

**POLISZACHARID ÉS CIKLOFRUKTÁN TÍPUSÚ
KIRÁLIS ÁLLÓFÁZISOK ALKALMAZÁSA
ENANTIOMEREK ELVÁLASZTÁSÁRA**

Ph.D. Értekezés

Készítette:

Aranyi Anita

Témavezetők:

Péter Antal

egyetemi tanár

Ilisz István

egyetemi docens

Kémia Doktori Iskola

Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

SZEGED

2014

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	3
1. Bevezetés	4
2. Célkitűzés	6
3. Irodalmi áttekintés	7
3.1. A kiralitás fogalma	7
3.2. Királis vegyületek elválasztása	8
3.2.1. Királis állófázisok, királis felismerés	9
3.2.2. Poliszacharid alapú kolonnák	11
3.2.3. A ciklofruktán alapú állófázisok	14
3.3. A hőmérséklet hatása a kromatográfiás elválasztásra	17
3.3.1. A van't Hoff egyenlet alkalmazása a kromatográfiában	17
3.3.2. A van't Hoff egyenlet alkalmazása a királis kromatográfiában	18
3.3.3. Királis elválasztások hőmérsékletfüggésének rövid irodalmi áttekintése	18
3.4. Vizsgált vegyületek jelentősége	21
3.4.1. Aminonaftol analógok alkalmazása, biológiai jelentősége	21
3.4.2. Különböző savamidok, amino-alkoholok valamint diamínok jelentősége	22
4. Kísérleti rész	24
4.1. Vizsgált anyagok	24
4.1.1. Poliszacharid oszlopokon vizsgált vegyületek	24
4.1.2. Ciklofruktán alapú állófázison vizsgált vegyületek	26
4.2. A felhasznált vegyszerek	27
4.3. Alkalmazott berendezések	28
4.4. Alkalmazott kolonnák	28
5. Eredmények és értékelésük	29
5.1. Poliszacharid típusú állófázisokon történő elválasztások	29
5.1.1. Két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása poliszacharid típusú állófázisokon	30
5.1.2. Egy kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása poliszacharid alapú állófázisokon	41
5.1.3. A kémiai szerkezet és a kromatográfiás viselkedés összefüggése	46
5.1.4. Különböző poliszacharid alapú kolonnák elválasztó képességének összehasonlítása	49
5.2. Ciklofruktán típusú állófázisokon történő elválasztások	52

5.2.1. Egy kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása ciklofruktán típusú állófázisokon	52
5.2.2. Savamidok, amino-alkoholok és diaminok enantiomerjeinek elválasztása ciklofruktán típusú állófázisokon	60
5.2.3. A kémiai szerkezet és kromatográfiás viselkedés összefüggése	65
5.2.4. Különböző ciklofruktán alapú kolonnák elválasztó képességének összehasonlítása	68
6. Összefoglalás	70
7. Summary	74
8. Irodalomjegyzék	77
9. Közlemények listája	81
9.1. Az értekezésben feldolgozott közlemények	81
9.2. Az értekezés témájához kapcsolódó fel nem használt közlemények	82
9.3. Poszterek	84
9.4. Előadások	85
10. Köszönetnyilvánítás	86
11. Függelék	87
11.1. A két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol analógok kromatogramjai	87
11.1.1. A 2 aminonaftol analóg c-d enantiomerek elúciós sorrendjének változása a hőmérséklet hatására	87
11.1.2. Válogatott kromatogramok	88
11.2. Az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1-naftol analógok kromatogramjai	89
11.2.1. Válogatott kromatogramok	89
11.2.2. A 10 minta kromatogramjai különböző hőmérsékleten	89
11.3. Az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1-és 2-naftol analógok kromatogramjai	90
11.4. Savamid, amino-alkohol és diamin analógok kromatogramjai	91

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

Kromatográfiás kifejezések:

HPLC: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

NPM: Normál fázisú mód

Oldószerek, vegyszerek:

AcOH: Ecetsav

BuOH: 1-Butanol

t-BuOH: 2-Metil-propán-2-ol

CF: Ciklofruktán

DEA: Dietilamin

EtOH: Etanol

HClO₄: Perklórsav

HCOOH: Hangyasav

H₂SO₄: Kénsav

H₃PO₄: Foszforsav

2-PrOH: Propán-2-ol

MeOH: Metanol

PrOH: 1-Propanol

SFC: Szuperkritikus folyadékkromatográfia

TEA: Trietilamin

TEAA: Trietilammónium-acetát

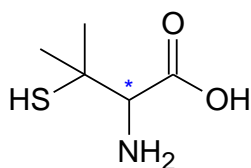
TFA: Trifluorecetsav

1. BEVEZETÉS

A természettudományok, valamint a szerves kémiai ipar rohamosan fejlődő világával lépést kell tartanunk analitikai szinten is. Az analitikai kémiai technikák változásának követése nem kis mutatvány a mai világban. Mindaz, ami tíz évvel ezelőtt még haladó módszernek számított, ma ugyan még működik, de már sokkal olcsóbban, egyszerűbben és gyorsabban is meghatározható egy-egy analitikai érték. A gyógyszergyártásban általában három markánsan elkülöníthető anyagcsoport vizsgálata hárul a minőségellenőrző laboratóriumokra: a beérkező kiindulási anyagok vagy alapanyagok, a gyártás közben képződő gyártásközi minták, valamint a végtermék analízise. A gyógyszerkönyvek és azok irányelvei viszonylag mereven szabályozzák egy-egy gyógyszerhatóanyag, vagyis a végtermék vizsgálatát, de a kiindulási vagy alapanyagok tekintetében csak a kereteket adják meg. Ezek alapján egyértelmű, hogy az alapanyag vizsgálatok analitikájában kell keresnünk azokat a területeket, ahol újabb, költségtakarékosabb módszereket tudunk bevezetni kiváltva a régi, még működő, de ráfordítás tekintetében nem éppen olcsó megoldásokat.

A mai modern analitikai kémia egyik legfontosabb feladata a királis vegyületek, különösen a biológiai és gyógyszerészeti jelentőséggel bíró anyagok enantiomerjeinek elválasztása. Az élőlényeket felépítő szerves molekulák nagyrésze királis vegyület, melyek a biológiai rendszerekben csak az egyik lehetséges enantiomerformájukban léteznek, így eltérően lépnek kölcsönhatásba a szervezetbe jutó királis gyógyszermolekulák, élelmiszer-adalékanyagok, mezőgazdasági vegyszerek, illatanyagok, stb. egyes enantiomerjeivel. Ha egy racém gyógyszermolekula a királisan szelektív élő szervezetbe kerül, annak enantiomerjei különbözhetnek a biológiai hasznosíthatóság, megoszlás, metabolizmus, kiürülés vagy a hatás típusában és mértékében.

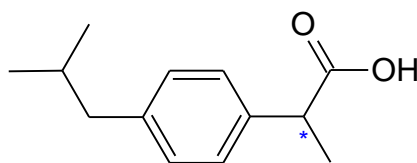
Ilyen például a penicillinamin (*S*) enantiomer formája, mely kiváló ízületi gyulladáscsökkentő hatóanyag, míg (*R*) enantiomer párja toxikus. Hasonlóképpen a Parkinson-kór kezelésénél alkalmazott Levodopa csak az (*S*) enantiomert tartalmazza, hiszen a másik enantiomer a vérben a granulociták számának csökkenését okozza.



1.ábra.

Penicillinamin

Ugyan ritka, de találunk példát olyan esetre is, ahol a 2 enantiomer hatása megegyezik. Ilyen például az ibuprofen, melynek mindkét enantiomerje gyulladáscsökkentő hatású.



2. ábra.
Ibuprofen

Érthető tehát, hogy a kiralitás a gyógyszerbiztonság szempontjából elsőrendűvé vált. Sztereoizomer keveréket gyógyszerhatóanyagként már hosszabb idő óta csak indokolt esetben lehet forgalomba hozni [Gross 1989], napjainkra pedig a szabályozás olyannyira szigorodott, hogyha racemát hatóanyagot kívánunk bevezetni, akkor mindkét enantiomerre és a racemátra is el kell végeznünk az összes klinikai és toxikológiai vizsgálatot. Így egyértelmű, hogy a racemát forgalomba hozatala többletkiadással jár, tehát a fejlesztések mára már kizárólag enantiomer tiszta vegyületek irányába folynak.

2. CÉLKITŰZÉS

Munkánk során célul tűztük ki folyadékkromatográfias módszerek fejlesztését különböző biológiai és gyógyszeripari szempontból fontos vegyületek sztereoizomerjeinek elválasztására, valamint új fejlesztésű királis kolonnák elválasztóképességének tanulmányozását modell vegyületeinkkel.

Vizsgálni kívántuk:

- ✚ két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztását módosított poliszacharid alapú állófázisokon,
- ✚ egy kiralitáscentrummal rendelkező amino-1- és 2-naftol analógok retenció mechanizmusát módosított poliszacharid oszlopokon,
- ✚ egy kiralitáscentrummal rendelkező amino-1- és 2-naftol analógok enantiomerjeinek elválasztását ciklofruktán állófázison,
- ✚ savamidok, diaminok valamint amino-alkoholok enantiomerjeinek elválasztását ciklofruktán királis szelektort tartalmazó kolonnákon.

A modellvegyületek kromatográfias paramétereinek meghatározásán keresztül vizsgálni kívántuk az eluensösszetétel és a poláris módosító (alkohol) minőségének és mennyiségének hatását az elválasztásra. A vegyületek oldalláncának változtatásával következtetéseket kívántunk levonni a szerkezet királis felismerésre gyakorolt hatására.

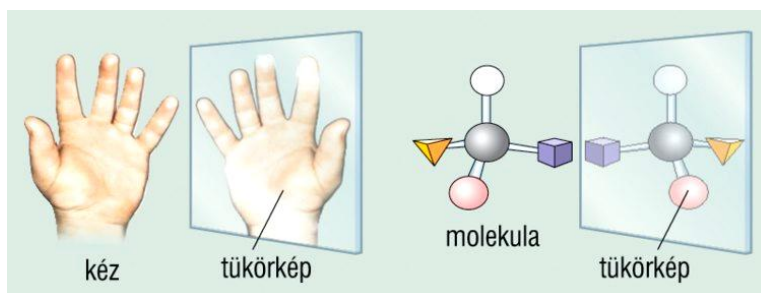
Tanulmányozni kívántuk a hőmérséklet kromatográfias paraméterekre gyakorolt hatását és ennek segítségével megfejteni az elválasztás lehetséges mechanizmusát.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A kiralitás fogalma

Bizonyos vegyületek különböző módosulatai egymásnak nem szerkezeti izomerjei, mert szerkezeti képletükben nem térnek el egymástól, de optikai aktivitásukban igen (enantiomerek, királis vegyületek). Azokat a vegyületeket nevezzük optikailag aktívoknak, amelyek a lineárisan polarizált fény síkját képesek elforgatni. Ez a jelenség közel 200 éve ismert, melyet Pasteur a szerkezet diszimetriájával hozott összefüggésbe. A poláris fény polarizációs síkját az egyik módosulat jobbra, a másik módosulat pedig balra forgatja el, miközben minden más fiziko-kémiai tulajdonságuk (mint az olvadáspont, szín, stb.) egyébként megegyezik. Közel negyed évszázad múlva a korábbi kémiai tapasztalatok nyomán van't Hoff és Le Bel a molekulák forgatóképességét összefüggésbe hozta a molekulák kiralitásával. A kiralitás szó görög eredetű – cheir – kezet jelent. A királis molekulák talán legegyszerűbb típusa, amikor a szénatomhoz (aszimetriacentrum) négy különböző atom, vagy atomcsoport kapcsolódik (**3. ábra**).

Van't Hoff ezen a területen elért munkásságáért 1901-ben az első kémiai Nobel-díjban részesült, Le Bel-ről a világ elfeledkezett, de végeredményben ez is egy formája az aszimmetriának [1].



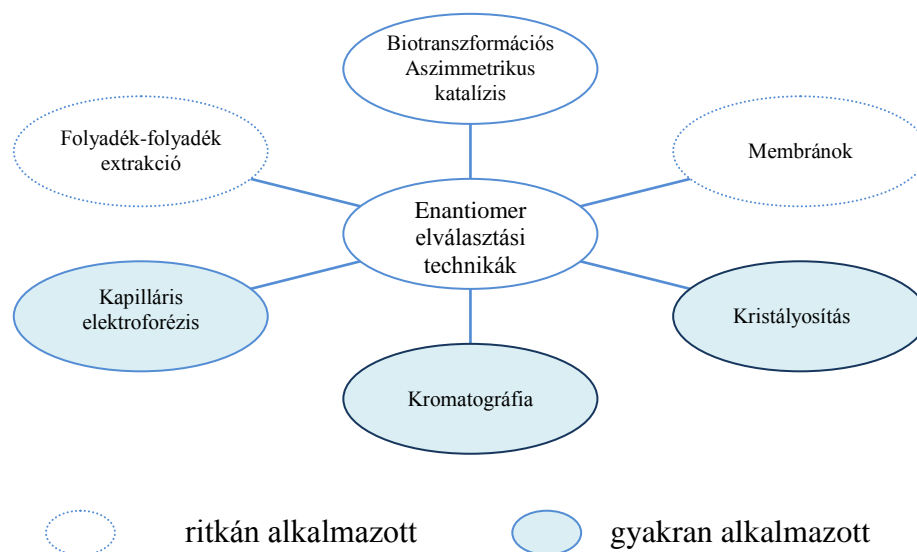
3. ábra.

Aszerint, hogy a molekula kiralitását létrehozó szerkezet elemeinek elrendeződése egy központra, egy tengelyre, egy síkra van vonatkoztatva, vagy egy csavarvonal szerint definiálható, megkülönböztetünk centrális, axiális vagy planáris kiralitást, illetve hélixszerkezetű rendszereket. A királis molekula és tükörképe egymás enantiomerjei. Két egymással enantiomer viszonyban álló molekula bruttó képlete és kémiai szerkezete azonos, atomjainak térbeli elrendeződésében különböznek egymástól. Az enantiomerek tehát izomerek, de nem szerkezeti, hanem sztereoizomerek. Ha egy vegyület több aszimmetrikus szénatomot tartalmaz, akkor lehetnek olyan párosítások, amelyek nem felelnek meg a tükörképiség kritériumainak, ezeket

diasztereomereknek nevezzük. A diasztereomerek azonban már fizikai és kémiai tulajdonságaikban is különböznek. Több, gyakorlati szempontból fontos vegyület van, amely több aszimmetriacentrummal rendelkezik. n számú aszimmetriacentrum esetén 2^n a lehetséges sztereoizomerek száma, melyek közül azok a sztereoizomerpárok, amelyekben a szerkezetileg azonos aszimmetriacentrumok megfelelő páronként összehasonlítva valamennyien ellentétes kiralitásúak, enantiomerek. Minden egyéb párosítás esetében diasztereomerek. Az olyan diasztereomer párokat, amelyek mindössze egy centrum kiralitásában különböznek, epimereknek nevezzük [2].

3.2. Királis vegyületek elválasztása

A királis vegyületek izomerjeinek elválasztására több lehetőség adódik (4. ábra). Ezek közül a kristályosítást (rezolválás), a kromatográfia különböző fajtáit, és a kapilláris elektroforézist alkalmazzák leggyakrabban.



4. ábra.

Enantiomer elválasztási lehetőségek

A folyadékkromatográfia a mozgó-, illetve az állófázisok egyszerű változtatása révén (igen sok eltérő jellegű állófázis kapható napjainkban kereskedelmi forgalomban) a királis vegyületek elemzésének leggyakrabban alkalmazott analitikai módszere. Bármilyen kromatográfias módszernél az elválasztás úgy történik, hogy a vizsgált vegyület időlegesen diasztereomer párt képez az állófázis vagy a mozgófázis optikailag aktív komponensével [2].

Munkánk során a közvetlen kromatográfias módszeren belül, királis oszlopokat (állófázist)






alkalmaztunk.

3.2.1. Királis állófázisok, királis felismerés

A királis felismeréshez vezető merev geometriájú modellt, biológiai és farmakokinetikai szempontból molekuláris szinten elsőként Bentley foglalta össze [3].

1933-ban Easson és Stedman egy szerkezeti modellt feltételezett, mellyel a királis molekulák és fehérje receptor közötti sztereoszelektív kötést próbálta megmagyarázni [4]. Ők azt állították, hogy az elválasztandó vegyület és a szelektor között három konfiguráció-függő kölcsönhatási pont létrejötte szükséges. Több feltételezés mellett, talán a mai napig ez a legmegbízhatóbb és legerősebb szemléltetés módja a királis felismerésnek, még akkor is, ha mára már tudjuk, hogy nem kell mindhárom kölcsönhatási pontnak vonzónak lennie, hiszen a vonzó és taszító kölcsönhatások egyenlő erőket képviselnek a sztereoszelektivitás kialakításában. A későbbiekben ezt Pirkle és Pochapsky úgy fogalmazta meg, hogy a három kölcsönhatási pont közül elég egynek sztereoszelektívnek lennie, ha az elég erős ahhoz, hogy kialakítsa a diasztereomer komplexet [5]. Ugyanakkor, mint tudjuk, a legtöbb kölcsönhatás többpontos, mint például a dipól-dipól vagy π - π , így ez tovább csökkenti a szükséges kölcsönhatások számát.

Hatékony kölcsönhatás valószínűsíthető meg, ha a királis szelektor és a molekulák között létezik:

-  szterikus illeszkedés – amikor a méret és a forma komplementer,
-  elektrosztatikus illeszkedés – vagyis kedvező a geometriai és térbeli orientációja a megfelelő funkciók csoportoknak,
-  hidrofób megfelelés – melynek során a hidrofób régiók térbeli helyzetének kell megfelelőnek lennie, hogy a lipofil csoportok között könnyebben kialakulhasson az intermolekuláris kölcsönhatás,
-  dinamikus illeszkedés - a komplexképzés folyamán a dinamikus és konformációs illeszkedés maximalizálja a kölcsönhatást [6-9],
-  kölcsönös telítettség - „vendég” illetve „gazda” molekula által.









Az esetek többségében tehát a kialakuló átmeneti komplex stabilitása a nem-kovalens kötések által létrehozott kölcsönhatások erősségétől függ. Ez azt is jelenti, hogy a folyadékkromatográfiás elválasztás során az álló- és mozgófázis összetevői meghatározzák azon környezet tulajdonságait, ahol a királis felismerés végbemegy. Az oldószerek specifikus módon befolyásolhatják a királis szelektor és a szerves molekula kölcsönhatását, és ezáltal a minőségét és erősségét a királis felismerési folyamatnak. Nagyobb polaritású oldószerek hatékonyan

csökkentik az elektrosztatikus kölcsönhatás erősségét, míg hidrofób kölcsönhatás esetén inkább vizes oldószereket érdemes alkalmazni.

A királis felismerés folyamata, több részből tevődik össze. Amennyiben ionos vagy ionizálható funkciós csoportokat tartalmaznak az elválasztandó molekulák, a királis szelektor és a molekula közötti kölcsönhatás kialakulásában nagy szerepet játszik a viszonylag erősebb, nagyobb hatótávolságú ionos kötés. Ez azonban valószínűbb, hogy nem sztereoszelektív kölcsönhatást alakít ki, viszont meghatározó szerepet tölthet be az enantiomerpár retenciójában. Ezzel ellentétben, a H-kötés, a π - π -kölcsönhatás vagy a dipól-dipól kölcsönhatás rövidebb hatótávolságú, megfelelő illeszkedés esetén nagyobb valószínűséggel ezek már sztereoszelektív kölcsönhatások lesznek. Bár nem feltétlenül igaz, de egy homológ soron belül gyakran megvalósul, hogy az enantioszelektivitás nő a kötés erősségével (nagy kötési energia, kicsi disszociációs állandó) [10].

Mindezekből egyértelművé válik, hogy a királis állófázist kutató és fejlesztő szakemberek igyekeznek minél több kölcsönhatás kialakítására alkalmas szelektorokat létrehozni.

A királis állófázisokat a következő főbb csoportokba sorolhatjuk:

-  ligandumcserés (Davankov-féle) állófázisok,
-  π donor- π akceptor (Pirkle-féle) állófázisok,
-  zárványkomplex képzők (ciklodextrinek, koronaéterek),
-  poliszacharid alapúak (cellulóz, amilóz),
-  fehérje alapúak,
-  makrociklusos antibiotikumok,
-  molekulalenyomat alapúak,
-  szintetikus polimer alapúak.

Munkánk során két állófázis típussal foglalkoztunk, a következőkben ezek fontosabb sajátosságait és alkalmazásait ismertetem.

3.2.2. Poliszacharid alapú kolonnák

A poliszacharid alapú kolonnák királis állófázisként történő alkalmazásának nagy hagyománya van a folyadékkromatográfiában. A mikrokristályos cellulóz-triacetát alkalmazása (MCTA) - mint váz nélküli polimer szelektor – az 1970-es évekre nyúlik vissza [11,12]. Napjainkban makropórusos szilikagélre felvitt poliszacharid származékokat használnak, amelynek jobb a mechanikai stabilitása.

A legtöbbet alkalmazott poliszacharid típusú szelektor a 3,5-dimetilfenilkarbamát, melyet lényegében Okamoto, Francotte és munkatársai fejlesztettek ki, majd a Daicel által került kereskedelmi forgalomba [13-15]. Habár több, érdekes kromatográfiás, spektroszkópai valamint molekulamodellzési tanulmányokról is beszámoltak, királis felismerési mechanizmusa még nem teljesen tisztázott [17]. Míg elsőként Hesse és Hagel [11], majd Francotte és munkatársai [16] jobbra egy illeszkedési mechanizmust feltételeztek, addig Booth és Wainer [17] egy három lépésen alapuló királis felismerési folyamatot írtak le. Eszerint az állófázis és minta közötti, nem enantioszelektív kölcsönhatások által létrehozott átmeneti komplex képződés az első lépés, majd további kölcsönhatásokkal, egy stabil komplex kialakulása a második és az enantiomerek különböző konformáció általi megkülönböztetése történik harmadik lépésként.

