

AKADÉMIAI DOKTORI ÉRTEKEZÉS

ENATIOMEREK ELVÁLASZTÁSA
KAPILLÁRIS TECHNIKÁKKAL (GC, SFC ÉS EKC)

JUVANCZ ZOLTÁN

VÍZGAZDÁLKODÁSI TUDOMÁNYOS KUTATÓ RT.
VÍZMINŐSÉGVÉDELMI INTÉZET

BUDAPEST
2002

1859

B 3859



1. BEVEZETÉS	1
2. CÉLKITŰZÉSEK	3
3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
3.1. Királis molekulák tulajdonságai.....	5
3.1.1. Királis molekulák definíciója.....	5
3.1.2. Enantiomerek eltérő biológiai tulajdonságai.....	5
3.1.3. Enantiomerek arányának és szerkezetének meghatározása.....	6
3.1.4. Kromatográfia előnyei az enantiomerarány meghatározásában	7
3.2. Enantiomer-szelektív kromatográfia	8
3.2.1. Királis kromatográfia definíciói és alapfogalmai.....	8
3.2.2. Királis elválasztási módszereinek felosztása és az egyes módok jellemzői	10
3.2.3. Kromatográfias királis elválasztások mechanizmusa.....	12
3.2.4. Az akirális származékképzés szerepe az enantiomer elválasztásokban	12
3.3. Királis kromatográfia gyakorlata	13
3.3.1. Királis gázkromatográfia	14
3.3.1.1. Oszlopok	14
3.3.1.2. Mozgó fázisok	14
3.3.1.3. Királis állófázisok.....	14
3.3.1.3.1. Ciklodextrin alapú királis állófázisok.....	16
3.3.1.3.2. Aminosavat tartalmazó királis állófázisok.....	17
3.3.1.3.3. Egyéb királis szelektorokat tartalmazó királis állófázisok.....	18
3.3.1.4. Elemzések hőmérséklete.....	18
3.3.1.5. Akirális származékképzés	18
3.3.2. Királis folyadékkromatográfia	19
3.3.3. Királis, szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia	19
3.3.3.1. Oszlopok	20
3.3.3.2. Mozgófázisok.....	21
3.3.3.3. Királis állófázisok.....	21
3.3.3.4. Elemzések hőmérséklete.....	22
3.3.3.5. Akirális származékképzés	22
3.3.4. Királis, kapilláris elektrokinetikus kromatográfia.....	23
3.3.4.1. Kapilláris elektroforézis alapjai.....	23
3.3.4.2. Királis kapilláris elektrokinetikus kromatográfia speciális tulajdonságai	25
3.3.4.2.1. Ellenáramú technika	27
3.3.4.2.2. Vándorlási sorrend megfordítása.....	27
3.3.4.3. Oszlopok	28
3.3.4.4. Háttér elektrolitok.....	28
3.3.4.5. Királis szelektorok.....	29
3.3.4.5.1. Ciklodextrinek	29
3.3.4.5.2. Makrociklusos antibiotikumok.....	31
3.3.4.6. Elemzések hőmérséklete.....	32
3.3.4.7. Akirális származékképzés	32
4. KISÉRLETI RÉSZ.....	34
4.1. Felhasznált anyagok	34
4.2. Alkalmazott műszerek	36
4.2. Alkalmazott műszerek	36
4.3. Eljárások	36
5. EREDMÉNYEK.....	38
5.1. Enantiomer-szelektív állófázisokkal elért eredmények.....	38

5.1.1. Kémiaailag kötött, permetilezett β -ciklodextrint tartalmazó, királis állófázis (Chrasil-Dex).....	38
5.1.2. S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamidot tartalmazó királis állófázis (ChNEB)	53
5.1.3. (1 <i>R</i> -transz)- <i>N,N'</i> -1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot-csoportot tartalmazó királis állófázis	59
5.1.4. Cellulóz származékokat tartalmazó királis állófázisok	65
5.1.5. Kis átmérőjű oszlopok használatával elért eredmények és megfigyelések	71
5.1.6. Enantiomer szelektív állófázisok terhelhetősége	71
5.1.7. Szelektivitási különbségek GC és SFC között a királis kromatográfiában	73
5.1.8.1. CSP királis szelektor tartalma	74
5.1.8.2. CSP komponenseinek polaritása	76
5.1.8.3. Királis szelektor merevsége	77
5.1.8.4. Királis rész kémiai kötése a sziloxán polimerhez.....	77
5.1.8.5. Térhálósítás hatása.....	78
5.2. A Királszelektív elektrokinetikus kromatográfiában elért eredmények.....	80
5.2.1. Ciklodextrin foszfátok	80
5.2.2. Permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD).....	85
5.2.3. 2,3-dimetil-6-amino- β -ciklodextrin (β -HDMACD).....	90
5.2.4. A disopyramid királis analízise	95
5.2.4.1. Metil-csoporttal szubsztituált ciklodextrinek	95
5.2.4.2. Alkil-karboxil-szubsztituált ciklodextrinek	96
5.2.4.3. Ciklodextrin foszfátok	97
5.2.5. Metoprolol enantiomerjeinek és gyártási melléktermékeinek elválasztása.....	98
5.2.5.1. Kabroxilmetil-szubsztituált ciklodextrinek.....	99
5.2.5.2. Ciklodextrin foszfátok	99
5.2.6. Tocainid királis analízise	102
5.2.6.1. Ciklodextrin foszfátok	102
5.2.6.2. Alkil-karboxil-szubsztituált ciklodextrinek	103
5.2.6.3. Metil-csoporttal szubsztituált β -ciklodextrinek	104
5.2.7. Piretroidsavak enantiomerjeinek elválasztása.....	105
5.2.8. Az injektált oldat hatása a felbontásra.....	108
5.3. A ciklodextrinek szerepe az enantiomerszelektív elválasztásokban	112
5.3.1. A Ciklodextrin királis szelektorok használata.....	112
5.3.1.1. Gázkromatográfia	113
5.3.1.2. Szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia	114
5.3.1.3. Folyadékkromatográfia	114
5.3.1.4. Elektrokinetikus kromatográfia.....	115
5.3.2. A Ciklodextrinek széleskörű királis felismerésének háttere.....	115
6. ÖSSZEFOGLALÓ ÉRTÉKELES	120
6.1. Királis állófázisokkal elért eredmények	120
6.1.1. Permetilezett β -ciklodextrint tartalmazó sziloxán polimer királis állófázis (Chrasil-Dex).....	120
6.1.2. S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamidot tartalmazó, királis állófázis (ChNEB)	121
6.1.3. (1 <i>R</i> -transz)- <i>N,N'</i> -1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot-csoportot tartalmazó királis állófázis (ChDA).....	122
6.1.4. Cellulóz-származékokat tartalmazó királis állófázisok	122
6.1.5. Az enantiomer-szelektív állófázisok terhelhetősége	123
6.1.6. Kölcsönhatási mechanizmus különbségek a GC és az SFC között a királis kromatográfiában	123
6.1.7. A királis állófázisok optimális összetétele a kapilláris GC és SFC gyakorlatában....	123

III

6.2. Királis elektrokinetikus kromatográfiában elért eredmények.....	124
6.2.1. Ciklodextrin foszfátok	124
6.2.2. Permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD)	125
6.2.3. 2,3-dimetil-6-amino - β -ciklodextrin (β -HDMACD).....	125
6.2.4. A disopyramid királis analízise	126
6.2.5. Metoprolol enantiomerjeinek és gyártási melléktermékeinek elválasztása	126
6.2.6. Tocainid királis analízise	127
6.2.7. Piretroidsavak enantiomerjeinek elválasztása.....	127
6.3. A ciklodextrinek szerepe enantiomer-szelektív elválasztásokban	128
6.3.1. A ciklodextrineket használó királis kromatográfia adatai	128
6.3.2. Ciklodextrinek széleskörű királis felismerőképességének magyarázata	128
7 IRODALOMJEGYZÉK.....	130
8.ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE:.....	137

1. BEVEZETÉS

Az optikai izomerek (enantiomerek) rendkívül hasonló szerkezetük ellenére gyakran eltérő biológiai hatásúak.

Az enantiomer párok eltérő hatása miatt az enantiomer-tiszta termék gyártása ma már alapvető követelmény a gyógyszeriparban. A téma jelentőségét mutatja, hogy az enantiomer-szelektív szintézisek kutatását 2001-ben kémiai Nobel díjjal jutalmazták. Az enantiomer-szelektív szintézisek, a rezolválások, a királis molekulák metabolizmusának kutatása avagy hamisítások felderítése megkívánják a pontos enantiomer-szelektív elemzéseket is.

Kutatásaim központi témájaként a terület gyakorlati jelentősége és a még megoldandó tudományos kérdésekre való tekintettel az enantiomer-szelektív analíziseket választottam. Kromatográfias eljárásokat használtam az enantiomer arányok meghatározására, mivel ennek a módszernek egyedülálló előnyei vannak ezen a téren. Munkám során a kapilláris oszlopokkal elérhető elválasztásokra koncentráltam. A kapilláris oszlopok oly nagy hatékonyság elérését teszik lehetővé, amely kompenzálni tudja az ilyen oszlopok mérsékeltebb szelektivitását az elválasztásokban a töltetes oszlopokéhoz képest. Ennek értelmében, dolgozatomban gázkromatográfias, szuperkritikus halmazállapotú kromatográfias és elektrokinetikus kromatográfias analíziseket végeztem.

Tematikailag három csoportra oszlanak eredményeim:

1. Kutatásaim jelentős részét a szintetikus vegyészek és a metabolizmus kutatók igényeinek kielégítése céljából végeztem. Ezekben az esetekben a vizsgált vegyület enantiomer arányának meghatározására alkalmas módszer kifejlesztését tűztem ki célul. Ilyen céllal végeztem királis analitikai módszerfejlesztést, például feniletíl-amin származékokra, metoprolol és gyártási melléktermékeire és piretroidsavakra. Arra törekedtem, hogy az optikai izomerek megfordítható elúciós vagy vándorlási sorrendben is analizálhatóak legyenek, így meghatározási pontosságuk bármelyik izomer nagy feleslege esetén is kielégítő.
2. Kutatásaim során bevezetett új királis szelektorok (állófázisok, elektrolit adalékok) jellemzése, felhasználási körének meghatározása fontos részét képezte munkámnak. Az új szelektorokkal elsősorban az eddig még megfelelően el nem választott optikai izomerek arányának meghatározását kívántam megoldani (pl. baclofen, metilfenidat, disopyramid). Az enantiomer párokat gyakran nem csak egy, hanem többféle származék

alakjában is analizáltam, hogy kiderítsem a szelektor királis felismerő képességének legjobban megfelelő származékokat (pl. aminosavak, piretroidsavak, aminok és alkoholok). Az új szelektorok jellemzése során más szelektorral már megfelelően elválasztott enantiomer párokat is analizáltam (pl. *transz*-sztilbén-oxid, feniletil-amin, perimetrinsav és warfarin). Ezen anyagok elválasztásával az újonnan bevezetett szelektorok tulajdonságai összehasonlíthatóvá váltak a már jól ismert szelektorokéval.

3. Ha a kísérletek folyamán valamilyen anomáliát vagy eddig nem észlelt jelenséget tapasztaltam, ezeket tüzetesebben vizsgáltam (pl. csúcstorzulások, adszorpciók, nem lineáris $\ln\alpha-1/T$ összefüggések és különböző származékok ellentétes elúciós sorrendje). Ezekben az esetekben az alapvonal-elválasztás elérésén túlmenően, a jelenség háttérének tisztázása is céлом volt (pl. feniletil-amin származékok, metoprolol és gyártási melléktermékei, piretroidsavak).

A jobb áttekinthetőség érdekében a dolgozatban minden részfejezet végén rövid dőltbetűs összefoglaló olvasható, a tézisek alapját képező, kiemelkedően fontos publikációim hivatkozásait pedig félkövér betűkkel nyomtattam.

Eredményeimet több kutatóhelyen, sok kitűnő munkatárssal együttműködve értem el. Minden egyes társszerzőmnek és munkatársamnak köszönettel tartozom együttműködésükért. Itt csak azokat említem, akiknek a legtöbbet köszönhetek.

Szeretném kiemelni sajnos ma már nem élő mestereimet, Tóth Tibort és Alexander Gábort, akik nem csak tanítottak, de halálukig tanácsaikkal, útmutatásaikkal támogattak, tudományos igényességben és kutatási módszerekben végig példaként szolgáltak.

Magyarországi munkám során nyújtott együttműködésükért köszönettel tartozom Szejtli József, Fogassy Elemér professzoroknak, Kozma Dávid, Bálint József, Jicsinszky László és Iványi Róbert munkatársaimnak. A külföldi együttműködők közül Karin E. Markides, Milton L. Lee, Volker Schurig, Eric Francotte professzorokat, és Patrik Petersson kollegámat emelem ki.

A dolgozat megírása során nyújtott építő kritikai megjegyzéseikért Kilár Ferenc, Szepessy László professzorokat és Gröbler Andrászt illeti köszönet.

Kutatásaimhoz a következő intézmények biztosítottak lehetőséget: MTA KKKI, a VITUKI Rt., a Brigham Young University (Provo), a Novartis AG (Bázel), az Uppsala University (Uppsala), az ASTRA-Hassle (Göteborg).

Utoljára, de nem utolsósorban családomat illeti elismerés, hogy türelmükkel, megértésükkel, és építő megjegyzésekkel támogattak.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásaim során céloom volt minél több enantiomer pár elválasztása. Terveim között szerepelt, hogy az elvégzett analízisekből általános következtetéseket vonjak le, és ezzel megkönnyítsem a jövőben egy-egy enantiomer pár elválasztásához szükséges szelektor és az analízis paramétereinek kiválasztását. Céloom az volt, hogy az enantiomer szelektív elválasztásokat nagy hatékonyságú, kapilláris kromatográfias módszerekkel oldjam meg.

A kitűzött célok tematikailag a következő csoportokra oszlottak:

1. A szintetikus vegyészek és a metabolizmus kutatók királis analízis igényeinek kielégítése. Ezen az igen nagy elméleti és gyakorlati jelentőséggel bíró területen folyó kutatásokat magam erejével elősegítsem. Ezekben az esetekben az adott új vegyület enantiomer arányának pontos meghatározása jelentette a sikert. Ha egy királis vegyület analízisére addig csak nehézkes eljárás volt ismert, akkor célszerűbb eljárás kidolgozása is céloom volt. Reméltem, hogy módszereim alkalmasak lesznek a vizsgált anyagok elúciós vagy vándorlási sorrendjének megfordítására, hogy bármelyik izomer nagy feleslege esetén is pontos eredményeket lehessen nyerni.
2. Új technikák és módszerek adaptálása. Az új, nagyhatékonyságú kapilláris kromatográfias módszerek fejlődésével kívántam lépést tartani és ehhez az előrehaladáshoz lehetőség szerint ahhoz magam is hozzájárulni.
3. Az elválasztható enantiomer párok körének szélesítése új szelektorok bevezetésével. Az új, királis szelektorokkal (állófázisok, elektrolit adalékok) nemcsak az adott optikai izomerek elválasztását szándékoztam megoldani, hanem további enantiomerek elválasztásával, a szelektorok jellemzésével további lehetséges felhasználási körüket is céloom volt bemutatni.
4. Az új szelektorok jellemzése. Az új szelektorok jellemzésére már más szelektorral megfelelően elválasztott enantiomer párokat is analizálni szándékoztam. Ezen anyagok elválasztásával az újonnan bevezetett szelektorok tulajdonságait összehasonlíthatóvá akartam tenni a már jól ismert szelektorokéval.
5. A kutatásaim során szerzett ismereterekből általános következtetések levonása. Ennek keretében a királis állófázisok optimális összetételét meghatározó paraméterek

tanulmányozása, rendszerbe foglalása, és a ciklodextrinek szerepének vizsgálata a királis analízisekben szerepelt terveim közt.

6. A vizsgált enantiomer párok legmegfelelőbb származékainak kiválasztása. Ez nem csak az alapvonal-felbontások elérését, de a szelektor királis felismerő képességének jobb megértését is célozta.
7. Nem várt eredmények, új effektusok észlelése esetén az ezt kiváltó okok mélyebb felderítése. A jelenségek jobb megismerése után feladatul tűztem ki, hogy megvizsgáljam, az adott jelenség mennyire általános, és hatásai hogyan küszöbölhetőek ki vagy fokozhatóak az analízis sikerének érdekében.

3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Királis molekulák tulajdonságai

3.1.1. Királis molekulák definíciója

Királisnak nevezzük azon aszimmetrikus vegyületeket, amelyek nem azonosak tükörképi szerkezetükkel [1, 2]. A királis vegyületet és tükörképét enantiomer párnak vagy optikai izomereknek nevezzük. Az enantiomereket egymástól megkülönböztetni csak valamilyen aszimmetrikus hatással (pl. polarizált fény, reakció királis molekulákkal) tudjuk.

Az optikai izomerek megkülönböztetésére többfajta jelölés is elterjedt. Dolgozatomban az aminosavak enantiomerjeire az L és D jelölést, míg más enantiomerekre a Chan-Ingold-Prelog szabály szerinti *R* és *S* jelölést használom [3].

3.1.2. Enantiomerek eltérő biológiai tulajdonságai

Az élet alapját képező molekulák mind királis vegyületek, azaz az élet lényegéhez hozzátartozik a kiralitás [1, 4]. A szervezettel kölcsönhatásba lépő enantiomer párok biológiai hatása számos esetben különböző, ugyanis a receptorok gyakran királis felismerő tulajdonságokat mutatnak [5, 6]; ez biztosítja szelektivitásukat. Az enantiomerek eltérő biológiai hatása legmeggrázóbban a Contergan (thalodimide) kapcsán derült ki. Az enyhe altatóként forgalmazott racém gyógyszer *S* izomerje a magzatokban súlyos fejlődési rendellenességeket okozott [7].

A szervezetben az enantiomer pár tagjai különbözhetnek egymástól aktív transzportjukban, az emésztőrendszerben, a vérérum fehérjéihez való kötődésükben, a szövetek közti eloszlásukban, receptorkötődésükben, metabolizmusukban (eltérő sebesség vagy út) és kiürülésükben. Az enantiomerek egymástól eltérően hathatnak a különböző biológia specierekre, népcsoportokra, nemekre és a gyors- lassú metabolizáló fenotípusokra [5, 8].

Az enantiomerek lehetséges eltérő hatása miatt, a gyógyszerek bevezetése előtt az enantiomer pár tagjait külön-külön és együttesen is vizsgálni kell [9]. Ma már a gyógyszerek eladásából származó bevételek egyharmadát az optikailag tiszta gyógyszerek forgalma teszi ki [10]. Az 500 legnagyobb mennyiségben eladott gyógyszernek is több mint a fele tiszta enantiomer volt 2000-ben [11]. Az enantiomer tiszta szintézisek fontosságát mutatja, hogy a 2001. évi kémiai Nobel díj is ilyen kutatásokat jutalmazott.

Agrokemikáliák optikai izomerjei is gyakran eltérő hatásúak [12, 13]. Ennek ellenére még csak Svájcban és csak a fenoxi-propionsavakra követelmény az enantiomer-tiszta termékek forgalmazása. A közeljövőben azonban a többi területen is várható az optikai tisztaság követelményének elterjedése.

Az egyes növényekből nyert illóolajokban a fajtára jellemző a bennük lévő optikai izomerek aránya [14]. Egyes izomer párok tagjainak más a szaga, a karvon *R* enantiomerje például kaporszagú, míg az *S* konfiguráció mentaszagú.

Az intenzív hőkezelésnek alávetett élelmiszerekben az aminosavak egy része az eredeti *L* izomerből *D*-vé alakul; ez utóbbiak nem, vagy csak nehezen emészthetőek az ember számára. Ez a magyarázata annak, hogy a szójakészítményeket a hőkezelés során létrejött nagy *D*-aminosav tartalmuk miatt előszeretettel alkalmazzák fogyasztó hatású diétákban [15].

3.1.3. Enantiomerek arányának és szerkezetének meghatározása

Az enantiomerarány meghatározásának legfontosabb területe a gyógyszeripar. A gyógyszerkönyvi előírások a tized százalékban lévő szennyezések meghatározását is megkövetelik, így az enantiomer szennyezéseket is [16]. Az enantiomer-szelektív metabolizmusok felderítése szintén megköveteli a vizsgált vegyület enantiomer arányának pontos meghatározását [17].

Az enantiomer arányok meghatározásának fontosságára érdemes néhány jellemző példát megemlíteni. A környezetvédelmi analitikában az enantiomer arányokból következtetni lehet a szennyeződések idejére és körülményeire [13, 18]. Az illatszerek hamisítására a fajtákra jellemző enantiomer aránytól való eltérés nyújthat bizonyítékot [14, 19]. Az élelmiszerekben a *D*-aminosavak jelenléte intenzív hőkezelésre vagy bakteriális fertőzésre utal [15, 20]. Az aminosavak *D/L* arányának meghatározása régészeti leletek, üledékek kormeghatározására is alkalmas, mivel az idő múlásával az aminosavak racemizálódnak [21].

A királis molekulák szerkezetének meghatározására 3 alapvető eljárást ismerünk.

- Az abszolút konfiguráció megállapítása lehetséges nehézatomos röntgendiffrakciós mérésekkel, vagy pásztázó elektronmikroszkópiával [22] nyert szerkezeti képekkel. Számos esetben cirkuláris dikroizmus mérésének adataiból is számíthatóak az abszolút konfigurációk [23].
- A konfigurációk klasszikus meghatározására kémiai vagy biológiai reakciók használatosak. Ezeknél az eljárásoknál a vizsgált vegyületet már ismert szerkezetű

molekulává alakítják, amelynek a királis adataiból (forgatóképesség, retenció stb.) visszakövetkeztetnek az eredeti szerkezetre [1].

- A spektroszkópiás és a kromatográfias módszerek relatív konfiguráció meghatározására alkalmasak. A cirkuláris dikroizmus, az optikai rotációs diszperzió (ORD) és a polarimetriás mérések alapja az izomerek eltérő kölcsönhatása a cirkulárisan polarizált fényvel [22, 23]. Az NMR [24, 25], kromatográfias és tömegspektroszkópiás (MS) [26] módszerek alapja az enantiomer párok adott királis szelektorral alkotott diasztereomerjeinek megkülönböztetése eltérő tulajdonságaik alapján. Ismert konfigurációjú standardokkal és összehasonlító mérésekkel sok esetben az abszolút konfiguráció is valószínűsíthető ezekkel a módszerekkel.

3.1.4. Kromatográfia előnyei az enantiomerarány meghatározásában

Az enantiomerek arányának meghatározására a kromatográfia a legalkalmasabb módszer a következő okok miatt:

- A kromatográfia képes az enantiomer arányok pontos meghatározására. A kromatográfia a két izomer jelét egymástól függetlenül méri, így 99,9% feletti enantiomerarány is pontosan megállapítható [27-30].
- A kromatográfiában kiszűrhető a mátrixkomponensek zavaró hatása. Kromatográfiával nemcsak az adott enantiomer párt lehet elválasztani egymástól, de a kérdéses vegyületek a mátrix komponensektől is elkülöníthetők. Akár nyomnyi mennyiségű enantiomerek is meghatározhatók több ezer komponenst tartalmazó biológiai mátrixban [17, 19, 31, 32].
- A kromatográfia mintaszüksége rendkívül csekély. A kromatográfias elemzésekhez femto- mikrogramm mennyiségek elegendőek, ami lehetővé teszi a ppt-ppb koncentrációban előforduló enantiomerek arányának a meghatározását is [28, 33, 34].
- A kromatográfiában több enantiomer pár aránya is meghatározható egy analízis alatt, amelynek során egy adott gyógyszernek és metabolitjainak vagy egy illóolaj több komponensének királis elemzése is megoldható [17, 32, 35-40].
- A közvetlen kromatográfias eljárásoknál nincs szükség optikailag nagy tisztaságú reagensekre az enantiomer arány meghatározásához. A "szennyezett" szelektor csak az elválasztás szelektivitását csökkenti, de nem gátolja a nyomnyi enantiomer szennyezések megállapítását [27, 41].

- A kromatográfia gyors elemzési módszer. Az irodalom számos egy percnél rövidebb királis elválasztást említ [27, 42, 43], de már 8 másodperc alatti elválasztást is publikáltak [44].
- A kromatográfia elválasztási és nem szerkezet-meghatározási módszer. Azonban a kromatográfok kapcsolása szerkezet-meghatározó eljárásokhoz (MS, IR, NMR, cirkuláris dikroizmus spektroszkópia stb.) lehetőséget ad a komponensek szerkezetének meghatározására [45-49].

3.2. Enantiomer-szelektív kromatográfia

Dolgozatom irodalmi áttekintése csak a kromatográfia királ-szelektív szempontjaira terjed ki, de utalást teszek azokra a kromatográfias tapasztalatokra is, amelyek kutatásaim kiinduló pontjául szolgáltak [50-54]. Az enantiomer szelektív kromatográfiáról több könyv, könyvfejezet [55-60] és áttekintő közlemény [11, 27, 30, 43, 61-63] jelent már meg.

A királ-szelektív kromatográfia közvetlent vagy közvetett eljárást használ. A közvetett módszernél az enantiomer párt stabil (rendszerint kovalenst) kötést kialakító királis reagenssel visszük reakcióba, és a keletkezett diasztereomereket akirális közegben választjuk el egymástól [64, 65]. A közvetett módszernél több zavaró momentum léphet fel (pl. az enantiomerek kinetikai különbsége, a reagens királis tisztasága, a mátrixban előforduló királis vegyületek lompeticiója, a diasztereomerek eltérő detektor érzékenysége stb.) mint a direkt módszernél [66], ezért én csak közvetlen módszereket alkalmaztam.

A közvetlen módszernél a királis szelektor a vizsgálandó izomerekkel csak időleges, gyorsan keletkező és elbomló diasztereomer párt képez. A szelektor lehet az állófázis része (chiral selective stationary phase, CSP) vagy királis mozgófázis adalék (chiral mobile phase additive CMA). Az elválasztáshoz az szükséges, hogy az *R* és *S* izomerek a szelektorral eltérő stabilitással asszociálódjanak. CSP esetén az erősebben kölcsönható izomer több időt tölt az állófázisban ezért a kromatográfias oszlopon lassabban halad, mint a gyengébben kötődő izomer.

3.2.1. Királis kromatográfia definíciói és alapfogalmai

Kromatográfiában két csúcsmegjelölést egymástól való elválasztását a felbontóképességgel (R_s) jellemezzük. Az $R_s \geq 1,5$ érték alapvonal-elválasztást jelent.

Az elválasztás a következőképpen függ a különböző kromatográfias paraméterektől:

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k}{k + 1} \quad \text{1. egyenlet}$$

ahol N elméleti tányérszámot (a kromatográfiás rendszer hatékonyságát); k retenció tényezőt (a visszatartás mértékét) és α szelektivitási tényezőt (a kromatográfiás rendszerben két anyag egyensúlyi állandójának arányát) jelenti.

Ha a két egymást követő csúcs mennyisége nagyságrendekkel eltér egymástól, akkor a kis mennyiségben lévő csúcs pontos mennyiségi értékeléséhez 1,5-nél nagyobb R_s érték szükséges [67]. A csúcsok aszimmetriája is megnöveli a pontos értékeléshez szükséges R_s értékét [68].

A királis kromatográfia mindennapi gyakorlatában, a nagy mennyiségben jelenlévő izomer a csúcsa "tailinges" (hátrafelé elnyúlt), amit rendszerint az állófázis telítése, túlterhelése okoz. Amennyiben a nagyságrendnyivel kisebb komponens eluálódik először, akkor kisebb felbontás is elegendő a csúcsok mennyiségének pontos meghatározáshoz, mint fordítva [69]. Egy CSP kisebb mintamennyiségtől válik túlterheltté, mint az akirális állófázisok, mivel a királis felismerő helyek csak kisebb hányadát teszik ki a CSP kölcsönhatási helyeinek. A CSP vagy a mozgófázis telítése nemcsak csúcstorzuláshoz (aszimmetria, kiszélesedés) vezet, de a retenció idők eltolódását is eredményezi [69, 70].

A kromatográfiában a hatékonyság javulását, vagyis az elválasztást gyakran az oszlop hosszának növelésével érjük el. A kapilláris kromatográfiában fokozhatjuk a hatékonyságot az oszlop belső átmérőjének csökkentésével is [71, 72]. A kisebb átmérőjű oszlopokban ugyanis a mozgófázis csökkent anyagátadási ellenállása lehetővé teszi rövidebb oszlopok és a nagyobb áramlási sebességek alkalmazását [73].

A kis átmérőjű oszlopok alkalmazása azonban nem problémamentes, mivel nedvesítésüknél problémát jelent a Rayleigh instabilitás [74, 75], a kis terhelhetőség, az 5 bar feletti belépő nyomás és a holtterek hangsúlyozott szerepe.

A két csúcs szelektivitási tényezője termodinamikailag a következő módon határozható meg:

$$\ln \alpha = \frac{-\Delta_{RS}(\Delta G)}{RT} = \frac{\Delta_{RS}(\Delta H)}{RT} - \frac{\Delta_{RS}(\Delta S)}{R} \quad \text{2. egyenlet}$$

ahol a $\Delta_{RS}H$, $\Delta_{RS}S$ és $\Delta_{RS}G$ sorra az enantiomer pár tagjai közötti entalpia entrópia és szabadenergia változások különbsége két fázis közti átmenet során. A nagy hatékonyságú oszlopok esetén akár 0,1 kJ/M energia különbség ($\alpha = 1,01$) is elegendő az alapvonal-elválasztáshoz [76].

A 2. egyenletből látható hogy az elválasztásban az entalpia tag szerepe emelkedő hőmérséklettel exponenciálisan csökken. Ez összhangban van azzal a kromatográfias tapasztalattal, hogy csökkenő elemzési hőmérséklettel a szelektivitási tényező exponenciálisan nő. Néhány esetben azonban megfigyelték, hogy egy bizonyos hőmérséklet (izoenantioszelektív hőmérséklet) felett növekszik az elválasztás az elemzés hőmérsékletének emelésével [77-79]. Az izoenantioszelektív hőmérséklet alatti tartományt entalpia vezéreltnek, míg a fölötte levőt entrópia vezéreltnek nevezik. A két enantiomer elúciós sorrendje a fenti két tartományban fordított.

Az enantiomerek elúciós sorrendjének megfordulása azonban eredhet a nem egyforma hőmérsékleti együtthatóval bíró, többfajta királis felismerő mechanizmusból is [80-82]. Ha több királis felismerő mechanizmus is szerepet játszik, akkor az $\ln\alpha - 1/T$ összefüggés nem lineáris.

Ha a minta nemcsak a királis állófázis komponenssel lép kölcsönhatásba, akkor az elválasztás szelektivitása csökken, mint például az elválasztást rontó szilanol hatás esetében [83]. Másrészt, a CSP jól megválasztott akirális mátrixa (pl. sziloxán polimer) elválasztás növekedést eredményezhet, mivel a mátrix jelentős mértékben megjavítja az oszlop hatékonyságát, ami kompenzálja a szelektivitás csökkenését [84, 85].

3.2.2. Királis elválasztási módszereinek felosztása és az egyes módok jellemzői

Az analitikai enantiomer elválasztásokra főleg a gázkromatográfia (GC), a folyadékkromatográfia (LC), a szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia (SFC) és az elektrokinetikus kromatográfia (EKC) használatos. Az EKC nem tisztán kromatográfias módszer, de a könnyebb áttekintés kedvéért itt a kromatográfias módszerekkel együtt tárgyalom. A különböző kölcsönhatások szerepét az egyes módokban az 1. táblázatban foglalom össze.

1. táblázat Különböző kölcsönhatások szerepe az egyes elválasztási módokban

Kölcsönhatás típusa	GC	SFC	LC	EKC
Diszperziós	++++	+++	++	+
π - π	++	++	+++	++
Dipól-dipól	++	+++	+++	++
Hidrogén híd	+	++	+++	+++
Ionos			++	++++
Taszító	++	++	++	++

+jelek száma mutatja az adott kölcsönhatás típus fontosságát az adott módban

Bár a taszító kölcsönhatások (repulsion), nem sorolhatók be a klasszikus kölcsönhatások közé a királis felismerésben rendkívül fontosak, mivel az egyes nagy térigényű csoportok árnyékoló hatása nem teszi lehetővé a potenciális kölcsönható csoportok érintkezését.

A különböző kölcsönhatási típusok mellett más szempontokat is figyelembe kell venni az optimális mód kiválasztásához. A II. táblázatban mutatom be a legfontosabb szempontokat, amelyeket tekintetbe kell venni az optimális analitikai eljárás kiválasztásánál.

2. táblázat A különböző elválasztási módok előnyei a királis elválasztásokban

Tulajdonság	Elválasztási mód			
	GC	SFC	LC	EKC
Hatékonyság	++++	+++	++	++++
Alacsony elemzési hőmérséklet	+	+++	++++	++++
Allófázis, királis elektrolit adalékok változatossága	+++	++	+++	++++
Mozgófázis, háttér elektrolit változatossága		+	+++	+++
Terhelhetőség	+	++	++++	+
Detektálhatóság	++++	+++	+++	++
Elemzések gyorsasága	++++	++	+	++++
A mód kidolgozottsága	++++	+	++++	++

+jelek száma mutatja az adott kromatográfiai mód előnyét az adott szempont szerint.

3.2.3. Kromatográfiás királis elválasztások mechanizmusa

A királis elválasztásokhoz nem elegendő, hogy a szelektor és az elválasztandó komponensek kémiaiilag egymásnak megfelelő, kölcsönható csoportokkal rendelkezzenek, hanem ezeknek a csoportoknak megfelelő térbeli elrendezése is szükséges. A királis elválasztások ugyanis alak-szelektívek, azaz „testre szabott” (tailor-made) szelektorokat igényelnek. Az állófázis és a minta kölcsönhatási pontjai közti térbeli megfeleltetés az oka annak, hogy nincs olyan CSP, amely minden enantiomer párt el tud választani.

A legtöbb királis elválasztás levezethető a hárompontos kölcsönhatási modellből [86-90]. A hárompontos kölcsönhatás elve szerint egyszerre három ponton kell a szelektornak és a vizsgálandó optikai izomerek legalább egyikének kölcsönhatásba lépniük ahhoz, hogy a királis felismerés megtörténjen. A leegyszerűsített modell szerint a minta egyik izomerje három kölcsönhatási ponton érintkezik a szelektorral, míg a másik izomer csak két ponton.

A kölcsönhatási helyeknek nem kell fizikai értelemben is pontnak lenniük. A kölcsönhatás helye lehet például felület - két aromás gyűrű töltés-átviteli komplexe (pl. π sav és π bázis) [89] - vagy egy tengely a ciklodextrinek belsejében [91]. A kölcsönhatás lehet egy nagy térigényű csoport taszító hatása is [87]. Amennyiben a 3 kölcsönhatási „pont” egy egyenes mentén helyezkedik el, nem történik meg a királis felismerés (látszólagos két pont) [70].

Általános tapasztalat az, hogy a merev szerkezetű és a királis centrumhoz képest α -helyzetű kölcsönható csoportokkal rendelkező enantiomer párok könnyebben elválaszthatók, mint a flexibilis szerkezetű β γ stb. helyzetű kölcsönható csoportokkal rendelkező optikai izomerek [88].

A merev felépítésű szelektorok (pl. fehérjék, fémkomplexek, „imprinted” fázisok) nagy szelektivitást mutatnak néhány optikai izomerrel szemben [93]. A flexibilis szerkezetű szelektorok (pl. ciklodextrinek) szelektivitása rendszerint kicsi, de enantiomerek széles körét képesek királisan felismerni [27, 91].

3.2.4. Az akirális származékképzés szerepe az enantiomer elválasztásokban

Az akirális származékképzés számos előnnyel járhat az enantiomer arányok meghatározásában. Az akirális származékképzésnél kevesebb problémát kell megoldani (pl. kinetikus különbségek, eltérő detektor érzékenységek, származékképző szerek királis tisztasága stb.) mint a királis származékképzésnél a közvetett módszerek során [55, 64, 65].

A minta jól megválasztott akirális származéka irányában a szelektor megnövekedett királis felismerő képességet mutat. A Pirkle típusú állófázist használó királis folyadékkromatográfiában bevett a CSP aromás funkciójával π - π kölcsönhatást létrehozó danziles, vagy a dinitro-benzoiles származékképzés [89]. A flexibilis szelektorok esetén, a királis szelektivitás megnövelhető, ha a vizsgálandó enantiomerek merev szerkezetű származékát (pl. oxazolidin, gyűrűs karbonát származékok) analizáljuk [55, 94, 95]. A jól megválasztott acilező reagens is megnöveli az elválasztandó anyagok szelektivitási tényezőjét [96, 97]. Az enantiomerek elúciójának megfordulása is elérhető alkalmas származékképzőkkel [98-101].

A minták illékonyágának növelése, illetve polaritásának csökkentése szintén elérhető akirális származékképzéssel (pl. metil-észterek, amidok, acetátok stb.). Az ilyen származékok alacsonyabb, elemzési hőmérsékletet tesznek lehetővé, ami növeli a szelektivitást [64].

A vizsgált anyagok detektálhatóságát is javíthatja a származékképzés. Az aminosavaknak danzil, vagy a dinitro-benzoil származékai érzékeny UV és fluoreszcens detektálást tesz lehetővé [64].

A származékképzés megváltoztatja az anyagok csúcsának helyét a kromatogramon. Megfelelő származékképzéssel az enantiomerek retenciója a kromatogram vagy az elektroferogram zavaró csúcstól mentes szakaszára tolhatók, így értékelésüket a mátrix komponensek nem zavarják [17, 96].

3.3. Királis kromatográfia gyakorlata

A kromatográfia jelentőségét az enantiomerek elemzésében jól mutatja az a tény, hogy a Chirbase kromatográfias adatbázis megközelítően 110 000 királis elválasztást referál [102]. A fenti szám körülbelül 50 000 királis molekula elválasztását jelenti, mivel egy enantiomer párra külön adatként kezelik az eltérő állófázison vagy alapvetően más mozgófázissal, elektrolittal elért elválasztásokat. A közölt elválasztások megoszlása a következő: LC, 80 000; GC, 20 000; EKC, 7000; SFC, 3000. Az EKC módszerrel végzett elválasztások számaránya nem tükrözi a jelenlegi helyzetet, mivel az adatbázis megközelítően 2,5 éves késéssel iktatja a publikált adatokat, az EKC technikával végzett elválasztások száma pedig jelenleg exponenciálisan emelkedik.

A ciklodextrinek szerepét a királis elválasztásban a CDNEWS adatbázis mutatja, ahol 2 600 közlemény foglalkozik ciklodextrint használó királis kromatográfiával [103]. Rendszerint egy-egy publikáció több anyag elválasztását is bemutatja.

3.3.1. Királis gázkromatográfia

A GC a kapilláris oszlopok alkalmazásának ideális területe, a mozgófázis kis viszkozitása és nagy permeabilitása miatt. A GC legalkalmasabb kis móltömegű apoláris, UV-aktív csoporttal nem rendelkező enantiomerek elválasztására.

A GC domináns kölcsönhatásai a nem-szelektív, diszperziós kölcsönhatások, ezért az α értéke ritkán haladja meg a 2 értéket. A kapilláris oszlopok nagy hatékonysága ($N = 50\ 000 - 1\ 000\ 000$) azonban lehetőséget ad alapvonal-felbontásra akár $\alpha = 1,01$ értéknél is.

Az első királis gázkromatográfias elválasztást 1966-ban publikálták [104], míg az első mai követelményeknek megfelelő, sziloxánhoz kötött királis szelektort 1977-ben [105]. Áttörést a gázkromatográfias királis elválasztások elterjedésében, az 1987-ben publikált cikkünk, a ciklodextrin (CD) alapú állófázis bevezetése jelentette [106].

3.3.1.1. Oszlopok

Királis analitikai elválasztásokra ma már jóformán csak ömlesztett kvarc anyagú kapilláris oszlopokat használnak (fused silica open tubular column, FSOT). Az oszlopok hosszúsága rendszerint 10-50 m.

3.3.1.2. Mozgó fázisok

A gázkromatográfias mozgó fázisok kis viszkozitása lehetővé teszi a hosszú oszlopok használatát, nagy permeabilitásuk pedig a gyors vizsgálatok elvégzését. Az irodalom 8 másodperc alatti enantiomer elválasztásról is beszámolt [44]. A választott mozgó fázis (vivőgáz) nem befolyásolja a rendszer szelektivitását, de az elemzések sebességét igen. A mindennapi gyakorlatban, ahol az optimálisnál nagyobb vivőgáz sebességet használunk, a H_2 előnye még hangsúlyozottabb. A Van Deemter egyenlet görbéje ugyanis a H_2 esetében emelkedik legkevésbé meredeken az optimálisnál nagyobb sebességi tartományban.

3.3.1.3. Királis állófázisok

A mai követelményeknek megfelelő gázkromatográfias állófázis: hatékony, szelektív, széles hőmérsékleti tartományban alkalmazható, kémiai és hőmérsékleti szempontból inert oszlopok készítését teszik lehetővé. Előnyös, ha az állófázis térhálósítható. Egy jó CSP

elkészítéséhez a fenti, részben egymásnak ellentmondó követelmények között kompromisszumot kell találni.

A GC céljaira használt királis állófázisok mérsékelt szelektivitása szükségessé teszi a hosszú és nagy hatékonyságú oszlopok (legalább 3000 N/m) alkalmazását. Ezt a nagy hatékonyságot csak sziloxán mátrixot tartalmazó CSP tesz lehetővé [107].

Elméletileg és gyakorlatilag is bebizonyították, hogy a királis rész koncentrációjának függvényében a szelektivitási tényezők telítési görbét mutatnak [108]. A királis felismerő helyek ugyanis egy bizonyos koncentráció felett egymást árnyékolják. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy nincs értelme a CSP királis tartalmát 50% fölé emelni.

A legnagyobb hatékonyságot adó sziloxán mátrixok apolárisok, de a királis szelektorok polárisak, ezért egymásban nem oldódnak korlátlanul. Ez az egyik oka, hogy a leggyakrabban használt CSP a permetilezett β -ciklodextrin oldószere a közepesen poláris OV-1701 (metil-fenil-ciano sziloxán), és nem az apoláris OV-1 (metil sziloxán) [84]. A jobb oldódási viszonyok okozzák azt is, hogy adott királis szelektor esetén polárisabb mátrixok alacsonyabb működési hőmérsékleteket tesznek lehetővé, mint apoláris mátrixok [109]. A poláris sziloxán mátrix azonban csökkenti a CSP szelektivitását és növeli az elemzési időt [37, 109].

A sziloxán vázhoz kémiaiilag kötött királis szelektorok sok szempontból előnyösebbek a keverék (sziloxán + szelektor) állófázisoknál. A kémiai kötés következtében megszűnik a szételegyedés lehetősége, és a szelektorok polimer szerkezete miatt alacsonyabb és magasabb hőmérsékleten használhatóak, mint az ugyanolyan szelektortartalmú keverékek [110, 111]. A CSP szelektivitása nagyobb, ha a királis csoportok szubsztitúciója szabályosan ismétlődő, mint ha a szubsztitúció statisztikus [112].

A szelektorok kémiai kapcsolása a sziloxán mátrixhoz nagy fokú felkészültséget igényel, mind a sziloxán polimerek, mind a királis vegyületek kémiájában [96, 105, 110, 112, 113]. A CSP nem megfelelően lezárt polimerizációja az oszlop használata alatt tovább folytatódik, és idővel az oszlop hatékonysága és működési hőmérséklet tartománya tetemesen lecsökken [114, 115].

Az állófázisok térhálósítása tovább szélesíti működési hőmérsékleti tartományukat, kimoshatóvá, regenerálhatóvá teszi az oszlopokat [116, 117]. A térhálósítás reakciókat azonban gondosan kell megválasztani, mivel ezek mellékreakciói, a királis csoportokkal reagálva, rontják a CSP szelektivitását [41, 118].

A királis állófázisok összetevőinek hatását egyes részleteiben már vizsgálták, de szisztematikus átfogó vizsgálatokat még nem publikáltak ebben a témakörben.

3.3.1.3.1. Ciklodextrin alapú királis állófázisok

Jelenleg a gázkromatográfiás királis elválasztások 90 %-át ciklodextrin alapú állófázisokon végzik [102]. Ezek a szelektorok képesek bármely funkciós csoporttal rendelkező enantiomerek elválasztására [27, 56], sőt még a funkciós csoportot nem tartalmazó elágazó alkánok enantiomerjeit is elválasztják [119]. Ezeken az állófázisokon nemcsak szén, de kén [55] és foszfor [120] királis centrumú optikai izomerek, sőt az axiális [121] és planáris aszimmetriával [113] rendelkező enantiomerek is elválaszthatóak. Az, aszimmetria centrumhoz képest nemcsak α , hanem más pozíciókban elhelyezkedő kölcsönható csoportok is megfelelnek egy CD királis felismerő képességének [122, 123].

A ciklodextrinek ciklikus (α 1 \rightarrow 4) oligoszaharidok [91]. Általában α , β és γ izomerjeiket használjuk, amelyek sorra 6, 7 és 8 glükózegységből állnak. A 6 pozíciójú primer hidroxil-csoportok a gyűrű keskenyebb peremén, míg a 2- és 3- pozíciójú szekunder hidroxilok a szélesebb peremen helyezkednek el.

A natív ciklodextrineknek nincs olvadáspontjuk, csak bomlási hőmérsékletük. Ezen tulajdonságok miatt egy natív CD nem alkalmas stabil állófázis készítésére és kapillárisok nedvesítésére, annak ellenére, hogy töltetes oszlopon, formamidban oldva már publikáltak felhasználásukkal királis elválasztást [124, 125].

Az első stabil kapilláris oszlopot ciklodextrin származékok felhasználásával mi készítettük [106, 126, 127]. Az oszlopok elfogadható stabilitásuk ellenére csak kis hatékonyságúak voltak és korlátozott működési hőmérséklet-tartománnyal rendelkeztek.

Az elemzések hőmérséklete szempontjából előrelépést jelentett, hogy más kutatók szobahőmérsékleten is folyékony CD származékokat vezettek be [56, 80, 119, 120, 122, 128-130]. Azonban ezen állófázisokkal készített oszlopok hatékonysága mérsékelt volt különösen azoké, amelyek csak eutektikum voltak miatt maradtak folyékonyak alacsony hőmérsékleten [129, 130].

További előrelépést jelentett a CD származékok oldása akirális sziloxán fázisban. Ezek az oszlopok nagy hatékonyságukkal és megfelelő szelektivitásukkal már kielégítik a gázkromatográfiás állófázisokkal szemben támasztott követelményeket [37, 76, 84, 85 131-133]. Jelenleg már azokat a CD származékokat is jórészt akirális mátrixszal keverve alkalmazzák, amelyeket olvadékként vezettek be [85, 133].

A sziloxán polimerhez kémiailag kötött CD származékokkal készített oszlopok nagyobb hatékonyságúak, szelektivitásuk és tágabb működési hőmérséklet-tartományban használhatóak, mint a hasonló szelektorral rendelkező keverék állófázisok [73, 113, 116, 117].

A permetilezett β -cikoldextrin (TRIMEB) a gázkromatográfiás analízisekben a legtöbbször használt királis szelektor. Ma már csak sziloxán mátrixos keverékként vagy kémiailag kötött CSP alkotóként használják. Más peralkil származékokat (pl. perpentil α -CD) is gyakran használnak.

A kevert alkil-acil származékoknál általában a hármas pozícióban van az acil-csoport [56, 117, 122, 134]. A legtöbbet használt ilyen származék a 2,6 dipentil-3-butiril- β -CD [122]. Általános tapasztalat, hogy az alkil-acil származékok jó szelektivitást mutatnak a poláris minták irányában, de számos ellenpélda is említhető.

