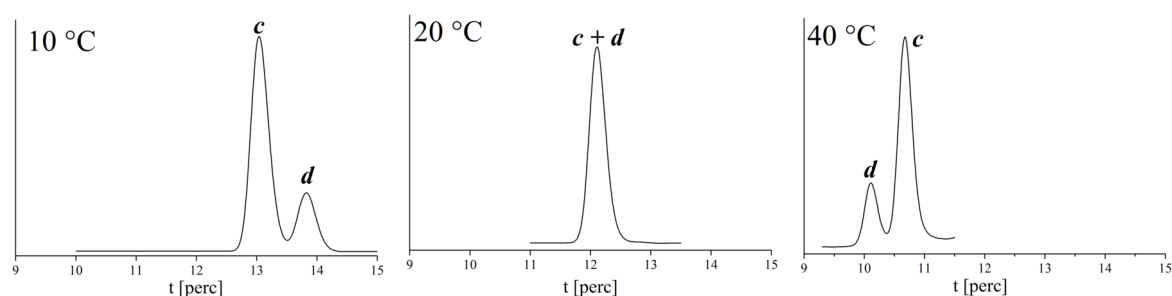
A poliszacharid alapú állófázisokat normál fázisú körülmények között vizsgálva, az alábbi általánosabb megállapítások tehetők.

- i. Különböző gyártók szilikagélen rögzített cellulóz-*trisz*-(3,5-dimetil-fenilkarbamát) szelektorral rendelkező kollonnáin 1- és 2-naftol analógok vizsgálata során a szelektorokkal kialakuló szelektív kölcsönhatásokban határozott eltérést figyeltünk meg. A tanulmányozott modellvegyületeknél a naftol alapváz és a szelektor között kialakuló kölcsönhatások meghatározóak, mindemellett az alapvázhoz kapcsolódó aromás gyűrű helyzete, illetve a gyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek minősége és helyzete is befolyásolhatja mind a retenciót, mind az enantioszelektivitást.
- ii. A sztérikus hatások különösen fontos szerepet játszanak ezen állófázis-család esetén. Naftol analógoknál az alapvázon elhelyezkedő szubsztituens mérete, míg β -laktámok esetén a laktámgyűrűhöz kapcsolódó gyűrű tagszáma befolyásolja a szelektorral kialakuló kölcsönhatásokat. Ciklusos β -aminosavszármazékok esetén a $-\text{CO}_2\text{Et}$ és $-\text{NHBoc}$ csoportok *transz* elrendeződése kedvezett mind az amilóz, mind a cellulóz alapú állófázisokkal kialakuló kölcsönhatásoknak.

5.3.3. A hőmérséklet hatása az enantioszelektív elválasztásokra poliszacharid alapú állófázisokon

A termodinamikai viselkedés jellemzőinek megismerése érdekében a poliszacharid alapú állófázisokon is vizsgáltuk a hőmérséklet hatását az elválasztásra. A makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokhoz hasonlóan, ezeknél az állófázisoknál is többségében a korábban említett megszokott viselkedést tapasztaltuk, azaz a hőmérséklet növelésével mind a visszatartás, mind az enantioszelektivitás csökkent [E32–E36]. A következők során az ettől eltérő viselkedésre mutatok be néhány példát.

Poliszacharid alapú állófázisokon több esetben is azt tapasztaltuk, hogy a hőmérséklet emelkedésével a csökkenő visszatartást növekedő enantioszelektivitás kísérte. 2-Naftolszármazékok közül a **218** vegyületnél *Lux Cellulose-1* kolonnán *n*-heptán/IPA/DEA (98/2/0,1 v/v/v) eluenssel 20 °C fölötti hőmérsékleten az enantioszelektivitás növekedett növekvő hőmérséklettel [E32]. A számolt termodinamikai jellemzők a többi 2-naftol analógtól eltérően a **218** vegyületnél entrópiavezérelt elválasztásra utaltak. Az izoeluotróp hőmérsékletek meghatározása során azt tapasztaltuk, hogy az analógok többségénél a szobahőmérséklettől jóval magasabb hőmérsékleten ($T_{iso} > 80$ °C) várható az enantiomerek együttes elúciója. Ezzel ellentétben számolásaink az izoeluotróp hőmérsékletre a **218** vegyületnél 22 °C-ot jósoltak. Amint azt a **37. ábra** szemlélteti a kísérleti tapasztalatok jó egyezést mutattak a számolt értékkel; 20 °C körüli hőmérsékleten az enantiomerek együtt eluálódtak. Alacsonyabb, illetve magasabb hőmérsékleten (ellentétes elúciós sorrenddel) az enantiomerek jól megkülönböztethetők voltak.



37. ábra

A hőmérséklet hatása a **218ab** enantiomerpár elválasztására

Kromatográfiai körülmények: kolonna: *Lux Cellulose-1*; mozgófázis: *n*-heptán/IPA/DEA (98/2/0,1 v/v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

Glicinészter analógoknál *Lux Cellulose-1* kolonnán a **185**, **187**, **189** és **190** vegyületnél, míg *Cellulose-2* kolonnán a **184** és **185** vegyületeknél megfigyeltük, hogy *n*-

heptán/IPA/DEA (80/20/0,1 v/v/v) eluens alkalmazásával a hőmérséklet növelésével növekedett az enantioszelektivitás [E33]. A **9. Táblázatban** a számolt termodinamikai jellemzőket foglaltam össze. Amint azt a termodinamikai adatok mutatják az említett vegyületeknél pozitív $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket kaptunk, ahol az entrópiatag nagyobb hozzájárulása eredményezi a negatív $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket.

9. Táblázat
Glicinészter analógok néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	<i>Cellulose-1</i>	<i>Cellulose-2</i>	<i>Cellulose-1</i>	<i>Cellulose-2</i>	<i>Cellulose-1</i>	<i>Cellulose-2</i>
182	-7,3	–	-19,6	–	-1,4	–
184	-10,1	2,1	-31,5	10,5	-0,7	-1,0
185	6,2	1,8	22,5	10,4	-0,5	-1,3
187	1,3	-1,5	5,7	-3,3	-0,4	-0,5
189	1,1	-1,6	6,3	-3,7	-0,7	-0,4
190	1,5	-1,1	8,2	-2,1	-0,9	-0,4

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-heptán/IPA/DEA (80/20/0,1 v/v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

Naftolszubsztituált tetrahydroizokinolin analógok esetén *Lux Cellulose-1* kolonnán *n*-heptán/IPA/DEA (80/20/0,1 v/v/v) eluenssel a **168**, **169**, **171** és **173** vegyület, míg a *Cellulose-2* kolonnán *n*-heptán/IPA/DEA (60/40/0,1 v/v/v) eluenssel a **169** és **174** vegyület viselkedett a szokásostól eltérően. Valamennyi említett esetben pozitív $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékeket kaptunk, a negatív $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket itt is az entrópiatag nagyobb hozzájárulása eredményezte [E34].

Lux Cellulose-1 kolonnán a tetrahydroizokinolinvázas aminoalkohol analógok közül *n*-hexán/IPA/DEA (90/10/0,1 v/v/v), *n*-hexán/EtOH/DEA (93/7/0,1 v/v/v) és *n*-hexán/ButOH/DEA (88/12/0,1 v/v/v) eluenssel a **160** vegyületnél, míg *n*-hexán/EtOH/DEA (93/7/0,1 v/v/v) eluenssel a **163** vegyületnél [E35], ciklusos β -aminosav származékok közül pedig a **114** vegyületnél *n*-hexán/IPA/DEA (95/5/0,1 v/v/v) eluenssel állapítottunk meg entrópiavezérelt elválasztást [E36].

A poliszacharid alapú kolonnákkal kapott jellemző enantioszelektív elválasztásra az **F7. ábrán** mutatok be példát.

6. Összefoglalás

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 előállítás, a királis tisztaság ellenőrzése elengedhetetlen feladat. Érthető így, hogy az utóbbi időben az enantioszelektív elválasztástechnikai módszerek fejlesztése az analitikai kémia egyik igen gyorsan fejlődő területe lett. Számos kedvező tulajdonsága miatt napjainkban erre a célra a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia az egyik legjobb választás.

Értekezésemben királis állófázisok alkalmazására épülő, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás enantioszelektív elválasztások során kapott eredményeinket mutattam be. Az eredményeket az alkalmazott állófázisok alapján csoportosítva három fejezetben tárgyaltam, az összefoglalás során is ezt a felépítést követem.

6.1. Elválasztások ioncserélő tulajdonságú állófázisokon

Ioncserélő tulajdonságú állófázisokon állandó koncentrációjú sav és bázis módosító mellett vizsgáltuk az eluensalkotó oldószerek hatását. Megállapítottuk, hogy a MeCN és a MeOH különböző arányú elegye az esetek többségében kiváló lehetőséget biztosít ionos vegyületek enantioszelektív elválasztására. A MeCN-tartalom növekedésével ikerionos állófázisokon minden vizsgált vegyületnek növekedett a visszatartása. A tapasztalt viselkedést a MeCN aprotikus karakterével, a solvatációra és az ionos kölcsönhatásokra kifejtett hatásával értelmeztük. Poláris vegyületek esetén kijelenthető, hogy a MeCN-tartalom növelése kedvez az ioncserélő tulajdonságú állófázisokkal kialakuló kölcsönhatásoknak.

Anioncserélő oszlopokon apoláris védőcsoportot tartalmazó α -aminosavaknál a MeCN-tartalom növekedésével csökkenő visszatartást észleltünk. Az anioncserélő és az ikerionos állófázisok különböző retenciós viselkedését az anioncserélő szelektor eltérő solvatációs tulajdonságával értelmeztük. Ikerionos és anioncserélő állófázisokon anionos karakterű vegyületek retenciós tulajdonságainak összevetéséből megállapítottuk, hogy az ikerionos szelektor kationcserélő funkciós csoportja taszító hatást gyakorol az elválasztandó vegyületekre, csökkentve azok visszatartását.

Az eluens MeCN-tartalmának növekedésével az enantioszelektivitás általában nőtt. Az enantioszelektivitás változását a MeCN ionos és H-híd kölcsönhatásokra gyakorolt hatásával értelmeztük. Aromás oldallánccal rendelkező ciklusos aminosavaknál a növekvő MeCN-tartalommal megfigyelt csökkenő enantioszelektivitást a MeCN az aromás oldallancok és a szelektor között kialakuló $\pi-\pi$ kölcsönhatásokra kifejtett gátló hatásával értelmeztük.

Vizsgáltuk a víz, mint eluensalkotó adalék enantioszelektív elválasztásokra kifejtett hatását. Az esetek többségében növekvő víztartalmú eluensekben jelentősen csökkenő visszatartást és kismértékben csökkenő enantioszelektivitást tapasztaltunk. Megállapítottuk, hogy kisebb (1–2 v%) víztartalmú eluens bizonyos esetekben kedvez az elválasztásnak; a retenció számottevő csökkenését csak kismértékű szelektivitáscsökkenés kíséri. A víz, mint eluensalkotó szerepét az ionos és a H-híd kölcsönhatásokra kifejtett hatásával, illetve a sav-bázis karakterek változásán keresztül értelmeztük. Nagyobb (20 v% feletti) víztartalomnál megfigyelt kisebb elúciós erősséget a retenciós mechanizmusban bekövetkező változással, a fordított fázisú elválasztásokra jellemző kölcsönhatások előtérbe kerülésével magyaráztuk.

Az ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál a mozgófázishoz adott sav és bázis módosítókkal lehetséges a retenciós tulajdonságok hangolása. Az alkalmazott sav és bázis a szolvatációs viszonyokra, a szelektor és az elválasztani kívánt vegyület ionizáltságára, illetve az ionerősségre és a sav-bázis folyamatokra egyaránt hatással lehet. Vizsgáltuk, hogy a sav és bázis aránya miként befolyásolja az elválasztást. Ikerionos szelektorokon kapott eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a retenció, a szelektivitás és a felbontás egyaránt az 1:1–2:1 sav:bázis tartományban éri el maximális értékét. A tapasztaltakat kettőscsillapár képződésén alapuló mechanizmussal értelmezni tudtuk. A HPLC körülmények között tipikusan alkalmazott pH-tartományban (3–8) mind a szelektorok, mind az általunk legtöbb esetben vizsgált aminosavak ikerionos formában vannak jelen. Nagy savfelesleg a karboxilcsoport deprotonálódását visszaszorítva, míg a bázisfelesleg az aminocsoport, illetve a szelektor anioncserélő funkciós csoportjának ionizáltságát visszaszorítva csökkenti az ionos kölcsönhatások kialakulását. Vizsgáltuk a sav és a bázis anyagi minőségének hatását az elválasztásra. A bázis anyagi minőségétől való függés tanulmányozásakor megállapítottuk, hogy a bázis anyagi minősége számottevően befolyásolja a retenciós tulajdonságokat. A visszatartásban észlelt változásokat összefüggésbe tudtuk hozni a módosítóként alkalmazott bázisok különféle szerkezeti jellemzőivel. A bázisok anyagi minősége az enantioszelektivitásra nem

gyakorolt igazán jelentős hatást. A sav, mint módosító anyagi minősége tapasztalataink szerint nem befolyásolta számottevően sem a retenciós tulajdonságokat, sem az enantioszelektivitást.

Valamennyi vizsgált ioncserélő tulajdonságú állófázison elemeztük az ellenionok koncentrációjának hatását. Megállapítottuk, hogy mindegyik szelektornál az elsőként eluálódó izomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmus a lineárisan csökken az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusával, amint azt a sztöchiometrikus helyettesítési modell jósolja. Erős kationcserélő szelektorok esetén az $\lg k - \lg c_{\text{ellenion}}$ függvény meredeksége (abszolút értékben) egy körül alakult. Anioncserélőknél apoláris csoporttal védett α -aminosavaknál 0,7 körüli meredekséget határoztunk meg. A modell által jósolt értéktől való eltérést az apoláris védőcsoport retenciós tulajdonságokra kifejtett hatásával értelmeztük. Ikerionos szelektorokat monoionos módban, kationcserélőként alkalmazva abszolút értékben 0,5–0,8 közötti, míg ikerionos modellvegyületeknél 0,2–0,3 közötti meredekségeket határoztunk meg. Megállapítottuk, hogy az ikerionos szelektorok a monoionos szelektoroktól eltérően viselkednek; az ellenionok koncentrációjától kevésbé függ a retenció. A monoionos és az ikerionos szelektorok retenciós tulajdonságainak eltérését az ikerionos szelektormolekulák ellenionhatásával értelmeztük. Megállapítottuk, hogy az ellenionok koncentrációja számottevően nem befolyásolja az enantioszelektivitást. Kijelenthető, hogy az ikerionos állófázisok retenciós tulajdonságai hangolhatók az ellenion koncentrációjának változtatásával, anélkül, hogy az észlelt enantioszelektivitás jelentősen megváltozna.

Vizsgálatainkban meghatározó szerepet játszik a szerkezet–retenciós tulajdonságok közötti összefüggések feltárása. Ikerionos szelektoroknál több fontos, általánosítható megállapítást tettünk. Az alkillánc hosszának növelése aliciklusos β^2 - és β^3 -aminosavaknál sztérikus hatásokon keresztül csökkenti a retencióért felelős kölcsönhatásokat, ellenben kedvezően hat a királis felismerésre. Alkillánccal szubsztituált 1,2,3,4-tetrahidroizokinolin analógok esetén a növekvő méretű alkillánc kedvezőtlenül befolyásolja a királis felismerést. Aromás rendszert tartalmazó aliciklusos β^2 - és β^3 -aminosavak π – π kölcsönhatás révén erősebben kötődnek az állófázishoz, de ez nem vezet hatékonyabb enantiomerfelismeréshez. Az aromás gyűrűn elhelyezkedő $-\text{OCH}_3$, $-\text{OH}$, $-\text{O}-$, illetve halogénszubsztituensek a szelektorral történő H-híd kialakításán keresztül nagyobb visszatartást eredményeznek. Metoxiszubsztituált 1,2,3,4-tetrahidroizokinolinszármazékok esetén a kialakuló H-híd pozitív hatása mind a retencióban, mind a szelektivitásban megmutatkozik. Az aromás gyűrűn lévő szubsztituensek helyzete jelentősen befolyásolja a

kromatográfiás viselkedést. A *meta* helyzetű szubsztitúcióhoz képest a feszültebb molekulaszervezetet eredményező *orto* helyzetű szubsztitúció kisebb visszatartáshoz és szelektivitáshoz vezet. Ciklusos β -aminosavak esetén a *transz* helyzet általában kedvezőbb az állófázissal való kölcsönhatás kialakítása szempontjából. Biciklusos β -aminosavak esetén az *exo-endo* és a *diexo* elhelyezkedés kedvezőbb a királis felismerés létrejöttéhez a *diendo* konfigurációhoz képest. A kettős kötés jelenléte poláris kölcsönhatásokon keresztül befolyásolhatja a visszatartást és a szelektivitást. Az ikerionos kinin és kinidin alapú állófázisokat összehasonlítva megállapítottuk, hogy általában a kinidin alapú állófázis szerkezete kedvezőbb a molekula-szelektor komplex kialakulása szempontjából, nagyobb retenciót és szelektivitást eredményezve.

A pszeudoenantiomer viszonyban levő kinin és kinidin alapú szelektorok lehetőséget biztosítanak – a minőségi és mennyiségi meghatározások során különösen fontos – elúciós sorrend megváltoztatására. Sok esetben bizonyítékkal szolgáltunk ezen tulajdonság érvényesülésére. Tanulmányoztuk az ikerionos szelektort felépítő kationos (kinuklidingyűrű) és anionos (ACHSA) alegység retenciós sorrendre kifejtett hatását. Több β -aminosav esetén is bizonyítottuk, hogy a kationcserélő ACHSA alegység konfigurációja a meghatározó az elúciós sorrend szempontjából. *transz*-Paroxetin esetén a várttal ellentétesen a ZWIX(+) és ZWIX(–) oszlopon megegyező elúciós sorrendet határoztunk meg. *In silico* kísérletekkel virtuális szelektor-enantiomer rendszereket jellemeztünk. A számításos eredmények eltértek a tapasztalt elúciós sorrendtől, rávilágítva ezzel modellszámítás korlátaira.

A hőmérséklet hatásának vizsgálatakor ioncserélő tulajdonságú állófázisoknál a visszatartást és az enantioszelektivitást figyelembe véve valamennyi elméletileg lehetséges viselkedésre találtunk példát. Értekezésemben az átlagostól eltérő viselkedéseket elemeztem. A termodinamikai paraméterek meghatározására általunk alkalmazott modell nem képes a szelektív és nonszelektív kölcsönhatások megkülönböztetésére. A számolt termodinamikai adatok alkalmazhatósági korlátait szem előtt tartva kvalitatív következtetéseket vontunk le a lejátszódó folyamatokról.

6.2. Elválasztások makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon

Makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon vizsgáltuk az alkohol, mint eluensalkotó anyagi minőségének hatását az elválasztásra. A vizsgált alkoholokat azonos moláris koncentrációban (eltérő v%-ban) alkalmazva limonénvázas β -aminosavaknál megfigyeltük, hogy ugyan a kromatográfiás jellemzők változtak az alkohol anyagi

minőségével, de közvetlen kapcsolatot nem találtunk az alkohol polaritása és a kromatográfiás viselkedés között. Több esetben is tanulmányoztuk a MeOH, mint eluensalkotó hatását az elválasztásra. Megállapítottuk, hogy a makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák RP körülmények között a megszokottól eltérően viselkedtek. Az eluens MeOH-tartalmának növekedésével nőtt a vizsgált vegyületek visszatartása. Ezt a viselkedést azzal értelmeztük, hogy a poláris aminosavak kevésbé szívesen tartózkodnak a MeOH-tartalom növekedésével egyre apolárisabbá váló eluensben. Enantioszelektivitás több esetben is csak nagyobb (60 v% feletti) MeOH-tartalom esetén alakult ki, vagyis az állófázis enantiomerfelismerő-képessége erősen függött a szolvatációs viszonyoktól. Hidrofóbabb karakterű vegyületeknél a fentiektől eltérően azt figyeltük meg, hogy a MeOH-tartalom növekedésével minimum görbe szerint változott a visszatartás. Ezekre az esetekre magyarázatként adtuk, hogy a kisebb MeOH-tartalom esetén a hidrofób–hidrofób kölcsönhatások határozzák meg a retenciót, míg nagyobb MeOH-tartalmak esetén (a PI módhoz közelítve) az elektrosztatikus kölcsönhatások kerülnek előtérbe. β -Laktámszármazékok esetén – az előzőektől eltérően – tipikus fordított fázisú viselkedést figyeltünk meg, amit a poláris funkciók csoportok hiányával, illetve szterikus hatásokkal értelmeztünk.

Az eluenst alkotó vizes fázis pH-ját változtatva tanulmányoztuk a mozgófázis pH-jának elválasztásra kifejtett hatását. A pH csökkenésével valamennyi esetben növekvő visszatartást figyeltünk meg, míg a szelektivitás és a felbontás leggyakrabban maximum görbe szerint változott. Megállapítottuk, hogy a pH csökkentése kedvez a visszatartásért felelős ionos kölcsönhatásoknak, de ezek a kölcsönhatások tipikusan nemszelektívek, az enantiomerfelismerő-képességre nem jósolható módon hatnak. Az ionos kölcsönhatások retenciós mechanizmusban betöltött szerepének jellemzésére *Chirobiotic TAG* oszlopon vizsgáltuk limonénvázas β -aminosavak elválasztását. TEAA-t alkalmazva ellenionként megállapítottuk, hogy a vizsgált teikoplanin aglikon szelektoron az $\lg k_1 - \lg c_{\text{ellenion}}$ függvények meredeksége az ikerionos állófázisokon ikerionos vegyületeknél tapasztalt meredekségekhez hasonlóan alakult. Ezzel bizonyítottuk az ionos kölcsönhatások retenciós mechanizmusban betöltött meghatározó szerepét.

Chirobiotic T és *Chirobiotic TAG* oszlopokon adott enantiomerpárra számolt szabadentalpia-változás különbségekkel jellemeztük a cukoregységek hatását az elválasztásra. Megállapítottuk, hogy a vizsgált β^2 -aminosavak, β -laktámok, ciklusos β -aminosavak és származékaik, valamint γ -aminosavak enantiomereinek többségénél a teikoplanin szelektoron lévő cukoregységek szterikus gátat jelentenek, csökkentve így az

enantiomerfelismerő-képességet. Ezzel ellentétben β^3 -aminosavaknál a cukoregységekkel való kölcsönhatás segíti az enantiomerek királis megkülönböztetését. Megállapítottuk, hogy a cukoregységek összetett szerepet játszanak a felismerés folyamatában; elfedve a makrociklusos üregeket gátolhatják a királis felismerést, másrészt viszont a cukorrészek kiralitáscentrumai illetve kölcsönható helyei segíthetik a királis megkülönböztetést.