A poliszacharid alapú királis állófázisok optikai szelektivitása három fő szerkezeti tulajdonságból tevődik össze:

- ✚ molekuláris kiralitás: amely a glükóz csoportokon elhelyezkedő kiralitáscentrumoknak tulajdonítható,
- ✚ konformációs kiralitás: amely a szénhidrátlánc lineáris (cellulóz alapú), vagy helikális (amilóz alapú) konformációs szerkezetének tulajdonítható, és
- ✚ szupramolekuláris kiralitás: amely a szomszédos polimerláncok királis rendezettségéből adódik.

Számos nemrég megjelent közlemény, mint például folyadék- vagy szilárd fázisú NMR [18-21], molekulamodellzési, [20-23] illetve termodinamikai [22,24,25] és nem utolsósorban a szerkezet-tulajdonság kapcsolatát vizsgáló tanulmányok [17,25-27] nagyszerű közreműködői a feltételezett királis felismerési folyamatnak.

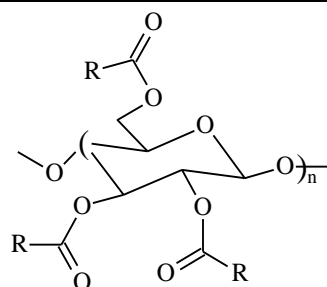
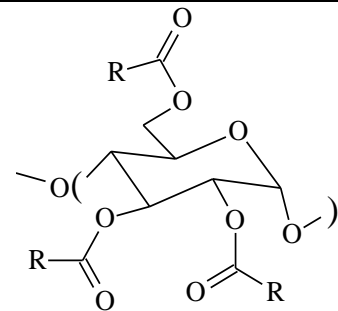
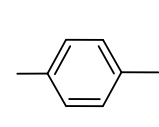
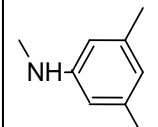
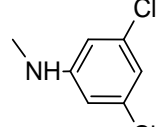
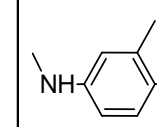
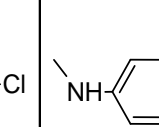
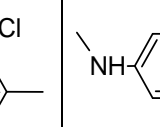
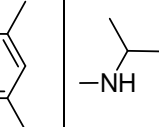
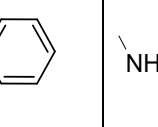
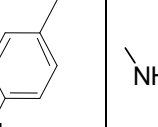
A poliszacharid állófázisok esetében az izomerekkel $\pi_{\text{sav}}-\pi_{\text{bázis}}$, dipól-dipól és hidrogénhidas kölcsönhatások alakulhatnak ki. Mindemellett fontos szerepet játszhat a nagyobb terjedelmű aromás oldalláncok szterikus hatása is. A rideg, nagy terjedelmű aromás szubsztituensek megakadályozhatják a kevésbé stabil kötést létrehozó enantiomer közeledését,

amely kivételes enantioszelektivitást eredményezhet. A fenil-csoport ugyan a polimerlánc felületén helyezkedik el, azonban a π - π kölcsönhatás kialakítása végett döntő szerepet játszhatnak a királis felismerésben. Ha az aromás részen elektronküldő, vagy elektronhiányos csoport van szubsztituensként, akkor a két aromás gyűrű között kölcsönhatás alakulhat ki. Az állófázist, amelynél elektron hiány van, nevezhetjük az általános sav-bázis elmélet értelmében Lewis savnak, amelynél az elektronsűrűség megnövekszik Lewis bázisnak. A vizsgálandó vegyületeknél általában az aromás gyűrű vagy elektron hiányos vagy elektron többlete van, ez az alapja, hogy egy elektron hiányos aromás rész és egy elektron többlettel rendelkező enantiomer között $\pi_{\text{sav}}-\pi_{\text{bázis}}$ kölcsönhatás alakulhat ki. Továbbá fontos szerepet tölt be a poláris karbamát-csoport, mely a hidrogén-híd kötés illetve a dipól-dipól kölcsönhatás kialakítását teszi lehetővé. Ezen kölcsönhatások stabilizálják a molekula-szelektor komplexet, illetve erősítik a π - π kölcsönhatást. A poliszacharid állófázisoknak fent említett általános kötésmechanizmusát IR és NMR mérések támasztják alá [7].

Az **1. Táblázatban** látható, hogy a glükóz egységek három szénatomjának OH-csoportját módosítva, különböző kölcsönhatásra alkalmas észter és karbamát csoportok építhetők be a molekulába. A Chiralcell OD szabadalmi lejárata után, egy piaci verseny alakult ki az ugyanazon szelektorral rendelkező kolonnák gyártásában. Ez Beesley [28] szerint a klónok éve volt, melyet az **1. Táblázat** lábjegyzetében látható különböző gyártók is bizonyítanak. Ezek a fázisok a hordozó szilikagél minőségében, az amilóz és cellulóz lánc polimerizációs fokában, és az állófázishoz való rögzítés módjában jelentősen különbözhetnek egymástól, ezért szelektivitásukban is lényeges különbségek jelentkezhetnek.

Ha a polimerek csak fizikailag kötődtek az állófázis felületén, akkor a hordozóról való lemosás lehetősége miatt nem alkalmazható bármely, a HPLC technikánál kedvelt oldószer. Ebből kifolyólag jelentős előrehaladást eredményezett a kémiaiilag kötött poliszacharid fázisok bevezetése. 2004-ben a Daicel, Chiralpak IB néven hozta forgalomba első 3,5-dimetilfenilkarbamát szelektort tartalmazó poliszacharid állófázisát, ahol a szelektor már kovalensen kötött az állófázishoz egy fotokémiai folyamat során. Erre az úgynevezett immobilizált állófázisra már nincs oldószer korlátozás, így lehetővé teszi a mozgófázisként szóba jöhető oldószerek kiterjesztését az úgynevezett nem-standard (például a diklórmétán, kloroform, tetrahidrofurán, dioxán, stb.) oldószerekre is. Érdemes továbbá megemlíteni, hogy ezek a fázisok manapság *fordított fázisú* rendszerként is alkalmazhatók, azonban tudnunk kell, hogy a fázisok közötti váltással némi hatékonyság csökkenés következhet be.

1. Táblázat. Amilóz és cellulóz alapú kolonnák szerkezete.

Polimer lánc									
Szelektor szerkezete (R)									
Szelektor elnevezése	cellulóz <i>trisz</i> -(4-metilbenzol)	cellulóz <i>trisz</i> -(3,5-dimetilfenil karbamát)	cellulóz <i>trisz</i> -(3,5-diklorofenil karbamát)	cellulóz <i>trisz</i> -(4-klór-3-metilfenil karbamát)	cellulóz <i>trisz</i> -(3-klór-4-metilfenil karbamát)	amilóz <i>trisz</i> -(3,5-dimetilfenil karbamát)	amilóz <i>trisz</i> -(metilbenzil karbamát)	amilóz <i>trisz</i> -(2-klór-5-metilfenil karbamát)	amilóz <i>trisz</i> -(5-klór-2-metilfenil karbamát)
Kereskedelmi név	a	b	c	d	e	f	g	h	i

a, Chiralcel OJ; Lux Cellulose-3 *b*, Chiralcel OD, Kromasil CelluCoat, Lux Cellulose-1, RegisCell, Nucleocel Delta, Eurocel 01; *c*, Chiralpak IC; *d*, Chiralcel OZ; Lux Cellulose-4; *e*, Lux Cellulose-2; *f*, Chiralpak AD, Kromasil AmyCoat, RegisPack, Nucleocel Alpha, Europak 01, Chiralpak IA., *g*, Chiralpak AS; *h*, Chiralpak AY; *i*, Lux Amylose-2; A Chiralcel és Chiralpak a Daicel (Chiral Technologies, Europe), a Kromasil az EKA Nobel, a RegisCell és RegisPack a Regis Technologies, a Lux a Phenomenex kolonnák kereskedelmi neve.

3.2.3. A ciklofruktán alapú állófázisok

A makrociklusos oligoszacharidok családjának legismertebb képviselői a ciklodextrinek, amelyek kitüntetett szerepet foglalnak el a királis elválasztástechnikában. Ugyanezen vegyületcsoportba tartozván viszonylag kis csoportot képeznek a ciklofruktánok (CF), amelyek azonban szerkezetükben és viselkedésükben is jelentősen különböznek [29].

A ciklofruktánok iránt Kawamura és Uchiyama 1989-ben közölt cikke nyomán nőtt meg az érdeklődés [30]. Azóta ezek a vegyületek számos területen kerültek felhasználásra, így például az élelmiszeriparban, ahol a termékek fagyasztása során használt adalékok, barnulást gátló szerek, keserűség szabályzó anyagokként ismertek, de emellett kenőanyagok gyártásánál is alkalmazzák őket. A ciklofruktánokat, mint királis szelektorokat, először Cram és munkatársai kezdték el fejleszteni [31,32]. Az első, úgynevezett királis koronaéter állófázisokat az 1990-es években hozták kereskedelmi forgalomba [33-36]. A ciklofruktán általánosságban 6 vagy több, egymáshoz β -(1 \rightarrow 2) helyzetben kapcsolódó D-fruktofuranóz alegységből épül fel. Az általánosan használt rövidítés a CF6, CF7, CF8, ahol a számok az egymáshoz kapcsolódó D-fruktóz egységek számát jelölik a makrociklusos gyűrűn belül [30,37-39]. A ciklofruktánok közül a hat alegységből felépülő tart számot a legnagyobb érdeklődésre, mivel tiszta formája könnyen elérhető és a geometriája is jól meghatározott [40].

Ezeknek az oligoszacharidoknak az előállítása legegyszerűbben mikroorganizmusok segítségével történhet, ilyen például a *Bacillus circulans* OKUMZ31B vagy a *Bacillus circulans* MCI-2554 [30]. Az ily módon előállított ciklofruktánok kromatográfiás hatékonyságát derivatizálással lehet fokozni, ahol a módosító csoportok lehetnek aromásak (CF7 dimetilfenilkarbamil) vagy alifás (IP: izopropil- valamint RN: R-naftiletilkarbamil) láncok is. Ezek mindegyike poláris szerves, vagy normál fázisú HPLC módban, illetve szuperkritikus folyadékkromatográfiás (SFC) rendszerben alkalmazva jó királis megkülönböztetési képességgel rendelkezik [41-48]. A szilikagélhez kötött CF6 állófázist az **5. ábra** szemlélteti.

A módosítatlan CF6 esetén a hat fruktofuranóz egység mindegyike tartalmaz négy aszimmetriacentrumot és három OH-csoportot. Ezek központi magja megegyező struktúrát mutat a megfelelő koronaéterekkel. A CF6 kristályos szerkezetében a hat fruktofuranóz egység spirálisan rendeződik el a koronaéter váz körül, a koronaéter váz síkja alatt vagy felett. A hat hármas-pozíciójú hidroxil-csoport pedig alternáló mozgást végez a molekula középpontja felé és onnan távolodva, miáltal nagyon közel kerülnek a koronaéter oxigénatomjaihoz, és H-kötés kialakítására képesek. Ennek eredményeként a makrociklus ezen oldalának hozzáférhetősége

gátolva van és viszonylag hidrophil, míg ellenkező oldala inkább hidrofób tulajdonságot mutat, köszönhetően a metilén-csoportoknak. Ezen tulajdonságokat számítógépes lipofilitási sémák is alátámasztják [39].

Itt fontos kiemelni, hogy a CF6 nem rendelkezik központi hidrofób üreggel, ellentétben a ciklodextrinekkal. Tehát, a hidrofób zárványkomplekképzés, amely fontos szerepet játszik a szerves molekula és ciklodextrin közötti kölcsönhatás kialakításában, nem tűnik megvalósíthatónak ciklofruktánok esetén. Ugyanakkor fémionokkal [K^+ , Ba^{2+}] történő kölcsönhatásáról több közlemény is született [49-52]. Tapasztalataik szerint a fémion nem a koronaéter síkjában létesít kötést, hanem a koronaéter és a 3-as hidroxil-csoport között [50]. Ezáltal a jelenlévő kationok különböző hatást fejthetnek ki, segíthetik vagy épp ellenkezőleg, akadályozhatják az elválasztást. Nemrégiben megjelent közlemény szerint a Ba-ciklofruktán komplex különleges enantioszelektivitást mutat királis foszfor- valamint szulfonsav vegyületekre, *poláris szerves* módban [32], míg *fordított fázisú* módban történő alkalmazása csak kezdetleges.

A CF6 állófázisok módosításával nagyobb enantioszelektivitás érhető el, amelyet annak tulajdonítanak, hogy a származékképzés megzavarhatja a hármas OH-csoportok által létrehozott H-kötés kialakulását, amely következtében a szerkezet „ellazul” és úgy mond „kinyílik” a koronaéter központi része. Armstrong és munkatársai megállapították, hogy ha alifás szubsztituenssel csak néhány hidroxil-csoportot szubsztituáltak, akkor primer aminok esetén kiemelkedő enantioszelektivitás érhető el. Ez négy dolognak tulajdonítható:

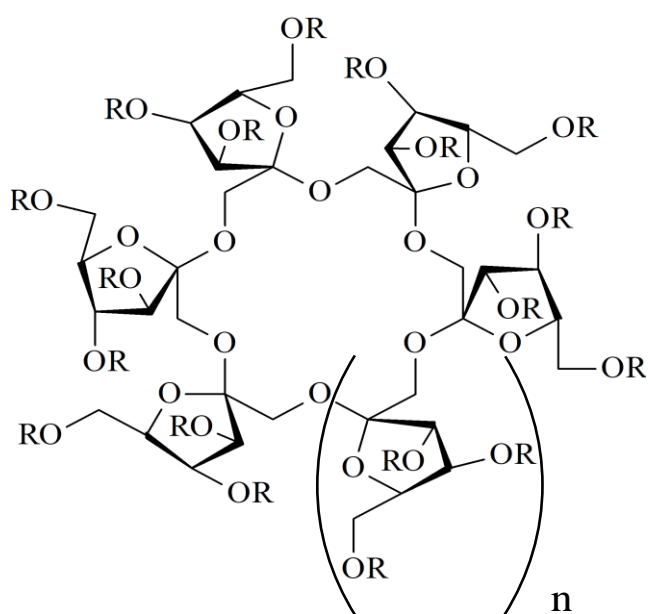
- ✚ más CF csak erősen savas környezetben működik megfelelően;
- ✚ a primer aminok csak egy specifikus csoportjára bizonyult hatékonyaknak, például α -aminosavakra, míg β -aminosavakra nem volt megfelelő [53-56];
- ✚ szekunder, tercier aminok elválasztására is alkalmas, pl.: Tröger-bázisok elválasztására [57];
- ✚ valamint kiváló terhelhetőséggel rendelkezik.

A derivatizálás során a szubsztitúciós fok további növelése azonban már kedvezőtlen. Ugyanis a 18 szubsztituens megnöveli a ciklofruktán „mélységét” és gátolja a gyűrű belsejéhez való hozzáférhetőséget. Aromás szubsztituens alkalmazása már nemcsak a primer aminokra, hanem szélesebb körben is jó enantioszelektivitást mutatott. Ez nyilvánvalóan az aromás rész által kialakítható π - π -, valamint dipól-dipól kölcsönhatásnak tulajdonítható.

Úgy tűnik tehát, különböző szubsztituenssel előállított CF6 esetén, két eltérő elválasztási mechanizmussal rendelkező szelektort kapunk. Az alifás, minimálisan funkcionizált CF6

szerkezete laza, nyitott központi résszel. Ezzel szemben a nagyobb szubsztitúciós fokkal rendelkező aromás szubsztituenseket tartalmazó CF6 esetén zsúfolt a gyűrű szerkezete, amely megakadályozza a koronaéter belső részéhez történő hozzáférést, de ugyanakkor külső részén különböző kölcsönhatások kialakulását biztosítja [57].

A hatékony elválasztó képesség mellett a kolonnák bármelyik oldószer esetében kiváló stabilitással rendelkeznek és 1000 injektálás után sem volt számottevő változás megfigyelhető az állófázis elválasztó képességében [57]. *Fordított fázisú* mérések esetén azonban az eluensként használt víz versenyezhet a hidrogén kötések kialakításáért az állófázissal, és ez a versengés negatív hatással lehet az elválasztásra.



Kolonna	CF6-IP	CF6-RN	CF7-DMP
R			
n	1	1	2

5. ábra.

A ciklofruktán típusú állófázisok szerkezete

3.3. A hőmérséklet hatása a kromatográfiás elválasztásra

A királis kromatográfiás retenciós mechanizmus feltérképezésének egyik lehetséges módja a kromatográfiás paraméterek hőmérsékletfüggésének vizsgálata.

3.3.1. A van 't Hoff egyenlet alkalmazása a kromatográfiában

A retenció hőmérsékletfüggésének vizsgálata az elválasztás mechanizmusának megértésében nyújthat segítséget. A termodinamikai adatok egyensúlyi rendszerekre igazak, ez azonban sok esetben nem feltétlen teljesül a kromatográfiás folyamatok dinamikus rendszereire, ennek ellenére segítséget tudnak nyújtani az elválasztási folyamatok értelmezésénél.

Egy, a termodinamikából ismert összefüggés kapcsolatot teremt a standard szabadentalpia változása és az egyensúlyi állandó (ami kromatográfiás retenció esetén a megoszlási hányados) között, miközben az adott komponens az egyik fázisból a másikba kerül:

$$RT \ln K = -\Delta G^\circ \quad (1)$$

Ismert még a standard szabadentalpia változás definíciója is a Gibbs-függvényből:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (2)$$

ahol:

ΔH° = standard entalpiaváltozás,

ΔS° = standard entrópiaváltozás.

Ezt az előző egyenletbe helyettesítve:

$$\ln K = -\left(\frac{\Delta H^\circ}{RT} - \frac{\Delta S^\circ}{R}\right) = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (3)$$

A retenciós faktor (k) egyenlő az egyensúlyi állandó (K) és a fázisarány (φ) szorzatával.

$$k = K \frac{V_s}{V_m} \quad (4)$$

A fázisarány:

$$\varphi = \frac{V_s}{V_m} \quad (5)$$

ahol: V_m = mozgófázis térfogata,

V_s = állófázis térfogata

Ha ezt az előző egyenletbe helyettesítjük, a kromatográfiában használt van't Hoff egyenletet juttatunk:

$$\ln k = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln \varphi \quad (6)$$

Ezen egyenlet szerint $\ln k$ -t $1/T$ függvényében ábrázolva egyenest kapunk, melynek meredeksége $-\Delta H^\circ / R$, tengelymetszete, pedig $\Delta S^\circ / R + \ln \varphi$ (ha nem ismerjük az $\ln \varphi$ tagot, akkor a tengelymetszet R -el szorzott értékét $\Delta S^{\circ*} = \Delta S^\circ + R \ln \varphi$ -t használjuk).

3.3.2. A van't Hoff egyenlet alkalmazása a királis kromatográfiában

Ha megvizsgáljuk a két enantiomer standard szabadentalpia változásának a különbségét, következtetéseket tudunk levonni a mechanizmusról:

$$\Delta G_2^\circ - \Delta G_1^\circ = \Delta(\Delta G^\circ). \quad (7)$$

A már ismert Gibbs-Helmholtz formulát

$$-\Delta G^\circ = RT \ln K, \quad (8)$$

az előző egyenletbe behelyettesítve a következő összefüggéshez jutunk:

$$-\Delta(\Delta G^\circ) = RT \ln (k_2/k_1). \quad (9)$$

Az α elválasztási tényező a két enantiomer csúcs egymáshoz viszonyított helyzetét adja meg,

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} \quad (10)$$

a k_1 és a k_2 a két enantiomer retenciós faktorát jelöli. Az elválasztási tényezőt behelyettesítve a 9. egyenletbe a következő kifejezést kapjuk:

$$-\Delta(\Delta G^\circ) = RT \ln \alpha \quad (11)$$

Az előző pontban megismert van't Hoff egyenlet felhasználásával $\ln \alpha$ egyszerűsítések után kifejezhető a következő formulával:

$$\ln \alpha = -\frac{\Delta(\Delta H^\circ)}{RT} + \frac{\Delta(\Delta S^\circ)}{R} \quad (12)$$

Az egyenlet szerint $\ln \alpha$ -t $1/T$ függvényében ábrázolva egyenest kapunk, melynek meredeksége $-\Delta(\Delta H^\circ)/R$, tengelymetszete, pedig $\Delta(\Delta S^\circ)/R$.

3.3.3. Királis elválasztások hőmérsékletfüggésének rövid irodalmi áttekintése

A királis kromatográfiában a van't Hoff ábrázolások gyakran eltérnek az egyenestől, ami a felület inhomogén jellegére utal és vegyes retenciós mechanizmust feltételez [58,59]. Ráadásul egy királis molekula retenciója nemkirális és királis kölcsönhatások eredménye, melyek aránya jelentősen változhat a kromatográfiás körülményekkel [60-65]. A királis elválasztások mechanizmusának felderítésében úttörő munkát végeztek Guiochon és mtsai. [58], Schurig és

mtsai. [61-63], Cavazzini és mtsai. [65], Allenmark és mtsai. [62,66,67] valamint Peyrin és mtsai. [68].

Ha a $\Delta(\Delta H)^\circ$ és $\Delta(\Delta S)^\circ$ értéke negatív, a folyamat entalpiavezérelt, mint a legtöbb esetben. A másodikként eluálódó enantiomer stabilisabb komplexet képez a szelektorrall, mint az elsőként eluálódó, kedvezőtlen entrópiatagot eredményezve. A szelektivitási tényező csökken a hőmérséklet emelkedésével. Ha az elválasztás hőmérséklete eléri azt a pontot (T_{iso}) ahol az entalpia tagot az entrópia tag kiegyenlíti, ezen a hőmérsékleten $\alpha = 1,0$, azaz a két enantiomer együtt eluálódik. T_{iso} számítható az $\ln k$ vs $1/T$ egyenesekből. A T_{iso} hőmérséklet felett a folyamat entrópiavezérelt és fordított elúciós sorrend figyelhető meg. A szelektivitási tényező növekszik a hőmérséklet emelkedésével. Ez a kedvező hatás teszi az entrópiavezérelt elválasztásokat különlegessé.

A T_{iso} hőmérséklet létét Koppenhoefer and Bayer valószínűsítette [60], míg az első közvetlen kísérleti bizonyíték Gil-Av és mtsai. [69] valamint Schurig és mtsai. [70] gázkromatográfiás munkáiból ismert. Későbbiekben Schurig és mtsai. további gázkromatográfiás kísérleti bizonyítékokat szolgáltatottak [71-73].