Az utóbbi években bevezetett új állófázisok nagyobb részben *terc*-butil-dimetil-szilil (TBDMS) csoporttal szubsztituált ciklodextrinek [82, 131, 132, 135-138]. A két leggyakrabban használt képviselőjük a 2,3-diAc-6-TBDMS- β -CD és 2,3-diMe-6TBDMS- β -CD tartalmúak. A TBDMS szubsztituensek, főleg a hatos pozícióban nagy flexibilitást biztosítanak a szelektornak, ami az enantiomerek széles körének királis felismerését eredményezi. Nemcsak a TBDMS-csoporttal, de más szilil szubsztituensek (pl. hexil-dimetil-szilil) felhasználásával is leírtak nagy szelektivitású állófázisokat [139].

3.3.1.3.2. Aminosavat tartalmazó királis állófázisok

Ezeket a szelektorokat a vicinális, bifunkciós, hidrogén-híd kötés létesítésére alkalmas enantiomerek (amino-alkoholok, aminosavak, diolok, hidroxisavak stb.) elválasztására használják [55, 96, 105, 112, 140, 141]. Ez a típus a második leggyakrabban használt CSP a gázkromatográfiás gyakorlatban, de az aminosavak enantiomerjeinek elválasztására jóformán csak ilyen szelektort használnak. Az állófázisok merev királis szelektorokat tartalmaznak, ezért nagy szelektivitási tényezők érhetőek el használatukkal. A megfelelő szelektivitás biztosításához a kölcsönható csoportoknak a királis centrumhoz viszonyítva α helyzetűeknek kell lenniük. A nagyfokú királis felismeréshez két hidrogén-híd kölcsönhatás szükséges. Előnyük, hogy az ellentétes kiralitású szelektorral is szintetizálható ez a fajta CSP, vagyis az enantiomerek elúciós sorrendje megszabható.

Legjellegzetesebb képviselőjük a valin tartalmú sziloxán polimer a Chirasil-Val [105, 112, 140, 141]. A legnagyobb szelektivitási tényezőket a főlánc minden hetedik

szilícium atomján királisan szubsztituált polimer adja [112, 140]. Több hasonló szerkezetű polimert is publikáltak, de csak a Chirasil-Val terjedt el széles körben. Említést érdemel még a két szimmetria centrummal rendelkező XE-60-Val- α -pea, ahol valin- α -fenil-etilamid-csoport adja a királis szelektivitást [55]. Az L-valint tartalmazó CSP szelektivitása összemérhető a Chirasil-Val szelektivitásával. Az előző CSP diasztereomerje (*R*- valin) csökkent szelektivitást mutat az aminosavak irányában, de szelektivitása megnövekedett a gyűrűs származékok és az aminok acetamid származéka irányába.

3.3.1.3.3. Egyéb királis szelektorokat tartalmazó királis állófázisok

Királis ligandumokkal (diketonok) komplexbe vitt átmeneti fémek (Rh, Eu, Ni, Mn, Co és Zn) királis felismerő tulajdonságot mutatnak [27, 29, 142]. Ezeket a komplexeket már sziloxán vázhoz kötik [155]. A szelektorok merev váza nagy szelektivitást mutat néhány molekula felé. Jóformán csak merev gyűrűs enantiomereket lehet velük elválasztani.

A sziloxán vázhoz kötött királis naftil-etilamidot is alkalmazták szelektorként, de ezen állófázisok hőállósága mérsékelt volt [112]. Sziloxán vázhoz kötött királis koronáterek használatát is publikáltak, de az ilyen oszlopok hatékonysága rendkívül kicsi [143]. Származékolt amilózok felhasználásával is jelent meg közlemény [144, 145], de a lineáris szaharidok szelektivitása sokkal kisebb, mint a ciklodextrineké gázkromatográfiás körülmények között.

3.3.1.4. Elemzések hőmérséklete

Az enantiomer-szelektív gázkromatográfiában az elemzések hőmérsékletének hangsúlyozott szerepe van. Gyakran magas hőmérsékletet kell használni, hogy a minta gőznyomása elérje az elemzésekhez szükséges 15 torr-t. A 2 egyenlet szerint a hőmérséklet emelésével azonban exponenciálisan csökken a CSP királis szelektivitása [77, 78]. 200 °C feletti hőmérsékleteken a szelektivitási tényező értéke rendkívül ritka esetekben éri el az alapvonal-elválasztáshoz szükséges értéket. Az elemzési hőmérséklet csökkentése gyakran túl hosszú, több órás vizsgálati időket eredményez.

Az elemzési hőmérséklet mérséklését a királis szelektor koncentrációjának csökkentésével vagy az oszlophossz rövidítésével lehet elérni [146, 147].

2.3.1.5. Akirális származékképzés

Az akirális származékképzés legfontosabb célja a minták illékonyságának növelése a gázkromatográfiás gyakorlatban [64]. A szakirodalom számos, gyorsan lezajló, zavaró

melléktermék nélküli reakciót ismer erre a célra. Az aminosavak királis sorozatanalízisére automata származékképző berendezést is árulnak [148].

Az enantiomer szelektivitást nagymértékben növelni lehet akirális származékképzéssel [55, 94-97, 105]. Az enantiomerek elúciós sorrendje is megváltoztatható az akirális származékok változtatásával [98-99].

A közeljövőben további új szilil-szubsztituált ciklodextrint tartalmazó szelektorok bevezetése várható. Az utóbbi évek tapasztalata azonban azt mutatja, hogy a királis GC fejlődése az exponenciális szakaszból eljutott a lineárisan növekvőbe. Az új oszlopok bevezetése nagyrészt átkerült az oszlopgyártó cégek vagy az oszlopgyártó cégek által támogatott kutatóhelyek kezébe. Ez a folyamat az oszlopok reprodukálhatóságát eredményezte, de egyre kevesebb új szelektor jelenik meg az irodalomban.

3.3.2. Királis folyadékkromatográfia

A kromatográfias királis elválasztások nagy részét jelenleg folyadékkromatográfiával végzik [102]. Ebben az elválasztási módban az elválasztásokat rendszerint töltetes oszlopon végzik, mivel a mozgófázisnak nagy a viszkozitása [58, 59, 65]. A folyadékok permeabilitása kicsi, ami a mozgófázisban nagy ellenállást eredményez az anyagátadással szemben. A mozgófázis kis permeabilitása lehetővé teszi a nagy anyagátadási ellenállású, lassú, de nagy szelektivitási tényezőjű szelektorok (pl. cellulózok, fehérjék) használatát [149, 150]

Néhány közlemény foglalkozik kapilláris oszlopot használó enantiomer-szelektív folyadékkromatográfiával, de jelentőségük elenyésző [73, 113, 151]. Mivel a kapillárisok használata nem terjedt el a folyadékkromatográfias gyakorlatban, ezért az enantiomer-szelektív folyadékkromatográfia kívül esik dolgozatom témáján.

3.3.3. Királis, szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia

A szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia (SFC) gyakorlatában a mozgófázis nyomása és hőmérséklete kritikus pont közeli érték [51, 57]. Kromatográfias szempontból mindegy, hogy a paraméterek a kritikus pont fölött vagy alatt (szubkritikus tartomány) vannak, az a fontos, hogy a mozgófázis homogén legyen [152].

Az SFC egyesíti magában a GC és az LC számos előnyét. A gázkromatográfiához hasonlóan a mozgófázis viszkozitása kicsi és permeabilitása nagy, ezért nagy hatékonyságú, hosszú oszlopokat lehet használni, és az elemzési idők aránylag rövidek. Másrésztől a folyadékkromatográfiához hasonlóan a mozgófázis oldóerővel rendelkezik, ezért az elemzések hőmérséklete alacsony, és a mozgófázis összetételének változtatásával a

szelektivitást és a retenciót szabályozni lehet. Az SFC e tulajdonságain túl azért is előnyös, mert a mozgófázis erejét fokozni lehet a mozgófázis sűrűségének (nyomásának) növelésével a szelektivitás jelentős változtatása nélkül. Az utóbbi tulajdonság az enantiomerek homológ sorának vizsgálatokor rendkívül előnyös [142].

Az SFC nem széles körben elterjedt kromatográfiai technika, de a királis elválasztásokban az oszlopok nagy hatékonysága, alacsony elemzési hőmérséklete, a mozgófázis szabályozható oldóereje és szelektivitása révén elérhető gyors analízisek indokolják használatát.

Az SFC szerepével a királis kromatográfiában több összefoglaló közlemény [43, 61, 153,] és könyvfejezet [51, 57] is foglalkozik, amelyekben történeti áttekintések is találhatóak.

3.3.3.1. Oszlopok

Az SFC gyakorlatában töltetes és a kapilláris oszlopokat is használnak. Töltetes oszlopokként a kereskedelmi forgalomban kapható HPLC oszlopokat alkalmazzák, amelyek a gyakran használt 400 bar feletti nyomáson is használhatóak [57]. A hatékonyság növelése céljából, több, akár öt HPLC oszlop is sorba kapcsolható [154].

A töltetes oszlopok egyik nagy előnye, hogy a mozgófázis áramlási sebessége a nyomás-gradiensek közben csökkenthető a végnyomás szabályozóval (back pressure regulator), míg a kapillárisok használatakor a nyomás-gradiens alatt az áramlási sebesség növekszik.

A töltött kapillárisok is megtalálhatóak a királis SFC fegyvertárában. Ilyen megoldással csatlakozások nélküli, kis CSP mennyiséget igénylő méteres hosszúságú oszlopok is készíthetők [113, 155, 156].

Az ürescső kapillárisokat oszlopok hossza 5-15 m-ig terjed, és belső átmérőjük 50-100 μm [73, 116, 117, 142]. A gázkromatográfiában megszokotthoz képest kisebb oszlophosszt és oszlopátmérőt a mozgófázis jelentősebb viszkozitása és az anyagátadással szembeni nagyobb ellenállása indokolja. Az 50 μm -nél kisebb belső átmérőjű oszlopok használatával nagyobb hatékonyságot lehetne elérni, de készítésük nagy nehézségbe ütközik a Rayleigh-féle instabilitás miatt [74].

3.3.3.2. *Mozgófázisok*

A királis SFC-ben eddig csak szén-dioxid-alapú mozgófázisokat alkalmaztak. A CO₂ aránylag olcsó, környezetbarát és mintagyűjtés estén maradék nélkül elpárolog. A töltetes oszlopoknál gyakran használnak adalékokat (metanol, etanol, dioxán, ecetsav, trietil-amin stb.) 1-40 %-os mennyiségben [54, 157]. Az adalékok nemcsak a mozgófázis erejét növelik, hanem a rendszer királis szelektivitását is szabályozzák, és dinamikusan passziválják a CSP hordozóját. Újabb fejlesztések eredményeként a mozgófázis gradienst is egyre gyakrabban alkalmazzák [158].

A királis felismerésben a szén-dioxid maga is aktívan részt vehet [142, 159]. Ilyenkor a CO₂ átmeneti gyűrűs komplexet képez a vizsgálandó enantiomerekkel, amelyek felé a CSP királis felismerése (cellulóz, Chirasil-Ni) jobb, mint az anyavegyületre.

Eddig még csak az *N*-benzoil-karbonil-glicil-L-prolin ionpár-képző reagenst [160] és metilezett β -ciklodextrint [161] használtak királis mozgó fázis adalékként a királis SFC gyakorlatában.

2.3.3.3. *Királis állófázisok*

Az SFC gyakorlatában számos királis állófázist alkalmaztak, amelyeket eredetileg GC vagy HPLC analízisekben használtak először. Polimer alapú CSP használata ajánlott, hogy a szelektivitást rontó szilanol-hatást [162] az állófázis elfedje, ugyanis a CO₂ aránylag gyenge mozgófázis.

A töltetes oszlopoknál a leggyakoribb királis szelektorok a cellulóz és amilóz származékok [157, 158, 163]. A töltetes oszlopokon is eredményesnek bizonyult a poly-Whelk-O a sziloxán vázhoz csatolt univerzális π sav-bázis Pirkle típusú CSP [164]. Ezzel az állófázissal $\alpha = 6,64$ és $R_s = 25,5$ értékeket lehetett elérni. Különböző CD származékokat szilikagél hordozóhoz vagy sziloxán polimerhez kötve szintén alkalmazták [113, 156, 165]. Említést érdemel még a *transz*-ciklohexil-diamid [166] és a vancomicin [167] királis szelektorok alkalmazása a töltetes kapilláris oszlopokon.

A GC-ben bevált sziloxán polimer királis állófázisokat is többnyire kipróbálták kapilláris SFC vizsgálatokban [41, 116], de kifejezetten SFC célra is szintetizáltak már szelektorokat [168-170]. A magas olvadáspontú állófázisokat alacsonyabb hőmérsékleten lehet használni az SFC körülményei között, mint gázkromatográfiás elemzésekben a mozgófázis duzzasztó hatása miatt [168, 169, 171]. Az állófázisokat térhálósítani kell, nehogy

a mozgófázis kimossa a CSP molekuláit. A térhálósításhoz felhasznált eljárások mellékreakciói azonban gyakran a szelektivitási tényezők csökkenést eredményezik [41, 118].

A királis kapilláris SFC, akárcsak a GC, legtöbb esetben ciklodextrint tartalmazó királis szelektort használ [73, 113, 115, 116, 117, 155, 168, 171]. A leggyakoribb a permetilezett β -CD szelektor, de más csoportokkal szubsztituált ciklodextrineket is említ az irodalom (TFA, TBDMS, butiril stb.). Az amid tartalmú szelektorok közül a Chriasil-Val [41], a naftil-etil-amid [168, 172] és a ciklohexil-diamid [169, 170] tartalmú sziloxán polimerek érdemelnek említést. A térhálósított királis fémkomplex tartalmú sziloxán állófázisok is megfelelőnek bizonyultak az SFC gyakorlatában [142].

Jelenleg a kereskedelmi forgalomban nem kaphatók királis állófázissal borított kapilláris oszlopok SFC célra. Ezen oszlopok készítése és használata ugyanis nagy szakértelmet igényel, amire jelenleg csak néhány laboratórium van felkészülve.

3.3.3.4. Elemzések hőmérséklete

Az SFC elemzések során mérsékelt hőmérsékletet (15-90 °C) alkalmazunk, ami kedvezőbb a királis szelektivitás szempontjából, mint a GC körülményei. A folyadékkromatográfiához képest az SFC elemzések hőmérséklete csak kissé magasabb.

A módosítók hozzáadásával végzett vizsgálatok általában a szubkritikus tartományba esnek, ahol ügyelni kell arra, hogy a mozgófázis homogén maradjon [152].

2.3.3.5. Akirális származékképzés

Jóformán az összes származék alkalmazható az SFC analízisekben, amelyeket eredetileg GC és LC céljaira vezettek be [64].

Egy polimer CSP és a megfelelő adalékok (pl. ecetsav, trietil amin) lehetővé teszik szabad savak vagy primer aminok SFC elemzését származékképzés nélkül [158]. Azonban az aminokat származékolni kell, ha kevésbé passzívált töltetes oszlopokat használunk. A kapilláris oszlopok esetén többnyire az aminok származékát vizsgáljuk, mert a lángionizációs detektor nem kompatibilis a szerves amin adalékokkal.

A királis elválasztások szelektivitását és a minták UV detektálhatóságát is gyakran növelik a megfelelő származékképzéssel [164, 166, 168]. Az SFC céljaira a hőérzékeny származékok (danzil, dinitro-benzoil) is jól használhatók. Az aminosavak hőérzékeny dinitro-benzoil származékai az eredeti vegyületekhez képest erős UV abszorberré válnak, és királis felismerésük megjavul a π -bázis Pirkle fázisokon [164]. Az amino alkoholok

szelektivitását SFC-ben is jelentősen meg lehet növelni oxazolidin származékuk formájában [166].

Jelenleg a királis SFC fejlődése lelassult, főleg a kapilláris oszlopok alkalmazásáé. Ennek az az egyik oka, hogy a CE rohamos fejlődésével a királis EKC vált divatossá. Másrészt az SFC mérések reprodukálhatósága, főleg a kapilláris oszloposoké még nem eléggé megbízható, a "good laboratory practice" követelményeknek is megfelelő mérések végzésére. Ennek ellenére várható, hogy a normál fázisú folyadékkromatográfiás enantiomer elválasztások jó részét a jövőben töltetes SFC váltja ki. Amennyiben sikerül rutinszerűen megoldani a kapillárisokkal kompatibilis, végnomás szabályzót, és az SFC/MS kapcsolást, akkor a királis kapilláris SFC újból fejlődésnek indul.

3.3.4. Királis, kapilláris elektrokinetikus kromatográfia

3.3.4.1. Kapilláris elektroforézis alapjai

A kapilláris elektroforézis (CE) viszonylagos újszerűsége miatt a technika alapjait is ismertetem, nemcsak a királis elválasztásokban betöltött szerepét. A CE tárgykörében már több könyv is megjelent, amelyek a bőséges elméleti ismeretek mellett hasznos tanácsokat és történeti áttekintést is adnak [53, 173.]. A CE egyedülálló előnyökkel rendelkezik az ionizálható anyagok elemzésében, de módosítva képes semleges anyagok elválasztására is [174].

A kapilláris elektroforézishez általában kvarc oszlopokat használnak, amelyek felülete a szilanol-csoportok miatt, pH 3 fölött negatív töltésű. A szilanol-csoportok az oldatból pozitív töltésű ionokat vonzanak az oszlop falához, amelyek azonban, az elektromos hatására elmozdulnak a katód irányába magukkal ragadva az elektrolit többi alkotóit is. Az így keletkezett elektroosmotikus áramlás (EOF) gyakran nagyobb, mint az ionok saját mozgékonyasága, ezért nemcsak a kationok, hanem a semleges molekulák, sőt az anionok egy része is a katód felé vándorol. Az EOF iránya pozitív töltésű detergenssel átfordítható az anód irányába [175, 176], vagy az oszlop falát akril-amiddal bevonva, az EOF megszüntethető [177].

A CE elemzések nagy hatékonyságra és a gyors elválasztásokra a kapillárisok kedvező hőleadási tulajdonsága és az EOF lapos áramlási profilja ad lehetőséget. Kapillárisban ugyanis az aránylag kis tömegű puffer nagy felületen adja le a részecskék súrlódása során keletkezett hőt (Joule hő). Ez a nagy mérvű hőleadás teszi lehetővé, hogy a CE nagy

vándorlási sebességet adó akár 1000 V/cm nagy térerőn dolgozzon a hagyományos elektroforézis nagyságrendekkel kisebb térereje helyett.

A kapilláris elektroforézis az oszlopok nagy hatékonyságához jelentősen hozzájárul, hogy a kapillárisokban az EOF lapos áramlási profilja sokkal nagyobb elméleti tányérszámú csúcsok elérését teszi lehetővé, mint a nyomás által generált lamináris áramlási profil. A CE esetében nem lép fel az anyagátadási ellenállás miatti csúcsszélesedés.

Néhány nem kívánt hatás azonban leronthatja az elméletileg elérhető rendkívül nagy hatékonyságot. Ha a minta zónának és a háttér elektrolitnak jelentősen eltér a vezetőképessége az elektrodiszperzió torzult, széles csúcsokat eredményez [178]. Az oldatok kiegyensúlyozatlan vezetőképessége ugyanis diffúz vándorló zónát hoz létre a határfelületen. A jelenséget ki lehet küszöbölni a háttér elektrolit és a minta vezetőképességének összehangolásával [179].

A minta adszorpciója az oszlop falán szintén nem kívánt csúcsszélesedést okoz [53]. Az adszorpció csökkentését és megszüntetését jól megválasztott elektrolittal vagy az oszlop falának dezaktiválásával lehet elérni.

A CE kapillárisok térfogata rendkívül kicsi, akár 1 nl minta is már ronthatja a hatékonyságot [174, 180]. Az injektált mintát azonban fókuszálni lehet, ami lehetővé teszi akár 10-70 nl minta beadagolását is a hatékonyság jelentős romlása nélkül.

Koncentráció érzékeny detektálás esetén az elektroferogramok mennyiségi értékelésénél a csúcsok területét korrigálni kell a vándorlási idővel. Az elektroforézisben ugyanis a csúcsok nem azonos sebességgel haladnak el a detektor előtt, ezért a kisebb sebességű csúcsok nagyobb jelet adnak [181]. A mennyiségi értékelések nem alapulhatnak a csúcsmagasság mérésén, mert a csúcsok magassága gyakran nem arányos a csúcsok területével az elektrodiszperzió és a túlterhelés okozta csúcstorzulások miatt. Az elektrolit kis térfogatárama és a keskeny oszlopátmérő könnyebbé teszi az MS kapcsolást [48, 182, 183], és a lézerrel indukált fluoreszcens detektorok használatát a kapilláris elektroforézisben mint a folyadékkromatográfiában [184].

A CE egyik hatalmas előnye, hogy kevesebb minta-előkészítést igényel, mint a kromatográfiás technikák [17, 35, 38-40, 184]. Plazma és vizelet minták akár tisztítás nélkül is analizálhatók, mert minden egyes analízis után a feltapadt komponensek az oszlopról gyorsan kimoshatóak. Mosófolyadéknak akár mólos koncentrációjú savas vagy lúgos oldatokat is lehet használni az oszlop károsodása nélkül.

Jelenleg a kapilláris elektrochromatográfia (CEC) a CE legdinamikusabban fejlődő ága [73, 185, 186]. Ebben a hibrid technikában az áramlást az EOF adja, míg az állófázis általában

a HPLC gyakorlatban használt töltet. A CEC technikában kisebb szemcseméretű töltetet és hosszabb oszlopokat nagyobb áramlási sebességeket lehet használni, mivel az áramlást nem a nyomás vezérli, hanem az EOF. A CEC oszlopok hatékonyságát az is növeli, hogy a szemcsék üregei jól öblítettek. Ennél a technikánál az áramlást a szemcsék felületén lévő szilanol-csoportok generálják, ezért a szemcsék üregeiben az anyagátadás nem diffúzió kontrolált.

3.3.4.2. Királis kapilláris elektrokinetikus kromatográfia speciális tulajdonságai

Az előző fejezetből látható, hogy a kapilláris elektroforézis maga nem kromatográfias módszer, mivel az eltérő elektroforetikus mozgékonyaságú anyagok elválasztása megoszlási folyamatok nélkül történik. Az elektroforézises körülmények között végrehajtott enantiomer elválasztásokban azonban a többszörösen megismétlődő megoszlási folyamatok is mindig szerepet játszanak, ezért ezek elválasztások kromatográfianak is tekinthetők [60, 63]. Az oldott királis szelektort pszeudo-állófázisnak is nevezik, mert az enantiomerek vándorlási sebessége szabad és asszociált állapotban különböző. A kapilláris elektroforézis körülményei között végrehajtott királis elválasztások besorolása és nevezéktana ma még a szakirodalomban is vitatott kérdés. Az elektroforetikus hatások felhasználásával végrehajtott királis elválasztásokat a dolgozatomban elektrokinetikus kromatográfianak (EKC) nevezem, hogy egyértelműen megkülönböztessem a csak elektroforetikus jelenségeket használó CE technikától.

A királis EKC témájában eddig egy könyv [60] és számos áttekintő közlemény jelent meg [62, 63, 187]. Az Electrophoresis folyóirat kétévenként különszámban foglalkozik az enantiomerszelektív elválasztásokkal, míg más kiadványok királis különszámait (pl. J. Chromatogr. A666, 792, 875, 906 stb.) is bő terjedelemben foglalkoznak ezzel a technikával.

Az EKC gyakorlatában, legtöbbször az elektrolit a királis szelektort oldott állapotban tartalmazza. A szelektor oldott állapota előnyös a hatékonyság szempontjából, mivel így az állófázisban nincs ellenállás az anyagátadással szemben, és nincs szükség a minta keresztirányú diffúziójára ahhoz, hogy a szelektorral kölcsönhatásba lépjen.

A két enantiomer mozgékonyaságának különbségét ($\Delta\mu$) a következő egyenlettel lehet kifejezni [188]:

$$\Delta\mu = \frac{[c](\mu_f - \mu_c)(K_s - K_R)}{1 + [c](K_R + K_s) + (1 + K_R K_s)[c^2]}$$

3. egyenlet



ahol $[c]$ a királis szelektor koncentrációja; μ_f és μ_c sorra a szabad és a kölcsönhatásba lépett (diasztereomer asszociátum) minta mozgékonyága; K_S és K_R a két enantiomer egyensúlyi állandója a királis szelektorral. A fenti egyenlet feltételezi, hogy a két enantiomer mozgékonyága azonos (szabad vagy asszociált) állapotban megegyezik ($\mu_S = \mu_R$).

A 3. egyenletből kiderül, hogy az elválasztáshoz nem elég, ha a két enantiomer egyensúlyi állandója egymástól eltér ($K_S \neq K_R$). Szükséges még az is, hogy az enantiomerek mozgékonyága különböző legyen szabad és diasztereomer asszociátumuk formában ($\mu_f \neq \mu_c$). Amennyiben az enantiomerek mind szabad, mind az asszociált formában semlegesek, vándorlási sebességük megegyezik az EOF sebességével, azaz nincs elválasztás, függetlenül attól, hogy mekkora a különbség a két enantiomer egyensúlyi állandója között.

A 3. egyenletből az is kiderül, hogy az enantiomerek elválasztása annál nagyobb, minél nagyobb különbséget mutat mozgékonyáguk szabad és asszociált állapotban, azaz a szelektorok és a minták ellentétes töltése előnyös az elválasztás szempontjából. Ilyen párosításban a szelektor kis koncentrációja is elegendő az eredményes elválasztáshoz [189-191]. Ellentétes töltésű szelektor és minta esetén a szelektor bizonyos koncentrációjánál hatalmas elválasztások érhetők el, ha nincs EOF. A szelektorhoz erősebben kötődő enantiomer vándorlása megállítható, ha vándorlási sebessége szabad és kötött állapotban egyenlő, míg a gyengébben kötődő enantiomer elmozdul a minta töltésének megfelelő irányba.

A 3. egyenletből az is kiolvasható, hogy a két izomer mozgékonyágának különbsége maximumot mutat a szelektor koncentrációjának függvényében [192]. Fel kell azonban hívni a figyelmet arra, hogy a mozgékonyági különbségek nem azonosak felbontóképességgel, mivel az utóbbi magában foglalja a hatékonyságot is [179].

Több kifejezés is használatos az EKC gyakorlatában a szelektivitás jellemzésére [60]. Munkámban a szelektivitások szemléltetésére az enantiomerek vándorlási idejének hányadosát használtam, amit egyes források látszólagos szelektivitási tényezőnek neveznek (α_{app}) [60].

A királ-szelektív EKC a legtöbb esetben a szelektort az elektrolitban oldva alkalmazza. A CEC vizsgálatokban a királis szelektor lehet az elektrolitban oldva [193] vagy állófázisként a kapilláris falához [73, 194], esetleg a töltet szemcséihez kötve [195-198]. Szilárd hordozóhoz kötve azok a szelektorok is használhatóak, amelyek nem oldódnak az elektrolitban [196, 198]. A CEC új fejlődési iránya a tömb-oszlopos (monolithic) megoldás [198, 199]. Ennél a módszernél a hordozót az oszlopban polimerizálják, porogén anyag

jelenlétében, így az oszlop átjárható marad. A királis szelektorok vagy részt vesznek a polimerizációs reakciókban, vagy később kötik őket a kialakult vázhoz. A CEC gyakorlatában a tömb-oszlopokhoz lehet lágy polimert is használni, mert az áramlást az EOF biztosítja, nem a nyomás.

3.3.4.2.1. Ellenáramú technika

Számos királis szelektor (fehérjék, antibiotikumok, alkaloidok) nagy UV abszorbanciát mutatnak. Ezek az elektrolitban oldva zavarhatják a minták detektálását, aminek kiküszöbölésére az ellenáramú technika szolgál [200-202]. Az ellenáramú technikában az elválasztások ellentétes töltésű szelektorral és enantiomerrel hajthatók végre, borított oszlopokon ($EOF = 0$). Még az elemzés megkezdése előtt a szelektor oldatával megtöltik az oszlopot, majd a mintát injektálják. Az analízis folyamán az oszlop végei olyan elektrolittal töltött edényekbe érnek, amelyek nem tartalmazzák az UV-aktív szelektort. Ebben az elrendezésben a szelektor vándorlási iránya az injektálási pont felé irányul, míg az enantiomereké ezzel ellentétes. Így elérhető, hogy a szelektort tartalmazó elektrolit már eltávozik a detektor ablakból, mire a minta komponensei odaérnek. Természetesen a szeparáció úthossza kisebb, mint az injekciós pont és a detektor távolsága (hasznos kapilláris hossz, h_{kh}), de a felhasznált királis szelektorok nagy szelektivitása miatt ez elegendő. Néhány esetben egy cm hosszúságú, szelektort tartalmazó elektrolit is elég volt az alapvonal-felbontáshoz [202].

A nagy molekulájú többszörösen ionizált szelektorok zavaró hatását is kiküszöböli az ellenáramú technika a CE/MS kapcsolásoknál [48, 182, 183].

3.3.4.2.2. Vándorlási sorrend megfordítása

Az előzőekben már bemutattam, hogy a szélsőséges enantiomer arányok meghatározásánál előnyös, ha a kis csúcs detektálódik előbb [27, 28, 31]. Az EKC több lehetőséget kínál az enantiomerek vándorlási sorrendjének megfordítására, mint a többi elválasztási módszer [60]. A vándorlási sorrend megváltozása gyakran a vándorlási irány megfordulását (injektálási és detektálási pont felcserélése) is eredményezi. A vándorlási sorrend megváltoztatására a főbb lehetőségek a következők:

- A szelektor kiralitásának megváltoztatása [203].
- Más mechanizmusú királis szelektorok használata [204, 205].
- A pH eltolásával a minta vagy a szelektor ionizáltsági állapotának megváltoztatása [206-208].

- Az EOF megszüntetése vagy megfordítása [208].
- A nagy mozgékonyágú, erős kölcsönhatással rendelkező szelektor koncentrációjának növelése [175].
- Akirális micellaképzők alkalmazása [209].

3.3.4.3. Oszlopok

Leggyakrabban kvarc (FSOT) oszlopokat használnak az EKC elválasztásokra. Az oszlop falának adszorpciós tulajdonságai és az EOF megszüntethetők akril-amid [177, 206, 208] vagy metil-cellulóz [200, 210] borítással. A kvarc jó UV áteresztő tulajdonsága lehetővé teszi az on-column detektálást, ami általában a katódos oldalon történik. Az on-column detektáláskor a tényleges elválasztási úthossz nem egyenlő a kapilláris teljes hosszával (elektródok távolsága).

A kapilláris oszlopok hossza 10-100 cm közé esik. Az on-column detektálási ablak általában 5-7 cm-re van a katódtól. Rendkívül gyors elemzések érhetők el, ha az oszlopba a detektor oldalon injektálunk, mert ilyenkor az injektálás és detektálás távolsága csak csekély [42, 211, 212].

Az oszlopok belső átmérője 0,025-0,1 mm tartományba esik. A vékonyabb oszlopoknak jobb a hőleadásuk és kisebb az áramfelvételük, ezért rajtuk nagyobb hatékonyságú vizsgálatok végezhetők [28]. A kis átmérő miatt azonban csökken az on-column detektálás optikai úthossza, és megnő a kapilláris eltömődésének veszélye.

Az oszlop lehet egy chipbe mart csatorna [213, 214].

3.3.4.4. Háttér elektrolitok

A háttér elektrolit funkciója bizonyos mértékig analóg a kromatográfiás mozgófázisokéval az EKC elválasztásokban. A legtöbb királis elválasztást 20-100 mM koncentrációjú víz alapú elektrolitokban végzik. A legtöbbször használt elektrolitok a folyadékromatográfiában megszokott pufferek (foszfát borát, acetát anionok és Na, Li, K kationok). A kis vezetőképességű szerves iker ionokat tartalmazó elektrolitok azonban kedvezőbbek az elektrodiszperzió és a hőképződés szempontjából [179]. Ionos szelektorok használatánál ezek vezetőképességét is figyelembe kell venni, nemcsak a háttér elektrolitét.

Az elektrolit gyakran tartalmaz 5-40 % szerves adalékot. Az adalékok csökkentik az EOF nagyságát, a minták adszorpcióját az oszlop falán, és megnövelik az apoláris anyagok oldékonyságát. Az adalékok azonban elfoglalhatják a királis szelektorok felismerő helyeit, és

szétroncsolhatják a micellákat [215]. A leggyakrabban használt adalék a metanol, de más alkoholok és acetonitril használata is előfordul az irodalomban.

A nem-vizes oldószereken alapuló pufferek használata egyre elterjedtebb [176, 203, 216-218]. A szerves háttér elektrolitok vezetőképessége, sav-bázis viszonyai, oldékonysági tulajdonságai és szelektivitási jellege eltér a vizes alapú elektrolitokétól. A nem-vizes elektrolitok alkalmazhatóságát jól példázza, hogy a natív β -CD csak ~ 15 mM koncentrációban oldódik vizes közegben, de formamidban 100 mM fölötti koncentráció is elérhető. [216]. A nem-vizes közegű elektrolitot főleg akkor érdemes alkalmazni, ha a szelektorok nem vizes-közegben szelektívek, ahogy ezt a cellulózok [192, 196] és az ionpár-képzők esetében tapasztalták [198, 203, 218].

3.3.4.5. Királis szelektorok

Az EKC nagy oszlopok onysága már kis szelektivitási tényező esetén ($\alpha_{\text{eff}} = 1,01$) is alapvonal-elválasztást eredményez. Az analízisek kis szelektor szükséglete drága szelektorok alkalmazását (pl. ionos ciklodextrinek, antibiotikumok) is lehetővé teszi.

Az ionizálható szelektorok általában előnyösebbek a semlegesnél, ahogy azt a 3 egyenlet tárgyalásánál bemutattam. A királis szelektorok a legtöbbször háttér elektrolitban oldva, pszeudó állófázisként működnek.

3.3.4.5.1. Ciklodextrinek

Az EKC gyakorlatában is a ciklodextrinek a leggyakrabban használt királis szelektorok a széles szelektivitási körük, stabilitásuk, aránylag olcsó árak és kis UV abszorpciójuk miatt [17, 30, 63, 219].

Kezdetben főleg natív ciklodextrinet, főleg a β izomert alkalmazták [60, 219]. Mérsékelt oldékonyságuk és korlátozott királis felismerési körük miatt a natív ciklodextrinek használata háttérbe szorult. Jelenleg gyakran csak mint szelektor kombináció alkotórészét [220] vagy összehasonlítási alapként használják őket [221].

A metilezett ciklodextrinek királis felismerési köre szélesebb, jobb oldékonyságúak és oldóképességűek, mint a natívak [220, 222, 223]. A metilezett CD származékok közül egyesek statisztikusan szubsztituáltak [222], míg mások egységes termékek (pl. TRIMEB). Az előbbieknél szélesebb a királis felismerő képessége de nem jó a termékek reprodukálhatósága.

Az (S)-(2-hidroxi)propil származékok (pl. HP-CD) széles körben használt királis szelektorok [35, 223, 224]. A szubsztituensek is királis atomot tartalmaznak, ami tovább szélesíti alkalmazási körüket. Nagyon jó oldószerek, statisztikusan szubsztituáltak.

A szulfo-szubsztituált ciklodextrinek jelenleg a leggyakrabban használt ionos CD származékok. A szulfo-csoport kapcsolódhat közvetlenül (szulfát) [28, 205, 226-228] vagy különböző hosszúságú alkiláncon keresztül (szulfon) [189, 204, 229, 230] a CD gyűrűjéhez. Ezen származékok szelektivitása nagyban függ a szubsztitúció fokától és módjától. Az enantiomerek vándorlási sorrendjének megfordulását is megfigyelték a CD-szulfát szubsztitúciós fokától függően [227]. Az eredmények jobb reprodukálhatósága érdekében egységes (single isomer), hét szulfát-csoporttal szubsztituált termékeket vezettek be az EKC gyakorlatába [225, 231], sőt már 14-szeresen szubsztituált egységes termékről is beszámolt az irodalom [232].

A szulfo-szubsztituált CD származékok rendkívül nagy elválasztó képességgel rendelkező királis szelektorok. Gyakran 1 mM alatti koncentrációban vagy rövid oldat dugóként is alapvonal-elválasztást eredményeznek [228]. Nagy vezetőképességük miatt ezeket a származékokat 10 mM fölötti koncentrációban ritkán alkalmazzák. A szulfo származékok használatakor szerves adalékok használata javasolt, és a magasan szubsztituált termékeknel ügyelni kell az elektrodiszperzió kiküszöbölésére. A szulfo-szubsztituált ciklodextrinek főleg a bázikus és semleges enantiomerek elválasztásában bizonyultak hasznosnak, de sok gyengén savas enantiomer elválasztására is alkalmasak alacsony pH értékeken.

A karboxil-csoporttal szubsztituált CD származékok is gyakran használt ionizálható királis szelektorok. A karboxi-metil szubsztituált molekulákat [175, 205, 206, 208, 233] használják a leggyakrabban, de karboxi-etil és szukcinil [206] származékok alkalmazására is található jó néhány példa.

A karboxil származék vezetőképessége mérsékelt, ezért az elektrodiszperzió és a Joule féle hőképződés kisebb problémát jelent használatukkor. Mint statisztikusan szubsztituált származékok, szelektivitásuk nagyban függ a gyártótól [233].

Ezek a szelektorok alacsony pH tartományban (2-3) semlegesek, ezért pH-tól függően több-fajta királis felismerésük is lehet. Főleg bázikus és semleges enantiomerek elválasztására használják őket.

Számos bázikus funkciós csoportot (alkil-aminok, hisztamin, piroldin stb.) csatoltak már a ciklodextrinekhez, hogy savas enantiomerekre jó királis szelektort nyerjenek [175, 176, 234, 235]. Sajnos eddig még nem vezettek be megfelelő, stabil, könnyen kezelhető, elfogadható árú bázikus CD származékot. A leggyakrabban használt bázikus CD a 2-(hidroxipropil)-trimetil-ammonium- β -CD [175, 176] a kvaterner ammonium CD

származékok az egész pH tartományban ionizáltak, de más bázikus származékok a pH-tól függően változtatják ionizáltságukat és ezzel együtt királis felismerő mechanizmusukat. A bázikus ciklodextrinek az oszlop falához tapadva hatással lehetnek az EOF nagyságára és irányára. Ilyen esetek jó részében az EOF nem stabil, ami a vándorlási idők bizonytalanságát eredményezi [175, 235]. A bázikus ciklodextrinek körében is kísérletek folynak egységes származékok bevezetésére [236]. Két bázikus szubsztituens esetén a termékek szelektivitása szignifikánsan különbözött attól függően, hogy a szubsztituált cukoregységek egymáshoz képest hol helyezkedtek el.

Két CD szelektor kombinációja az elválasztásokban minőségi javulást okozhat az egymástól független használatukhoz képest [28, 237, 238]. Általában egy ionos és egy semleges CD kombinációját alkalmazzák. Nem szükséges, hogy mindkét CD királis felismerést mutasson a vizsgált enantiomerekkel szemben. Gyakran csak a semleges ciklodextrin az enantiomer szelektív, míg az ionos csak az EOF sebességétől eltérő vándorlásért felelős. Az elemzési idők csökkentésére is jók az ilyen kombinációk, ahol egy semleges CD kompenzálni tudja a savas elemzési időt növelő hatását.

3.3.4.5.2. Makrociklusos antibiotikumok

A makrociklusos antibiotikumok használata rendkívül dinamikusan fejlődik a királis elektroforézisben [207, 239-243]. Az ilyen szelektorok gyakran rendkívül nagy szelektivitásúak. teicoplanin 1,2 mM-os oldatával például $R_s = 38$ értéket lehetett elérni [240].

Ezek a szelektorok széles királis felismerési körrel rendelkeznek, mivel a molekulák számos aszimmetria centrumot (pl. vancomicin 18) és csavart gyűrűrendszert tartalmaznak. Többféle funkciós csoportjuk is tág teret enged a különféle kölcsönhatásokra. Szelektivitásukat és egyes tagjaik stabilitását nagyban befolyásolja a puffer pH értéke. A rifamicinek kivételével a makrociklusos antibiotikumokat kis (0,1-5 mM) koncentrációban alkalmazzák. Ezeket a szelektorokat általában szerves adalékokkal együtt használják, hogy elkerüljék a szelektor molekulák aggregációját, és gátolják adszorpciójukat az oszlop falán. Az elválasztások rendszerint ellenáramú technikával történnek a makrociklusos antibiotikumok nagy UV-aktivitása miatt.

A glikopeptid vancomicin a makrociklusos antibiotikumok legelterjedtebben használt képviselője. Ez a szelektor savas enantiomerek elválasztására a legalkalmasabb [201, 241]. A savas enantiomerek elválasztására használják még a teicoplanint [240], ristocetint [201], avoparcint [242]. A bázikus enantiomerek elválasztására a rifamicin molekulák alkalmasak [239, 241].

A ciklodextrinhez és a makrociklusos antibiotikumokhoz képest a más-fajta szelektorok a szerepe másodlagos. A fehérjék [200, 202, 244], a micellaképző, királis felületaktív szerek [174, 245, 246], a lineáris oligoszaharidok [247] és a királis korona-éterek [248, 249] használata kis mértékben elterjedt.

2.3.4.6. *Elemzések hőmérséklete*

Az EKC elválasztásoknál nincs szükség magas hőmérsékletre [60, 173]. A királis elválasztások szempontjából kedvező, alacsony elemzési hőmérséklethez azonban néhány szabályt be kell tartani.

A mindennapi gyakorlatban az a vezérelv, hogy olyan feszültségen érdemes dolgozni, ahol az áram nem haladja meg a 70-90 μA -t, mert így a hőtermelés és a hőleadás egyensúlyban tartható, ha a készülék hűthető. Az ionos szelektorok, főleg a többszörösen ionizáltak, jelentősen hozzájárulhatnak az elektrolitok vezetőképességéhez.

3.3.4.7. *Akirális származékképzés*

Az akirális származékképzést gyakran alkalmazzák a királis felismerés fokozására [34, 184, 250, 251], vagy a minták detektálhatóságának és stabilitásának javítására [251] az EKC elválasztásokban is. Gyakorlatilag az összes származékképzési reakció használható, amit a folyadékkromatográfiában az UV és a fluoreszcenciás detektálhatóság fokozására bevezettek [64, 201, 207, 242, 251].

Gyakran a választott származékok több szempontból is javítják az elemzések minőségét [34, 250, 252]. A fenoxisav herbicidek 7-amino-naftalin-1,3-diszulfon származékai például, nemcsak a környezeti minták kimutatását tette lehetővé lézeres fluoreszcenciás detektorral, hanem a származékok jól illettek a TRIMEB királis felismerő képességéhez is [34].

A közeljövőben az EKC térhódítása optikai izomerek elválasztásában a jelenleginél is rohamosabb lesz. Várható, hogy az enantiomerarány meghatározásokban az EKC átveszi az uralkodó szerepet a folyadékkromatográfiától. Nagy fejlődés várható még a CEC, a mikrochipek felhasználása és a nem-vizes közegben végzett EKC területén.

Ahhoz, hogy az EKC megvalósítsa a benne rejlő lehetőségeket, meg kell oldani a még meglevő műszerezettségi problémákat. Javítani kell az injektálás reprodukálhatóságát, a detektálás határfokát és az EOF stabilitását. A királis szelektorok terén számos új, ionos CD és makrociklusos antibiotikum bevezetése várható a közeljövőben.

A fentiekben bemutatott kromatográfiás technikák mellett a szakirodalom korlátozott mértékben beszámol még más típusú kromatográfiás technikák alkalmazásáról az enantiomer elválasztásban [11, 253]. A vékonyréteg kromatográfia [254], a membránszeparáció [255], az ellenáramú kromatográfia [256] és a szimulált-mozgó ágyas technika (SMB) [257, 258] királis alkalmazásairól korlátozott számban találhatóak publikációk.

A kromatográfia királis preparatív elválasztásokra is alkalmas, elsősorban a szimulált-mozgó ágyas technika [257, 258]. A gyógyszerek kipróbálásának kezdeti fázisában az esetek nagy részében a tiszta enantiomereket racemátok kromatográfiás, vagy rezolválási módszerekkel végrehajtott elválasztásával érdemes előállítani a királis szintézisek kidolgozása helyett.

4. KISÉRLETI RÉSZ

4.1. Felhasznált anyagok

Az alkalmazott oldószerek HPLC vagy pro anal.-minőségűek voltak (Reanal, Merck, Fluka). A reagenseket és a háttér-elektrolitok vegyszereit a Merck, Fluka, Supelco cégek szállították. Az akirális polimer gázkromatográfiás állófázisokat (SE-54, OV-1701Vi, OV-61 OH, OV-225, CPWax-51) a Chrompack cégtől vásároltam. Desztillált vizet Milli Q (Millipore) készülékből nyertem. Munkám során 0,050-0,200 mm belső átmérőjű kvarc kapillárisokat használtam (fused silica open tubular [FSOT], Polymicro Technologies).

Az EKC munkákban alkalmazott ciklodextrin királis szelektorok mind a Cyclolab termékei voltak, amelyek egy része közös fejlesztésünk eredménye (3. táblázat).

A felhasznált kémiaiilag kötött királis állófázisok szintetizálása a következő helyeken történt: a Chrasil-Dex [116] a tübingeni egyetemen, míg a ChNEB, [172] és a ChDA [170, 171] a provoi egyetemen. A keverék királis állófázisok készítésénél felhasznált szelektorok közül az MMBC, PMBC, TBC, TCA cellulóz alapú szelektorokat a CIBA-GEIGY gyógyszergyártól együttműködés során kaptam.

A vizsgált enantiomer párok egy része kereskedelmi termék volt (Sigma-Aldrich, Supelco), más részük a Chinoin, CIBA-GEIGY, Astra-Hassle gyárak gyógyszer-alapanyagai vagy ezek melléktermékei voltak, harmadrészt pedig a BMGE Szerveskémiai Technológia Tanszékének munkatársai állították elő.

Az optikai izomerek jelentős részét (pl. metoprolol, piretroidsavak, szubsztituált 1-fenil-etilaminok) együttműködések keretében analizáltam.

A jól ismert tesztvegyületek (pl. transz-sztilbén-oxid, 1-fenileti-lamin, mandulasav, warfarin) analizálásával az új szelektorok tulajdonságait ellenőriztem, és tettem összehasonlíthatóvá más szelektorokkal.

Azon esetekben, amikor királis felismerést tapasztaltam egy enantiomerre, akkor az analizések körülményeit optimalizáltam, és rokon szerkezetű vegyületek elválasztását is vizsgáltam.

A vizsgálandó enantiomereket gyakran különböző származékuk alakjában is analizáltam, hogy megtaláljam a szelektor királis felismerésének legmegfelelőbb formát. A felhasznált akirális reagenseket irodalmi receptek alapján reagáltattam a vizsgálandó vegyületekkel [64, 55, 94-95].