A szerkezet és a retenciós tulajdonságok közötti összefüggéseket vizsgálva megállapítottuk, hogy a *transz*-izomerek a teikoplanin alapú szelektorokkal az esetek többségében erősebb kölcsönhatást tudtak kialakítani, de ebben a kölcsönhatásban a nemszelektív összetevők a meghatározók. A szelektorok enantiomerfelismerő-képessége *cisz*-izomerek esetén kedvezőbben alakult. Megfigyeltük, hogy β -aminosavak homológ sorozatán belül a szubsztituens alifás illetve aromás jellege nem befolyásolja számottevően a nemszelektív kölcsönhatásokat, de az aromás szubsztituens π - π kölcsönhatások kialakításán keresztül növeli a szelektív kölcsönhatások erősségét. Megállapítottuk, hogy makrociklusos antibiotikum alapú szelektoroknál a mozgófázis összetételétől függő hatások befolyásolják az enantiomerek elúciós sorrendjét.

Tanulmányoztuk a hőmérséklet enantioszelektív elválasztási folyamatokra gyakorolt hatását. Több esetben is a megszokottól eltérő viselkedést tapasztaltunk. Termodinamikai számításokkal bizonyítottuk az entrópiavezérelt folyamatok királis elválasztásban betöltött szerepét.

6.3. Elválasztások poliszacharid alapú állófázisokon

A poliszacharid alapú oszlopokon normál fázisú körülmények között vizsgáltuk az alkohol, mint eluensalkotó anyagi minőségének hatását a kromatográfiás jellemzőkre. Megállapítottuk, hogy a különböző anyagi minőségű alkoholokat állandó moláris koncentrációban alkalmazva az alkohol anyagi minősége jelentős hatást fejtett ki az elválasztásra. Összefüggést találtunk az alkoholok polaritása és a retencióra kifejtett hatásuk között; poláris karakterű vegyületeknél csökkent a visszatartás az alkohol polaritásának növekedésével. Megállapítottuk, hogy az alkohol anyagi minőségének enantiomerfelismerő-képességre kifejtett hatása összetett folyamatokon keresztül alakul ki.

Az eluens IPA-tartalmának elválasztásra gyakorolt hatását vizsgálva minden esetben normál fázisú viselkedést figyeltünk meg; a poláris módosító arányának növelése kedvez a mozgófázissal kialakuló kölcsönhatásoknak, csökken a visszatartás.

A szerkezet és a kromatográfiás adatok közötti összefüggések vizsgálatával megállapítottuk, hogy az 1-naftol analógok erősebb kölcsönhatást alakítottak ki a vizsgált cellulóz alapú állófázisokkal, de kisebb enantioszelektivitással eluálódtak, mint a 2-naftol analógok. Megfigyeltük, hogy az alapvázhoz kapcsolódó aromás gyűrű helyzete mind a retenciót, mind az enantioszelektivitást befolyásolta. Az aromás gyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek általában kisebb mértékben, de hatással voltak a kromatográfiás jellemzőkre. A szubsztituensek hatását a π -sav- π -bázis karakterre kifejtett hatással értelmeztük. Az alapvázhoz kapcsolódó alifás és aromás szubsztituensek hatását összevetve megállapítottuk, hogy a retenció szempontjából a naftolvázzal kialakuló kölcsönhatások a meghatározók. A poliszacharid alapú állófázisok enantiomerfelismerő-képességét a naftolvázon megjelenő aromás gyűrű(k) π - π kölcsönhatásokon keresztül befolyásolni tudják. A fenilszubsztituens naftilgyűrűvel történő helyettesítése mind az amilóz, mind a cellulóz alapú állófázisokon növelte az enantioszelektivitást. Növekvő méretű alkilszubsztituenssel rendelkező naftolszármazékoknál szterikus hatások fellépését igazoltuk. Lineáris kapcsolatot találtunk a szubsztituens térkitöltését jellemző Meyer-paraméter és a visszatartás, illetve az enantioszelektivitás között. β -Laktámok vizsgálatánál összefüggést figyeltünk meg a laktámgyűrűhöz kapcsolódó gyűrű mérete és a retenciós tulajdonságok között, melyet szterikus hatásokkal értelmeztünk. Az aromás gyűrű jelenlétében ennél a vegyületcsaládnál is kimutattuk a π - π kölcsönhatások szerepét. Ciklusos β -aminosavszármazékoknál a kettős kötés visszatartásra gyakorolt hatását figyeltük meg. A kettős kötést tartalmazó vegyületek erősebb kölcsönhatást alakítottak ki a cellulóz alapú állófázissal, mint a kettős kötést nem tartalmazó analógjaik. Megállapítottuk, hogy a megnövekedett kölcsönhatások főként nemszelektív összetevőkből állnak. Fluorozott β -aminosav származékoknál nagyobb visszatartást és enantioszelektivitást észleltünk. Ebből a H-híd szerepére vontunk le következtetést. Az amilóz és cellulóz alapú oszlopokon elvégzett méréseink alapján a poliszacharidláncok elválasztási mechanizmusban betöltött jelentőségéről nyertünk információt.

A hőmérséklet elválasztásra gyakorolt hatásának vizsgálatakor a vizsgált rendszerek többségénél megszokott viselkedést tapasztaltunk; a hőmérséklet növekedését csökkenő visszatartás és csökkenő enantioszelektivitás kísérte. Az ettől eltérő viselkedések termodinamikai elemzése során entrópievezérelt folyamatokat írtunk le. Példát mutattam be az irodalomban igen ritkán közölt szobahőmérséklet körüli hőmérsékleten megfigyelhető elúciós sorrend megváltozására.

7. Köszönetnyilvánítás

Tudományos pályafutásom és elért eredményeim teljes egészében a Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékéhez kötődnek. Egyetemi hallgató koromban Prof. Burger Kálmán, fiatal oktatóként Prof. Kiss Tamás, az utóbbi nénány évben Dr. Galbács Gábor tanszékvezetői támogatása jelentette azt a háttérrel, ami elengedhetetlen egy akadémiai doktori értekezés eléréséhez. Valamennyiőjüknek köszönöm, hogy eddig eljuthattam.

Egyetemi hallgatóként Prof. Dombi András vezetésével készítettem diplomamunkámat, majd PhD-ösztöndíjasként mellette ismerhettem meg az analitikai kémia legalapvetőbb szakmai fogásait. Az első külföldi tanulmányút, az első elfogadott közlemény, az első sikeres, önálló pályázat, az első műszerbeszerzések munkával teli, de eredményes, szép időszakot jelentettek, amelyre örömmel emlékezem vissza. A „*valamiből majdcsak kifizetjük*” optimizmust próbálom sosem elfelejteni. Nagyon szépen köszönöm a töretlen támogatást.

A Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék természetesen sokat változott az elmúlt negyedszázad során. Több kollégánk is örökre eltávozott, de szerencsére a tanszéki bulikon a még köztünk levőkkel fel lehet eleveníteni a „régis szép időköt”. Köszönöm valamennyi aktív és nyugdíjas tanszéki kollégámnak, hogy folyamatos támogatásukat élvezve a lehetőségekhez képest jó hangulatban telhetett el ez a több mint két évtized.

Mindannyian tudjuk, hogy egy ilyen volumenű értekezés nem születhet egyetlen ember munkájából. A háttérben számos projektmunkás, szakdolgozó, diplomamunkás és legfőképpen PhD hallgató áll. Valemennyiőjüknek köszönöm, hogy bizalmukkal megtiszteltek. Azt hiszem abban, hogy nap mint nap jó kedvvel menjen be az ember a munkahelyére, a közvetlen munkatársainak van a legfontosabb szerepe. Olyan szerencsés helyzetben voltam és vagyok, hogy csoportunk volt és jelenlegi PhD hallgatói szakmailag eredményessé, emberileg otthonossá tették ezt az időszakot. Dr. Török Rolandnak, Dr. Sipos Lászlónak, Gecse Zsanettnek, Dr. Berkecz Róbertnek, Dr. Pataj Zoltánnak, Dr. Aranyi Anitának, Dr. Grecsó Nórának, Lajkó Gyulának, Orosz Tímeának és Bajtai Attilának nagyon szépen köszönöm áldozatos munkáját és barátságát.

Pályafutásom során számos olyan kutatási projektben vettem részt, amely során a Kémiai Intézet munkatársaival együttműködve dolgozhattam. Emellett sok esetben oktatási feladatok kapcsán kértem intézeti kollégák segítségét, jegyzetírásnál szakmai lektorként, órarendkészítésnél vagy éppen bíráló bizottsági tagként tapasztalataikat megosztva

támogattak. Ezúton is köszönetemet fejezem ki valamennyi kollégának a Kémiai Intézetből. Külön köszönöm a Kémiai Intézet vezetőjének, Prof. Kónya Zoltánnak, hogy több sikeres pályázatban is részt vehettem, valamint azt, hogy szakmai pályafutásomat tevőlegesen támogatta.

Köszönöm szépen Prof. Pálinkó Istvánnak, hogy a „nulladik” változatot átnézve építő kritikával segítette az értekezés elkészítését. Nagyon szépen köszönöm Prof. Felinger Attilának és Prof. Janáky Tamásnak, hogy a dolgozat előbírálását elvállalták és értékes megjegyzéseikkel, kiegészítéseikkel segítettek a végleges változat elkészítésében.

Kutatócsoportunkat évtizedes szálak fűzik a Gyógyszerkémiai Intézethez. Az értekezésben tárgyalt anyagok jelentős részét a Prof. Fülöp Ferenc akadémikus által vezetett kutatócsoport munkatársai állították elő. A szintetikus munkán túl minden esetben fordulhattunk hozzájuk szakmai segítségért. Hasonlóan sikeres folytatásban bízva szeretném megköszönni az eddigi gyümölcsöző együttműködést.

Azt gondolom, hogy az emberi létezés alapja a család. Ugyan napjainkban a „szingli lét” meglehetősen divatos, de megfelelő családi háttér nélkül nem lehet hosszú távon sikereket elérni. Nagyon szépen köszönöm feleségemnek és lányaimnak türelmüket, támogatásukat. Ugyan szüleim már régóta nem lehetnek velünk, de azért jól esik nekik is megköszönni. Köszönöm szépen! Köszönöm testvéremnek, hogy soha nem adja fel. Andrisnak köszönöm, hogy a kultúrát még mindig próbálja belém csepegtetni.

Végezetül annak szeretném megköszönni a támogatását, aki jobban hitt az értekezés elkészülésében, mint jómagam. 2005 őszén kapcsolódtam be a Prof. Péter Antal vezette kutatócsoport munkájába. Ugyan a tudományterület nem volt teljesen új számomra, de nagyon sokat kellett tanulni ahhoz, hogy helytállhassak. Számos kutatási pályázat, több K+F feladat sikeres megvalósításán dolgoztunk együtt. Valemennyi, az értekezéshez kapcsolódó közlemény közös munkánkból született. Nagyon szépen köszönöm azt tengernyi (vagy inkább óceányi) segítséget, amit tőle kaptam. A szakmai mellett a barkács tippek is sokszor segítettek a nehéz pillanatokban.

8. 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.

9. Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb saját közlemények

- I. **I. Ilisz**, R. Berkecz, A. Péter, Application of chiral derivatizing agents in the high-performance liquid chromatographic separation of amino acid enantiomers: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47 (2008) 1.
- II. **I. Ilisz**, Z. Pataj, A. Aranyi, A. Péter, High-performance liquid chromatography of biologically important, small epimeric peptides and their L, D-amino acid content. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10 (2010) 287.
- III. **I. Ilisz**, A. Aranyi, Z. Pataj, A. Péter, Enantiomeric separation of nonproteinogenic amino acids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1269 (2012) 94.
- IV. **I. Ilisz**, A. Aranyi, Z. Pataj, A. Péter, Recent advances in the direct and indirect liquid chromatographic enantioseparation of amino acids and related compounds: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 69 (2012) 28.
- V. **I. Ilisz**, A. Aranyi, A. Péter, Chiral derivatizations applied for the separation of unusual amino acid enantiomers by liquid chromatography and related techniques. *Journal of Chromatography A*, 1269 (2013) 119.
- VI. **I. Ilisz**, A. Péter, W. Lindner, State-of-the-art enantioseparations of natural and unnatural amino acids by high-performance liquid chromatography. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 81 (2016) 11.
- VII. **I. Ilisz**, D. Tourwe, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual secondary amino acids on a D-penicillamine-based chiral ligand exchange column. *Chirality*, 18 (2006) 539.
- VIII. **I. Ilisz**, Chiral liquid chromatography: recent applications with special emphasis on the enantioseparation of amino compounds, in *Analytical separation science*, J.L. Anderson, A. Berthod, V. Pino Estevez, A.M. Stalcup, Editors. 2015, Wiley-VCH: Singapore. p. 301.
- IX. Z. Gecse, **I. Ilisz**, M. Nonn, N. Grecsó, F. Fülöp, R. Agneeswari, M.H. Hyun, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on a chiral ligand-exchange stationary phase. *Journal of Separation Science*, 36 (2013) 1335.
- X. **I. Ilisz**, G. Fodor, R. Iványi, L. Szenté, G. Tóth, A. Péter, Enantioseparation of β -methyl-substituted amino acids with cyclodextrins by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 875 (2008) 273.
- XI. **I. Ilisz**, G. Fodor, R. Berkecz, R. Iványi, L. Szenté, A. Péter, Enantioseparation of β -substituted tryptophan analogues with modified cyclodextrins by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 3360.
- XII. **I. Ilisz**, R. Iványi, Z. Pataj, J. Kupai, P. Huszthy, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, CE enantioseparation of Betti bases with cyclodextrins and crown ether as chiral selectors. *Chromatographia*, 71 (2010) S115.
- XIII. A. Aranyi, A. Péter, **I. Ilisz**, F. Fülöp, G.K.E. Scriba, Cyclodextrin-mediated enantioseparation of phenylalanine amide derivatives and amino alcohols by capillary electrophoresis-Role of complexation constants and complex mobilities. *Electrophoresis*, 35 (2014) 2848.
- XIV. A. Péter, M. Péter, **I. Ilisz**, F. Fülöp, Comparison of column performances in direct high-performance liquid chromatographic enantioseparation of 1-or 3-methyl-substituted tetrahydroisoquinoline analogs. Application of direct and indirect methods. *Biomedical Chromatography*, 19 (2005) 459.

- XV. R. Berkecz, **I. Ilisz**, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, LC enantioseparation of aryl-substituted β -lactams using variable-temperature conditions. *Chromatographia*, 63 (2006) S29.
- XVI. **I. Ilisz**, J. Sápi, D. Tourwe, D.W. Armstrong, A. Péter, LC enantioseparation of tryptophan analogs on α -cyclodextrin stationary phase. *Chromatographia*, 63 (2006) S23.
- XVII. R. Berkecz, **I. Ilisz**, A. Ivanov-Sztojkov, I. Szatmári, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, HPLC enantioseparation of 1-(α -aminobenzyl)-2-naphthol and 2-(α -aminobenzyl)-1-naphthol analogs on a β -cyclodextrin-based chiral stationary phase. *Chromatographia*, 65 (2007) 337.
- XVIII. **I. Ilisz**, R. Berkecz, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, The role of π -acidic and π -basic chiral stationary phases in the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual β -amino acids. *Chirality*, 21 (2009) 339.
- XIX. G. Fodor, **I. Ilisz**, J. Szemán, R. Iványi, L. Szenté, G. Varga, E. Forró, F. Fülöp, A. Péter, LC enantioseparation of β -lactam stereoisomers through the use of β -cyclodextrin-based chiral stationary phases. *Chromatographia*, 71 (2010) S29.
- XX. G. Varga, G. Fodor, **I. Ilisz**, J. Szemán, J. Visy, L. Szenté, A. Péter, Comparison of separation performances of novel β -cyclodextrin-based chiral stationary phases in high-performance liquid chromatographic enantioseparation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70 (2012) 71.
- XXI. A. Aranyi, A. Bagi, **I. Ilisz**, Z. Pataj, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of amino compounds on newly developed cyclofructan-based chiral stationary phases. *Journal of Separation Science*, 35 (2012) 617.
- XXII. A. Aranyi, **I. Ilisz**, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of Betti base analogs on a newly developed isopropyl carbamate-cyclofructan6-based chiral stationary phase. *Chirality*, 23 (2011) 549.
- XXIII. **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.
- XXIV. R. Berkecz, A. Sztojkov-Ivanov, **I. Ilisz**, E. Forró, F. Fülöp, M.H. Hyun, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of β -amino acid stereoisomers on a (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1125 (2006) 138.
- XXV. R. Berkecz, **I. Ilisz**, F. Fülöp, Z. Pataj, M.H. Hyun, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of β^3 -homo-amino acid stereoisomers on a (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1189 (2008) 285.
- XXVI. R. Berkecz, **I. Ilisz**, Z. Patai, F. Fülöp, H.J. Choi, M.H. Hyun, A. Péter, LC enantioseparation of β -amino acids on a crown ether-based stationary phase. *Chromatographia*, 68 (2008) S13.
- XXVII. R. Berkecz, **I. Ilisz**, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, H.J. Choi, M.H. Hyun, A. Péter, HPLC enantioseparation of β^2 -homoamino acids using crown ether-based chiral stationary phase. *Journal of Separation Science*, 32 (2009) 981.
- XXVIII. **I. Ilisz**, Z. Pataj, R. Berkecz, A. Misicka, D. Tymecka, F. Fülöp, H.J. Choi, M.H. Hyun, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of β^2 -

- amino acids using a long-tethered (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 1075.
- XXIX. L. Sipos, **I. Ilisz**, A. Aranyi, Z. Gecse, M. Nonn, F. Fülöp, M.H. Hyun, A. Péter, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phases. *Chirality*, 24 (2012) 817.
- XXX. **I. Ilisz**, R. Berkecz, A. Péter, HPLC separation of amino acid enantiomers and small peptides on macrocyclic antibiotic-based chiral stationary phases: A review. *Journal of Separation Science*, 29 (2006) 1305.
- XXXI. **I. Ilisz**, R. Berkecz, A. Péter, Retention mechanism of high-performance liquid chromatographic enantioseparation on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 1845.
- XXXII. **I. Ilisz**, Z. Pataj, A. Aranyi, A. Péter, Macrocyclic antibiotic selectors in direct HPLC enantioseparations. *Separation and Purification Reviews*, 41 (2012) 207.
- XXXIII. G. Lajkó, **I. Ilisz**, G. Tóth, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter, Application of *Cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases in supercritical fluid chromatography for the enantioseparation of *N*- α -protected proteinogenic amino acids. *Journal of Chromatography A*, 1415 (2015) 134.
- XXXIV. A. Aranyi, **I. Ilisz**, A. Péter, F. Fülöp, C. West, Exploring the enantioseparation of amino-naphthol analogues by supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1387 (2015) 123.

10. Irodalomjegyzék

1. I. Huber, *Gyógyszerészi sztereokémia ismeretek*. 2013. 327.
2. FDA's policy statement for the development of new stereoisomeric drugs. *Chirality*, 4 (1992) 338.
3. J.J. Berzelius, Composition de l'acide tartrique et de l'acide racémique (traubensaure). *Annales de Chimie et de Physique*, 46 (1831) 113.
4. S. Mauskopf, A history of chirality, in *Chiral Analysis*, K.W. Busch, M.A. Busch, Editors. 2006, Elsevier: Netherlands. p. 3.
5. J. Gal, When did Louis Pasteur present his memoir on the discovery of molecular chirality to the Academie Des Sciences? Analysis of a discrepancy. *Chirality*, 20 (2008) 1072.
6. L. Kelvin, *Baltimore Lectures*, (1884) 436.
7. L.H. Easson, E. Stedman, Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action: Molecular dissymmetry and physiological activity. *Biochemical Journal*, 27 (1933) 1257.
8. A.G. Ogston, Interpretation of experiments on metabolic processes, using isotopic tracer elements. *Nature*, 162 (1948) 963.
9. C.E. Dalgliesh, The optical resolution of aromatic amino-acids on paper chromatograms. *Journal of the Chemical Society*, 137 (1952) 3940.
10. P.E. Wilcox, C. Heidelberger, R.V. Potter, Chemical preparation of asymmetrically labeled citric acid. *Journal of American Chemical Society*, 72 (1950) 5019.
11. R.J. Baczuk, G.K. Landram, R.J. Dubois, H.C. Dehm, Liquid chromatographic resolution of racemic β -3,4-dihydroxyphenylalanine. *Journal of Chromatography*, 60 (1971) 351.
12. R.S. Cahn, C. Ingold, V. Prelog, Specification of molecular chirality. *Angewandte Chemie International Edition*, 5 (1966) 385.
13. C.H. Lochmuller, R.W. Souter, Chromatographic separation of enantiomers. Selective review. *Journal of Chromatography*, 113 (1975) 283.
14. W.H. Pirkle, T.C. Pochapsky, Considerations of chiral recognition relevant to the liquid-chromatographic separation of enantiomers. *Chemical Reviews*, 89 (1989) 347.
15. V.A. Davankov, The nature of chiral recognition: Is it a three-point interaction? *Chirality*, 9 (1997) 99.
16. M. Lämmerhofer, Chiral recognition by enantioselective liquid chromatography: Mechanisms and modern chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 814.
17. G.K.E. Scriba, Chiral recognition mechanisms in analytical separation sciences. *Chromatographia*, 75 (2012) 815.
18. G.K.E. Scriba, Chiral recognition in separation science: An overview, in *Chiral Separations. Methods and protocols*, G.K.E. Scriba, Editor. 2013, Humana Press. p. 1.
19. Y. Xie, G.M. Alexander, R.J. Schwartzman, N. Singh, M.C. Torjman, M.E. Goldberg, I.W. Wainer, R. Moaddel, Development and validation of a sensitive LC-MS/MS method for the determination of D-serine in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 89 (2014) 1.
20. K. Inoue, D. Hosaka, N. Mochizuki, H. Akatsu, K. Tsutsumiuchi, Y. Hashizume, N. Matsukawa, T. Yamamoto, T. Toyo'oka, Simultaneous determination of post-translational racemization and isomerization of N-terminal amyloid-beta in

- Alzheimer's brain tissues by covalent chiral derivatized ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 86 (2014) 797.
21. T. Mochizuki, K. Todoroki, K. Inoue, J.Z. Min, T. Toyo'oka, Isotopic variants of light and heavy L-pyroglutamic acid succinimidyl esters as the derivatization reagents for DL-amino acid chiral metabolomics identification by liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 811 (2014) 51.
 22. E. Gil-Av, B. Feibush, R. Charles-Sigler, Separation of enantiomers by gas-liquid chromatography with an optically active stationary phase. *Tetrahedron Letters*, 7 (1966) 1009.
 23. V.A. Davankov, S.V. Rogzhin, Ligand chromatography as a novel method for the investigation of mixed complexes: stereoselective effects in amino acid copper (II) complexes. *Journal of Chromatography*, 60 (1971) 280.
 24. S.V. Rogzhin, V.A. Davankov, Ligand chromatography on asymmetric complex-forming sorbents as a new method for resolution of racemates. *Journal of Chemical Society D: Chemical Communications*, (1971) 490.
 25. C. Roussel, P. Piras, I. Heitmann, An approach to discriminating 25 commercial chiral stationary phases from structural data sets extracted from a molecular database. *Biomedical Chromatography*, 11 (1997) 311.
 26. D.C. Patel, Z.S. Breitbach, M.F. Wahab, C.L. Barhate, D.W. Armstrong, Gone in seconds: Praxis, performance, and peculiarities of ultrafast chiral liquid chromatography with superficially porous particles. *Analytical Chemistry*, 87 (2015) 9137.
 27. A. Cavazzini, N. Marchetti, R. Guzzinati, M. Pierini, A. Ciogli, D. Kotoni, I. D'Acquarica, C. Villani, F. Gasparrini, Enantioseparation by ultra-high-performance liquid chromatography. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 63 (2014) 95.
 28. B. Feibush, Chiral separation of enantiomers via selector/selectand hydrogen bondings. *Chirality*, 10 (1998) 382.
 29. S. Ma, S. Shen, H. Lee, M. Eriksson, X. Zeng, J. Xu, K. Fandrick, N. Yee, C. Senanayake, N. Grinberg, Mechanistic studies on the chiral recognition of polysaccharide-based chiral stationary phases using liquid chromatography and vibrational circular dichroism Reversal of elution order of N-substituted alpha-methyl phenylalanine esters. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 3784.
 30. M.G. Schmid, K. Schreiner, D. Reisinger, G. Gubitz, Fast chiral separation by ligand-exchange HPLC using a dynamically coated monolithic column. *Journal of Separation Science*, 29 (2006) 1470.
 31. B. Natalini, R. Sardella, A. Macchiarulo, R. Pellicciari, S-Trityl-(R)-cysteine, a powerful chiral selector for the analytical and preparative ligand-exchange chromatography of amino acids. *Journal of Separation Science*, 31 (2008) 696.
 32. Q.H. Wan, P.N. Shaw, M.C. Davies, D.A. Barrett, Chiral chromatography of amino acids on porous graphitic carbon coated with a series of N-substituted L-phenylalanine selectors - Effect of the anchor molecule on enantioselectivity. *Journal of Chromatography A*, 765 (1997) 187.
 33. B. Natalini, R. Sardella, R. Pellicciari, O-benzyl-(S)-serine, a new chiral selector for ligand-exchange chromatography of amino acids. *Current Analytical Chemistry*, 1 (2005) 85.
 34. M.H. Hyun, S.C. Han, C.W. Lee, Y.K. Lee, Preparation and application of a new ligand exchange chiral stationary phase for the liquid chromatographic resolution of alpha-amino acid enantiomers. *Journal of Chromatography A*, 950 (2002) 55.