A folyadékkromatográfiában alkalmazható szűk hőmérséklet tartomány miatt az entrópiavezérelt királis elválasztás és az elúciós sorrend változása a hőmérséklettel csak ritkán figyelhető meg.

Az elúciós sorrend változását a hőmérséklettel Chiralcel OD kolonnán amino-alkoholok esetén Balmér és mtsai. [74], feniletilamin analógok esetén „Pirkle-típusú kolonnán” Pirkle és Murray [75], szotalol esetén Cellubiohydrolase-I-típusú kolonnán Fulde és Frahm [76] írta le (**2. Táblázat**).

2. Táblázat. A felbontás (R_S) vagy szelektivitási tényező (α) változása a hőmérséklettel

Minta	Eluens	Hőmérséklet tartomány (°C) / R_S vagy α			Irod.
metoprolol tartarát	2,2,4-trimetilpentán+ propán-1-ol+DEA+H ₂ O	<15 °C/ R_S >1,5*	25-35 °C/ R_S ~0*	>55 °C/ R_S >1,2*	[74]
(<i>R,S</i>)-DNB-feniletilamin	hexán/IPA	<-25 °C/ α >1,1	-10-0 °C/ α ~1	>50 °C/ α >1,15	[75]
(<i>R,S</i>)-sotalol	foszfát puffer/IPA	<5 °C/ R_S >5,4	20-30 °C/ R_S <0,4	>35 °C/ R_S >2,4	[76]
(<i>R,S</i>)-(<i>S,R</i>)-1-amino-2-hidroxikiklohexán karbonsav (AHCH)	H ₂ O/MeCN+ +CuSO ₄	<5 °C/ R_S >1,0*	20°C / R_S ~0	>35 °C/ R_S >1,5*	[77]
(<i>R,S</i>)-1,1'-bi-2-naftol	hexán/IPA	<10 °C/ R_S >0,9*	25-40 °C/ R_S ~0	>45 °C/ R_S >0,8*	[78]
2-naftol	heptán/IPA	-	5°C/ R_S ~0,4*	>75 °C/ R_S >1,4*	[79]

*kromatogramból becsült értékek

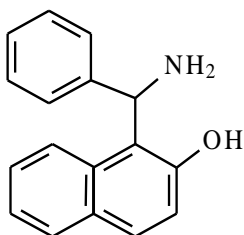
Az elúciós sorrend változását néhány ciklikus aminosavra réz(II)-D-penicillamin kolonnán Schlauch és Frahm [77], míg 1,1'-binaftol analógokra poliszacharid-típusú kolonnán Weng és mtsai. [78] figyelték meg. Stringham és Blackwell [79] szuperkritikus folyadékkromatográfiás rendszerben írta le az elúciós sorrend változását (**2. Táblázat**). Az elúciós sorrend változása mellett alapvonalra történő elválasztás kis és nagy hőmérsékleten szintén ritkán volt észlelhető. Egyedül Fulde és Frahm [76] szótalol enantiomerek elválasztása esetén Cellubiohydrolase-I-típusú kolonnán figyeltek meg alapvonalra történő ($R_S > 1,5$) elválasztást mind kis mind nagy hőmérsékleteken. A legtöbb esetben R_S csak közelítette az $R_S = 1,5$ értéket (**2. Táblázat**).

Yao és mtsai [78] tapasztalata szerint az izo-enantioszelektív hőmérséklet (T_{iso}) környékén nem mindig sikerül elválasztani az enantiomer vegyületpárt. A szerzők ezt úgynevezett „hőmérséklet indukált láthatatlan régió”-nak nevezték („temperature-induced blind zone”) mely néhány tíz fok hőmérséklet tartományra terjed ki.

3.4. Vizsgált vegyületek jelentősége

3.4.1. Aminonaftol analógok alkalmazása, biológiai jelentősége

A múlt század elején írta le Betti az 1-(α -aminobenzil)-2-naftol szintézisét, amelyet benzaldehiddből, 2-naftolból és ammóniából állított elő [80], és azóta az ilyen típusú vegyületeket Betti-bázisként említjük (**6. ábra**).

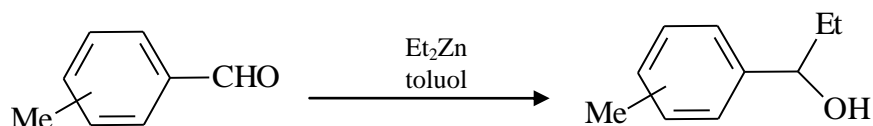


6. ábra.

A Betti-bázis szerkezete

Annak ellenére, hogy a Betti-bázis analógok jól használható, viszonylag olcsó királis vegyületek, mindeddig kevés információ látott napvilágot alkalmazásukról.

Cardellicchio és mtsai. [81] királis ligandumként alkalmazták, dietil-cink és aldehyd enantioszelektív addíciós reakcióiban (**7. ábra**). Az *N,N*-dimetil-amino származék, mint királis katalizátor 99%-os enantiomer tisztaságú terméket eredményezett.

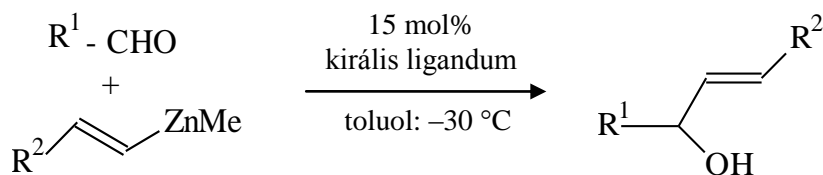


7. ábra.

Aminonaftolok királis katalizátorként való alkalmazása [81]

Királis ligandum: (*S*)-*N,N*-dimetil-amino-2-naftol. A végtermék konfigurációja: (*R*)

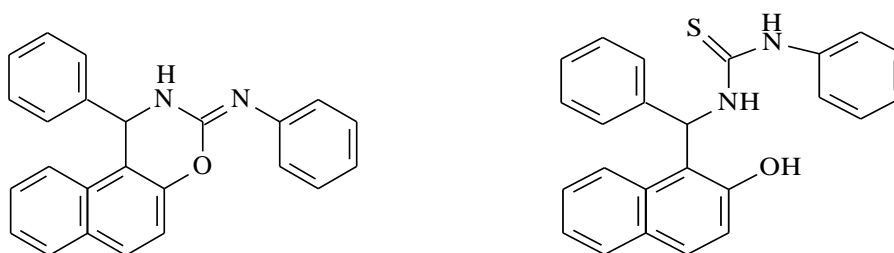
Megfigyelték, hogy különböző aril-aldehidek és aminonaftolok alkalmazásakor nagyfokú enantiomertisztaság valósítható meg [82]. Később ezt kiterjesztették alkenil-cink és aldehyd reakciójára is, amelynek során szintén tiszta enantiomert kaptak (**8. ábra**).



8. ábra.

Aminonaftolok királis katalizátorként való alkalmazása [82]
 Királis ligandum: (1*S*,1'*S*)-*N*-metil-1-[fenil(1'-feniletilamino)metil]-2-naftol;
 R^1 : *n*-C₄H₉; R^2 : *o*-Cl-fenil; A végtermék konfigurációja: (*R*)

Az aminonaftolok biológiai szerepe antibakteriális aktivitásukban rejlik. Desai és mtsai. [83] *in vitro* antituberkulózis hatását észlelték a **9. ábrán** látható vegyületekre H₃₇R_v genommal szemben, antibakteriális hatását pedig *E. coli* és *S. aureus* ellenében. Tapasztalataik szerint, a jelenlévő thiazolidin rész szükséges a jó antituberkulózis aktivitáshoz, a halogénatom pedig fokozza az antibakteriális hatást.



9. ábra.

Biológiailag vizsgált aminonaftol származékok

Mindezek az eredmények arra utalnak, hogy a Betti-bázisok biológiai hatásvizsgálata is az érdeklődés középpontjába került.

3.4.2. Különböző savamidok, amino-alkoholok valamint diaminok jelentősége

Primer amino-csoportot tartalmazó királis vegyületek a természetben leggyakrabban előforduló vegyületcsaládot képviselik [84-90]. Nem meglepő tehát, hogy alapvető fontosságúak a biológiai és gyógyszerészeti tudományokban. A különböző aminosav származékok, mint savamidok, amino-alkoholok, és diaminok fontos szerepet töltenek be köztiterméként (intermedierként) valamint királis katalizátorokként szerves szintézisekben [91-96]. Mindezek közül az egyik legjelentősebb a Jorgensen-katalizátor, mely a különböző enantiomer tiszta vegyületek előállításában alapvető fontosságú.

A savamid típusú vegyületek építőkövei lehetnek különböző peptideknek illetve peptid-analógoknak. Számos antibakteriális β -laktám antagonistá – mely amino-szubsztituenst tartalmaz a 2-es pozícióban – Gram-pozitív illetve Gram-negatív antibakteriális aktivitást mutat. Míg a diaminok kiváló katalizátorok a Michael-addícióban.

Említést érdemel az is, hogy a természetes neurotranszmitterek (adrenalin, noradrenalin) szerkezetileg nagyon hasonlóak az amino-alkoholokhoz, (pl. efedrin, norefedrin), amelyek hörgőtágítóként, nazális dekongesztánsként valamint központi idegrendszer stimulánsként játszanak fontos szerepet.

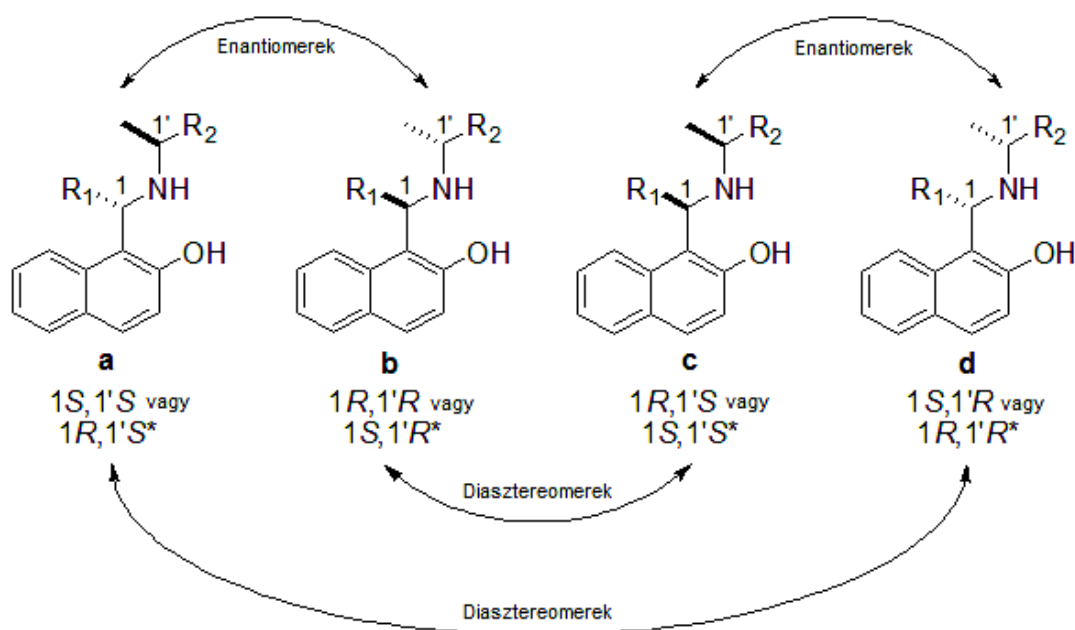
4. KÍSÉRLETI RÉSZ

4.1. Vizsgált anyagok




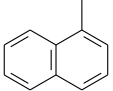
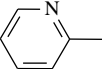
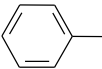
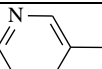
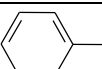
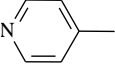
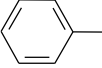
A vizsgált vegyületek a legtöbb esetben szintetikus anyagok voltak, melyek partnereink laboratóriumaiban készültek. Előállításuk rövidített változata eredeti közleményeinkben megtalálható. A vegyületeket a könnyebb átláthatóság érdekében az alkalmazott állófázis alapján 2 nagyobb csoportra osztottuk.

4.1.1. Poliszacharid oszlopokon vizsgált vegyületek:

✚ 2 kiralitáscentrumot tartalmazó aminonaftol analógok



* Változó konfiguráció a Cahn-Ingold-Prelog konvenció értelmében

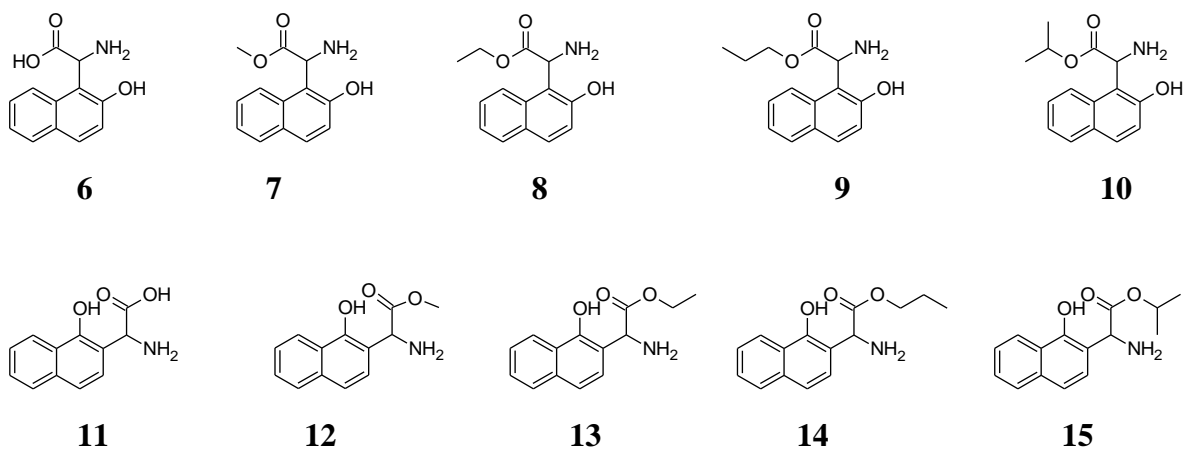
Anyag	R ₁	R ₂
1a-1d		
2a-2d		
3a*-3d*		
4a-4d		
5a-5d		

10. ábra.

Elnevezés: (1) 1-{N-(1-fenilmetil)[1-fenil(aminometil)]}-naftalin-2-ol; (2) 1-{N-(1-naftilmetil)[1-fenil(aminometil)]}-naftalin-2-ol; (3) 1-{N-(1-piridin-2-ilmetil)[1-fenil(aminometil)]}-naftalin-2-ol; (4) 1-{N-(1-piridin-3-ilmetil)[1-fenil(aminometil)]}-naftalin-2-ol; (5) 1-{N-(1-piridin-4-ilmetil)[1-fenil(aminometil)]}-naftalin-2-ol



1 kiralitáscentrumot tartalmazó aminonaftolok (1-és 2-naftol analógok)



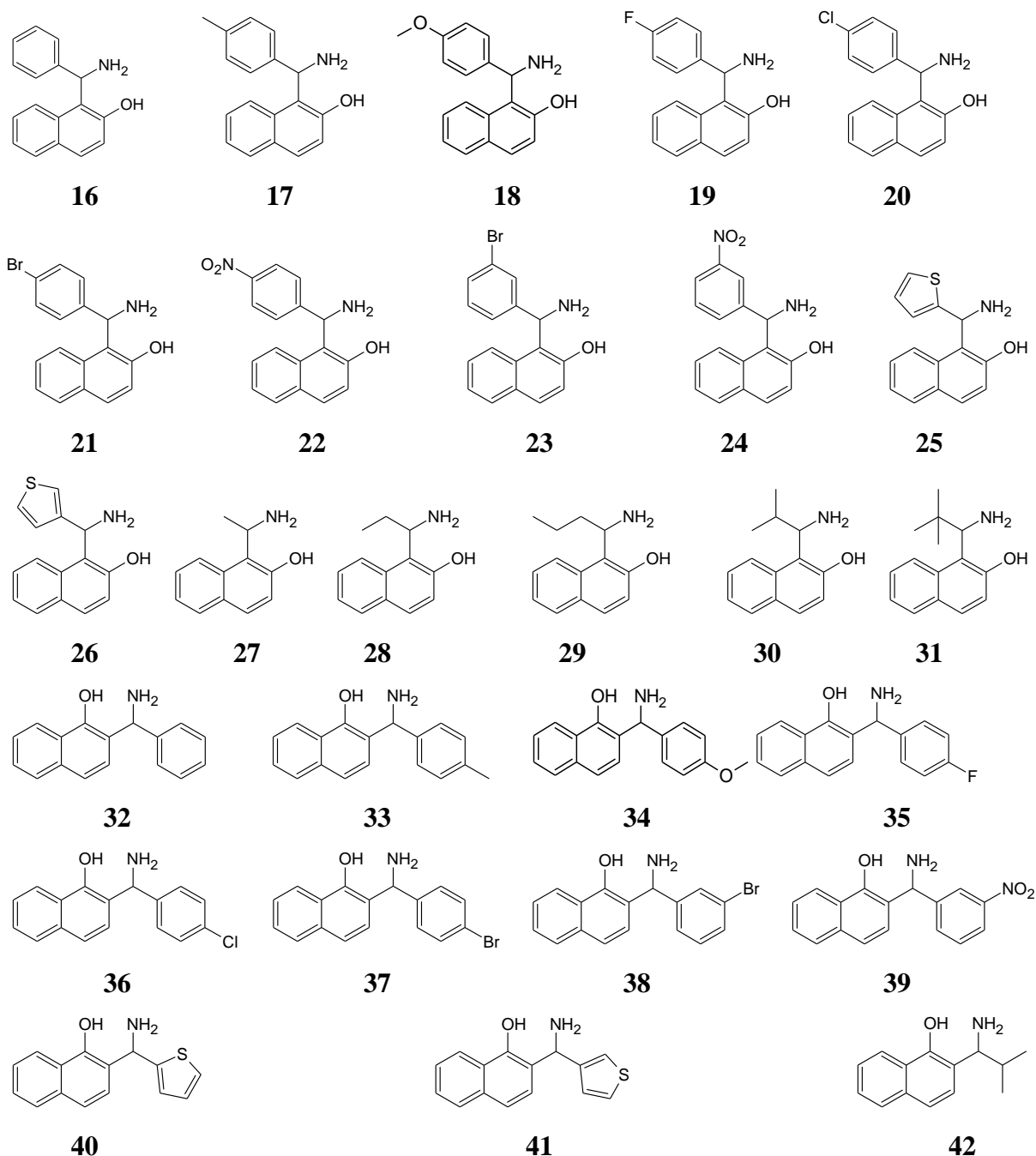
11. ábra.

Elnevezés: (6), 2-amino-(2-hidroxinaftalin-1-il)ecetsav; (7) metil-2-amino-(2-hidroxinaftalin-1-il)acetát (8), Etil-2-amino-(2-hidroxinaftalin-1-il)acetát; (9), Propil-2-amino-(2-hidroxinaftalin-1-il)acetát; (10), Izopropil-2-amino-(2-hidroxinaftalin-1-il)acetát; (11) Amino-(1-hidroxinaftalin-2-il)ecetsav, (12) Metil-amino-(1-hidroxinaftalin-2-il)acetát; (13), Etil-amino-(1-hidroxinaftalin-2-il)acetát; (14), Propil-amino-(1-hidroxinaftalin-2-il)acetát; (15), Izopropil-amino-(1-hidroxinaftalin-2-il)acetát;

4.1.2. Ciklofruktán alapú állófázison vizsgált vegyületek



1 kiralitáscentrumot tartalmazó aminonaftolok (1-és 2-naftol analógok)



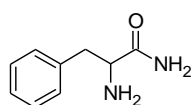
12. ábra.

Elnevezés: **16**, 1-[amino(fenil)metil]-naftalin-2-ol; **17**, 1-[amino-(4-metilfenil)metil]-naftalin-2-ol; **18**, 1-[amino-(4-metoxifenil)metil]-naftalin-2-ol; **19**, 1-[amino-(4-fluorofenil)metil]-naftalin-2-ol; **20**, 1-[amino-(4-chlorofenil)metil]-naftalin-2-ol; **21**, 1-[amino-(4-bromofenil)metil]-naftalin-2-ol; **22**, 1-[amino-(4-nitrofenil)metil]-naftalin-2-ol; **23**, 1-[amino-(3-bromofenil)metil]-naftalin-2-ol; **24**, 1-[amino-(3-nitrofenil)metil]-2-naftol; **25**, 1-[amino-(2-tiofén-3-il)metil]-2-naftol;

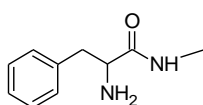
naftol; **26**, 1-[amino-(tiofén-3-il)metil]-2-naftol); **27**, 1-(1-aminoetil)-naftalin-2-ol; **28**, 1-(1-aminopropil)-naftalin-2-ol; **29**, 1-(1-aminobutil)-naftalin-2-ol; **30**, 1-(1-amino-2-metilpropil)-naftalin-2-ol; **31**, 1-(1-amino-2,2-dimetilpropil)-naftalin-2-ol); **32**, 2-[amino-(fenil)metil]-naftalin-1-ol; **33**, 2-[amino-(4-metilfenil)metil]-naftalin-1-ol; **34**, 2-[amino-(4-metoxifenil)metil]-naftalin-1-ol; **35**, 2-[amino-(4-fluorofenil)metil]-naftalin-1-ol; **36**, 2-[amino-(4-klorofenil)metil]-naftalin-1-ol; **37**, 2-[amino-(4-bromofenil)metil]-naftalin-1-ol; **38**, 2-[amino-(3-bromofenil)metil]-naftalin-1-ol; **39**, 2-[amino-(3-nitrofenil)metil]-naftalin-1-ol; **40**, 2-[amino-(tiofén-2-il)metil]-naftalin-1-ol; and **41**, 2-[amino-(tiofén-3-il)methyl]-naftalin-1-ol; **42**, 2-[1-aminopropil]-naftalin-1-ol



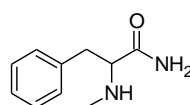
savamidok, amino-alkoholok, diaminok analógjai:



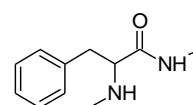
43



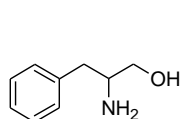
44



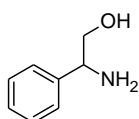
45



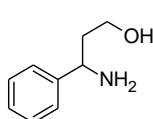
46



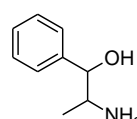
47



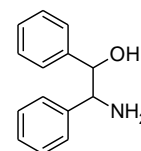
48



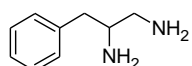
49



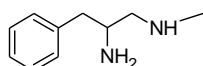
50



51



52



53

13. ábra.