3. táblázat A királis EKC módban végzett elválasztásokhoz használt ciklodextrin szelektorok

Ciklodextrinek neve	Ciklodextrinek rövidítése	Szubsztituensek Szerkezete	Szubsztituensek	
			Száma	Pozíciója
α -ciklodextrin	α -CD	/	/	/
karboxi-metil- α -ciklodextrin	α -CMCD	-CH ₂ COOH	2-3	2,6
karboxi-etil- α -ciklodextrin	α -CECD	-C ₂ H ₅ COOH	2-3	2,6
α -ciklodextrin foszfát	α -PhoCD	-H ₂ PO ₃	6-12	2,6
β -ciklodextrin	β -CD	/	/	/
metilezett β -ciklodextrin	RAMEB ^a	-CH ₃	13-14	2,3,6
dimetilezett β -ciklodextrin	DIMEB ^b	-CH ₃	14	2,6
trimetilezett β -ciklodextrin	TRIMEB ^c	-CH ₃	21	2,3,6
karboxi-metil- β -ciklodextrin	β -CMCD	-CH ₂ COOH	2-3	2,6
karboxi-etil- β -ciklodextrin	β -CECD	-C ₂ H ₅ COOH	2-3	2,6
β -ciklodextrin foszfát	β -PhoCD	-H ₂ PO ₃	6-12	2,6
permetil-monoamino- β -CD	β -PMMACD	-CH ₃	20	2,3,6
		-NH ₂	1	6
2,3-dimetil-6-amino- β -CD	β -HDMACD	-CH ₃	14	2,3
		-NH ₂	7	6
monoamino- β -CD	MA- β -CD	-NH ₂	1	6
γ -ciklodextrin	γ -CD	/	/	/
karboxi-metil- γ -ciklodextrin	γ -CMCD	-CH ₂ COOH	2-3	2,6
karboxi-etil- γ -ciklodextrin	γ -CECD	-C ₂ H ₅ COOH	2-3	2,6
γ -ciklodextrin foszfát	γ -PhoCD	-H ₂ PO ₃	6-12	2,6

^a Statisztikusan metilezett

^b 2,6 pozíciókban szabályosan metilezett

^c Permetilezett

4.2. Alkalmazott műszerek

A GC méréseket HP 5890 (Hewlett Packard), Carlo Erba 5160 Mega (CE Instrument) készülékeken végeztem split üzemmódban, H₂ vivőgázzal és lángionizációs detektorral. Az SFC analízisekhez Carlo Erba SFC 300 (CE Instrument) és Lee Scientific 600 (Dionex) műszereket használtam CO₂ mozgófázissal és lángionizációs detektorral. Az EKC vizsgálatokhoz HP ^{3D}CE (Hewlett Packard) és P/ACE 2100 (Beckman) készülékeket alkalmaztam UV detektálással. A HP ^{3D}CE készülékben 58 cm x 0,05 mm FSOT kapillárisokat használtam, amelyek hasznos kapilláris hossza 8 cm-rel rövidebb volt. A P/ACE 2100 műszerben 37,5 x 0,05 mm és 27.5 cm x 0,05 mm FSOT oszlopokat alkalmazta 7,5 centiméterrel rövidebb hasznos kapilláris hosszal.

4.3. Eljárások

A GC és SFC célokra használt kapillárisokat elsőként hidrotermális kezelésnek vettem alá, amivel elértem, hogy az oszlop falán a szilanol koncentrációja megfelelő legyen a dezaktiváláshoz. [116, 118, 259, 261]. A módszer lényege az volt, hogy vizes öblítés után az oszlopot lezárom, és két órán keresztül 250 °C-ra melegítem, majd a hőkezelést H₂ áramban megismétlem.

Az oszlopok egy részének falát un. hidrosziloxán módszerrel dezaktiváltam [118, 259] úgy, hogy a hidrosziloxán nal dinamikusan nedvesített falú kapillárist lezártam, majd 10 órán keresztül 280 °C-on tartottam, és utána diklórmétánnal kimostam (ChDA, ChNEB). Egyes esetekben az egyenletesebb állófázis eloszlás érdekében nem alkalmaztam dezaktiválást vagy a poli(etilén-glikol)-os dezaktiválást használtam [261] (Chirasil-Dex, cellulóz származékok).

Az oszlopok állófázisokkal való nedvesítését statikus módszerrel végeztem [262]. A CSP oldatokat az oszlopba töltés előtt 0,22 µm Millex-GV „syringe filteren” (Millipore) keresztül szűrtem, hogy a kapillárisok eltömődését elkerüljem.

Az SFC analízisekhez szükséges térhálósítás eléréséhez a CSP jellegétől függően többfajta módszert használtam. A statikus azo-terc-butános módszernél [259] az oszlopon azo-terc-butánnal telített inert gázt áramoltattam, majd az oszlopot lezárás után 40 percig 220 °C-on tartottam (ChNEB, cellulózok). A dinamikus dikumil-peroxidos módszer [118] esetén a reagenst a CSP nedvesítésre használt oldatához adtam. Nedvesítése után az oszlopot fél órán keresztül inert gázzal öblítettem, majd lassú gázáramban 5 °C/perc hőmérséklet

programmal 170 °C-ig melegítettem, ahol 40 percig kondicionáltam (cellulózok). A termikus térhálósítás [116] inert gázáramban 36 órás 250 °C-os hőkezeléssel történt (Chirasil-Dex).

Az EKC mérésekhez használt kapillárisokat az első használat előtt 1 órás 0,1 M NaOH-os mosásnak vettem alá, amelyet 15 perces desztillált vizes öblítés követett [193]. A mérések között általában sorra 2-2 perces desztillált vizes, 0,1 M NaOH-os, desztillált vizes mosási lépéseket alkalmaztam. Az oszlopokat az elemzések előtti kondicionálás céljából általában 5 percig az analízis elektrolitjával (háttélektrolit + szelektor) öblítettem. A CD foszfát szelektoroknál azonban analízis elektrolitjával csak 0,5-2 percig öblítettem, ha a szelektor adszorpciójának veszélye fennállt.

Az elektrolitok pH-ját a királis szelektorok hozzáadása után 0,1 M töménységű NaOH-dal illetve H₃PO₄-gyel állítottam be a kívánt értékre. Az elektrolitok készítéséhez gyakran alkalmaztam ún. „Britton-Robinson” puffert, amely bórsav, ecetsav és foszforsav 1:2:2 arányú elegyből áll.

Az elektrolitokat 0,22 µm Millex-GV „syringe filteren” (Millipore) keresztül szűrtem, hogy a kapillárisok eltömődését elkerüljem.

Az analízisekhez a lehető legnagyobb feszültséget választottam (≤ 30 kV) úgy, hogy az analízis árama ne haladja meg a 70-80 µA-t.

Az eredményeket három párhuzamos mérés alapján számoltam. A számításokhoz a retenciós és migrációs időket századperc pontossággal mértem, az R_s és az α értékeket egy illetve három tizedes jegy pontossággal számoltam.

Kutatásaim során a mérésekhez a paraméterek rendkívül széles körét használtam, amelyek részletes ismertetésének nincs helye az általános kísérleti részben. Az elválasztások és az elérésükhöz szükséges analízis paraméterek (pl. oszlophossz, elemzés hőmérséklete, széndioxid nyomása, szelektor koncentrációja, elektrolit pH értéke) logikus összekapcsolása érdekében az analízisek paramétereit az adott eredmények bemutatásánál ismertetem.

5. EREDMÉNYEK

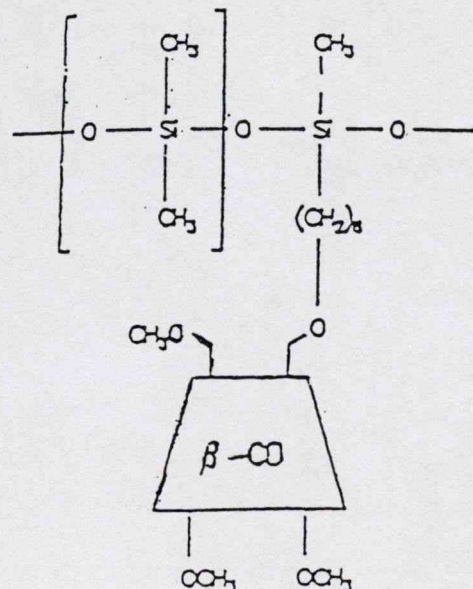
5.1. Enantiomer-szelektív állófázisokkal elért eredmények

A kapilláris GC és SFC gyakorlatába új királis állófázisokat vezettem be, ugyanakkor korábban már bevezetett Chirasil-Dex [116] új alkalmazásaival és az akirális származékképzéssel elért eredményeket ismertetem az alábbiakban. A GC és az SFC módszert egy fejezetben tárgyalom, mert a vizsgált állófázisok királis felismerő tulajdonságai a két kromatográfiás technikában hasonlóak.

A kutatásaim során elsőként elválasztott enantiomereket a szelektoroknál ismertetett táblázatok foglalják össze. Chirbase [102] nyomán az elválasztást akkor tekintem újnak, ha egy adott enantiomer párt korábban még nem választottak el a megnevezett szelektorral, az adott származék formában és kromatográfiás módszerrel.

5.1.1. Kémiailag kötött, permetilezett β -ciklodextrint tartalmazó, királis állófázis (Chirasil-Dex)

A Chirasil-Dex állófázist (térhálósítható, metil-polisziloxán vázhoz oktil köztaggal kötött permetilezett β -ciklodextrin, 1. ábra) előzetes kutatásaink során fejlesztettük ki GC és SFC analízisekhez [110-116], de ezen CSP alkalmazásait tovább vizsgáltam [263-271]. A kandidátusi értekezésem óta ezen az állófázison elért új GC és SFC elválasztásokat módban a 4. illetve 5. táblázaton mutatom be.



1. ábra Chirasil-Dex (térhálósítható, metil-polisziloxán vázhoz oktil köztaggal kötött permetilezett β -ciklodextrin) királis állófázis [116].

4. táblázat Chirasil-Dex szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban [263, 265-272]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
1		6-fenil-1,3-dioxolán	éter	90	1,5	1,023
2		<i>p</i> -metoxi-6-fenil-1,3-dioxolán	éter	110	1,5	1,023
3		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid	130	1,0	1,012
4		<i>cisz</i> -2-metil-ciklohexanol	alkohol (Ac)	40	1,5	1,023
5		<i>transz</i> -2-metil-ciklohexanol	alkohol (Ac)	40	2,3	1,069
6		<i>cisz</i> -2-etil-ciklohexanol	alkohol (Ac)	40	1,6	1,047
7		<i>transz</i> -2-etil-ciklohexanol	alkohol (Ac))	40	1,4	1,027
8		<i>transz</i> -2-propoxi-ciklohexanol	alkohol /	80	1,7	1,051
9		<i>transz</i> -2-izopropoxi-ciklohexanol	alkohol /	110	2,1	1,073
10		<i>transz</i> -2-bróm-ciklohexanol	alkohol (Ac)	80	2,1	1,044
11		<i>transz</i> -2-jód-ciklohexanol	alkohol (Ac)	70	1,5	1,016
12		3-klór-fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	140	2,4	1,057
13		4-klór-fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	130	3,0	1,101
14		3,4-diklór-fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	150	2,6	1,062

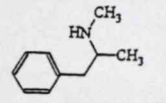
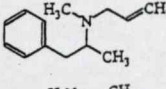
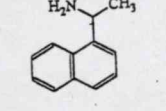
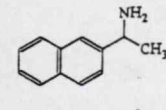
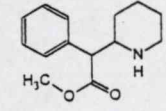
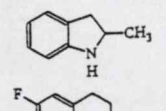
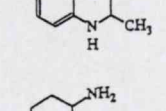
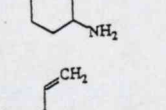
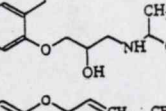
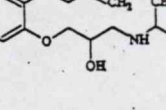
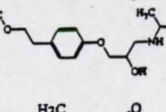
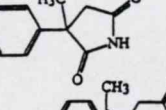
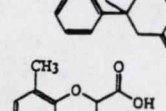
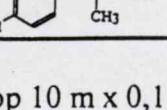
^a oszlop 10 m x 0,1 mm FSOT; vivőgáz, H₂

4. táblázat Chirasil-Dex szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban [263, 265-272] (folytatás)

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
15		3-bróm-4-metoxi-fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	150	2,0	1,043
16		3,4-metiléndioxi-fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	130	1,9	1,043
17		1-naftil-1-etanol	alkohol /	170	1,7	1,045
18		2-naftil-1-etanol	alkohol /	140	1,6	1,046
19		3-benziloxi-propán-1,2-diol	diol (ciklikus karbonát)	120	1,6	1,043
20		3-benzoiloxi-propán-1,2-diol	diol (ciklikus karbonát)	140	1,4	1,028
21		guaifenesin	diol (ciklikus karbonát)	120	2,7	1,064
22		1-fenil-etilamin	amin (N-Ac)	120	2,9	1,079
23		1-(2-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	110	1,3	1,031
24		1-(3-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	120	2,8	1,066
25		1-(4-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	150	1,6	1,029
26		1-(4-bróm-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	150	1,9	1,040
27		2-fenil-propilamin	amin (N-Ac)	130	1,5	1,033
28		amfetamin	amin (Ac)	120	1,9	1,050

^a oszlop 10 m x 0,1 mm FSOT; vivőgáz, H₂

4. táblázat Chirasil-Dex szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban [263, 265-272] (folytatás)

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
29		metamfetamin	amin (N-Ac)	90	1,1	1,023
30		selegilin	amin /	120	1,5	1,032
31		1-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	140	1,1	1,021
32		2-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	140	1,3	1,035
33		metilfenidát	amin /	130	1,3	1,023
34		2-metil-indán	amin (N-Ac)	160	1,7	1,036
35		6-fluor-2-metil-1,2,3,4-tetrahydrokinolin	amin (N-Ac)	120	5,3	1,153
36		transz-1,2-ciklohexán-diamin	diamin (di-N-Ac)	150	1,4	1,037
37		alprenolol	amino-alkohol (oxazolidin)	160	1,5	1,022
38		oxprenolol	amino-alkohol (oxazolidin)	160	1,6	1,022
39		metoprolol	amino-alkohol (oxazolidin)	160	1,0	1,017
40		3-metil-3-fenil-pirrolidin-2,5,-dion	imid	170	2,9	1,133
41		glutetimid	imid	160	2,8	1,091
42		mekoprop	sav (metil-észter)	115	3,6	1,133

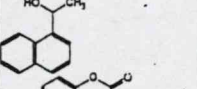
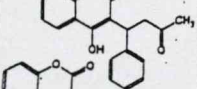
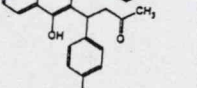
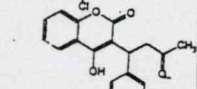
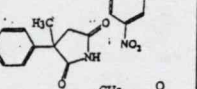
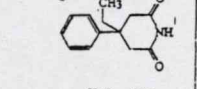
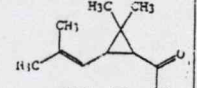
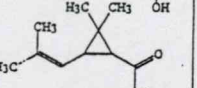
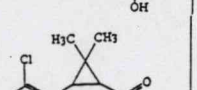
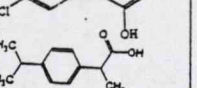
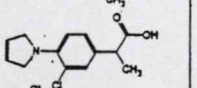
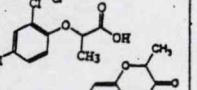
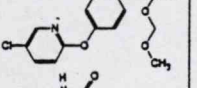
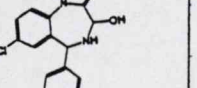
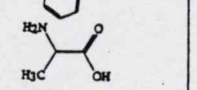
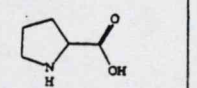
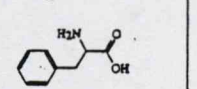
^a oszlop 10 m x 0,1 mm FSOT; vivőgáz, H₂

4. táblázat Chirasil-Dex szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban
[263, 265-272] (folytatás)

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemezési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
43		diklórprop	sav (metil-észter)	115	1,5	1,031
44		fenoprop	sav (metil-észter)	115	1,5	1,031
45		cisz-krizantémsav	sav	110	12,6	1,273
46		transz-krizantémsav	sav	110	6,8	1,134
47		cisz-permetrinsav	sav (metil-észter)	110	2,3	1,043
48		transz-permetrinsav	sav (metil-észter)	110	1,1	1,010
49		cisz-deltametrinsav	sav (metil-észter)	110	2,4	1,046
50		transz-deltametrinsav	sav (metil-észter)	110	1,9	1,040
51		γ-fenil-γ-butírolakton	lakton	150	3,1	1,086
52		δ-4-klórfenil-δ-valerolakton (Baclofén)	laktám	160	1,6	1,036
53		N-(1-feniletíl) benzamid	amid	170	1,9	1,033
54		alanin	aminosav (metil-észter, Ac)	100	1,5	1,102
55		leucin	aminosav (metil-észter, Ac)	110	1,6	1,049
56		prolin	aminosav (metil-észter, Ac)	110	1,6	1,035
57		fenilalanin	aminosav (metil-észter, Ac)	150	1,6	1,046

^a oszlop 10 m x 0,1 mm FSOT; vivőgáz, H₂

5. táblázat Chirasil-Dex szelektoron végzett új királis elválasztások SFC módban [263]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet/ Nyomás (C°)/(atm)	Felbontás (R _s)	Királis szelektivitás (α)
1		1-naftil-1-etanol	alkohol	60/77	1,5 ^a	1,087
2		warfarin	fenol	80/90	1,1 ^a	1,093
3		fencumarol	fenol	70/90	1,12 ^a	1,085
4		acenocumarol	fenol	90/90	1,5 ^b	1,14 ^a
5		3-metil-3-fenil- pirrolidin-2,5,-dion	imid	50/100	1,6 ^b	1,101
6		glutetimid	imid	50/100	2,2 ^b	1,133
7		cisz-krizantémsav	sav	80/85	1,6 ^b	1,127
8		transz-krizantémsav	sav	90/90	1,0 ^b	1,035
9		cisz-permetrinsav	sav	90/90	1,4 ^a	1,076
10		ibuprofen	sav	60/100	1,5 ^b	1,082
11		piroprofen	sav	70/80	1,5 ^b	1,092
12		diklórprop	sav	60/90	1,5	1,042
13		CGA 1284 927	észter	60/120	1,25 ^a	1,065
14		dihidrodiazepam	amid	90/140	1,7 ^a	1,193
15		alanin	aminosav (MTH)	80/90	1,4 ^b	1,088
16		prolin	aminosav (MTH)	60/90	1,7 ^b	1,132
17		fenilalanin	aminosav (MTH)	80/130	1,2 ^b	1,0911

^a oszlop, 2,5 m x 0,05 mm FSOT; mozgófázis, CO₂, b oszlop 10 m x 0,1 mm FSOT; mozgófázis, CO₂

A Chirasil-Dexszel nedvesített oszlopok rendkívül hatékonyaknak bizonyultak. A 0,1 mm belső átmérőjű oszlopokon gyakran mértem 5500 N/m feletti hatékonyságot akirális vegyületekre, de a királis vegyületekre sem volt ritka a 4000 N/m érték [263].

Az SFC analízisekhez is gyakran 0,1 mm belső átmérőjű oszlopokat alkalmaztam, mivel az előzetes kutatások során kifejlesztett enyhe körülmények között végzett termikus térhálósítás [116] hatásfoka mérsékelt volt (70-75%). A 50 μm belső átmérőjű, hosszabb kapillárisokat az oszlop készítése során kioldott, nagy mennyiségű Chirasil-Dex eltömte. A termikus térhálósítás enyhe körülményei másrésztől rendkívül előnyösek voltak, mivel a térhálósítás csak 10%-nál kisebb szelektivitás csökkenést okozott, és az oszlopok hatékonysága sem romlott.

A Chirasil-Dex királis felismerést mutatott még 220 °C-on is (pl. glutethimid, $\alpha = 1,023$; alprenolol, $\alpha = 1,013$), és az oszlopokat 240 °C-ra felfűtve sem romlottak a szelektivitási értékek [263]. Az oszlopok a királis elválasztásoknak kedvező, alacsony hőmérsékleten (40 °C) sem mutattak hatékonyságcsökkenést.

A különböző funkciós csoportokat tartalmazó enantiomerek elválasztása során igyekeztem megtalálni a Chirasil-Dex szelektor királis felismerésének és az adott kromatográfias módnak legmegfelelőbb származékokat [263, 267-271].

Az alkoholok szelektivitási tényezőjét származékképzés nélkül, valamint acetil (Ac) és trifluor-acetil (TFA) származékok formájában vizsgáltam (6. táblázat) [267, 268, 271].

Megállapítottam, hogy a vizsgált optikai izomerek a legnagyobb szelektivitási tényezőt Ac-származék alakban mutatják, amit a szabad forma követ, majd a TFA-származék. A fenti sorrend alól a 2-naftil-1-etanol kivétel, ahol a szabad forma mutatja a legnagyobb α értéket. Az acetil-származékok kiemelkedő szelektivitási tényezőjét más funkciós csoportoknál is tapasztaltam, ezt alább az aminoknál és az aminosavaknál is bemutatom.

Eredményeimet megelőzően a szakirodalom megemlítette, hogy az alkoholok szelektivitási tényezője függ az acilező reagenstől [97, 145], de nem ismerték fel a Chirasil-Dex acetil-csoportokkal szembeni kiemelkedő szelektivitását. Természetesen a Chirasil-Dexre megállapított szelektivitási tendenciák más CD származékokra csak korlátozottan érvényesek, mivel a különböző szelektorok királis felismerési mechanizmusa eltérhet egymástól [145]. A 2,3-dimetil-6-*tec*-butil-dimetilsilil- β -CD tartamú CSP méréseim szerint, azonban a Chirasil-Dexszel megegyező szelektivitást mutat [277].

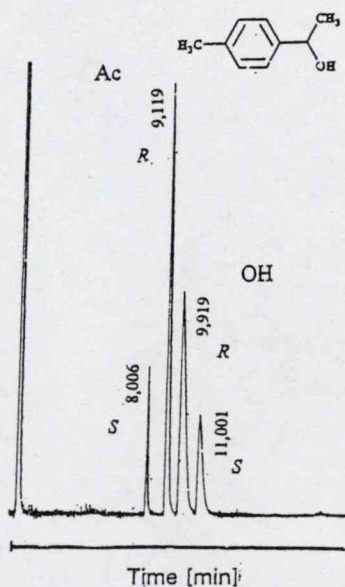
6. táblázat Enantiomer alkoholok szelektivitási tényezője különböző származékok formájában Chirasil-Dex állófázison GC módban [268 271]

Vegyület	Analizált származék					
	Ac		Származékképzés nélkül		TFA	
	Elemzési hőmérséklet (°C)	Szelektivitás (α)	Elemzési hőmérséklet (°C)	Szelektivitás (α)	Elemzési hőmérséklet (°C)	Szelektivitás (α)
2-jód-ciklohexanol	140	1,014	120	1,018	100	1,020
fenil-1-etanol	120	1,074	120	1,054	80	1,012
3-klór-fenil-2-izopropanol	140	1,027,	120	1,037	120	1,036
4-klór-fenil-2-izopropanol	140	1,060	90	1,009	70	<1,007
3,4-diklór-fenil-2-izopropanol	140	1,073	100	1,020	80	1,021
3-bróm-4-metil-fenil-2-izopropanol	140	1,057	120	1,01	90	<1,007
3,4-metilénoxid-fenil-2-izopropanol	140	1,033	100	1,008	90	<1,007
1-naftil-1-etanol	140	1,095	140	1,091	80	<1,007
2-naftil-1-etanol	140	1,037	140	1,045	90	<1,007

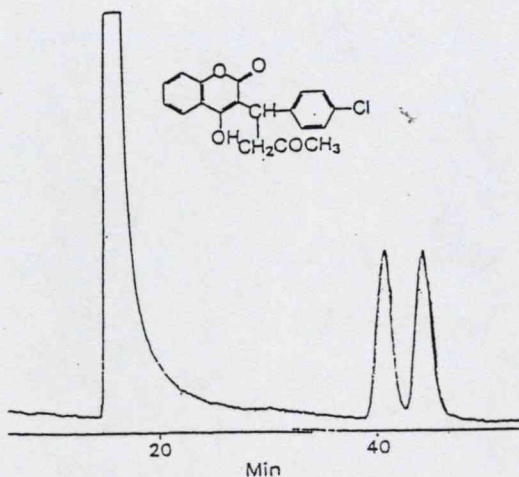
Azoknál az enantiomer pároknál, amelyekből nem csak racém elegy állt rendelkezésemre (fenil-1-etanol és az összes szubsztituált fenil-2-izopropanol) megállapítottam, hogy az Ac-származékok közül mindig az *S* izomer eluálódik először, míg a szabad alkoholok esetében az *R* izomer (2. ábra). Ahol észlelni tudtam a TFA-származékok felbontását, ott is az *S* izomer eluálódott elsőként [271]. Az irodalom néhány esetben már leírta mint kuriózumot, hogy egyes alkoholok optikai izomerjeinek elúciós sorrendje megváltozhat, attól függően, hogy szabad formában vagy származék alakjában analizálják [100, 101, 145]. Eredményeim előtt azonban senki nem ismert fel szabályszerűséget a származékolástól függő elúciós sorrendekben [271].

A kis móltömegű diolok optikai izomerjeit származékképzés nélkül lehet elválasztani Chirasil-Dex szelektoron [84], de a nagyobb móltömegűek esetén származékképzésre van szükség. Kutatásaim szerint a Chirasil-Dex szelektivitása a diolok gyűrűs származéka, a gyűrűs karbonátok irányában a legnagyobb (4. táblázat, 19, 20). A többi származékkal való összehasonlítás kedvéért bemutatom, hogy a guafenesin (4. táblázat, 20) gyűrűs karbonát, diacetát, ditrifluor-acetát és diszilil származékainak szelektivitási tényezői sorra 1,028,

1,022, 1,013, és <1,01 voltak (160°C) [263]. A gyűrűs karbonátok kiugró szelektivitási tényezője a származékok merev gyűrűs szerkezetének köszönhető.



2. ábra Aril-alkil-alkoholok enantiomerjeinek fordított elúciós sorrendje Ac-származék és szabad formában, Chirasil-Dexen GC módban. Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; vívőgáz, H₂; hőmérséklet, 90 °C [271].



3. ábra Coumachlor enantiomerjeinek elválasztása Chirasil-Dexen SFC módban. Körülmények: oszlop 7,5 m x 0,1 mm; mozgó fázis, CO₂, 0,6g/mL; hőmérséklet, 60 °C [263].

A kumarin típusú véralvadásgátló szerek enantiomerjeinek hatása jelentősen eltér egymástól ezért elválasztásuk fontos analitikai feladat. A coumachlor példáján (3. ábra) bemutatom a Chirasil-Dex széleskörű királis felismerő tulajdonságát [263]. A kumarinok analízisére az SFC alkalmas, mivel a vegyületek bomlanak a GC elemzési hőmérsékletén.

A terciér aminok enantiomerjeit enyhe „tailínggel” tudtam elválasztani (4. táblázat, 29). Egyes árnyékolt, gyűrűs szekunder aminok optikai izomerjei is származékolás nélkül voltak analizálhatóak (4. táblázat, 32).

A primer és szekunder aminokat azonban rendszerint csak származékképzés után lehetett analizálni a GC körülményei között. Az aminok acetamid (N-Ac) származékai az összes vizsgált esetben nagyobb α értéket mutattak, mint az trifluor-acetamid (N-TFA) származékok, ahogy azt a 7. táblázat adatai is szemléltetik [269-271].

7. táblázat Amin tartalmú enantiomerek szelektivitási tényezőinek összehasonlítása acetamid (*N*-Ac) és trifluor-acetamid (*N*-TFA) származékuk alakjában Chirasil-Dex állófázison, GC módban [269-271]

No	Név	Acetamid-származék (<i>N</i> -Ac)		Trifluor-acetamid-származék (TFA)	
		Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)	Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)
1	fenil-etilamin	120	1,079	100	1,022
2	2-metil- fenil-etilamin	120	1,020	70	1,005
3	3-metil- fenil-etilamin	120	1,062	100	1,029
4	4-metil-fenil-etilamin	120	1,066	70	<1,007
5	4-bróm-fenil-etilamin	120	1,089	70	<1,007
6	fenil-2-propilamin	120	1,041	80	1,016
7	amfetamin	120	1,050	120	1,032
8	metamfetamin	110	1,012	90	1,009
9	1-naftil-1-etilamin	120	1.036	110	1,022
10	2-naftiletil-1-amin	120	1.051	90	/
11	6-fluor-2-metil-1,2,3,4,- tetrahydrokinolin	120	1,147	120	1,029

A 7. táblázatban lévő enantiomerek minden esetben nagyobb szelektivitási tényezőt és jobb felbontást mutattak *N*-Ac-származékok alakjában, mint *N*-TFA-származékként. A két származék szelektivitási tényezője közötti eltérés érvényes a *transz*-1,2-diamino-ciklohexánra is. A 7. táblázatban egy enantiomer pár *N*-Ac-származékának kiemelkedő szelektivitási tényezője nem jelenti azt, hogy az *N*-TFA-származék szelektivitási tényezője is nagyobb az átlagnál, azaz a két származék szelektivitási tényezője között nem állapítható meg korreláció.

Eredményeimet megelőzően az aminok *N*-TFA-származékait favorizálták a CD alapú állófázisokon, és csak elvétve, véletlenszerűen mutattak rá arra, hogy az *N*-Ac-származékoknak nagyobb a szelektivitási tényezőjük [56, 98].

Az aril-alkil-aminok vizsgálata során felismertem, hogy az összes vizsgált amin *N*-Ac származékának elúciós sorrendje *S* után *R*, míg a *N*-TFA-származékoknál az észlelt elúciós sorrend fordított [271]. Érdeemes megjegyezni, hogy a származékképzés nélkül analizált tercier amin, a Deprenyl *R* izomerje eluálódik először [263].

A két származék fordított elúciós sorrendjét az irodalom kuriózumnak tartotta [98], a szabályszerűséget nekem sikerült felismernem [271].

Az aminok származékainál tapasztalt elúciós sorrendek nemcsak Chirasil-Dex szelektorra igazak, hanem vizsgálataim szerint a 2,3-dimetil-6-*terc*-butil-dimetilszilil- β -CD szelektorra is [277].

Az enantiomerek megfordítható elúciós sorrendje nagyban segített a 99,9% feletti enantiomer-arányok pontos meghatározásában, mert a származékok változtatásával elértem, hogy mindig a kis mennyiségben lévő enantiomer eluálódjon előbb [270].

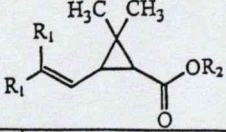
A β -blokkoló vicinális amino-alkohol enantiomerek elválasztása rendkívül fontos az izomerek radikálisan eltérő biológiai hatása miatt [5, 6], ezért én is kutatásokat folytattam ezen vegyületek izomerjeinek hatásos elválasztására. Az amino-alkoholok más állófázison már bevált oxazolidin-származékát [55, 94, 95] elsőként választottam szét Chirasil-Dex állófázison [263]. A Chirasil-Dex királis felimerést mutat az amino-alkoholok oxazolidin származékaival szemben (4. Táblázat, 36-38). Vizsgáltam ezen enantiomerek diacetil-, difluor-acetil-, és diszilil-származékainak elválasztását is, de ezekkel a származékokkal nem tudtam számottevő felbontást elérni. Az oxazolidin-származékok jó királis felismerését az oxazolidin gyűrű merev szerkezete okozza [263].

A gyógyászati szempontból szintén fontos gyűrűs imidek optikai izomerjei közül is számosat elválasztottam (5. ábra). Chirasil-Dex állófázison a glutethimidet GC módban érdemes analizálni. Ez annak ellenére igaz, hogy a glutethimidnek nagyobb szelektivitási tényezője SFC módban ($\alpha = 1,115$; $R_s = 1,6$; 60 °C, 70 atm), mint GC módban ($\alpha = 1,057$; $R_s = 3,3$; 180 °C). Gázkromatográfias körülmények között azonban a felbontás nagyobb és az analízis is gyorsabb a rendszer nagyobb hatékonysága és a mozgófázis nagyobb permeabilitása miatt [263]. Érdemes megjegyezni, hogy cellulóz alapú szelektorokon az SFC mód jobb a glutethimid királis elválasztására, mint a GC, a cellulóz szelektorok nagy polaritása miatt.

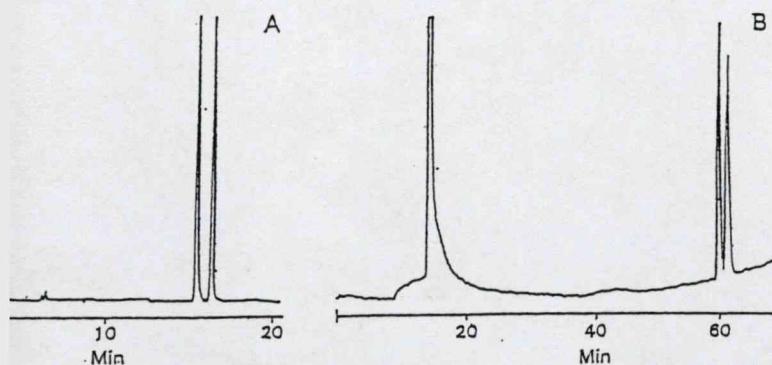
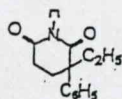
Az enantiomer savak gázkromatográfias elemzéséhez rendszerint a savakat származékolni kell [64]. A Chirasil-Dex királis felismerésének legmegfelelőbb származék megtalálására szisztematikus vizsgálatot folytattam piretroidsavakkal (8. táblázat).

A 8. táblázat adatai szerint a szabad savak csúcsainak szelektivitási tényezője nagyobb, mint az észtereké. Szabad sav formában azonban csak a kevésbé poláris, könnyen illó savak (R_1 : Me, Cl) analizálhatóak GC körülmények között. Az észterek közül a metil-észterek királis szelektivitási tényezője a legnagyobb, és az észterek szelektivitási tényezője csökken a származékoló alkohol térigényének növekedésével [263].

8. táblázat Piretroidsavak különböző származékainak királis szelektivitási tényezője 100 °C-on Chirasil-Dex állófázison, GC módban [263]

No.	Enantiomer szerkezete		Szelektivitási tényező (α)	
				
1	<i>cisz/transz</i>	R ₁	R ₂	
2	<i>cisz</i>	metil	H	1,0275
3	<i>transz</i>	metil	H	1,153
4	<i>cisz</i>	metil	metil	1,013
5	<i>transz</i>	metil	metil	< 1,01
6	<i>cisz</i>	metil	etil	< 1,01
7	<i>transz</i>	metil	Etil	< 1,01
8	<i>cisz</i>	Br	metil	1,046 ^a
9	<i>transz</i>	Br	metil	1,040 ^a
10	<i>cisz</i>	Cl	H	1,284 ^a
11	<i>transz</i>	Cl	H	1,194 ^a
12	<i>cisz</i>	Cl	metil	1,043
13	<i>transz</i>	Cl	metil	1,010
14	<i>cisz</i>	Cl	etil	1,023
15	<i>cisz</i>	Cl	propil	1,019
16	<i>cisz</i>	Cl	izopropil	<1,01
17	<i>cisz</i>	Cl	butil	1,014
18	<i>cisz</i>	Cl	<i>szkc</i> -butil	1,034
19	<i>cisz</i>	Cl	<i>terc</i> -butil	<1,01

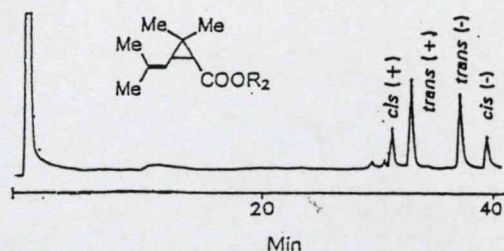
A 8. táblázatból az is kiderül, hogy a piretroidsavak *cisz* izomerjeinek királis szelektivitási tényezője jelentősen nagyobb a *transz* izomerekénél (5. ábra). Az 5. ábrán a *cisz*-krizantémsav $R_s = 12,6$ értéket mutatott, ami olyan nagy, hogy az enantiomer pár csúcsai között a *transz* izomer csúcsai zavartalanul meghatározhatók ($R_s = 6,8$). A piretroidsavak esetében az SFC technikával nem tudtam, jobb felbontást elérni, mint GC módban, a GC rendszer nagyobb hatékonysága miatt. A Chirasil-Dex szelektivitási tendenciája a piretroidsavak R₂ csoportja irányába Br>Cl>Me.



4. ábra Glutethimid enantiomerjeinek elválasztása Chirasil-Dex szelektoron GC (A) és SFC (B) módokban.

A, Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; vivőgáz, H_2 ; hőmérséklet, 180 °C.

B, Körülmények: oszlop 7,5 m x 0,1 mm; mozgó fázis, CO_2 ; sűrűség program, 0,2 g/mL (12 perc) 0,005 g/mL x perc; hőmérséklet, 60 °C [263].



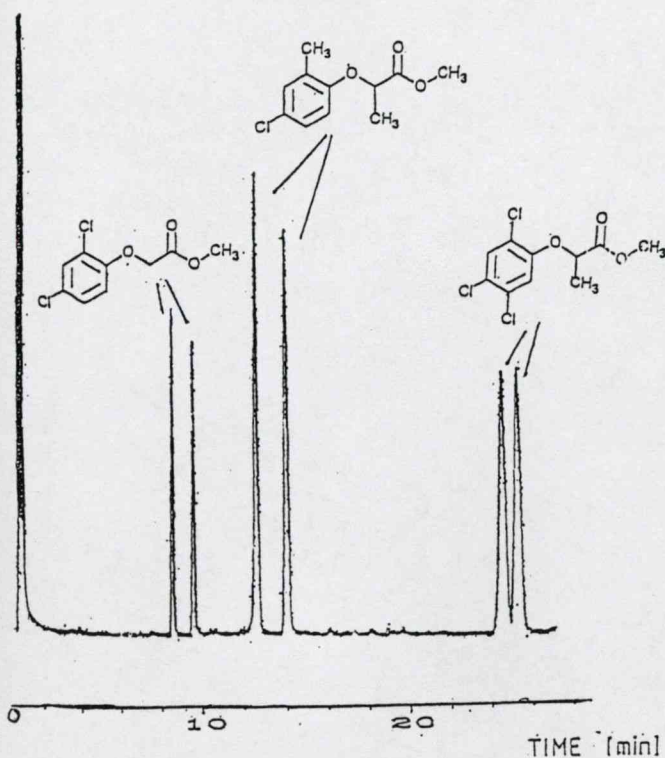
5. ábra Cisz és transz krizantémsav enantiomerjeinek elválasztása szabad sav alakjában Chirasil-Dex szelektoron. Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; vivőgáz, H_2 ; hőmérséklet, 110 °C [263].

Más optikailag aktív savak metil-észtereire is jó felbontást tudtam elérni GC módban, ahogy ezt a fenoxi-propionsavak példái is mutatják (6. ábra) [272]. A nagy móltömegű, fenoxi-propionsavakat azonban SFC technikával volt érdemes elválasztani (5. táblázat, 13) [263].

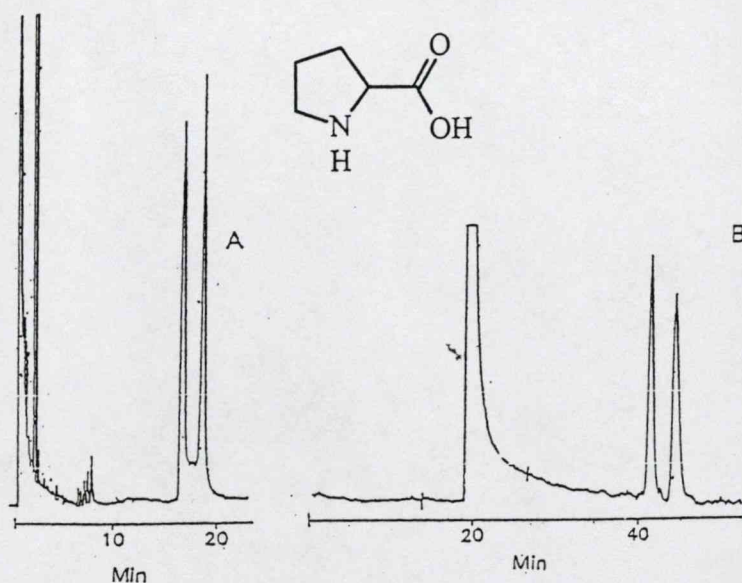
A nem-szteroid gyulladásgátló savakat származékképzés nélkül tudtam elválasztani SFC technikával, ahogy ez az ibuprofen [116, 264, 266] és pirprofen (5. táblázat 10, 11) példáján látható [263]. A pirprofen esetében érdemes megfigyelni, hogy a molekula analízise zavartalan volt SFC-ben annak ellenére, hogy a vegyület bázikus piridin-gyűrűt tartalmaz.

Az aminosavak közül a prolin enantiomerjeinek elválasztását tanulmányoztam tüzetesebben (9. táblázat), mivel ezek elválasztása kritikus az Chirasil-Val aminosav királis szelektort tartalmazó állófázison. Eredményeim megmutatták, hogy a Chirasil-Dex jó lehetőséget kínál a prolin királis analízisére [263].

A Prolinnak szabad savak formájában nagyobb a szelektivitási tényezője, mint észterként, de a szabad sav csak SFC módban analizálható.



6. ábra Fenoxi-propionsavak (Mecoprop, Diklorprop, Fenoprop) enantiomerjeinek elválasztása metil-észter alakjában Chiral-Dex szelektoron GC módban. Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; vivőgáz, H₂; hőmérséklet, 115 °C [272].



7. ábra Prolin enantiomerjeinek elválasztása MTH (metil-tiohidantoin) származék alakjában Chiral-Dex szelektoron GC (A) és SFC (B) módban.
A, Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; vivőgáz, H₂; hőmérséklet, 180 °C.
B, Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; mozgó fázis, CO₂, 0,3 g/mL; hőmérséklet, 60 °C [263].

9. táblázat Prolin különböző származékainak királis szelektivitási tényezője Chiral-Dex szelektoron, GC és SFC módban [263]

No.	Származék		Kromatográfias mód	Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)
	Sav	Amin			
1	H	N-TFA	SFC	60	1,096
2	H	N-Ac	SFC	60	1,107
3	iPr	N-TFA	GC	110	1,008
4	Me	N-TFA	GC	110	1,028
5	Me	N-Ac	GC	110	1,035
6		MTH	GC	150	1,046
7		MTH	SFC	60	1,132

Megállapítottam, hogy gázkromatográfiás körülmények között a prolin szelektivitási tényezője metil-észter/acetamid formában a legnagyobb, és nem izopropil-észter/perfluor-amid alakban, ahogy a Chirasil-Val esetében megszokott. Más aminosavakon elért eredmények is hasonló tendenciát mutatnak, mint a prolinnál. Metil-észter/acetamid és az izopropil-észter/trifluor-acetamid-származékok szelektivitási tényező értékei sorra: alaninnál 1,102, 1,055 (100 °C); leucinnál 1,052, 1,023 (100 °C); fenilalaninnál 1,046, 1,014 (150 °C).

A prolin és a többi vizsgált aminosav (alanin, leucin, fenilalanin) gyűrűs metil-tiohidantoin (MTH) származékai nem alkalmasak GC analízisre annak ellenére, hogy szelektivitási tényezőjük nagy, mert az elemzések hőmérsékletén az enantiomerek átracemizálódnak, amit a csúcsok közötti nyeregfelület egyértelműen mutat (7a. ábra). Az MTH származékok átracemizálódása az 2,3-Dimetil-6-*tert*-butildimetilsilil- β -CD királis szelektort tartalmazó, CHNEB, és CHDA állófázisokon is jelentkezett.

Az MTH származékok analízise SFC módban, azonban nem jelentett problémát az elemzések alacsony hőmérséklete miatt (7b. ábra).

A Chirasil-Dex a γ -aminosavak enantiomerjeit is képes elválasztani. Az ilyen szerkezetű enantiomerek gyűrűs, laktám formában mutatják a legnagyobb szelektivitási tényezőt [263]. A baclofen (4. Táblázat, 51) laktám formája $\alpha = 1,036$ értéket, a metil-észter/acetamid-származéka pedig csak $\alpha = 1,015$ értéket mutatott (160 °C).

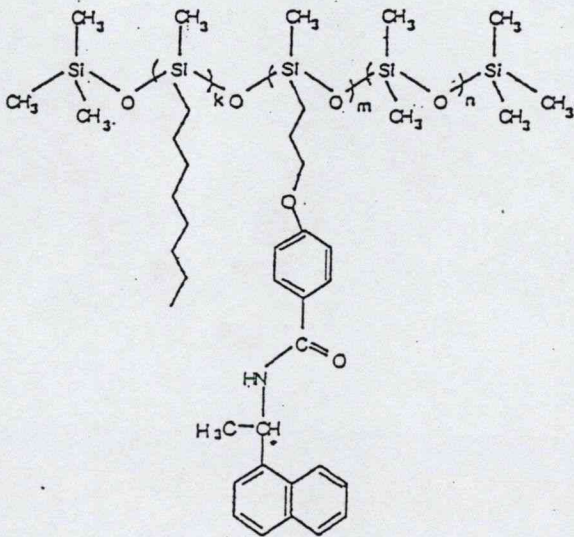
A Chirasil-Dex szelektor felhasználásával 73 új, különböző funkciós csoportú és elrendezésű enantiomerek királis elválasztását oldottam meg GC és SFC módban.

Megállapítottam, hogy az aromás alkohol és amin enantiomerek acetilezett alakban nagyobb szelektivitási tényezőt és felbontást mutatnak, mint trifluor-acetilezett formában. A savak királis elválasztását szabad formában vagy metil-észter alakban érdemes Chirasil-Dex állófázison végrehajtani. Kimutattam, hogy a gyűrűs származékok (oxazolidin, gyűrűs karbonát, laktám, MTH) szelektivitási tényezője kiemelkedő.

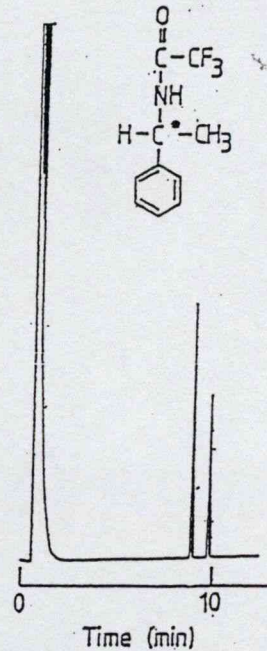
Az enantiomerek elúciós sorrendjének megfordulására tendenciákat ismertem fel. Az alkil-aromás aminoknál az N-Ac és az N-TFA-származékok, míg az alkoholoknál az Ac-származékok és a szabad alkoholok mutattak fordított elúciós sorrendet Chirasil-Dex szelektoron.

5.1.2. *S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamidot* tartalmazó királis állófázis (ChNEB)

Kutatásaim során sikerült a Pirkle típusú szelektorok közé tartozó, nagy hatékonyságú, szelektív, hőálló, *S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamid* királis részt tartalmazó sziloxán polimer (ChNEB, 8. ábra) bevezetése a kapilláris GC és SFC gyakorlatába [172, 269, 273]. Munkánkat megelőző kísérletek csak mérsékelt hőállóságú [112] vagy kis hatásfokú oszlopok készítésére alkalmas fázisokat eredményeztek hasonló kiralitás centrummal [114, 168].



8. ábra *S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxi-benzamid* tartalmú sziloxán polimer (ChNEB) királis állófázis szerkezete [273].



9. ábra *1-fenil-1-etilamin* enantiomerjeinek elválasztása trifluor-acetamid *N-TFA*) alakjában ChNEB szelektoron GC módban. Körülmények: oszlop 25 m x 0,2 mm; vívőgáz, H₂; hőmérséklet, 110 °C [273].

A ChNEB állófázissal nagy hatékonyságú oszlopokat készítettem. Akirális vegyületekre rendszerint >4000 N/m, míg királisakra >3000 N/m (pl. *transz*-sztilbén-oxid, 1-naftil-1-etilamin *N-TFA*-származék) hatékonysági értékeket mértem széles hőmérséklet tartományban (30 - 280 °C). Ezen elméleti tényezszámok elérését a jól megtervezett CSP összetétel tette lehetővé. A kis, mindössze 7% királis helyettesítési arány, és a hosszú csatlakozó elemek megőrizték a metil-sziloxán váz nagy hatékonyságát. A poláris enantiomerek szimmetrikus csúcsalakjához az általunk kidolgozott poláris felületkezelés is hozzájárult [127, 259].