35. B. Natalini, R. Sardella, A. Macchiarulo, M. Marinozzi, E. Camaioni, R. Pellicciari, Mechanistic aspects and applications of chiral ligand-exchange chromatography, in *Advances in chromatography, Volume 49*, E. Grushka, N. Grinberg, Editors. 2011, CRC Press: USA. p. 71.
36. T. Alizadeh, A.N. Shamkhali, Chiral resolution of salbutamol in plasma sample by a new chiral ligand-exchange chromatography method after its extraction with nano-sized imprinted polymer. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1009 (2016) 96.
37. R. Sardella, F. Ianni, A. Lisanti, S. Scorzoni, M. Marinozzi, B. Natalini, S-Trityl-(R)-cysteine, a multipurpose chiral selector for ligand-exchange liquid chromatography applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45 (2015) 323.
38. D.X. Jia, Z.G. Ai, Y.P. Xue, Y.G. Zheng, Chiral ligand-exchange high-performance liquid chromatography with copper (II)-L-phenylalanine complexes for separation of 3,4-dimethoxy- α -methylphenylalanine racemes (vol 406, pg 7687, 2014). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407 (2015) 5857.
39. F. Karush, The interaction of optically isomeric dyes with human serum albumin. *Journal of American Chemical Society*, 76 (1954) 5536.
40. K.K. Stewart, R.F. Doherty, Resolution of DL-tryptophan by affinity chromatography on bovine-serum albumin-agarose columns. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 70 (1973) 2850.
41. S.G. Allenmark, S. Andersson, Proteins and peptides as chiral selectors in liquid-chromatography. *Journal of Chromatography A*, 666 (1994) 167.
42. D.W. Armstrong, W. Demond, Cyclodextrin bonded phases for the liquid-chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers. *Journal of Chromatographic Science*, 22 (1984) 411.
43. D.W. Armstrong, W. Demond, B.P. Czech, Separation of metallocene enantiomers by liquid-chromatography - chiral recognition via cyclodextrin bonded phases. *Analytical Chemistry*, 57 (1985) 481.
44. D.W. Armstrong, T.J. Ward, R.D. Armstrong, T.E. Beesley, Separation of drug stereoisomers by the formation of beta-cyclodextrin inclusion complexes. *Science*, 232 (1986) 1132.
45. B. Chankvetadze, N. Burjanadze, D.M. Maynard, K. Bergander, D. Bergenthal, G. Blaschke, Comparative enantioseparations with native beta-cyclodextrin and heptakis-(2-O-methyl-3,6-di-O-sulfo)-beta-cyclodextrin in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 23 (2002) 3027.
46. A.C. Servais, A. Rousseau, M. Fillet, K. Lomsadze, A. Salgado, J. Crommen, B. Chankvetadze, Separation of propranolol enantiomers by CE using sulfated beta-CD derivatives in aqueous and non-aqueous electrolytes: Comparative CE and NMR study. *Electrophoresis*, 31 (2010) 1467.
47. M. Wedig, S. Laug, T. Christians, M. Thunhorst, U. Holzgrabe, Do we know the mechanism of chiral recognition between cyclodextrins and analytes? *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 27 (2002) 531.
48. D.W. Armstrong, L.W. Chang, S.C. Chang, X. Wang, H. Ibrahim, G.R. Reid, T.E. Beesley, Comparison of the enantioselectivity of beta-cyclodextrin vs. heptakis-2,3-O-dimethyl-beta-cyclodextrin LC stationary phases. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 20 (1997) 3279.
49. P. Sun, D.W. Armstrong, Effective enantiomeric separations of racemic primary amines by the isopropyl carbamate-cyclofructan6 chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 4904.

50. P. Sun, C.L. Wang, Z.S. Breitbach, Y. Zhang, D.W. Armstrong, Development of new HPLC chiral stationary phases based on native and derivatized cyclodextrins. *Analytical Chemistry*, 81 (2009) 10215.
51. C.J. Pedersen, Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. *Journal of American Chemical Society*, 89 (1967) 7017.
52. G.D.Y. Sogah, D.J. Cram, Host-guest complexation. 14. Host covalently bound to polystyrene resin for chromatographic resolution of enantiomers of amino acid and ester salts. *Journal of the American Chemical Society*, 101 (1979) 3035.
53. M.H. Hyun, J.S. Jin, W. Lee, A new HPLC chiral stationary phase for the direct resolution of racemic quinolone antibacterials containing a primary amino group. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 19 (1998) 819.
54. Y. Machida, H. Nishi, K. Nakamura, H. Nakai, T. Sato, Enantiomer separation of amino compounds by a novel chiral stationary phase derived from crown ether. *Journal of Chromatography A*, 805 (1998) 85.
55. M.H. Hyun, Enantioseparations of primary amino compounds by high-performance liquid chromatography using chiral crown ether-based chiral stationary phases, in *Chiral separations. Methods and protocols*, G.K.E. Scriba, Editor. 2013, Humana Press. p. 165.
56. M.H. Hyun, Y.J. Cho, Y. Song, H.J. Choi, B.S. Kang, Preparation and application of a new doubly tethered chiral stationary phase containing N-CH₃ amide linkage based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid. *Chirality*, 19 (2007) 74.
57. W.H. Pirkle, D.W. House, Chiral high-pressure liquid-chromatographic stationary phases. 1. Separation of the enantiomers of sulfoxides, amines, amino-acids, alcohols, hydroxy-acids, lactones, and mercaptans. *Journal of Organic Chemistry*, 44 (1979) 1957.
58. R. Sabia, M. Martino, A. Cavazzini, C. Villani, Dynamic behavior of clobazam on high-performance liquid chromatography chiral stationary phases. *Chirality*, 28 (2016) 17.
59. J.J. Yu, M.H. Hyun, D.W. Armstrong, Z.S. Breitbach, J.J. Ryoo, Liquid chromatographic resolution of racemic 2-oxazolidinones and their analogs on seven Pirkle-type chiral stationary phases. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 36 (2015) 723.
60. V.S. Sharp, J.D. Stafford, R.A. Forbes, M.A. Gokey, M.R. Cooper, Stereoselective high-performance liquid chromatography and analytical method characterization of evacetrapi using a brush-type chiral stationary phase: A challenging isomeric separation requiring a unique eluent system. *Journal of Chromatography A*, 1363 (2014) 183.
61. F. Gasparrini, D. Misiti, R. Rompietti, C. Villani, New hybrid polymeric liquid chromatography chiral stationary phase prepared by surface-initiated polymerization. *Journal of Chromatography A*, 1064 (2005) 25.
62. E. Yashima, H. Iida, Y. Okamoto, Enantiomeric differentiation by synthetic helical polymers. *Differentiation of Enantiomers I*, 340 (2013) 41.
63. J. Shen, Y. Okamoto, Efficient separation of enantiomers using stereoregular chiral polymers. *Chemical Reviews*, 116 (2016) 1094.
64. M. Yan, O. Ramström, *Molecularly imprinted materials*. 2005, New York: Marcel Dekker.
65. R. Gutierrez-Climente, A. Gomez-Caballero, M. Halhalli, B. Sellergren, M.A. Goicolea, R.J. Barrio, Iniferter-mediated grafting of molecularly imprinted polymers on porous silica beads for the enantiomeric resolution of drugs. *Journal of Molecular Recognition*, 29 (2016) 106.

66. S. Izumoto, U. Sakaguchi, H. Yoneda, Chromatographic study of optical resolution. 10. Stereochemical aspects of the optical resolution of cis(N)-[Co(N)₂(O)₄]-complexes by reversed-phase ion-pair chromatography with Cinchona alkaloid cations as the ion-pairing reagents. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 56 (1983) 1646.
67. C. Pettersson, Chromatographic-separation of enantiomers of acids with Quinine as chiral counter ion. *Journal of Chromatography*, 316 (1984) 553.
68. C. Rosini, C. Bertucci, D. Pini, P. Altemura, P. Salvadori, Cinchona alkaloids for preparing new, easily accessible chiral stationary phases. 1. 11-(10,11-Dihydro-6'-methoxy-cinchonan-9-Ol)-tiopropylsilanized silica. *Tetrahedron Letters*, 26 (1985) 3361.
69. M. Lämmerhofer, W. Lindner, Quinine and quinidine derivatives as chiral selectors .1. Brush type chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography based on cinchonan carbamates and their application as chiral anion exchangers. *Journal of Chromatography A*, 741 (1996) 33.
70. C.V. Hoffmann, M. Lämmerhofer, W. Lindner, Novel strong cation-exchange type chiral stationary phase for the enantiomer separation of chiral amines by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1161 (2007) 242.
71. D. Wolrab, P. Fruhauf, M. Kohout, W. Lindner, Click chemistry immobilization strategies in the development of strong cation exchanger chiral stationary phases for HPLC. *Journal of Separation Science*, 36 (2013) 2826.
72. C.V. Hoffmann, R. Pell, M. Lämmerhofer, W. Lindner, Synergistic effects on enantioselectivity of zwitterionic chiral stationary phases for separations of chiral acids, bases, and amino acids by HPLC. *Analytical Chemistry*, 80 (2008) 8780.
73. C.V. Hoffmann, R. Reischl, N.M. Maier, M. Lämmerhofer, W. Lindner, Investigations of mobile phase contributions to enantioselective anion- and zwitterion-exchange modes on quinine-based zwitterionic chiral stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 1157.
74. C.V. Hoffmann, R. Reischl, N.M. Maier, M. Lämmerhofer, W. Lindner, Stationary phase-related investigations of quinine-based zwitterionic chiral stationary phases operated in anion-, cation-, and zwitterion-exchange modes. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 1147.
75. T. Zhang, E. Holder, P. Franco, W. Lindner, Method development and optimization on cinchona and chiral sulfonic acid-based zwitterionic stationary phases for enantiomer separations of free amino acids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1363 (2014) 191.
76. F. Ianni, A. Carotti, M. Marinozzi, G. Marcelli, A. Di Michele, R. Sardella, W. Lindner, B. Natalini, Diastereo- and enantioseparation of a N- α -Boc amino acid with a zwitterionic quinine-based stationary phase: Focus on the stereorecognition mechanism. *Analytica Chimica Acta*, 885 (2015) 174.
77. F. Ianni, Z. Pataj, H. Gross, R. Sardella, B. Natalini, W. Lindner, M. Lämmerhofer, Direct enantioseparation of underivatized aliphatic 3-hydroxyalkanoic acids with a quinine-based zwitterionic chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1363 (2014) 101.
78. R.J. Reischl, W. Lindner, The stereoselective separation of serine containing peptides by zwitterionic ion exchanger type chiral stationary phases and the study of serine racemization mechanisms by isotope exchange and tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 116 (2015) 123.

79. F. Ianni, R. Sardella, A. Carotti, B. Natalini, W. Lindner, M. Lammerhofer, Quinine-Based Zwitterionic Chiral Stationary Phase as a Complementary Tool for Peptide Analysis: Mobile Phase Effects on Enantio- and Stereoselectivity of Underivatized Oligopeptides. *Chirality*, 28 (2016) 5.
80. D. Wolrab, P. Fruhauf, C. Gerner, M. Kohout, W. Lindner, Consequences of transition from liquid chromatography to supercritical fluid chromatography on the overall performance of a chiral zwitterionic ion-exchanger. *Journal of Chromatography A*, 1517 (2017) 165.
81. D.W. Armstrong, Y.B. Tang, S.S. Chen, Y.W. Zhou, C. Bagwill, J.R. Chen, Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid-chromatography. *Analytical Chemistry*, 66 (1994) 1473.
82. G.K. Best, N.H. Best, N.N. Durham, Chromatographic separation of the vancomycin complex. *Antimicrob Agents Chemother (Bethesda)*, 8 (1968) 115.
83. J.C.J. Barna, D.H. Williams, D.J.M. Stone, T.W.C. Leung, D.M. Doddrell, Structure elucidation of the teicoplanin antibiotics. *Journal of the American Chemical Society*, 106 (1984) 4895.
84. A. Berthod, X.H. Chen, J.P. Kullman, D.W. Armstrong, F. Gasparrini, I. D'Acquarica, C. Villani, A. Carotti, Role of the carbohydrate moieties in chiral recognition on teicoplanin-based LC stationary phases. *Analytical Chemistry*, 72 (2000) 1767.
85. D.C. Jordan, Ristocetin, in *Antibiotics*, D. Gottlieb, P. Shaw, Editors. 1967, Springer: New York. p. 84.
86. M. Kotake, T. Sakan, N. Nakamura, S. Senoh, Resolution into optical isomers of some amino acids by paper chromatography. *Journal of American Chemical Society*, 73 (1951) 2973.
87. A. Lüttringhaus, U. Hess, H.J. Rosenbaum, Conformational enantiomerism. I. Optically active 4,5,6,7-dibenzo-1,2-dithiacyclooctadiene. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 22 (1967) 1296.
88. G. Hesse, R. Hagel, A complete separation of a racemic mixture by elution chromatography on cellulose triacetate. *Chromatographia*, 6 (1973) 277.
89. Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, Useful chiral packing materials for high-performance liquid-chromatographic resolution of enantiomers - phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica-gel. *Journal of the American Chemical Society*, 106 (1984) 5357.
90. E. Francotte, R.M. Wolf, D. Lohmann, R. Mueller, Chromatographic resolution of racemates on chiral stationary phases. 1. Influence of the supramolecular structure of cellulose triacetate. *Journal of Chromatography*, 347 (1985) 25.
91. H. Chen, C. Horvath, High-speed high-performance liquid-chromatography of peptides and proteins. *Journal of Chromatography A*, 705 (1995) 3.
92. A. Péter, G. Török, D.W. Armstrong, G. Tóth, D. Tourwe, Effect of temperature on retention of enantiomers of beta-methyl amino acids on a teicoplanin chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 828 (1998) 177.
93. T.L. Chester, J.W. Coym, Effect of phase ratio on van't Hoff analysis in reversed-phase liquid chromatography, and phase-ratio-independent estimation of transfer enthalpy. *Journal of Chromatography A*, 1003 (2003) 101.
94. W.H. Pirkle, P.G. Murray, An Instance of temperature-dependent elution order of enantiomers from a chiral brush-type HPLC column. *Hrc-Journal of High Resolution Chromatography*, 16 (1993) 285.
95. B.X. Yao, F.P. Zhan, G.Y. Yu, Z.F. Chen, W.J. Fan, X.P. Zeng, Q.L. Zeng, W. Weng, Temperature-induced inversion of elution order in the chromatographic

- enantioseparation of 1,1'-bi-2-naphthol on an immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 5429.
96. V. Schurig, J. Ossig, R. Link, Evidence for a temperature-dependent reversal of the enantioselectivity in complexation gas-chromatography on chiral phases. *Angewandte Chemie-International Edition in English*, 28 (1989) 194.
 97. G. Gotmar, T. Fornstedt, G. Guiochon, Retention mechanism of beta-blockers on an immobilized cellulase. Relative importance of the hydrophobic and ionic contributions to their enantioselective and nonselective interactions. *Analytical Chemistry*, 72 (2000) 3908.
 98. T. Fornstedt, G. Gotmar, M. Andersson, G. Guiochon, Dependence on the mobile-phase pH of the adsorption behavior of propranolol enantiomers on a cellulase protein used as the chiral selector. *Journal of the American Chemical Society*, 121 (1999) 1164.
 99. A. Berthod, Chiral recognition mechanisms. *Analytical Chemistry*, 78 (2006) 2093.
 100. G. Gotmar, T. Fornstedt, G. Guiochon, Apparent and true enantioselectivity in enantioseparations. *Chirality*, 12 (2000) 558.
 101. T. Fornstedt, P. Sajonz, G. Guiochon, A closer study of chiral retention mechanisms. *Chirality*, 10 (1998) 375.
 102. J. Samuelsson, R. Arnell, T. Fornstedt, Potential of adsorption isotherm measurements for closer elucidating of binding in chiral liquid chromatographic phase systems. *Journal of Separation Science*, 32 (2009) 1491.
 103. T. Fornstedt, Characterization of adsorption processes in analytical liquid-solid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 792.
 104. L. Asnin, K. Kaumarski, A. Felinger, F. Gritti, G. Guiochon, Adsorption of the enantiomers of 3-chloro-1-phenyl-propanol on silica-bonded chiral quinidine carbamate. *Journal of Chromatography A*, 1101 (2006) 158.
 105. A. Felinger, D.M. Zhou, G. Guiochon, Determination of the single component and competitive adsorption isotherms of the 1-indanol enantiomers by the inverse method. *Journal of Chromatography A*, 1005 (2003) 35.
 106. Y. Okamoto, T. Ikai, Chiral HPLC for efficient resolution of enantiomers. *Chemical Society Reviews*, 37 (2008) 2593.
 107. S. Görög, Diastereomeric derivatization for chromatography, in *Comprehensive Chirality*, E.M. Carreira, H. Yamamoto, Editors. 2012, Elsevier. p. 311.
 108. R. Bhushan, J. Martens, *Amino acids: chromatographic separation and enantioresolution*. 2010, New York: HNB Publishing.
 109. A. Péter, E. Vékes, A. Árki, D. Tourwe, W. Lindner, Direct high-performance liquid chromatographic enantioseparation of alpha-substituted proline analogues on a quinine-derived chiral anionexchanger stationary phase. *Journal of Separation Science*, 26 (2003) 1125.
 110. A. Péter, G. Török, E. Vékes, J. Van Betsbrugge, D. Tourwe, HPLC separation of enantiomers of alpha-substituted proline analogues by the application of (S)-N-(4-nitrophenoxycarbonyl)phenylalanine methoxyethyl ester as chiral derivatizing agent. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27 (2004) 17.
 111. A. Péter, R. Török, D.W. Armstrong, Direct high-performance liquid chromatographic separation of unusual secondary amino acids and a comparison of the performances of Chirobiotic T and TAG columns. *Journal of Chromatography A*, 1057 (2004) 229.
 112. A. Péter, E. Vékes, D.W. Armstrong, D. Tourwe, Enantioseparation by HPLC of imino acids on macrocyclic glycopeptide stationary phases and as their (S)-N-(4-

- nitrophenoxycarbonyl)phenylalanine methoxyethyl ester derivatives. *Chromatographia*, 56 (2002) S41.
113. E. Juaristi, V.A. Soloshonok, *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids (2nd edition)*. 2005, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
 114. D. Seebach, K. Gademann, J.V. Schreiber, J.L. Matthews, T. Hintermann, B. Jaun, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, 'Mixed' beta-peptides: A unique helical secondary structure in solution. *Helvetica Chimica Acta*, 80 (1997) 2033.
 115. T. Hintermann, D. Seebach, Synthesis of a beta-hexapeptide from (R)-2-aminomethyl-alkanoic acids and structural investigations. *Synlett*, (1997) 437.
 116. L. Kiss, F. Fülöp, Synthesis of carbocyclic and heterocyclic beta-aminocarboxylic acids. *Chemical Reviews*, 114 (2014) 1116.
 117. D.F. Hook, F. Gessier, C. Noti, P. Kast, D. Seebach, Probing the proteolytic stability of beta-peptides containing alpha-fluoro- and alpha-hydroxy-beta-amino acids. *Chembiochem*, 5 (2004) 691.
 118. M.I. Aguilar, A.W. Purcell, R. Devi, R. Lew, J. Rossjohn, A.I. Smitha, P. Perlmutter, beta-Amino acid-containing hybrid peptides - new opportunities in peptidomimetics. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 5 (2007) 2884.
 119. M.H. Hyun, Y.J. Cho, J.S. Jin, Liquid chromatographic direct resolution of beta-amino acids on a chiral crown ether stationary phase. *Journal of Separation Science*, 25 (2002) 648.
 120. M.H. Hyun, S.C. Han, S.H. Whangbo, Liquid chromatographic separation of the enantiomers of beta-amino acids on a ligand exchange chiral stationary phase. *Biomedical Chromatography*, 17 (2003) 292.
 121. M.H. Hyun, S.C. Han, S.H. Whangbo, New ligand exchange chiral stationary phase for the liquid chromatographic resolution of alpha- and beta-amino acids. *Journal of Chromatography A*, 992 (2003) 47.
 122. M.H. Hyun, D.H. Kim, Spacer length effect of a chiral stationary phase based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11, 12-tetracarboxylic acid. *Chirality*, 16 (2004) 294.
 123. M.H. Hyun, H.J. Choi, B.S. Kang, G. Tan, Y.J. Cho, Resolution of beta-amino acids on a chiral stationary phase based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid without extra free aminopropyl groups on silica surface: the effect of ammonium ion mobile phase modifier on the resolution behaviors. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 27 (2006) 1775.
 124. M.H. Hyun, Y. Song, Y.J. Cho, H.J. Choi, Resolution of beta-amino acids on a high performance liquid chromatographic doubly tethered chiral stationary phase containing N-CH₃ amide linkage based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid. *Journal of Separation Science*, 30 (2007) 2539.
 125. I. D'Acquarica, F. Gasparrini, D. Misiti, G. Zappia, C. Cimarrelli, G. Palmieri, A. Carotti, S. Cellamare, C. Villani, Application of a new chiral stationary phase containing the glycopeptide antibiotic A-40,926 in the direct chromatographic resolution of beta-amino acids. *Tetrahedron-Asymmetry*, 11 (2000) 2375.
 126. A. Árki, D. Tourwe, M. Solymár, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, High-performance liquid chromatographic separation of Stereoisomers of beta-amino acids and a comparison of separation efficiencies on Chirobiotic T and TAG columns. *Chromatographia*, 60 (2004) S43.
 127. A. Péter, A. Árki, E. Vékes, D. Tourwe, L. Lázár, F. Fülöp, D.W. Armstrong, Direct and indirect high-performance liquid chromatographic enantioseparation of beta-amino acids. *Journal of Chromatography A*, 1031 (2004) 171.