Elnevezés: **43**, 2-amino-3-fenilpropánamid; **44**, 2-amino-N-metil-3-fenilpropánamid; **45**, 2-(metilamino)-3-fenilpropánamid; **46**, N-metil-2-(metilamino)-3-fenilpropánamid; **47**, 2-amino-3-fenilpropán-1-ol; **48**, 2-amino-2-feniletanol; **49**, 3-amino-3-fenilpropán-1-ol; **50**, cisz-2-amino-1-fenilpropán-1-ol; **51**, cisz-2-amino-1,2-difeniletanol; **52**, 3-fenilpropán-1,2-diamin; **53**, N-metil-3-fenilpropán-1,2-diamin

4.2. A felhasznált vegyszerek

Az alkalmazott HPLC tisztaságú oldószerek, metanol (MeOH), etanol (EtOH), propanol (PrOH), propán-2-ol (2-PrOH), butanol (BuOH), 2-metil-propán-2-ol (*t*-BuOH) Merck (Darmstadt, Németország), a HPLC tisztaságú ecetsav (AcOH) Scharlau Chemie S. A., (Barcelona, Spanyolország) gyártmányúak voltak.

Az analitikai tisztaságú perklórsav (HClO₄), trifluorecetsav (TFA), foszforsav (H₃PO₄), kénsav (H₂SO₄) és dietil-amin (DEA) Merck gyártmányú volt.

4.3. Alkalmazott berendezések

Méréseink során két különböző HPLC rendszert alkalmaztunk:

Az I. rendszer Waters 1525 bináris HPLC pumpát, Waters kolonna termosztátot, Waters 2487 kétsatornás UV-VIS detektort, és Waters „Breeze Data Manager” adatfeldolgozó szoftvert tartalmazott (Waters, Milford, MA, USA).

A II. rendszer összetevői: Waters M-600 gradiens HPLC pumpa, Waters M-2996 fotodiódasoros detektor, Waters „Millenium 32 Chromatography Manager” adatfeldolgozó rendszer (Waters) és Spark Mistral kolonna termosztát (Spark Holland, Emmen, Netherlands) voltak. Mindkét kromatográfiás rendszer Rheodyne 7125 20 µl-es mintaadagolóval volt ellátva (Cotati, CA, USA).

Egyéb kiegészítők közé tartozik a Rotring Sonic Cleaner ultrahangos fürdő (Rotring GmbH, Hamburg, Germany).

4.4. Alkalmazott kolonnák

1, Módosított poliszacharid típusú oszlopok, melyek szelektorai a következők voltak: Phenomenex Lux Cellulose-1, cellulóz-*tris*z-(3,5-dimetilfenil)-karbamát; Phenomenex Lux Cellulose-2, cellulóz-*tris*z-(3-klór-4-metilfenil)-karbamát; Phenomenex Lux Cellulose-3, cellulóz-*tris*z-(4-metilbenzoát); Phenomenex Lux Cellulose-4, cellulóz-*tris*z-(4-klór-3-metilfenil)-karbamát, Phenomenex Lux Amylose-2, amilóz-*tris*z-(5-klór-2-metilfenil)-karbamát. A Lux Cellulose-1 oszlop fizikai paramétere a 150 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő, míg a többi oszlopra egyaránt: 250 mm × 4,6 mm, 5 µm szemcseátmérő jellemző, gyártójuk a Phenomenex (Torrance, CA, USA).

2, A Ciklofruktán típusú állófázisok alapja egy 6 vagy 7 darab D-fruktóz egységet tartalmazó (+)-(18-korona-6)-koronaéter, ahol a fruktóz egységeken lévő szubsztituens eltérő. Tehát LARIHCTM CF6-IP állófázis esetén a szubsztituens izopropil-karbamát, LARIHCTM CF6-RN esetén *R*-naftiletil-karbamát, míg LARIHCTM CF7-DMP esetén, amely 7 darab D-fruktóz egységből épül fel, a dimetilfenil-karbamát. Ezen oszlopok fizikai paramétere a 250 mm × 4,6 mm, 5µm szemcseátmérő, gyártójuk pedig az AZYP (Arlington, TX, USA).

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Poliszacharid típusú állófázisokon történő elválasztások

Mint azt már az irodalmi összefoglalóban is említésre került, a szelektor választék igen sokszínű a poliszacharid oszlopok között. Munkánk során öt típusú állófázist alkalmaztunk, melyek eltérő szelektorai különböző hatást mutattak az elválasztásra:

✚ A Lux Cellulose-1 néven forgalomban lévő királis oszlopot az **1. Táblázat** „b” jelű szelektora jelzi. Ebben az esetben az oxigén hídon keresztül egymáshoz kapcsolódó cellulóz alapegységek három helyen szubsztituáltak 3,5-dimetilfenil-karbamát oldallánccal, valamint a cellulóz lineáris szerkezetének üregei révén, az elválasztandó molekula különleges, sztérikus kölcsönhatásokban vehet részt.

✚ A Lux Cellulose-2, szintén cellulóz alapú királis állófázist az **1. Táblázat** „e” jelű szelektora szemlélteti. A Cellulose-1 illetve Cellulose-2 közötti különbség, hogy az egyik metil-csoport helyett klór szubsztituens található, így dipól-dipól kölcsönhatás kialakítására is képes, valamint elektronvonzó hatása révén csökkenti az aromás gyűrű elektronsűrűségét.

✚ A Lux Cellulose-3, ugyancsak cellulóz alapú, - az **1. Táblázatban** „a” jelű - metilbenzoát származékot tartalmazó királis szelektor olyan esetekben is királis szelektivitást biztosíthat, amikor más kolonnákon történő elválasztás nem jár sikerrel.

✚ A Lux Cellulose-4 királis szelektora – az **1. Táblázatban** „d” jelű - szintén klór- és metil-csoporttal rendelkezik, azonban eltérő helyzetben, így a már említett kölcsönhatások is másképp fejtik ki hatásukat.

✚ A Lux Amylose-2 - az **1. Táblázatban** „i” jelű - esetében a poliszacharid állófázis amilóz, a királis szelektor pedig 5-klór-2-metilfenil-karbamát. Ez a szelektor az előzőekben ismertetett tulajdonságokkal rendelkezik, a különbség csak az amilóz szerkezetében van, amely ebben az esetben helikális.

5.1.1. Két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása poliszacharid típusú állófázisokon

A vizsgált öt aminonaftol analóg szerkezeti képletét a **10. ábrán** tüntettük fel. Ezek az anyagok két kiralitás centrumot tartalmaznak, így a következő konfigurációjú sztereoizomerek léteznek: $1R,1'R - 1S,1'S$, és $1S,1'R - 1R,1'S$. A Cahn-Ingold-Prelog szabály következtében a **3** vegyület konfigurációja a nitrogén *orto* helyzete miatt megváltozik, mint azt a **10. ábra** szemlélteti. Az $1S,1'S$ és $1R,1'R$ valamint az $1S,1'R$ és $1R,1'S$ konfigurációk enantiomer viszonyban, míg a konfigurációk többi párosításában ezek a sztereoizomerek diasztereomer viszonyban állnak egymással. A diasztereomerek elvileg akirális környezetben is elválaszthatóak, viszont a fent említett enantimer párok elválasztásához feltétlenül királis környezet szükséges.

A folyadékkromatográfiás vizsgálatokhoz normál fázisú körülményeket választottunk Cellulose-1, Cellulose-2 és Amylose-2 királis oszlopok alkalmazásával [98,99]. Az eluens apoláris komponense 98-80% heptán volt, mely 2-20%-ban tartalmazott poláris módosítót. Poliszacharid alapú kolonnák alkalmazása esetén általános tapasztalat, hogy a hordozó szilikagél felületén lévő szabad szilanolcsoportok erős adszorptív sajátsága miatt az aminocsoportot tartalmazó vegyületek „tailing”-es csúcs formájában eluálódnak. A „tailing”-es csúcsok elkerülése érdekében minimális mennyiségű alkilamint, ebben az esetben dietil-amint (DEA) adtunk a mozgófázishoz.

Az öt aminonaftol analógot különböző összetételű eluens mellett kíséreltük meg elválasztani Cellulose-1 oszlopon. Az eluens összetételt heptán/2-PrOH/DEA 80/20/0,1; 90/10/0,1; 95/5/0,1; 98/2/0,1 (v/v/v) arányban változtattuk. Az elválasztás szempontjából legfontosabb kromatográfiás adatokat, a retenciós faktort, szelektivitást, illetve felbontást a **3. Táblázatban** foglaltam össze. Tapasztalataink szerint, a retenciós faktor erősen függött az eluens alkoholtartalmától. Tipikus normál fázisú viselkedést figyelhettünk meg: a 2-PrOH koncentrációjának növekedésével minden esetben kisebb retenciós faktort kaptunk. Az aminonaftolok a bennük fellelhető poláris csoportok miatt a poláris alkoholban jobban szolvatáltak, szívesebben tartózkodtak a mozgófázisban.

3. Táblázat. Kromatográfiás adatok: retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α), felbontás (R_s) és elúciós sorrend az aminonaftol analógok enantiomerjeinek közvetlen elválasztása során poliszacharid alapú állófázisokon, különböző eluens összetétel mellett.

Minta	Kolonna	Eluens(v/v/v)	k_1	k_2	α	R_s	Elúciós sorrend
1a,1b	Cellulose-1	80/20/0,1	0,58	0,65	1,12	0,75	$b < a$
	Cellulose-1	90/10/0,1	0,86	0,98	1,14	1,00	$b < a$
	Cellulose-1	95/5/0,1	0,97	1,11	1,15	1,05	$b < a$
	Cellulose-1	98/2/0,1	1,31	1,54	1,18	1,15	$b < a$
	Cellulose-2	95/5/0,1	0,70	0,70	1,00	0,00	-
	Amylose-2	95/5/0,1	1,23	1,55	1,26	1,44	$a < b$
1c,1d	Cellulose-1	80/20/0,1	0,66	0,79	1,21	1,10	$d < c$
	Cellulose-1	90/10/0,1	1,00	1,22	1,22	1,45	$d < c$
	Cellulose-1	95/5/0,1	1,11	1,39	1,24	1,85	$d < c$
	Cellulose-1	98/2/0,1	1,48	1,91	1,29	2,40	$d < c$
	Cellulose-2	95/5/0,1	0,70	0,70	1,00	0,00	-
	Amylose-2	95/5/0,1	1,67	2,44	1,46	4,80	$c < d$
2a,2b	Cellulose-1	80/20/0,1	1,27	1,85	1,45	4,20	$a < b$
	Cellulose-1	90/10/0,1	1,77	2,61	1,48	4,20	$a < b$
	Cellulose-1	95/5/0,1	2,13	3,20	1,50	4,30	$a < b$
	Cellulose-1	98/2/0,1	3,12	4,78	1,53	4,30	$a < b$
	Cellulose-2	95/5/0,1	0,87	0,87	1,00	0,00	-
	Amylose-2	95/5/0,1	1,58	1,71	1,09	0,72	$b < a$
2c,2d	Cellulose-1	80/20/0,1	0,86	0,86	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	90/10/0,1	1,16	1,16	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	95/5/0,1	1,17	1,18	1,01	0,40	$c < d$
	Cellulose-1	98/2/0,1	1,58	1,69	1,07	0,70	$d < c$
	Cellulose-2	95/5/0,1	1,05	1,35	1,29	2,90	$d < c$
	Amylose-2	95/5/0,1	1,84	2,89	1,58	3,50	$d < c$
3a,3b	Cellulose-1	80/20/0,1	0,47	0,53	1,11	0,60	$b < a$
	Cellulose-1	90/10/0,1	0,65	0,74	1,14	0,75	$b < a$
	Cellulose-1	95/5/0,1	0,77	0,88	1,14	0,95	$b < a$
	Cellulose-1	98/2/0,1	0,94	1,07	1,14	1,00	$b < a$
	Cellulose-2	95/5/0,1	0,81	0,87	1,07	1,13	$b < a$
	Amylose-2	95/5/0,1	1,34	1,34	1,00	0,00	-
3c,3d	Cellulose-1	80/20/0,1	0,72	0,72	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	90/10/0,1	1,08	1,08	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	95/5/0,1	1,36	1,36	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	98/2/0,1	1,67	1,67	1,00	0,00	-
	Cellulose-2	95/5/0,1	1,16	1,31	1,13	1,64	$d < c$
	Amylose-2	95/5/0,1	1,60	1,92	1,20	2,22	$c < d$
4a,4b	Cellulose-1	80/20/0,1	1,37	2,18	1,58	5,25	$b < a$
	Cellulose-1	90/10/0,1	3,96	6,70	1,69	7,85	$b < a$
	Cellulose-1	95/5/0,1	4,99	9,05	1,81	8,80	$b < a$
	Cellulose-1	98/2/0,1	9,16	17,83	1,95	9,60	$b < a$
	Cellulose-2	95/5/0,1	3,81	9,61	2,52	16,85	$b < a$
	Amylose-2	95/5/0,1	6,91	9,73	1,41	2,31	$b < a$

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Cellulose-1, Cellulose-2, Amylose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1, 90/10/0,1, 95/5/0,1 és 98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm; hőmérséklet, 25 °C.

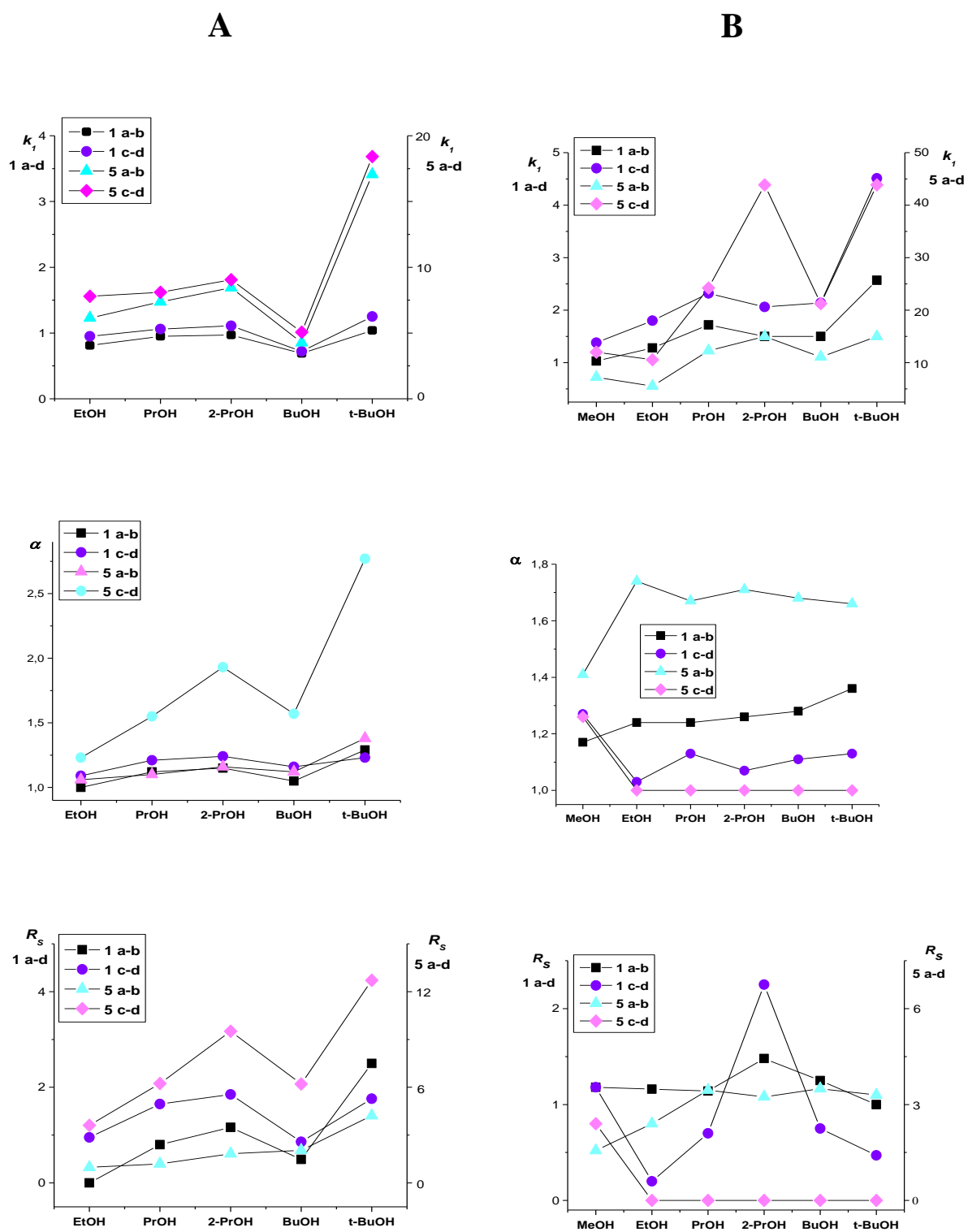
3. Táblázat (folytatás) Kromatográfiás adatok: retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α), felbontás (R_s) és elúciós sorrend aminonaftol analógok enantiomerjeinek közvetlen elválasztása során poliszacharid alapú állófázisokon, különböző eluensösszetétel mellett.

Minta	Kolonna	Eluens (v/v/v)	k_1	k_2	α	R_s	Elúciós sorrend
4c,4d	Cellulose-1	80/20/0,1	1,94	2,33	1,20	2,50	$c < d$
	Cellulose-1	90/10/0,1	5,86	7,39	1,26	4,00	$c < d$
	Cellulose-1	95/5/0,1	8,00	10,44	1,31	4,35	$c < d$
	Cellulose-1	98/2/0,1	15,28	21,18	1,39	5,70	$c < d$
	Cellulose-2	95/5/0,1	2,43	8,48	3,49	17,12	$d < c$
	Amylose-2	95/5/0,1	8,66	12,29	1,42	2,88	$d < c$
5a,5b	Cellulose-1	80/20/0,1	2,55	2,55	1,00	0,00	-
	Cellulose-1	90/10/0,1	6,34	6,77	1,07	0,80	$b < a$
	Cellulose-1	95/5/0,1	8,45	9,78	1,16	1,85	$b < a$
	Cellulose-1	98/2/0,1	21,64	31,29	1,45	5,55	$b < a$
	Cellulose-2	95/5/0,1	13,62	15,62	1,15	2,02	$a < b$
	Amylose-2	95/5/0,1	6,48	9,60	1,48	2,82	$b < a$
5c,5d	Cellulose-1	80/20/0,1	2,55	3,86	1,51	4,60	$d < c$
	Cellulose-1	90/10/0,1	6,47	10,84	1,68	7,65	$d < c$
	Cellulose-1	95/5/0,1	9,05	17,42	1,93	9,50	$d < c$
	Cellulose-1	98/2/0,1	25,70	52,85	2,06	10,20	$d < c$
	Cellulose-2	95/5/0,1	12,44	28,41	2,28	13,77	$d < c$
	Amylose-2	95/5/0,1	10,31	10,31	1,00	0,00	-

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Cellulose-1, Cellulose-2, Amylose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1, 90/10/0,1, 95/5/0,1 és 98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml per⁻¹; detektálás, 230 nm; hőmérséklet, 25 °C.

Az eluens összetétele nemcsak a retenciós faktorok értékét befolyásolta, egyes esetekben jelentős hatása volt a szelektivitásra és felbontásra is. Az **1**, **2**, és **3** minták esetén 2-PrOH tartalom kisebb mértékben befolyásolta a szelektivitást és felbontást. Ez alól kivétel az **1c-1d** enantiomerpár, ahol jelentősebb α és R_s növekedés volt tapasztalható a 2-PrOH koncentrációjának csökkenésével. A **4** és **5** minták esetén mind a szelektivitás mind a felbontás növekedést mutatott az alkohol koncentrációjának csökkenésével. Megfigyelhető volt még, hogy az oszlop **2c-2d** és **3c-3d** enantiomerpárok esetén alig mutatott szelektivitást (a **3c-3d** egyáltalán nem volt elválasztható 2-PrOH jelenlétében).

Két általunk kiválasztott modell vegyülettel, **1** és **5**, vizsgáltuk a kromatográfiás adatok alkohol minőségétől való függését. A mozgófázis alkohol koncentrációját állandó értéken tartottuk: az Amylose-2 kolonnán a mozgófázis alkohol koncentrációja $2,6 \times 10^{-2}$ mol dm⁻³ volt, mely megfelel 2% 2-PrOH tartalomnak, míg a Cellulose-1 kolonnán $6,5 \times 10^{-2}$ mol dm⁻³ volt, mely megfelel 5% 2-PrOH tartalomnak. Ez azt jelentette, hogy az eluensben az alkohol v/v %-os összetétele változott, moláris koncentrációja viszont állandó maradt, elkerülve ezzel az állandó v/v %-os összetételből adódó moláris koncentráció különbséget. Eredményeinket a **14. ábrán** mutatom be.



14. ábra.

Az alkohol minőségének hatása a királis elválasztásra
 Kolonna: Lux Cellulose-1 (A) és Lux Amylose-2 (B); vizsgált analógok, **1a-1d** és **5a-5d**; eluens
 összetétel; heptán/alkohol; alkohol koncentráció: Cellulose-1 esetén: $6,5 \times 10^{-2}$ M, Amylose-2
 esetén: $2,6 \times 10^{-2}$ M.