10. táblázat ChNEB szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban [269, 273]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
1		heptakór	klór	110	1,010	0,9
2		klórdán	klór	110	1,011	0,9
3		cis-heptaklór- epoxide	epoxid	110	1,010	0,8
4		transz-szilbén- oxid	epoxid	150	1,023	1,5
5		karvon	keton	60	1,015	0,9
6		transz-verbinol	alkohol	70	1,019	1,0
7		1-feniletanol	alkohol (Ac)	120	1,031	1,5
8		1-fenil-1-propanol	alkohol (Ac)	100	1,024	1,4
9		3-klór-fenil- izopropanol	alkohol (Ac)	100	1,028	1,3
10		4-klór-fenil- izopropanol	alkohol (benzoil)	120	1,014	0,9
11		3,4-diklór- fenil- izopropanol	alkohol (Ac)	100	1,012	0,7
12		3-bróm-4-metoxi- fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	120	1,013	0,7
13		1-naftil-1-etanol	alkohol (Ac)	130	1,033	1,8
14		2-naftil-1-etanol	alkohol (Ac)	150	1,027	1,7

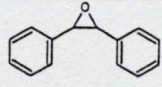
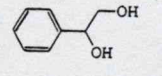
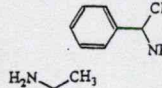
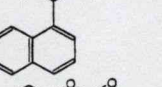
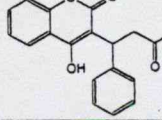
^a 25 m x 0,2 mm FSOT; vivógáz, H₂

10. táblázat ChNEB szelektoron végzett új királis elválasztások GC módban [269, 273]
(folytatás)

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
15		1-fenil-etilamin	amin (N-Ac)	160	2,6	1,050
16		1-(2-metil-fenil)- etilamin	amin (N-Ac)	160	3,0	1,062
17		1-(3-metil-fenil)- etilamin	amin (N-Ac)	160	2,5	1,051
18		1-(4-metil-fenil)- etilamin	amin (N-Ac)	160	2,4	1,059
19		1-(4-bróm-fenil)- etilamin	amin (N-TFA)	160	2,7	1,061
20		2-fenil-propilamin	amin (N-Ac)	160	2,9	1,057
21		amfetamin	amin (N-Ac)	160	0,7	1,011
22		metamfetamin	amin (N-Ac)	120	0,7	1,010
23		1-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	160	4,6	1,083
24		2-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	160	3,7	1,061
25		6-fluor-2-metil- 1,2,3,4- tetrahidrokinolin	amin (N-Ac)	120	1,2	1,022

^a Paraméterek: Oszlop, 25 m x 0,2 mm FSOT; ChNEB; vivógáz, H₂.

11. táblázat ChNEB szelektoron végzett új királis elválasztások SFC módban [273]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet/ Nyomás (C°)/(atm)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
1		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid /	60/80	1,1	1,032
2		fenil-etán-1,2-diol	diol /	60/90	1,5	1,0311
3		1-fenil-etilamin	amin (<i>N</i> -TFA)	100/90	2,1	1,041
4		1-naftil-1-etilamin	amin (<i>N</i> -TFA)	60/120	4,2	1,221
5		warfarin	imid /	60/150	1,3	1,029

^a oszlop, 14 m x 0,05 mm FSOT; mozgófázis, CO₂

A ChNEB kitűnőnek bizonyult SFC üzemmódban 50 μm belső átmérőjű oszlopokkal is. A fázist a bevett *azo-terc*-butános módszerrel a szelektivitás csökkenése nélkül lehetett térhálósítani a királis csoport inertsege, és a sziloxánlanc 2% oktil-szubstitúciója miatt. A térhálósítás hatásfoka 85% felett volt, így nem volt probléma az 50 μm belső átmérőjű oszlopok kimosása a térhálósítás után.

Figyelemre méltó volt, hogy a sziloxán lánccal oktil szubsztitúciója nem csak a térhálósítás, de a szelektivitás szempontjából is hasznos volt. A ChNEB szelektivitása 1-fenilpropanolra sorra 1,004, 1,027, és 1,000 volt, ha a metil-sziloxán lánccal a királis szubsztituens kivételével, sorra metil vagy 2% oktil, illetve 2% metoxi-4-(propiloxi)-benzoiil-szubsztituenset tartalmazott (SFC, 60 °C, 80 bar). Következtetésem szerint az oktil-csoport részben megakadályozza a királis csoportok intramolekuláris kölcsönhatását, míg a metil-csoportok ilyen hatást nem mutattak. A metoxi-4-(propiloxi)-benzoiil-szubsztituens

esetén a minta nagyrészt a benzoil-csoportokkal lép kölcsönhatásba királis naftil csoportok helyett.

A ChNEB meglepően maga felső használati hőmérsékletarára (MAOT) a gumi jellegű halmazállapotnak és a kapcsoló láncban lévő fenilén-csoportnak köszönhető [127, 259, 260]. A benzolgyűrű ugyanis távol tartja a szubsztituent a főláncból, megakadályozva az állófázis gyűrűzáródásos degradációját. Az így elért hőállóság 40 °C-kal nagyobb volt, mint a hasonló szelektorokkal rendelkező, más állófázisok MAOT értékei. A kis királis tartalom GC-ben is lehetővé tette az alacsony elemzési hőmérsékleteket.

A ChNEB királis felismerést mutat az enantiomerek széles köre irányában [269, 271, 273]. (10. táblázat) GC és SFC (11. táblázat) módokban.

A gyűrűhöz képest α helyzetű asszimetriacentrummal rendelkező aril-alkil enantiomerek mutatták a legnagyobb szelektivitási tényezőket ChNEB állófázison, de más helyzetű királis centrumokat is felismer a szelektor (10. táblázat, 1-3, 5-6, 11. táblázat, 2).

GC módban az származékolt aminok mutatták legnagyobb α értékeket (10. 12. táblázat).

12. táblázat Aril-alkil amin enantiomerek elválasztása ChNEB szelektoron acetamid (N-Ac) és trifluor-acetamid (N-TFA)-származékokként GC módban [269, 273, 277]

No	Név	Acetil származék (N-Ac)		Trifluoroacetil származék (N-TFA)	
		Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)	Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)
	1-fenil-etilamin	160	1,050	160	1,042
1	1-(2-metil-fenil)- etilamin	160	1,061	160	1,050
2	1-(3-metil-fenil)- etilamin	160	1,051	160	1,047
3	1-(4-metil-fenil)- etilamin	160	1,059	160	1,043
4	1-(4-bróm-fenil)- etilamin	160	1,054	160	1,061
5	2-fenil-propilamin	160	1,057	160	1,044
6	amfetamin	140	1,016	140	1,011
7	metamfetamin	120	1,010	120	1,008
8	1-naftil-1-etilamin	160	1,083	160	1,077
9	2-naftil-1-etilamin	160	1,066	160	1,061

Az *N*-TFA-származékok valamivel kisebb szelektivitási tényezőt mutattak, mint az *N*-Ac-származékok az 1-(4-bróm-fenil)-etilamin kivételével. Az *N*-Ac-származékoknak azonban háromszor-négyszer nagyobb a retenciójuk, mint az *N*-TFA-származékoké, ezért a mindennapi gyakorlatban az *N*-TFA alak használata javasolt.

A minta aromás rendszerének kiterjedésével a ChNEB királis felismerő képessége is megerősödik. A naftil-származékokat azonban már SFC módban célszerű elválasztani az alacsony elemzési hőmérséklet és a gyorsabb analízisek miatt (11. táblázat, 4 ↔. 10. táblázat, 23).

Az elúciós sorrend *R* után *S* volt mindkét származéknál, amit kihasználtam az egy százalék alatti *R* szennyezések meghatározásánál [269, 271]. Ez az elúciós sorrend megegyezett a Chirasil-Dex szelektoron azonos enantiomerek *N*-TFA-származékaira tapasztaltakkal.

Az aril-alkil alkoholok is elválaszthatók ChNEB szelektoron GC üzemmódban. Az alkoholoknál is az Ac-származékok mutatták a legnagyobb α értékeket (10. Táblázat, 7-14). Gyakran egyáltalán nem észleltem királis felismerést a szabad alkoholokra (4-klór-fenil-izopropanol, 3,4-didiklór-fenil-izopropanol vagy TFA-származékokra (1-fenil-etanol, 3,4-diklór-fenil-izopropanol). Minden esetben az *R* izomer elúciója volt az első.

Aromás diolok enantiomerjei származékképzés nélkül jól elválaszthatók ChNEB szelektorral. A poláris 1-fenil-1,2-etándiolt származékképzés nélkül lehetett analizálni ezen a fázison SFC módban (11. táblázat, 2).

A hőérzékeny warfarin (11. táblázat, 5) enantiomerjei is alapvonal-elválasztást mutattak ChNEB szelektorral, SFC módszerrel.

Nem csak aromás, de más szerkezetű enantiomerek is elválaszthatók ChNEB szelektoron. A karvon, a *transz*-verbinol, a *cisz*-heptaklór-epoxid és a klordán merevgyűrűs aliciklusos enantiomerek is királis elválást mutattak ChNEB szelektoron (10. Táblázat 4-7, 11). A ChNEB általában nem mutat olyan nagy szelektivitást az aminosavakkal szemben, mint a Chirasil-Val, de a ChNEB szerkezete nem racemizálódik magas hőmérsékleten.

A ChNEB enantioszelektív kölcsönhatásaiban fontos szerepet játszanak a π - π kölcsönhatások. A hosszú kapillárisok nagy hatékonysága azonban lehetővé teszi, hogy ne csak a π savakat lehessen elválasztani ChNEB felhasználásával (pl. *transz*-verbinol, aminosavak, *transz*-sztilbén-oxid stb.), ellentétben az LC gyakorlatával. A ChNEB királis felismerési mechanizmusában a hidrogén-híd donor-akceptor kölcsönhatások kulcsszerepet

játszanak, ezért lehetséges aromás gyűrű nélküli enantiomereket is elválasztani a ChNEB segítségével.

A ChNEB királis állófázissal sikerült egy Pirkle típusú, stabil, nagy hatékonyságú szelektort bevezetnem a királis kapilláris kromatográfia gyakorlatába és 30 új királis elválasztást végrehajtanom. A ChNEB a legnagyobb szelektivitást az aromás gyűrűhöz képest α helyzetű kiralitáscentrummal rendelkező aminok acetamid-származéka irányába mutatja. Azonban a ChNEB más pozíciójú aszimmetriacentrumok és nem aromás királis vegyületek felismerésére is alkalmas. A ChNEB egyaránt alkalmas GC és SFC alkalmazásokhoz.

5.1.3. (1*R*-transz)-*N,N'*-1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot-csoportot tartalmazó királis állófázis

Kutatásaimban fontos szerepet játszottak a (1*R*-transz)-*N,N'*-1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot királis csoportot és oligo sziloxánt tartalmazó blokk-kopolimer állófázisok [169, 170, 271, 274]. Ezek a megszokottól eltérően nem az oldalláncban tartalmazzák a királis csoportot, hanem a főláncban. Evvel a megoldással a királis csoport csavart szerkezete a főláncban is folytatódik. Ezek a szelektorok főleg SFC-s használatra készültek, de a 3 szilícium atomos egységet és para-helyzetű benzilidén kapcsoló részt tartalmazó vegyület (ChDA) gázkromatográfias használatra is jónak bizonyult (10. ábra).

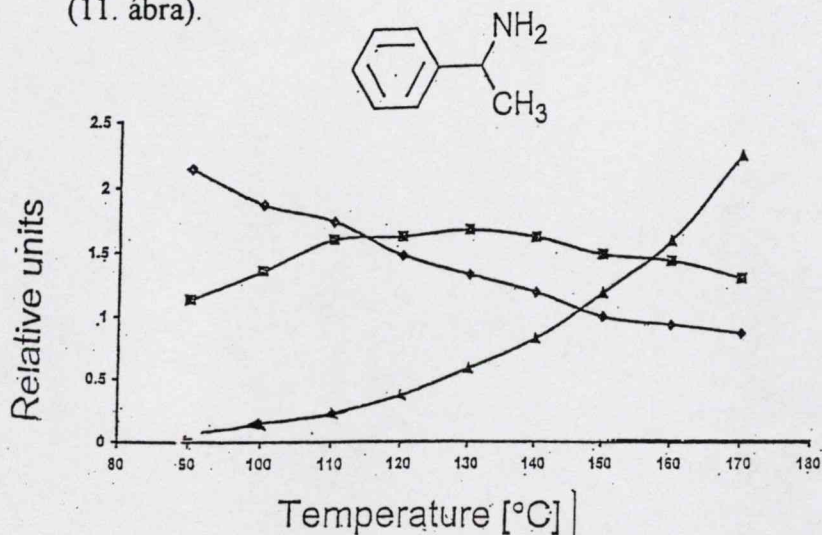


10. ábra (1*R*-transz)-*N,N'*-1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot-csoportot és sziloxán oligomert tartalmazó blokk-kopolimer királis állófázis (ChDA) [274].

A ChDA állófázison 4880 N/m hatékonyságot lehetett elérni a 2-naftil-1-etilamin TFA-származékára (210 °C). Sajnos ez a nagy hatékonyság alacsony elemzési hőmérsékleteken elenyészik. A ChDA 110 °C alatt gyakorlatilag használhatatlan volt GC módban, mivel a CSP merev lett, ami megnehezítette az anyagátadást. A két egységből álló sziloxán csatolóelem jelenlétében a CSP már 150°C-on elvesztette kedvező permeabilitását.

Hosszabb, sziloxán láncú blokkokkal a CSP 100 °C alatt is használható volt, de az α értékek drasztikusan csökkentek.

A kompromisszum eredményeként használt ChDA szelektorral az enantiomerek felbontása gyakran maximumot mutatott az elemzés hőmérsékletének függvényében (11. ábra).



11. ábra 1-fenil-1-etilamin TFA származékának retenciós tulajdonságai az elemzés hőmérsékletének függvényében ChDA szelektoron GC módban
Paraméterek: Oszlop, 20 m x 0.2 mm, H₂ Szimbólumok: ■, R₃; ▲, N; ◆, α [274].

Alacsony hőmérsékleten megnövekedett az anyagátadással szembeni ellenállás, ami elfedi a megnövelt szelektivitási tényező hatását, és végeredményben lerontja az enantiomer párok felbontási értékeiket. SFC módban az állófázis megőrzi hatékonyságát alacsony elemzési hőmérsékleteken is a mozgófázis duzzasztó hatása miatt [169, 170, 264, 266].

A ChDA magas, 260 °C MAOT értéke hasznos a nagyobb móltömegű enantiomerek analizálásánál és a mátrix komponensek kifűtésénél. A magas MAOT érték a benzilidén kötőelemnek köszönhető, mint azt már leírtam a ChNEB és más fázisok esetében is [127, 259, 273].

A ChDA alkalmas számos különböző szerkezetű enantiomer pár GC üzemmódú elválasztására (13. táblázat). Néhány esetben a 13. táblázatban található α értéknél nagyobbat is elértem alacsonyabb elemzési hőmérsékleten. Ezekben az esetekben azonban a felbontás kisebb volt, mint a táblázatban szereplő érték, az oszlop lecsökkent hatékonyság miatt, vagy az analízisek időigénye több órát vett igénybe.

Kutatócsoportunk tüzetesen vizsgálta a ChDA szelektivitását SFC módban is [169, 170], de az SFC alkalmazások felderítését, nem az én végeztem.

A ChDA legintezivebb királis felismerést a hidrogén-híd kötésre képes aromás enantiomerek irányában mutatatta. Az enantiomerek aromás rendszerének növekedésével a ChDA szelektivitása növekszik (13. táblázat, 16↔23).

13. táblázat ChDA szelektorral végzett új királis elválasztások GC módban [274]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
1		heptaklór	klór	160	1,017	1,017
2		klórdán	klór	150	1,1	1,009
3		cis- heptaklór - epoxide	epoxid	150	0,9	1,016
4		trans- heptaklór - epoxide	epoxid	140	1,0	1,019
5		transz-szilbén-oxid	epoxid	160	1,5	1,024
6		1-fenil-1-etanol	alkohol /	100	0,6	1,015
7		1-fenil-1-propanol	alkohol /	100	0,9	1,023
8		4-klór-fenil- izopropanol	alkohol (benzoil)	120	0,9	1,019
9		3,4-diklór-fenil- izopropanol	alkohol (Ac)	140	0,4	1,009
10		3-bróm-4-metoxi- fenil-izopropanol	alkohol (Ac)	140	0,6	1,013
11		1-naftil-1-etanol	alkohol (Ac)	140	1,1	1,021
12		2-naftil-1-etanol	alkohol (Ac)	140	1,3	1,025
13		3,3-dimetil-bután- 1,2-diol	diol	110	0,7	1,043
14		3-benziloxi-propán- 1,2-diol	diol (ciklusos karbonát)	170	0,8	1,012
15		guaifenesin	diol (ciklusos karbonát)	160	1,5	1,010
16		1-fenil-etilamin	amin (N-Ac)	160	2,2	1,052

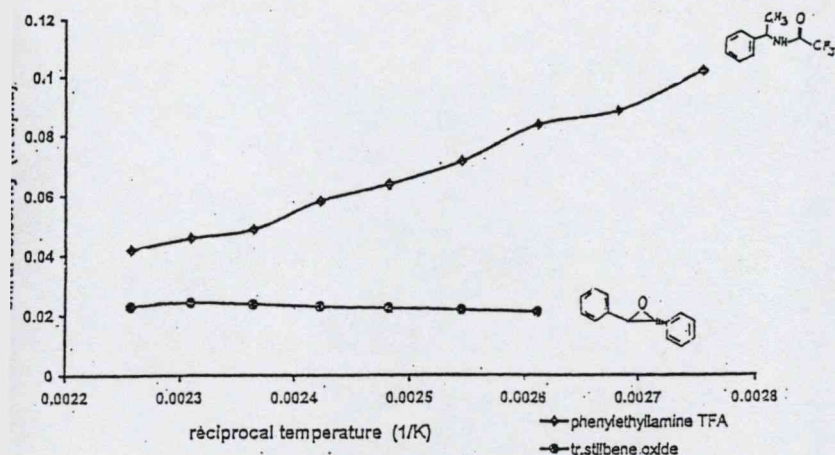
^a 20 m x 0,2 mm; vivógáz, H₂

13. táblázat ChDA szelektorral végzett új királis elválasztások GC módban [274]
(folytatás)

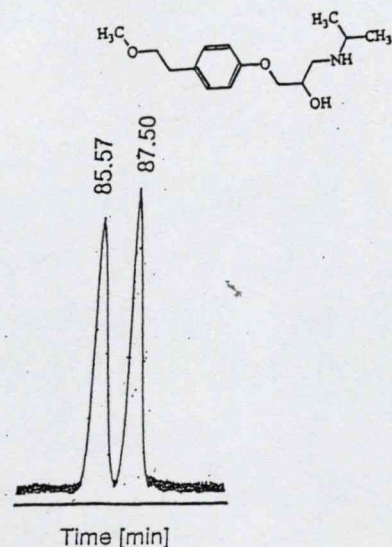
No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
17		1-(2-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	160	2,2	1,051
18		1-(3-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	160	2,5	1,053
19		1-(4-metil-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	160	3,1	1,057
20		1-(4-bróm-fenil)-etilamin	amin (N-Ac)	160	5,2	1,073
21		1-fenil-propilamin	amin (N-Ac)	160	3,3	1,063
22		1-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	180	4,1	1,077
23		2-naftil-1-etilamin	amin (N-Ac)	180	3,9	1,059
24		alprenolol	β-aminoalkohol (oxazolidin)	180	1,4	1,026
25		oxprenolol	β-aminoalkohol (oxazolidin)	190	1,0	1,013
26		metoprolol	β-aminoalkohol (oxazolidin)	200	1,5	1,023
27		3-metil-3-fenil-pirrolidin-2,5,-dion	imid	150	0,9	1,012
28		glutethimid	imid	150	1,5	1,025
29		5-hexil-γ-valerolakton,	lakton	120	0,7	1,022
30		mandulasav	hidroxisav (metil-észter)	120	1,1	1,025
31		borkősav	hidroxisav (dietyl-észter)	130	1,7	1,051
32		N-(1-feniletil)-benzamid	amid	170	2,7	1,051

^a 20 m x 0,2 mm; vivőgáz, H₂

A *transz*-sztilbén-oxid szelektivitási tényezőjének változása a hőmérséklettel nem várt összefüggést mutatott (12. ábra). A *transz*-sztilbén-oxid α értéke maximumot mutat 160 °C-on, ellentétben a megszokott lineáris $1/T - \ln \alpha$ összefüggés helyett. A görbe lefutása a ChDA két kompetitív királis felismerő mechanizmusára utal ebben az esetben.



12. ábra A *transz*-sztilbén-oxid és az 1-fenil-1-etilamin TFA származékának királis szelektivitási tényezője elemzés hőmérséklet függvényében ChDA szelektoron GC módban]. Oszlop, 20 m x 0.2 mm; vivőgáz, H₂. Szimbólumok: ◆, fenil-etilamin; ●, tr.-sztilbén oxid [274].



13. ábra A metoprolol enantiomerjeinek eválasztása oxazolidin származékként, ChDA szelektoron GC módban. Körülmények: oszlop 20 m x 0,2 mm; vivőgáz, H₂; hőmérséklet, 200 °C [274].

A ChDA királis felismerése mérsékelt aril-alkil-alkoholokra (13. Táblázat, 6-12), ami növelhető a π - π kölcsönhatást elősegítő benzoil-származék alakjukban (13. Táblázat, 8). Az alkoholok szelektivitási tényezője, nagyobb mint az Ac- vagy TFA-származékoké, mutatva, hogy a minta hidrogén-híd donor tulajdonsága elősegíti a királis felismerést.

A naftil-alkil-alkoholok (13. Táblázat, 11, 12) kiterjedt aromás rendszerének nagyobb a szelektivitási tényezője, mint a fenil analógoké. A naftil-alkil-alkoholok esetében az Ac-származékok adták a legnagyobb α értékeket, de a szabad alkoholok és a TFA-származékok is mutattak királis felismerést.

Az összes vizsgált aril-alkil-amin enantiomernek jó szelektivitási tényezője (14. táblázat) és alapvonal-felbontása volt ChDA szelektoron, ha az aszimmetriacentrum a gyűrűhöz képest α helyzetű volt.

A 14. táblázatból látható, hogy azonos elemzési hőmérsékleten az N-Ac-származékok valamivel nagyobb szelektivitási tényezőt mutattak mint az N-TFA származékok. A gyakorlatban azonban inkább az N-TFA-származékok alkalmazása ajánlott, mivel azonos

hőmérsékleten az *N*-Ac-származékok retenciós ideje 4-5-ször nagyobb, mint az *N*-TFA analógjaiké.

14. táblázat. Aril-alkil-amin enantiomerek szelektivitási tényezője acetamid (*N*-Ac) és trifluor-acetamid (*N*-TFA) alakban ChDA szelektoron Ac és TFA GC módban [269, 271, 274]

No	Név	Acetamid-származék (<i>N</i> -Ac)		Trifluor-acetamid-származék (<i>N</i> -TFA)	
		Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)	Hőmérséklet (°C)	Szelektivitási tényező (α)
1	1-fenil-etilamin	140	1,065	140	1,058
2	1-(2-metil-fenil)-etilamin	140	1,055	140	1,045
3	1-(3-metil-fenil)-etilamin	140	1,072	140	1,068
4	1-(4-metil-fenil)-etilamin	140	1,068	140	1,062
5	1-(4-bróm-fenil)-etilamin	180	1,061	180	1,056
6	2-fenil-propilamin	140	1,78	140	1,050
7	1-naftil-1-etilamin	180	1,077	180	1,041
8	2-naftiletil-1-amin	180	1,059	180	1,049

A fenti enantiomereknél az elúciós sorrend *S* után *R* volt mindkét származék esetén, ami hasznosnak bizonyult 99% feletti *R* enantiomer tartalom meghatározásánál [269]. Érdeemes megjegyezni, hogy ez az elúciós sorrend ellentétes azzal, amit ChNEB szelektoron és az *N*-Ac-származékokra Chrasil-Dex állófázison tapasztaltam.

A ChDA kitűnőnek bizonyult a β -blokkolók enantiomer arányának meghatározására. Ezek a vegyületek magasabb elemzési hőmérsékletet igényelnek, ahol a ChDA hatékonysága nagy, és szelektivitása még megfelelő. Az elválasztásra az enantiomerek gyűrűs oxazolidin-származékai a legmegfelelőbbek. A vizsgált vegyületek közül metoprololra értem el a legnagyobb elválasztást (13. ábra). A származékok merev gyűrűs szerkezete jól illik a ChDA királis felismerő mechanizmusához. A fenti állítást alátámasztja, hogy ez a szelektor szelektív a diolok gyűrűs karbonát szerkezetével szemben is (13. Táblázat, 14, 15).

A ChDA nemcsak aromás, hanem aliciklikus enantiomerek (laktonok, terpének) esetén is királis felismerést mutatott (13. táblázat, 1-4, 30). E vegyületek szelektivitási tényezője általában csak mérsékelt volt az aromás gyűrű hiánya miatt. Az alifás vicinális diol enantiomerek szelektivitási tényezői azonban számottevőek voltak a szelektorhoz hasonló

merev csavart szerkezetük következtében. A borkósav dietil-észterének elválasztása jó példa a fenti állításra (13. táblázat, 31).

A ChDA királis felismerésében kulcsszerepet játszanak a π - π és a hidrogén-híd donor–akceptor kölcsönhatások. A királis felismerést segítik a merev gyűrűs és a csavart szerkezetek.

A ChDA működését alacsonyabb hőmérséklet-tartományokra kiterjesztve, a jövőben nagy hatékonyságú, szelektív CSP nyerhető. A továbblépés valószínűleg a kötőelem módosításával és ezzel együtt a sziloxán rész növelésével érhető el.

A ChDA szelektorral nagyhatékonyságú szelektív királis állófázist sikerült bevezetnem a GC fegyvertárába, amit 32 új királis elválasztással szemléltettem. A ChDA használatával bebizonyítottam, hogy nem csak az oldalláncban, hanem a főláncban királis csoporttal szubsztituált állófázisok is alkalmazhatók a GC gyakorlatában. A ChDA szelektivitása kiemelkedő az aromás csoporthoz képest α helyzetű királis centrumot tartalmazó, és hidrogén-hidat létesítő enantiomerekkel szemben, de a szelektor királis felismerést mutatott aliciklikus és alifás enantiomerekre is.

5.1.4. Cellulóz származékokat tartalmazó királis állófázisok

Annak ellenére, hogy az LC [59, 102] és a töltetes SFC [57] gyakorlatában a cellulóz-származékok a leggyakrabban használt királis állófázisok, kutatásaink előtt a kapilláris GC és SFC nem használta ezeket a szelektorokat [275, 276]. Ennek az az oka, hogy a cellulóz-származékok oldékonysága a sziloxán állófázisokban nagy móltömegük és merev szerkezetük miatt korlátozott.

A cellulóz származékok alkalmazására szisztematikus kísérleteket folytattam különböző királis szelektorok, akirális állófázisok és térhálósítási módszerek felhasználásával (15. táblázat). A *transz*-sztilbén-oxidot és a glutethimidet választottam az apoláris és poláris enantiomerek szelektivitási tényezőjének és felbontásának jellemzésére. A kísérleteket GC körülményei között folytattam, mivel ez a technika nem igényli a CSP térhálósítását, így a térhálósítás hatását is tudtam vizsgálni. A szisztematikus kísérletek lehetővé tették egy CSP optimális összetételére vontkozó általános következtetések levonását, amelyeket későbbi részben tárgyalok. Az ismétlések elkerülése érdekében itt csak azokra a részletekre térek ki, amelyek a cellulózok speciális tulajdonságaira vonatkoznak.

15. táblázat Cellulóz-származékokot tartalmazó keverék állófázisok kromatográfiás adatai GC módban [275, 276]*

Oszlop száma	Térhálósítási s	Királis rész (%)	Akirális rész	tr.-sztilbén oxid			Glutethimide			Megjegyzés.
				k ^a	α	R _t	k ^a	α	R _t	
1	/	MMBC (5)	SE-54	16	1,036	1,7	51	1,021	1,15	
2	^b	MMBC (5)	SE-54	13	1,022	1,4	44	1,015	0,7	
3	/	MMBC (10)	SE-54	15	< 1,01	<0,7	33	< 1,01	<0,7	Részben szilárd
4	/	MMBC (5)	OV-1701Vi	12	1,031	1,3	47	1,014	0,8	
5	/	MMBC (10)	OV-1701Vi	27	1,058	2,1	120	1,027	1,2	
6	^b	MMBC (10)	OV-1701Vi	24	1,027	0,8	130	1,019	0,8	
7	^c	MMBC (10)	OV-1701Vi	26	< 1,01	<0,7	140	< 1,01	<0,7	
8	/	MMBC (20)	OV-1701Vi	31	1,029	1,3	144	< 1,01	<0,7	Részben szilárd
9	/	MMBC (5)	OV-610H	19	1,031	1,5	65	1,018	1,2	
10	^d	MMBC (5)	OV-610H	18	1,014	0,7	/	/	/	
11	/	MMBC (5)	CPWAX 51	66	1,012	0,8	330	< 1,01	<0,7	
12	/	MMBC (10)	CPWAX 51	68	1,024	1,5	340	< 1,01	<0,7	
13	/	MMBC (20)	CPWAX 51	69	1,037	1,6	345	< 1,01	<0,7	
14	/	TBC (5)	OV-1701Vi	15	1,030	1,3	87	< 1,01	<0,7	
15	^b	TBC (5)	OV-1701Vi	13	1,025	1,1	/	/	/	
16	/	TBC (10)	OV-1701Vi	20	1,031	<0,7	/	/	/	Részben szilárd
17	/	TBC (10)	OV-225	47	1,014	1,1	220	< 1,01	<0,7	
18	^c	TBC (10)	OV-225	40	< 1,01	<0,7	/	/	/	
19	/	PMBC (5)	SE-54	12	< 1,01	<0,7	49	1,028	0,7	
20	/	PMBC (10)	CPWAX 51	75	< 1,01	<0,7	330	< 1,01	<0,7	
21	/	CTA(5)	CPWAX 51	71	< 1,01	<0,7	330	< 1,01	<0,7	

* oszlop, 7 m x 0,1 mm; vivőgáz, H₂; hőmérséklet, 160 °C

^a Elsőként eluálódó enantiomer adata

^b Térhálósítás dinamikus dikumil-peroxidos módszerrel [110]

^c Térhálósítás azo-*terc*-butánnal [109]

^d Térhálósítás termikusan

Akirális sziloxán állófázisok és többfajta cellulóz szelektor keverékével sikerült nagy hatékonyságú királis állófázisokat létrehozni (16. és 17. táblázat). Az oszlopok hatékonyságára jellemző, hogy a hexadekanra mért hatékonyság 6100 N/m értéket mutatott (5% MMBC+SE-54, 140 °C).

Az oszlopok alsó használati hőmérséklethatárát a CSP komponenseinek oldékonysági viszonyai határozzák meg. Az MMBC+SE-54 állófázis hatékonysága a fent említett 6100 N/méter értékről sorra 2700 N/m és 800 N/m-re redukálódik 120 °C-on, illetve 100 °C-on. Alacsonyabb hőmérsékleteken a szelektorok nem adnak homogén folyadékot OV-1701Vi állófázissal. A cellulóz alapú szelektorok nagy polaritásuk miatt csak korlátozottan oldódnak sziloxán polimerekben. A szelektorok oldékonyságában polaritásukon kívül a szelektor molekulák kompaktsága, merevsége is szerepet játszik. A TBC kompaktabb, mint az MMBC, ezért az előbbi oldékonysága kisebb az OV-1701Vi polimerben, annak ellenére, hogy a két cellulóz-származék polaritása hasonló.

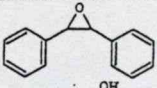
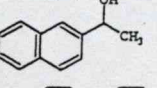
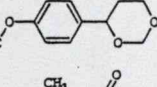
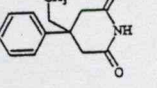
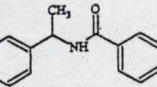
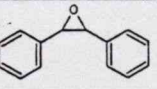
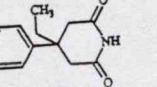
A királis szelektorok hőbomlása miatt az oszlopok MAOT értéke csak 240 °C.

A cellulóz szelektorok SFC-s felhasználásához a CSP sziloxán részét térhálósítani kellett, hogy elkerüljük a fázis kimosódását. Az általánosan szokásos térhálósító reagens, az azo-*terc*-bután azonban reakcióba lépett a szelektorral (15. Táblázat, 6, 17), ami a királis szelektivitás teljes elvesztését okozta, még a kevésbé reaktív TBC esetében is. A láncvégi szilanol-csoportot tartalmazó OV-61 OH termikus térhálósítása szintén a királis szelektivitás megszűnését eredményezte (15. táblázat, 9). Csak az előzetes kutatások során kifejlesztett, dinamikus, dikumul-peroxidos módszer [118] volt alkalmas arra, hogy a szelektorok szelektivitását részben megőrizze. Az OV-1701Vi vinil-tartalma tette lehetővé az enyhe reakciókörülményeket. A CPWax-51 poli(etilén-glikol) mátrix polaritása már olyan nagy, hogy nem szükséges a CSP térhálósítása.

Érdekes volt megfigyelni, hogy az 5% MMBC+SE-54 CSP megtartotta hatékonyságát alacsonyabb hőmérsékleteken is a térhálósítás után. A 160 °C-on mért 4200 N/m hatékonyság még 90°C-on is 3800 N/m maradt, mivel a CSP háromdimenziós szerkezete megakadályozta a királis rész diszproporcionálódását.

Egyes vizsgált keverékekkel készített oszlopok (15. táblázat, 2, 6, 15) 50 °C-on is megfelelő hatékonyságot mutattak SFC-ben a mozgófázis duzzasztó hatása miatt [169, 170, 264, 266, 274, 275].

16. táblázat Cellulóz származékot és akirális sziloxánt tartalmazó keverék állófázisokon végzett új királis elválasztások GC módban [275, 276]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet (C°)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
10% MMBC + OV-1701Vi						
1		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid /	140	3,9	1,091
2		2-naftil-1-etanol	alkohol /	140	0,9	1,070
3		6-fenil-1,3-dioxolán	éter /	180	0,8	1,013
4		gluthethimid	imid /	160	1,4	1,031
5		N-(1-feniletíl)- benzamid	amid /	180	0,9	1,016
5% TBC + OV-1701Vi						
6		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid /	160	1,3	1,031
5% PMMBC + SE-54						
7		gluthethimid	imid /	160	0,7	1,028

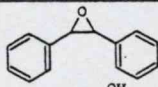
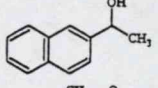
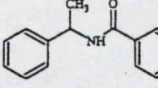
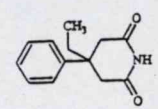
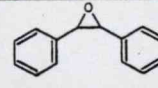
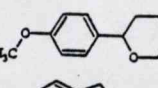
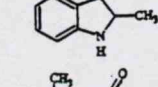
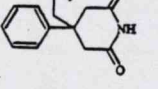
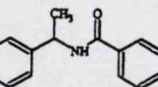
^a 17 m x 0,1 mm FSOT; vivőgáz, H₂

A cellulóz-származékot és sziloxán polimert tartalmazó keverékek térhálósításával bebizonyítottuk, hogy olyan szelektorok is alkalmazhatók az SFC gyakorlatában, amelyekben a királis szelektor nincs kovalens kötéssel a sziloxán vázhoz kötve már térhálósítás előtt. Hatékonysági adatok alapján valószínű, hogy térhálósítás után sincs minden cellulóz molekula összekapcsolva a sziloxán polimer molekuláival. Sokkal realisabbnak tűnik az az elképzelés, hogy a sziloxán polimer laza hálót alkot, ami megakadályozza a cellulóz molekulák kimosódását és diszproporcionálódását alacsony hőmérsékleten.

A cellulóz szelektorok erős kölcsönhatásokkal (adszorptív) rendelkeznek, aminek következtében a poláris anyagoknak jelentős "tailingiük" van a GC körülményei között. A dodekanol csúcsára mért elméleti tényérszámok egy esetben sem haladták meg a hexadékanra

mért értékek a kétharmadát (160 °C) annak ellenére, hogy az oszlopok dezaktiválására a Carbowax-pirolizálási módszert használtam [261]. A két akirális tesztanyag tényérszámának eltérése a hőmérséklet csökkenésével nőtt, mutatva, hogy a cellulóz-származékoknak erős adszorptív tulajdonsága van.

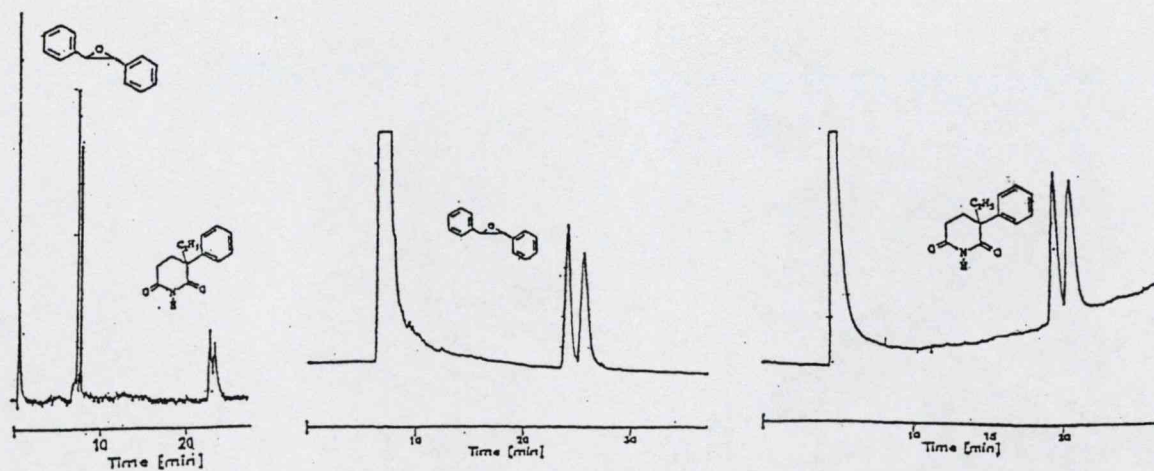
17. táblázat Cellulóz származékot és akirális sziloxánt tartalmazó térhálósított keverék állófázisokon végzett új királis elválasztások SFC módban [275, 276]

No.	Szerkezet	Név	Funkciós csoport (analizált forma)	Elemzési hőmérséklet/ Nyomás (C°)/(atm)	Felbontás ^a (R _s)	Királis szelektivitás (α)
5% MMBC + SE-54						
1		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid /	70/90	1,3	1,071
2		2-naftil-1-etanol	alkohol /	60/80	1,6	1,091
3		N-(1-feniletíl)- benzamid	amid /	50/100	1,2	1,082
4		gluthethimid	imid /	50/100	1,8	1,156
5% TBC + OV-1701Vi						
5		<i>transz</i> -sztilbén-oxid	epoxid /	70/80	1,0	1,094
6		6- <i>p</i> -metoxifenil-1,3- dioxolán	éter /	60/80	1,5	1,099
7		2-metilindán	amin (<i>N</i> -Ac)	70/80	1,5	1,093
8		gluthethimid	imid /	60/80	1,1	1,072
9		N-(1-feniletíl) benzamid	amid /	40/90	1,2	1,081

^a oszlop 10 m x 0,05 mm FSOT; mozgó fázis, CO₂

SFC körülmények között a poláris anyagok az apoláris anyagokkal megegyező szimmetrikus csúcsalakot és hatékonyságot mutattak, mivel a mozgófázis oldóereje, és a CSP aktív helyeit blokkoló hatása kompenzálja a szelektorok nagy kölcsönhatási energiáját.

Az MMBC szelektort tartalmazó állófázisok királis felismerést mutattak GC (16. táblázat) és SFC (17. táblázat) módban. A GC mérések esetén csak az apoláris enantiomerek (pl. *transz*-sztilbén-oxid) adnak megfelelő csúcsalakot, míg a polárisak (pl. glutethimid) nem (14. ábra). Az SFC, azonban megfelelőnek bizonyult a poláris enantiomerek analizésére (14. ábra).



14. ábra A *transz*-sztilbén-oxid és a glutethimid enantiomerjeinek elválasztása cellulóz tartalmú állófázisokon GC (A) és SFC (B, C) módban.

A, oszlop 17 m x 0,1 mm; CSP, 5% MMBC + OV-61; vivőgáz, H₂; hőmérséklet, 140 °C.

B, oszlop 10 m x 0,05 mm; CSP, 5% MMBC + SE-54; mozgó fázis, CO₂; sűrűség program, 0,40 g/mL (5 perc) 0,005 g/mL x perc; hőmérséklet, 70 °C.

C, oszlop 10 m x 0,05 mm; CSP, 5% MMBC + SE-54; mozgó fázis, CO₂; sűrűség program, 0,20 g/mL (5 perc) 0,005 g/mL x perc; hőmérséklet, 70 °C [275, 276].

A cellulóz/sziloxán keverékek nem mutattak nagyobb szelektivitást, mint más kromatográfias módban a tömény cellulóz-származékokból álló szelektorok. A *transz*-sztilbén-oxid GC analizise (5%MMBC+SE54) azonban gyorsabb, mint amit töltetes SFC és LC módban leírtak.

Ezek a keverék állófázisok utat nyitottak a cellulózok kapilláris-kromatográfias alkalmazásaira, amit társzerzőm később folytatott a királis CEC alkalmazásokkal [194]. Munkám során az LC gyakorlatában használt, nagy móltömegű cellulóz-származékokat használtam, amelyek csak kissé oldódtak a viszonylag apoláris sziloxán polimerekben. A kis móltömegű frakciók oldékonysága valószínűleg nagyobb, így ezekkel nagyobb szelektivitású és hatékonyságú oszlopok hozhatók létre.

A cellulóz szelektor tartalmú királis állófázisok bevezetésével bebizonyítottam, hogy ezek a szelektorok is alkalmazhatók a kapilláris kromatográfiában. A cellulóz-származékokat

szükséges a szelektort és a mátrixot a kovalens kötéssel a térhálósítás előtt összekapcsolni ahhoz, hogy a keverék alkalmas legyen kapilláris SFC analízisre. Az elkészített állófázisokkal és a végrehajtott királis elválasztással bemutattam ezen szelektorok használatának korlátait.

5.1.5. Kis átmérőjű oszlopok használatával elért eredmények és megfigyelések

A kapilláris GC gyakorlatában markáns tendencia az egyre kisebb átmérőjű oszlopok használata [71, 72], mivel az ilyen oszlopok hatékonysága nagy, és gyors analízisek végzésére alkalmasak. Kutatásaim előtt azonban a kis átmérőjű oszlopokat nem alkalmazták a királis GC gyakorlatában. Annak érdekében, hogy a kis szelektivitási tényezőjű ($\alpha \sim 1,01$) enantiomerekre is megállapítsam a CSP királis felismerését, gyakran 0,1 mm belső átmérőjű oszlopokat alkalmaztam gázkromatográfiás elemzésekre [263-271, 275, 276]. A *tansz*-permetrinsav enantiomerjeit például $R_s = 1,1$ értékkel tudtam elemezni, annak ellenére, hogy a szelektivitási tényező mindössze $\alpha = 1,010$ volt (Chirasil-Dex, 14 m x 0,1 mm i.d.). Ugyanezen az oszlopon gyakran $\alpha = 1,005$ érték esetén is észlelhető ($R_s = 0,5$) volt az adott CSP királis felismerése.

Eredményeim nyomán más kutatócsoportok is bevették a kis átmérőjű oszlopok használatát a királis GC fegyvertárába [27, 39, 73, 142, 155].

5.1.6. Enantiomer szelektív állófázisok terhelhetősége

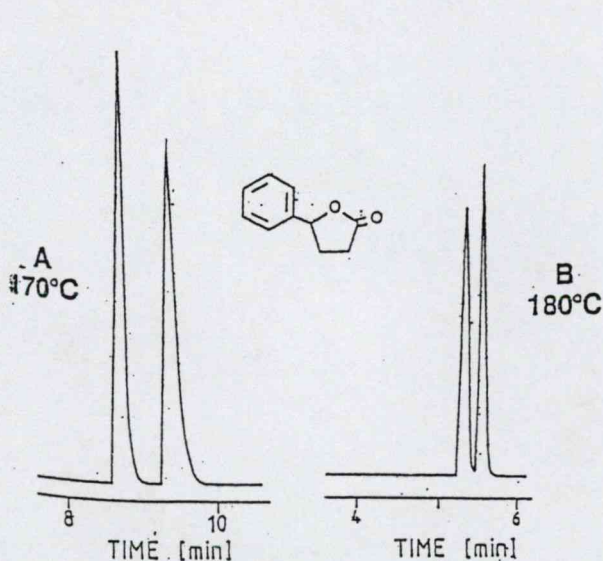
A kis átmérőjű oszlopok felhasználásának vizsgálata során a túlterhelés jelenségének kutatásában is eredményeket értem el [265]. Egy CSP sokkal kisebb mennyiségű királis mintától válik telítetté, mint ami a szokásos az akirális GC gyakorlatában, mivel egy CSP enantiomer-szelektív kölcsönhatási helyeinek száma korlátozott. A túlterhelésből eredő problémák fokozottan jelentkeznek 0,1 mm átmérőjű oszlopok használatakor.

Kutatásaim során megfigyeltem, hogy egyes enantiomerek már néhány tíz nanogramnyi mintamennyiséggel is túlterhelhetik a Chirasil-Dex szelektorral nedvesített oszlopot. Alprenolol esetében már 15 ng is túlterhelést okozott 190°C-on. Megállapítottam, hogy magasabb hőfokon a túltelítési jelenség erősebben jelentkezett, mint mérsékelt elemzési hőmérsékleten, és a kromatogram vége felé a csúcsok alakja erősebben deformálódott. Kimutattam azt is, hogy az akirális mintákkal való terhelhetőség több, mint ötszöröse volt az enantiomerekének ezen a fázison.

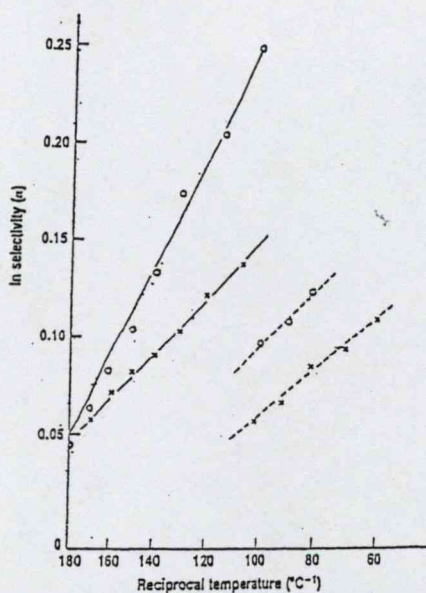
A CSP csekély királis terhelhetősége nem csak a Chirasil-Dex szelektorra igaz, hanem az általam vizsgált összes CSP hasonlóan viselkedett. A túlterhelési jelenség a cellulóz alapú

szelektoroknál még hangsúlyozottabb volt, mivel a királis tartalmuk kisebb volt, mint a Chirasil-Dex fázisé.

Azt is tapasztaltam, hogy egyes enantiomer párok csúcsai kisebb hőmérsékleten "tailinges" torzulást mutattak, míg emeltebb hőmérsékleten "headingest". A fenti jelenséget a γ -fenil- γ -butirolakton példáján tudom jól szemléltetni (15. ábra).



15. ábra A csúcstorzulási profil változása az elemzési hőmérsékletével Chirasil-Dex szelektoron GC módban. Körülmények: oszlop 10 m x 0,1 mm; H_2 ; hőmérséklet (A) 170 °C, (B), 180 °C [265].



16. ábra Az enantiomerek királis szelektivitási tényezője különböző hőmérsékleten GC és SFC módban. SFC paraméterek: oszlop, 2,5 m x 0,05 mm; mozgó fázis, CO_2 . GC paraméterek: oszlop, 10 m x 0,25 mm; mozgófázis, H_2 . Szimbólumok: O, cisz-krizantémsav; x, 1-naftil-1-etanol; —, GC; ---, SFC [265].

Következtetéseim szerint a "headinges" csúcstorzulás magyarázata a mozgófázis egyensúlyi állapothoz képesti túltelítése [70, 264].