128. A. Péter, L. Lázár, F. Fülöp, D.W. Armstrong, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of beta-amino acids. *Journal of Chromatography A*, 926 (2001) 229.
129. A. Sztojkov-Ivanov, L. Lázár, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, Comparison of separation efficiency of macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases for the LC enantioseparation of beta-amino acids. *Chromatographia*, 64 (2006) 89.
130. S.P. Gupta, QSAR studies on hydroxamic acids: A fascinating family of chemicals with a wide spectrum of activities. *Chemical Reviews*, 115 (2015) 6427.
131. R. Codd, Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. *Coordination Chemistry Reviews*, 252 (2008) 1387.
132. J.H. Jiang, A. Thyagarajan-Sahu, V. Krchnak, A. Jedinak, G.E. Sandusky, D. Sliva, NAHA, a novel hydroxamic acid-derivative, inhibits growth and angiogenesis of breast cancer in vitro and in vivo. *Plos One*, 7 (2012) 1.
133. M.Z. Koncic, M. Barbaric, I. Perkovic, B. Zorc, Antiradical, chelating and antioxidant activities of hydroxamic acids and hydroxyureas. *Molecules*, 16 (2011) 6232.
134. K.A. Zarembek, A.R. Cruz, C.Y. Huang, J.I. Gallin, Antifungal activities of natural and synthetic iron chelators alone and in combination with azole and polyene antibiotics against *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53 (2009) 2654.
135. P.J. Connolly, S.K. Wetter, K.N. Beers, S.C. Hamel, R.H.K. Chen, M.P. Wachter, J. Ansell, M.M. Singer, M. Steber, D.M. Ritchie, D.C. Argentieri, N-hydroxyurea and hydroxamic acid inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 (1999) 979.
136. K. Tanaka, K. Matsuo, A. Nakanishi, T. Hatano, H. Izei, Y. Ishida, W. Mori, Syntheses and Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of Hydroxamic Acids and Acid Hydrazides. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 31 (1983) 2810.
137. S.E. Hyman, Target practice: HDAC inhibitors for schizophrenia. *Nature Neuroscience*, 15 (2012) 1180.
138. T. Lippmann, H. Hartenstein, D. Sicker, Enantiomeric separation of close analogs to naturally-occurring 1,4-benzoxazin-3-ones by liquid-chromatography using beta-cyclodextrin-modified stationary phase. *Chromatographia*, 35 (1993) 302.
139. N.D. Kokare, R.R. Nagawade, V.P. Rane, D.B. Shinde, Design, synthesis and utilization of a novel coupling reagent for the preparation of O-alkyl hydroxamic acids. *Tetrahedron Letters*, 48 (2007) 4437.
140. N.D. Kokare, D.B. Shinde, N-[(diphenoxyphosphoryl)oxy]-2-phenyl-1H-benzimidazole as a versatile reagent for synthesis O-alkylhydroxamic acids. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 45 (2008) 981.
141. R.N. Rao, P.K. Maurya, D.D. Shinde, Development of a validated LC method for enantiomeric separation and determination of adrafinil and its related substances on a Chiralcel OJ-H column connected to PDA and polarimetric detectors in series. *Biomedical Chromatography*, 24 (2010) 1228.
142. A.A. Brakhage, *Molecular Biotechnology of Fungal β -Lactam Antibiotics and Related Peptide Synthetases* Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, ed. T. Scheper. Vol. 88. 2004, Berlin: Springer.
143. B.K. Banik, *Heterocyclic Scaffolds I: β -Lactams*. Topics in Heterocyclic Chemistry, ed. B.U.W. Maes. Vol. 22. 2010, Berlin: Springer.
144. C. Buddhala, C.C. Hsu, J.Y. Wu, A novel mechanism for GABA synthesis and packaging into synaptic vesicles. *Neurochemistry International*, 55 (2009) 9.

145. S. Fallon, E. Shearman, H. Serksen, A. Lajtha, The effects of glutamate and GABA receptor antagonists on nicotine-induced neurotransmitter changes in cognitive areas. *Neurochemical Research*, 32 (2007) 535.
146. J. Jedrzejczak, K. Owczarek, P. Zwolinski, Long-term safety and efficacy of vigabatrin in drug resistant epilepsy. *Epilepsia*, 40 (1999) 287.
147. N.S. Gunasekara, S. Noble, P. Benfield, Paroxetine - An update of its pharmacology and therapeutic use in depression and a review of its use in other disorders. *Drugs*, 55 (1998) 85.
148. W.A. Creasey, M.E. Markiw, Biochemical effects of the vinca alkaloids II. a comparison of the effects of colchicine, vinblastine and vincristine on the synthesis of ribonucleic acids in ehrlich ascites carcinoma cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 87 (1964) 601.
149. L. Garrett, O. Carrier Jr., B.H. Douglas, Effects of reserpine on blood pressure and vascular electrolytes in hypertension. *European Journal of Pharmacology*, 2 (1967) 236.
150. R. Brokamp, B. Bergmann, I.B. Muller, S. Bienz, Stereoselective preparation of pyridoxal 1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline derivatives and the influence of their absolute and relative configuration on the proliferation of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22 (2014) 1832.
151. H.M. Spindola, D.B. Vendramini-Costa, M.T. Rodrigues, M.A. Foglio, R.A. Pilli, J.E. Carvalho, The antinociceptive activity of harmicine on chemical-induced neurogenic and inflammatory pain models in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102 (2012) 133.
152. N. Shankaraiah, S. Nekkanti, K.J. Chudasama, K.R. Senwar, P. Sharma, M.K. Jeengar, V.G.M. Naidu, V. Srinivasulu, G. Srinivasulu, A. Kamal, Design, synthesis and anticancer evaluation of tetrahydro-beta-carboline-hydantoin hybrids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24 (2014) 5413.
153. A. Péter, T. Török, G. Tóth, W. Van den Nest, G. Laus, D. Tourwe, D.W. Armstrong, Enantiomeric separation of unusual secondary aromatic amino acids. *Chromatographia*, 48 (1998) 53.
154. A. Péter, G. Török, D.W. Armstrong, High-performance liquid chromatographic separation of enantiomers of unusual amino acids on a teicoplanin chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 793 (1998) 283.
155. E. Lipka, S. Yous, C. Furman, P. Carato, C. Deghaye, J.P. Bonte, C. Vaccher, Analytical and preparative chiral separation of beta-carboline derivatives, LDL oxidation inhibitors, using HPLC and CE Methodologies: determination of enantiomeric purity. *Chromatographia*, 75 (2012) 337.
156. M. Miyazaki, N. Ando, K. Sugai, Y. Seito, H. Fukuoka, T. Kanemitsu, K. Nagata, Y. Odanaka, K.T. Nakamura, T. Itoh, Catalytic asymmetric allylation of 3,4-dihydroisoquinolines and its application to the synthesis of isoquinoline alkaloids. *Journal of Organic Chemistry*, 76 (2011) 534.
157. M. Chrzanowska, M.D. Rozwadowska, Asymmetric synthesis of isoquinoline alkaloids. *Chemical Reviews*, 104 (2004) 3341.
158. Q.Y. Zhang, G.Z. Tu, Y.Y. Zhao, T.M. Cheng, Novel bioactive isoquinoline alkaloids from *Carduus crispus*. *Tetrahedron*, 58 (2002) 6795.
159. Y. Kashiwada, A. Aoshima, Y. Ikeshiro, Y.P. Chen, H. Furukawa, M. Itoigawa, T. Fujioka, K. Mihashi, L.M. Cosentino, S.L. Morris-Natschke, K.H. Lee, Anti-HIV benzyloisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13 (2005) 443.

160. H. Haber, P. Henklein, M. Georgi, M.F. Melzig, Resolution of catecholic tetrahydroisoquinoline enantiomers and the determination of R-salsolinol and S-salsolinol in biological samples by gas-chromatography mass-spectrometry. *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*, 672 (1995) 179.
161. F. Musshoff, P. Schmidt, R. Dettmeyer, F. Priemer, K. Jachau, B. Madea, Determination of dopamine and dopamine-derived (R)-/(S)-salsolinol and norsalsolinol in various human brain areas using solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Forensic Science International*, 113 (2000) 359.
162. M. Kawai, Y.L. Deng, I. Kimura, H. Yamamura, S. Araki, M. Naoi, Convenient enantioselective preparation of salsolinol-1-carboxylic acid. *Tetrahedron-Asymmetry*, 8 (1997) 1487.
163. Y.L. Deng, W. Maruyama, M. Kawai, P. Dostert, H. Yamamura, T. Takahashi, M. Naoi, Assay for the (R)- and (S)-enantiomers of salsolinols in biological samples and foods with ion-pair high-performance liquid chromatography using beta-cyclodextrin as a chiral mobile phase additive. *Journal of Chromatography B*, 689 (1997) 313.
164. K. McMurtrey, C. Strawbridge, J. McCoy, HPLC resolution of the enantiomers of dihydroxyphenylalanine and selected salsolinol derivatives using sulfated beta-cyclodextrin. *Enantiomer*, 5 (2000) 377.
165. Y.L. Deng, W. Maruyama, P. Dostert, T. Takahashi, M. Kawai, M. Naoi, Determination of the (R)-enantiomers and (S)-enantiomers of salsolinol and N-methylsalsolinol by use of a chiral high-performance liquid-chromatographic column. *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*, 670 (1995) 47.
166. H. Rommelspacher, S.S. Baum, P. Dufeu, L.G. Schmidt, Determination of (R)-salsolinol sulfate and (S)-salsolinol sulfate and dopamine sulfate levels in plasma of nonalcoholics and alcoholics. *Alcohol*, 12 (1995) 309.
167. W. Stammel, B. Woesle, H. Thomas, Enantiomeric separation of tetrahydroisoquinoline alkaloids by high-performance liquid-chromatography with beta-cyclodextrin as chiral selector. *Chirality*, 7 (1995) 10.
168. W. Zhang, F.L. Wan, Y.F. Xie, J. Gu, J. Wang, K. Yamamoto, L.T. Jin, Amperometric determination of (R)-salsolinol, (R)-N-methylsalsolinol and monoamine neurotransmitters with liquid chromatography using functionalized multi-wall carbon nanotube modified electrode in Parkinson's patients' cerebrospinal fluid. *Analytica Chimica Acta*, 512 (2004) 207.
169. M.D. Juricic, P.A. Berrios-Carcamo, M.L. Acevedo, Y. Israel, I. Almodovar, B.K. Cassels, Salsolinol and isosalsolinol: Condensation products of acetaldehyde and dopamine. Separation of their enantiomers in the presence of a large excess of dopamine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 63 (2012) 170.
170. A. Lee, H.J. Choi, K.B. Jin, M.H. Hyun, Liquid chromatographic resolution of 1-aryl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines on a chiral stationary phase based on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid. *Journal of Chromatography A*, 1218 (2011) 4071.
171. A. Péter, E. Vékes, D.W. Armstrong, Effects of temperature on retention of chiral compounds on a ristocetin A chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 958 (2002) 89.
172. M. Betti, *Gazzetta Chimica Italiana*, 31 (1901) 170.
173. M. Betti, *Gazzetta Chimica Italiana*, 31 (1901) 191.

174. N.C. Desai, H.K. Shukla, N.A. Langalia, K.A. Thaker, Preparation and antibacterial activities of 2-aryl-3-[alpha-(2-hydroxy-L-naphthyl)benzyl]-4-thiazolidinones. *Journal of the Indian Chemical Society*, 61 (1984) 711.
175. D.D. Perrin, *Dissociation constants of organic bases in aqueous solutions*. 1965: Butterworths.
176. K. Gyimesi-Forras, K. Akasaka, M. Lämmerhofer, N.M. Maier, T. Fujita, M. Watanabe, N. Harada, W. Lindner, Enantiomer separation of a powerful chiral auxiliary, 2-methoxy-2-(1-naphthyl)propionic acid by liquid chromatography using chiral anion exchanger-type stationary phases in polar-organic mode; Investigation of molecular recognition aspects. *Chirality*, 17 (2005) S134.
177. X. Xiong, W.R.G. Baeyens, H.Y. Aboul-Enein, J.R. Delanghe, T.T. Tu, J. Ouyang, Impact of amines as co-modifiers on the enantioseparation of various amino acid derivatives on a tert-butyl carbamoylated quinine-based chiral stationary phase. *Talanta*, 71 (2007) 573.
178. W. Kopaciewicz, M.A. Rounds, J. Fausnaugh, F.E. Regnier, Retention model for high-performance ion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography*, 266 (1983) 3.
179. J. Stahlberg, Retention models for ions in chromatography. *Journal of Chromatography A*, 855 (1999) 3.
180. B. Sellergren, K.J. Shea, Chiral ion-exchange chromatography - Correlation between solute retention and a theoretical ion-exchange model using imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 654 (1993) 17.
181. B. Monzyk, A.L. Crumbliss, Acid Dissociation-Constants (K_a) and Their Temperature Dependencies (ΔH_a , ΔS_a) for a Series of Carbon-Substituted and Nitrogen-Substituted Hydroxamic Acids in Aqueous-Solution. *Journal of Organic Chemistry*, 45 (1980) 4670.
182. A.Y. Meyer, Molecular mechanics and molecular shape. 4. Size, shape, and steric parameters. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, (1986) 1567.
183. R. Sardella, A. Lisanti, A. Carotti, P. Blasi, W. Lindner, B. Natalini, Ketoprofen enantioseparation with a Cinchona alkaloid based stationary phase: Enantiorecognition mechanism and release studies. *Journal of Separation Science*, 37 (2014) 2696.
184. I. Matarashvili, L. Chankvetadze, S. Fanali, T. Farkas, B. Chankvetadze, HPLC separation of enantiomers of chiral arylpropionic acid derivatives using polysaccharide-based chiral columns and normal-phase eluents with emphasis on elution order. *Journal of Separation Science*, 36 (2013) 140.
185. K. Balmer, P.O. Lagerstrom, B.A. Persson, G. Schill, Reversed retention order and other stereoselective effects in the separation of amino-alcohols on Chiralcel OD. *Journal of Chromatography*, 592 (1992) 331.
186. M. Schlauch, A.W. Frahm, A thermodynamic study of the temperature-dependent elution order of cyclic alpha-amino acid enantiomers on a copper(II)-D-penicillamine chiral stationary phase. *Analytical Chemistry*, 73 (2001) 262.
187. R.W. Stringham, J.A. Blackwell, Factors that control successful entropically driven chiral separations in SFC and HPLC. *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 1414.
188. N. Wu, P.M. Yehl, D. Gauthier, A. Dovletoglou, Retention and thermodynamic studies of piperazine diastereomers in reversed-phase liquid chromatography. *Chromatographia*, 59 (2004) 189.
189. R. Adlof, G. List, Analysis of triglyceride isomers by silver-ion high-performance liquid chromatography - Effect of column temperature on retention times. *Journal of Chromatography A*, 1046 (2004) 109.

190. D.W. Armstrong, Y.B. Liu, K.H. Ekborgott, Covalently bonded teicoplanin chiral stationary-phase for HPLC enantioseparations. *Chirality*, 7 (1995) 474.
191. A. Péter, A. Árki, D. Tourwe, E. Forró, F. Fülöp, D.W. Armstrong, Comparison of the separation efficiencies of Chirobiotic T and TAG columns in the separation of unusual amino acids. *Journal of Chromatography A*, 1031 (2004) 159.
192. G. Cavazzini, G. Nadalini, F. Dondi, F. Gasparrini, A. Ciogli, C. Villani, Study of mechanisms of chiral discrimination of amino acids and their derivatives on a teicoplanin-based chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1031 (2004) 143.
193. T. Wang, R.M. Wenslow, Effects of alcohol mobile-phase modifiers on the structure and chiral selectivity of amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1015 (2003) 99.

Függelék

Az értekezésben tárgyalt vegyületek

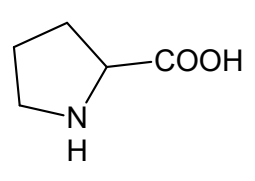
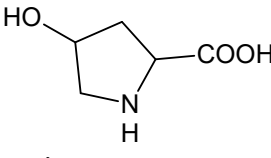
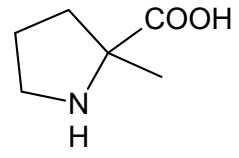
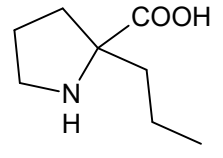
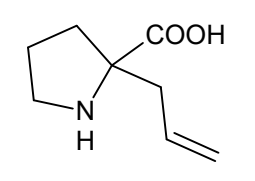
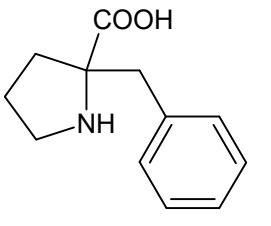
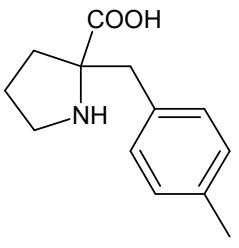
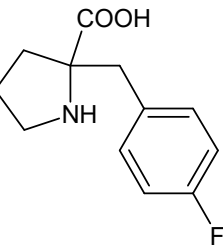
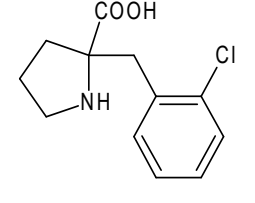
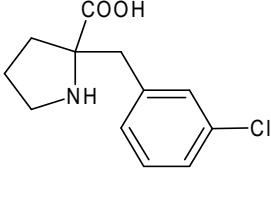
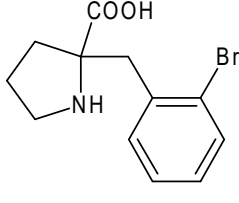
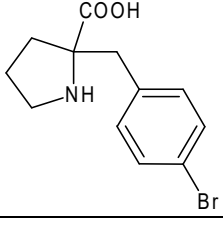
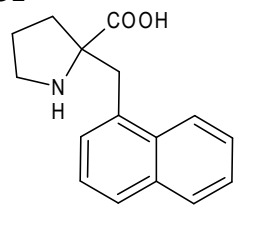
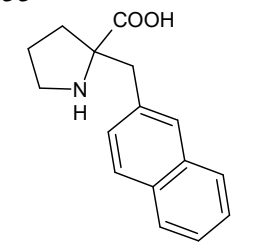
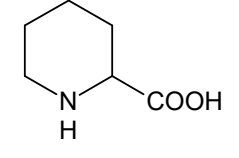
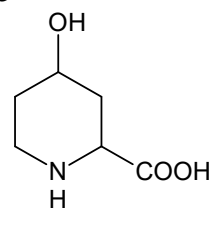
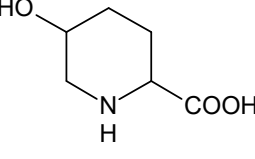
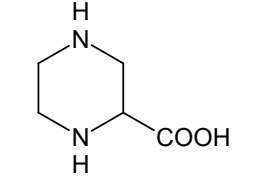
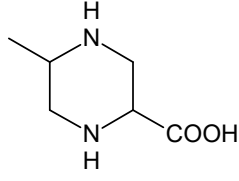
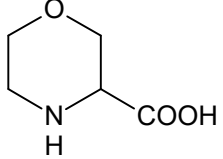
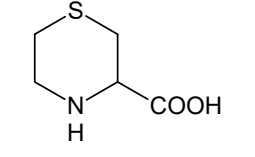
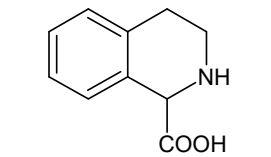
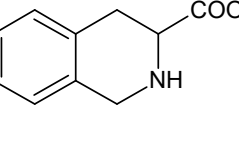
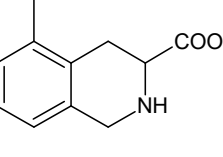
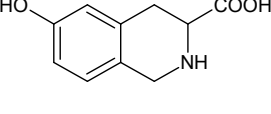
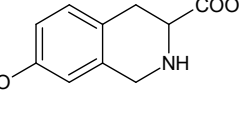
N-védett fehérjealkotó α -aminosavak

1		2		3	
4		5		6	
7		8		9	
10		11		12	
13		14		15	
16		17		18	
		19			

Védőcsoportok

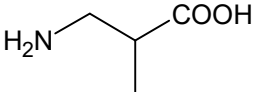
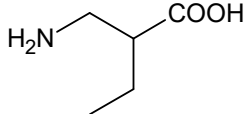
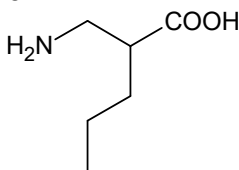
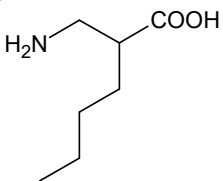
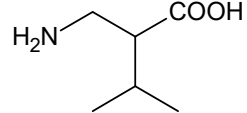
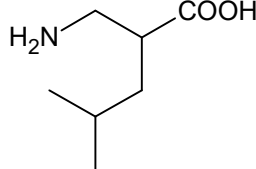
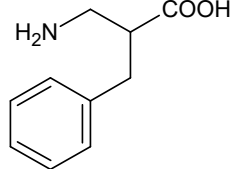
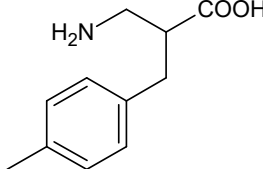
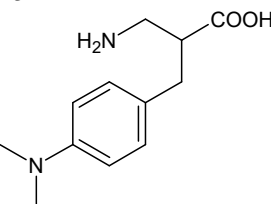
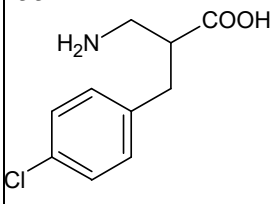
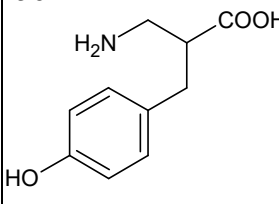
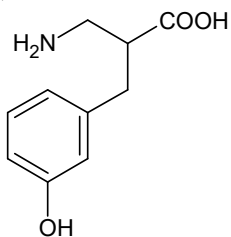
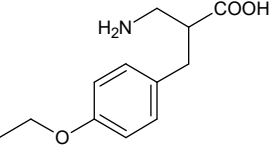
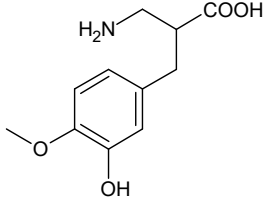
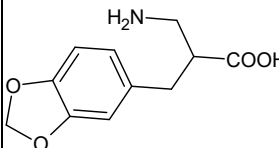
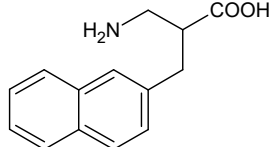
Fmoc		tBu		Boc	
Trt		Pfb			