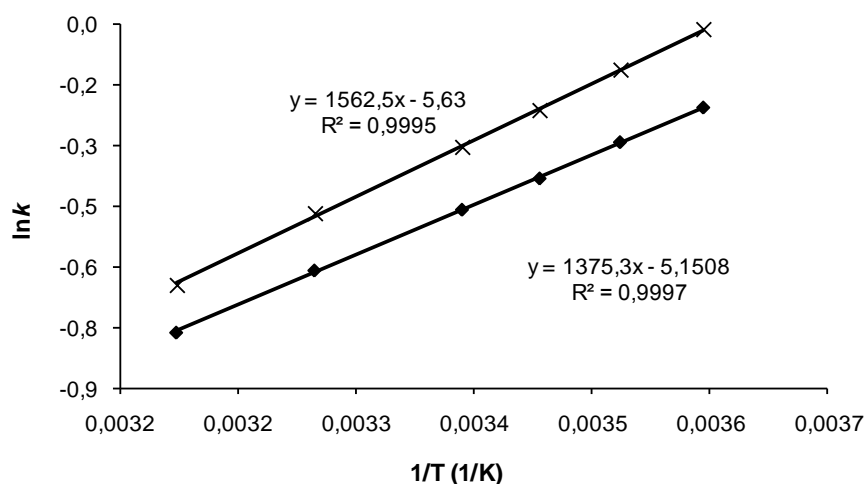
Megfigyelhető, hogy az alkohol minősége jelentős hatással van a retencióra. Általánosan elmondható, hogy az elsőként eluálódó komponens retenciós faktora (k_1) mindkét kolonnán nőtt az alkohol szénlánc hosszának növekedésével, kivéve a BuOH esetében, ahol minimum értéket ért el. Érdekes megfigyelnünk, hogy az **5a-5b** minta esetén a minimum az EtOH alkalmazásakor jelenik meg Amylose-2 kolonnán, míg az **5c-5d** analóg viselkedése eltérő. A vizsgált alkoholok apoláris karaktere a következő sorrendben növekszik: MeOH < EtOH < PrOH < 2-PrOH < BuOH < *t*-BuOH. A növekvő szénatomszám (apolaritás) kedvezőtlen a poláris minta és az apoláris mozgófázis közötti kölcsönhatások kialakításához, az eredmény a retenció növekedése. Ez a viselkedés különösen kifejezett *t*-BuOH esetén. Ebben az esetben a nagy térkitöltésű *t*-butilcsoport gátló szterikus hatása valószínűleg hozzájárult a minta és a mozgófázis közti csökkent kölcsönhatáshoz, mely a retenció jelentős növekedéséhez vezetett. A BuOH esetében a várt nagy k értéktől való eltérés, a molekulák eltérő szolvatáló képességének tulajdonítható, mely a molekulaalak és molekulaméret függvénye. Wang és Winslow [100] poliszaharid-típusú állófázisokat tanulmányozva arra a következtetésre jutott, hogy a szolvatáció révén a különböző minőségű alkoholok különböző mértékben változtatják meg az állófázisok felületét és a kölcsönhatások kialakítását tovább bonyolítja, hogy a különböző minőségű alkoholok a mintamolekulákat különbözőképpen szolvatálják.

Az alkohol minősége jelentős hatással bírt nemcsak a retencióra, hanem a szelektivitásra és felbontásra is, azaz a nemkirális és királis kölcsönhatások viszonya jelentősen függött az alkohol minőségétől. Általánosan elmondható, hogy a Cellulose-1 kolonnán az **1** és **5** anyagok enantiomer párjaira nézve a szelektivitási tényező (α) a retenciós faktorhoz hasonlóan változott, azaz növekedett az alkohol szénatomszámának növekedésével, a BuOH esetén fellépő minimumot kivéve. A viszkozitás értékeket figyelembe véve, azonban a BuOH és *t*-BuOH alkalmazása nem előnyös. Az Amylose-2 királis oszlopon a szelektivitás értékei különféleképpen változtak, melyre általános következtetést nem tudtunk megfogalmazni. A MeOH jelenlétében tapasztalt kiugró szelektivitás (és felbontás) az **1c-1d** és **5c-5d** enantiomerpár esetén már más poliszacharid-típusú kolonnán is megfigyelhető volt [101]. Az Amylose-2 kolonna nagyobb szénatomszámú alkoholok alkalmazásakor az **5c-5d** enantiomerpárra nem mutatott szelektivitást.

A felbontás változása az alkohol minőségének függvényében változó képet mutat. A Cellulose-1 kolonnán az R_S értéke folyamatosan növekedett az alkohol szénatomszámának növekedésével, azonban BuOH alkalmazása esetén a csökkenés itt is megfigyelhető volt (**14. ábra**). Az Amylose-2 kolonnán az R_S értékek változása a két anyag viszonylatában eltérő volt a Cellulose-1 kolonnán tapasztalttól.

Vizsgáltuk a hőmérséklet kromatográfiás adatokra gyakorolt hatását Cellulose-1 oszlopon mind az öt aminonaftol analóg esetén 5 °C – 40 °C tartományban, a **2c-2d** enantiomerpár esetén - 5 °C – 80 °C hőmérséklet tartományban is (**4. Táblázat**).

Egy adott eluens összetételnél, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), a hőmérséklet emelkedésével a retenciós faktor minden általunk vizsgált anyagnál csökkent. Ez annak tulajdonítható, hogy nagyobb hőmérsékleten a rendszer belső energiája nagyobb, ezáltal a vegyületek hőmozgása nő, így könnyebben legyőzik az állófázissal kialakított kölcsönhatásokat. A szelektivitás illetve a felbontás a hőmérséklet emelkedésével, a retenciós faktoralal párhuzamosan csökkent. Kivételt képezett a **3c-d** analóg, ahol nem tapasztaltunk elválasztást, illetve a **2c-2d** analóg, melyre -5 °C – 15 °C tartományban a szelektivitás és felbontás először csökkent, majd 70 °C után kismértékben nőtt a hőmérséklet emelkedésével (**4. Táblázat**).



15. ábra.

A **3** analóg **a-b** enantiomerjeinek $\ln k$ értékei $1/T$ függvényében.

Kolonna, Lux Cellulose-1; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm.

A van't Hoff egyenlet segítségével grafikus úton meghatároztuk az elválasztást kísérő standard entalpia, standard entrópia és standard szabadentalpia változás értékeit, ahol a $-\Delta H^\circ/R$ az egyenes meredekségével, míg a $\Delta S^\circ/R + \ln \varphi$ a tengelymetszettel egyezik meg. A **15. ábra** a **3a-3b** analóg példáján mutatja be a van't Hoff egyenlet grafikus ábrázolását.

4. Táblázat. Különböző hőmérsékleten mért kromatográfiás adatok Cellulose-1 oszlopon

Minta	Eluens	k_I , α , R_S	Hőmérséklet (°C)					
			5	10	15	20	30	40
1a,1b	a	k	1,22	1,10	1,04	0,95	0,78	0,66
		α	1,39	1,32	1,27	1,25	1,17	1,12
		R_S	3,43	2,73	2,48	2,25	1,33	0,99
1c,1d	a	k_I	1,48	1,33	1,23	1,10	0,92	0,74
		α	1,29	1,28	1,27	1,26	1,24	1,23
		R_S	2,86	2,79	2,77	2,26	2,21	2,14
2a,2b	a	k	2,69	2,23	2,09	1,77	1,50	1,23
		α	1,76	1,68	1,65	1,54	1,52	1,41
		R_S	5,14	5,12	4,97	4,70	4,49	4,08
2c,2d	a	k_I	1,51	1,33	1,17	1,16	0,98	0,82
		α	1,12	1,06	1,00	1,00	1,00	1,00
		R_S	1,54	0,78	0,00	0,00	0,00	0,00
2c,2d	b	k	2,89	2,48	-	2,23	1,99	1,70
		α	1,09	1,08	-	1,00	1,03	1,09
		R_S	1,16	0,93	-	0,00	0,60	1,18
3a,3b	a	k_I	0,81	0,75	0,68	0,63	0,54	0,47
		α	1,22	1,20	1,18	1,17	1,15	1,13
		R_S	1,88	1,49	1,38	1,24	1,00	0,84
3c,3d	a	k_I	1,61	1,43	1,27	1,16	0,98	0,82
		α	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		R_S	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4a,4b	a	k_I	3,50	3,30	3,13	2,91	2,52	2,16
		α	2,07	1,99	1,93	1,85	1,74	1,65
		R_S	7,66	7,64	7,61	7,58	7,53	7,35
4c,4d	a	k_I	6,16	5,62	5,15	4,65	3,84	3,17
		α	1,40	1,37	1,35	1,32	1,27	1,23
		R_S	4,11	4,08	4,05	3,96	3,84	3,33
5a,5b	a	k_I	8,06	7,50	6,95	6,57	5,45	4,78
		α	1,17	1,16	1,15	1,13	1,11	1,09
		R_S	1,79	1,76	1,74	1,67	1,64	1,06
5c,5d	a	k_I	8,92	8,28	7,48	6,82	5,92	5,01
		α	1,88	1,83	1,79	1,75	1,69	1,60
		R_S	9,66	7,66	7,10	7,04	7,00	6,60

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Lux Cellulose-1; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm.

4. Táblázat (folytatás). Különböző hőmérsékleten mért kromatográfiás paraméterek értékei Lux Cellulose-1 oszlopon

Minta	Eluens	k_I , α , R_S	Hőmérséklet (°C)					
			-5	0	50	60	70	80
2c,2d	a	k_I	1,80	1,67	0,69	0,60	0,50	0,43
		α	1,16	1,15	1,00	1,00	1,05	1,12
		R_S	1,75	1,60	0,00	0,00	0,37	0,44
2c,2d	b	k_I	-	2,97	1,47	-	-	-
		α	-	1,13	1,15	-	-	-
		R_S	-	1,90	1,90	-	-	-

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Lux Cellulose-1; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mlper⁻¹; detektálás, 230 nm.

A hőmérsékletfüggésből számolt termodinamikai adatokat az **5. Táblázatban** foglaltuk össze. A ΔH° és ΔS° ($\Delta S^\circ = \Delta S^\circ + R \ln \phi$) értékek minden vegyületnél negatívnak adódtak. A kialakuló kölcsönhatások standard entalpiaváltozás szempontjából kedvezményezettek, de a standard entrópiaváltozás szempontjából már nem. A negatív standard entrópia a rendezettség növekedését fejezi ki (a molekula több ponton kötődik az állófázishoz) de ezt a standard entalpiaváltozás mértéke meghaladta, így a standard szabadentalpia változás negatívnak adódott.

Ha az öt vegyület tekintetében elemezzük eredményeinket, megfigyelhető hogy heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél a $-\Delta H^\circ$ értékek nem nagyon különböznek egymástól, 10 és 20 kJ mol⁻¹ tartományban vannak.

A két enantiomerre vonatkozó entalpia- és entrópiaváltozás különbségeket tekintve, a $-\Delta(\Delta H^\circ)$ értékei 1,0 és 4,7 kJ mol⁻¹ tartományban változtak. A **4a-4b** kölcsönhatása a Cellulose-1 állófázissal a legnagyobb $-\Delta(\Delta H^\circ)$ értéket eredményezte, míg **1c-1d** enantiomerpárra a legkisebb $-\Delta(\Delta H^\circ)$ adódott. A $-\Delta(\Delta S^\circ)$ értéke 1,6 és 11,0 J mol⁻¹ K⁻¹ tartományban volt, és a **2a-2b** és **4a-4b** analógok $-\Delta(\Delta S^\circ)$ értéke volt a legnagyobb (**5. Táblázat**). A $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékét nagyrészt az állófázishoz kötött két enantiomerre vonatkozó szabadsági fokok különbsége valamint az állófázishoz való kötődés során felszabaduló oldószer molekulák száma határozza meg.

A $-\Delta(\Delta G^\circ)_{298}$ értéke azt sugallja (**5. Táblázat**), hogy a **2a-2b** (naftilgyűrűt tartalmazó analóg) és a **4a-4b** és az **5c-5d** analógok (piridil-csoportot tartalmazó enantiomerpár ahol a N-atom 3 vagy 4 helyzetben van) igen hatékonyan kötődnek a szelektorhoz.

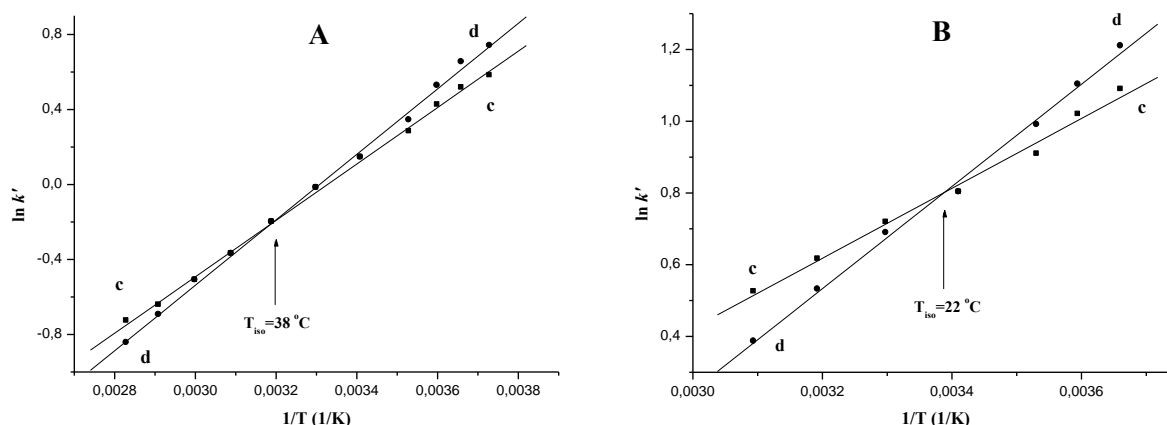
A heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél az **5. Táblázat** adatai alapján számoltuk a T_{iso} hőmérsékletet, ahol az enantioszelektivitás megszűnik és az elúciós sorrend megfordul.

5. Táblázat. Termodinamikai adatok, ΔH° , ΔS° , $\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$, $\Delta(\Delta G^\circ)$, korrelációs együttható (R^2) és T_{iso} hőmérséklet értékei Cellulose-1 kolonnán

Minta	Eluens	Sztereo-izomer	$-\Delta H^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta S^\circ$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	Korr. koeff. (R^2)	$-\Delta(\Delta H^\circ)$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta(\Delta S^\circ)$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	$-\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ (kJ mol ⁻¹)	T_{iso} (°C)
1	a	b(1)	14,0	48,2	0,9955	3,0	8,7	0,5	80
		a(2)	17,0	56,9	0,9991				
	a	c(1)	14,1	47,2	0,9961	1,0	1,6	0,5	373
		d(2)	15,1	48,8	0,9966				
2	a	a(1)	15,6	48,1	0,9911	4,3	11,0	1,0	121
		b(2)	20,0	59,1	0,9904				
	a	c(1)*	12,6*	41,8*	0,9970	2,0*/-2,0**	6,5*/-6,5**	>0,2* _(273K) 0,1** _(323K)	38
		d(2)*	14,6*	48,3*	0,9997				
	b	c(1)*	8,1*	20,8*	0,9908	3,7*/-3,7**	12,7*/-12,7**	>0,2* _(273K) 0,4** _(323K)	22
		d(2)*	11,8*	33,5*	0,9965				
3	a	b(1)	11,4	42,8	0,9997	1,6	4,0	0,4	117
		a(2)	13,0	46,8	0,9995				
	a	c(1)	13,8	45,8	0,9988	-	-	-	-
		d(2)	13,8	45,8	0,9988				
4	a	b(1)	10,0	25,4	0,9980	4,7	10,8	1,5	160
		a(2)	14,7	36,3	0,9987				
	a	c(1)	13,8	34,3	0,9903	2,8	7,2	0,7	114
		d(2)	16,6	41,5	0,9964				
5	a	b(1)	11,0	22,0	0,9947	1,5	4,1	0,3	93
		a(2)	12,5	26,1	0,9963				
	a	d(1)	12,0	24,7	0,9983	3,2	6,1	1,4	244
		c(2)	15,1	30,8	0,9984				

Kromatográfiai körülmények: kolonna, Lux Cellulose-1; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH /DEA=98/2/0,1 (v/v/v); (1) és (2), elsőként és másodikként eluálódó enantiomer; áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás 230 nm; $\Delta S^\circ = \Delta S^\circ + R \ln \varphi$ ahol φ a fázisarány; R^2 , $\ln k-1/T$ függvény korrelációs együtthatója. A vizsgált hőmérséklettartomány: 5 °C - 40 °C; **2c-d** esetén: -5 °C - 80 °C; * T_{iso} hőmérséklet alatt; ** T_{iso} hőmérséklet felett

A legtöbb esetben a T_{iso} hőmérséklet jóval meghaladja a szobahőmérsékletet; entalpiavezérelt elválasztást tapasztalunk. A **2c-2d** enantiomerpárra a T_{iso} hőmérséklet 38 °C (**16. A. ábra, 5. Táblázat**). -5 °C-tól kezdődően α csökkent a hőmérséklet emelésével majd a T_{iso} hőmérséklet közelében, egy tartományban elválasztást nem tapasztalunk. Tovább emelve a hőmérsékletet α újra nőtt, de már ellentétes elúciós sorrendben váltak el az enantiomerek. Ez már az irodalmi bevezetőben is említett, Yao és mtsainak [78] méréseihez hasonlóan az izo-enantioszelektív hőmérséklet (T_{iso}) környékét jelzi, ahol az enantiomereket csak az úgynevezett láthatatlan régió túl tudjuk elválasztani. A **2c-2d** aminonaftol analóg esetében heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél ez a tartomány 20 °C és 60 °C között volt (**16. A. ábra**).



16. ábra.

A 2 aminonaftol analóg **c-d** enantiomerjeinek $\ln k$ értékei $1/T$ függvényében
 Kolonna, Lux Cellulose-1; eluens összetétel, **A**, heptán/2-PrOH/DEA=90/10/0,1 (v/v/v), **B**, heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás 230 nm

Ha megnézzük az **5. Táblázatban** szereplő $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékeket, láthatjuk, hogy negatívak, azaz elválasztásnál az entalpiaváltozás dominál. A **2c-2d** analóg esetén azonban a $\Delta(\Delta H^\circ)$ és $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékei a T_{iso} hőmérséklet alatt negatív, a T_{iso} hőmérséklet felett pedig pozitív értékeket mutattak. Ha elérjük a T_{iso} hőmérsékletet az entalpia hozzájárulást az entrópia változása kompenzálja. Ekkor az $\alpha=1$ tehát a két enantiomer nem választható el. A T_{iso} hőmérséklet feletti tartományban azonban a folyamatot az entrópiaváltozás határozza meg, az enantiomerek újra elválaszthatóak, az elúciós sorrend pedig megfordul. Ezt a jelenséget mutatja a **16. A. ábra**.

A **16. A. ábrán** és a **4. Táblázatban** bemutatott adatok alapján az említett enantiomerek kis és nagy hőmérsékleten kis felbontással, rövid időkülönbséggel eluálódtak, így a retenciók idők szórásából adódóan az elúciós sorrend egyértelmű meghatározása kétséges. Heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél különböző hőmérsékleteken megismételve a **2c-2d** enantiomerpár elválasztását mind kis mind nagy hőmérsékleten a szelektivitás (és felbontás) jelentősen javult és a „hőmérséklet indukált láthatatlan régió” jelentősen szűkült (**16. B. ábra**). A racém mintához **2c** enantiomert keverve a csúcsterületek arányából egyértelműen bizonyítható volt az elúciós sorrend változása a T_{iso} hőmérséklet környezetében. A heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) eluens összetételénél kivitelezett mérésekkel újabb példán bizonyítottuk, hogy lehetséges az enantiomerek alapvonalra történő elválasztása mind az entalpia-, mind az entrópiavezérelt hőmérséklet tartományban. Ezen mérésekre kapott kromatogramokat a **Függelék 11.1.1.** részében mutatom be.

Mint azt már a korábbiakban említettem, az aminonaftolok biológiai és katalitikus

aktivitása erősen függ az adott analóg konfigurációjától. Nyilvánvaló, hogy szükségünk van egy adott vegyület mind a négy enantiomerjének egy kromatogramon belüli elválasztására és azonosítására. A **11.1.2. Függelékben** elhelyezett kromatogramok szemléltetik az öt aminonaftol analóg enantiomerjeinek elválasztását különböző kromatográfias körülmények között (**6. Táblázat**).

A sztereoizomerek elúciójának sorrendje függ az anyagi minőségtől, illetve az alkalmazott – cellulóz vagy amilóz alapú – kolonnától. Mind az öt anyagunk esetén meghatároztuk az elúciós sorrendet, de tapasztalataink szerint általános szabályszerűség nem állapítható meg.

6. Táblázat

Optimalizált retenciós faktor (k), felbontás (R_S) és elúciós sorrend Cellulose-1 oszlopon

Minta	Eluens (v/v/v)	k_1	k_2	k_3	k_4	R_{S1}	R_{S2}	R_{S3}	Elúciós sorrend
1	a	1,16	1,40	1,59	1,77	1,50	1,55	1,40	$b < c < a < d$
2	b	0,78	0,93	1,68	2,66	1,35	5,71	5,20	$c < d < a < b$
3	c	1,76	2,25	4,01	4,46	2,30	6,48	1,50	$b < a < d < c$
4	d	9,16	15,28	17,83	21,18	12,55	3,63	2,83	$b < c < a < d$
5	e	21,64	25,70	31,29	52,85	2,35	3,16	9,86	$b < d < a < c$

Kromatográfias körülmények: eluens összetétel, **a**, heptán/*t*-BuOH/DEA = 95/5/0,1 (v/v/v); **b**, heptán/PrOH/DEA = 99/1/0,1 (v/v/v); **c**, heptán/*t*-BuOH/DEA = 99/1/0,1 (v/v/v); **d**, heptán/MeOH/DEA = 98/2/0,1 (v/v/v); **e**, heptán/2-PrOH/DEA = 95/5/0,1 (v/v/v); hőmérséklet **1**, **2**, **4** és **5** esetén 25,0°C, **3** esetén 5 °C; áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm.