A királis anyagok csúcsának torzulását az is fokozza, hogy az enantiomerek a gázfázisban megkülönböztethetetlenek, tehát a parciális gőznyomásuk összeadódik. A másodikként eluálódó csúcs szimmetrikusabb alakja pedig az első csúcs hatásának köszönhető. A második csúcs frontja ugyanis megakad az első csúcs telített zónáján.

Az oszlopok terhelhetősége az SFC gyakorlatában a mozgófázis oldóképessége miatt nagyobb, mint gázkromatográfiában, ami összhangban van azzal, hogy SFC módban soha nem tapasztaltam túlterhelést 50 ng alatti mintamennyiségeknél [265].

A kis átmérőjű oszlopokat eredményesen vezettem be a királis GC gyakorlatába. A csúcsok torzulásának "tailingesből" "headingesbe" való átfordulására magyarázatot találtam a gázfázisban lévő egyensúlyok alapján.

Eredményeim megmutatták, hogy a "headinges" csúcsok esetén az a célszerű, hogy ha a kis mennyiségben lévő enantiomer eluálódik másodikként, ellentétben az elterjedt felfogással, hogy mindig a kis mennyiségben lévő csúcsok eluálódjanak elsőként.

5.1.7. Szelektivitási különbségek GC és SFC között a királis kromatográfiában

A Chirasil-Dex szisztematikus vizsgálata során [263] azt tapasztaltam, hogy ugyanazon a hőmérsékleten adott enantiomer pár szelektivitási tényezője kisebb SFC, mint GC módban (16. ábra) [264, 266]. Hasonló eredményre vezetett az α értékek összehasonlítása MMBC tartalmú [275, 276], ChDA [274], ChNEB [273] és Chirasil-Val [277] állófázisokon is .

A jelenséget az alábbiakban leírt hipotézissel magyaráztam. Az SFC üzemmódban energia kell a szelektor és a minta körüli szolvátburok megtöréséhez, míg a GC körülményei között nincs szolvátburok. A királis felismerés idealizált hárompontos kölcsönhatási mechanizmusa szerint a jobban visszatartott izomer három ponton érintkezik a szelektorral, míg a kevésbé visszatartott izomer csak két ponton lép kölcsönhatásba. Azon a két ponton, ahol mindkét izomer egyformán érintkezik a szelektorral, nincs különbség a két izomer kölcsönhatási energiája között, azaz független attól, hogy az analízis GC vagy SFC körülmények közt történik-e. A harmadik pont kölcsönhatási energiáját viszont csak az egyik izomernél csökkenti a szolvátburok megtöréséhez szükséges energia, mivel csak az egyik izomer érintkezik a szelektorral ezen a ponton. A harmadik ponton a szolvátburok megtöréséből eredő energiaszükséglet csökkenti az SFC szelektivitását a GC gyakorlatához képest.

A feltételezésemet alátámasztja, hogy nagyobb nyomásokon az α értéke kissé csökken, mivel a sűrűbb szolvátburok megtöréséhez nagyobb energia kell.

Az általunk mért [264, 277] és az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a CSP szelektivitás csökkenése akkor a leghangsúlyozottabb, amikor a hidrogén-híd kölcsönhatásnak kulcsszerepe van a királis felismerésben.

Az enantiomerek általában nagyobb szelektivitási tényezőt mutatnak ugyanazon az oszlopon és hőmérsékleten GC analízisekben mint SFC üzemmódban. A szelektivitási különbségek az SFC körülmények közt a kölcsönhatási pontok körül felépülő szolvátburok szerepéből adódnak.

5.1.8. Királis állófázisok optimális összetétele a kapilláris GC és SFC alkalmazásokhoz

A kapilláris oszlopokon használt állófázisnak hatékonyak, szelektívnek, kémiailag és fizikailag ellenállónak kell lennie a kapilláris GC [272, 278] és térhálósíthatónak az SFC alkalmazásokhoz [264, 266]. A fenti kritériumokat nem lehet egyszerre maradéktalanul teljesíteni, mert ezek az elvárások részben egymásnak ellentmondóak.

A nagy hatékonyságú oszlopok készítéséhez csak a sziloxán polimert tartalmazó CSP szelektorok felelnek meg.

A királis állófázisok különböző paramétereinek hatását részben, külön-külön már vizsgálták, de áttekintő szisztematikus tanulmány még nem született ebben a tárgykörben. Azok a tapasztalatok, amelyeket számos CSP bevezetésénél és optimalizálásánál szereztem, lehetőséget kínálnak egy követelményi rendszer felállításához (17. ábra). A 17. ábra megállapításainak alátámasztására a cellulóz alapú fázisok kifejlesztésénél nyert és a 15. táblázatban összefoglalt adatokat használom [275, 276] az irodalmi adatok mellett. A szövegben az egyes eredmények összehasonlítását \leftrightarrow szimbólummal jelölöm.

Az akirális mátrixként használt sziloxán állófázisok polaritási sorrendje a következő: SE-54 < OV-1701 < OV-61OH < OV-225 amelyeknél a CPWax 51 poli(etilén-glikol) polaritása még nagyobb.

5.1.8.1. CSP királis szelektor tartalma

A királis szelektor tartalom növelésével a CSP szelektivitása is növekszik (15. táblázat, 4 \leftrightarrow 5, 11 \leftrightarrow 12). A szelektivitás növekedése azonban telítési görbét mutat a királis tartalom függvényében (15. Táblázat, 11 \leftrightarrow 12 \leftrightarrow 13) [108]. Az általános tapasztalat szerint nincs értelme 50% fölé emelni a királis tartalmat, sőt egyes enantiomerek szelektivitása már nem növekszik 15 % királis tartalom fölött [84, 85, 110. 147].

A királis tartalom emelése megnöveli a CSP terhelhetőségét az enantiomerekkel szemben. Természetesen a terhelhetőség is telítési görbét mutat a királis rész koncentrációjának függvényében, mivel nagyobb királis szelektor koncentráció esetén a felismerő helyek egymással lépnek kölcsönhatásba.

A királis rész arányának növelése azonban több hátránnyal is jár. A királis szelektorok anyagátadási ellenállása nagyobb, mint a sziloxán polimereké [107], ezért a nagyobb királis tartalom a hatékonyság csökkenését okozza. Erre utal, ha az α értékének növelése nem eredményez hasonló növekedést az R_s értékeiben (15. Táblázat, 4 \leftrightarrow 5, 11 \leftrightarrow 12).

Paraméter

Előny

Hátrány

Királis tartalom emelése

Nagyobb szelektivitás
Nagyobb terhelhetőség

Hatékonyság romlás
Megemelt működési határ
Megnövekedett retenciók

Akirális rész polaritásának emelése

Nagyobb királis tartalom lehetséges
Poláris enantiomereknek jobb a csúcsalakja
Alacsonyabb működési határ

Csökkentett szelektivitás
Megnövekedett retenciók
Hatékonyság romlás

Szelektor merevségének növelése

Megnövekedett szelektivitás
néhány enantiomer irányában
Eredmények hitelesebb extrapolációja

Hatékonyság romlás
Szűk királis felismerési
spektrum

Királis rész kémiai kötése a szilikon polimerhez

Nagyobb királis tartalom
Nagyobb hatékonyság
Stabilabb CSP
Alacsonyabb működési határ
Jobb térhálósíthatóság

Munkaigényes, nagy
szakértelmet igénylő szintézisek
Fixált összetétel

Térhálósítás hatása

SFC alkalmazások
Alacsonyabb működési határ
Oldószer kompatibilitás

Szelektivitás csökkentő
mellékreakciók

17. ábra A kapillárisokban GC és SFC módban használt királis állófázisok optimalizált összetételének szempontjai [272, 278].

A CSP királis tartalmának növelése hosszabb retenciós időket, nagyobb k értékeket is eredményez (15. Táblázat, 4↔5, 11↔13), mivel a királis ágens polárisabb, mint a sziloxán polimer [84, 147]. A megnövekedett retenciós időket kompenzálni lehet az elemzések hőmérsékletének emelésével, azonban ez csökkenti a szelektivitás.

A nagyobb királis tartalom a CSP alsó működési hőmérséklet-határát is megemelheti a királis rész merevsége miatt (15. Táblázat, 1↔3, 7↔8 és 15↔16). A 20 % MMBC tartalom nem adott homogén fázist OV-1701Vi-vel 160 °C-on, de 190 °C-on már igen. Az utóbbi adatokat összehasonlítva az 15. Táblázat, 5. Adatával, kivívlik a hőmérséklet emelése miatti szelektivitás csökkenés is.

A megmerevedő fázisban az üvegesedési göcök a királis részben alakulnak ki. Ezt támasztja alá az a tapasztalat, hogy cellulóz tartalmú állófázisok alacsonyabb hőmérsékleten (kb. 20 °C-kal) is megőrzik hatékonyságukat hexadékanra, mint a királis vegyületekre nézve.

A mozgófázis duzzasztó hatása miatt az SFC módban a királis rész nagy koncentrációja miatti hatékonyság-csökkenés alacsonyabb hőmérsékleten jelentkezik, mint a GC gyakorlatában [169, 171, 264, 266].

5.1.8.2. CSP komponenseinek polaritása

Polárisabb sziloxán polimerek nagyobb mennyiségű királis szelektorral képesek homogén, hatékony keveréket adni, mint az apolárisabbak (15. Táblázat, 3↔5, 8↔13, 16↔18) [37, 84, 131, 272, 275, 276, 278].

A polimer mátrix poláris csoportjai (pl. ciano, alkohol stb.) képesek blokkolni a szelektor nagy energiájú kölcsönhatási helyeit is, amivel a poláris minták "tailingje" lecsökkenthető, azaz a hatékonyság megnövelhető (15. Táblázat, 1↔9) [37, 171, 275, 276]. A poláris OV-61 OH mátrix jobb felbontást ad (szimmetrikusabb csúcsok) glutetimidre, mint az SE-54, annak ellenére, hogy a szelektivitási tényező az utóbbival nagyobb. A szelektor polaritása is erősen befolyásolja az enantiomerek csúcsalakját, nemcsak a mátrix és a minta polaritása. A glutetimid erősen „tailinges” csúcsokat adott polárisabb MMBC használatával, míg az apolárisabb CD szelektorral a csúcsok alakja tökéletes volt GC analízisekben (4. és 14. ábra).

A CSP komponenseinek jobb elegyedési viszonyai alacsonyabb, szelektivitást növelő elemzési hőmérsékletet engednek meg.

Más oldalról, a polárisabb sziloxán mátrix és a szelektor közötti nagyobb kölcsönhatás csökkenti a CSP szelektivitását, ami gyakran az R_s értékének a csökkenését is maga után

vonja (15. Táblázat, $1 \leftrightarrow 4$, $1 \leftrightarrow 9$, $1 \leftrightarrow 11$, $4 \leftrightarrow 9$, $4 \leftrightarrow 11$, $9 \leftrightarrow 11$). A fenti hatás poláris minták (glutethimid) esetében hangsúlyozottabb, mint az apolárisaknál (*transz*-sztilbén-oxid).

A polárisabb mátrix a retenciók növekedését vonja maga után (15. Táblázat, $1 \leftrightarrow 4$, $1 \leftrightarrow 9$, $1 \leftrightarrow 11$, $4 \leftrightarrow 9$, $4 \leftrightarrow 11$, $9 \leftrightarrow 11$), ami a szelektivitást csökkentő elemzési hőmérséklet emelésével kompenzálható. A *transz*-sztilbén-oxid retenciója négyszeresére, a glutethimidé pedig több mint hatszorosára nőtt SE-54-ről CPWax 51 mátrixra váltva (15. Táblázat, $1 \leftrightarrow 9$). A polárisabb sziloxán polimerek használata ellen szól az is, hogy az apoláris sziloxán oknak szignifikánsan nagyobb a hatékonyságú oszlopok készítésére alkalmasak [84, 116, 107, 278]. Az utóbbi állítást alátámasztja, hogy az 5% MMBC királis szelektort tartalmazó szelektorok közül a legnagyobb elméleti tányérszám értékeket SE-54-en mértem hexadékanra.

5.1.8.3. Királis szelektor merevsége

A merev szelektorok szelektivitása egyes enantiomer párok irányában nagy [55, 89, 142]. A merev királis szelektorokkal elért eredmények jobb hatásfokkal extrapolálhatók az eddig még nem vizsgált enantiomerekre.

A merev egység azonban megnehezíti az anyagátadást az állófázisban, ami a hatékonyság csökkenését okozza. A cellulózoknál a lazább szerkezetű MMBC-vel nagyobb hatékonyságú oszlopokat lehet készíteni, mint a TBC-vel. A flexibilis ciklodextrinet tartalmazó oszlopok nagyobb királis tartalom mellett is nagyobb hatékonyságúak voltak, mint a cellulózokat tartalmazóak [272, 278]. A királis rész merev, kompakt struktúrája csökkenti oldékonyságukat a sziloxán polimerekben (15. Táblázat, $5 \leftrightarrow 16$).

A merev szerkezetű szelektorok használati köre mérsékelt a korlátozott királis felismerési képességük miatt. A fenti állítást igazolja, hogy a hajlékony szerkezetű ciklodextrin származékok a legtöbbet használt szelektorok a GC, a kapilláris SFC és az EKC gyakorlatában [278, 279].

5.1.8.4. Királis rész kémiai kötése a sziloxán polimerhez

A kémiai kötés megakadályozza a diszproporcionálódást a CSP alkotói között, ami szélesebb működési hőmérséklet tartományt tesz lehetővé [110, 112, 116, 142]. A 10 % TRIMEB-et tartalmazó meti-sziloxán keverékeket csak 80 °C fölött lehet használni, míg a 30% kémiailag kötött TRIMEB tartalmazó állófázis használható akár 50 °C-on is [84, 110].

A szelektor, a kötőelem (spacer) és a sziloxán mátrix jól megválasztott aránya biztosítja a nagy hatékonyságot [116, 273]. A kémiai kötés lehetővé teszi, hogy a legnagyobb permeabilitású metil-sziloxánt használjuk a keverékben lévő kisebb permeabilitású polimerek (pl. OV-1701) helyett a TRIMEB tartalmú állófázisoknál.

A szabályos periodicitású királis szubsztitúcióval nagyobb szelektivitási tényezők érhetőek el, mint statisztikus szubsztitúcióval, ahogy ezt a Chirasil-Val esetében bizonyították [112]. SFC alkalmazásokhoz a kémiaileg kötött CSP térhálósítása könnyebb, mint a keveréké.

Más oldalról, a kémiaileg kötött CSP szintetizálása munkaigényes és nagy szakértelmet kíván. Az állófázisban maradt reaktív csoportok az analízisek magas hőmérsékletén reakcióba lépnek, ami a fázisok hatékonyságának és szelektivitásának elvesztését okozza [114, 115].

A kémiaileg kötött CSP szintetizálásának munkaigényessége miatt, ezek szelektortartalmát csak rendkívüli esetben optimalizálják egy adott enantiomer párra.

5.1.8.5. Térhálósítás hatása

A térhálósítás lehetővé teszi a királis állófázis használatát SFC módban. A térhálósítás kiterjesztheti a CSP alsó működési hőmérséklet-határát, is mivel a CSP gumyszerű állapotba kerül. A térhálósított állófázisokat nem oldja az on-column és a splitless injektáláskor beadagolt szerves oldószer, sőt az elszennyeződött oszlopok kimoshatók szerves oldószerrel.

Ugyanakkor a térhálósítási reakciók a királis szelektor aktív centrumaival mellékreakcióba léphetnek, ami a szelektivitás csökkenését, esetleg teljes eltűnését okozza [41, 115, 116, 275, 276]. A királis centrum jellege és az akirális mátrix csoportjai határozzák meg az optimális térhálósítást. Cellulóz származékot tartalmazó CSP esetében a dinamikus dikumul-peroxidos térhálósítás [118] volt a legmegfelelőbb (15. Táblázat, 1↔2, 5↔6, 14↔15), míg az azo-*terc*-butános és a termikus módszerek túl drasztikusnak bizonyultak (15. Táblázat, 5↔7, 9↔10, 17↔18).

Az apoláris mátrixok térhálósításához enyhébb körülmények kellene, mint a polárisokéhoz. A jól megtervezett sziloxán mátrix segít a mellékreakciókat elkerülni. A ChNEB oktül [273], és a ChDA vinil tartalma [274] lehetővé tette ezen fázisok 80% feletti térhálósítását a szelektivitás csökkenése nélkül.

Végeredményben leszögezhető, hogyha a minták szelektivitása és az oszlopok terhelhetősége megengedi, a CSP királis tartalmát alacsonyan kell tartani. A királis rész aránya nem haladhatja meg a telítési koncentrációt a sziloxán mátrixban. Amennyiben a minták csúcshalakja és szelektivitása megengedi, minél kevésbé polárisabb sziloxán polimer használata javasolható. Rend szerint flexibilis királis szelektort (pl. CD) érdemes használni, mert az elválasztásban a mérsékelt szelektivitást pótolja a CSP nagy hatékonysága. A flexibilis szelektorok széles szelektivitási köre egyúttal nagyobb esélyt is ad a királis felismerésre. Egy kémiaailag kötött CSP jobb a fizikai keverékeknél, de elkészítésük munkaigényes és nagy szakértelmet kíván. A GC analízisekhez általában nem érdemes térhálósítani a királis állófázisokat. Az SFC alkalmazásokhoz pedig a térhálósító reakciót gondosan kell megválasztani, hogy a mellékreakciók ne csökkentsék a CSP szelektivitását.

5.2. A Királszelektív elektrokinetikus kromatográfiában elért eredmények

Kutatásaim jelentős részét tette ki az új, királis elektrolit adalékok bevezetése az EKC gyakorlatába. Választásom ionizálható ciklodextrinekre esett, mivel a ciklodextrinek a leguniverzálisabb királis szelektorok [279]. Döntésemhez az is indokolta, hogy tudományos együttműködés keretében az új származékok kifejlesztéséhez, tökéletesítéséhez magam is hozzájárulhattam. Vizsgáltam a bevezetett királis szelektorok használatának feltételeit, királis felismerésük jellemzőit és alkalmazásuk körét és javaslatokat tettem továbbfejlesztésükre. A fentiekén túl kutatásaim egy részét adott vegyületek és vegyületcsoportok királis szeparálása és az analízisek optimalizálása tette ki különböző ciklodextrin adalékok segítségével.

5.2.1. Ciklodextrin foszfátok

Eredményesen vezettem be a ciklodextrin foszfátok mindhárom gyűrű-méretű tagját (α -PhoCD, β -PhoCD és γ -PhoCD) a királis EKC fegyvertárába [280, 281]. Az új szelektorok hasznosságát számos enantiomer pár elválasztásával (18. táblázat) demonstráltam.

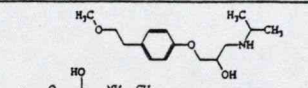
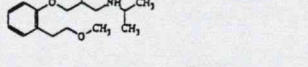
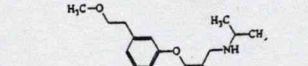
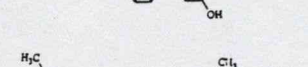
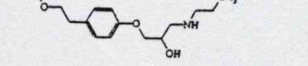
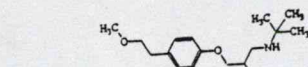
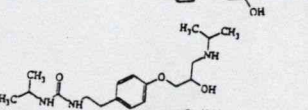
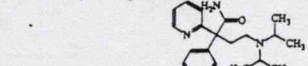
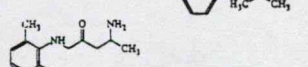
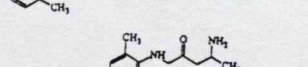
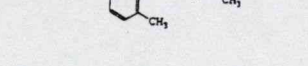
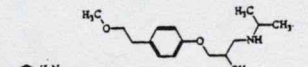
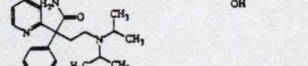

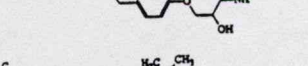
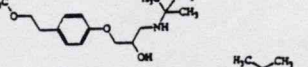

A CD foszfátok vízben jól oldódnak, akár 150 millimólos (mM) oldatuk is készíthető ellentétben, a nativ ciklodextrinek korlátozott oldhatóságával. A CD foszfátok jó szelektivitása és nagy vezetőképessége miatt azonban a legnagyobb alkalmazott koncentráció csak 40 mM volt. A CD foszfátok nagy vezetőképességére, átlagban hatos szubsztitúciós fok és a foszforsav szubsztituens többszörösen ionizált jellege ad magyarázatot. Számos esetben 10 mM alatti koncentráció is elégnek bizonyult az enantiomerek alapvonal-felbontásához.

A CD foszfátok "UV cut-off"-ja 240 nm körül van. Ennek ellenére, a vizsgált komponenseket 214 nm-en tudtam detektálni, mivel keskeny, 50 μ m belső átmérőjű kapillárisokat és aránylag kis szelektor koncentrációkat használtam.

A CD foszfátokkal nagy hatékonyságú analíziseket tudtam végezni, annak ellenére, hogy az elektrodiszperzió jelentős volt. A szelektorok ugyanis nagy számú, különböző vezetőképességű izomerek elegyei. Az elért elméleti tányérszám gyakran meghaladta a több százazres nagyságot (pl. 19/b, 25, 28 ábrák).

Az CD foszfátok ionizáltsága lehetőséget ad a semleges enantiomerek elválasztására az EKC gyakorlatában használt teljes pH tartományban (2-11). A foszforsav szubsztituensek ionizáltsági foka azonban változik pH 2-3 között, ami egyes enantiomerek királis felismerését befolyásolja [280-282].

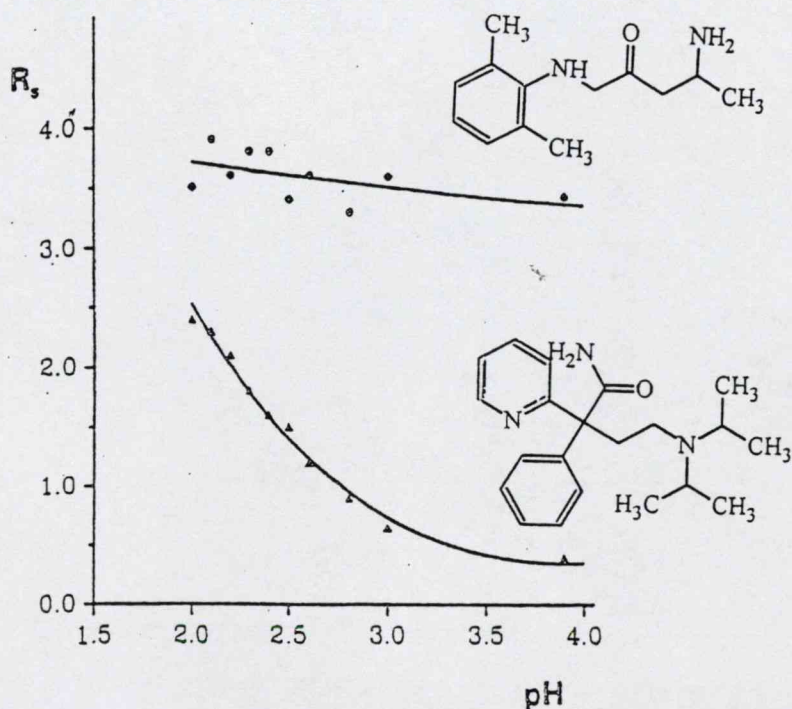
18. táblázat A ciklodextrin foszfát szelektorokkal EKC módban elért új királis elválasztások [280-284]

No.	Szerkezet	Név	Szelektor/ Koncentráció (mM)	pH	Felbontóképesség (R _s) ^a
1		metoprolol	α-PhoCD/15	7,8	2,7
2		metoprolol ortho melléterméke	α-PhoCD/13	8,3	0,9
3		metoprolol meta melléterméke	α-PhoCD/13	8,3	1,2
4		metoprolol n-propil melléterméke	α-PhoCD/13	8,3	0,8
5		metoprolol terc-butil melléterméke	α-PhoCD/13	8,3	1,3
6		metoprolol urea melléterméke	α-PhoCD/13	8,3	1,2
7		disopyramid	α-PhoCD/40	6,8	1,3
8		tocainid	α-PhoCD/40	6,8	1,9
9		tocainid dezmetil melléterméke	α-PhoCD/10	6,8	7,4
10		metoprolol	β-PhoCD/10	7,8	1,5
11		disopyramid	β-PhoCD/10	4,9	0,9
12		metoprolol	γ-PhoCD/15+ 5%MeOH	4,9	1,4
13		metoprolol terc-butil melléterméke	γ-PhoCD/10	4,9	0,8
14		metoprolol urea melléterméke	γ-PhoCD/5	4,9	1,6
15		disopyramid	γ-PhoCD/30	4,0	2,7
16		tocainid	γ-PhoCD/7,5	6,8	5,2
17		tocainid dezmetil melléterméke	γ-PhoCD/7,5	6,8	3,5

^a oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; detektálás, 214 nm; háttér puffer, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C

A γ -PhoCD használatakor a disopyramid izomerjeinek R_s értéke például drasztikusan lecsökkent, ha az elektrolit pH értékét kettőről háromra növeltem (18. ábra). A γ -PhoCD ionizáltsági fokának változása azonban más vegyületek (pl. tocinid) királis felismerésére nem volt szignifikáns hatással.

18. ábra Disopyramid (\blacktriangle) és tocinid (\bullet) enantiomerjeinek felbontási értékei a pH függvényében EKC módban. Paraméterek: oszlop, 37 cm x 0,05 mm FSOT; 5 Mm γ -PhoCD; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; feszültség, 25 kV; detektálás, 214 nm [281, 282].

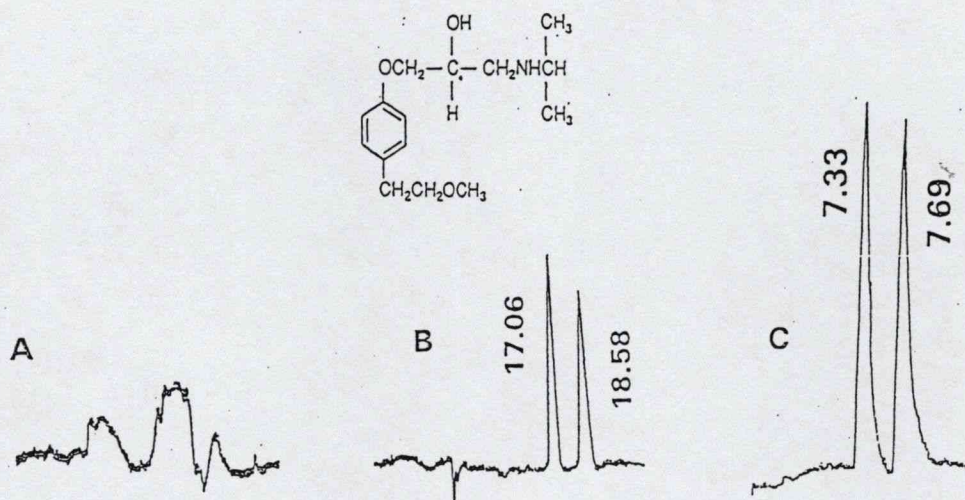


Megállapítottam, hogy a CD foszfátok, különösen az α -PhoCD, adszorbeálódnak a kvarc oszlop falán kis pH értékeken. A jelenséget az erős kölcsönhatással rendelkező metoprolol enantiomerjeinek vizsgálatokor vettem észre [281, 283]. A metoprolol csúcsai egy órán belül nem érték el a detektort, ha 4,9 pH értékű elektrolitban 15 mM α -PhoCD volt a szelektor (19/A ábra). Ráadásul az alapvonal hullámossá és zajossá vált 20 perc után. Ugyanilyen körülmények között a gyenge kölcsönhatást mutató tocinid megfelelő felbontással ($R_s = 1,4$) és 6 perc körül vándorlási idővel volt analizálható.

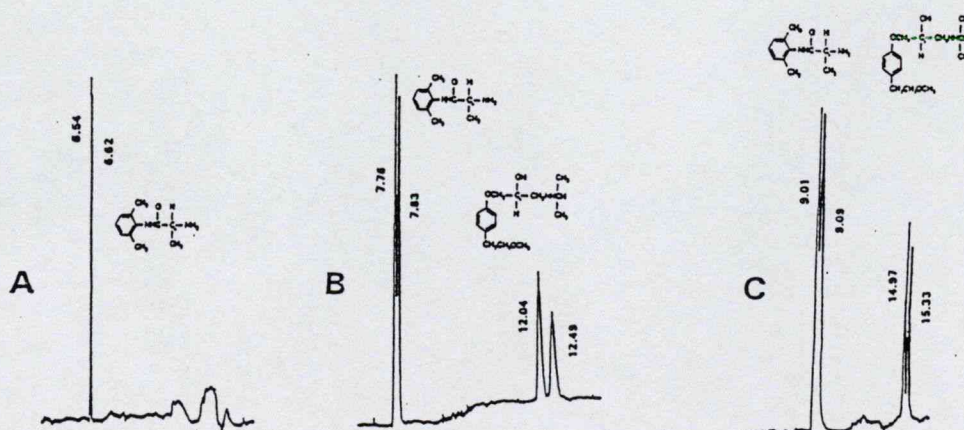
Amennyiben 6,8 pH értéken végeztem az analízist, akkor a metoprolol már detektálható volt, de csak el nem vált, torzult csúcsként. Még nagyobb, 7,8 pH-n a 15 mM α -PhoCD jó felbontást ($R_s = 2,7$) eredményezett a metoprolol csúcsaira (26/b ábra). További pH növelés már nem javított az felbontáson mivel hasonló koncentrációjú szelektorral 8,3 pH már csak $R_s = 2,0$ értéket kaptam (26/c ábra).

A metoprolol enantiomerjeit 4,9 pH-jú elektrolitban is el tudtam választani ($R_s = 1,4$), ha 15 mM helyett kisebb koncentrációjú, 6,7 mM α -PhoCD alkalmaztam.

Azt is megfigyeltem, hogy a két analízis közötti oszlopregenerálás során, az első lépésként alkalmazott desztillált vizes mosás kezdetén az alapvonal rendkívül zajos volt, de kb. három és fél perc után hirtelen kisimult. Amennyiben nem alkalmaztam oszlopmosást két analízis között, akkor a második analízis alatt az alapvonal az egész elemzési idő alatt zajos volt, a tocinid csúcsainak megnőtt a vándorlási ideje, a csúcsok felbontása pedig lecsökkent.



19. ábra A metoprolol királis elválasztásának függése a pH-tól, 15 mM α -PhoCD szelektorral EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; szelektor, 15 mM α -PhoCD; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; feszültség, 25 kV; pH, A = 4,9, B = 7,8, C = 8,3 [281 283].



20. ábra A tocinid és a metoprolol királis elválasztásának függése a metanol koncentrációjától, α -PhoCD szelektorral EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; szelektor, 15 mM α -PhoCD; háttér puffer, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; pH, 4,5; feszültség, 25 kV; elektrolit metanol tartalma, A = 0% B = 5%, C = 10% [281, 283].

A fenti jelenségekből arra következtettem, hogy az α -PhoCD kis pH értéken feltapad az oszlop falára. A feltapadt α -PhoCD adszorptív réteget alkot, amelynek kölcsönhatása meggátolja az erősen kötődő metoprolol vándorlását, míg a gyengén kötődő tocinid vándorlását nem tudja megakadályozni. Az adszorpció valószínűleg a bázikus sziloxán hidak és a savas foszfát-csoportok közötti kölcsönhatás eredménye.

Az adszorbeált α -PhoCD réteg az elektrolitban lévőkhöz képest az enantiomerek fordított vándorlási sorrendjét indukálja. Ez a magyarázat annak, hogy 6,8 pH-n (15 mM α -PhoCD), ahol még jelentős az adszorpciós réteg hatása a metoprolol vándorlását észleltem, de csúcsainak felbontását nem.

Kísérleteim szerint, nagyobb pH értékeken az α -PhoCD adszorpciója elenyészik, mivel az oszlop falán lévő szilanol-csoportok nagyobb számban ionizálódtak, és negatív töltésük taszítja az azonos töltésű α -PhoCD molekuláit.

Az α -PhoCD réteg kialakulása időt vesz igénybe, és ez annál gyorsabban épül fel, minél nagyobb a szelektor koncentrációja. A kisebb koncentrációjú szelektorból a réteg felépítéséhez hosszabb időre van szükség mint a metoprolol vándorlási ideje, ezért lehetséges kis koncentrációjú szelektor esetén (6,7 mMol) a metoprolol csúcsainak elválasztása még pH 4,9 pH értéken is.

Az α -PhoCD adszorpcióját szerves adalékok, így metanol hozzáadásával is csökkenteni tudtam (20. ábra). A metoprolol esetében (15 mM α -PhoCD, pH 4,9) 5% metanol adalékkal értem el a legjobb felbontást ($R_s = 1,7$), míg 10% metanollal már csak $R_s = 1,4$ értéket kaptam. A kis kölcsönhatási energiájú tocinid és disopyramid királis elválasztását minden esetben lerontották a szerves adalékok. A szerves adalékok hatása a ciklodextrin és a minta közötti kölcsönhatás gyengítésével magyarázható.

Az adszorbeált réteg képződést α -PhoCD használtakkor fedeztem fel, de más CD foszfátoknál is tapasztaltam, habár sokkal kisebb mértékben.

Végeredményben az α -PhoCD adszorpciójából eredő káros hatások teljesen kiküszöbölhetőek csökkentett koncentrációjú szelektorral, nagyobb pH értékű elektrolittal és mérsékelt mennyiségű szerves adalékkal. A feltapadt réteg az oszlopok kondicionálása során maradéktalanul lemosható, azaz az oszlopok könnyen regenerálhatóak. Kritikus esetekben az analízisek előtt csak rövid (0-1,5 perc) kondicionálást alkalmaztam a szelektort is tartalmazó elektrolittal, hogy az adszorbeált réteg felépülését késleltessem.

A CD foszfátok az alacsony pH-n keletkező adszorbeált réteg ellenére jó királis szelektorok az EKC gyakorlatában, amit számos példán igazoltam (18. táblázat). Ezek a

szelektorok az ionizált bázisokkal szemben mutatják a legnagyobb szelektivitást, de alkalmasak semleges enantiomerek elválasztására is.

A CD foszfátok széles királis felismerési köre részben annak köszönhető, hogy ezek a szelektorok különböző szubsztitúciós fokú és szubsztitúciós elrendezésű izomerek elegyei. A CD foszfátok széles felismerési spektrumára jellemző, hogy a metoprolol [283]. és a tocinid [284]. enantiomerjeit mind a három gyűrűmérettel el tudtam választani. Ez utóbbi tény azt a feltevésemet erősíti, hogy a CD foszfátok királis felismeréséhez nem szükséges a zárványkomplex képződés, mivel különböző méretű gyűrűk esetén nehezen képzelhető el minden esetben a zárványkomplex képződés.

A CD foszfátok szerepét az egyes gyógyszer-molekulák (tocainid, metoprolol, disopyramid) enantiomer-elválasztásában, későbbi fejezetekben, az adott vegyület tárgyalásánál ismertetem.

Kutatásaim nyomán az Astra gyógyszer-gyárban rendszeresen alkalmazzák a CD foszfátokat β -blokkolók királis elválasztására és eredményeimre támaszkodva egy diplomamunka (K. Hansen, B.SC Thesis, Göteborg University/Astra Hassle, 1995) is készült. Tapasztalataim hatására ma már kisebb szubsztitúciós fokú (2-3) CD foszfátok is beszerezhetők, amelyek használatánál a vezetőképességi, elektrodiszperziós és adszorpciós problémák csökkent mértékben jelentkeznek.

Összefoglalásként elmondható, hogy a CD foszfátokkal széleskörű felismerési körrel rendelkező királis szelektort sikerült az EKC gyakorlatába bevezetnem, amit 14 új királis elválasztással bizonyítottam. A CD foszfátok nem kívánt adszorpciója a helyesen megválasztott kísérleti paraméterekkel teljen kiküszöbölhető. Bebizonyítottam, hogy ezek a szelektorok többfajta királis felismeréssel rendelkeznek (multimodal).

5.2.2. Permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD)

Permetil-monoamino- β -ciklodextrin (6-monoamino-6-monodezoxi- β -ciklodextrin, β -PMMACD) bevezetésével elsősorban a savas enantiomerek reprodukálható elválasztásában sikerült új eredményeket elérni [285-287].

A β -PMMACD a gondosan kivitelezett szintézise és monofunkciója miatt jól reprodukálható termék. A vegyület tisztasága 95% feletti, ami a ciklodextrin származékok körében rendkívül jónak mondható. A β -PMMACD rendkívül gyenge UV elnyelést mutat, ezért még 40 mM β -PMMACD sem zavarja az UV-detektálást 202 nm-en.

Stabil, katódos EOF mérhető a β -PMMACD adalék 0–40 mM tartományában, ellentétben a többfunkciós bázikus ciklodextrinekkal [235]. A szelektornak, ugyanis jelentéktelen az adszorpciója az oszlop falán, mivel a szelektor monofunkciós, és a metil-szubsztituensek árnyékolják az amin-csoportot.

A β -PMMACD vezetőképessége az egyszeres töltése miatt kicsi, a szelektor nagy koncentrációban alkalmazható a hatékonyság romlása nélkül akár 30 kV feszültségen is.

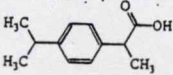
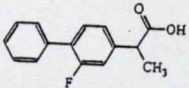
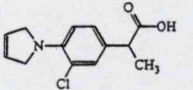
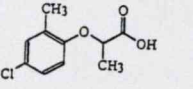
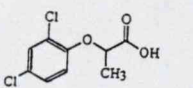
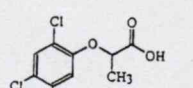
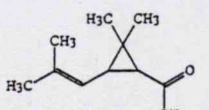
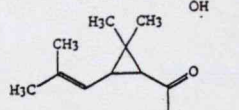
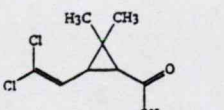
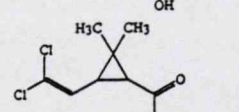
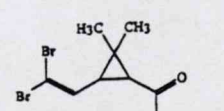
A β -PMMACD a királis szelektoroknál megszokott elméleti tényérszámokhoz képest jóval nagyobb hatékonyság elérését teszi lehetővé. A *cisz*-permetrinsav (10 mM β -PMMACD, pH 4,5) és a Fenoprop (15 mM β -PMMACD, pH 9,5) csúcsai 500 000 elméleti tényérszám feletti értékeket mutattak, de rendszeresen 200 000 elméleti tényér feletti értékeket mértem mindössze 50 cm hasznos kapilláris hosszon. Általában az elsőként vándorló csúcs elméleti tényérszáma valamivel kisebb, mint a másodiké. A semleges és a pozitív töltésű enantiomerek csúcsaira rendszerint kisebb elméleti tényérszámot kaptam, mint a negatív töltésűekére.

A metil-szubsztituensek miatt a β -PMMACD jól szolubilizálja az apoláris mintákat, ami javítja az oszlop terhelhetőségét és az analízisek hatékonyságát. A β -PMMACD jó oldóképessége lehetővé teszi, hogy a savakat protonált formájukban is elfogadható hatékonysággal (pl. ibuprofen, $N = 65000$) analizáljuk.

Rendszerint a két optikai izomer csúcsának elméleti tényérszáma közötti különbség kisebb, mint 25%, ami arra utal, hogy a szelektor királis felismerő mechanizmusa azonos a két izomer esetén. Egyedül a bázikus fluoxetine két csúcsára mért elméleti tényérszám értéke között volt jelentős eltérés (23 000 és 5100). Ebben az esetben valószínű, hogy a két enantiomer kölcsönhatási mechanizmusa eltér egymástól.

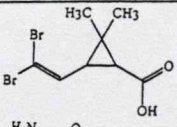
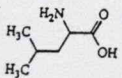
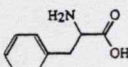
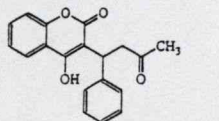
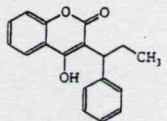
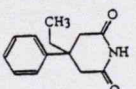
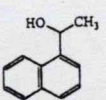
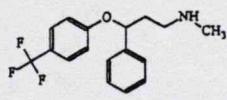
A β -PMMACD a molekulák széles köre felé mutat királis felismerő tulajdonságokat (19. táblázat), de elsődleges alkalmazási területe a negatív töltésű enantiomerek elválasztása. Gyakran a β -PMMACD kis koncentrációban is elegendő az alapvonal-felbontáshoz. A fenoprop enantiomerjeinek alapvonal-felbontásához például mindössze 1 mM β -PMMACD szükséges (pH 6,5). A rendszer a fenti körülmények között akár $\alpha_{app} = 1,009$ esetén is biztosította az alapvonal-felbontást az ibuprofen esetében [285]. Nagyobb koncentrációjú β -PMMACD szelektorral $R_s > 9$ értékek elérésére (*cisz*-permetrinsav, danzil-PheAla. stb.) is lehetséges.

19. táblázat A permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD) szelektorral EKC módban elért új királis elválasztások [285-287]

No.	Szerkezet	Név	Szelektor koncentráció (mM)	pH	Felbontóképesség ^a (R _s)
1		ibuprofen	15	3,4	4,4
2		flurbiprofen	15	3,5	3,3
3		pirprofen	15	4,5	6,2
4		mekoprop	15	6,5	4,8
5		diklórprop	15	6,5	3,1
6		fenoprop	15	5,5	13,7
7		<i>cisz</i> -krizantémsav	15	6,5	8,5
8		<i>transz</i> -krizantémsav	17,5	6,5	1,5
9		<i>cisz</i> -permetrinsav	15	6,5	17,2
10		<i>transz</i> -permetrinsav	15	6,5	6,6
11		<i>cisz</i> -deltametrinsav	15	6,5	20,0

^a oszlop 58cm x 0,05 mm FSOT; detektálás, 204 nm; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C

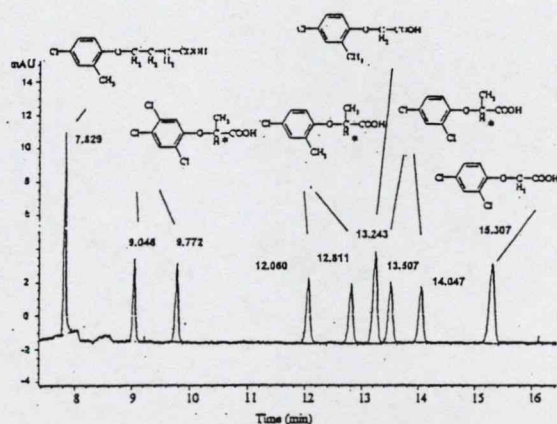
19. táblázat A permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD) szelektorral EKC módban elért új királis elválasztások [285-287] (folytatás)

No.	Szerkezet	Név (származék)	Szelektor koncentráció (mM)	pH	Felbontó- képesség ^a (R _s)
12		<i>transz</i> -deltametrinsav	15	6,5	11,6
13		leucin (danzil)	7	5,0	1,0
14		fenilalanin (danzil)	7	5,0	15,3
15		warfarin	5	6,5	3,0
16		fencumaron	5	6,5	4,8
17		glutethimid	10	4,0	1,5
18		1-naftil-1-etanol	15	4,0	2,4
19		fluoxetin	10	3,0	1,3

^a oszlop 58cm x 0,05 mm FSOT; detektálás, 204 nm; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C

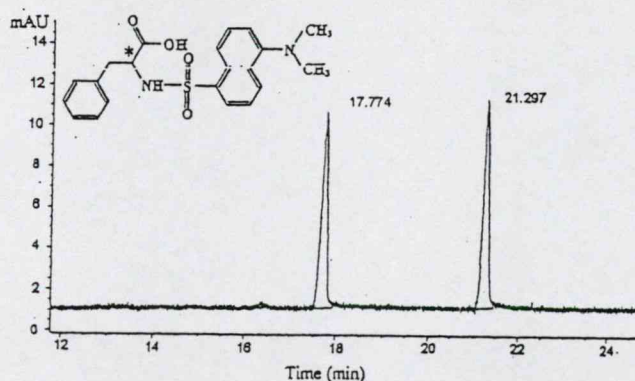
A β -PMMACD kitűnő a fenoxi-propionsav gyomirtó szerek enantiomerjeinek elválasztására (19. táblázat, 4-6, 21. ábra). A β -PMMACD felhasználásával nem csak az egyes enantiomer párok elválasztását sikerült megoldanom, hanem az összes, Magyarországon forgalomba hozott hatóanyag egymástól való elválasztását is. Az alkalmazott 6,5 pH érték kompromisszum eredménye. Nagyobb pH-n a mekoprop és a diklórprop, kisebb értékeken pedig a MCBA és a mekoprop csúcsai zavarták egymás

meghatározását. A β -PMMACD semleges formájában is megőrzi királis felismerő tulajdonságát a fenoxi-propionsavakra nézve. A fenoprop például $R_s = 4,2$ értéket mutat 9.5 pH értékű elektrolitban (15 mM β -PMMACD). A fenoxi-propionsavak semleges formája is szétválasztható β -PMMACD szelektorról, de ebben az állapotban az analízisek rendkívül időigényesek.



21. ábra Fenoxisav herbicidek enantiomer és egymástól való elválasztása β -PMMACD szelektorról EKC módban.

Körülmények: oszlop 58.5 cm x 0,05 mm FSOT; szelektor, 15 mM β -PMMACD; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C; pH, 6,5; feszültség, 30 kV [285, 287].



22. ábra Fenilalanin enantiomerjeinek elválasztása danzil származékként β -PMMACD szelektorról. Körülmények: oszlop 58.5 cm x 0,05 mm FSOT; szelektor, 7 mM β -PMMACD; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C; pH, 5,0; feszültség, 30 kV. [285, 287]

A β -PMMACD rendkívül alkalmas a profén típusú, nemszteroid gyulladásgátlók királis elválasztására is (19. Táblázat, 1-3). Megállapítottam, hogy ezek az enantiomerek semleges formájukban jobb felbontást mutatnak, mint ionosban. A β -PMMACD semleges formája azonban nem mutatott királis felismerő tulajdonságokat a profénekkal szemben.

Az aminosavak közül a fenilalanin danzil-származékának volt rendkívül jó ($R_s = 15,3$) felbontási tényezője (22. ábra). A szelektor mindenféle ionizáltsági kombinációban megőrzi királis felismerő képességét erre a vegyületre.

A fenolos hidroxi-csoporttal rendelkező, kumarin típusú vegyületek (19. táblázat, 15, 16) ionizált formája is megfelel a β -PMMACD királis felismerő tulajdonságának.

A semleges enantiomerek közül a glutethimid (10 mM β -PMMACD, pH 4,0, R_s 1,5, 19. táblázat, 17) és a 1-naftil-1-etanol (19. táblázat, 18) elválasztását érdemes kiemelni. A β -PMMACD királis felismerő képességet mutat számos enantiomer sav protonált formája felé is.

A β -PMMACD királis felismerésének széles körére jellemző, hogy a bázikus enantiomer párt, a fluoxetint is képes elválasztani (19. táblázat, 19).

A β -PMMACD bevezetésével stabil, jól definiált szerkezetű (single isomer), bázikus CD hiányát sikerült pótolnom. A β -PMMACD szelektív és nagy hatékonyságú analíziseket tesz lehetővé, amit 19 új királis elválasztással szemléltettem. Ez a szelektor elsősorban negatív töltésű enantiomerek elválasztásában kiváló, de képes semleges és bázikus enantiomereket is elválasztani.

5.2.3. 2,3-dimetil-6-amino- β -ciklodextrin (β -HDMACD)

Az egységes (single isomer), bázikus, ciklodextrin alapú királis szelektorok körét bővítettem a bevezetés alatt álló heptakis-(2,3,-dimetil-6-amino-6-dezoxi)- β -ciklodextrinnel (β -HDMACD) [287, 288].