Szekunder α -aminosavak

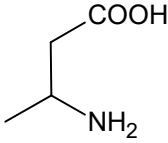
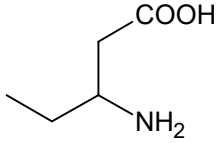
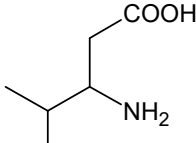
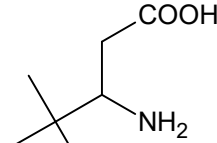
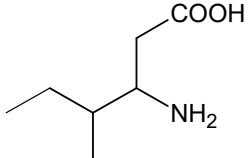
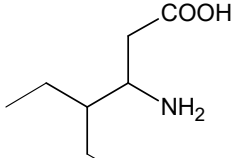
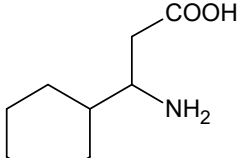
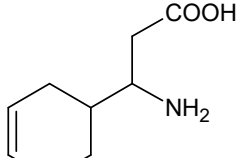
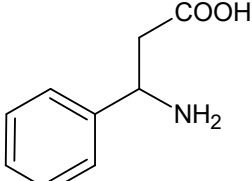
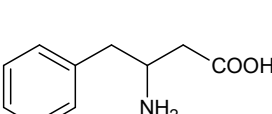
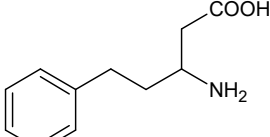
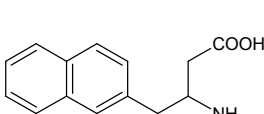
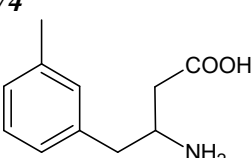
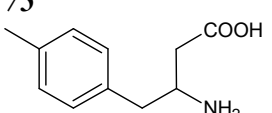
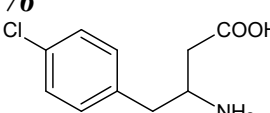
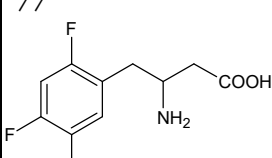
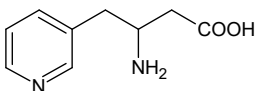
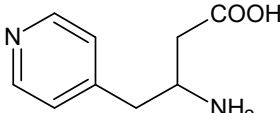
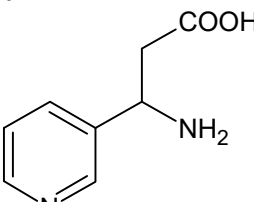
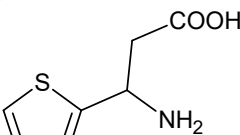
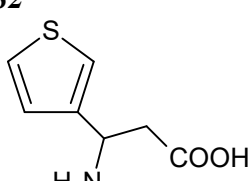
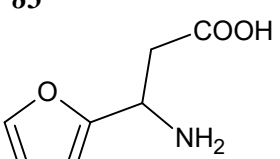
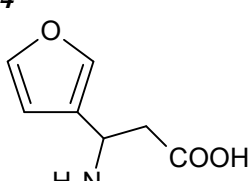
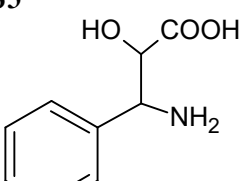
20 	21  <i>cisz</i> <i>transz</i> <i>a</i> : 2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> <i>c</i> : 2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> <i>b</i> : 2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> <i>d</i> : 2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>	22 	23 
24 	25 	26 	27 
28 	29 	30 	31 
32 	33 	34 	35 
36 	37 	38 	39 
40 	41 	42 	43 
	44 	45 	

A *cisz*- és *transz*-konfiguráció a karboxil- és az aminocsoport helyzetére vonatkozik.

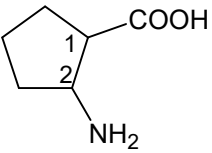
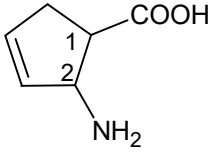
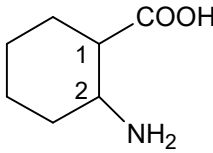
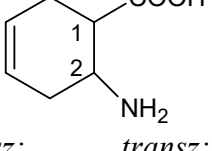
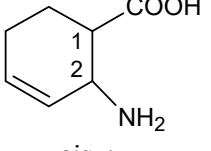
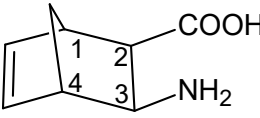
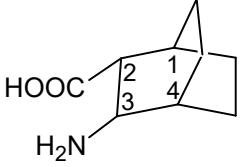
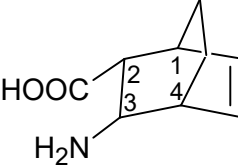
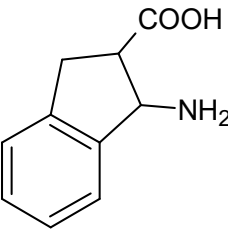
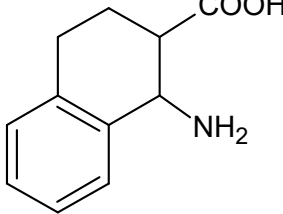
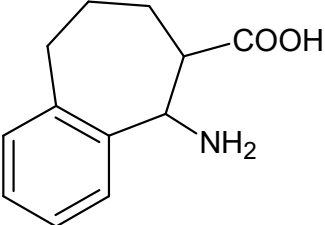
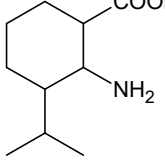
β^2 -Aminosavak

46 	47 	48 	49 
50 	51 	52 	53 
54 	55 	56 	57 
58 	59 	60 	61 

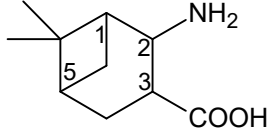
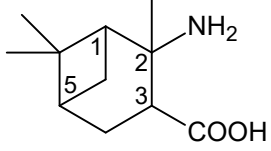
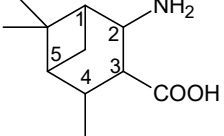
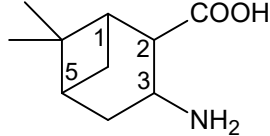
β^3 -Aminosavak

62 	63 	64 	65 
66 	67 	68 	69 
70 	71 	72 	73 
74 	75 	76 	77 
78 	79 	80 	81 
82 	83 	84 	85 

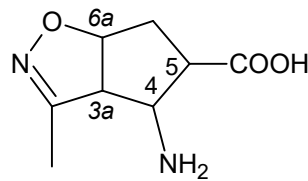
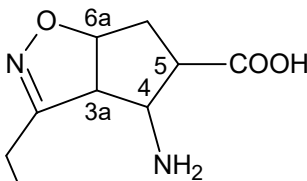
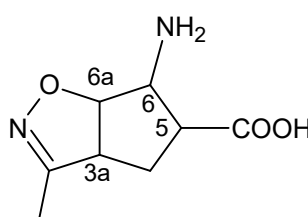
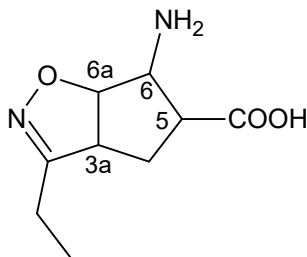
Ciklusos β -aminosavak

86  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>)	87  <i>cisz:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>)	88  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>)
89  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>)	90  <i>cisz:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>)	91  <i>diexo:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>)
92  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (2<i>R</i>,3<i>S</i>) c: (2<i>S</i>,3<i>S</i>) b: (2<i>S</i>,3<i>R</i>) d: (2<i>R</i>,3<i>R</i>)	93  <i>diendo:</i> <i>exo-endo:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>)	94 
95 	96 	97  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>) e: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,4<i>S</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,4<i>R</i>) f: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,4<i>R</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>R</i>) g: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,4<i>R</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,4<i>S</i>) h: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,4<i>S</i>)

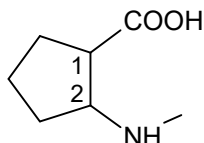
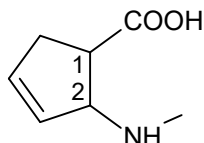
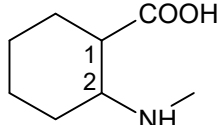
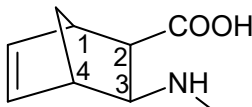
Monoterpénvázás ciklusos β -aminosavak

98  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,5<i>R</i>) c: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>R</i>,5<i>R</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,5<i>S</i>) d: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>S</i>,5<i>S</i>)	99  <i>cisz</i> a: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,5<i>R</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,5<i>S</i>)
100  <i>cisz</i> a: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)	101  <i>transz</i> a: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>S</i>,5<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>R</i>,5<i>S</i>)

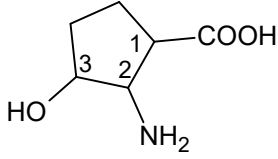
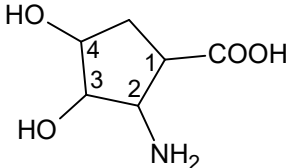
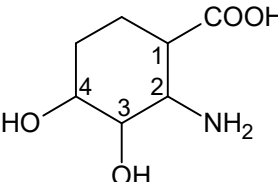
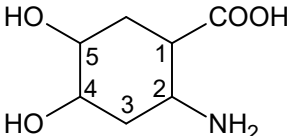
Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak

102  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: (3a<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>S</i>,6a<i>S</i>) c: (3a<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>,6a<i>S</i>) b: (3a<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i>,6a<i>R</i>) d: (3a<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>,6a<i>R</i>)	103  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: (3a<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>S</i>,6a<i>S</i>) c: (3a<i>S</i>,4<i>R</i>,5<i>R</i>,6a<i>S</i>) b: (3a<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i>,6a<i>R</i>) d: (3a<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>,6a<i>R</i>)
104  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: (3a<i>R</i>,5<i>S</i>,6<i>S</i>,6a<i>S</i>) c: (3a<i>R</i>,5<i>S</i>,6<i>R</i>,6a<i>S</i>) b: (3a<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>R</i>,6a<i>R</i>) d: (3a<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>,6a<i>R</i>)	105  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: (3a<i>R</i>,5<i>S</i>,6<i>S</i>,6a<i>S</i>) c: (3a<i>R</i>,5<i>S</i>,6<i>R</i>,6a<i>S</i>) b: (3a<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>R</i>,6a<i>R</i>) d: (3a<i>S</i>,5<i>R</i>,6<i>S</i>,6a<i>R</i>)

N-metilszubsztituált ciklusos β -aminosavak

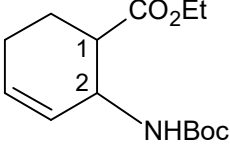
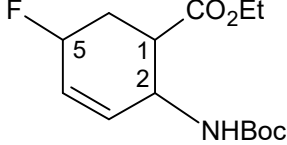
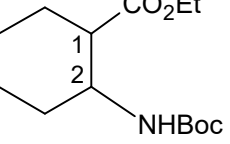
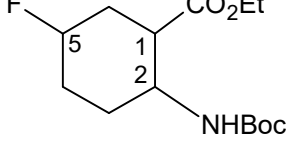
106  <i>cisz</i> a: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>R</i>)	107  <i>cisz</i> a: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>R</i>)
108  <i>cisz:</i> <i>transz:</i> a: (1<i>R</i>,2<i>S</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>R</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>)	109  <i>diexo</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>)

Ciklusos mono- és dihidroxi- β -aminosavak

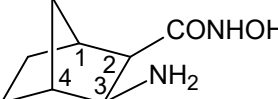
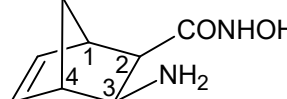
110  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i> c: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i> d: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>	111  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i> c: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i> d: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>
112  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i> c: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i> d: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>	113  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i> c: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,4<i>S</i>,5<i>R</i> b: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,4<i>R</i>,5<i>S</i> d: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,4<i>R</i>,5<i>S</i>

A *cisz* és *transz* konfiguráció a karboxil- és az aminocsoport helyzetére vonatkozik.

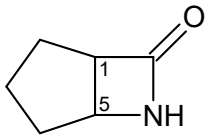
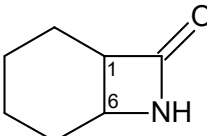
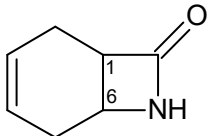
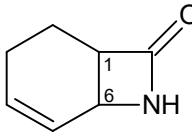
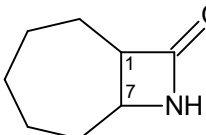
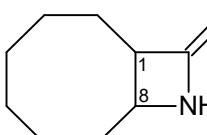
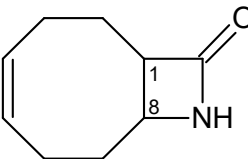
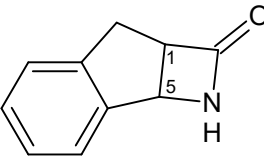
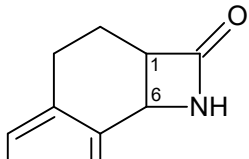
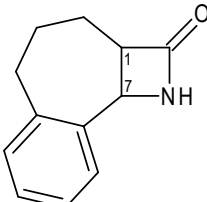
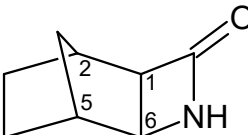
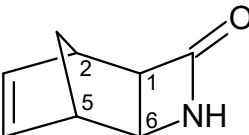
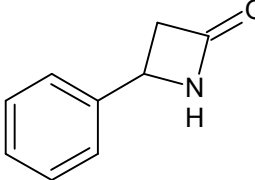
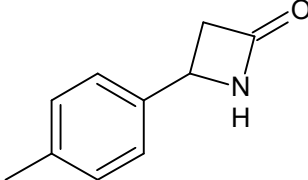
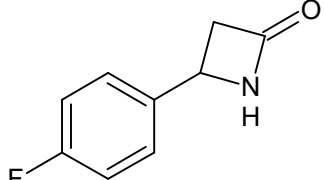
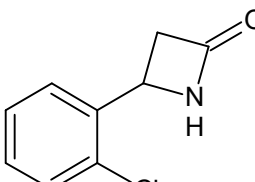
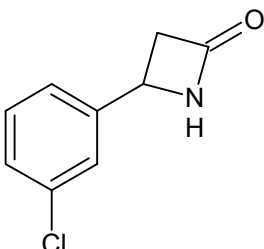
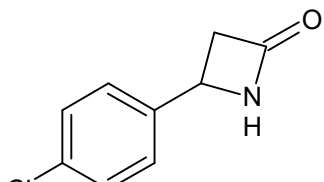
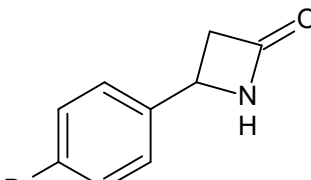
Fluorozott β -aminosavszármazékok

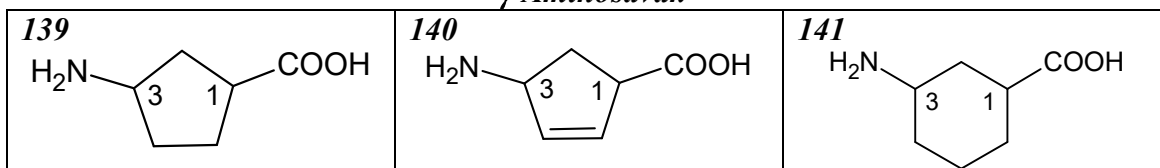
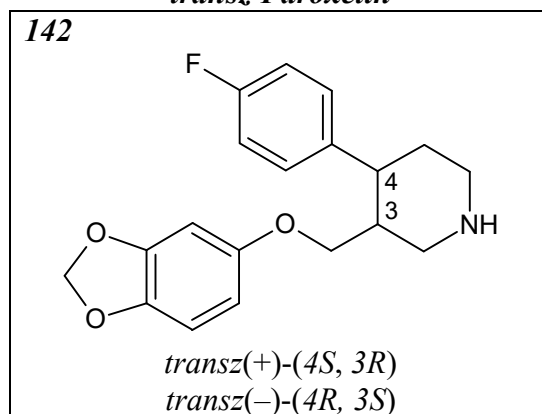
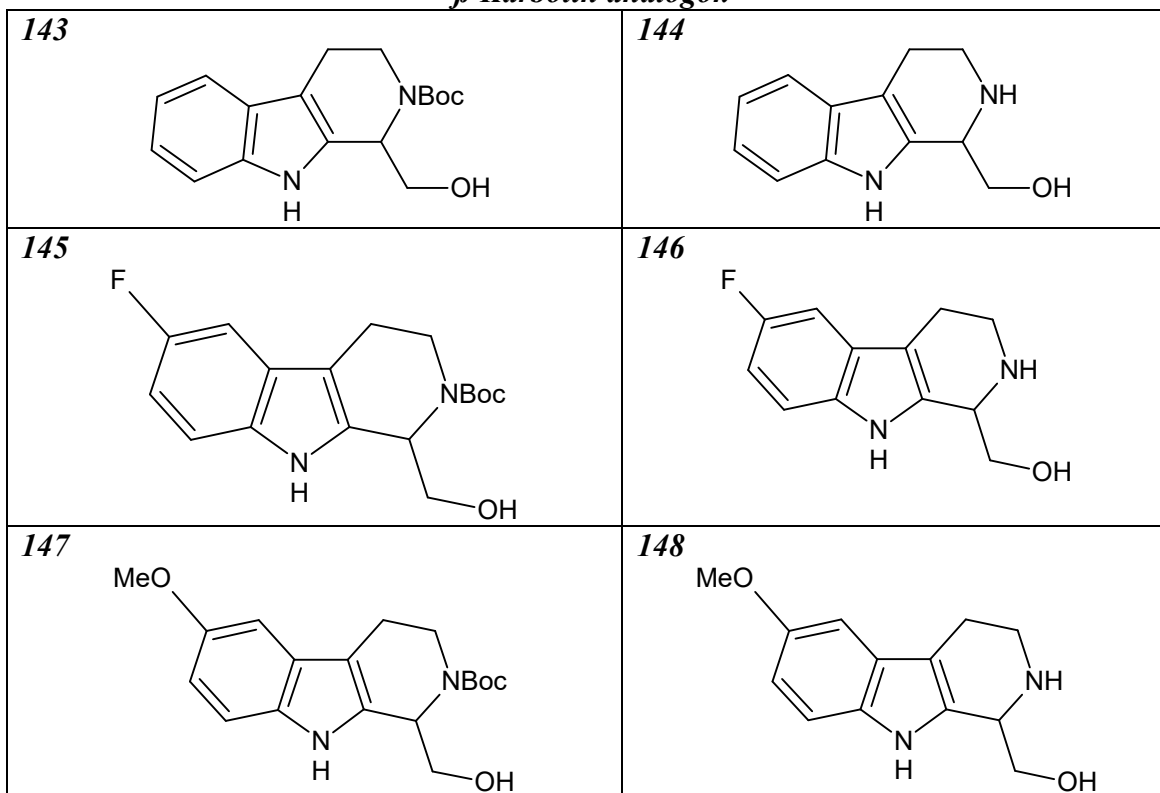
114  <i>transz</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>	115  <i>transz:</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,5<i>R</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,5<i>S</i>
116  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>S</i>,2<i>R</i> c: 1<i>R</i>,2<i>R</i> b: 1<i>R</i>,2<i>S</i> d: 1<i>S</i>,2<i>S</i>	117  <i>cisz</i> <i>transz</i> a: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,5<i>S</i> a: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,5<i>S</i> b: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,5<i>R</i> b: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,5<i>R</i> c: 1<i>S</i>,2<i>R</i>,5<i>R</i> c: 1<i>R</i>,2<i>R</i>,5<i>R</i> d: 1<i>R</i>,2<i>S</i>,5<i>S</i> d: 1<i>S</i>,2<i>S</i>,5<i>S</i>