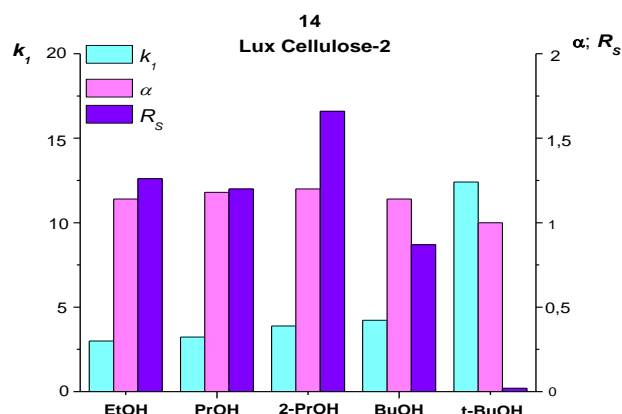
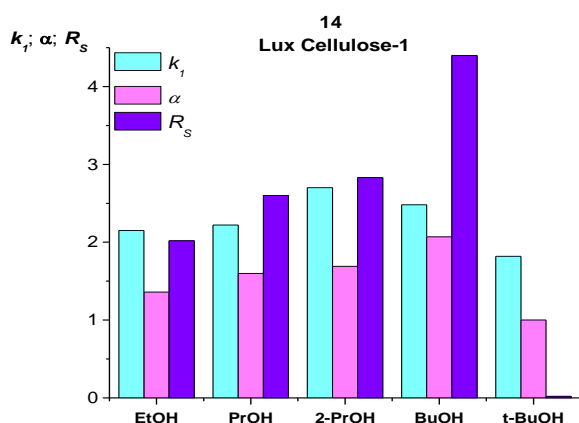
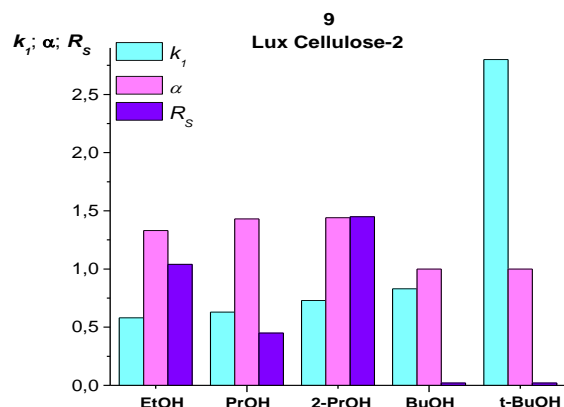
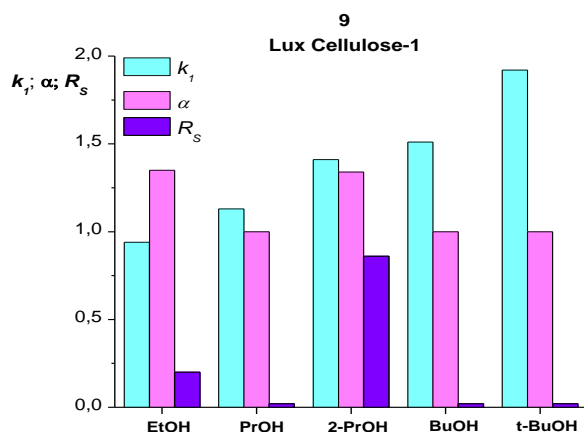
5.1.2. Egy kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása poliszacharid alapú állófázisokon

A vizsgált nyolc, úgynevezett hidroxinaftol-szubsztituált- α -aminosav és azok észtereinek szerkezeti képletét a **11. ábrán** tüntettem fel. Ezek az anyagok egy aszimmetria centrumot tartalmaznak és két csoportba oszthatjuk az alapján, hogy a naftalin gyűrű mely szénatomja szubsztituált az –OH csoporttal. Ennek alapján megkülönböztetünk 2-naftol és 1-naftol analógokat.

Az enantiomer párok elválasztásához az előzőekhez hasonlóan normál fázisú folyadékkromatográfiás körülményeket választottunk Cellulose-1, Cellulose-2, Cellulose-3, Cellulose-4 és Amylose-2 királis oszlopok alkalmazásával. Az eluens apoláris komponense 95-70% heptán volt, mely 5-30%-ban tartalmazott poláris módosítót, illetve 0,1%-ban DEA-t. Az eluensösszetétel hatását ebben az esetben is vizsgáltuk, amelyre most nem térnek ki részletesebben, a mérési eredmények közleményünkben megtalálhatóak [97]. Tipikus normál fázisú viselkedést figyelhettünk meg itt is.

Az alkohol minőségének hatását a **17. ábrán** szemléltetjük. Vizsgálatainkat a **9** illetve **14** vegyületeinkre terjesztettük ki, Cellulose-1 illetve Cellulose-2 oszlopon, ahol a mozgófázis poláris komponense az EtOH, PrOH, 2-PrOH, BuOH és *t*-BuOH voltak. Az előzőekhez hasonlóan a mozgófázis alkohol koncentrációját állandó értéken tartottuk, amely $2,6 \times 10^{-1}$ mol dm⁻³ volt, ami megfelel 20% 2-PrOH tartalomnak.

Láthatjuk, hogy az elsőként eluálódó komponens retenciós faktora (k_1) nőtt az alkohol szénlánc hosszának növekedésével, kivéve a **14** mintát Cellulose-1 oszlopon, ahol maximumgörbe szerint változott. A vizsgált alkoholok apoláris karaktere a szénlánc növekedésével, elágazásával növekszik. A növekvő apolaritás pedig amint azt már említettem, kedvezőtlen a poláris minta és az apoláris mozgófázis közötti kölcsönhatások kialakításához, amely a retenció növekedését eredményezi. A **14** minta esetén a retenció maximuma a 2-PrOH alkalmazásakor figyelhető meg. Ekkor a BuOH és *t*-BuOH esetében kapott kisebb k érték magyarázata az alkoholok eltérő szolvatáló képességében rejlik, mely függhet a molekula szerkezetétől. Nem szabad azonban figyelmen kívül hagynunk, hogy a különböző alkoholok megváltoztathatják az állófázis felületét, mellyel a szelektivitás is változhat.



17. ábra.

Az alkohol minőségének hatása a királis elválasztásra

Kolonna: Cellulose-1 és Cellulose-2; vizsgált analógok, **9** és **14**; eluens összetétel: n-heptán/alkohol/DEA; alkohol koncentráció: $2,6 \times 10^{-1}$ M, áramlási sebesség, $0,5 \text{ ml perc}^{-1}$; detektálás 230 nm

Láthatjuk azonban, hogy a nagyobb retencióval nem párosultak nagyobb szelektivitás és felbontás értékek. A *t*-BuOH esetén például a nagy visszatartás ellenére egyáltalán nem tapasztaltunk elválasztást, ugyanakkor megfigyelhetjük, hogy 2-PrOH használata során a szelektivitás és felbontás tekintetében jobb eredményeket kaptunk, azért is történtek a különböző vizsgálatok ezen alkohol alkalmazása mellett.

A hőmérséklet hatását az 1-és 2-naftol analógok kromatográfiás paramétereire a **7**, **9**, **10**, **12**, **14**, **15** vegyületeken keresztül vizsgáltuk, adott eluens összetétel mellett, 5°C és 50°C hőmérséklet tartományban, mind Cellulose-1 illetve Cellulose-2 oszlopon. A kapott eredmények a **7. Táblázatban** láthatóak.

7. Táblázat. Különböző hőmérsékleten mért kromatográfiás paraméterek értékei Cellulose-1 illetve Cellulose-2 oszlopon.

Minta	Kolonna	k_I, α, R_S	Hőmérséklet (°C)					
			5	10	20	30	40	50
7	1	k_I	2,80	2,34	1,75	1,12	0,87	0,67
		α	2,21	2,11	1,83	1,73	1,55	1,43
		R_S	1,65	1,59	1,09	0,60	0,50	0,30
9	1	k_I	2,17	1,83	1,52	1,21	1,12	0,91
		α	1,75	1,63	1,39	1,22	1,00	1,00
		R_S	2,48	2,31	2,23	1,03	0,00	0,00
10	1	k_I	2,36	2,00	1,42	1,08	0,85	0,58
		α	1,00	1,07	1,18	1,26	1,34	1,48
		R_S	0,00	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30
12	1	k_I	8,78	8,75	6,16	5,18	4,41	4,02
		α	1,14	1,15	1,18	1,20	1,21	1,23
		R_S	0,30	0,40	0,68	0,71	1,07	1,22
14	1	k_I	4,98	4,74	4,09	3,61	3,15	2,67
		α	1,29	1,31	1,32	1,35	1,37	1,39
		R_S	0,96	1,00	1,15	1,32	1,35	1,90
15	1	k_I	3,60	3,30	2,84	2,53	2,24	1,98
		α	1,40	1,42	1,45	1,48	1,51	1,53
		R_S	1,50	1,52	1,54	1,66	1,94	2,30
7	2	k_I	2,19	1,88	1,36	1,00	0,81	0,68
		α	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
		R_S	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	2	k_I	0,95	0,84	0,61	0,48	0,38	0,31
		α	1,42	1,44	1,49	1,54	1,56	1,61
		R_S	2,55	2,50	2,23	1,46	1,25	1,15
10	2	k_I	0,75	0,66	0,53	0,38	0,30	0,24
		α	1,60	1,64	1,69	1,72	1,76	1,79
		R_S	1,77	1,53	0,67	0,65	0,63	0,48
12	2	k_I	6,66	6,08	5,12	4,47	3,93	3,65
		α	1,29	1,29	1,25	1,23	1,21	1,19
		R_S	1,87	1,51	1,31	1,26	1,24	1,20
14	2	k_I	4,78	4,46	3,77	3,32	2,98	2,78
		α	1,25	1,24	1,20	1,18	1,16	1,14
		R_S	1,30	1,23	1,05	0,96	0,90	0,86
15	2	k_I	4,80	4,71	3,89	3,31	2,95	2,66
		α	1,22	1,21	1,19	1,17	1,16	1,15
		R_S	1,34	1,20	1,16	0,94	0,89	0,78

Kromatográfiás körülmények: kolonna, (1) Cellulose-1;és (2) Cellulose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm.

A retenciós faktorok értékei minden esetben csökkentek a hőmérséklet emelkedésével. A szelektivitás és felbontás értékei a Cellulose-1 oszlopon **7, 9**, valamint a Cellulose-2 oszlopon a **12, 14, 15** vegyületek esetében csökkentek. Mindemellett azt is megfigyelhetjük, hogy Cellulose-1 királis kolonnán a **10, 12, 14, 15** a Cellulose-2 kolonnán pedig a **9, 10** minták vizsgálatakor az α értékei nőttek a hőmérséklet emelkedésével, mellyel párhuzamosan – a **9, 10** minták kivételével – a felbontás is növekedett. Ez egy számunkra előnyös folyamat, hiszen nagyobb hőmérsékleten, rövidebb analízis idő alatt, hatékonyabb elválasztást tudunk megvalósítani. Ha az előző fejezetben már ismertetett van't Hoff egyenletet alkalmazzuk, megfigyelhető, hogy mindez az entrópia vezérelt elválasztás jelenségéhez köthető. A retenciós faktorok természetes alapú logaritmusának értékeit ábrázolva a hőmérséklet reciprokanak függvényében, a ΔH° , ΔS° értékeit kapjuk meg (**8. Táblázat**). Ezek az értékek minden vegyületnél negatívnak adódtak, vagyis itt is elmondhatjuk, hogy a kialakuló kölcsönhatások a standard entalpia-változás szempontjából kedvezményezettek.

A $-\Delta(\Delta H)^\circ$ értékei a Cellulose-1 oszlopon $10,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -tól $-6,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ tartományig mozogtak, míg Cellulose-2 királis kolonnán ezek az értékek $1,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ és $-2,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ közé estek. A **9** vegyület Cellulose-1 oszlopon, míg a **14** minta a Cellulose-2 kolonna királis szelektorával történő kölcsönhatása eredményezte a legnegatívabb $\Delta(\Delta H)^\circ$ értéket. A negatív standard entrópia változás különbségek a Lux Cellulose-1 oszlopon **7, 9** minták esetében, míg Cellulose-2 kolonnán a **12, 14, 15** vegyületek esetében jelent meg. A **8. Táblázat** adatai alapján láthatjuk, hogy néhány esetben a $\Delta(\Delta H)^\circ$ és $\Delta(\Delta S)^\circ$ értékei pozitívak. Ezek a T_{iso} hőmérséklet feletti tartományt jelzik, vagyis az entrópia vezérelt elválasztások folyamatát.

Ezt a **10** vegyület kromatográfiás paramétereinek hőmérséklet hatására bekövetkező változásán keresztül, a **11.2.2. Függelékben** található kromatogramokon szemléltetem.

8. Táblázat. Termodinamikai adatok, ΔH° , ΔS° , $\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$, $\Delta(\Delta G^\circ)$, korrelációs együttható (R^2) és T_{iso} hőmérséklet értékei Cellulose-1 és Cellulose-2 oszlopán

Minta	Kolonna	$-\Delta H^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta S^\circ$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	Korr. koeff. (R^2)	$-\Delta(\Delta H^\circ)$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta(\Delta S^\circ)$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	$-\Delta(\Delta G^\circ)_{298K}$ (kJ mol ⁻¹)	T_{iso} (°C)
7	1	24,3	78,6	0,9953	7,3	19,6	1,4	99
		31,6	98,2	0,9986				
9	1	13,6	42,8	0,9909	10,1	31,5	0,7	46
		23,7	74,3	0,9965				
10	1	22,5	73,7	0,9949	-6,2	-22,5	0,5	4
		16,3	51,2	0,9944				
12	1	12,8	28,2	0,9928	-1,3	-5,7	0,4	-48
		11,5	22,5	0,9927				
14	1	10,2	23,3	0,9929	-1,1	-6,3	0,7	-90
		9,1	17,0	0,9906				
15	1	9,8	24,6	0,9986	-1,5	-8,2	0,9	-91
		8,3	16,4	0,9973				
7	2	19,9	65,2	0,9938	-	-	-	-
		19,9	65,2	0,9938				
9	2	18,7	67,8	0,9985	-2,1	-10,5	1,0	-72
		16,6	57,4	0,9983				
10	2	19,1	71,1	0,9953	-1,8	-10,4	1,3	-100
		17,3	60,6	0,9934				
12	2	10,2	21,1	0,9926	1,5	3,3	0,5	187
		11,7	24,4	0,9939				
14	2	9,3	20,4	0,9905	1,6	3,7	0,4	141
		10,8	24,2	0,9912				
15	2	10,4	24,2	0,9911	1,1	2,1	0,4	217
		11,5	26,4	0,9915				

Kromatográfiás körülmények: kolonna, (1) Cellulose-1, (2) Cellulose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v), áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 230 nm; $\Delta S^\circ = \Delta S^\circ + R \ln \varphi$ ahol φ a fázisarány; R^2 , $\ln k - 1/T$ függvény korrelációs együtthatója. A vizsgált hőmérséklettartomány: 5 °C - 50 °C.

5.1.3. A kémiai szerkezet és a kromatográfiás viselkedés összefüggése

A vizsgált aminonaftol analógok három alcsoportra oszthatók. Az első alcsoportban az **1** vegyület mindkét szubsztituense (R_1 és R_2) fenilcsoportot, míg a **2** vegyület egyik szubsztituense (R_1) fenilcsoportot, másik (R_2) pedig naftilcsoportot tartalmaz (**10. ábra**). Az aminonaftolok másik vegyületcsaládjába tartozó **3**, **4** és **5** anyag R_1 szubsztituensként olyan fenilcsoportot tartalmaz, ahol egy N -atom található a gyűrűben különböző helyzetben, míg R_2 szintén fenilcsoportot takar. A harmadik csoportba pedig azon aminonaftol analógok tartoznak, amelyek észterezés által metil-észter, etil-észter, propil-észter illetve izopropil-észter szubsztituenset tartalmaznak akár az 1- vagy 2-naftol analógról legyen szó (**11. ábra**). A szubsztituensek minősége és helyzete befolyásolja a minták polaritását, térbeli szerkezetét és ezzel kromatográfiás viselkedését.

A Cellulose-1 kolonnán azonos eluens összetételnél összehasonlítva az első alcsoportba tartozó minták (**1a-1d**, **2a-2d**) retenciós faktorait megállapítható, hogy a naftilcsoportot tartalmazó azonos konfigurációjú analógok általában nagyobb k értékkel rendelkeztek (**3. Táblázat**). Ennek valószínű magyarázata, hogy a naftilcsoport jelenléte erősebb π - π kölcsönhatást eredményezett az állófázis dimetilfenil-csoportjával, ezért a retenció növekedett. A nagyobb visszatartás a **2a-2b** enantiomerpár esetén egyúttal nagyobb szelektivitást és felbontást is eredményezett az **1a-1b** enantiomerpárhoz viszonyítva, míg a **2c-2d** enantiomerpárnál kisebb α és R_S értéket tapasztaltunk. Ez valószínűleg szterikus okokra vezethető vissza, a metil- és fenilcsoport azonos térállása nem kedvezett a királis felismerésnek a cellulóz alapú állófázison. Ha az **1** és **2** analógok esetén, a Cellulose-1 állófázison tapasztalt retenciós adatokat azonos eluensösszetételnél (heptán/2-PrOH/DEA=95/5/0,1 v/v/v) a Lux Amylose-2 kolonnán mért adatokkal hasonlítjuk össze, akkor szembejövő, hogy a k , α és R_S értékek az amilóz alapú fázison nagyobbak voltak (kivételez a **2a-b**). Másrészt a retenciós faktorok a naftilcsoportot tartalmazó aminonaftolok esetén ugyan nagyobbak voltak, de ez a legtöbb esetben nem párosult nagyobb α és R_S értékekkel. A két kolonna esetén az eltérés két okra is visszavezethető: egyrészt a konformációs kiralitásra, amely a szénhidrátlánc merev lináris (cellulóz alapú), vagy helikális (amilóz alapú) szerkezetének tulajdonítható, másrészt az Amylose-2 állófázis egy klóratomot is tartalmaz, mely a megnövekedett poláris kölcsönhatások révén növelheti a visszatartást. Ez a nagyobb visszatartás a két enantiomerre nézve nem nagyon különbözött egymástól, ezért az α és R_S értékek nem vagy alig növekedtek a **2a-2b**, **2c-2d** enantiomerpárok **1a-1b** és **1c-1d** enantiomer párokkal való összehasonlításában.

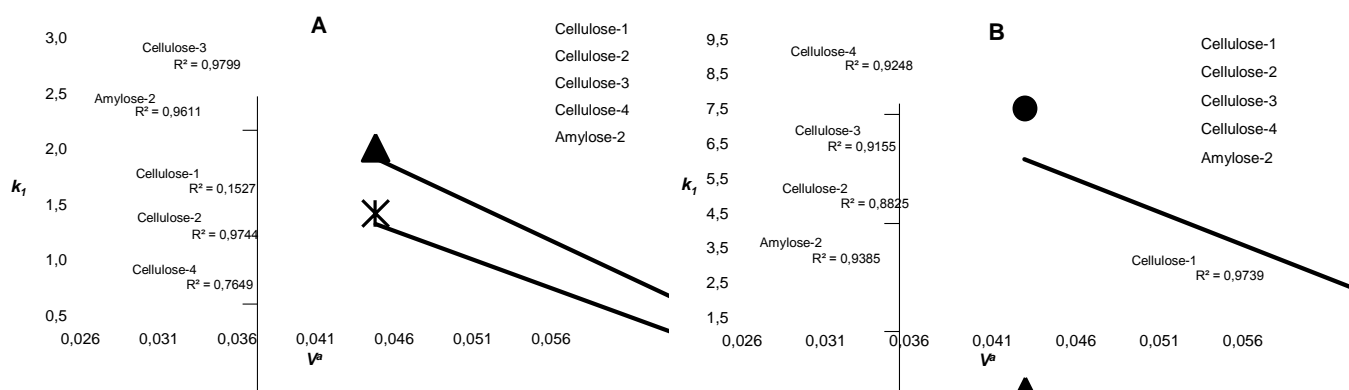
A Cellulose-1 kolonnán azonos eluens összetételnél az **1** mintát összehasonlítva az

aminonaftolok másik vegyületcsaládjába tartozó **3-5** azonos konfigurációjú analógjaival, a **3a-b** analóg k , α és R_S értékei rendre kisebbek voltak az **1** analóghoz viszonyítva. A **3c-3d** enantiomerpár Cellulose-1 kolonnán nem választható el, míg a **4** és **5** analógok jelentősen nagyobb k , α és R_S értékkel rendelkeztek. A **4** és **5** vegyületekhez tartozó nagyobb k , α és R_S adatok valószínűleg a heteroaromás gyűrűnek és benne a N -atom helyzetének köszönhetőek. Az aromás gyűrű elősegítette a π - π kölcsönhatás kialakulását, illetve a nitrogén nemkötő elektronpárja révén lehetőséget teremtett a H-híd kötés kialakulására a szelektorral. A **4** és **5** analógban a N -atom *meta* és *para* helyzete vélhetően szterikus okok miatt kedvezett a királis felismerésnek. A kolonna királis szelektorának struktúrája (lineáris, merev szénhidrátlánc) és a **3** vegyület szerkezete miatt – a nitrogén *orto* helyzetű az aromás gyűrűben - szterikusan gátolt lehet a „mélyen elrejtett” H-híd kialakulása.

A szerkezet-kromatográfiás viselkedés közti kapcsolatot Amylose-2 kolonnán vizsgálva megállapítható, hogy a retenciós faktorok itt mind a három nitrogéntartalmú analóg esetén hasonlóak (**3**) vagy jóval nagyobbak voltak (**4** és **5**) mint az **1** alapvegyületnél. A jelenség a poláris és H-híd kapcsolat kialakítására képes N -atom kedvező helyzetének tulajdonítható. Annak ellenére, hogy a visszatartás a **3a-3b** és az **5c-5d** analógok esetén nagyobb volt, mint a Lux Cellulose-1 kolonnán, a kölcsönhatás az állófázissal a két enantiomerre nézve alig különbözött egymástól, így ezek az enantiomerpárok Amylose-2 kolonnán nem voltak elválaszthatóak egymástól.

Annak érdekében, hogy a harmadik alcsoportba tartozó alkil-észter szubsztituenssel rendelkező aminonaftol analógok szerkezet-hatását tanulmányozzuk a kromatográfiás paraméterekre, az alkil szubsztituensek térkitöltésére jellemző Meyer paraméter értékeit vettük figyelembe. Meyer szerint a szubsztitunsek szterikus hatásai a reakciósebességre a térkitöltést jellemző V^a Meyer-paraméterekkel írhatók le [102].