A β -HDMACD erősen bázikus karakterű, ezért már 1 mM-os oldata esetén az EOF anódos, fordított. Mivel a β -HDMACD olyan erősen bázikus, hogy stabil réteget ad az oszlop falán, ami jól reprodukálható EOF értékeket és migrációs időket eredményez. A szelektor gyors analíziseket kínál savas mintákra, mivel a savak és az EOF vándorlási iránya megegyezik.

A β -HDMACD hét pozitív töltéssel rendelkezik ezért jelentős a vezetőképessége. A szelektor mindössze 5 mM-os koncentrációján tudtam csak a maximális -30 kV feszültséggel dolgozni, hogy elkerüljem a Joule hő hatékonyság csökkentő szerepét.

A β -HDMACD nagyon eredményes királis adalék. Használatával gyakran $N > 200\ 000$ értéket lehetett elérni. A diklórprop csúcsai például 334 000 és 402 000 értéket adtak. A nagy hatékonyság a szelektor jól definiált vezetőképességének köszönhető, mivel így az elektrodiszperzió jelentősen csökkenthető. Nagyobb pH tartományban a β -HDMACD szelektorral elérhető hatékonyság csökken, mivel az egyes szelektor molekulák protonálltsága (vezetőképessége) nem egyforma, ami elektrodiszperziós hatást okoz.

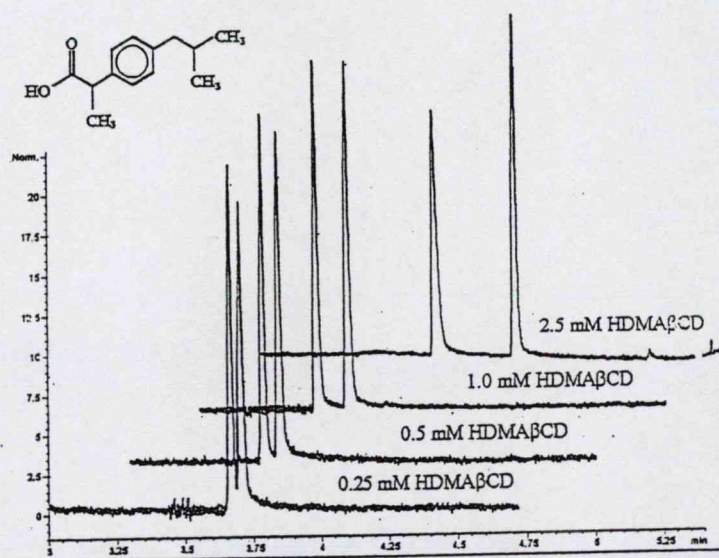
20. ábra β -HDMACD szelektorral EKC módban elért új királis elválasztások [287, 288]

No.	Szerkezet	Név	Szelektor koncentráció (mM)	pH	Felbontó-képesség ^a (R_s)
1		ibuprofen	10	5	5,9
2		ketoprofen	10	5	6,7
3		piroprofen	10	7,5	1,5
4		naproxen	5	5	2,1
5		mekoprop	10	5	0,8
6		diklórprop	10	5	0,8
7		fenoprop	10	5	1,5
8		4-metil-fenoxipropionsav	5	5	0,8
9		mandulasav	5	5	2,4
10		2-klór-mandulasav	5	5	2,3
11		2-[(2,6-dimetil fenil)amino]-propánsav	5	5	3,5
12		2-[(metoxikarbonil) (fenil) amino]-propánsav	5	5	0,6

^a oszlop 58cm x 0,05 mm FSOT; detektálás, 202 nm; háttér puffer, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C

A β -HDMACD nagy szelektivitást mutat a savas enantiomerekkel szemben (20. táblázat).

Az ibuprofen alapvonal-felbontásához például 0,5 mM HDMA β CD is elegendő (23. ábra). Az eddigi kísérletek jó felbontást adtak a többi profén típusú enantiomerre is (20 táblázat, 1-4). Ezek közül a ketoprofén mutatta a legnagyobb $R_s = 6,7$ értéket. A β -HDMACD királis felismerést mutat a fenoxi-propionsavak irányában is (20 táblázat, 5-8). Érdekes megfigyelni, hogy a β -HDMACD felbontási maximuma általában kisebb pH értéken van, mint a β -PMMACD szelektore



23. ábra Ibuprofen enantiomerjeinek elválasztása különböző töménységű β -HDMACD szelektorról EKC módban. Körülmények: oszlop 58.5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C; pH, 5,0; feszültség, -30 kV. [287, 288].

A β -HDMACD kifejlesztése és királis felismerő tulajdonságainak feltérképezése folyamatban van. Várható, hogy 2002 folyamán tulajdonságait részletesen leírjuk, de számos alkalmazással már bizonyítottam hasznosságát az enantiomer-szelektív EKC gyakorlatában [287]. A β -HDMACD eggyel nagyobb és kisebb gyűrűtagszámú analógjainak szintézisét megoldottuk, bevezetésük a közeljövőben megtörténik, ami lehetővé teszi az elválasztott enantiomerek körének további bővítését.

Elmondható, hogy kutatásaimmal új, a savas enantiomerek gyors elválasztására alkalmas, stabil, fordított elektrooszmózisos áramlást mutató szelektort sikerült bevezetnem, amit eddig 12 új királis elválasztással bizonyítottam.

Elmondható, hogy kutatásaimmal új, a savas enantiomerek gyors elválasztására alkalmas, stabil, fordított elektroosmosisos áramlást mutató szelektort sikerült bevezetnem, amit eddig 12 új királis elválasztással bizonyítottam.

Az újonnan bevezetett szelektorok mellett más CD-származékokat is használtam új királis elválasztások megvalósítására. A semleges szelektorok közül főleg a különböző módon metilezett CD-származékokat használtam eredményesen (21. táblázat) [282-284, 286]. Az alkil-karboxil-csoporttal szubsztituált CD-származékokat számos esetben szintén hasznosak voltak (22. táblázat) [282-284]

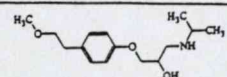
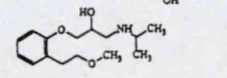
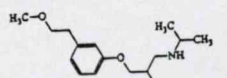
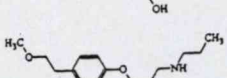
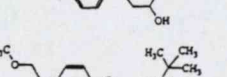
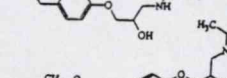
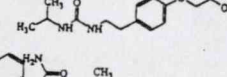
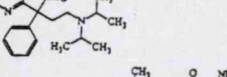
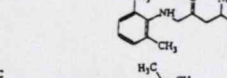
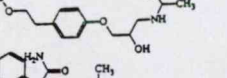
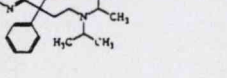
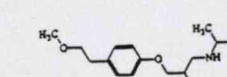
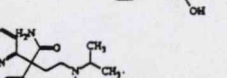
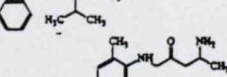
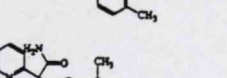
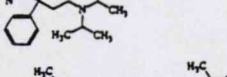
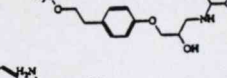
21. táblázat Semleges CD szelektorokkal EKC módban elért új királis elválasztások [282-284,286]

No	Szerkezet	Név	Szelektor/ koncentráció (mM)	pH	Felbontás R _s
1		disopyramid	β-CD/ 10	3,0	0,8 ^a
2		disopyramid	RAMEB/ 20	2,4	1,25 ^a
3		tocainid	RAMEB/ 30	2,4	0,5 ^b
4		disopyramid	DIMEB/ 15	2,4	0,8 ^a
5		tocainid	DIMEB/ 30	2,4	1,6 ^b
6		tocainid	TRIMEB/ 30	2,4	1,9 ^b
7		cisz-krizantémsav	TRIMEB/ 15	6,5	1,6 ^b
8		cisz-permetrinsav	TRIMEB/ 15	6,5	2,4 ^b
9		trans-permetrinsav	TRIMEB/ 15	6,5	1,7 ^b
10		cisz-deltametrinsav	TRIMEB/ 15	6,5	5,6 ^b
11		trans-deltametrinsav	TRIMEB/ 15	6,5	3,2 ^b

^a oszlop, 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C

^b oszlop, 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C

22. táblázat Alkil-karboxil szubsztituált CD szelektorokkal EKC módban elért új királis elválasztások [282-284]

No	Szerkezet	Név	Szelektor koncentráció (mM)	pH	Felbontóképesség (R _s)
1		metoprolol	α -CMCD/ 20	6,0	3,0 ^b
2		metoprolol orto melléterméke	α -CMCD/ 10	6,0	4,3 ^b
3		metoprolol meta melléterméke	α -CMCD/ 10	6,0	1,8 ^b
4		metoprolol <i>n</i> -propil melléktermék	α -CMCD/ 10	6,0	0,9 ^b
5		metoprolol <i>tert</i> -butil mellékterméke	α -CMCD/ 10	6,0	1,4 ^b
6		metoprolol urea mellékterméke	α -CMCD/ 13	8,3	1,2 ^b
7		disopyramid	α -CMCD/ 40	4,9	1,5 ^b
8		tocainid	α -CMCD/ 30	5,0	1,5 ^c
9		metoprolol	α -CECD/ 10	4,9	0,8 ^a
10		disopyramid	α -CECD/ 15	4,9	1,0 ^b
11		metoprolol	β -CMCD/ 10	4,9	0,9 ^a
12		disopyramid	β -CMCD/ 15	4,9	3,0 ^b
13		tocainid	β -CMCD/ 30	4,0	0,9 ^c
14		disopyramid	α -CECD/ 15	4,9	1,0 ^b
15		metoprolol	γ -CMCD/ 10	4,9	0,9 ^a
16		disopyramid	γ -CMCD/ 10	4,9	0,7 ^a
17		tocainid	γ -CMCD/ 30	5,0	2,7 ^c

^a oszlop, 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C

^b oszlop, 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C

5.2.4. A disopyramid királis analízise

Disopyramid enantiomerek elválasztására a 3. táblázatban lévő 15 fajta savas és semleges CD szelektort próbáltam ki [281, 282].

Az előzetes vizsgálatokat 20 cm-es hasznos kapilláris hosszon, 4,9 pH-jú elektrolittal, a 6,7 mM α -PhoCD kivételével 10 mM szelektorral végeztem. A következő szelektorokkal értem el legalább $R_s = 0,7$ értéket: α -CMCD, α -PhoCD, β -CD, RAMEB, DIMEB, β -CMCD ($R_s = 1,4$), β -CECD, γ -CMCD, γ -CECD. A negatív töltésű szelektorokkal 8,9 pH-jú elektrolittal is végeztem előkísérleteket a semleges állapotú disopyramid (pKI 6,95) enantiomerjeinek elválasztására. Ilyen körülmények között a következő királis adalékok eredményeztek legalább $R_s = 0,7$ értéket: β -CMCD ($R_s = 1,1$), β -CECD, β -PhoCD és γ -CMCD. Az alkil-karboxil-csoporttal szubsztituált ciklodextrinekkel semleges állapotukban (pH 2,4) is végeztem előkísérleteket, de ilyen körülmények között csak a β -CMCD ($R_s = 0,8$) és a β -CECD mutatott némi királis felismerést. A továbbiakban csak az előkísérletekben eredményes szelektorokkal folytatattam további vizsgálatokat. Nagy pH értéken, azonban nem végeztem további méréseket, mert a disopyramid csúcsainak vándorlási sebessége közel azonos volt az EOF sebességével.

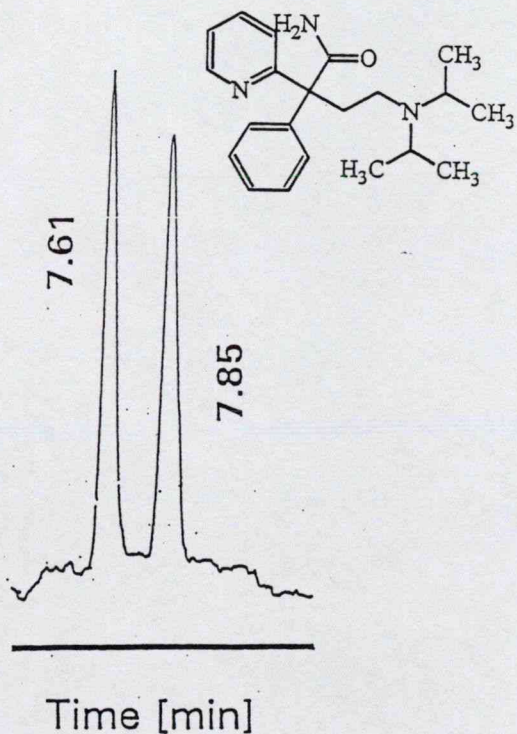
5.2.4.1. Metil-csoporttal szubsztituált ciklodextrinek

A statisztikusan 14-szeresen metilezett β -CD (RAMEB) felbontóképességét 2,4-7,8 pH tartományban vizsgáltam. A legjobb felbontás $R_s = 1,25$ volt (20 mM RAMEB, pH 2,4). Az elért felbontást drasztikusan, $R_s = 0,8$ értékre rontotta 5% metanol hozzáadása az elektrolithoz. A RAMEB 20 mM koncentrációja a koncentráció – felbontó képesség görbe maximuma közelében van, mivel a 15 mM és 25 mM szelektor koncentrációk sorra csak $R_s = 1,0$ és $R_s = 1,1$ értékeket eredményeztek. Kimutattam, hogy a szabályosan, 2,6-pozíciókban metilezett β -CD (DIMEB) szignifikánsan kisebb felbontóképességű, mint a RAMEB. Ez a tény rávilágít arra, hogy a szubsztituensek elrendezése is nagy hatással van a ciklodextrinek szelektivitására. A szubsztitúciós fok is nagyban befolyásolja a metilezett ciklodextrinek szelektivitását, mert például a permetilezett β -CD (TRIMEB) egyáltalán nem mutatott királis felismerést.

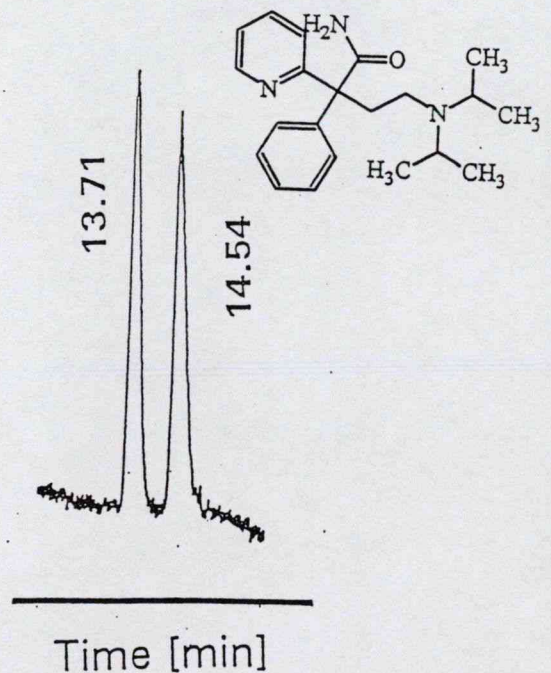
5.2.4.2. Alkil-karboxil-szubsztituált ciklodextrinek

Az előzetes kísérletek alapján a legmegfelelőbb párosítás az enantiomerek elválasztásához, az ionizált állapotú β -CMCD és disopyramid. De ha csak az egyik partner is ionizált, akkor is észleltem felbontást.

Jó, $R_s = 3,0$ értéket lehetett elérni 15 mM β -CMCD szelektorral (pH 4,9, 24. ábra). A 15 mM β -CMCD a koncentráció - felbontási görbe maximumának közelében van. A β -CMCD koncentrációjának 5 mM-os csökkentésével vagy növelésével ugyanis a felbontási tényező csak 1,4 és 2,6 volt. Az elektrolit 4,9 pH értéke is közel van az optimumhoz mivel a 5,8 és 3,0 pH-jú elektrolitokban csak $R_s = 1,9$ illetve $R_s = 1,1$ értékeket lehetett elérni (15 mM β -CMCD). A karboxil-csoporttal szubsztituált szelektorok közül a 40 mM α -CMCD királis adalék is alapvonal-felbontást eredményezett (pH 4,9).



24. ábra Disopyramid enantiomerjeinek elválasztása 15 mM β -CMCD szelektorral EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; pH, 4,9; feszültség, 30 kV [282].



25. ábra Disopyramid enantiomerjeinek elválasztása 7 mM γ -PhoCD szelektorral EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér electolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; pH, 2,4; feszültség, 20 kV [282].

5.2.4.3. Ciklodextrin foszfátok

Az előzetes vizsgálatok alapján mind a három CD foszfát (α , β és γ) királis szelektivitást mutatott disopyramid irányában.

Kitűnő ($R_s = 2,9$) felbontást lehetett elérni 10 mM γ -PhoCD alkalmazásával (pH 2,4, 25. ábra). A γ -PhoCD királis felismerése a disopyramiddal szemben erős pH függést mutatott, ahogy ezt a 5.2.1. fejezetben már bemutattam (18. ábra). Érdekes azonban megjegyezni, hogy a nagyobb ionizáltsági fokú γ -PhoCD némileg megőrzi királis felismerő képességét disopyramidra ($R_s = 0,8$, pH 6,8, 30 mM γ -PhoCD). A γ -PhoCD koncentrációjának növelése fokozta a disopyramid csúcsainak felbontását az egész vizsgált tartományban (0-40 mM).

30mM α -PhoCD megközelítőleg alapvonal-felbontást eredményezett 6,8 pH-jú elektrolitban. A disopyramid kölcsönhatási energiája kicsi a CD foszfátokkal, ezért enantiomerjeinek elválasztására nincs jelentős hatással a CD foszfátok adszorpciója az oszlop falán, és a szerves adalékok lerontják a felbontást.

23. táblázat A disopyramid enantiomerjeinek különböző ciklodextrinekkal elért felbontási tényezői EKC technikával [281, 282]

Ciklodextrin fajtája	Ciklodextrin koncentrációja (mM)	Elektrolit pH-ja	Felbontás ^a (R_s)
β -CMCD	15	4.9	3.0
γ -PhoCD	10	2.4	2.9
α -CMCD	40	4.9	1.5
α -PhoCD	40	6.8	1.3
RAMEB	20	2.4	1.25

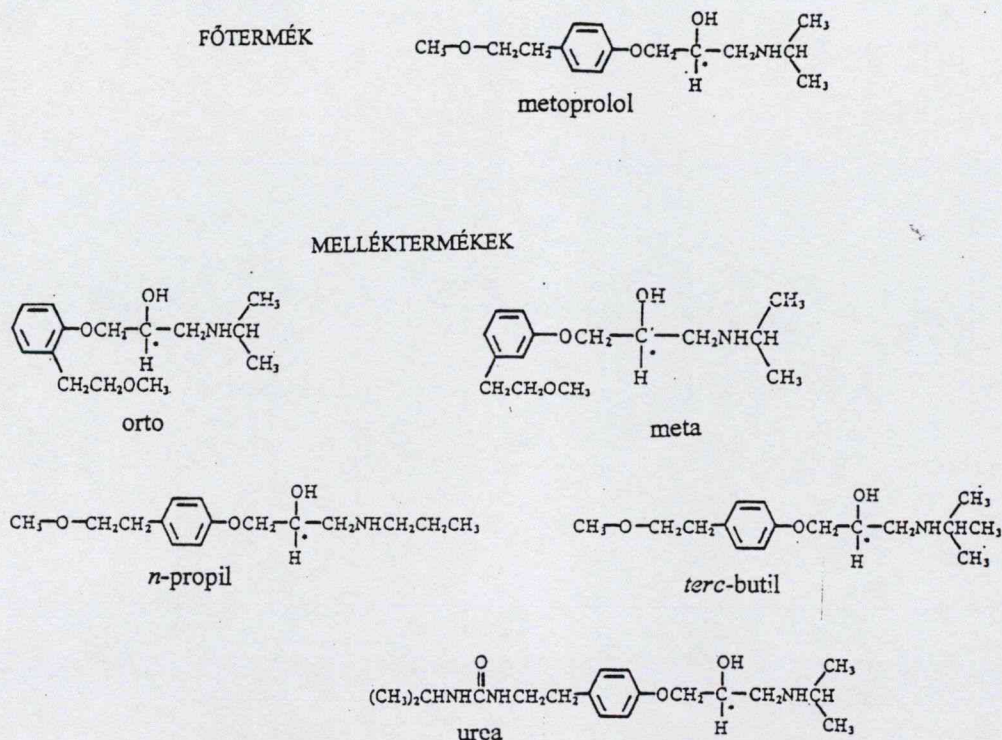
^a oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C

Összefoglalva: 3 szelektorral legalább alapvonal-, és két másik szelektorral közel alapvonal-felbontást tudtam elérni disopyramid enantiomerjeire mindössze 37 cm hosszú (30 cm hkh) kapillárison (23. táblázat). A disopyramid enantiomerjeinek elválasztására a β -CMCD bizonyult a legjobbnak. Megállapítottam, hogy a disopyramid analizisében nem jelent problémát a CD foszfátok adszorpciós tulajdonsága. A γ -PhoCD az elektrolit pH értékétől függően többfajta királis felismeréssel rendelkezik disopyramiddal szemben.



5.2.5. Metoprolol enantiomerjeinek és gyártási melléktermékeinek elválasztása

Ebben a kutatási projektben nem csak a metoprolol enantiomerjeinek elválasztása volt a feladat, hanem a melléktermékek (26. ábra) elválasztása is a főkomponenstől és egymástól. A módszer kidolgozása során törekedtem a melléktermékek királis analízisére is [281, 283].



26. ábra. Metoprolol és gyártási melléktermékei a dolgozatban használt elnevezésükkel [283].

A metoprolol enantiomerjeinek elválasztását egy előzetes kísérletsorozatban 15-fajta savas és semleges CD (3. táblázat) felhasználásával végeztem. Az előzetes vizsgálatokat 20 cm-es hasznos kapilláris hosszon, 4,9 pH-jú elektrolittal, a 6,7 mM α -PhoCD kivételével, 10 mM szelektorral végeztem. A következő szelektorokkal értem el legalább $R_s = 0,7$ értéket : α -CMCD, α -CECD α -PhoCD ($R_s = 1,4$), RAMEB, β -CMCD, β -PhoCD, γ -CMCD, γ -PhoCD. A negatív töltésű szelektorokkal 8,9 pH-jú elektrolittal is végeztem előkísérleteket a részben semleges metoprolol (pKI 9,21) enantiomerjeinek felbontására, ahol a következők mutattak királis felismerést: α -CMCD, α -PhoCD ($R_s = 1,1$), β -CMCD, β -PhoCD, γ -CMCD. Az alkil-karboxil-szubsztituált szelektorokkal 2,4 pH-jú oldatban is végeztem előkísérleteket, ahol ezek a szelektorok semleges állapotban vannak, de ilyen körülmények között csak a β -CMCD mutatott némi szelektivitást. A további módszerfejlesztést az előkísérletekben eredményes ionizálható szelektorokkal folytattam.

5.2.5.1 Kabroxilmetil-szubsztituált ciklodextrinek

Tökéletes királis felbontást, $R_s = 3,0$ értéket kaptam metoprololra 6 pH-jú elektrolitban, 20 mM α -CMCD szelektort használva. Ezen a pH értéken 20 mM α -CMCD adja a felbontóképesség maximumát [283]. A 4,9 pH-jú elektrolitban azonban a 15 mM α -CMCD koncentráció az optimális ($R_s = 1,7$).

A metoprolol elválasztása az orto és para izomerektől 15 mM α -CMCD szelektorral a legmegfelelőbb (pH 4,9). Ilyen paraméterek mellett az orto izomer mutatta a legnagyobb, $R_s = 3,2$ értéket, míg a meta és a para főtermék csak 1,6 illetve 1,7 értékeket (27. ábra). A fenti körülmények között a *terc*-butil melléktermék királis felbontása $R_s = 1,3$ volt, de csúcsai részben átfedték a metoprolol második csúcsát. Az *n*-propil melléktermék csúcsai csak $R_s = 0,8$ királis felbontást mutattak, és átlapoltak a *terc*-butil melléktermék második csúcsával. Az urea melléktermék az orto izomernél is jóval gyorsabban vándorolt, de nem mutatott királis szelektivitást. 5% metanol szerves adalék annyira lerontotta az elválasztásokat, hogy a metoprolol csúcsai keveredtek a meta melléktermékével.

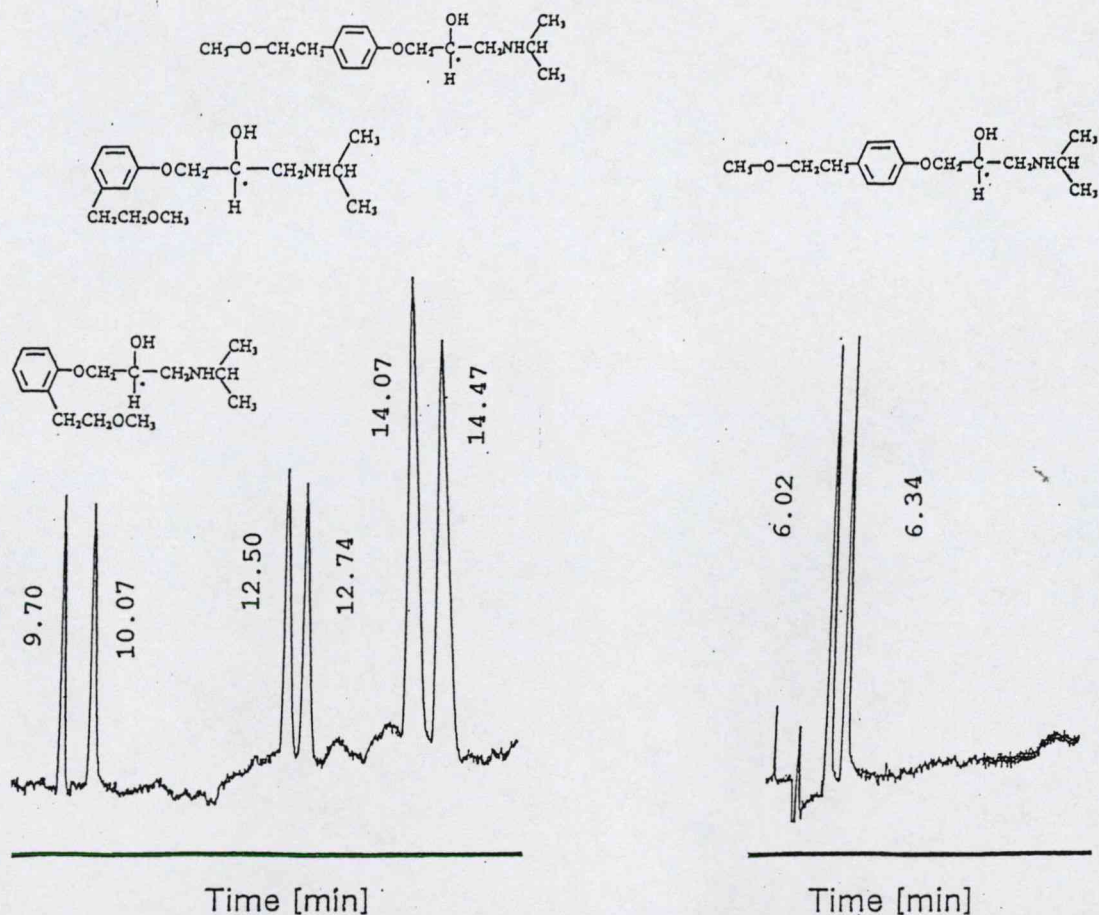
Nagyobb, 6,0 pH értéken az egyes enantiomerek felbontása nőtt, azonban 10 mM α -CMCD koncentrációnál a metoprololt, 20 mM α -CMCD koncentrációnál pedig a meta-izomer csúcsait nem lehetett kiértékelni a rendszercsúcs zavaró hatása miatt. Ezen a pH értéken a metoprolol teljesen elvált a *terc*-butil mellékterméktől, és a *terc*-butil és *n*-propil melléktermékek királis felbontása is valamit javult.

A 4 pH alatt végzett analízisek nem adtak elégséges enantiomer-szelektivitást metoprololra, míg a 7 pH feletti analízisek a metoprolol és a meta melléktermék csúcsainak átfedését eredményezte.

5.2.5.2. Ciklodextrin foszfátok

Az α -PhoCD kitűnő királis szelektor metoprololra. Az $R_s = 2,7$ értéket (15 mM α -PhoCD, pH 7,8) mindössze 13 perc analízis idő alatt tudtam elérni. A metoprololt nem lehet analizálni α -PhoCD szelektorral kisebb pH értékeken a szelektor adszorpciója miatt, ahogy ezt a 5.2.1. fejezetben részletesen tárgyaltam (19. és 20. ábra).

A gyors analízisek érdekében nem mindig törekedtem a maximális felbontás elérésére. Az ilyen feltételek mellett végrehajtott optimalizálás eredményeként hat és fél perc alatt sikerült (15 mM α -PhoCD+5% metanol, pH 8,3) $R_s = 2,3$ értéket elérni (28. ábra). Az izomerek vándorlási sorrendje *S* után *R*, ha α -PhoCD szelektort használunk.



27. ábra Metoprolol és gyártási melléktermékeinek enantiomer és egymástól való elválasztása 15 mM α -CMCD szelektorral, EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; pH, 4,9; feszültség, 25 kV [283].

28. ábra Metoprolol enantiomerjeinek optimalizált elválasztása 15 mM α -PhoCD + 5% metanol szelektorral EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C; pH, 8,3; feszültség, 20 kV [283].

A 13 mM α -PhoCD (pH 8,3) habár alapvonalig felbontotta a főterméket, de az *ortho* és a *meta* melléktermékek mindössze $R_s = 0,9$ illetve $R_s = 1,3$ értékeket mutattak. A fenti körülmények között a *terc*-butil mellékterméknek $R_s = 1,3$ volt a felbontása, de vándorlási sebessége megegyezett a főtermékével, míg az *n*-propil királis felbontása csak $R_s = 0,9$ volt, de csúcsai jól elváltak a többi vizsgált anyagtól. Az urea melléktermék csúcsainak felbontása $R_s = 1,2$ értékű volt, de vándorlási sebessége megegyezett a *meta* melléktermékével.

A γ -PhoCD is jó királis adalék metoprololra. A 15 mM γ -PhoCD+5% metanol eleggyel $R_s = 1,5$ értéket tudtam elérni (pH 4,9). A metanolnak fontos szerepe van az analízisben, mert metanol nélkül csak $R_s = 0,9$ volt azonos koncentrációjú szelektorral. A γ -PhoCD szelektorral az *R* izomer vándorlása gyorsabb az *S* izomerénél. Fontos a figyelmet

felhívni arra, hogy a metoprolol enantiomerek vándorlási sorrendje fordított α -PhoCD és γ -PhoCD királis szelektorokkal, ami lehetővé teszi bármelyik izomer 1%-nál kisebb mennyiségének pontos meghatározását.

A 10 mM γ -PhoCD (pH 4,9) használatával nem észleltem királis felismerést az orto és meta mellékterméknél, de csúcsaik vándorlási sebessége eltért a metoprololétól. A *terc*-butil vándorlási sebessége megegyezett a metoprolollal és semmi jelét nem mutatta a királis felismerésnek. Az *n*-propil melléktermék vándorlási sebessége különbözött a metoprololtól, de csak gyenge, $R_s = 0,8$ királis felbontást mutatott. Az urea melléktermék enantiomerjei alapvonal-felbontást mutattak (5 mM γ -PhoCD, pH 4,9), és jól elkülönültek a többi komponenstől. Ezen vegyületekkel elért legjobb királis felbontóképességi értékeket a 24. táblázat foglalja össze.

Végeredményben kidolgoztam azt az analízis rendszert, amellyel a metoprololt el lehet választani melléktermékeitől, és királis tisztaságát is meg lehet állapítani (20 mM α -CMCD, pH 6,0). További két analízissel az összes melléktermék mennyiségi meghatározása és enantiomerjeinek elválasztása megoldható. Megállapítottam, hogy a metoprolol enantiomerjeinek vándorlási sorrendje fordított α -PhoCD és γ -PhoCD királis szelektor használatára esetén.

24. táblázat A metoprololra és melléktermékeire elért legjobb királis felbontóképességi értékek különböző CD szelektorokkal, EKC módban [283]

Vegyület	pH	Királis szelektor		Felbontás ^a
		Koncentrációja (mM)	fajtája	
metoprolol	6,0	20	α -CMCD	3,0
orto	6,0	10	α -CMCD	4,3
meta	6,0	10	α -CMCD	1,8
<i>n</i> -propil	6,0	10	α -CMCD	0,9
<i>terc.</i> -butil	6,0	10	α -CMCD	1,4
urea	4,9	5	γ -PhoCD	1,6

^a oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C.

5.2.6. Tocainid királis analízise

A tocainid királis elválasztását a 3. táblázatban lévő 15-fajta savas és semleges CD felhasználásával vizsgáltam [281, 284]. Az előzetes vizsgálatok során 20 cm-es hatásos kapilláris hosszon 10 mM szelektort használtam 4,9 pH-jú elektrolitban. A következő szelektorokkal értem el legalább $R_s = 0,7$ értéket: α -PhoCD, β -CD, DIMEB, TRIMEB, β -CMCD, β -PhoCD, γ -CD, γ -CECD, γ -PhoCD ($R_s = 1,4$). A negatív töltésű szelektorokkal 8,9 pH-jú elektrolitban is végeztem előkísérleteket a semleges tocainid (pK_I 7,7) csúcsainak felbontására, ahol a következőkkel kaptam legalább $R_s = 0,7$ értéket: α -PhoCD, β -PhoCD, γ -PhoCD ($R_s = 1,1$). A semleges állapotú alkil-karboxil-szubsztituált szelektorokkal (pH 2,4) is végeztem előkísérleteket, de ilyen körülmények között nem tapasztaltam királis felismerést. További vizsgálatokat csak az előkísérletekben eredményes szelektorokkal folytatattam.

5.2.6.1. Ciklodextrin foszfátok

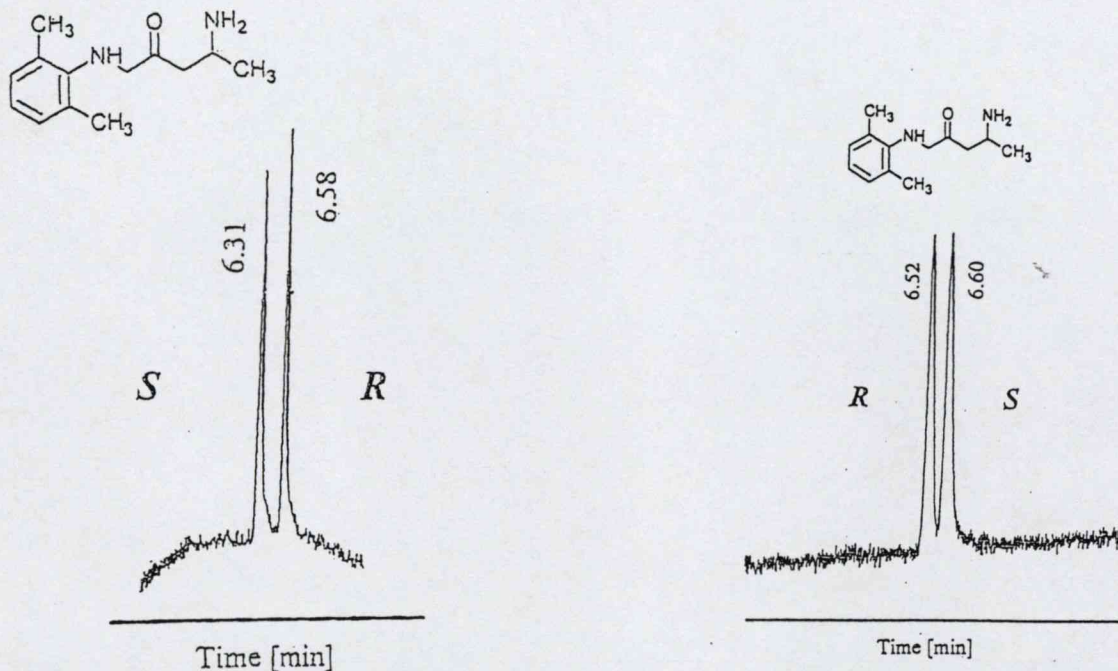
Több pH-n vizsgáltam a felbontóképesség értékeit a γ -PhoCD koncentrációjának függvényében [284]. A legjobb felbontás $R_s = 5,2$ volt (7,5 mM γ -PhoCD, pH 6,8, 29. ábra). Az enantiomerekre legalább alapvonal-felbontást lehetett elérni az összes vizsgált szelektor koncentrációval (3-20 mM), ha a tocainid ionizált állapotban van (pH 2,4-7,2). Az ionizált tocainid felbontóképességi értékeire maximumot kaptam, míg a semleges állapotú enantiomerek csúcsainak felbontása végig növekvő tendenciát mutatott a γ -PhoCD koncentrációjának függvényében.

Az *S* izomer vándorolt elsőként γ -PhoCD használatával. A γ -PhoCD ionizációs mértékének változása nem volt hatással a tocainid enantiomerjeinek elválasztására, ellentétben a disopyramiddal (5.2.4 fejezet, 18. ábra). A γ -PhoCD elválasztotta tocainid csúcsait a dezmetil melléktermékének csúcsaitól, sőt, a melléktermék enantiomerjeinek felbontása $R_s = 3,5$ érték volt (7,5 mM γ -PhoCD, pH 6,8).

Az α -PhoCD széles pH tartományban királis felismerőképességet mutatott a tocainiddal szemben, *S* után *R* vándorlási sorrenddel. Számos szelektor koncentráció és pH kombináció eredményezett alapvonal-felbontást, de a legeredményesebbnek a 40 mM koncentráció (pH 6,8) bizonyult $R_s = 1,9$ értékkel.

A tocainid csúcsait nem tudtam detektálni 2,4 pH-n, mivel a minta vándorlása elakadt az α -PhoCD adszorbeált rétegén, de nagyobb pH-n már $R_s = 1,6$ felbontást regisztráltam (15 mM α -PhoCD, pH 4,9). A gyenge kölcsönhatású tocainid analízisét ugyanis kevésbé zavarta

az α -PhoCD adszorpciója, mint az erős kölcsönhatásba lépő metoprololét (5.2.1 fejezet). A tocinid dezmetil melléktermékének csúcsai α -PhoCD szelektorról a főterméktől tökéletesen elválaszthatók, és az enantiomerek $R_s = 7,4$ értéket mutattak.



29. ábra Tocainid enantiomerjeinek elválasztása 7,5 mM γ -PhoCD szelektorról EKC módban. Körülmények: oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; pH, 6,8; hőmérséklet, 20 °C, feszültség, 30 kV [281, 284].

30. ábra Tocainid enantiomerjeinek 40 mM TRIMEB szelektorról EKC módban. Körülmények: oszlop 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C; pH, 2,4; feszültség, 30 kV [284].

5.2.6.2. Alkil-karboxil-szubsztituált ciklodextrinek

A karboxil-szubsztituált ciklodextrinek mindhárom gyűrűméretű tagja királis felismerést mutatott a tociniddal szemben. A legjobbnak közülük a γ -CMCD bizonyult $R_s = 2,7$ értékkel, míg az szelektorról csak $R_s = 1,5$ értéket értem el. A γ -CMCD és az α -CMCD ionos formája széles pH tartományban királis felismerést mutat tocinid irányában, ellentétben a szelektorok semleges formájával [284]. Érdekes volt megállapítanom, hogy a γ -CMCD és az α -CMCD más pH értéken mutatják a legnagyobb felbontóképességet. A β -CMCD szelektorról csak mérsékelt felbontást ($R_s = 0,8$) tudtam elérni.

5.2.6.3. Metil-csoporttal szubsztituált β -ciklodextrinek

A semleges szelektorok közül 30mM TRIMEB (pH 2,4) eredményezte a legjobb, felbontást ($R_s = 1,9$), amit a 30. ábra jól szemléltet. A TRIMEB egységes szerkezete miatt 300 000 fölötti tányérszámot tudtam elérni a tocinid csúcsaira. Nagyobb pH értékeken, a TRIMEB szelektivitása drasztikusan lecsökken. Az enantiomerek vándorlási sorrendje R után S volt.

A szabályosan metilezett DIMEB valamivel gyengébb felbontóképességet ($R_s = 1,6$) mutatott, mint a TRIMEB, de szelektivitási tendenciái megegyeztek a TRIMEB esetében tapasztaltakkal.

A statisztikusan metilezett RAMEB csekély, $R_s = 0,5$ felbontást eredményezett (30 mM RAMEB, pH 2,4). A különböző metilezett CD termékek szelektivitásának sorrendje (TRIMRB>DIMEB>RAMEB) a tocinidra, ami ellentétes a disopyramid esetében tapasztaltakkal

Végezetül a tocinid enantiomerjeinek alapvonal-felbontását 6 CD-származékkal is sikerült megoldanom (25. táblázat), amelyek közül a γ -PhoCD volt a legjobb. Az ionizálható szelektorok esetén a tocinid enantiomerjeinek vándorlási sorrendje R után S volt, míg a semleges, metilezett szelektoroknál a vándorlási sorrend fordított. A tocinid csúcsainak felbontására nincs hatással a γ -PhoCD ionizáltságának változása a pH 2-3 közti tartományban.

25. táblázat A tocinid enantiomerjeire elért legjobb felbontóképességi értékek különböző CD szelektorokkal, EKC módban [284]

Fajtája	Szelektor Koncentrációja (mM)	pH	Felbontás (R_s)	Vándorlási sorrend (első)
γ -PhoCD	7,5	6,8	5,2 ^a	S
γ -CMCD	30	4,0	2,7 ^b	S
TRIMEB	30	2,4	1,9 ^a	R
α -PhoCD	40	6,8	1,9 ^a	S
DIMEB	30	2,4	1,6 ^b	R
α -CMCD	30	5,0	1,5 ^b	S

^a oszlop 37 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 100 mM foszfát; hőmérséklet, 20 °C.

^b oszlop 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM britton-Robinsin; hőmérséklet, 20 °C.

5.2.7. Piretroidsavak enantiomerjeinek elválasztása

A két aszimmetria centrummal rendelkező piretroidsavak enantiomer szelektív GC [106, 263] és SFC [116, 263] analíziseivel már régóta foglalkoztam. Ezen vegyületcsoport izomerjeinek elválasztására azonban az EKC az újonnan bevezetett PMMA β CD királis szelektorral bizonyult legjobbnak [285-288].

A PMMA β CD jó oldóképessége lehetővé tette a piretroidsavak hatékony analízisét még a savak semleges formájában is. PMMA β CD egységes szerkezete (single isomer) jelentősen hozzájárult a nagyhatékonyságú analízisek eléréséhez. A *transz*-deltametrinsavra például 475 000 elméleti tányérszámot tudtam mérni (15 mM PMMA β CD, pH 9,5). A rendszer nagy hatékonysága kis szelektivitási értékek mellett is gyakran alapvonal-felbontást eredményezett. A *transz*-permetrinsav $R_s = 1,7$ értéket mutatott annak ellenére, hogy csak $\alpha_{app} = 1,0126$ volt (15 mM PMMA β CD, pH 8,5). A csúcsok tányérszáma valamivel kisebb, ha a szelektor és a minta is ionizált. Az ilyen elrendezésben 280 000 elméleti tányérral a *cisz*-permetrinsavra találtam a legkiemelkedőbb hatékonyságot (15 mM PMMA β CD, pH 7,5). Kis pH értékeken (protonált savak) a csúcsok hatékonysága mérsékelte. A *cisz*-krizantémsavra például mindössze $N = 45 000$ értéket tudtam csak mérni (15 mM PMMA β CD, pH 3,5).

A legnagyobb szelektivitási értéket $\alpha_{app} = 1,272$ ($R_s = 20,0$) a *cisz*-deltametrinsav mutatta (15 mM PMMA β CD, pH 6,5). A piretroidsavak enantiomerjeinek felbontása a pH függvényében 6.5 pH-ju elektrolitban mutatja a maximumot [286].

A királis felbontások mértéke a deltametrinsavtól a permetrinsavon át a krizantémsavig csökkent. A minták ionizált állapotában a *cisz* izomerek királis felismerése jobb, mint a *transz* izomereké. A minták semleges állapotában azonban a *transz* izomerek felbontása a jobb. Érdekes megjegyezni, hogy a piretroidsavak gázkromatográfiás (Chirasil-Dex, metil-észter-származék) elemzéseiben is a *cisz* izomerek mutatták a nagyobb szelektivitást, és a különböző savak szelektivitása deltametrinsav>permetrinsav>krizantémsav sorrendet mutatott, hasonlóan az ionizált savak EKC viselkedéséhez.

Az elektrolit 6,5 pH-ja volt optimális a különböző piretroidsavak egymástól való elválasztásában is. Más pH értékeken a különböző piretroidsavak csúcsainak átfedése volt megfigyelhető. A (+) *transz*-deltametrin sav és a (-) *cisz*-krizantémsav csúcsai 5,5 pH-n, míg (+) *cisz*-permetrinsav és a (-) *transz*-krizantémsav csúcsaival 8,5 pH-n mutattak átlapolást.

A különböző piretroidsavak vándorlását a PMMA β CD koncentrációjának függvényében szisztematikusan vizsgáltam (31. ábra). PMMA β CD nélkül a savak

értékelhetetlenül, egy csoportban vándorolnak (31./a ábra). Az egyes komponenseket külön-külön is injektáltam, hogy vándorlási tulajdonságaikról tisztább képet nyerjek. Szelektor nélkül csak a krizantémsav diaszteromerjei (*cisz-transz*) mutattak alapvonal-felbontást ($R_s = 2,6$).

A PMMA β CD 2,5 mM koncentrációja kevés ahhoz, hogy a különböző savakat elválassza egymástól, de már biztató jelek mutatkoztak (31./b ábra). A *transz*-deltametrinsav csúcsai már elválnak egymástól és a többi savtól is. Külön-külön analizálva a savakat, megállapítottam, hogy az összes diasztereomer elválik egymástól, és a *cisz*-permetrinsav valamint *cisz*-deltametrinsav enantiomerjei is alapvonal-felbontást mutattak.

A PMMA β CD koncentrációját 7,5 mM-ra növelve drasztikus javulást értem el a keverék komponenseinek elválasztásában. Csak a (-) *transz*-permetrinsav és a (\pm) *transz*-krizantémsav csúcsai nem váltak el egymástól (31./c ábra).