Ciklusos β -aminohidroxámsavak

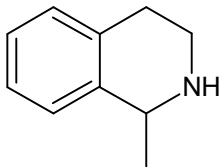
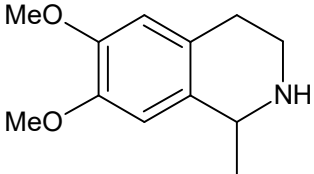
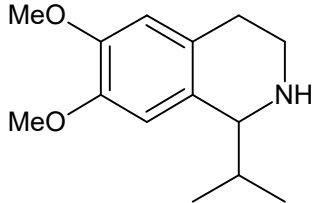
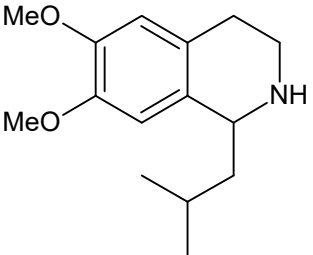
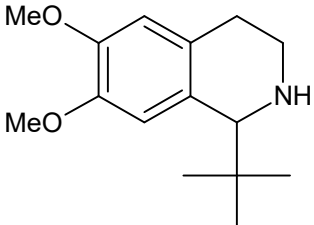
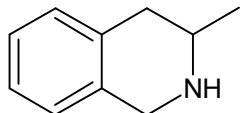
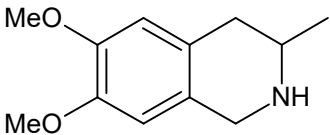
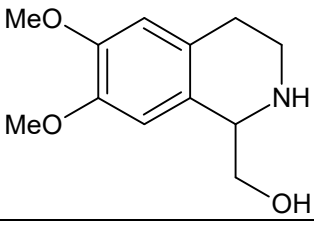
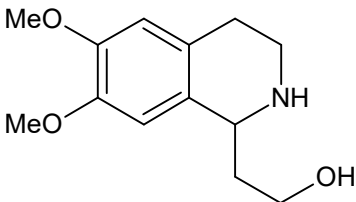
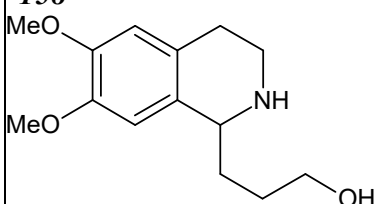
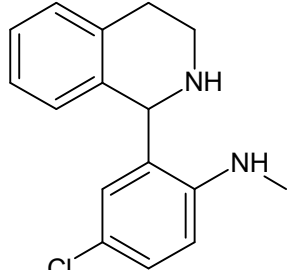
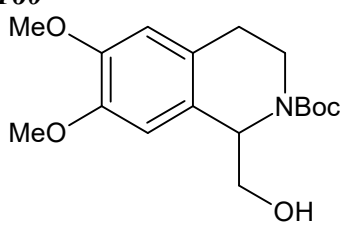
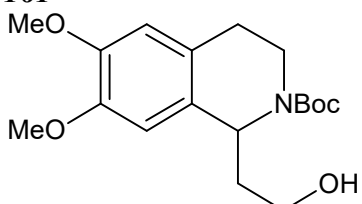
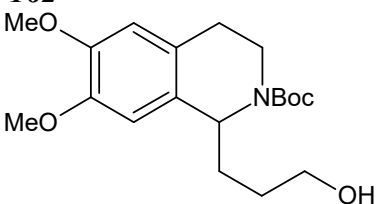
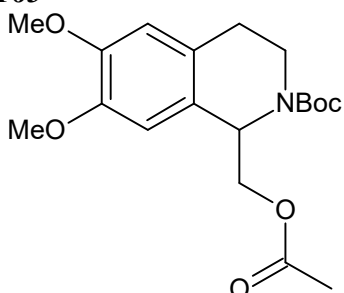
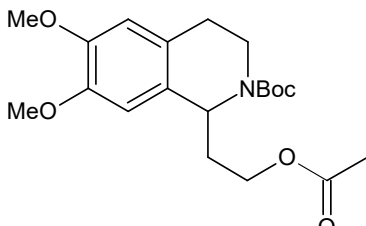
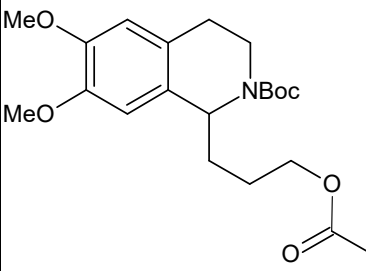
118  <i>diexo:</i> <i>diendo:</i> a: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>) c: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>R</i>) b: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>) d: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>S</i>)	119  <i>diexo:</i> <i>diendo:</i> a: (1<i>R</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>S</i>) c: (1<i>R</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>S</i>) b: (1<i>S</i>,2<i>S</i>,3<i>R</i>,4<i>R</i>) d: (1<i>S</i>,2<i>R</i>,3<i>S</i>,4<i>R</i>)
---	--

β -Laktámszármazékok

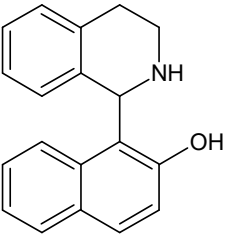
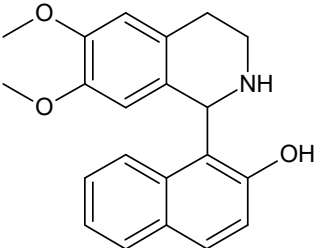
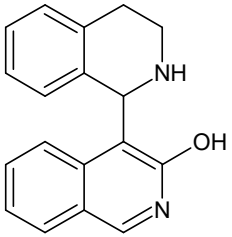
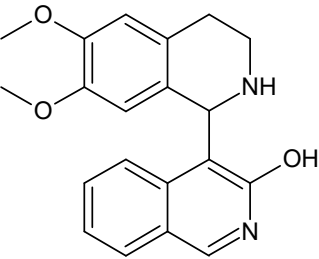
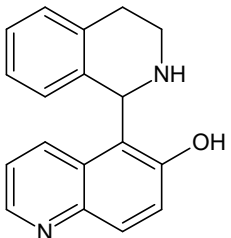
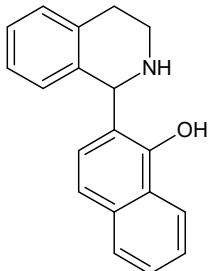
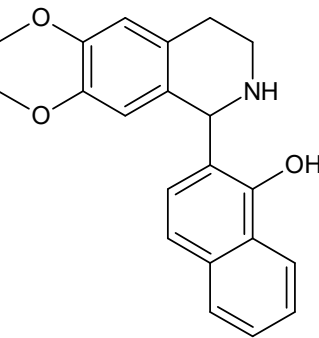
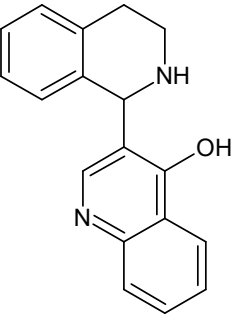
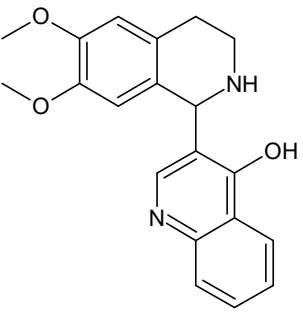
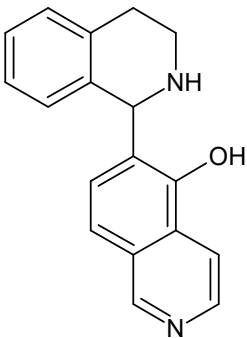
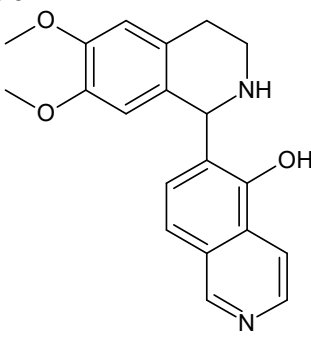
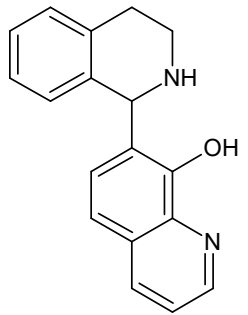
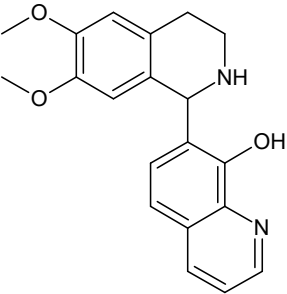
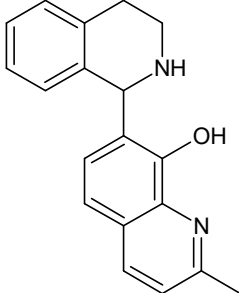
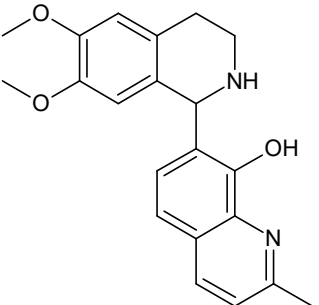
120 	121 	122 
123 	124 	125 
126 	127 	128 
129 	130 	131 
132 	133 	134 
135 	136 	137 
138 		

γ -Aminosavak*transz-Paroxetin* *β -Karbolin analógok*

1,2,3,4-Tetrahidroizokinolin analógok

149 	150 	151 
152 	153 	154 
155 	156 	157 
158 	159 	160 
161 	162 	163 
164 	165 	

Naftolszubsztituált tetrahidroizokinolinszármazékok

166 	167 	168 
169 	170 	171 
172 	173 	174 
175 	176 	177 
178 	179 	180 

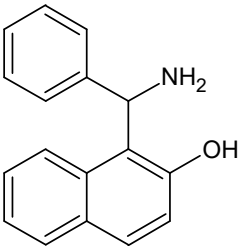
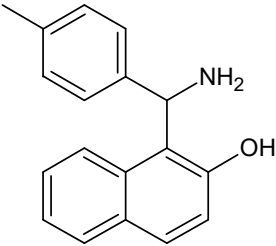
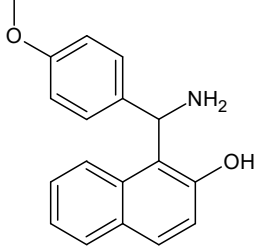
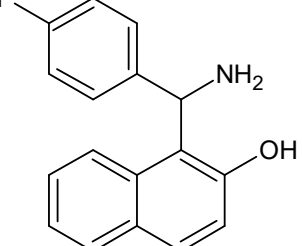
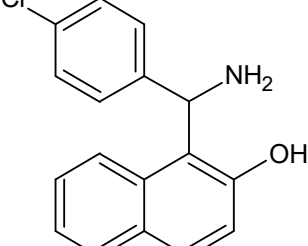
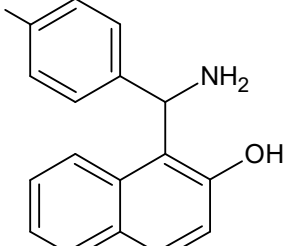
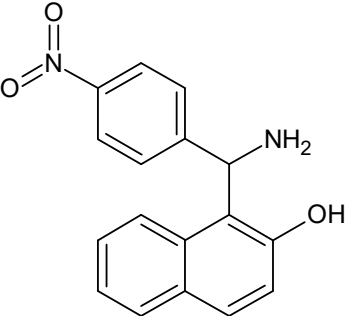
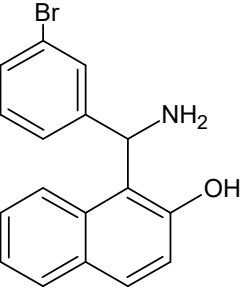
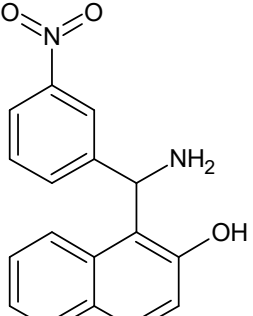
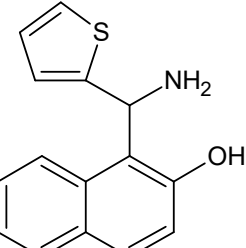
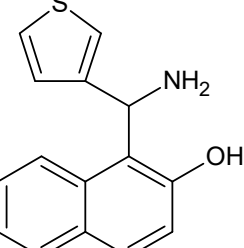
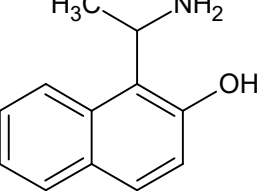
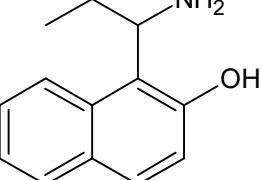
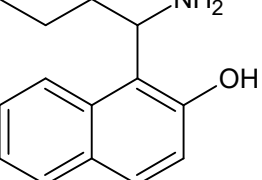
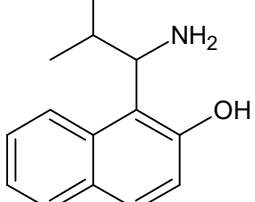
Glicinészter analógok

181		182		183	
184		185		186	
187		188		189	
		190			

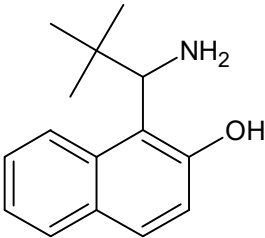
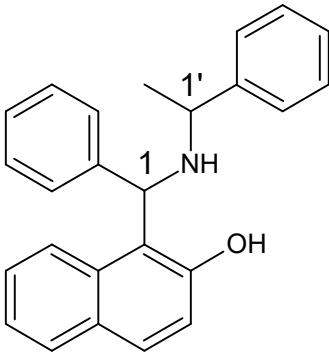
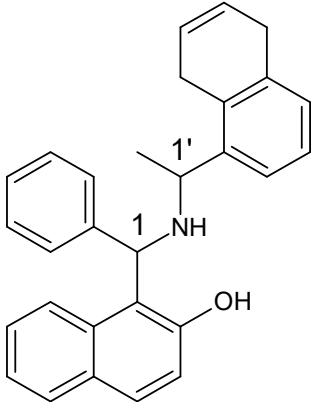
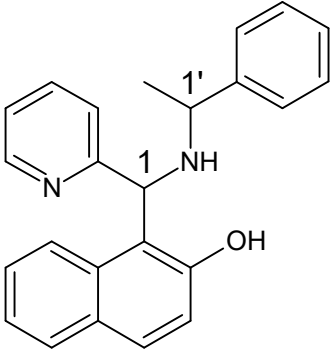
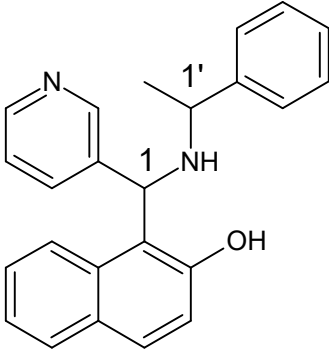
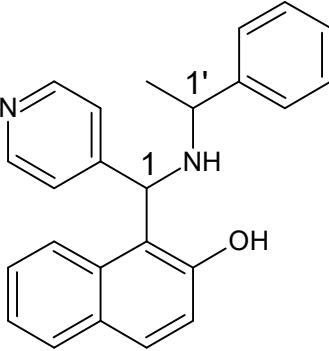
1-Naftol analógok

191		192		193	
194		195		196	
197		198		199	
		200			

2-Naftol analógok

201 	202 	203 
204 	205 	206 
207 	208 	209 
210 	211 	212 
213 	214 	215 

2-Naftol analógok (folytatás)

216 	217  <i>a</i>: (1<i>S</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>S</i>*) <i>b</i>: (1<i>R</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>R</i>*) <i>c</i>: (1<i>R</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>S</i>*) <i>d</i>: (1<i>S</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>R</i>*)	218  <i>a</i>: (1<i>S</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>S</i>*) <i>b</i>: (1<i>R</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>R</i>*) <i>c</i>: (1<i>R</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>S</i>*) <i>d</i>: (1<i>S</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>R</i>*)
219  <i>a</i>: (1<i>S</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>S</i>*) <i>b</i>: (1<i>R</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>R</i>*) <i>c</i>: (1<i>R</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>S</i>*) <i>d</i>: (1<i>S</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>R</i>*)	220  <i>a</i>: (1<i>S</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>S</i>*) <i>b</i>: (1<i>R</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>R</i>*) <i>c</i>: (1<i>R</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>S</i>*) <i>d</i>: (1<i>S</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>R</i>*)	221  <i>a</i>: (1<i>S</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>S</i>*) <i>b</i>: (1<i>R</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>R</i>*) <i>c</i>: (1<i>R</i>,1'<i>S</i> vagy 1<i>S</i>,1'<i>S</i>*) <i>d</i>: (1<i>S</i>,1'<i>R</i> vagy 1<i>R</i>,1'<i>R</i>*)

* C.I.P. konvenció szerint

Táblázatok

F1. TáblázatCiklusos β -aminosavak kromatográfiás adatai *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon

Vegyület	Mozgófázis	Kolonna						Irodalom
		ZWIX(+)			ZWIX(−)			
		k_I	α	R_s	k_I	α	R_s	
ciklusos β -aminosavak és <i>N</i> -metilezett származékaik								
<i>cisz-86ab</i>	a	2,35	1,09	0,90	2,81	1,00	0,00	E9
<i>transz-86cd</i>	a	3,0	1,27	2,18	3,76	1,07	0,20	
<i>cisz-88ab</i>	a	2,22	1,17	1,60	2,90	1,28	1,83	
<i>transz-88cd</i>	a	3,22	1,00	0,00	3,93	1,33	2,58	
<i>cisz-89ab</i>	a	2,71	1,17	1,00	3,58	1,23	1,37	
<i>transz-89cd</i>	a	2,72	1,17	1,14	3,33	1,40	2,83	
<i>cisz-86ab</i>	b	3,13	1,00	0,00	6,59	1,07	0,52	E14
<i>cisz-106ab</i>	b	2,55	1,71	7,07	3,34	1,70	6,45	
<i>cisz-87ab</i>	b	2,82	1,00	0,00	3,36	1,04	0,30	
<i>cisz-107ab</i>	b	1,60	1,54	3,75	1,78	1,63	3,41	
<i>cisz-88ab</i>	b	3,96	1,21	1,31	4,33	1,35	2,17	
<i>cisz-108ab</i>	b	2,13	1,50	3,59	2,55	1,35	2,30	
<i>transz-88cd</i>	b	6,22	1,12	0,99	8,42	1,41	2,83	
<i>transz-108cd</i>	b	2,46	2,00	9,24	2,55	2,23	8,74	
<i>diexo-91ab</i>	b	3,39	1,05	0,50	3,69	1,16	0,95	
<i>diexo-109ab</i>	b	1,47	1,38	3,37	1,23	1,64	3,29	
biciklusos β -aminosavak								
<i>cisz-92ab</i>	c	2,74	1,20	–	3,24	1,50	4,10	E4
<i>transz-92cd</i>	c	7,77	1,24	–	7,18	1,46	–	
<i>diendo-93ab</i>	c	3,17	1,01	–	3,37	1,30	–	
<i>exo-endo-93cd</i>	c	4,20	1,19	1,30	4,64	1,23	–	
monoterpénvázas ciklusos β -aminosavak								
<i>cisz-98ab</i>	c	2,97	1,23	2,20	3,68	1,40	3,10	E2
<i>transz-98cd</i>	c	10,25	1,12	1,80	10,59	1,30	2,25	
<i>transz-101ab</i>	c	9,35	1,00	0,00	8,01	1,31	1,05	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **a**: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM), **b**: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és DEA (25 mM), **c**: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F1. Táblázat (folytatás)Ciklusos β -aminosavak kromatográfiás adatai *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon

Vegyület	Mozgófázis	Kolonna						Irodalom
		ZWIX(+)			ZWIX(-)			
		k_I	α	R_s	k_I	α	R_s	
izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak								
<i>cisz-102ab</i>	c	4,20	1,40	2,71	7,03	1,36	3,43	E8
<i>transz-102cd</i>	c	5,42	1,46	3,00	7,34	1,16	2,32	
<i>cisz-103ab</i>	c	3,50	1,25	1,71	6,96	1,20	2,47	
<i>transz-103cd</i>	c	4,74	1,63	2,73	5,36	1,55	1,92	
<i>cisz-104ab</i>	c	3,02	1,61	6,00	4,16	1,57	6,16	
<i>transz-104cd</i>	c	1,93	2,33	4,62	4,57	1,25	1,55	
<i>cisz-105ab</i>	c	2,84	1,64	5,54	4,08	1,54	6,08	
<i>transz-105cd</i>	c	1,80	2,42	6,00	2,77	2,00	5,66	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **c**: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F2. TáblázatCiklusos β -aminohidroxámsavak kromatográfiás adatai *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon

Vegyület	Mozgófázis	Kolonna						Irodalom
		ZWIX(+)			ZWIX(-)			
		k_I	α	R_s	k_I	α	R_s	
<i>diexo-118ab</i>	c	4,06	2,17	2,80	5,49	2,30	2,44	E12
<i>diendo-118cd</i>	c	4,60	1,87	2,42	4,66	1,86	2,43	
<i>diexo-119ab</i>	c	4,38	2,43	3,51	4,40	2,83	3,59	
<i>diendo-119cd</i>	c	4,14	1,67	2,37	4,58	1,58	1,97	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **c**: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F3. Táblázat

1,2,3,4-Tetrahydroizokinolinszármazékok kromatográfiás adatai *ZWIX*(+) és *ZWIX*(-) kolonnákon

Vegyület	Mozgófázis	Kolonna						Irodalom
		<i>ZWIX</i> (+)			<i>ZWIX</i> (-)			
		k_I	α	R_s	k_I	α	R_s	
146	d	6,50	1,20	2,22	4,44	1,38	2,07	E6
150	d	8,02	1,25	4,17	6,73	1,48	3,10	
151	d	4,04	4,39	1,09	2,66	1,18	1,14	
152	d	6,25	1,04	0,87	5,18	1,22	1,53	
153	d	3,85	1,07	1,17	2,24	1,12	0,50	
154	d	5,93	1,03	0,53	2,24	1,15	0,60	
155	d	7,14	1,01	< 0,2	4,73	1,00	0,00	
156	d	5,51	1,08	0,40	3,55	1,16	1,55	
157	d	4,85	1,23	3,31	2,99	1,29	2,82	
158	d	5,33	1,08	1,29	4,04	1,09	1,00	
159	e	1,16	1,18	1,80	0,61	1,19	1,00	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **d**: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (25 mM) és TEA (12,5 mM), **e**: MeOH/MeCN (25/75 v/v) AcOH (25 mM) és TEA (12,5 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F4. Táblázat

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
102ab	-3,3	-1,9	-8,3	-4,2	-0,7	-0,6
103ab	20,8	-1,7	72,0	-4,0	-0,7	-0,5
104cd	-4,6	8,7	-8,9	30,8	-2,0	-0,5
105cd	-17,9	-3,6	-55,1	-6,8	-1,5	-1,5

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F5. TáblázatCiklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	Mozgófázis	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]	$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]	$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]
ZWIX(+)				
<i>cisz-86ab</i>	a	-0,6	-1,3	-0,2
<i>cisz-87ab</i>	b	-0,9	-1,3	-0,5
<i>transz-88cd</i>	b	-0,6	-1,2	-0,2
<i>transz-89cd</i>	a	-0,7	-1,2	-0,3
<i>cisz-90ab</i>	a	-2,2	-4,7	-0,8
ZWIX(-)				
<i>cisz-86ab</i>	c	1,1	4,0	-0,1
<i>transz-86cd</i>	c	-1,3	-3,8	-0,2
<i>transz-88cd</i>	a	-1,7	-3,7	-0,6
<i>transz-89cd</i>	a	-1,7	-3,8	-0,6
<i>cisz-90ab</i>	a	-2,2	-4,5	-0,9

Kromatográfiás körülmények: kolonna: *ZWIX(+)* és *ZWIX(-)*; mozgófázis: **a**: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM), **b**: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és AcOH (50 mM) és NH₃ (25 mM), **c**: MeOH/MeCN (25/75 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F6. TáblázatSzekunder α -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
20	-2,4	-3,5	-2,7	-4,7	-1,6	-2,1
21ab	1,1	-1,1	4,4	-0,9	-0,2	-0,8
21cd	-2,7	-3,4	-3,6	-4,9	-1,7	-1,9
22	-3,0	-4,0	-4,4	-7,1	-1,7	-1,9
25	-1,5	-4,0	-1,3	-7,7	-1,1	-1,7
27	-1,3	-3,3	-1,4	-6,0	-0,9	-1,5
28	-1,8	-3,4	-2,1	-6,7	-1,2	-1,5
30	-1,8	-2,9	-2,5	-5,3	-1,1	-1,3
31	-1,4	-2,7	-1,1	-4,0	-1,1	-1,5
34	-0,7	-1,5	-1,0	-2,9	-0,4	-0,6
39	-0,5	-1,0	-0,6	-1,1	-0,3	-0,7
40	–	-0,3	–	-0,1	–	-0,2
42	-1,0	-1,2	-1,3	-1,1	-0,6	-0,8
43	-0,7	-1,3	-1,0	-1,3	-0,4	-0,9
45	-0,9	-1,1	-1,7	-1,2	-0,4	-0,7

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *ZWIX(+)*, B: *ZWIX(-)*; mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és FA (50 mM) és DEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F7. Táblázat