A **18. ábra** szemlélteti, hogy a lineáris regressziós analízis segítségével, ha a k_I értékeit ábrázoljuk az alkil szubsztituensek V^a értékeinek függvényében, a mérési pontokra egy jó korrelációjú egyenes illeszthető (**A** esetben, Cellulose-1 kivételével), adott eluens összetételnél, különböző kolonnákon. Azok a vegyületek, amelyek nagyobb térkitöltésű alifás oldallánccal rendelkeztek, rövidebb idő alatt eluálódtak, mellyel párhuzamosan a szelektivitás, valamint a felbontás értéke is kisebbnek adódott.



18. ábra.

A Meyer-paraméter függvényében ábrázolt k_1

Kolonna: Cellulose-1, -2, -3, -4 illetve Amylose-2; vizsgált analógok: **7-10 (A)** valamint **12-15 (B)**; eluens összetétel: heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 mlper⁻¹; detektálás, 230 nm

Így megállapítható, hogy a retenciós faktor erősen függ az alkil-csoport nagyságától, térkitöltésétől. A nagyobb terjedelmű szubsztituensek akadályozzák a kölcsönhatást a szelektor és mintamolekula között, mely természetesen a királis felismerésre is hatással lehet. Egyetlen kivételt kaptunk, a **7** minta esetén, amely a metil-észter szubsztituenst tartalmazza. Itt a méréseink a Cellulose-1 oszlopon, a **8-10** vegyületekhez képest viszonylag kisebb k_1 értéket eredményeztek.

5.1.4. Különböző poliszacharid alapú kolonnák elválasztó képességének összehasonlítása

A két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftolok esetén 3 különböző típusú, Cellulose-1, Cellulose-2, illetve Amylose-2 kolonnák összehasonlítását végeztük (**3. Táblázat**), míg az egy kiralitáscentrumot tartalmazó 1-és 2-naftol-észter analógok esetén a rendelkezésre álló 5 különböző típusú – Cellulose-1, -2, -3, -4 illetve Amylose-2 – poliszacharid oszlopokat hasonlítottuk össze (**9. Táblázat**). Az előbbi esetben heptán/2-PrOH/DEA=95/5/0,1 (v/v/v) eluens összetételt alkalmaztunk, míg az utóbbi esetben ez heptán/2-PrOH/DEA =80/20/0,1 (v/v/v) volt.

Amit elsőként észrevehetünk, az amilóz alapú szelektor nem túl hatékony elválasztó képessége. Ugyan mind az egy-, mind a két kiralitáscentrummal rendelkező 2-aminonaftol analógoknál, a legtöbb esetben, a legnagyobb visszatartás értékeket kaptuk, ehhez azonban nem párosultak jó szelektivitás és felbontás értékek. Az egy kiralitáscentrumot tartalmazó 1-és 2-naftol analógok esetén egyáltalán nem tapasztaltunk elválasztást, melynek oka valószínűleg az amilóz helikális térszerkezete lehet. Mindössze az **1a-d**, **2c-d**, **3c-d** és **5a-b** minták esetében tapasztaltunk jobb eredményeket, mint a cellulóz alapú kolonnákon.

A cellulóz alapú állófázisokon, melyek csak a szelektor funkciós csoportjainak helyzetében különböznek [cellulóz-*trisz*-3-klór-4-metilfenilkarbamát (Lux Cellulose-2) és cellulóz-*trisz*-4-klór-3-metilfenilkarbamát (Lux Cellulose-4)], a 2-naftol analógok esetén a kromatográfiás paraméterek értéke nagyobb volt a Cellulose-2 oszlopon. Úgy tűnik, hogy a 2-naftol analógok elválasztásának jobban kedvez a 3-as helyzetben lévő klór-, és 4-es helyzetben lévő metil-szubsztituens.

A szelektivitás és felbontás értékeire az 1-naftol analógok esetén is kedvezőbb a Cellulose-2 szelektorán lévő szubsztituensek elhelyezkedése. Míg a retenciós faktorok értékei a Cellulose-4 oszlopon bizonyultak nagyobbak, jelezve a mintamolekula erősebb kölcsönhatását az állófázissal, de mivel ez nem párosult a szelektivitás és felbontás növekedésével, valószínűsítjük, hogy ez nem sztereoszelektív kölcsönhatás.

A Lux-Cellulose-1 kolonna az 1-naftol analógok tekintetében igen hatékonyak bizonyultak, hiszen a többi cellulóz alapú kolonnával összehasonlítva, itt tapasztaltuk a legkisebb visszatartást, amelyhez a legnagyobb szelektivitás és felbontás értékek tartoztak.

9. Táblázat. A különböző kolonnák alkalmazása esetén kapott retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékek, valamint az elúciós sorrend az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1-és 2-naftol analógok elválasztása során.

Minta	Kolonna	Eluens	k_1	k_2	α	R_s
6	Cellulose-1	80/20/0,1	1,01	1,01	1,00	0,00
	Cellulose-2	80/20/0,1	0,51	0,51	1,00	0,00
	Cellulose-3	80/20/0,1	2,70	2,70	1,00	0,00
	Cellulose-4	80/20/0,1	0,37	0,37	1,00	0,00
	Amylose-2	80/20/0,1	0,60	0,60	1,00	0,00
7	Cellulose-1	80/20/0,1	1,48	2,45	1,65	0,96
	Cellulose-2	80/20/0,1	1,27	1,27	1,00	0,00
	Cellulose-3	80/20/0,1	2,95	3,53	1,19	1,15
	Cellulose-4	80/20/0,1	1,05	1,05	1,00	0,00
	Amylose-2	80/20/0,1	2,76	2,76	1,00	0,00
8	Cellulose-1	80/20/0,1	1,82	2,12	1,17	0,72
	Cellulose-2	80/20/0,1	0,94	1,25	1,33	0,49
	Cellulose-3	80/20/0,1	2,00	3,16	1,58	1,22
	Cellulose-4	80/20/0,1	0,93	1,06	1,14	0,20
	Amylose-2	80/20/0,1	2,04	2,04	1,00	0,00
9	Cellulose-1	80/20/0,1	1,41	1,89	1,34	0,86
	Cellulose-2	80/20/0,1	0,73	1,04	1,43	1,45
	Cellulose-3	80/20/0,1	1,47	2,25	1,53	0,95
	Cellulose-4	80/20/0,1	0,65	0,87	1,34	1,45
	Amylose-2	80/20/0,1	1,55	1,55	1,00	0,00
10	Cellulose-1	80/20/0,1	1,28	1,49	1,16	0,03
	Cellulose-2	80/20/0,1	0,60	0,99	1,68	1,00
	Cellulose-3	80/20/0,1	1,09	1,58	1,45	0,67
	Cellulose-4	80/20/0,1	0,69	0,80	1,16	0,20
	Amylose-2	80/20/0,1	1,33	1,33	1,00	0,00
11	Cellulose-1	80/20/0,1	4,06	3,87	1,45	3,33
	Cellulose-2	80/20/0,1	4,66	6,00	1,29	2,26
	Cellulose-3	80/20/0,1	5,53	5,53	1,00	0,00
	Cellulose-4	80/20/0,1	6,70	7,19	1,07	0,46
	Amylose-2	80/20/0,1	4,11	4,11	1,00	0,00
12	Cellulose-1	80/20/0,1	4,60	5,69	1,24	0,89
	Cellulose-2	80/20/0,1	4,57	7,47	1,63	1,83
	Cellulose-3	80/20/0,1	6,97	6,97	1,00	0,00
	Cellulose-4	80/20/0,1	9,56	9,56	1,00	0,00
	Amylose-2	80/20/0,1	4,50	4,50	1,00	0,00
13	Cellulose-1	80/20/0,1	3,26	4,71	1,45	2,08
	Cellulose-2	80/20/0,1	4,37	5,23	1,20	1,57
	Cellulose-3	80/20/0,1	3,53	4,12	1,17	0,96
	Cellulose-4	80/20/0,1	5,68	6,34	1,12	1,02
	Amylose-2	80/20/0,1	2,79	2,79	1,00	0,00
14	Cellulose-1	80/20/0,1	2,70	4,57	1,69	2,83
	Cellulose-2	80/20/0,1	3,89	4,69	1,20	1,66
	Cellulose-3	80/20/0,1	2,85	3,45	1,21	1,11
	Cellulose-4	80/20/0,1	4,97	5,74	1,16	1,47
	Amylose-2	80/20/0,1	2,50	2,50	1,00	0,00

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Lux Cellulose-1; Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3, Lux Cellulose-4 és Lux Amylose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml per⁻¹; detektálás, 230 nm.

9. Táblázat (folytatás). A különböző kolonnák alkalmazása esetén kapott retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékek, valamint az elúciós sorrend az egy kiralitás centrummal rendelkező 1-és 2-naftol analógok elválasztása során.

Minta	Kolonna	Eluens	k_1	k_2	α	R_s
15	Cellulose-1	80/20/0,1	2,28	4,05	1,78	4,67
	Cellulose-2	80/20/0,1	3,62	4,34	1,20	1,56
	Cellulose-3	80/20/0,1	2,34	2,74	1,17	0,93
	Cellulose-4	80/20/0,1	4,27	5,42	1,27	2,40
	Amylose-2	80/20/0,1	2,11	2,11	1,00	0,00

Kromatográfiás körülmények: kolonna, Lux Cellulose-1; Lux Cellulose-2, Lux Cellulose-3, Lux Cellulose-4 és Lux Amylose-2; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml·perc⁻¹; detektálás, 230 nm.

A Cellulose-1 kolonna két vegyület kivételével az összes – beleértve mindkét naftol családot – enantiomer elválasztására képes, amely ha adott esetben nem is hozza a várt α vagy R_s értékeket, a körülmények változtatásával kellőképpen alakítható. Így abban az esetben, ha több aromás gyűrűvel és több nemkötő-elektronpárral rendelkező nagy elektronegativitású atomot tartalmazó kismolekulák enantiomerjeit szeretnénk elválasztani, a Cellulose-1 kolonnával érdemes elsőként próbálkoznunk 80-90% heptánt tartalmazó eluenssel.

5.2. Ciklofruktán típusú állófázisokon történő elválasztások

Laboratóriumunkban három különböző típusú ciklofruktán állófázis áll rendelkezésünkre, melyek a következők:

✚ A CF6-IP állófázis, ahogyan azt az **5. ábra** is mutatja, egy izopropil-csoportot tartalmazó ciklofruktán. Több megjelent közlemény bizonyítja racém primer-aminokra – így például amino-alkoholokra, amino-amidokra – megvalósuló, kiváló enantioszelektivitását. Továbbá, alapvonal elválasztást tudtak megvalósítani olyan egyszerű alifás racém aminok esetében is, amelyek nem tartalmaztak más funkciós csoportot [40].

✚ A CF6-RN királis állófázis – szintén **5. ábra** – esetében a ciklofruktán 6-os gyűrű *R*-naftiletil-karbamát funkciós csoporttal rendelkezik. Ez az újabb típusú szelektor kiváló enantioszelektivitást mutatott savak, szekunder-, tercier-aminok, illetve alkoholok enantiomerjeinek elválasztása során [40].

✚ A CF7-DMP oszlop az egyetlen forgalomban lévő 7 fruktofuranóz egységet tartalmazó, 3,5 dimetilfenil-karbamát csoporttal funkcionizált ciklofruktán (**5. ábra**). A naftil-gyűrűnek köszönhetően királis felismerése a vegyületek széles spektrumára kiterjed, illetve kimutatták, hogy a CF6-RN oszloppal összehasonlítva egymást kiegészítő enantioszelektivitással rendelkeznek [57].

5.2.1. Egy kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztása ciklofruktán típusú állófázisokon

A **12. ábra** segítségével nyomon követhető, hogy a vizsgálandó vegyületeink egyik csoportját az 1-naftol analógok, míg a másik részét a 2-naftol analógok alkotják. A különböző funkciós csoportoknak köszönhetően, a mintáink képesek lehetnek arra, hogy hidrofób, π - π , dipól-dipól, elektrosztatikus, valamint hidrogén-híd kölcsönhatásokat alakítsanak ki az állófázissal. A méréseink ebben az esetben is normál fázisban történtek, CF6-IP királis állófázis alkalmazásával, 65-90% apoláris, míg 35-10% poláris módosítót tartalmazó eluenssel. Egy kis mennyiségű TFA-t is alkalmaztunk, melyre az amino-csoportok protonálása miatt volt szükség, hisz a koronaéter szelektorok esetén a királis felismerés elengedhetetlen feltétele a vegyület-szelektor komplex kialakulása, mely protonált primer amino-csoportokon keresztül valósul meg. Mindemellett a pozitív töltésű funkciós csoportok képesek kölcsönhatni az ciklofruktán

alegységeken található funkciós csoportokkal is. Tapasztalataink szerint a mozgófázis részét képező alkohol minősége és mennyisége erősen befolyásolja a kromatográfiás viselkedést.

10. Táblázat. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző eluens összetétel mellett.

Minta	Eluens (v/v/v)	k_1	k_2	α	R_s
16	65/35/0,1	2,11	2,11	1,00	0,00
	70/30/0,1	3,35	3,65	1,09	0,65
	75/25/0,1	3,64	3,98	1,09	1,40
17	65/35/0,1	2,28	2,52	1,10	1,15
	70/30/0,1	3,39	3,84	1,13	1,20
	75/25/0,1	4,01	4,57	1,14	1,90
18	75/25/0,1	5,27	5,96	1,13	1,15
19	75/25/0,1	4,55	4,81	1,06	1,05
20	65/35/0,1	2,25	2,43	1,08	0,90
	70/30/0,1	4,14	4,57	1,10	1,00
	75/25/0,1	4,35	4,81	1,11	1,45
21	75/25/0,1	4,41	4,96	1,12	1,65
22	75/25/0,1	7,05	7,30	1,04	0,45
	90/10/0,1	42,14	45,05	1,07	1,70
23	75/25/0,1	3,60	4,14	1,15	1,65
24	75/25/0,1	6,99	7,52	1,08	0,95
	90/10/0,1	37,07	40,90	1,10	1,50
25	75/25/0,1	5,98	6,10	1,02	0,20
	90/10/0,1	22,60	23,19	1,03	0,50
26	75/25/0,1	5,59	5,78	1,03	0,35
	90/10/0,1	20,52	21,34	1,04	0,40
	90/10/0,1*	18,84	19,62	1,04	0,85
27	65/35/0,1	3,11	3,49	1,12	2,00
	70/30/0,1	6,62	7,94	1,20	2,05
	75/25/0,1	7,29	8,86	1,22	2,15
28	75/25/0,1	5,95	7,19	1,21	2,35
29	75/25/0,1	5,09	6,00	1,18	1,80
30	75/25/0,1	4,40	4,40	1,00	0,00
	90/10/0,1*	14,46	15,08	1,04	0,70
31	75/25/0,1	3,09	3,46	1,12	1,55

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v); *heptán/EtOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

Mindegyik minta esetében legalább három, különböző mennyiségű poláris módosítót (2-PrOH-t) tartalmazó eluens összetétel mellett vizsgáltuk, hogy az milyen hatással van a kromatográfiás paraméterekre. Az **16**, **17**, **20**, **27**, **32**, **33** és **36** vegyületek ilyen körülmények között meghatározott értékei a többi minta viselkedését is jól jellemzik, így csak ezen vegyületekhez tartozó adatokat tartalmazza a **10.** és **11. Táblázat**. Ugyanakkor az összes anyagra próbáltuk a kapott legjobb eredményeket bemutatni, így néhány esetben kettő vagy több típusú eluensösszetétel is szerepelhet.

Minden esetben a k értéke növekedett az eluens alkohol tartalmának csökkenésével, amely

egy tipikusan normál fázisú viselkedésre utal. Az alkohol koncentrációja a legtöbb esetben kismértékű hatással volt az enantioszelektivitásra, de mennyiségének csökkentése növelte a szelektivitás és felbontás értékeket.

11. Táblázat. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző eluens összetétel mellett.

Minta	Eluens (v/v/v)	k_1	k_2	α	R_s
32	65/35/0,1	2,13	2,13	1,00	0,00
	70/30/0,1	4,35	4,90	1,12	1,20
	75/25/0,1	5,26	5,88	1,12	1,45
	80/20/0,1	6,03	6,81	1,13	1,50
33	65/35/0,1	2,20	2,47	1,12	2,05
	70/30/0,1	4,01	4,62	1,15	2,15
	75/25/0,1	4,29	4,96	1,16	2,25
34	75/25/0,1	7,63	8,06	1,06	0,55
	90/10/0,1	23,73	25,62	1,09	0,75
35	75/25/0,1	5,52	5,97	1,08	1,20
	75/25/0,1 ♣	7,06	8,00	1,13	1,50
36	65/35/0,1	2,59	2,87	1,11	1,20
	70/30/0,1	4,70	5,17	1,11	1,25
	75/25/0,1	5,90	6,61	1,12	1,55
37	75/25/0,1	5,83	6,80	1,17	2,10
38	75/25/0,1	4,50	5,50	1,22	3,05
39	75/25/0,1	9,55	10,32	1,08	1,10
	80/20/0,1	12,34	13,45	1,09	1,15
40	75/25/0,1	5,78	6,40	1,11	1,25
	75/25/0,1 ♣	6,64	7,89	1,19	1,70
41	75/25/0,1	5,79	6,34	1,09	1,45
	90/10/0,1	22,15	24,58	1,11	1,55
42	75/25/0,1	4,45	4,74	1,06	0,70
	90/10/0,1	13,34	14,27	1,07	0,75

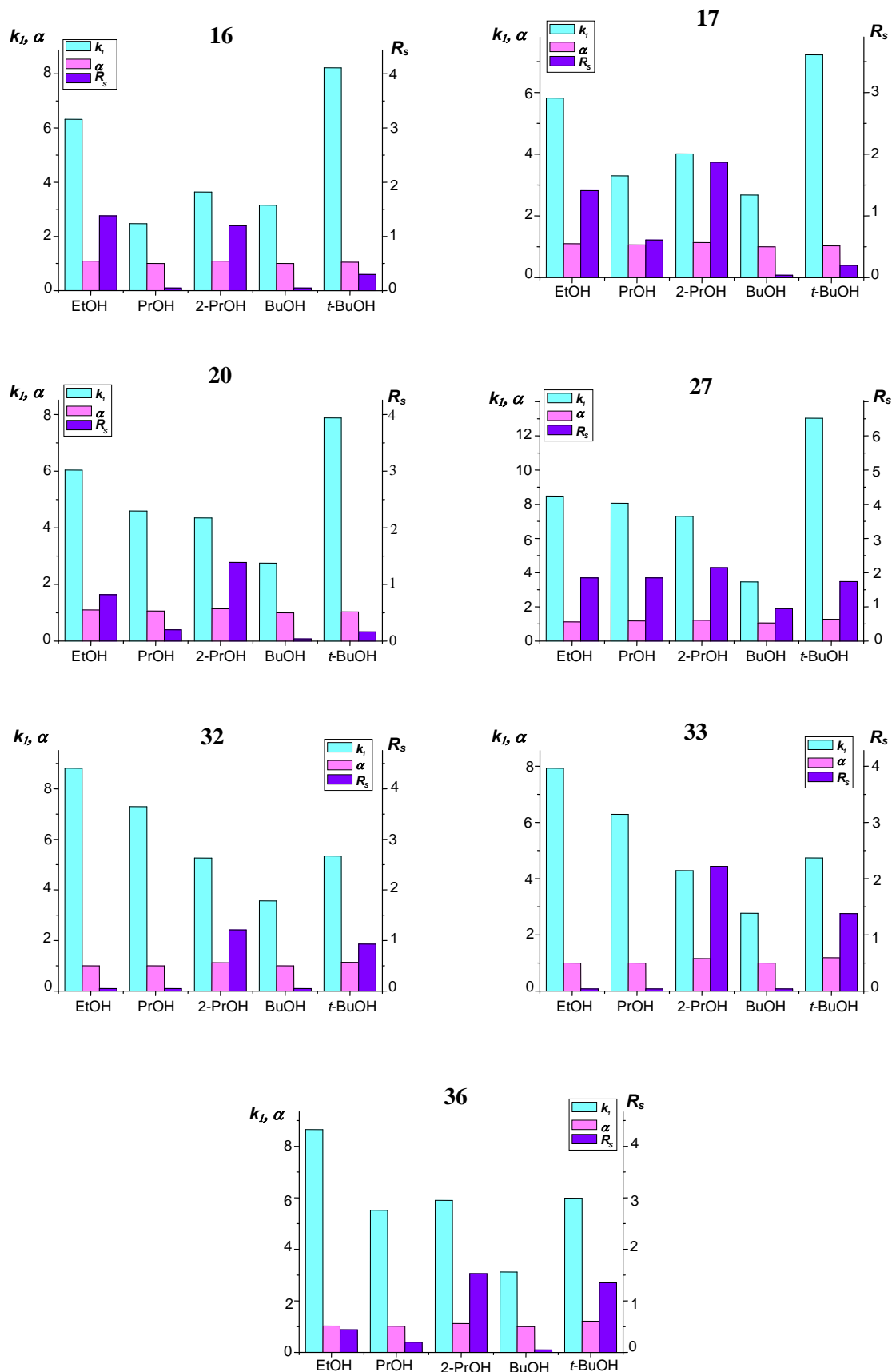
Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹, detektálás: 215 nm; szobahőmérséklet, ♣ hőmérséklet 10 °C.

Összehasonlítva a retenciós paramétereket, az 1-naftol analógokat hatékonyabban választotta el a CF6-IP kolonna. Az 1-naftol származékoknál az aromás oldallánc szterikus elhelyezkedése kedvez a szelektorrall kialakítható kölcsönhatásoknak, azon belül is az enantioszelektív kölcsönhatásoknak, melynek következtében nő a szelektivitás és a felbontás is.