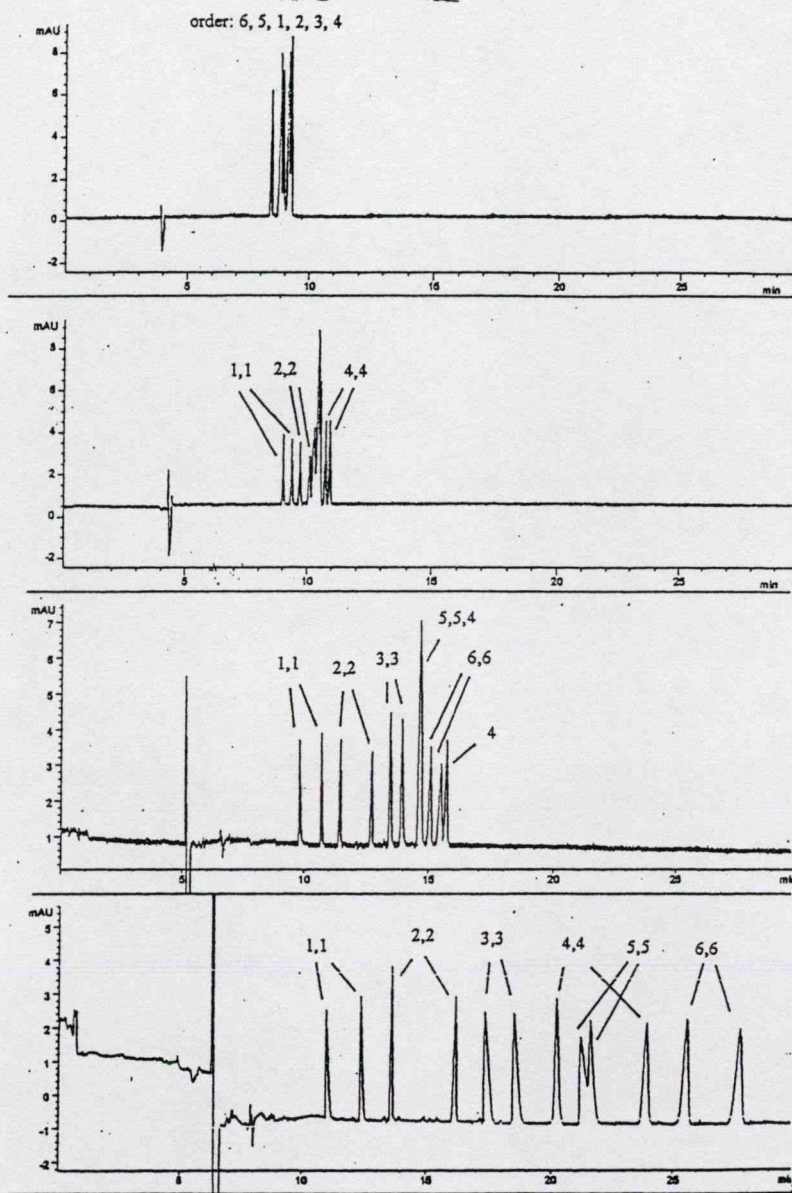
A 15 mM PMMA β CD a keverék majdnem tökéletes analizését eredményezte, csak a *transz*-krizantémsav mutatott az alapvonalnál rosszabb ($R_s = 1,1$) felbontást (31./d ábra). Figyelemre méltó, hogy a *transz*-krizantémsav csúcsai a *cisz*-permetrinsav csúcsai között

helyezkednek el az elektroferogramon. A *transz*-krizantémsav alapvonal-felbontásához 17,5 mM PMMA β CD szelektorra van szükség, de a szelektor ilyen nagy koncentrációja majdnem egy órás analízis időt igényel a keverékre.

Általában a *transz* izomerek vándorolnak elsőként a következő kivételekkel: krizantémsav (0 és 2,5 mM PMMA β CD) és deltametrinsav (0 mM PMMA β CD).

A vizsgált CD szelektorok közül a PMMA β CD bizonyult a legjobb királis szelektornak a piretroidsavakra (XXII. Táblázat). A TRIMEB a *transz*-krizantémsav kivételével az összes vizsgált piretroidsav enantiomer párját elválasztotta egymástól, de sokkal kisebb mértékben, mint a PMMA β CD. A *cisz*-krizantémsav enantiomerjeit további szelektorokon is el lehetett választani, de más piretroidsavakét gyakorlatilag nem.

Az *S* után *R* vándorlási sorrendet észleltem az összes EKC analízisekben vizsgált szelektorral. Ez a sorrend ellentétes a Chirasil-Dex állófázison GC és SFC analízisekkor tapasztalt elúciós sorrenddel. A fenti példa jól demonstrálja, hogy a megfelelően megválasztott kromatográfiai technikákkal az enantiomerek elúciós illetve migrációs sorrendjének megfordulását érhetjük el, még azonos királis felismerő mechanizmusok esetén is.



31. ábra. Piretroidsavak enantiomer és egymástól való elválasztása különböző töménységű β -PMMACD szelektorral. Körülmények: oszlop 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; hőmérséklet, 25 °C; pH, 6,5; feszültség, 30 kV; A = 0 mM β -PMMACD, B = 2,5 mM β -PMMACD, C = 7,5 mM β -PMMACD, D = 15 mM β -PMMACD [286].

26. táblázat Piretroidsavak királis felbontó képessége különböző 15 mM koncentrációjú CD szelektorokkal EKC módban [286]

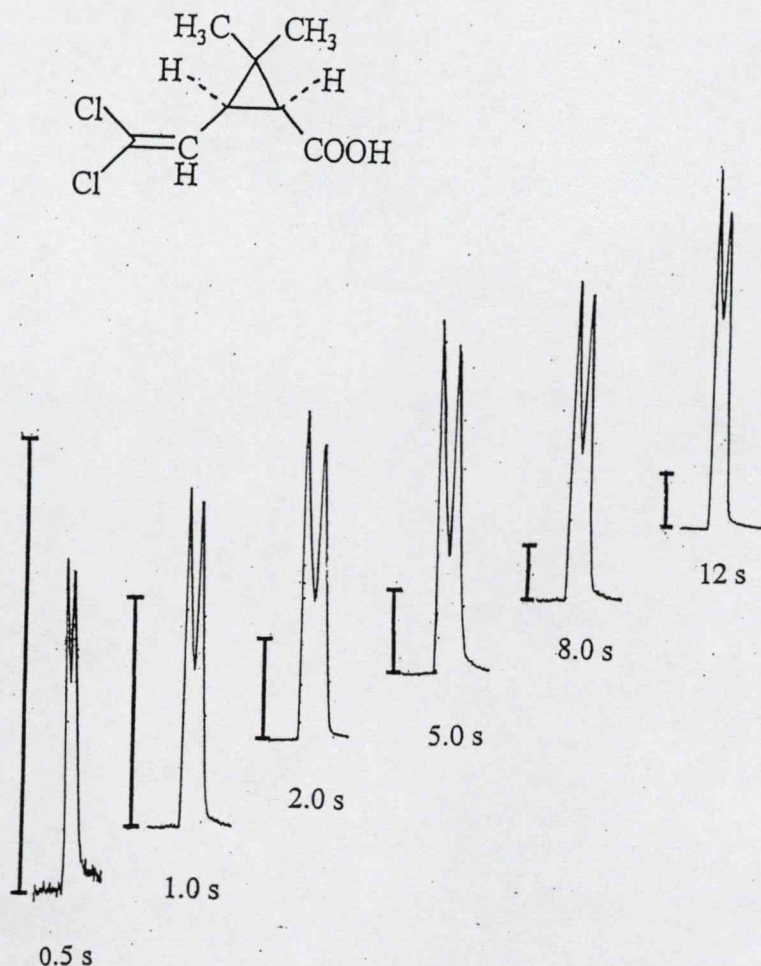
Vegyület	Felbontás ^a (R _e)			
	β-PMMACD	β-MACD	TRIMEB	DIMEB
<i>transz</i> -deltametrinsav	11,56	<0,5	3,24	<0,5
<i>cisz</i> -deltametrinsav	20	<0,5	5,64	<0,5
<i>transz</i> -permetrinsav	6,62	<0,5	1,69	<0,5
<i>cisz</i> -permmetrinsav	17,23	<0,5	2,37	<0,5
<i>transz</i> -krizantémsav	1,08	<0,5	<0,5	<0,5
<i>cisz</i> -krizantémsav	8,5	2,57	1,56	1,93

^a oszlop 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 40 mM Britton-Robinson; pH, 6,5; hőmérséklet, 20 °C [286].

Összefoglalásként elmondható, hogy az összes vizsgált piretroidsav királis és egymástól való elválasztását megoldottam PMMAβCD szelektorral. Az eredményes analízist szisztematikus optimalizálás eredményeként értem el. A GC és EKC technikával az enantiomerek elúciós illetve vándorlási sorrendje ellentétes.

5.2.8. Az injektált oldat hatása a felbontásra

Annak érdekében, hogy kiderítsem, vajon a TRIMEB mutat-e királis felismerést a piretroidsavak semleges formájával szemben, a *cisz*-permetrinsavat (pK_a = 5,32) azon a pH értéken vizsgáltam, ahol a minta molekuláinak jelentős hányada semleges állapotban van [179]. A mintasorozatok értékelésénél meglepődve tapasztaltam, hogy az injektálás időtartalmának (mintamennyiség) növekedésével az enantiomerek csúcsainak felbontása maximumot mutatott, Ez akkor következett be ha a beadagolt minta elektrolitjának koncentrációja egytizede volt a az analízishez használt elektrolit koncentrációjának [289]. A jelenség okának kiderítésére szisztematikus vizsgálatokat végeztem (27. táblázat, 37. ábra).



32. ábra. A *cis*-permetrinsav enantiomerek elválasztása különböző beadagolási idők mellett TRIMEB szelektorral, EKC módban. Körülmények: oszlop 58,5 cm x 0,05 mm FSOT; háttér elektrolit, 30 mM acetát; szelektor 5 mM TRIMEB, injektáló elektrolit, 3mM acetát + 0,5 mM TRIMEB; hőmérséklet, 25 °C; pH, 4,8; feszültség, 30 kV [286].

Megállapítottam, hogy minél alacsonyabb az elektrolit pH értéke, annál nagyobb mintamennyiségnél éri el a maximumot a felbontás, 5,5 alatti pH-n, ha injektálásra egytizedére hígított analízis elektrolitot használtam. A 5,5 feletti pH értékeken mindig a legkisebb mintamennyiség mutatta a legjobb felbontást.

A legkisebb beinjektált mennyiség mutatta a legjobb felbontást még 4,5 pH-n is, ha az beadagolási elektrolit koncentrációja megegyezett az analízishez használt elektrolittal.

A 5,8 pH-n végzett analízisekkor, 0,5 sec injektálási idővel a töményebb beadagolási elektrolittal kaptam jobb felbontást.

27. táblázat A *cisz*-permetrinsav felbontó-képesség értékei különböző pH és elektrolit koncentráció értékeken [289]

Analízis elektrolit koncentrációja (mM)		Injekciós elektrolit koncentrációja (mM)		pH	Felbontó-képesség Injekciós idő (sec)					
NaAc	TRIMEB	NaAc	TRIMEB		0.5	1	2	5	8	12
30	5	3	0.5	4.5	0.79	0.79	0.97	0.78	/	/
30	5	3	0.5	4.8	1.31	1.31	1.30	0.98	0.86	0.91
30	5	3	0.5	5.0	1.04	0.93	1.01	1.01	1.05	0.92
30	5	3	0.5	5.5	1.07	1.03	0.39	0.49	0.59	0.58
30	5	3	0.5	5.8						
30	5	3	0.5	6.0	1.04	0.71	0.61	0	0.54	0.44
30	5	3	0.5	6.2	1.40	0.69	0.64	0.53	0.55	0.54
30	5	3	0.5	6.5	0.78	0.64	0.57	0.48	0.47	0.46
30	5	5	0.5	4.5	0.79	0.75	1.04	0.73	0.24	/
30	5	30	5	4.5	0.84	0.76	0.70	/	/	/
30	5	30	5	5.0	0.63	0.71	0.70	0.51	0.48	0.39
30	5	30	5	5.5	0.80	0.75	0.62	0.52	0.46	0.36
30	5	30	5	5.8	1.42	0.97	0.58	0.41	0.36	0.29
30	5	30	5	6.0	0.82	0.65	0.58	0.47	0.40	0.33
30	5	30	5	6.2	0.65	0.50	0.44	0.29	/	/
30	5	30	5	6.5	0.79	0.62	0.54	0.42	0.36	0.30
30	10	3	1	4.5	0.69	0.73	0.98	0.80	0.75	0.72

A jelenségre a következő magyarázatot találtam: A hígított injektált elektrolit pH értékét befolyásolja a benne lévő *cisz*-permetrinsav. A mintakonzentráció (0,3 mg/ml) ugyanis azonos nagyságrendű az injektált oldat puffer koncentrációjával (3 mMol). Amennyiben ez az eltérés a háttér elektroliténál nagyobb pH értéket eredményez, akkor a felbontás bizonyos mértékig javul a mintamennyiség növelésével.

Túl nagy injektált mennyiségek már csökkent felbontást eredményeznek, mivel a pH változás nem tudja kompenzálni a széles injekciós zóna, és a túlterhelés miatti felbontás csökkenést. A pKA alatti pH értékeknél a pH eltolódása a felbontás javulását okozza, de pKA érték felett már felbontás csökkenését.

Amennyiben az injekciós és az analízisre használt elektrolit koncentrációja megegyezett, a minta pH értéket befolyásoló hatása jelentéktelen volt, ezért mindig a legkisebb injektált mennyiség adta a legjobb felbontást.

A jelenségből leszűrhető, hogy a hígított (1/10 koncentrációjú) injekciós elektrolit pH értékét a minta befolyásolhatja, ami adott esetben, a körülményektől függően javíthatja vagy ronthatja a felbontást.

.5.3. A ciklodextrinek szerepe az enantiomerszelektív elválasztásokban

A ciklodextrinek a leggyakrabban használt királis szelektorok a kapillárist használó elválasztásokban (GC, SFC, EKC) [272, 278, 279]. A ciklodextrinek eme kiemelkedő szerepe indokolja, hogy használatuk statisztikai értékelését és szelektivitásuk okát részletesen vizsgáljam [279].

Jelen fejezet anyagát három forrás képezte:

- „Chirbase” adatbázis [102], amely 110 000 analízis adataival rendelkezik, ezek közül 26 000 tartalmaz CD királis szelektorral végrehajtott elválasztást
- „CDNEWS” [103], amely 21 500 publikációt (tudományos folyóiratban megjelent közlemények, könyvek és szabadalmak) tartalmaz, közülük 2 600 foglalkozik királis elválasztással, de egyes publikációk több, akár 50 királis elválasztást is tartalmaznak
- A ciklodextrinek kutatása és használata során nyert 15 éves tapasztalatom.

5.3.1. A Ciklodextrin királis szelektorok használata

A CDNEWS évek során összegyűjtött adataiból kiderül, hogy legtöbbször EKC technikát alkalmazták a CD királis szelektort használó publikációkban. A rangsorban az EKC (1102) után a GC (860), majd az LC (650) következik, míg az SFC (65) és a TLC (34) szerepe csekély. Az évek során a technikák között hangsúlyeltolódás figyelhető meg. A 21. ábrán látható, hogy a kezdeti években a legtöbb publikáció LC módszerről szólt, később a GC, jelenleg pedig az EKC publikációké a vezető szerep.

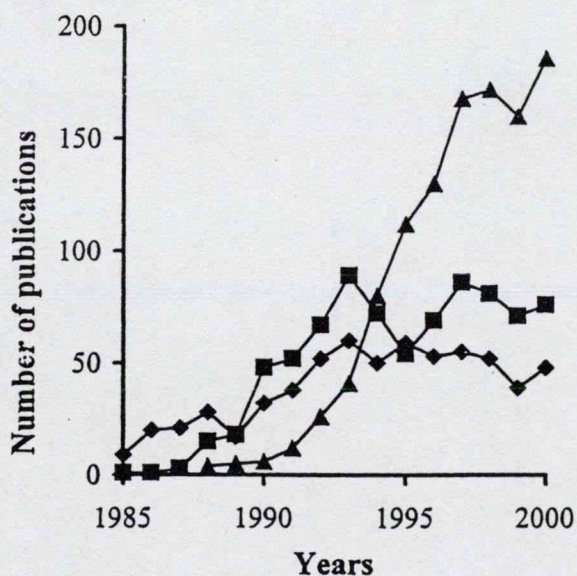
Egy enantiomer pár CD felhasználásával elért királis szelektivitási tényezője ritkán haladja meg az $\alpha = 2,0$ értéket, sőt leggyakrabban $\alpha = 1,10$ érték alatt marad. Ez a mérsékelt szelektivitás indokolja, hogy a CD alkalmazásának azokban a technikákban (EKC, GC és SFC) van hangsúlyozott szerepe, ahol nagy hatékonyságú ($N > 100\ 000$) kapilláris oszlopokat használnak. A ciklodextrinek széles körű királis felismerő képessége azonban lehetőséget kínál arra, hogy CD alkalmazásával gyorsan és jó eséllyel találjunk megoldást a királis elválasztásra. Azok a technikák amelyek mérsékelt hatékonyságúak (LC, töltetes SFC), a nagyobb szelektivitású királis szelektorokat (cellulóz, amilóz, protein) részesítik előnyben.

5.3.1.1. Gázkromatográfia

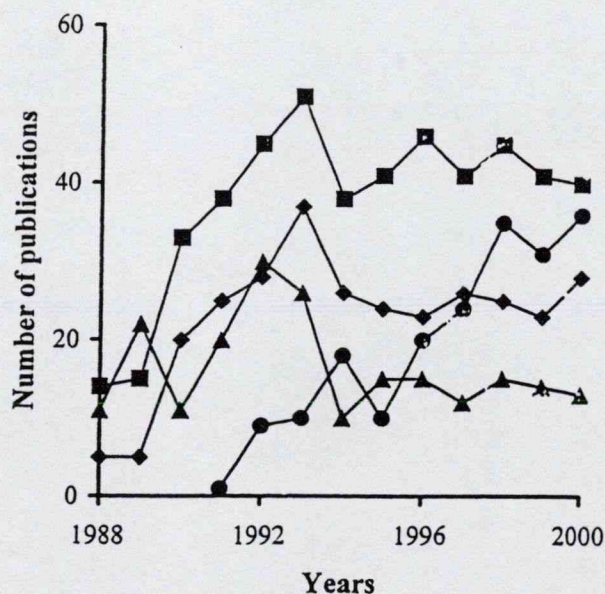
A Chirbase/GC kb. 23 000 királis elválasztást referál, amelyből több mint, 15 000 használ CD alapú szelektort.

A GC irodalom hatvanánál több CD-származék eredményes használatáról számol be. A legtöbbször használt gyűrűméret a β , amit a γ majd az α követ.

A különböző módon szubsztituált ciklodextrinek használatát évenkénti felosztásban jól szemlélteti a 22. ábra. Az alkil-szubsztituált ciklodextrinek csoportjából a 22. ábrán a permetil- β -CD adatait külön is ábrázoltam, mivel ez a szelektor mutat királis felismerést a legtöbb enantiomerrel szemben. A legtöbb, 488 publikációban a peralkil származékok szerepeltek, amelyek közül 296-ban a permetil- β -CD volt a királis szelektor. Az acil-alkil-szubsztituált CD származékokat 214 publikáció említi, amelyek közül a 2,6-dipentil-3-butiril- γ -CD a leggyakrabban alkalmazott CSP. Szilil-csoportot tartalmazó, CD tartalmú állófázisok csak 190 publikációban szerepelnek, de jelenleg az ilyen típusú szelektorok használata mutatja a legnagyobb fejlődést.



33. ábra Ciklodextrin királis szelektort használó publikációk megoszlása a fő kromatográfiai technikák között évenkénti bontásban a 1985-2000 terjedő időszakban. Szimbólumok: ▲, EKC; ■, GC; ◆, LC [279].



34. ábra Ciklodextrin királis szelektort használó gázkromatográfiai publikációk megoszlása a különbözően szubsztituált ciklodextrinek között. Szimbólumok: ■, peralkil-szubsztituált CD-k (TRIMEB-et is beleszámolva); ●, szilil-csoporttal-szubsztituált CD-k; ◆, TRIMEB; ▲, acil-alkil-szubsztituált CD-k [279].

A saját tapasztalataim és a CD származékok használatának gyakorisága alapján egy eddig még el nem választott enantiomer pár gázkromatográfiás elválasztásához sorrendben a következő szelektort tartalmazó állófázisok kipróbálását javaslom [272, 278]: permetil- β -CD (pl. Chirasil-Dex), 2,3-diacetil-6-*terc*-butil-dimetilszilil- β -CD (pl. β -DEX 225), 2,6-dipentil-3-butiril- γ -CD (pl. Hydrodex E), 2,3-dimetil-6-*terc*-butil-dimetilszilil- β -CD, végül perpentil- α -CD (pl. Hydrodex A). Természetesen az esszenciális aminosavak analizésére az aminosavtartalmú Chirasil-Val használatát ajánlom, kivéve a prolint, amelyet szintén Chirasil-Dex-en érdemes elválasztani. Sikertelen analizések esetén, mielőtt más szelektorra áttérnénk, érdemes megpróbálni akirális származékképzéssel javítani elválasztást (acetil, oxazolidin stb. származékok).

5.3.1.2. Szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia

A töltetes SFC 2650 királis elválasztása közül csak 140 használt CD alapú szelektort [102]. A kapillárist használó királis SFC 104 közleménye közül 71-ben szerepelt ciklodextrin [103]. Ezek túlnyomórészt permetil- β -CD tartalmú állófázisok voltak. A kapilláris SFC analizéshez a 10 m x 0,1 mm-es térhálósított Chirasil-Dex-szel nedvesített oszlopot lehet használni, amit a Varian cég külön kívánságra szállít [272].

4.3.1.3. Folyadékkromatográfia

Az LC gyakorlatában fokozottan érvényes, hogy a mozgófázis nagy anyagátadási ellenállása miatt lassú, nagy anyagátadási ellenállású, királis állófázisokat (cellulóz, fehérje stb.) lehet használni. Az LC 79 000 publikált királis elválasztásában legtöbbször, 33 000 alkalommal használtak poliszaharid-alapú (cellulóz, amilóz) szelektorokat [102]. A ciklodextrinek csak 5620 elválasztásnak voltak állófázisai, ami hasonló nagyságú a ligandumcserés és a Pirkle-típusú fázisok alkalmazásainak számával.

Az LC irodalmában 550 publikáció állófázisa volt CD alapú [103]. A legtöbbször (300) a natív β -CD tartalmú tölteteket használták, amelyeket a három felismerési mechanizmussal működő karbamoil-csoporttal szubsztituált CD-származékok követnek (50).

Azonban a ciklodextrinek a leggyakrabban, 200 publikációban használt királis mozgófázis adalékok [103].

Egy királis LC módszer kidolgozásánál a ciklodextrin tartalmú állófázisok közül legelőször a karbamoil szubsztituált β -CD, majd, a natív β -CD tartalmú oszlopok kipróbálása

célszerű [272]. Királis mozgófázis adalékként leginkább a metilezett ciklodextrinek javasolhatók, amelyeket a hidroxil-propil-származékok követnek.

5.3.1.4. *Elektrokinetikus kromatográfia*

Az EKC technikában az anyagátadás rendkívül gyors, és a szelektorok legtöbbször oldott állapotban vannak. A fenti tulajdonságokon túl a ciklodextrinek széleskörű királis felismerő képessége és olcsó ára indokolja, hogy ezek a legtöbbször alkalmazott királis elektrolit adalékok az EKC analízisekben. A királis elválasztásoknak több mint fele valamilyen ciklodextrint használ ezzel a technikával [17]. A különböző CD származékok használatának évenkénti alakulását jól mutatja a 23. ábra.

Több, mint 420 közlemény királis adaléka volt valamelyik natív CD, de ma már ezeket jóformán csak referenciaként vagy kombinációkban alkalmazzák. Az alkilezett származékokat (329 publikáció) -legfőképpen a metilezett altípusokat- előszeretettel használják. A metilezett származékok alkalmazása jelenleg is növekszik. Gyakran kombinálják ezeket a származékokat ionos CD-származékokkal.

Néhány évvel ezelőtt a hidroxil-alkil-származékok (231) használata széles körben elterjedt volt, de szerepük jelenleg kissé visszaszorult.

Az ionizálható CD-származékok (460) mutatják a legdinamikusabb fejlődést a királis EKC területén (23. ábra). Közülük a leggyakrabban (230) a szulfo-szubsztituált származékokat alkalmazzák. Ezeket követik (130) az alkil-karboxil-szubsztituáltak, majd a sokkal kevesebb alkalommal használt amin- vagy foszfát-csoportot tartalmazó ciklodextrinek.

Egy királis EKC módszer kidolgozásához bázikus és semleges enantiomerekre statisztikusan szubsztituált szulfo- vagy karboxi-metil- β -CD kipróbálása ajánlott, míg a savas enantiomerekhez a β -PMMACD [272]. A semleges ciklodextrinek közül a metilezett ciklodextrinnekkel érdemes először próbálkozni. [272].

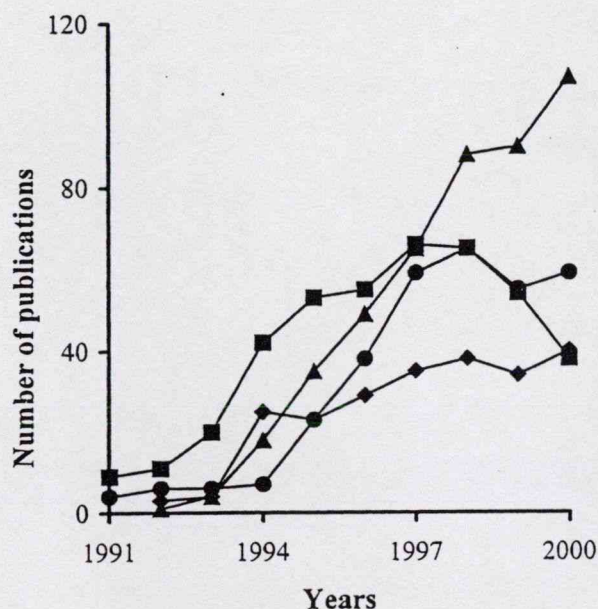
5.3.2. **A Ciklodextrinek széleskörű királis felismerésének háttere**

A ciklodextrinek széleskörű királis felismerése több forrásból ered. Minden CD-ben számos, cukoregységként öt aszimmetria centrum van. Királis szubsztituensek (hidroxil-propil, naftil-1-etil stb.) a királis centrumok számát még tovább növelik.

A CD molekulában lévő királis centrumok nem egyformák. Egy cukoregységen belül, az aszimmetria centrumok kémiai környezete különböző (primer, szekunder glikozidos hidroxidok), még a natív CD-k esetében is. Egy CD alakja, főleg a származékoké, nem

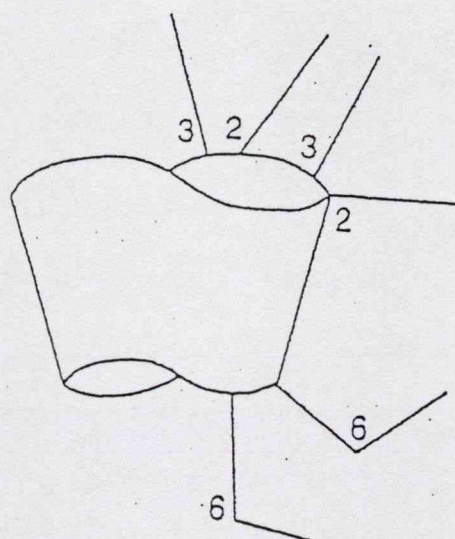
szabályos kúp, hanem csavart, torzult alakzat, változó kötэшosszakkal és kötэшzögekkel (24. ábra) [91, 278]. Az aszimmetria centrumok elrendeződése nem ismétlődik cukoregységekenként, hanem egységenként más és más a gyűrű torzulása miatt. A fentiek értelmében a β -CD 35-fajta királis felismerési hellyel rendelkezik. A cukoregységek különbözősége adja a CD szelektorok szelektivitási többletét a lineáris szaharidokhoz képest.

Egy CD molekula királis felismerési köre tovább szélesedik a CD funkciós csoportjainak helyettesítésével. A származékok szubsztituensei újabb kölcsönhatási módokat kínálnak, és a szubsztituensek térigénye tovább torzítja a CD alakját. Az acil-csoportokkal



35. ábra Ciklodextrin királis szelektort használó EKC publikációk megoszlása. Szimbólumok:

- ▲, ionizálható-csoporttal szubsztituált CD-k;
- , natív CD-k; ●, alkil- szubsztituált CD-k;
- ◆, hidroxil-alkil-szubsztituált CD-k [279].



36. ábra A származékolt ciklodextrinek csavart, torzult alakja, változó kötэшzögekkel, kötэшtávolságokkal és szubsztituensekkel. A számok a szubsztituensek pozícióját mutatják [278, 279].

szubsztituált CD megnövekedett szelektivitása az alkoholokra nézve a szelektorok fokozott hidrogén-híd akceptor képességével magyarázható. A többfajta funkciós csoporttal helyettesített CD a szubsztituenstől függően más és más kölcsönhatási módokat kínál [56, 278].

A legtöbb származék, főleg a EKC területén, statisztikusan szubsztituált termék. Ez azt jelenti, hogy ezek a származékok kémiaailag nem egységesek, hanem eltérő szubsztitúciós

fokú és szubsztituens-elrendezésű vegyületek halmazai. A halmaz tagjai különböznek egymástól királis felismerési tulajdonságaikban [233].

Egy CD királis felismerő képességét tovább bővíti, hogy alakját meg tudja változtatni a kölcsönhatásoktól függően („induced-fit” jelenség) [91]. Az indukált alakváltozás következtében a ciklodextrinek olyan enantiomerekkel is hárompontos kölcsönhatást tudnak kialakítani, amelyekkel eredeti alakjukban nem. Meg kell azonban jegyezni, hogy az „induced-fit” mechanizmus ugyanakkor csökkenti az optikai izomerek kölcsönhatási energiájának különbségét.

A ciklodextrinek flexibilis szerkezete teszi lehetővé használatukat a kis anyagátadási ellenállást igénylő elválasztásokban, azaz a nagy hatékonyságú analízisek végzését.

A CD-származékok sokféle kölcsönhatási módjuk miatt bizonyos molekulákkal szemben többfajta felismerő mechanizmust mutatnak. A többféle királis felismerési mechanizmus miatt az $\ln\alpha$ függése az $1/T$ -től nem lineáris [81, 100, 120]. A többfajta királis felismerő mechanizmus az enantiomerek elúciós sorrendjének megforduláshoz is vezethet különböző analízis hőmérsékleteken. A laktonok enantiomerjeinél azt is megfigyelték, hogy a homológ sor tagjai egymástól eltérő elúciós sorrendben kromatografálódtak, ami szintén többfajta királis felismerési mechanizmusra utal [100, 135].

A ciklodextrinek sokféle királis felismerési mechanizmusa rendkívül nehezen extrapolálhatóvá teszi az eredményeket. Sok esetben az enantiomer acetamid-származékának felcserélése trifluor-acetamid-származéokra akár az izomerek elúciós sorrendjének a megfordulást is okozhatja, ahogy azt a 5.1.1. fejezetben bemutattam [271].

A statisztikusan szubsztituált CD-származékok szelektivitása változhat a gyártótól és sarzstól függően is. Ez a bizonytalanság az utóbbi időben a szabályosan szubsztituált, egységes termékek (un. „single isomer”) bevezetését vonta maga után [225, 231, 232, 236, 285-288]. Ezek az egységes termékek azonban az enantiomerek szűkebb körével szemben mutatnak királis felismerést, mint a statisztikusan helyettesítettek.

A CD-szelektorok fokozott királis felismerést mutatnak a merevgyűrűs rendszerek irányában, ezért az enantiomerek felbontása javítható gyűrűs-származékok (oxazolidin, MTH, laktám) formájában [263, 272, 278]. Gyakran a hidrogén-híd kulcsszerepet játszik a CD királis felismerésében. Általában a királis felismerés jobb, ha a szubsztituensek α -helyzetűek a vizsgált molekula aszimmetria centrumához képest. A ciklodextrinek azonban β , γ és távolabbi szubsztituensek esetén is mutatnak királis felismerést.

Kezdetben a zárványkomplex képződést kulcs kölcsönhatásnak tartották a ciklodextrinek királis felismerő mechanizmusában. A kapilláris GC irodalmában azonban nincs olyan királis elválasztás, ahol a zárványkomplex képződés kulcsszerepe bebizonyosodott volna. A töltetes GC gyakorlatában is csak egy esetben - a formamidban oldott natív α -ciklodextrin esetében - bizonyosodott be a zárványkomplexek szerepe a királis elválasztásban [125].

A Chirasil-Dex térhálósítási kísérleteim során azt tapasztaltam, hogy a funkciós csoport nélküli α -pinén elválasztásához sem szükséges a zárványkomplex képződés [116, 279]. A túl intenzív hőkezelés során a CSP kissé pirolizálódott. Az α -pinén retenciója a pirolizálódás következtében a felére csökkent, míg a dekáné nem változott szignifikánsan. Az α -pinén retenciójának drasztikus csökkenése a zárványkomplex képződés megszűnését jelezte. Ugyanakkor a vegyület királis szelektivitási tényezője csak kis mértékben, $\alpha = 1,093$ értékről $\alpha = 1,080$ -ra csökkent, mutatva, hogy az α -pinén királis felismeréséhez nem szükséges zárványkomplex képződés.

A karbamoil-CD-származékok háromfajta (fordított fázisú, normál fázisú és poláros szerves fázisú) folyadékkromatográfiás üzemmódban egymástól eltérő királis felismerő tulajdonságokkal használhatók, ezért nehéz elképzelni, hogy mindegyikben szerepet játszik a zárványkomplex képzés. Újabbán párhuzamos NMR és EKC párhuzamos mérésekkel is bizonyították, hogy a királis felbontáshoz nincs szükség zárványkomplex képződésre [63]

A zárványkomplex képződés szükségessége ellen szól az is, hogy egyes enantiomereket mind a három gyűrűméretű CD szelektórral el tudtam választani [281, 283, 284]. A metoprolol és a disopyramid esetében a CD foszfátok, a tocaidin elválasztásánál pedig a karboxi-metil-CD mindhárom gyűrűmérete királis felismerést mutatott.

Természetesen a zárványkomplex képződés gyakran szerepel a kölcsönhatási mechanizmusok között, anélkül is, hogy kulcsszerepet töltené be királis felismerésekben.

Összefoglalva megálapítható, hogy a ciklodextrinek a legtöbbször használt királis szelektorok a nagyhatékonyságú, kapillárist használó elválasztásokban. A CD szelektort alkalmazó technikák közül az EKC fejlődik legdinamikusabban, ezen belül az ionizálható ciklodextrinet alkalmazó eljárások.

A ciklodextrinek az enantiomerek széles körével szemben mutatnak királis felismerést, ami több okra vezethető vissza. Ezek a szelektorok számos, egymástól eltérő királis

centrummal (β -CD = 35) rendelkeznek, csavart a szerkezetük és funkciós csoportjaik sem teljesen egyformák. A statisztikusan helyettesített ciklodextrinek egymástól eltérő szerkezetű molekulák halmazai, amelyekben a különböző molekuláknak egymástól eltérő a királis felismerő tulajdonsága. A ciklodextrinek indukált alakváltozásaik révén (induced-fit mechanizmus) is növelik szelektivitásuk sokszinűségét.

A felsorolt okok miatt a ciklodextrinek rendkívül sokfajta molekulával tudnak enantiomerszelektív kölcsönhatásra lépni, nem csak azokkal, amelyekkel zárványkomplexet képeznek.

6. ÖSSZEFOGLALÓ ÉRTÉKELES

Kutatásaim során sikerült 200-nál több, új, királis elválasztást végrehajtani. Ennek keretében 4, új királis állófázist (GC, SFC) és 5 új, királis elektrolit adalékot (EKC) vezettem be. Számos esetben eredményesek voltak ama törekvéseim, hogy megtaláljam a vizsgált enantiomerek legmegfelelőbb származékát az adott királis szelektor felismerő mechanizmusához. Az enantiomerek elúciós és vándorlási sorrendjének megváltoztatásának lehetőségére is súlyt helyeztem, hogy evvel a mérések mennyiségi értékelését pontosabbá tegyem. A munka során összegyűlt tapasztalatok lehetővé tették, hogy általános megállapításokat tegyek a kapilláris oszlopokon használt királis állófázisok optimális összetételéről, továbbá a ciklodextrinek szerepéről az enantiomer-szelektív elválasztásokban és királis felismerő mechanizmusáról. Amennyiben az analízisek során nem várt jelenséget tapasztaltam, akkor ezeket tüzetesen vizsgáltam és okait felderítettem. A fenti eredményekről 40-nél több közleményben és egy könyvfejezetben számoltam be.

6.1. Királis állófázisokkal elért eredmények

6.1.1. Permetilezett β -ciklodextrint tartalmazó sziloxán polimer királis állófázis (Chirasil-Dex)

- Chirasil-Dex felhasználásával 0,1 mm belső átmérőjű, nagy hatékonyságú oszlopokat készítettem GC analízisekre, amelyeket a szelektivitás kis csökkenése mellett térhálósítani tudtam SFC analízisekhez.
- A Chirasil-Dex hasznosságát több, mint 50 gyógyszer és más célú enantiomer elválasztásával igazoltam GC és SFC módban. Felderítettem a Chirasil-Dex alkalmazási körét és az egyes kromatográfiai módok használatának célszerűségét.
- Bebizonyítottam, hogy a prolin királis analízisére a Chirasil-Dex sokkal alkalmasabb, mint az aminosavak királis analízisére megszokottan alkalmazott Chirasil-Val. Megállapítottam, hogy a Chirasil-Dex fokozott királis felismerő képességet mutat az enantiomerek merev gyűrűs (MTH, oxazolidin, gyűrűs karbonát, laktám) származékaival szemben. Az MTH-származékok, azonban racemizálódnak magasabb analízis hőmérsékleten, ezért ezen származékok analízise az SFC körülményei között ajánlott. A savak szelektivitási tényezője szabad formájukban a legnagyobb. A nagyobb móltömegű savakat azonban nem lehet nagy polaritásuk és csökkent illékonyságuk miatt szabad formában gázkromatografálni, ezért analízisüket metil-észter-származék alakjában

célszerű végezni.

Az aminokat acetamid-származékok formájában érdemes analizálni az trifluor-acetamid helyett.

Az enantiomer alkoholok elválasztására pedig jobb acetát-származék, mint a trifluor-acetát.

- Jobb felbontást értem el SFC módban, ha az elemzés hőmérséklete 90-120 °C-kal alacsonyabb volt, mint GC körülmények közt. Az SFC általában szabad savak, ~200-nál nagyobb móltömegű enantiomerek és bomlékony származékok esetében bizonyult hasznos technikának.
- Az alkil-aromás amin enantiomerek vizsgálatánál felismertem, hogy az acetamid-származékok elúciós sorrendje S izomer után R, míg a trifluor-acetamid-származékoknál az elúciós sorrend fordított. Az alkil-aromás alkoholok esetében az acetát- és trifluor-acetát-származékok elúciós sorrendje azonos, S után R, de a szabad alkoholoké fordított.

6.1.2. S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamidot tartalmazó, királis állófázis (ChNEB)

- Az S-N-1-(1-naftil)-4-propiloxibenzamidot tartalmazó sziloxán polimer nagy hatásfokú királszelektív állófázisnak bizonyult GC és SFC módban. A ChNEB a jól tervezett összetétele miatt, széles hőmérséklettartományban használható (30-280 °C), és szelektivitásának csökkenése nélkül, 85%-nál nagyobb hatásfokkal térhálósítható.
- A ChNEB hasznos tulajdonságait 30 új enantiomer elválasztással bizonyítottam.
- A ChNEB bevezetésével igazoltam, hogy az LC gyakorlatában gyakran használt, Pirkle-típusú fázisok a kapilláris GC és SFC technikában is használhatóak.
- Aromás csoporttal rendelkező és hidrogén-híd kölcsönhatásra képes enantiomerek mutatják a legnagyobb királis szelektivitási tényezőt, de aliciklikus vegyületek királis felismerését is észleltem ChNEB királis állófázison. Az alkil-aromás aminok enantiomer párok acetamid-származékainak nagyobb a szelektivitási tényezője, mint a trifluor-acetamid-származékoknak, de az acetamid-származékok nagy retenciója miatt a trifluor-acetamid-származékok használata is javasolható.

Az alkil-aromás alkohol enantiomer párok elválasztására általában acetát származékok javasolt.

- Az alkil-aromás aminok enantiomer párjainak acetamid- és trifluor-acetamid-származékainál az R után S elúciós sorrendet tapasztaltam, ami ellentétes a ChDA

állófázison és a Chrasil-Dex állófázison acetát származékoknál tapasztaltakkal.

6.1.3. (1R-transz)-N,N'-1,2-ciklohexilén-biszbenzamidot-csoportot tartalmazó királis állófázis (ChDA)

- A (1R-transz)-N,N'-1,2-ciklohexilén-biszbenzamid királis csoportot és sziloxán oligomert tartalmazó blokk-kopolimerrel, nagy hatékonyságú szelektort vezettem be a GC gyakorlatába. A ChDA blokk-kopolimer jellege rávilágított arra, hogy az állófázisban a királis csoportok nem csak a polimer oldalláncában fordulhatnak elő.
- A ChDA hasznosságát 32 új enantiomer elválasztásával bizonyítottam. A ChDA fázissal nedvesített oszlop a fázis magas királis tartalma miatt GC módban alacsonyabb hőmérsékleten elveszti hatékonyságát, ezért egyes enantiomerek felbontása maximumgörbét ír le a hőmérséklet függvényében.
- A ChDA erős királis felismerőképességet mutat aromás csoportokat tartalmazó hidrogén-híd kölcsönhatásra képes enantiomerekkel szemben. A ChDA királis felismeréséhez azonban nem szükséges aromás csoport, de a mintamolekulák merev csavart szerkezete előnyös, és a hidrogén-híd kölcsönhatási lehetősége szükséges a királis felismeréséhez.
- Az alkil-aromás aminok enantiomer párjainak acetamid- és trifluor-acetamid-származékainál az S után R elúciós sorrendet tapasztaltam, ami ellentétes a ChNEB állófázison és a Chrasil-Dex állófázison trifluor-acetamid-származékoknál tapasztaltakkal.

6.1.4. Cellulóz-származékokat tartalmazó királis állófázisok

- A cellulóz alapú szelektorok közül a meta-metil-benzoil-cellulóz (MMBC), és a tribenzoil-cellulóz (TBC) királis szelektorokkal és sziloxán polimerek keverékeivel sikerült kapilláris GC és SFC analízisekre használható királis állófázisokat létrehozni. Az állófázisok gondos tervezés és kísérletezés után korlátozott működési hőmérséklettartományban nagy hatékonyságúnak és szelektívnek bizonyultak a GC gyakorlatában. A dinamikus dikumul-peroxidos térhálósítást használva, a sziloxán polimerek és cellulóz-származékok keverékei térhálósíthatóak voltak, és megfelelő fázisokat adtak kapilláris SFC céljaira. SFC üzemmódban a szuperkritikus halmazállapotú mozgófázis duzzasztó hatása miatt az állófázisok jóval alacsony hőmérsékleten is megőrizték hatékonyságukat, mint a GC esetében. A keverékek térhálósításával

bebizonyítottam, hogy nem szükséges a szelektor és a szilikon polimer kovalens kötése az állófázis térhálósításához.

- A cellulóz alapú keverék állófázisokkal sikerült 16 új, királis elválasztást végrehajtani az aromás csoportot tartalmazó enantiomerek körében.

6.1.5. Az enantiomer-szelektív állófázisok terhelhetősége

- Megállapítottam, hogy GC analízisekben a sziloxán polimert tartalmazó, királis állófázisok terhelhetősége enantiomerekre esetenként csak tíz nanogramm nagyságrendű a királis felismerő helyek korlátozott száma miatt. Az elemzések hőmérsékletének emelésével a királis oszlopok terhelhetősége csökken, és a csúcsalakok torzulása "tailingesből" "headingesbe" fordulhat át.
- Kimutattam, hogy "headinges" alaktorzulást a mozgófázis túlterhelése (egyensúlyi koncentrációhoz képest) okozza.
- Bemutattam, hogy a kis belső átmérőjű oszlopok (0,1 mm) használatával nagy mértékben növelhető az oszlopok hatékonysága, de az ilyen oszlopok, főleg a királ-szelektívek terhelhetősége kicsi.

6.1.6. Kölcsönhatási mechanizmus különbségek a GC és az SFC között a királis kromatográfiában

- Több királis állófázison kimutattam, hogy adott enantiomer pár azonos hőmérsékleten általában kisebb szelektivitási tényezőt mutat SFC módban, mint GC technikával. A szelektivitás csökkenés oka az, hogy az SFC körülményei között a szelektor és az elválasztandó molekula kölcsönhatási pontjai körül a mozgófázisból szolvátburok épül fel, amelyet meg kell törni a királ-szelektív kölcsönhatásokhoz.

6.1.7. A királis állófázisok optimális összetétele a kapilláris GC és SFC gyakorlatában

A mai követelményeknek megfelelő királis állófázisnak sziloxán polimer mátrixon kell alapulnia a szükséges hatékonyság eléréséhez. Egy jó királis szelektor összetétele különböző, részben ellentétes hatású tényezők között létrehozott kompromisszumok eredménye.

- Megállapítottam, hogy az állófázis királis tartalmának emelésével a szelektivitás és az oszlop terhelhetősége is bizonyos határig növekszik. A királis tartalom növelése azonban előbb csak az oszlop hatékonyságának mérséklődését,

majd a hatékonyság és a szelektivitás drasztikus csökkenését okozza. A nagyobb királis tartalom a minták megnövekedett retencióját és a szelektor alsó működési hőmérséklet-határának emelkedését is eredményezi.

- Kimutattam, hogy az akirális mátrix polaritásának növelése lehetőséget ad homogén, hatékony állófázisok készítésére, nagyobb királis anyagtartalommal. Az állófázis komponenseinek javulnak az oldékonysági viszonyai, ami alacsonyabb elemzési hőmérsékletet tesz lehetővé, és a poláris mátrix gyakran a poláris enantiomerek csúcshalakját is javítja. Az akirális rész polaritásának növelése azonban kisebb hatékonyságot és nagyobb retenciót okoz. A mátrix nagyobb polaritása a fázis szelektivitását is csökkenti, a mátrix és a királis felismerő helyek intenzívebb kölcsönhatása miatt.
- Megállapítottam, hogy merev királis szelektorral nagy szelektivitási tényezők érhetőek el. A merev királis szelektor viszont drasztikusan csökkenti a fázis királis felismerési körét, alsó működési hőmérséklet határának emelkedését eredményezi, és a fázissal mérsékelt hatékonyságú oszlopok készíthetők.
- Megfigyeléseim szerint, a királis szelektor kémiai kötése a sziloxán mátrixhoz széles hőmérséklettartományban működő, nagyhatékonyság elérésére alkalmas szelektorok készítésére ad lehetőséget. A kémiailag kötött állófázison elért szelektivitási tényezők nagyobbak, mint a keverék fázisokon. Ugyanakkor a kémiailag kötött állófázis készítése munkaigényes, és nagy szakértelmet kíván.
- A királis állófázisok térhálósítása lehetőséget nyújtott a SFC üzemmód alkalmazására, illetve on-column, és splitless injektálásra a GC körülményei között. A térhálósítás mellékreakciói azonban a fázison elért szelektivitási tényezők és az oszlopok hatékonyság csökkenését okozhatják.

6.2. Királis elektrokinetikus kromatográfiában elért eredmények

6.2.1. Ciklodextrin foszfátok

- A ciklodextrin foszfátokkal a bázikus enantiomerek köréből 17 új királis elválasztást oldottam meg. Gyakran 10 mM-nál kisebb koncentráció is elég volt az enantiomer párok alapvonal-felbontásához a szelektorok nagy szelektivitása miatt.

- Kimutattam, hogy a ciklodextrin foszfátok "multi-modal" szelektorok, ionizáltsági fokuktól függően megváltoztatják királis felismerő tulajdonságukat egyes enantiomerekkel (pl. a disopyramid) szemben.
- A ciklodextrin foszfátok különösen az α -PhoCD kis pH értékű elektrolitokban adszorbeálódnak az oszlop falán. Az adszorbeált α -PhoCD réteg, főleg az erős kölcsönhatású enantiomerek esetében lecsökkenti az oldatban lévő szelektor hatását, sőt a minta vándorlását is meggátolhatja. Kiderítettem, hogy a káros adszorpció megszüntethető a pH értékének növelésével, a szelektor koncentrációjának csökkentésével vagy szerves elektrolit adalékokkal.

6.2.2. Permetil-monoamino- β -ciklodextrin (β -PMMACD)

- A β -PMMACD bevezetésével nagy hatékonyságú, széleskörben alkalmazható, egységes (single izomer), királis szelektort honosítottam meg az EKC gyakorlatában. A β -PMMACD mono-amino funkciója stabil kationos EOF-t eredményez, és a permetil szubsztitúció pedig jó oldóképességet biztosít apoláris molekulák irányában.
- Felismertem, hogy a β -PMMACD kis vezetőképessége miatt 30 mM koncentrációban is alkalmazható akár 30 kV feszültséggel is jelentős Joule-féle hőtermelés nélkül. A β -PMMACD nagy szelektivitása azonban 1 mM koncentrációban is képes alapvonal-felbontásra.
- Kísérleteim során a β -PMMACD-vel 20 új enantiomer elválasztást oldottam meg. A β -PMMACD az enantiomerek széles körével szemben mutat királis felismerést, elsősorban savak irányában, de semleges és bázikus enantiomerek elválasztása is megoldható ezzel a szelektorról. A β -PMMACD ionos és semleges állapotban is királis felismerő tulajdonságokat mutat.