1,2,3,4-Tetrahydroizokinolinszármazékok néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
149	-1,9	-2,4	-5,2	-5,6	-0,4	-0,7
150	-2,0	-3,0	-5,2	-7,2	-0,5	-0,8
153	-1,2 ^b	0,3 ^a	-3,6 ^b	1,7 ^a	-0,1 ^b	-0,2 ^a
156	-0,4	-0,8	-0,8	-1,8	-0,2	-0,3
157	-1,0	-1,5	-2,1	-3,4	-0,4	-0,5
158	-0,7	-0,8	-1,9	-2,0	-0,1	-0,2

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (25 mM) és DEA (12,5 mM); áramlási sebesség 0,6 mL perc⁻¹
hőmérséklet tartomány: ^a: 10–30 °C, ^b: 30–50 °C

F8. TáblázatBiciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	A	B	A	B	A	B
93ab	0,6	-1,3	2,2	-2,2	-0,1	-0,6
93cd	-0,8	1,6	-1,1	7,0	-0,5	-0,5
92ab	-1,6	-1,9	-4,2	-3,0	-0,3	-1,0
92cd	-1,1	-1,6	-1,9	-2,4	-0,5	-0,9

Kromatográfiás körülmények: kolonna: A: *ZWIX*(+), B: *ZWIX*(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM); áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹

F9. Táblázat β -Laktámok kromatográfiás adatai *Chirobiotic T* és *TAG* kolonnákon

Vegyület	Kolonna						Sorrend
	<i>Chirobiotic T</i>			<i>Chirobiotic TAG</i>			
	k_I	α	R_s	k_I	α	R_s	
132	2,79	1,48	4,64	10,04	1,69	3,31	$S < R$
133	3,34	1,52	3,67	12,51	1,78	4,21	$S < R$
134	2,63	1,64	4,59	8,10	1,99	5,56	$S < R$
135	3,32	1,46	3,14	13,16	1,63	3,84	$S < R$
136	3,50	1,39	3,00	12,31	1,63	4,28	$S < R$
137	3,69	1,56	3,95	13,44	2,03	6,27	$S < R$
138	3,42	1,52	2,78	16,19	1,99	3,91	–

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (60/40 v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F10. Táblázat

Biciklusos β -aminosavak és triciklusos β -laktámok kromatográfiás adatai *Chirobiotic T* és *TAG* kolonnákon fordított fázisú körülmények között

Vegyület	Mozgófázis	Állófázis	k_l	α	R_s	Sorrend
94	a	<i>T</i>	3,31	1,03	0,50	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	3,21	1,17	1,14	
95	a	<i>T</i>	3,12	1,27	2,85	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	3,58	1,70	5,00	
96	a	<i>T</i>	2,89	1,37	4,00	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	3,80	1,33	2,57	
127	a	<i>T</i>	0,98	1,19	1,71	1 <i>R</i> ,5 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,5 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	1,81	1,46	2,81	
128	a	<i>T</i>	0,89	1,00	0,00	–
	b	<i>TAG</i>	1,57	1,00	0,00	
129	a	<i>T</i>	0,87	1,07	0,70	1 <i>R</i> ,7 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,7 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	1,64	1,63	4,00	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **a**: 0,1% TEAA (pH=6,5)/MeOH (10/90 v/v), **b**: 0,1% TEAA (pH=6,5)/MeOH (30/70 v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL per⁻¹

F11. Táblázat

Biciklusos β -aminosavak és triciklusos β -laktámok kromatográfiás adatai *Chirobiotic* kolonnákon poláris-szerves és poláris-ionos körülmények között

Vegyület	Mozgófázis	Állófázis	k_l	α	R_s	Sorrend
94	a	<i>T</i>	6,24	1,06	0,68	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>T</i>	6,41	1,06	0,76	
	a	<i>TAG</i>	6,33	1,11	0,67	
	b	<i>TAG</i>	9,44	1,10	0,98	
	c	<i>TAG</i>	8,20	1,11	1,00	
	a	<i>R</i>	2,41	1,16	0,86	
	b	<i>R</i>	1,92	1,18	1,08	1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> <1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>
	b	<i>V</i>	0,99	1,09	0,91	
	b	<i>VAG</i>	1,05	1,13	1,67	
95	a	<i>T</i>	5,02	1,25	1,95	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>T</i>	5,19	1,34	2,10	
	a	<i>TAG</i>	6,03	1,90	4,33	
	b	<i>TAG</i>	7,84	1,71	3,85	
	c	<i>TAG</i>	6,77	1,77	3,92	
	a	<i>R</i>	2,80	1,78	4,25	1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> <1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>
	b	<i>R</i>	2,32	1,92	4,00	

F11. Táblázat (folytatás)

Biciklusos β -aminosavak és triciklusos β -laktámok kromatográfiás adatai *Chirobiotic* kolonnákon poláris-szerves és poláris-ionos körülmények között

Vegyület	Mozgófázis	Állófázis	k_I	α	R_s	Sorrend
96	a	<i>T</i>	5,42	1,46	3,46	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>T</i>	4,66	1,40	2,00	
	a	<i>TAG</i>	8,55	1,29	1,18	
	b	<i>TAG</i>	8,55	1,27	1,65	
	c	<i>TAG</i>	8,64	1,27	1,70	
	a	<i>R</i>	3,55	1,05	<0,40	-
	b	<i>R</i>	2,57	1,05	<0,40	1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> <1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>
	a	<i>V</i>	1,74	1,47	3,15	1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>
	b	<i>V</i>	1,32	1,56	3,18	
	a	<i>VAG</i>	0,79	1,24	2,08	
	b	<i>VAG</i>	1,60	1,12	2,50	
127	a	<i>T</i>	1,00	1,15	0,70	1 <i>R</i> ,5 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,5 <i>S</i>
	b	<i>T</i>	1,00	1,16	1,17	
	a	<i>TAG</i>	1,27	1,76	4,57	
	b	<i>TAG</i>	1,36	1,74	5,54	
128	a	<i>T</i>	0,87	1,00	0,00	–
	b	<i>T</i>	0,95	1,00	0,00	–
	a	<i>TAG</i>	1,09	1,09	1,09	1 <i>R</i> ,6 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,6 <i>S</i>
	b	<i>TAG</i>	1,12	1,08	0,50	
	b	<i>R</i>	0,19	1,21	0,52	–
129	a	<i>T</i>	0,88	1,09	0,77	1 <i>R</i> ,7 <i>R</i> <1 <i>S</i> ,7 <i>S</i>
	b	<i>T</i>	0,95	1,08	<0,40	
	c	<i>T</i>	0,95	1,08	0,80	
	a	<i>TAG</i>	1,11	1,58	3,56	
	b	<i>TAG</i>	1,13	1,60	1,79	
	c	<i>TAG</i>	1,14	1,59	2,93	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: **a**: MeOH 100%, **b**: MeOH/AcOH/TEA=100/0,01/0,01 (v/v/v), **c**: MeOH/AcOH/TEA=100/0,1/0,01 (v/v/v); áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F12. Táblázat β^2 -Aminosavak kromatográfiás adatai *Chirobiotic T*, *T2* és *TAG* kolonnákon

Vegyület	Állófázis	k_1	α	R_s
46	<i>T</i>	2,58	1,15	1,40
	<i>T2</i>	2,26	1,11	0,65
	<i>TAG</i>	4,66	1,07	0,70
47	<i>T</i>	2,34	1,15	1,20
	<i>T2</i>	2,00	1,08	1,00
	<i>TAG</i>	3,71	1,16	1,65
48	<i>T</i>	2,33	1,28	2,90
	<i>T2</i>	2,04	1,20	2,05
	<i>TAG</i>	4,32	1,31	2,75
49	<i>T</i>	2,33	1,26	1,90
	<i>T2</i>	2,09	1,17	1,30
	<i>TAG</i>	4,36	1,28	1,40
50	<i>T</i>	2,10	1,14	1,45
	<i>T2</i>	1,63	1,15	1,60
	<i>TAG</i>	3,36	1,22	3,00
51	<i>T</i>	2,20	1,32	2,10
	<i>T2</i>	1,89	1,27	2,20
	<i>TAG</i>	3,87	1,40	2,95
52	<i>T</i>	2,35	1,31	2,50
	<i>T2</i>	1,95	1,21	1,65
	<i>TAG</i>	4,64	1,38	3,10
56	<i>T</i>	2,22	1,25	2,95
	<i>T2</i>	2,14	1,14	1,45
	<i>TAG</i>	3,94	1,25	1,25
57	<i>T</i>	2,07	1,30	3,00
	<i>T2</i>	1,94	1,24	2,15
	<i>TAG</i>	3,66	1,76	3,20
58	<i>T</i>	2,58	1,25	2,85
	<i>T2</i>	2,40	1,19	1,75
	<i>TAG</i>	5,24	1,25	1,85
60	<i>T</i>	2,60	1,27	3,20
	<i>T2</i>	2,53	1,24	1,95
	<i>TAG</i>	5,40	1,44	3,35

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (30/70 v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F13. Táblázat β^2 - és β^3 -Aminosavak kromatográfiás adatai *Chirobiotic T*, *T2* és *TAG* kolonnákon

Vegyület	k_I			α		
	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>
46	2,58	2,26	4,66	1,14	1,00	1,07
62	2,00	1,52	3,30	1,00	1,00	1,00
47	2,34	2,00	3,71	1,15	1,08	1,16
63	2,50	1,44	3,32	1,04	1,06	1,00
50	2,10	1,63	3,36	1,14	1,14	1,20
64	1,97	1,29	3,23	1,07	1,06	1,00
52	2,35	1,95	4,64	1,32	1,19	1,40
70	2,10	1,66	3,83	1,00	1,07	1,00

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (30/70 v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F14. TáblázatCiklusos mono- és dihidroxi- β -aminosavak kromatográfiás adatai *Chirobiotic T*, *T2*, *TAG* és *R* kolonnákon

Vegyület	k_I				α			
	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>	<i>R</i>	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>	<i>R</i>
110ab	2,73	2,39	5,11	1,92	1,18	1,15	1,05	1,10
110cd	3,56	2,61	5,09	1,97	1,04	1,05	1,00	1,00
111ab	2,43	1,76	3,26	1,81	1,13	1,22	1,55	1,06
111cd	2,96	2,76	4,66	2,11	1,14	1,08	1,28	1,00
112ab	2,27	1,67	3,34	1,59	1,10	1,22	1,30	1,04
112cd	2,13	1,61	3,02	1,75	1,17	1,15	1,28	1,00
113ab	2,73	1,80	4,01	1,84	1,08	1,21	1,11	1,10
113cd	2,20	1,57	2,93	1,79	1,18	1,14	1,29	1,24

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (20/80 v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F15. Táblázat γ -Aminosavak kromatográfiás adatai *Chirobiotic T*, *T2*, *TAG* és *R* kolonnákon

Vegyület	k_I				α			
	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>	<i>R</i>	<i>T</i>	<i>T2</i>	<i>TAG</i>	<i>R</i>
139	8,96	3,46	19,75	2,87	1,07	1,13	1,00	1,00
140	6,65	5,85	11,90	4,47	1,00	1,00	2,67	1,04
141	5,70	5,68	31,90	6,45	1,25	1,25	1,00	1,19

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F16. Táblázat

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak kromatográfiás adatai *Chirobiotic*
T, *T2*, *TAG*, *V* és *VAG* kolonnákon fordított fázisú körülmények között

Vegyület	Állófázis	k_l	α	R_s	Sorrend
102ab	<i>T</i>	4,76	1,07	0,80	<i>a</i><<i>b</i>
	<i>T2</i>	2,96	1,16	1,65	
	<i>TAG</i>	4,76	1,33	3,25	
102cd	<i>T</i>	7,51	1,01	0,20	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>T2</i>	8,16	1,04	0,65	
	<i>TAG</i>	8,20	1,02	0,20	<i>c</i><<i>d</i>
103ab	<i>T</i>	3,75	1,07	1,00	<i>a</i><<i>b</i>
	<i>T2</i>	2,28	1,24	2,60	
	<i>TAG</i>	6,95	1,03	0,40	
103cd	<i>T</i>	6,52	1,00	0,00	–
	<i>T2</i>	6,64	1,03	0,6	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>TAG</i>	6,95	1,03	0,4	<i>c</i><<i>d</i>
104ab	<i>T</i>	5,01	1,17	1,45	<i>a</i><<i>b</i>
	<i>T2</i>	3,66	1,00	0,00	–
	<i>TAG</i>	5,66	1,09	0,85	<i>b</i><<i>a</i>
	<i>V</i>	0,98	1,36	2,95	
	<i>VAG</i>	1,18	1,31	2,70	
104cd	<i>T</i>	5,71	1,02	0,30	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>T2</i>	3,23	1,14	1,65	
	<i>TAG</i>	5,75	1,24	2,15	<i>c</i><<i>d</i>
	<i>V</i>	0,78	1,13	0,80	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>VAG</i>	1,63	1,06	0,60	
105ab	<i>T</i>	4,82	1,17	1,65	<i>a</i><<i>b</i>
	<i>T2</i>	3,72	1,00	0,00	–
	<i>TAG</i>	4,91	1,18	2,15	<i>b</i><<i>a</i>
	<i>V</i>	0,92	1,35	2,60	
	<i>VAG</i>	1,08	1,31	3,00	
105cd	<i>T</i>	4,50	1,08	1,10	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>T2</i>	2,88	1,14	1,55	
	<i>TAG</i>	4,60	1,27	2,50	<i>c</i><<i>d</i>
	<i>V</i>	0,71	1,08	0,50	<i>d</i><<i>c</i>
	<i>VAG</i>	1,47	1,05	0,55	

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: a: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F17. Táblázat

Monoterpénvázas ciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata
Chirobiotic T és TAG oszlopon

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	<i>T</i>	<i>TAG</i>	<i>T</i>	<i>TAG</i>	<i>T</i>	<i>TAG</i>
98ab	-0,6	-1,0	-1,2	-2,2	-0,3	-0,4
98cd	-0,6	0,0	-1,9	0,0	-0,1	0,0
99ab	-0,9	-0,8	-2,2	-1,3	-0,3	-0,4
100ab	-0,5	-1,0	-1,5	-2,7	-0,1	-0,2
101ab	1,5	-3,3	6,1	-10,2	-0,3	-0,3

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v);
 áramlási sebesség 0,5 mL perc⁻¹

F18. Táblázat

Izoxazolingyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai
 adata *Chirobiotic T és TAG oszlopon*

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]		$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]		$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]	
	<i>T</i>	<i>TAG</i>	<i>T</i>	<i>TAG</i>	<i>T</i>	<i>TAG</i>
102ab	-1,2	-3,5	-3,7	-9,5	-0,2	-0,8
102cd	-0,7	-0,2	-2,2	-0,4	<-0,1	-1,0
103ab	-1,6	-2,1	-4,7	-5,8	-0,2	-0,5
103cd	-0,6	-0,2	-2,0	-0,5	<-0,1	-0,1
104ab	-3,2	1,2	-9,4	4,7	-0,5	-0,2
104cd	-0,3	-0,8	-1,0	-0,7	-0,1	-0,5
105ab	-2,0	-0,6	-6,2	-0,6	-0,3	-0,4
105cd	0,8	1,0	2,2	1,3	0,2	0,6

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F19. Táblázat

Biciklusos β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata *Chirobiotic R oszlopon*

Vegyület	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]	$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]	$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]
92ab	0,1	2,3	-0,6
92cd	-0,9	-1,4	-0,5
93cd	-0,5	-0,2	-0,4

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (50/50 v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F20. Táblázat

Limonénvázás β -aminosavak néhány jellemző termodinamikai adata *Chirobiotic TAG* oszlopon

Vegyület	Mozgófázis	$\Delta(\Delta H^\circ)$ [kJ mol ⁻¹]	$\Delta(\Delta S^\circ)$ [J mol ⁻¹ K ⁻¹]	$\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ [kJ mol ⁻¹]
97ab	a	-2,2	-6,3	-0,4
97cd	b	1,9	7,2	-0,2
	a	0,4	6,3	-0,2
97ef	b	0,5*	2,8*	-0,3*
97gh	b	2,5	11,3	-0,8

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: MeOH/AcOH/TEA, **a**: 100/0,01/0,01 (v/v/v), **b**: 100/0,1/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség: 0,8 mL perc⁻¹; *: 25 °C felett volt elválasztható

F21. Táblázat

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása szekunder α -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

Vegyület	Kolonna	k_I	α	R_S	Mozgófázis	Irodalom
36	<i>ZWIX</i> (+)	1,91	1,16	1,30	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>ZWIX</i> (-)	1,33	1,30	1,70	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>T</i>	1,28	1,07	0,53	H ₂ O/MeOH (20/80 v/v)	[104]
	<i>T</i>	0,75	1,35	1,42	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (20/80 v/v)	[103]
	<i>TAG</i>	1,85	1,10	0,70	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>R</i>	0,39	1,57	1,46	H ₂ O/MeOH (50/50 v/v)	[104]
37	<i>ZWIX</i> (+)	0,62	1,00	0,00	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>ZWIX</i> (-)	0,40	1,00	0,00	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>T</i>	0,55	1,31	1,43	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[104]
	<i>T</i>	6,96	1,32	1,70	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (20/80 v/v)	[103]
	<i>TAG</i>	6,63	1,68	2,40	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>R</i>	2,09	1,32	1,03	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (30/70 v/v)	[104]

F21. Táblázat (folytatás)

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása
szekunder α -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

Vegyület	Kolonna	k_I	α	R_S	Mozgófézis	Irodalom
38	<i>ZWIX</i> (+)	1,03	1,39	1,60	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA and 50 mM FA	E5
	<i>ZWIX</i> (-)	0,43	1,00	0,00	MeOH/MeCN (50/50 v/v) + 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>T</i>	0,59	1,80	2,72	0,1% TEAA(pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[104]
	<i>T</i>	2,33	1,39	1,70	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>TAG</i>	2,54	2,00	2,30	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>R</i>	1,64	1,35	1,40	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (20/80 v/v)	[104]
39	<i>ZWIX</i> (+)	1,96	1,15	1,20	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>ZWIX</i> (-)	1,67	1,29	1,90	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>T</i>	1,24	1,88	3,19	H ₂ O/MeOH (20/80 v/v)	[104]
	<i>T</i>	0,21	2,76	2,56	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>TAG</i>	1,86	2,24	2,80	0,1% TEAA (pH 6,5)/ MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>R</i>	0,51	1,44	1,60	H ₂ O/MeOH (40/60 v/v)	[104]
40	<i>ZWIX</i> (+)	2,34	1,00	0,00	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>ZWIX</i> (-)	2,14	1,14	1,40	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM DEA és 50 mM FA	E5
	<i>T</i>	0,45	1,96	2,24	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>TAG</i>	2,80	3,14	3,26	0,1% TEAA (pH 6,5)/MeOH (60/40 v/v)	[103]
	<i>R</i>	0,74	1,57	2,23	0,1% TEAA(pH 6,5)/MeOH (50/50 v/v)	[104]

F22. Táblázat

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása β -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

Vegyület	Kolonna	k_I	α	R_S	Mozgófázis	Irodalom
62	<i>ZWIX</i> (-)	6,02	1,34	4,32	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TBA és 50 mM AcOH	E22
	<i>ZWIX</i> (+)	6,80	1,05	1,04	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	3,38	1,69	2,62	0,1 % TEAA (pH 4,1)/MeOH (20/80 v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	4,01	1,11	0,48	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	3,47	1,16	1,48	MeOH/AcOH/TEA (100/0,4/0,1 v/v/v) (5 °C)	[120]
	<i>V</i>	0,70	1,13	0,80	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[121]
63	<i>ZWIX</i> (-)	5,55	1,42	5,35	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TPA és 50 mM	E22
	<i>ZWIX</i> (+)	5,91	1,14	2,11	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	2,85	1,16	1,05	H ₂ O/MeOH (5/95 v/v)	[120]
	<i>TAG</i>	2,06	1,64	1,26	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	2,66	1,23	1,52	MeOH/AcOH/TEA (100/0,4/0,1 v/v/v) (5 °C)	[120]
64	<i>ZWIX</i> (-)	4,81	1,49	4,19	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TBA és 50 mM AcOH	E22
	<i>ZWIX</i> (+)	4,99	1,32	2,78	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	1,91	1,23	1,55	H ₂ O/MeOH (10/90 v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	1,97	1,21	0,75	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	0,93	1,23	1,38	H ₂ O/MeOH (95/5 v/v) (5 °C)	[120]

F22. Táblázat (folytatás)

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása β -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

65	<i>ZWIX</i> (-)	3,29	1,86	5,50	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	3,37	1,54	6,49	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	1,44	1,19	1,47	0,1 % TEAA (pH 4,1)/MeOH (10/90 v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	5,77	1,06	0,40	H ₂ O/MeOH (0/100 v/v)	[119]
	<i>R</i>	1,26	1,25	1,43	H ₂ O/MeOH (95/5 v/v)	[120]
66	<i>ZWIX</i> (-)	4,64	1,57	5,25	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	4,55	1,27	1,72	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	2,27	1,21	0,93	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	2,06	1,10	0,47	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
67	<i>ZWIX</i> (-)	3,90	1,73	5,30	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	4,75	1,40	4,29	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	3,26	1,13	1,35	H ₂ O/MeOH (0/100 v/v)	[120]
	<i>T</i>	3,26	1,13	1,35	H ₂ O/MeOH (0/100 v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	1,90	1,11	0,71	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	1,17	1,17	1,00	H ₂ O/MeOH (90/10 v/v)	[120]

F22. Táblázat (folytatás)

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása β -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

68	<i>ZWIX</i> (-)	5,20	1,45	3,17	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	5,53	1,19	2,62	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	1,60	1,16	1,45	H ₂ O/MeOH (10/90 v/v)	[120]
	<i>TAG</i>	2,11	1,08	0,50	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	1,27	1,07	<0,4	MeOH/AcOH/TEA (100/0,4/0,1 v/v/v)	[120]
69	<i>ZWIX</i> (-)	5,39	1,08	0,70	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	6,04	1,06	1,05	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	2,66	1,24	0,97	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>TAG</i>	3,39	1,15	0,40	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	1,93	1,11	0,63	H ₂ O/MeOH (95/5 v/v)	[120]
70	<i>ZWIX</i> (-)	5,14	1,60	5,73	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	6,70	1,25	3,69	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	3,90	1,06	0,83	H ₂ O/MeOH (10/90 v/v)	[118]
	<i>T2</i>	2,08	1,17	1,00	MeOH/AcOH/TEA (100/0,01/0,01 v/v/v)	[121]
	<i>TAG</i>	2,99	1,00	0,00	MeOH/AcOH/TEA (100/0,1/0,1 v/v/v)	[119]
	<i>R</i>	2,61	1,25	1,54	MeOH/AcOH/TEA (100/0,4/0,1 v/v/v) (5 °C)	[120]

F22. Táblázat (folytatás)

Cinkóna alkaloid és makrociklusos antibiotikum alapú kolonnák összehasonlítása β -aminosavak enantiomereinek elválasztásán keresztül

71	<i>ZWIX</i> (-)	6,92	1,36	3,57	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>ZWIX</i> (+)	7,62	1,10	1,35	MeOH/MeCN (50/50 v/v) és 25 mM TEA és 50 mM AcOH	E10
	<i>T</i>	1,72	2,53	2,88	H ₂ O/MeOH (10/90 v/v)	E10
	<i>TAG</i>	7,98	1,20	1,37	H ₂ O/MeOH (10/90 v/v)	[119]

F23. Táblázat

1-Naftol analógok kromatográfiás adatai *CelluCoat* és *Chiralcel OD-H* kolonnákon

Vegyület	<i>CelluCoat</i>				<i>Chiralcel OD-H</i>			
	k_1	k_2	α	R_S	k_1	k_2	α	R_S
191	1,39	4,00	2,87	13,40	1,43	3,96	2,77	9,95
192	1,39	3,14	2,25	8,70	1,45	3,12	2,15	7,45
193	1,95	3,31	1,70	7,10	1,98	3,19	1,61	5,10
194	1,07	2,36	2,20	8,45	1,09	2,26	2,07	6,45
195	1,32	2,62	1,98	8,00	1,39	2,59	1,86	5,75
196	1,44	2,88	2,00	8,55	1,52	2,86	1,88	5,40
197	1,39	3,81	2,74	13,4	1,44	3,91	2,72	9,95
198	1,63	2,71	1,66	5,30	1,67	2,69	1,61	4,30
199	1,28	2,77	2,16	8,30	1,40	2,96	2,11	6,35
200	1,37	2,66	1,94	8,40	1,57	3,13	1,99	7,15

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-hexán/IPA/DEA (40/60/0,1 v/v/v);
áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹

F24. Táblázat2-Naftol analógok kromatográfiás adatai *CelluCoat* és *Chiralcel OD-H* kolonnákon

Vegyület	<i>CelluCoat</i>				<i>Chiralcel OD-H</i>			
	k_1	k_2	α	R_S	k_1	k_2	α	R_S
201	0,74	2,22	2,97	11,2	0,75	2,51	3,35	4,15
202	0,70	1,96	2,80	9,30	0,71	2,25	3,17	8,10
203	0,98	2,39	2,43	8,90	0,98	2,73	2,79	8,00
204	0,67	2,01	3,00	10,9	0,68	2,33	3,43	9,00
205	0,73	2,11	2,87	9,30	0,75	2,43	3,24	8,45
206	0,79	2,21	2,80	9,90	0,81	2,55	3,15	8,6
207	1,11	2,57	2,31	9,25	1,17	2,98	2,55	6,65
208	0,80	2,03	2,53	9,25	0,81	2,29	2,83	7,90
209	1,07	2,13	1,97	6,70	1,07	2,32	2,17	5,35
210	0,84	2,09	2,49	9,25	0,89	2,55	2,87	8,50
211	0,85	2,14	2,52	8,60	0,90	2,49	2,77	7,70
212	0,71	1,00	1,41	2,05	0,72	1,07	1,49	1,95
213	0,65	0,99	1,53	3,00	0,67	1,07	1,59	2,40
214	0,63	1,01	1,60	3,15	0,65	1,08	1,67	3,00
215	0,60	1,01	1,68	2,95	0,62	1,09	1,76	2,90
216	0,55	1,00	1,82	4,30	0,57	1,06	1,86	3,70

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-hexán/IPA/DEA (40/60/0,1 v/v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹;

F25. Táblázat2-Naftol analógok kromatográfiás adatai *AmyCoat* és *CelluCoat* kolonnákon

Vegyület	<i>CelluCoat</i>			<i>AmyCoat</i>		
	k_1	α	R_S	k_1	α	R_S
217ab	0,87	1,08	0,50	1,02	1,12	1,15
217cd	1,00	1,18	0,85	1,49	1,84	8,75
218ab	1,68	1,72	5,40	0,95	1,25	2,60
218cd	1,81	1,38	3,75	1,26	1,53	4,10
219ab	0,59	1,12	0,70	1,39	1,16	1,75
219cd	0,97	1,06	0,45	1,02	1,15	1,10
220ab	3,61	1,85	10,00	3,07	1,07	0,80
220cd	5,64	1,34	5,50	3,62	1,19	1,45
221ab	8,27	1,29	5,00	1,78	2,18	9,55
221cd	9,79	1,58	9,70	2,82	3,32	16,05

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-heptán/IPA/DEA (95/5/0,1 v/v/v);
 áramlási sebesség: 0,5 mL perc⁻¹;

F26. Táblázat β -Laktámok kromatográfiás adatai *AmyCoat* és *CelluCoat* kolonnákon

Vegyület	<i>CelluCoat</i>			<i>AmyCoat</i>		
	k_I	α	R_S	k_I	α	R_S
120	1,28	1,00	0,00	1,65	1,24	2,40
121	1,54	1,05	<0,1	1,74	1,00	0,00
122	2,11	1,09	1,15	1,97	1,09	0,90
123	1,71	1,00	0,00	1,74	1,13	1,50
124	1,63	1,00	0,00	1,81	1,14	1,45
125	1,54	1,05	<0,1	1,49	1,40	3,75
126	1,72	1,04	0,30	1,66	1,25	2,70
127	2,50	1,31	4,00	2,46	1,98	11,30
128	2,23	1,11	1,45	2,39	1,30	3,80
129	2,50	1,52	7,40	3,79	1,56	8,65
130	1,24	1,15	1,55	2,00	1,02	<0,1
131	1,47	1,13	1,50	1,95	1,07	0,80
132	3,30	1,00	0,00	2,40	1,02	<0,1
133	2,55	1,20	2,80	2,21	1,05	0,45
134	3,03	1,10	1,40	2,01	1,21	2,75
135	3,33	1,12	1,85	2,33	1,00	0,00
136	3,64	1,00	0,00	2,55	1,13	1,80
137	3,67	1,06	1,15	2,43	1,09	1,25
138	3,96	1,06	0,90	2,60	1,15	2,15

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-heptán/IPA (90/10 v/v); áramlási sebesség 0,5 mL perc⁻¹

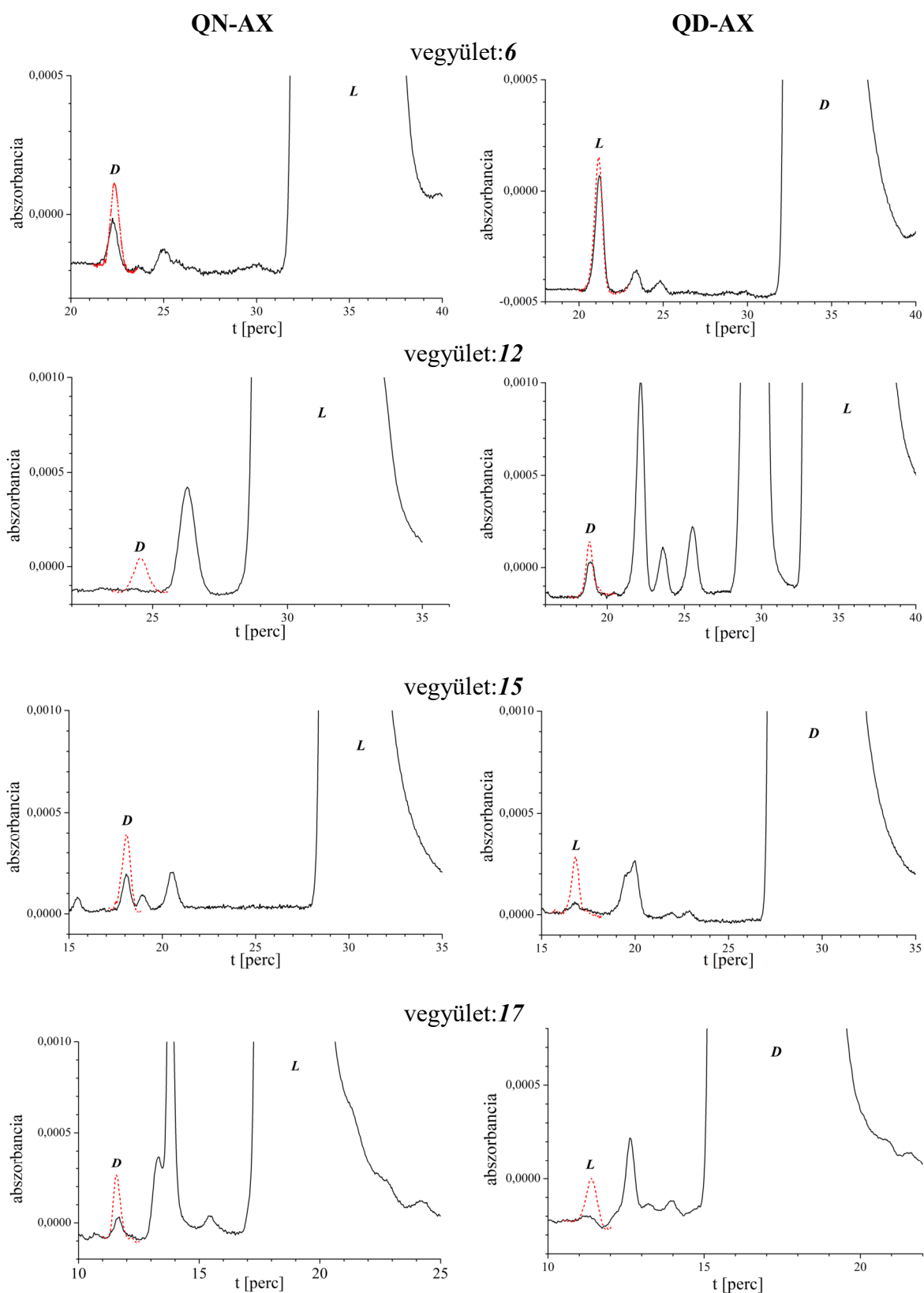
F27. Táblázat

Ciklusos β -aminosavak és fluorozott származékaik kromatográfiás adatai poliszacharid alapú kolonnákon

Vegyület	k_I					α				
	ÁF1	ÁF2	ÁF3	ÁF4	ÁF5	ÁF1	ÁF2	ÁF3	ÁF4	ÁF5
114ab	0,47	1,13	0,33	1,13	1,48	3,06	1,08	1,00	1,22	1,36
115ab	0,71	1,11	0,71	1,26	1,87	1,48	2,42	1,26	1,59	1,39
116ab	0,25	0,29	0,17	0,40	0,88	1,00	1,00	1,00	1,00	1,57
116cd	0,34	0,37	0,18	0,56	1,95	1,00	1,40	1,00	1,29	1,38
117ab	0,60	0,42	0,41	0,52	1,08	1,00	1,79	1,00	1,00	1,14
117cd	0,46	0,41	0,58	1,01	2,91	1,21	2,06	1,00	1,00	1,88
117ef	0,59	0,61	0,47	0,81	2,16	1,00	3,01	1,00	1,77	1,79
117gh	0,67	0,80	0,40	0,91	2,53	1,00	1,00	1,00	1,00	1,12

Kromatográfiás körülmények: mozgófázis: *n*-hexán/IPA/DEA (90/10/0,1 v/v/v);
 áramlási sebesség: 1 mL perc⁻¹; ÁF1: Lux Cellulose-1, ÁF2: Lux Cellulose-2, ÁF3: Lux Cellulose-3,
 ÁF4: Lux Cellulose-4, ÁF5: Lux Amylose-1

Kromatogramok



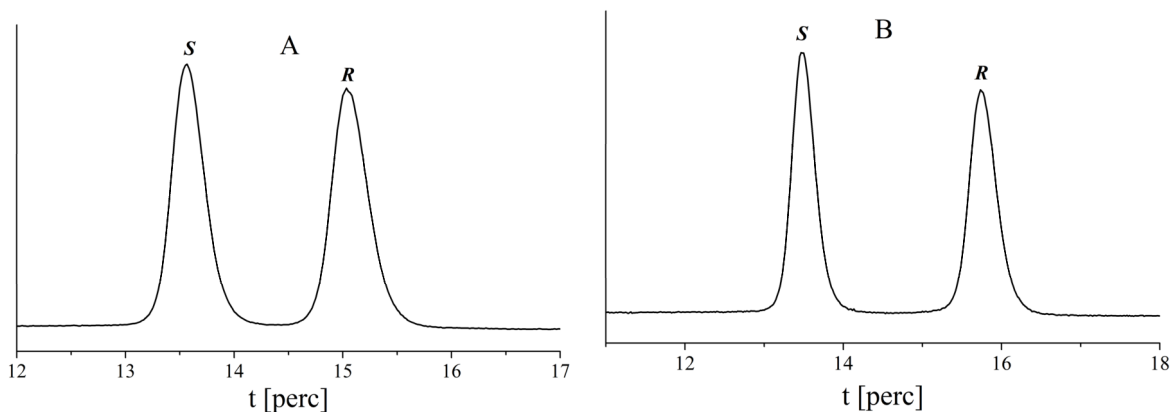
F1. ábra

Izomer szennyezést (0,01 %) tartalmazó *N*-védett fehérjealkotó aminosavak kromatogramjai anioncserélő QN-AX és QD-AX kolonnákon

Kromatográfiai körülmények: mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (30 mM) és TEA (15 mM);

áramlási sebesség: 0,6 mL perc⁻¹; UV-detektálás: 262 nm;

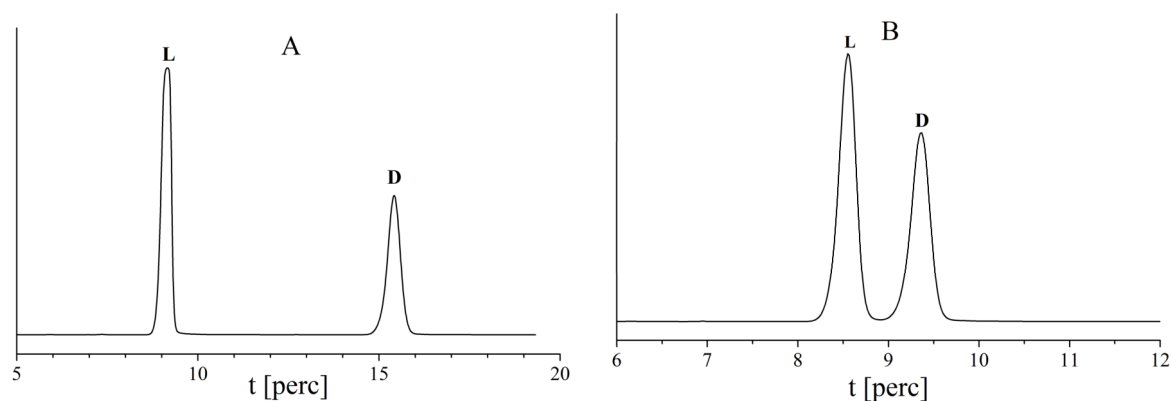
folyamatos vonal: kereskedelmi forgalomban kapható vegyület kromatogramja;
szaggatott vonal: 0,01%-nyi hozzáadott izomert tartalmazó minta kromatogramja



F2. ábra

 β -Karbolinok elválasztása DCL-RR kationcserélő állófázison

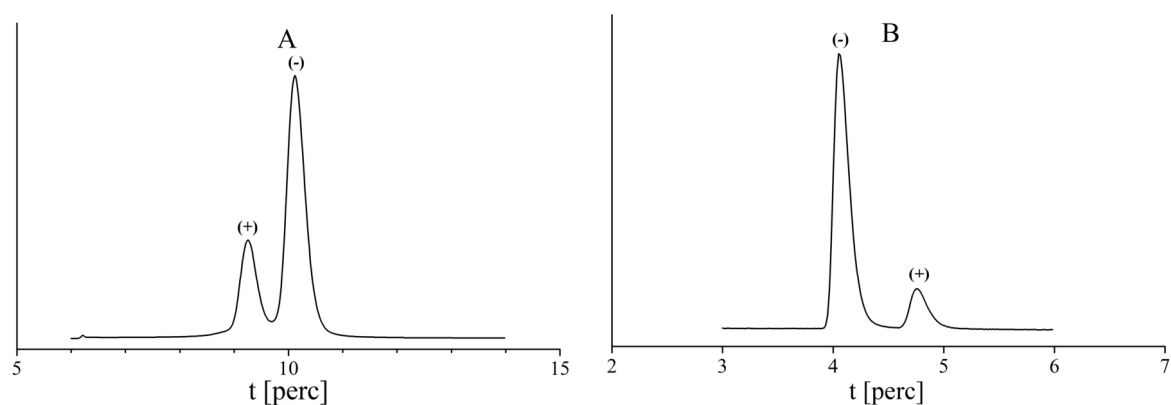
Kromatográfiai körülmények: mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (100 mM) és TEA (50 mM),
vegyület: A: **144**; B: **148**



F3. ábra

N-védett fehérjealkotó aminosavak elválasztása QD-AX anioncserélő állófázison

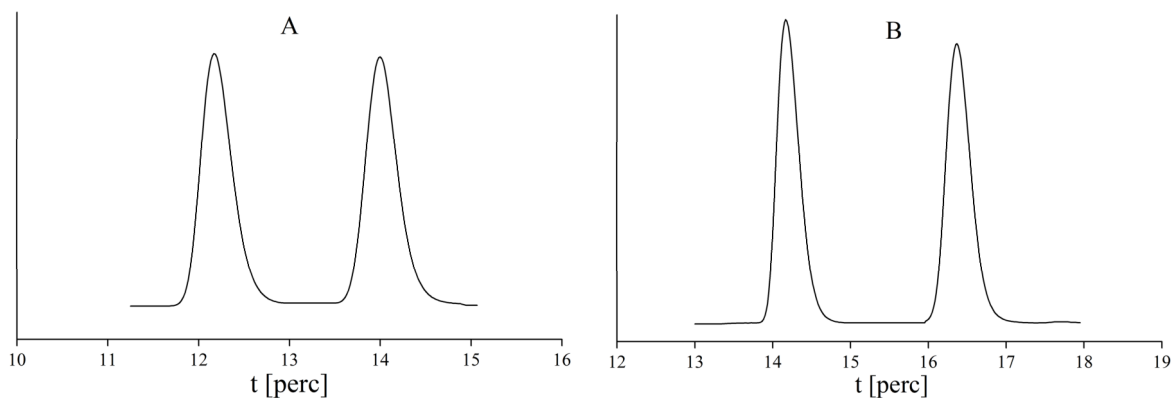
Kromatográfiai körülmények: mozgófázis: MeOH/MeCN (75/25 v/v) és FA (60 mM) és TEA (30 mM),
A: **2**; B: **8**



F4. ábra

Paroxetin elválasztása ikerionos állófázisokon

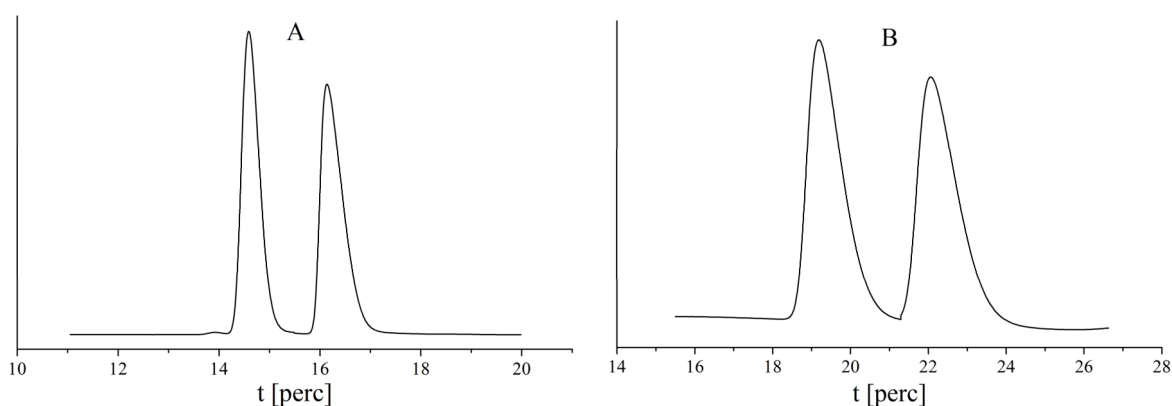
Kromatográfiai körülmények: kolonna: A: ZWIX(+A); B: ZWIX(-A); mozgófázis: A: MeOH/THF (20/80 v/v) és FA (50 mM) és DEA (25 mM); B: (80/20 v/v) és FA (50 mM) és DEA (25 mM)



F5. ábra

 β^2 -aminosavak elválasztása ikerionos állófázisokon

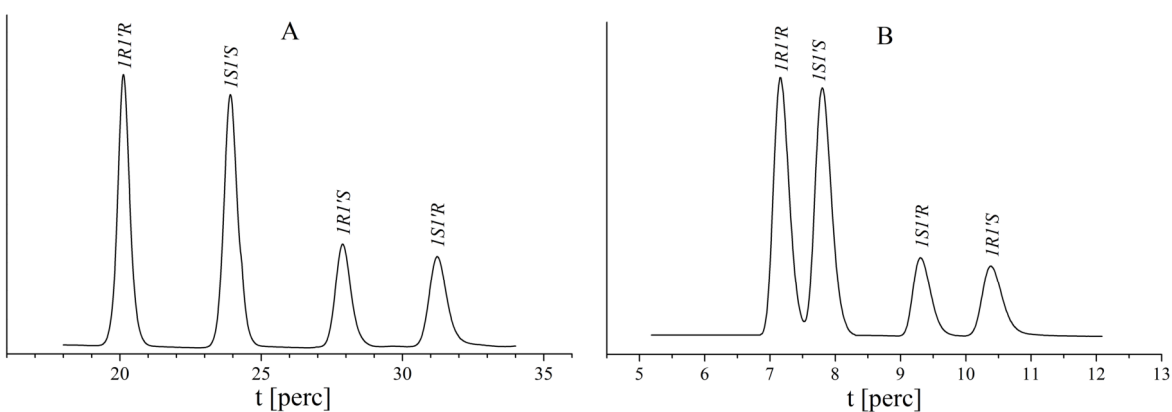
Kromatográfiai körülmények: kolonna: A: ZWIX(+), B: ZWIX(-); mozgófázis: MeOH/MeCN (50/50 v/v) és AcOH (50 mM) és TEA (25 mM), vegyület: A: **51**; B: **52**



F6. ábra

Monoterpénvázú ciklusos β -aminosavak elválasztása makrociklusos antibiotikum alapú állófázisokon

Kromatográfiai körülmények: A: kolonna: Chirobiotic T, mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (10/90 v/v); vegyület: **98ab**; B: kolonna: Chirobiotic TAG, mozgófázis: 0,1% TEAA (pH=4,1)/MeOH (40/60 v/v); vegyület: **99**



F7. ábra

2-Naftol analógok elválasztása poliszacharid alapú állófázisokon

Kromatográfiai körülmények: A: kolonna: CelluCoat; mozgófázis: *n*-heptán/MeOH/DEA (98/2/0,1 v/v/v); vegyület: **220**; B: kolonna: AmyCoat; mozgófázis: *n*-heptán/IPA/DEA (95/5/0,1 v/v/v); vegyület: **219**