6.2.3. 2,3-dimetil-6-amino - β -ciklodextrin (β -HDMACD)

- A β -HDMACD szelektorról egységes, nagy királis felismerő képességű szelektort vezettem be az EKC gyakorlatába. A vizsgált koncentráció tartományban a β -HDMACD anódos, fordított, stabil EOF-t eredményezett, ami lehetőséget nyújt az enantiomer savak gyors és jól reprodukálható szétválasztására. A β -HDMACD felismerő képessége már 0,5 mM-os koncentrációban is alapvonal felbontás elérését tette lehetővé.

- Eddig több mint 10 enantiomer sav elválasztásával bizonyítottam a β -HDMACD hasznosságát a királis EKC gyakorlatában, de a szelektor tulajdonságainak megismerése, α és γ analógjainak bevezetése még folyamatban van.

6.2.4. A disopyramid királis analízise

- Disopyramid irányában 10 ciklodextrin szelektor királis felismerését tudtam kimutatni. A legjobb felbontást, $R_s = 3,0$ értéket β -CMCD szelektorral lehetett elérni, de a γ -PhoCD, és az α -CMCD szelektorok is alkalmasak voltak alapvonal felbontásra.
- Megállapítottam, hogy a metil-szubsztituált ciklodextrinek szelektivitását disopyramid irányában nagyban befolyásolta a szelektorok szubsztituens csoportjainak statisztikus vagy rendezett volta. A káboxil-metil-szubsztituált ciklodextrinek mindegyik gyűrűmérete királis felismerést mutatott a disopyramiddal szemben. A γ -PhoCD királis felismerési tulajdonságai nagyban függtek a szelektor ionizáltsági állapotától, de a nagyobb mértékben ionizált forma is királis felismerést mutat a disopyramidra nézve, habár csökkent mértékben.

6.2.5. Metoprolol enantiomerjeinek és gyártási melléktermékeinek elválasztása

- A metoprolol enantiomerje irányában 8 ciklodextrin származékkal mutatattam ki királis felismerő képességet. A metoprolol enantiomerjeire a legjobb felbontást, $R_s = 3,0$ értéket α -CMCD szelektor használatával értem el, de az α -PhoCD ($R_s = 2,7$) és , az α -PhoCD ($R_s = 1,5$) is jó szelektornak bizonyult.
- A metoprololt melléktermékeitől 20 mM α -CMCD-vel lehetett legjobb felbontással analizálni. A melléktermékek királis felbontására is az α -CMCD volt a legjobb az urea melléktermék kivételével, amire a γ -PhoCD a legalkalmasabb.
- Az α -PhoCD adszorpciója meghiusítja a metoprolol analízisét kisebb pH értékeken. Az adszorpció káros hatása teljesen kiküszöbölhető a pH növelésével, a szelektor koncentrációjának csökkentésével és szerves adalékokkal.
- Felismertem, hogy a metoprolol enantiomerek mindhárom gyűrűméretű ciklodextrin foszfáttal és karboxil-metil szubsztituált ciklodextrinokkal enantiomer-szelektív kölcsönhatásba lépnek. Az enantiomerek vándorlási sorrendje fordított az α -PhoCD és a γ -PhoCD esetében.

6.2.6. Tocainid királis analízise

- A tocinid enantiomerjeire 9 ciklodextrin származékkal értem el királis elválasztást. A legjobb felbontást (R_s : 5,2) γ -PhoCD szelektorral valósult meg. Legalább alapvonal-felbontást értem még el γ -CMCD, TRIMEB, α -PhoCD és DIMEB szelektorokkal is.
- A tocinid dezmetil melléktermékének enantiomerjeit egymástól és a főterméktől is eredményesen választottam el γ -PhoCD és α -PhoCD alkalmazásával.
- A metilezett- β -CD származékok TRIMEB>DIMEB>RAMEB szelektivitási sorrendet mutattak a tocinidre, ami ellentétes a disopyramid-nál tapasztaltakkal.
- A tocinid enantiomerjeinek vándorlási sorrendje S után R volt ionos ciklodextrinek esetében, míg a semleges, metilezett-ciklodextrinek fordított vándorlási sorrendet eredményeztek.

6.2.7. Piretroidsavak enantiomerjeinek elválasztása

- A vizsgált piretroidsavak elválasztására a β -PMMACD-t az általunk bevezetett szelektort találtam a legmegfelelőbbnek, de a TRIMEB is alkalmas volt a transz-krizantémsav kivételével.
- Optimalizált körülmények között az összes piretroidsav elválik egymástól, és az enantiomer párokra is alapvonalnál jobb felbontást lehetett elérni. A legjobb felbontást a cisz-deltametrinsav mutatta $R_s = 20,0$ értékkel.
- Az enantiomerek vándorlási sorrendje mindig S után R volt, ami ellentétes a GC körülmények (Chirasil-Dex) között mért elúciós sorrenddel.
- A piretroidsavak elválasztása során azt tapasztaltam, hogy az injektált mintamennyiség növekedésével a felbontás maximum-görbét írt le, ha a minta pKI értékénél kisebb az analízis elektrolitot pH-ja, és injekciós oldatot híg. A jelenség magyarázata, hogy a mintakomponensek is befolyásolták az injekciós oldat pH-ját. A jelenségből arra a következtetésre jutottam, hogy a hígított injekciós oldat használata nem mindig javítja a felbontást.

6.3. A ciklodextrinek szerepe enantiomer-szelektív elválasztásokban

6.3.1. A ciklodextrineket használó királis kromatográfia adatai

- Az adatbázisok vizsgálatából megállapítottam, hogy a ciklodextrinek szerepe kiemelkedő a királis analízisekben, főleg kapilláris oszlopot használó technikáknál, ahol a kis anyagátadási ellenállásnak hangsúlyozott szerepe van.
- A ciklodextrin királis szelektort használó publikációk legtöbbször EKC elválasztási módot használnak, amit a GC és az LC követ gyakoriságban.
- A királis GC gyakorlatában a leghangsúlyozottabb a ciklodextrinek szerepe.
- A ciklodextrinek szerepe töltetes a királis SFC technikában másodlagos a poliszaharidokhoz képest. A kapilláris királis SFC publikációinak túlnyomórésze azonban ciklodextrint tartalmazó szelektort használ.
- A folyadékkromatográfias királis állófázisok legtöbbször poliszaharid alapúak, de a ciklodextrin alapú állófázisok használatának nagyságrendje megegyezik a többi típusú szelektoréval. Királis mozgófázis adalékként azonban ciklodextrint használtak a legtöbb esetben.
- A királis EKC technikákban is uralkodó szerepük van a ciklodextrineknek. A királis analitikai elválasztások közül legdinamikusabban fejlődik az ionizálható ciklodextrinek használata az EKC technikában.

6.3.2. Ciklodextrinek széleskörű királis felismerőképességének magyarázata

Tapasztalataim és a szakirodalom szerint a ciklodextrinek az enantiomerek legszélesebb körével (funkció és elrendezés) szemben mutatnak királis felismerést, amire az alábbiakban leírt okokat találtam

- A ciklodextrinek számos királis centrumot tartalmaznak, amelyek számát az aszimmetria centrummal rendelkező szubsztituensek (hidroxi-propil, naftil-etil-carbamoil) tovább növelik. A cukoregységben lévő aszimmetriacentrumok nem egyformák, mindegyik más tulajdonságokkal rendelkezik, sőt a cukoregységek sem egyformák a ciklodextrinek torzult, csavart szerkezeete miatt. A ciklodextrinek királis felismerő képességét a különböző szubsztituensek tovább bővítik. A származékolt ciklodextrinek általában nem egységes termékek, hanem egymástól szubsztituáltsági fokban és a szubsztituensek elrendezésében különböző vegyületek, amelyeknek egymástól eltérőek a királis felismerő tulajdonságokban.

A ciklodextrinek (főleg a származékok) kölcsönhatásuk során változtatni tudják alakjukat az intenzív kölcsönhatás érdekében ("induced-fit"), ami még tovább szélesíti királis felismerési lehetőségeiket.

- A CD-k "multimodal" szelektorok, ugyanis a sokfajta királis kölcsönhatásuk miatt számos esetben bizonyos molekulákkal nem csak egyféle módon tudnak királis kölcsönhatásba lépni.
- A ciklodextrinek királis felismerésének kulcskölcsönhatásaként korábban a zárványkomplex képződést tartották számon. A kapilláris GC gyakorlatában azonban egyetlen egy esetben sem sikerült a zárványkomplexek kulcsszerepét bizonyítani a királis felismerésben, sőt számos esetben a zárványkomplex képződés szerepe kizárható a királis kölcsönhatások közül. Újabban az LC és EKC irodalma is említ eseteket, ahol kizárható a zárványkomplex képződés szerepe a királis felismerésben.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Kajtár M., Változatok négy elemre, Gondolat (1984).
2. Nógrádi M., Bevezetés a sztereokémiába, Műszaki Könyvkiadó (1975).
3. R.S. Chan, C.K. Prelog, V. Prelog, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 5 (1966) 385.
4. Markó L., *Természet Világa* 130 (1999) 54.
5. S. Batra, M. Seth, A.P. Bhaduri, *Chirality and future drug design*, Progress in Drug Research (Ed. E. Jucker), Birkhauser Verlag, 41 (1994) 191.
6. M. Simonyi, G. Maksay, *Stereochemical Aspects of Drug Action II: Optical Isomerism*, The practice of Medicinal Chemistry, Academic Pres Ltd. (1996).
7. S. Fabro, R.L. Schmith, R.T. Williams, *Nature* 215 (1967) 296.
8. T. W. Yao, S. Zeng, T.W. Wang, S.Q. Chen, *Biomed. Chromatogr.* 15 (2001) 9.
9. Department of Health and Human Service of the USA, Food and Drug Administration's Policy Statement for the Development of New Stereoisomeric Drugs, *Fed. Regist.* 57/ 2 May (1992) 102.
10. S.C. Stinson, *C&EN* 78/43 (2000) 55.
11. N. M. Maier, P. Franco, W. Lindne, *J. Chromatogr. A* 906 (2001) 3.
12. E. Papadopolou-Mourkidou, in J. Sherma (Ed.), *Analytical Methods for Pesticides and Plant Regulators*, Academic Press, San Diego (1988).
13. U. Klobes, W. Wetter, D. Glotz, B. Lukas, K. Skirnisson, P. Hersteinsson, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 69 (1998) 67.
14. B. Koppenhöfer, R. Behnisch, U. Epperlein, H. Holzschuh, A. Bernreuther, P. Piras, C. Roussel, *Parfumer and Flavorist* 19 (1994) 1.
15. Csapó J., Csapóné Kiss Zs., Folestad S., Tiversten A., *Élelmiszervizsgálati Közlemények* 40 (1994) 299.
16. Q3A Guidline for Industry, Impurities in New Drug Substances, ICH Steering Committee at Step 4 of ICH Process (1995).
17. S. Zaugg, W. Thormann, *J. Chromatogr. A.* 875 (2000) 27.
18. T.F. Bidleman, R.L. Falconer, *Environ. Sci. And Technol./News* (1999) 206A.
19. K. Schumacher, U. Hener, C. Patz, H. Dietrich, A. Mosandl, *Eur. Food. Technol.* 209 (1999) 12.
20. J. Csapó, Z. Henics, *Acta Agronomica Hungarica* 40 (1991) 159.
21. J. Csapó, Zs. Csapó-Kiss, L. Költő, I. Papp, *Archeometry '90*, Birkhauser Verlag (1990) 627.
22. D.M. Walba, F. Stevens, D.J. Daniel, J. Dyer, D. C. Parks, N.A. Clarck, M. D. Wand, *Enantiomer* 1 (1996) 267.
23. A. Rodger and B. Norden, *Circular Dichroism and Linear Dichroism*, University Press (1997).
24. K. Pihlaja, E. Kleinpeter, *Carbon-13 NMR Chemical Shifts in Structural and Stereochemical Analysis* Willey-VCH (1994).
25. W. Breitkrautz, C. Muhlenbrock, G. Blaschke, *J.Chromatogr. A* 875 (2000) 455.
26. G. Pócsfalvy, M. Lipták, P. Huszty, J.S. Bradshaw, R.M. Izatt, K. Vékey, *Anal. Chem.* 68 (1996) 792.
27. V. Schurig, *J. Chromatogr. A* 906 (2001) 275.
28. M.A. Nussbaum, *Electrophoresis* 20 (1999) 2664.
29. Schurig, V. *J. Chromatogr.* 441 (1988) 135.
30. G. Blaschke, B. Chankvetadze, *J. Chromatogr. A* 875 (2000) 3.
31. D. Juhelka, *HRC* 21 (1998) 145.
32. F. Prost, W. Thorman, *Electrophoresis* 22 (2001) 3270.
33. C. Ruff, K. Hörr, B. Weckerle, P. Schreiere, T. König, *HRC* 23 (2000) 357.
34. Y. Mechref, Z. El Rassi, *Anal. Chem.* 68 (1996) 1771.
35. M. Lanz, R. Brenneisen, W. Thormann, *Electrophoresis* 18 (1997) 1035.
36. W.A. König, C. Fricke, Y. Saritas, B. Momeni, G. Hochenfeld, *HRC* 20 (1997) 55.
37. A. Dietrich, B. Maas, A. Mosandl, *HRC* 18 (1995) 152.
38. B. Kurth, G. Blaschke, *Electrophoresis* 20 (1999) 555.
39. A. Amini, *Electrophoresis* 22 (2001) 3107.
40. S. Chinaka, S. Tanaka, N. Takayama, K. Komai, T. Ohshima, K. Ueda, *J. Chromatogr. B.* 749 (2000) 111.
41. G. Lai, G. Nicholson, E. Bayer, *Chromatographia* 26 (1988) 229.
42. A. Aumatell, A. Guttman, *J. Chromatogr. A* 717 (1995) 229.

43. G. Terfloh, *J. Chromatogr. A* **906** (2000) 301.
44. V. Schurig, H. Grosenick, *J. Chromatogr. A* **666** (1994) 617.
45. N. Wu, T.L. Peck, A.G. Webb, R.L. Magin, J.W. Sweedler, *Anal. Chem.* **66** (1994) 7929.
46. C.D. Tran, V.I. Grisko, G. Huang, *Anal. Chem.* **66** (1994) 2630.
47. D.A. Azevado, S. Lacorte, P. Viana, D. Barcelo, *Chromatographia* **53** (2001) 113.
48. G.A. Ross, *LC/GC Europe* **14** (2001) 45.
49. Gy. Szókán, Sz. Szarvas, Zs. Majer, D. Szabó, I. Kapovits, M. Hollósi, *J. Liq. Chromatogr.* **22** (1999) 993.
50. R.L. Grob, *Modern Practice of Gas Chromatography*, John Wiley & Sons Inc. (1995).
51. M.L. Lee, K.E. Markides, *Analytical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, Chromatography Conference Inc. (1990).
52. L. R. Sneyder, J. L. Glajch, J. J. Kirkland, *Practical HPLC Method Development*, John Wiley & Sons Inc. (1997).
53. K. D. Altria, *Capillary Electrophoresis Guidebook, Principles, Operation and Applications (methods in Molecular Biology)*, Humana Press (1996).
54. Balla József, *A gázkromatográfia analitikai alkalmazásai*, Budapest (1997).
55. W.A. König, *The Practice of Enantiomer Separation by Capillary Gas Chromatography*, Hüthig (1987).
56. W.A. König, *Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins*, Hüthig (1992).
57. T. Berger, K. Anton, *Packed Column Supercritical Fluid Chromatography*, Marcel Dekker (1997).
58. S. Allenmark, *Chromatographic Enantioseparation: Methods and Applications*, Ellis Horwood (1991).
59. G. Subramanian, *Chiral Separation Techniques, a practical approach*, Wiley, (2001).
60. Chankvetadze B. *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*, John Wiley & Sons (1997).
61. P. Petersson, K.E. Markides, *J. Chromatogr. A* **666** (1994) 381.
62. K. Verleysen, P. Sandra, *Electrophoresis* **19** (1998) 2798.
63. B. Chankvetadze, G. Blaschke, *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 309.
64. *Handbook of Derivatives for Chromatography* (Ed. K. Blau, J.M. Halket), John Wiley & Sons (1993).
65. S. Görög, M. Gazdag, *J. Chromatogr. B.* **659** (1994) 51.
66. Y. Zhou, *J. Chromatogr. B* **659** (1994) 109.
67. L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.* **10** (1972) 200.
68. V.R. Meyer, *Error Sources in Determination of Chromatographic Peak Size Ratios*, *Advances of Chromatography* **35** (1995) 383.
69. J.A. Perry, *J. Chromatogr.* **389** (1987) 57.
70. K. Yabamoto, D.F. Ingraham, W.G. Jennings, *HRC* **3** (1980) 248.
71. L. Mondello, G. Zappia, G. Errante, P. Dugo, G. Dugo, *LC/GC Europe* (2000) 495.
72. A. van Es, *High Speed Narrow Bore Capillary Gas Chromatography*, Hüthig (1992).
73. V. Schurig, *J. Chromatogr. A.* **694** (1995) 119.
74. K.D. Bartle, C.L. Woolley, K.E. Markides, M.L. Lee, R.S. Hansen, *HRC* **10** (1987) 128.
75. Gy Tolnai, Z. Horvölgyi, Z. Juvancz, G Alexander, A. Dallos, *Chromatographia* **53** (2001) 69.
76. V. Schurig, *J. Chromatogr. A* **666** (1994) 111.
77. V. Schurig, J. Ossig, R. Link, *Angew. Chem. Int. Eng.* **28** (1989) 194.
78. K. Watabe, R. Charles, E. Gil Av, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **28** (1989) 192.
79. R.J. Smith, D.R. Taylor, S.M. Wilson, *J. Chromatogr. A* **697** (1995) 591.
80. W.A. König, D. Icheln, I. Hardt, *HRC* **14** (1991) 694.
81. F. Kobor, G. Schomburg, *HRC* **16** (1994) 693.
82. B. Maas, A. Mosandl, D. T. Beck, *J. Microcol. Sep.* **7** (1995) 65.
83. M. Peterse, *J. Chromatogr.* **505** (1990) 3.
84. V. Schurig, H-P. Nowotny, *J. Chromatogr.* **441** (1988) 155.
85. I. Hardt, W.A. König, *J. Microcol. Sep.* **5** (1993) 35.
86. C.E. Dalgliesh, *J. Chem. Soc.* (1952) 3940.
87. V. R Meyer, M. Rais, *Chirality* **1** (1989) 167.
88. V. A Davankov, V. R Meyer, M. Rais, *Chirality* **2** (1990) 208.
89. W.H. Pirkle, C. G. Welsh, M.H. Hyun, *J. Chromatogr.* **607** (1992) 126.

90. M. Ács, Characteristics of systems consisting of chiral components, in *ACH-Models in Chemistry* 132, Akadémiai Kiadó (1995).
91. J. Szejtli, T. Osa (Eds), *Methods in Comprehensive Supramolecular Chemistry, Vol 3 Cyclodextrins*, Elsevier (1997).
92. S. Topiol, M. Sabio, *Enantiomer* 1 (1996) 251.
93. B. Sellergren, *J. Chromatogr. A* 906 (2001) 227.
94. W.A. König, K. Ernst, J. Vessman, *J. Chromatogr.* 294 (1984) 423.
95. O. Gyllenhaal, J. Vessman, *J. Chromatogr.* 435 (1988) 259.
96. I. Abe, H. Frank, *HRC* 6 (1983) 366.
97. D.W. Armstrong, H. L. Jing, *J. Chromatogr.* 502 (1990) 154.
98. D. W. Armstrong, K. L. Rundlett, U. B. Nair, G.L. Reidl, *Current Sep.* 15 (1996) 57.
99. B.H. Hoff, T. Anthonsen, *Chirality* 11 (1999) 760.
100. A. Mosandl, K. Rettinger, K. Fischer, V. Schubert, H-G. Schmarr, B. Maas, *HRC* 13 (1990) 382.
101. F. Kobor, K. Angermund, G. Schomburg, *HRC* 16 (1993) 299.
102. <http://chirbase.u-3mrs.fr>
103. CDNEWS database
104. E. Gil-Av, B. Feibush, R. Charles-Singer, *Tetrahedron Lett.* (1966) 1009.
105. H. Frank, G.J. Nicholson, E. Bayer, *J. Chromatogr. Sci.* 15 (1977) 174.
106. Z. Juvancz, G. Alexander, J. Szejtli, *HRC* 10 (1987) 105.
107. L.S. Blomberg, *LC/GC Europe*, 15 (2001) 106.
108. M. Jung, D. Schmalzing, V. Schurig, *J. Chromatogr.* 552 (1991) 43.
109. C. Bicchi, *J. Chromatogr. A* 666 (1994) 137.
110. V. Schurig, D. Schmalzing, U. Mühleck, M. Jung, M. Schleimer, P. Mussche, C. Duvekot, J.C. Buyten, *HRC* 13 (1990) 713.
111. M. Jung, V. Schurig, *J. Microcol. Sep.* 5 (1993) 11.
112. I. Abe, T. Nashiyama, H. Frank, *HRC* 17 (1994) 9.
113. J. Dönecke, C. Paul, W.A. König, L. Svensson, O. Gyllenhaal, J. Vessman, *J. Microcol. Sep.* 11 (1996) 495.
114. R. Brügger, Krähenbühl, A. Marti, R. Straub and H. Arm, *J. Chromatogr.* 557 (1991) 163.
115. D. W. Armstrong, Y. Tang, T. Ward, M. Nichols, *Anal. Chem.* 65 (1993) 1114.
116. V. Schurig, Z. Juvancz, G. J. Nicholson, and D. Schmalzing, *HRC* 14 (1991) 58.
117. M. Jung, V. Schurig, *HRC* 16 (1993) 289.
118. Z. Juvancz, M.A. Pulsipher, M.M. Schirmer, R. S. Johnson, K.E. Markides, J.S. Bradshaw, M.L. Lee, *J. Microcol. Sep.* 1 (1989) 309.
119. W.A. König, D. Icheln T. Runge, I. Pforr, A. Krebs, *HRC* 13 (1990) 702.
120. W.A. König, *HRC* 14 (1991) 530.
121. J. Pietruszka, D. H. Hochmuth, B. Gehrecke, D. Icheln, *Tetrahedr. Asymety* 3 (1992) 661.
122. W.A. König, R. Krebber, P. Mischnik, *HRC* 12 (1989) 732.
123. W.A. König, B. Gehrcke, *HRC* 16 (1993) 175.
124. T. Koscielski, D. Sybilska, S. Belinak, J. Jurczak, *Chromatographia* 21 (1986) 413.
125. M. Lindström, T. Norin, J. Roeraade, *J. Chromatogr.* 513 (1990) 315.
126. G. Alexander, Z. Juvancz, J. Szejtli, *HRC* 11 (1988) 110.
127. Z. Juvancz, Zs. Rácz, G. Alexander, J. Szejtli, *Proc. of 4th. Int. Symp. on Cyclodextrins, Munich* (1988).
128. W.A. König, S. Lutz, G. Wenz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 979.
129. W. Li, L. Jin, D.W. Armstrong, *J. Chromatogr.* 509 (1990) 303.
130. D.W. Armstrong, W. Li, J. Pitha, *Anal. Chem.* 62 (1990) 217.
131. A. Dietrich, B. Maas, V. Karl, P. Kreis, D. Lehmann, B. Weber, A. Mosandl, *HRC* 15 (1992) 176.
132. A. Dietrich, B. Maas, W. Medder, V. Karl, A. Kaunzinger, A. Mosandl, *HRC* 15 (1992) 590.
133. I. Hardt, W.A. König, *J. Chromatogr. A* 666 (1994) 611.
134. H.L. Jin, T.E. Beesley, *Chromatographia* 38 (1994) 595.
135. C. Bicchi, C. Balbo, A. D'Amato, V. Mazin, P. Schreier, A. Rozenblum, P. Brunerie, *HRC* 21 (1998) 103.
136. W. Blum, R. Aichholz *HRC* 13 (1990) 515.

137. S. Franke, C. Meyer, M. Specht, W. A. König, W. Francke HRC 21 (1998) 113.
138. T. Beck, J-M. Liepe, J. Nandzik, S. Rohn, A. Mosandl, HRC 23 (2000)569.
139. C. Bicchi, G. Cravotto, A. D'Amato, P. Rubiolo, A. Galli, M. Galli J. Microco. Sep. 11 (1999) 487.
140. B. Koppenhöfer, E. Bayer, in J. Chromatog. Library 32 (1985) 1.
141. H. Brückner, A. Schreiber, Biomed. Chromatogr. 15 (2001) 166.
142. M. Schleimer, V. Schurig, J. Chromatogr. 638 (1993) 85.
143. X. C. Zhou, C. Y. Wu, H. Yan, Y. Y. Chen, HRC 19 (1996) 643.
144. V. Schurig, J. Zhu, V. Mischalek, Chromatografía, 35 (1993) 237.
145. B. H. Hoff, T. Anthonsen, Chirality 11 (1999) 760.
146. M. Lindström HRC 14 (1991) 765.
147. C. Bicchi, G. Artuffo, A. D'Amato, A. Galli, M. Galli, Chirality 4 (1992) 125.
148. J. Gerhardt, G. Nicholson, H. Frank, E. Bayer, Chromatographia 19 (1984) 251.
149. E. Yashima, J. Chromatogr. A 906 (2001) 105.
150. J. Haginaka, J. Chromatogr. A 906 (2001) 253.
151. H. Dittman, W.A. König, HRC 23 (2000) 583.
152. T.L. Chester, Anal. Chem. 69 (1997) 165A.
153. Macaudière, P.; Caude, M.; Rosset, R.; Tambute, A. J. Chromatogr. Sci. 27 (1989) 583.
154. F. Gasparrini, Proc. of II. European Symp. on Analytical SFC and SFE, (1992) pp. 73.
155. J. Dönnecke, W. A. König, C. Schulze, O. Gyllenhaal, J. Vessman, HRC 17 (1994) 779.
156. Y. Shen, N. Wu, Q. Tang, Z. Chen, J.S. Bradshaw, M. L. Lee, J. Microcol. Sep. 12 (2000) 475.
157. K. Anton, J. Eppinger, L. Freerikson, E. Francotte, T.A. Berger, W.H. Wilson J. Chromatogr. A. 666 (1994) 395.
158. A. Medvedovici, P. Sandra, L. Torbio, F. David, J. Chromatogr. A 785 (1997) 159.
159. N. Bargmann-Leyder, C. Sella, D. Bauer, A. Tambute, M. Caude, Anal. Chem. 67 (1995) 952.
160. W. Stauer, M. Schindler, G. Schill, F. Erni, J. Chromatogr. 447 (1988) 287.
161. A. Salvator, E. Varesio, J.L. Veuthey, M. Dreux, Proc of 9th Int. Symp. on Cyclodextrins pp. 613, Santiago de Compostela (1998).
162. R. Brügger, H. Arm, Poster in Symp. On Chiral Discrimination, Tübingen (1992).
163. M. Villeneuve, R.J. Anderbergg, J. Chromatogr A 826 (1998) 217.
164. W.H. Pirkle, L.J. Brice, J. Terfloth, J. Chromatogr. A 753 (1996) 109.
165. R. Duval, H. Leveque, Y. Prignet, H. Y. Aboul-Enein, Biomed. Chromatogr. 15 (2001) 202.
166. I. D'Acquarica, F. Gasparrini, B. Giannoli, D. Misti, and C. Villani, G. P. Mapelli, HRC 20 (1997) 261.
167. J. Dönnecke, L. Svensson, O. Gyllenhaal, K-E., Karlsson, A. Karlsson, J. Vessam, J. Microcol. Sep. 11 (1999) 521.
168. W. Röder, F-J. Ruffig, G. Schomburg, W. H. Pirkle, HRC 10 (1987) 665.
169. P. Petersson, N. Lundell, K.E. Markides, J. Chromatogr. 623 (1992) 129.
170. P. Petersson, K.E. Markides, D.F. Johnson, B.E. Rossiter, J.S. Bradshaw, M.L. Lee, J Microcol Sep. 4 (1992) 155.
171. P. Petersson, S.L. Reese, G.Yi, H. Yun, A. Malik, J.S. Bradshaw, B.E. Rossiter, M. L. Lee, K.E. Markides, J. Chromatogr. A 684 (1994) 297.
172. J. S. Bradshaw, S.K. Aggarwal, C. A. Rouse, B. J. Tarbet, K. E. Markides, M.L. Lee, J. Chromatogr. 405 (1987) 169.
173. R. Weinberger, Practical Capillary Electrophoresis, Academic Press (1993).
174. J. Vindevogel, P.Sandra, Introduction to Micellar Electrokinetic Chromatography, Hüthig (1992).
175. G. Schulte, B. Chankvetadze, G. Blaschke, J. Chromatogr. A 771 (1997) 259.
176. F. Wang, M.G. Khaledi, J. Chromatogr. A Hjerten, S. J. Chromatogr. 347 (1985) 191. (2000) 277.
177. S. Hjerten, J. Chromatogr. 347 (1985) 191.
178. F.E. P. Mikkers, F. M. Everaerts, Th. P.E.M. Verheggen, J. Chromatogr. 169 (1979) 11.
179. R.L. Williams, Gy. Vigh, J. Chromatogr. A 730 (1996) 273.
180. A. Huang, M.J. Gordon, R. Zare, Anal. Chem. 60 (1988) 1837.
181. K. Altria, Chromatographia 35 (1993) 177.
182. S. Gard, Ph. Morin, M. Dreux, J.P. Ribet, J. Chromatogr. A. 926 (2001) 3.
183. S. Cherkaoui, S. Rudaz, E. Varesio, J-L. Veuthey, Electrophoresis 22 (2001) 3308.

184. B. Chankvatadze, N. Burjandze, G. Blaschke, *Electrophoresis* **22** (2001) 3281
185. I. S. Krull, R. L. Stevenson, K. Mistry, M. E. Swartz (Editors), *Capillary Electrochromatography and Pressurized Flow Capillary Electrochromatography*, HNB Publishing (2000).
186. K. D. Bartle, P. Myers, *J. Chromatogr. A* **916** (2001) 3.
187. R. Vespalec, P. Bocek, *Electrophoresis* **20** (1999) 2579.
188. S.A. Wren, R.C. Rowe, *J. Chromatogr.* **603** (1992) 235.
189. S. Fanali, *J.Chromatogr. A* **716** (1995) 183.
190. B.A. Williams, Gy. Vigh, *J.Chromatogr. A* **777** (1997) 295.
191. A. Rizzi, *Electrophoresis*, **22** (2001) 3079.
192. S.A. Wren, R.C. Rowe, *J. Chromatogr.* **635** (1993) 113.
193. F. Lelievre, C. Tan, R.N. Zare, *J. Chromatogr. A.* **723** (1996) 247.
194. E. Francotte, L. Brandel, M. Jung, *J. Chromatogr. A* **792** (1997) 379.
195. D. Vistuba, V. Schurig, *Electrophoresis* **20** (1999) 2779.
196. M. Girod, B. Chankvatedze, Y. Okamoto, G. Blaschke, *J. Sep. Sci.* **24** (2001) 27.
197. D. Wistuba, K. Cabrerea, V. Schurig, *Electrophoresis* **22** (2001) 2600.
198. M. Lammerhofer, F. Svec, J.M. Frechet, W. Lindner, *J. Microcol. Sep.* **12** (2001) 597.
199. Z. Chen, T. Hobo, *Electrophoresis* **22** (2001) 3339.
200. A. Amini, C. Petterson, D. Westerlund, *D. Electrophoresis* **18** (1997) 950.
201. C. Desidero, S. Fanali, *J.Chromatogr. A* **807** (1998) 37.
202. M. Hedeland, R. Isaksson, C. Petterson, *J. Chromatogr. A* **807** (1998) 297.
203. I. Bjornsdottir, S.H. Hansen, S. Terabe, *J. Chromatogr. A* **745** (1996) 37.
204. M. Jung, E. Francotte, *J. Chromatogr. A* **755** (1996) 81.
205. B. Chankvetadze, G. Pintore, N. Burjenadze, D. Bergenthal, D. Strickmann, R. Cerri, G. Blaschke, *Electrophoresis* **19** (1998) 2101.
206. T. Schmitt, H. Engelhardt, *Chromatographia* **37** (1993) 475,
207. Rizzi, A.M. Kremser, L. *Electrophoresis* **20** (1999) 2715.
208. T. Schmitt, H. Engelhardt, *J. Chromatogr. A* **697** (1995) 561.
209. K.L. Rundlett, D.W. Armstrong, *Anal. Chem.* **67** (1995) 2081.
210. S. Hjerten, *Chromatogr. Rev.* **9** (1967) 151.
211. A.B. Bergholdt, K.W. Jorgensen, I. Wendel, S.V. Lehmann, *J. Chromatogr. A* **875** (2000) 403.
212. C. Perrin, Y.V. Heyden, M. Maftouh, D.L. Massart, *Electrophoresis* **22** (2001) 3203.
213. V. Dolnik, S. Liu, S. Jovanovich, *Electrophoresis*, **21** (2000) 41.
214. Y. Deng, H. Zhang, J. Henion, *Anal. Chem.* **73** (2001) 1432.
215. S.A.C. Wren, R.C. Rowe, *J. Chromatogr.* **609** (1992) 363.
216. I. Valkó, H. Siren, H. M-L. Riekkola, *LC/GC Int.* **10** (1997) 190.
217. B. Chankvatadze, G. Blaschke *Electrophoresis* **21** (2000) 4159.
218. V. Piette, M. Fillet, W. Lindner, J. Crommen, *J.Chromatogr. A* **875** (2000) 353.
219. S. Fanali, *J. Chromatogr. A* **875** (2000) 89.
220. S. Izumoto, H. Nishi, *Electrophoresis* **20** (1999) 189.
221. B. Chankvatadze, *J. Chromatogr. A* **792** (1997) 269.
222. E.C. Rickard, R.J. Bopp, D.J. Skanchy, K.L. Chetwyn, B. Pahlen, J.F. Stobaugh, *Chirality* **8** (1996) 108.
223. M. R. Hadley, S. D. Gabriac, A. J. Hutt, *Chirality* **11** (1999) 409.
224. B. Koppenhöfer, U. Epperlein, Y. Xiaofeng, L. Bingcheng, *Electrophoresis* **18** (1997) 924.
225. H. Cai, Gy. Vigh, *J. Microcol. Sep.* **10** (1998) 293.
226. M. Wedig, U. Holzgrabe, *Electrophoresis* **20** (1999) 1555.
227. I. S. Lurie, N. G. Odenal II, T. D. McKibben, J. F. Casale, *Electrophoresis* **19** (1998) 2918.
228. A. M. Stalcup, K.H. Gahm, *Anal. Chem.* **69** (1996) 1360.
229. P. Morin, M. Dreux, S. Usse, M.C. Viaud, G. Guillaumet, *Electrophoresis* **20** (1999) 2630.
230. B. Chankvetadze, G. Endresz, G. Blaschke, *J. Chromatogr. A* **700** (1996) 43.
231. W. Zhu, Gy. Vigh, *J. Microcol Sep.* **12** (2000) 167.
232. I. Maynard, Gy. Vigh, *Electrophoresis* **22** (2001) 3152.
233. J. Szemán, G. Ganzler, A. Salgó, *J. Chromatogr.A* **728** (1996) 423.

234. H. Jakubetz, M. Juza, V. Schurig, *Electrophoresis* **18** (1997) 897.
 235. A. Bunke, T. Jira, J. Chromatogr. A **798** (1998) 275.
 236. G. Galaverna, M.C. Paganuzzi, P. Corradini, A. Dossena, R. Marchelli, *Electrophoresis* **22** (2001) 3171.
 237. M. Fillet, P. Hubert, J. Crommen, *Electrophoresis* **18** (1997) 1013.
 238. M. Fillet, B. Chankvetadze, J. Crommen, G. Blaschke, *Electrophoresis* **20** (1999) 269.
 239. D.W. Armstrong, K.L. Rundlett, G.L. Reid III, *Anal. Chem.* **66** (1994) 1690.
 240. H. Wan, L.S. Blomberg, *Electrophoresis* **18** (1997) 943.
 241. D.W. Armstrong, U.B.; Nair, *Electrophoresis* **18** (1997) 2331.
 242. K.H. Ekborg-Ott, G.A. Zientara, J.M. Schneiderheinze, K. Gahm, D. W. Armstrong, *Electrophoresis* **20** (1999) 2438.
 243. T. J. Ward, A.B. Farris, *J.Chromatogr. A* **906** (2001) 73.
 244. D.K. Lloyd, A.F. Aubry, E.J. De Lorenzi, *J. Chromatogr. A* **792** (1997) 349.
 245. É. Szökő, J. Gyimesi, Z. Szakács, M. Tarnai, *Electrophoresis* **20** (1999) 2574.
 246. Y. Mechref, Z. El Rassi, *Electrophoresis* **18** (1997) 912.
 247. A.G. Peterson, E.S. Ahuja, J.P. Foley, *J. Chromatogr. B* **683** (1996) 15.
 248. K. Verleysen, P. Sandra, *J. Microcol.Sep.* **11** (1999) 37.
 249. Z. Chen, K. Uchiyama, T. Hobo, *Electrophoresis* **22** (2001) 2136.
 250. H. Wan, L.G. Blomberg, *J. Chromatogr. Sci.* **34** (1996) 540.
 251. H. A. Bardelmeijer, H. Lingeman, C. De Ruiter, W.J.M. Underberg, *J. Chromatogr. A* **807** (1998) 3.
 252. S. Zhao, Y.-M. Liu, *Biomed. Chromatogr.* **15** (2001) 274.
 253. E. Schneiderman, A. M. Stulcap, *J. Chromatogr. B* **745** (2000) 83.
 254. H. Y. Aboul-Enein, M. I. El-Awady, C.M. Heard, P. J. Nicholls, *Biomed. Chromatogr.* **13** (1999) 531-537.
 255. L. Chimuka, N. Megersa, J. Norberg, L. Mathisasson, J. A. Jönsson, *Anal. Chem.* **70** (1998) 3906.
 256. A.P. Foucault, *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 365.
 257. M. Schulte, J. Strube, *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 399.
 258. E. C. Francotte, *J. Chromatogr. A* **906** (2001) 379.
 259. Z. Juvancz, M.A. Pulsipher, B.J. Tarbet, M.M. Schirmer, R. Scott Johnson, K.E. Markides, J.S. Bradshaw, M.L. Lee, *J. Microcol. Sep.* **1** (1989) 142.
 260. Z. Juvancz, M.M. Schirmer, D.F. Johnson, K.E. Markides, J.S. Bradshaw, M.L. Lee, *J. Microcol. Separation* **3** (1991) 349.
 261. L. Blomberg, *J. Chromatogr.* **115** (1975) 365.
 262. K. Grob, *Making and Manipulating Capillary Columns for Gas Chromatography*, Hüthig (1986).

Az irodalom jegyzék további részében azokat a kandidátusi címem megszerzése óta publikált műveket sorolom fel, amelyek a dolgozathoz kapcsolódnak. A szövegben ezek a hivatkozások félkövér számokkal szerepelnek.

263. Z. Juvancz, K. Grolimund, V. Schurig, *J. Microcol. Sep.* **5** (1993) 459.
 264. Z. Juvancz, K.E. Markides, *LC-GC International* **5/4** (1992) 44.
 265. Z. Juvancz, K. Grolimund, V. Schurig, *HRC* **16** (1993) 202.
 266. Juvancz Z., Markides K.E., *Olaj Szappan Kozmetika*, **45** (1996) 47.
 267. Cs. Kassai, Z. Juvancz, J. Bálint, E. Fogassy, D. Kozma, *Tetrahedron* **56** (2000) 8355.
 268. Cs. Kassai, J. Bálint, Z. Juvancz, E. Fogassy, D. Kozma, *Synthetic Communication* **31** (2001) 97.
 269. J. Bálint, G. Egri, M. Czugler, Z. Juvancz, J. Schindler, V. Kiss, E. Fogassy, *Tetrahedron Assymetry* (közlésre elfogadva). *pea*
 270. J. Bálint, G. Egri, V. Kiss, A. Gajáry, Z. Juvancz, E. Fogassy, *Tetrahedron. Assymetry.* (közlésre elfogadva) *kinolin*
 271. Z. Juvancz, *J. Chromatogr. A* (közlésre beküldve).

272. Z. Juvancz, G. Seres, Chiral selective chromatographic analysis, in CRC Handbook of Optical Resolutions via Diastereomeric Salt Formation, Ed. D. Kozma, CRC (2001).
273. Z. Juvancz, K.E. Markides, C.A. Rouse, K. Jones, B.J. Tarbet, J.S. Bradshaw, *Enantiomer* 3 (1998) 89.
274. Z. Juvancz, K. E. Markides, P. Petersson D.F. Johnson, B. E. Rossiter, J.S. Bradshaw, M.L. Lee, *J. Chromatogr. A.* (közlésre beküldve).
275. Z. Juvancz, K. Grolimund, E. Francotte, *Chirality* 4 (1992) 459.
276. E. Francotte, K. Grolimund, Z. Juvancz, *Chirality* 5 (1993) 232.
277. Juvancz Z. Nem publikált adat
278. Z. Juvancz, P. Petersson. *J. Microcol. Sep.* 8 (1996) 99.
279. Z. Juvancz, J. Szejtli, *Trac* (közlésre beküldve).
280. Z. Juvancz, *Cyclodextrin News* 9 (1995) 181.
281. Z. Juvancz, K.E. Markides, L. Jicsinszky, *J. Microcol. Sep.* 9 (1997) 581.
282. Z. Juvancz, K.E. Markides, L. Jicsinszky, *Electrophoresis* 18 (1997) 1002.
283. Z. Juvancz, K. E. Markides, L. Jicsinszky, *J. Microcol. Sep.* 11 (1999) 716.
284. Z. Juvancz, K.E. Markides, L. Jicsinszky, R. Iványi, *J. Microcol. Sep.* 13 (2001) 62.
285. R. Iványi, L. Jicsinszky, Z. Juvancz, *Chromatographia*, 53. (2001) 166.
286. R. Iványi, L. Jicsinszky, Z. Juvancz, *Electrophoresis*, 22 (2001) 3232-3236.
287. R. Iványi, L. Jicsinszky, Z. Juvancz, *Proc. Of 24th Int. Symp. on Cap. Chromatogr., Las Vegas* (2001).
288. R. Iványi, L. Jicsinszky, Z. Juvancz, keynote lecture on 25th Int. Symp. On Cap. Chromatogr., Riva del Garda, 2002) (beküldve).
289. Z. Juvancz, K.E. Markides, N. Roos, *J. Sep. Sci.* (közlésre beküldve).

8. ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE:

Ac	acetát
AcTBDMS- β -CD	2,3-Diacetil-6- <i>tert</i> -butil-dimetilsilil- β -CD állófázis alkotó
Bu	butil-észter
<i>s</i> Bu	<i>sec</i> -butil-észter
<i>t</i> Bu	<i>terc</i> - butil-észter
<i>c</i>	koncentráció
ChDA	(1 <i>R-transz</i>)- <i>N,N'</i> -1,2-ciklohexilén-biszbenzamid királis csoportot és ologo sziloxánt tartalmazó blokkpolimer állófázis
Chirasil-Dex	permetilezett β -CD tartalmú polisziloxán állófázis
Chirasil-Val	valin tartalmú polisziloxán állófázis
ChNEB	<i>S</i> -(1-naftil)etilamid királis csoportot tartalmazó polisziloxán állófázis?
CD	ciklodextrin
CE	kapilláris elektroforézis
CEC	kapilláris elektrokromatográfia
CP-Wax-51	poli(etilén-glikol) állófázis
CSP	enantiomer-szelektív állófázis (chiral selective stationary phase)
CTA	triacetil-cellulóz állófázis
DIMEB	szabályosan dimetilezett- β -CD
G	szabadentalpia
GC	gázkromatográfia, gázkromatográf
GLP	jó laboratóriumi gyakorlat (good laboratory practice)
EKC	elektrokinetikus kromatográfia
EOF	elektroozmotikus áramlás
FSOT	ömlesztett kvarc kapilláris, (fused silica open tubular).
H	entalpia
hkh	hasznos kapilláris hossz (effective colum length)
HPLC	nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia
<i>i</i> Pr	izopropil-észter
<i>k</i>	retenciós tényező (kapacitás arány)
<i>K</i>	egyensúlyi állandó
LC	folyadékkromatográfia

MAOT	állófázis legnagyobb megengedhető elemzési hőmérséklete (maximum allowable operation temperature)
MA- β -CD	Monoamino- β -CD
Me	metil-észter
MeTBDMS- β -CD	2,3-Dimetil-6- <i>tert</i> -butildimetilszilil- β -CD állófázis alkotó
MM	millimól
MMBC	meta-metil-benzoil-cellulóz
MS	tömegspektroszkópia, tömegspektrométer
MTH	Metil-tiohidantoin származék
N	elméleti tényérszám
N-Ac	acetamid
N-TFA	trifluor-acetamid
NMR	mágneses magrezonancia spektroszkópia
OV-1701Vi	70% metil-, 12,5% fenil-12,5% cianopropil-, 5% vinil csoportot tartalmazó polisziloxán állófázis
OV-61 OH	83% metil-, 13% difenil csoportot tartalmazó polisziloxán állófázis
OV-225	50% metil-, 25% fenil-,25% cianopropil csoportot, tartalmazó polisziloxán állófázis
PMBC,	<i>para</i> -metil benzoil cellulóz állófázis
R	egyetemes gázállandó
R _s	felbontóképesség, felbontás
RAMEB	statisztikusan dimetilezett - β -CD
S	entrópia
SE-54	95% metil- 5% vinil csoportot tartalmazó poli-sziloxán állófázis
SFC	szuperkritikus halmazállapotú kromatográfia
T	abszolult hőmérséklet
TBC	tribenzoil cellulóz állófázis
TBDMS	<i>tert</i> -butil-dimetil-szilil csoport
TFA	trifluor-acetát
TRIMEB	permetilezett- β -CD
α	szelektivitási tényező, szelektívitas
α_{app}	látszólagos szelektivitási tényező
α -CD	α -ciklodextrin

α -CMCD	karboxilmetil α -ciklodextrin
α -CECD	karboxiletil α -ciklodextrin
α -PhoCD	α -ciklodextrin poszfát
β -CD	β -ciklodextrin
β -CMCD	karboxilmetil β -ciklodextrin
β -CECD	karboxiletil β -ciklodextrin
β -PhoCD	β -ciklodextrin foszfát
β -PMMACD	permetil-monoamino- β -CD
β -HDMACD	2,3-dimetil-6-amino - β -CD
β -HPCD	(S)-(2-hidroxil)propil- β -CD
γ -CD	γ - ciklodextrin
γ -CMCD	karboxilmetil- γ -ciklodextrin
γ -CECD	karboxiletil- γ -ciklodextrin
γ -PhoCD	γ - ciklodextrin foszfát
$\Delta\Delta_{RS}G$	enantiomer pár tagjai közötti szabadenergia változás különbsége két fázis közti átmenet során
$\Delta\Delta_{RS}H,$	enantiomer pár tagjai közötti entalpia változás különbsége két fázis közti átmenet során
$\Delta\Delta_{RS}S$	enantiomer pár tagjai közötti entrópia változás különbsége két fázis közti átmenet során
$(\Delta\mu)$	mozgékonyosság különbség
	mozgékonyosság
μ_f	a minta mozgékonyága szabad állapotban
μ_c	a kölcsönhatásba lépett (diasztereomer aszociátum) minta mozgékonyága