Az alkohol mennyiségén kívül, a minősége is nagymértékben befolyásolja az enantiomerek elválasztását. Ennek tanulmányozására hét vegyületet választottunk ki, melyek között fenil-, metil-, metilfenil-, illetve klórfenil-szubsztituenst tartalmazó 1-és 2-naftol analógok voltak: **16**, **17**, **20**, **27**, **32**, **33** és **36**. Az előzőekhez hasonlóan öt alkohol (EtOH, PrOH, 2-PrOH, BuOH és *t*-BuOH) hatását vizsgáltam CF6-IP oszlopon, és ezekben a heptán/alkohol/TFA rendszerekben az alkoholok koncentrációja minden esetben 0,325 M volt. Az eredmények a **19. ábrán** láthatóak. Ezen vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a 2-naftol analógokhoz (**16**, **17**, **20**, **27**) tartozó k_1

értékek – a *t*-BuOH kivételével – kis mértékben ugyan, de kisebbek voltak, mint az 1-naftol analógoknál (**32**, **33**, **36**) meghatározottak. Az 1-naftol analógok esetében az EtOH, míg a 2-naftol analógoknál a *t*-BuOH szolgáltatta a legnagyobb retenciót.

Megfigyelhetjük továbbá, hogy az ugyanazon szénatomszámú, de elágazó szénhidrogén láncsal rendelkező alkoholoknál a felbontás minden esetben növekedett, mely növekedés az 1-naftol analógoknál még kifejezettebb. Ennek valószínű oka, hogy az előbb említett alkoholok (2-PrOH, *t*-BuOH) olyan szolvatációs képességgel rendelkeznek, mely elősegíti a szelektor-minta kölcsönhatás kialakulását, így akár azonos visszatartás mellett nagyobb szelektivitás és felbontás értékeket kaphatunk. A **20**, **27**, **32**, **33** vegyületek esetében, érdemes megfigyelnünk, hogy a retenciós faktor csökkent az ugyanazon szénatomszámú, de elágazó szénláncú alkohol esetén (2-PtOH), a szelektivitás pedig csak nagyon kismértékben változott, így a felbontás növekedését az alkohol által az állófázis illetve mozgófázis közötti anyagátmenet elősegítése révén értelmezhetjük. Ha külön-külön megvizsgáljuk az egyes vegyületekre kapott eredményeket, szembetűnhet, hogy a retenciós faktor és a felbontás értékeinek nagysága arányaiban, a 2-PrOH alkalmazása esetén volt a legjobb. Ez azt jelenti, hogy rövidebb idő alatt, jobb felbontással értük el az enantiomerek elválasztását. Ennek következtében a mérések jelentős részében 2-PrOH-t alkalmazzunk poláris módosítóként.



19. ábra.

Az alkohol minőségének hatása az elválasztásra

Kolonna: CF6-IP; vizsgált analógok, **16, 17, 20, 27, 32, 33, 36**; eluens összetétel, heptán/alkohol/TFA; alkohol koncentráció, 0,325 M; áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm.

A savas módosító hatásának tanulmányozásra is végeztünk méréseket CF6-IP királis állófázison. A vizsgált vegyületek az alábbiak voltak: **16, 17, 20, 27** és **32, 33, 36**, az eluens összetétel pedig heptán/2-PrOH/savas módosító=75/25/0,05-0,3 (v/v/v) (**12. Táblázat**).

A TFA koncentrációjának növelésével – a 0,1% kivételével - a retenciós faktorok értékei kis mértékben csökkentek, míg a felbontás értékeiben inkább növekedés volt megfigyelhető. Ennek feltételezett oka, hogy megnövekedtek az ionos és a poláris kölcsönhatások a minta és a mozgófázis között. Az alkil oldallánccal rendelkező 2-naftol analóg esetén adódtak a legnagyobb retenciós faktor értékek. Az α és az R_s értékeinek, ilyen körülmények hatására bekövetkező változása során szabályszerűség nem volt megfigyelhető.

12. Táblázat Kromatográfiás paraméterek, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző minőségű és mennyiségű savak esetén

Minta	TFA %	k_1	k_2	α	R_s
16	0,05	4,80	5,16	1,07	0,75
	0,10	3,64	3,98	1,09	1,20
	0,20	4,77	5,24	1,09	0,62
	0,30	4,65	5,15	1,11	0,87
	0,30*	2,04	2,12	1,04	<0,20
17	0,05	4,47	4,99	1,11	1,01
	0,10	4,01	4,57	1,14	1,87
	0,20	4,38	4,88	1,11	1,02
	0,30	4,33	4,80	1,11	1,20
20	0,05	4,67	5,09	1,09	0,95
	0,10	4,35	4,81	1,11	1,39
	0,20	4,58	4,98	1,09	1,09
	0,30	4,48	4,90	1,10	1,32
	0,30*	1,99	2,25	1,13	0,39
27	0,05	7,21	8,75	1,21	1,58
	0,10	7,29	8,86	1,22	2,15
	0,20	7,00	8,45	1,21	1,80
	0,30	6,97	8,44	1,21	1,97
32	0,05	4,79	5,33	1,11	1,09
	0,10	5,26	5,88	1,12	1,21
	0,20	4,52	5,01	1,11	1,06
	0,30	4,42	4,87	1,10	1,19
	0,30*	2,30	2,44	1,06	<0,20
33	0,05	4,39	5,00	1,14	1,34
	0,10	4,29	4,96	1,16	2,22
	0,20	4,24	4,84	1,14	1,46
	0,30	4,18	4,69	1,12	1,50
36	0,05	5,13	5,70	1,11	0,94
	0,10	5,90	6,61	1,12	1,53
	0,20	5,06	5,66	1,12	1,09
	0,30	4,84	5,50	1,14	1,18

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA 75/25/X (v/v/v);

*heptán/2-PrOH/AcOH 75/25/0,3 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 225 nm.

Megállapítottuk, hogy a 0,1% TFA tartalom esetén kaptuk a leghatékonyabb elválasztást. A 2-naftol analógok esetén kisebb, míg az 1-naftol analógok esetén ugyan nagyobb retenciós faktor értékek mellett, de a felbontás minden esetben a legjobbnak bizonyult.

A **16**, **20** és **32** vegyületek esetében megkíséreltük a jégecet (AcOH) alkalmazását, mint savas módosítót 0,3%-ban. Ebben az esetben a kromatográfiás adatok összehasonlítása rámutatott arra, hogy az AcOH alkalmazása kisebb retenciót és rosszabb enantioszelektivitást illetve felbontást eredményezett.

A hőmérséklet hatásának tanulmányozása céljából a **16**, **27** és **32** mintákat, állandó - heptán/2-PrOH/TFA=70/30/0,1 (v/v/v) - eluens összetétel mellett mértük, majd számoltuk a kromatográfiás paramétereket 5 °C, 10 °C, 20 °C, 30 °C és 40 °C hőmérsékleteken. Ezeket a **13. Táblázat** tartalmazza. A kromatográfiás adatokat összehasonlítva jól kitűnik, hogy a k_I , α és R_S értékek csökkennek a hőmérséklet emelkedésével. A legnagyobb csökkenés a retenciós faktorban a **32** minta esetén volt tapasztalható, de a szelektivitás és felbontás értékekben már nem tapasztaltunk ilyen drasztikus csökkenést.

A termodinamikai adatokat a már megismert módszerrel, a van't Hoff egyenlet segítségével számoltuk, mely adatok a **14. Táblázatban** találhatóak. Megfigyelhető, hogy az először eluálódó enantiomer ΔH° és ΔS° értékei kevésbé negatívak, mint a másodjára eluálódó enantiomeré. A **32** minta esetén a nagyobb ΔH° és ΔS° értékek annak tulajdoníthatók, hogy az 1-naftol analógok szerkezete valószínűleg erősebb szterikus és poláris kölcsönhatásokat tesz lehetővé az állófázissal.

13. Táblázat Különböző hőmérsékleteken mért kromatográfiás adatok értékei CF6-IP oszlopon.

Minta	k_I, α, R_S	Hőmérséklet (°C)				
		5	10	20	30	40
16	k_I	5,16	4,40	3,71	3,18	2,73
	α	1,19	1,16	1,09	1,06	1,02
	R_S	1,49	1,13	0,95	0,63	<0,20
27	k_I	7,65	6,88	5,56	4,71	4,05
	α	1,31	1,30	1,24	1,19	1,15
	R_S	2,48	2,05	1,84	1,50	1,23
32	k_I	6,72	5,63	3,99	3,12	2,44
	α	1,21	1,20	1,16	1,10	1,06
	R_S	1,87	1,49	1,35	1,06	0,71

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA=70/30/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

A $\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$ és $\Delta(\Delta G^\circ)$ adatok szintén a **14. Táblázatban** foglalnak helyet. A $\Delta(\Delta H^\circ)$ valamint a $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékei külön-külön nem térnek el egymástól jelentős mértékben, de a **16** minta esetén ezek az értékek csekély mértékben negatívabbak. A $\Delta(\Delta S^\circ)$ értékek a két

enantiomer $\Delta S^{\circ*}$ értékeinek különbsége. Minél negatívabb ez az érték, annál nagyobb az enantiomerek állófázissal kialakított kölcsönhatásából származó rendezettség különbsége.

14. Táblázat. Termodinamikai paraméterek, ΔH° , $\Delta S^{\circ*}$, $\Delta(\Delta H^{\circ})$, $\Delta(\Delta S^{\circ})$, $\Delta(\Delta G^{\circ})$, korrelációs koefficiens (R^2) és T_{iso} hőmérséklet értékei.

Minta	Sztereo-izomer	$-\Delta H^{\circ}$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta S^{\circ*}$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	Korr. koeff. (R^2)	$-\Delta(\Delta H^{\circ})$ (kJ mol ⁻¹)	$-\Delta(\Delta S^{\circ})$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	$-\Delta(\Delta G^{\circ})_{298K}$ (kJ mol ⁻¹)	T_{iso} (°C)
16	1	12,4	30,4	0,9903	3,2	10,1	0,2	45
	2	15,6	40,5	0,9929				
27	1	13,0	29,2	0,9977	2,8	7,7	0,5	87
	2	15,8	36,9	0,9982				
32	1	20,5	57,3	0,9969	2,9	8,6	0,3	58
	2	23,4	65,9	0,9981				

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA=70/30/0,1 (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; $\Delta S^{\circ*} = \Delta S^{\circ} + R \ln \varphi$ ahol φ a fázisarány; R^2 , $\ln k' - 1/T$ függvény korrelációs koefficiense. A vizsgált hőmérséklettartomány: 5 °C - 40 °C

A termodinamikai adatokból kiszámítottuk a T_{iso} hőmérsékletet. Ezen a hőmérsékleten, ahogyan azt a poliszacharid kolonnáknál már ismertettem, az entalpia hozzájárulást az entrópia változás kompenzálja. Ebben az esetben azonban nem értük el ezt a hőmérséklet tartományt.

5.2.2. Savamidok, amino-alkoholok és diaminok enantiomerjeinek elválasztása ciklofruktán típusú állófázisokon

A **13. ábrán** látható savamidok, amino-alkoholok, és diaminok elválasztása szintén ciklofruktán típusú állófázissal történt, azonban az izopropil funkciós csoporttal rendelkező szelektor mellett (CF6-IP), a dimetil-fenil ciklofruktán 7 (CF7-DMP) illetve (*R*)-naftiletil ciklofruktán 6 (CF6-RN) szelektorok királis felismerési képességét is vizsgáltuk. A méréseinkhez normál fázisú módszert alkalmaztunk.

A **15. Táblázat** adatai alapján megfigyelhetjük, milyen hatással van az eluensben lévő alkohol mennyisége az elválasztásra. Mindhárom típusú vegyületcsaládra igaz, hogy az alkohol koncentrációjának növekedésével a retenciós faktorok értékei csökkentek. A szelektivitás és felbontás tekintetében azonban az eredmények különbözőek. A savamidok esetében az α -ban alig figyelhető meg változás, míg az R_s a retenciós faktorról párhuzamosan csökkent (kivéve: **45**, **46** ahol nem tapasztaltunk elválasztást). Az amino-alkoholoknál (**47-51**) a szelektivitás szintén nem tapasztaltunk túl nagy változást, míg a felbontás a retenciós faktorról ellentétben nőtt a 2-PrOH tartalom növekedésével. A diamin típusú vegyületeknél (**52**, **53**) sem α , sem R_s értékeiben nem tapasztaltunk jelentős különbséget. Ezek alapján azt mondhatjuk, hogy a királis és nem királis kölcsönhatások arányát az alkohol mennyisége csak kis mértékben befolyásolja.

15. Táblázat. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k_t), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző eluens összetétel mellett.

Minta	Eluens (v/v/v)	k_t	α	R_s	Elúciós sorrend
43	40/60/0,1, a	9,87	1,14	0,65	$S < R$
	50/50/0,1, a	16,59	1,14	0,95	$S < R$
	60/40/0,1, a	23,74	1,14	0,80	$S < R$
	62/38/0,1, b	11,40	1,20	1,15	$S < R$
44	50/50/0,1, a	13,29	1,26	1,20	$S < R$
	60/40/0,1, a	18,95	1,27	1,85	$S < R$
	62/38/0,1, b	8,88	1,23	3,85	$S < R$
45	40/60/0,1, a	10,50	1,00	0,00	-
	50/50/0,1, a	11,92	1,00	0,00	-
	62/38/0,1, b	4,59	1,00	0,00	-
46	40/60/0,1, a	4,12	1,00	0,00	-
	50/50/0,1, a	5,84	1,00	0,00	-
	62/38/0,1, b	2,56	1,00	0,00	-

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v), **b**, heptán/EtOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

15. Táblázat (folytatás). Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző eluens összetétel mellett.

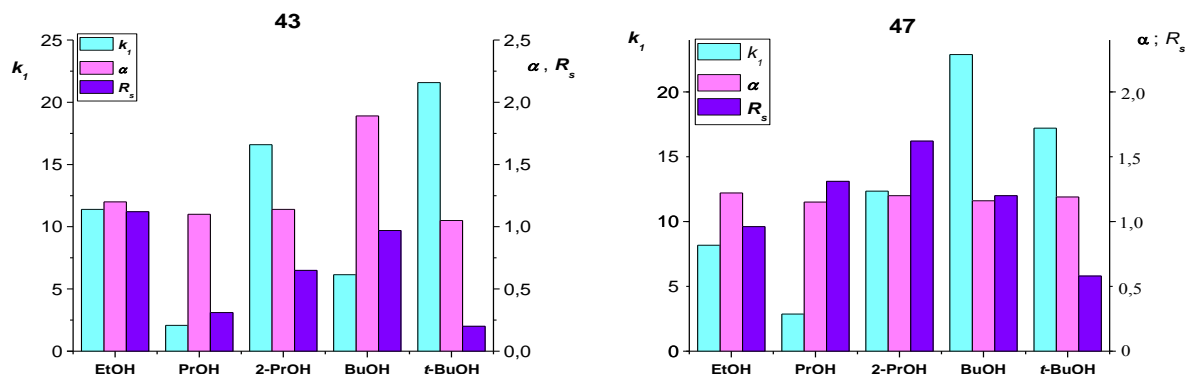
Minta	Eluens (v/v/v)	k_I	α	R_s	Elúciós sorrend
47	40/60/0,1, a	8,38	1,20	1,85	$S < R$
	50/50/0,1, a	12,35	1,20	1,65	$S < R$
	60/40/0,1, a	19,07	1,21	1,30	$S < R$
	62/38/0,1, b	8,17	1,22	0,95	$S < R$
48	40/60/0,1, a	5,47	1,14	0,90	$S < R$
	50/50/0,1, a	7,23	1,11	0,80	$S < R$
	60/40/0,1, a	10,90	1,11	0,50	$S < R$
	62/38/0,1, b	4,65	1,29	0,85	$S < R$
49	40/60/0,1, a	3,96	1,19	0,90	-
	50/50/0,1, a	7,69	1,19	0,60	-
	60/40/0,1, a	9,85	1,19	0,60	-
	62/38/0,1, b	6,25	1,21	1,50	-
50	40/60/0,1, a	5,24	1,23	1,90	$1S, 2R < 1R, 2S$
	50/50/0,1, a	10,51	1,24	1,80	$1S, 2R < 1R, 2S$
	60/40/0,1, a	14,13	1,27	1,65	$1S, 2R < 1R, 2S$
	62/38/0,1, b	6,79	1,21	1,00	$1S, 2R < 1R, 2S$
51	40/60/0,1, a	3,28	1,55	3,50	$1S, 2R < 1R, 2S$
	50/50/0,1, a	4,53	1,53	2,90	$1S, 2R < 1R, 2S$
	60/40/0,1, a	6,22	1,55	2,85	$1S, 2R < 1R, 2S$
	62/38/0,1, b	3,28	1,49	1,40	$1S, 2R < 1R, 2S$
52	40/60/0,1, a	13,12	1,10	0,55	$R < S$
	50/50/0,1, a	23,24	1,10	0,55	$R < S$
	60/40/0,1, a	36,23	1,09	0,50	$R < S$
	62/38/0,1, b	22,02	1,08	0,30	$R < S$
53	40/60/0,1, a	14,58	1,00	0,00	-
	50/50/0,1, a	14,99	1,05	0,20	$S < R$
	60/40/0,1, a	17,33	1,05	0,20	$S < R$
	62/38/0,1, b	8,53	1,08	0,85	$S < R$

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-P; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v), **b**, heptán/EtOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet

Vizsgáltuk az alkohol minőségének kromatográfiás paraméterekre gyakorolt hatását is, a **43** és **47** vegyületek esetén, CF6-IP állófázison. Méréseink során az alkohol koncentrációját állandó értéken (0,65 M) tartottuk. Az eredményeket a **20. ábra** mutatja.

Megfigyelhetjük, hogy az elsőként eluálódó komponens retenciós faktora mindkét esetben a PrOH alkalmazása esetén bírt a legkisebb értékkel. Habár a szelektivitás és felbontás értékeinek változására általános következtetést nem tudunk megfogalmazni, azért azt láthatjuk,

hogy a **47** vegyület esetében az α -t csak nagyon kicsiny mértékben befolyásolta az alkohol minősége, az R_s pedig a 2-PrOH alkalmazásakor volt a legnagyobb. A **43** vegyület esetében a BuOH szelektivitása volt kiemelkedő, ugyanakkor az EtOH mutatott jobb felbontás értékeket.



20. ábra.

Az alkohol minőségének hatása az elválasztásra

Kolonna, CF6-IP; vizsgált analógok, **43**, **47**; eluens összetétel, heptán/alkohol/TFA; alkohol koncentráció, 0,65 M; áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 210 nm.

A **43**, **47**, **52** vegyületek segítségével a savas módosító hatását is tanulmányoztuk, heptán/2-PrOH/savas módosító=50/50/0,1 (v/v/v) alkalmazásával (**16. Táblázat**). Megfigyelhetjük, hogy a H₃PO₄ és HCOOH kisebb k_1 értékeket eredményezett.

16. Táblázat. Kromatográfiás adatok, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző minőségű, azonos mennyiségű savak esetén

Minta	Eluens (v/v/v)	Sav	k_1	α	R_s
43	50/50/0,10	AcOH	31,36	1,09	<0,2
		TFA	16,59	1,14	0,90
		HClO ₄	15,25	1,12	1,00
		HCOOH	2,32	1,00	0,00
		H ₂ SO ₄	10,43	1,08	0,55
		H ₃ PO ₄	0,47	1,00	0,00
47	50/50/0,10	AcOH	18,52	1,09	<0,2
		TFA	12,35	1,10	1,60
		HClO ₄	6,76	1,05	0,30
		HCOOH	2,34	1,02	0,20
		H ₂ SO ₄	10,83	1,11	0,80
		H ₃ PO ₄	2,36	1,05	0,20
52	50/50/0,10	AcOH	28,26	1,00	0,00
		TFA	23,24	1,20	0,55
		HClO ₄	18,11	1,12	0,72
		HCOOH	2,36	1,07	0,20
		H ₂ SO ₄	26,00	1,10	1,10
		H ₃ PO ₄	0,65	1,00	0,00

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

Minden esetben az AcOH alkalmazása esetén kaptuk a legnagyobb visszatartást, amely ugyanakkor a szinte legrosszabb szelektivitás és felbontás értékekkel párosult. Ebből láthatjuk, hogy az AcOH a nem enantioszelektív kölcsönhatások arányát növelte meg. Ebben a tekintetben a TFA, HClO₄ és H₂SO₄ esetén kaptunk jobb eredményeket.

A TFA koncentrációjának növelésével (**17. Táblázat**) a retenciós faktorok értékei minden esetben csökkentek, míg a szelektivitás és felbontás értékei a 0,1% TFA alkalmazásakor bizonyultak a legjobbnak, ezért alkalmaztuk ezt a TFA mennyiséget méréseink során.

17. Táblázat. Kromatográfiás paraméterek, retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékei különböző mennyiségű TFA esetén

Minta	Eluens (v/v/v)	k_I	α	R_s
43	50/50/0,05	21,55	1,04	0,20
	50/50/0,10	16,59	1,14	0,90
	50/50/0,20	14,36	1,05	0,20
	50/50/0,30	13,19	1,04	0,20
47	50/50/0,05	14,98	1,07	0,20
	50/50/0,10	12,35	1,10	1,60
	50/50/0,20	9,37	1,05	0,20
	50/50/0,30	8,48	1,04	0,20
52	50/50/0,05	23,98	1,05	0,20
	50/50/0,10	23,24	1,20	0,55
	50/50/0,20	18,65	1,06	0,27
	50/50/0,30	17,04	1,06	0,20

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

A hőmérséklet hatását **43**, **51** minták esetén CF6-IP, míg **52** vegyület esetén CF6-RN kolonnával, adott eluens összetételnél, 5-40 °C hőmérséklet tartományban vizsgáltuk. A **18. Táblázatból** kitűnik, hogy mind a k_I , α , illetve R_s értékei csökkentek a hőmérséklet emelkedésével.

A van't Hoff egyenlet segítségével számolt termodinamikai paramétereket tartalmazó táblázat az Értekezésben nem szerepel, de közleményünkben megtalálható [45]. Ennek alapján megállapíthatjuk, hogy a ΔH° és ΔS° értékei minden esetben negatívak voltak. A másodjára eluálódó enantiomer értékei negatívabbak voltak, tehát stabilabb átmeneti komplexet képez a szelektorrall.

A $\Delta(\Delta H^\circ)$, $\Delta(\Delta S^\circ)$, $\Delta(\Delta G^\circ)$ értékek szintén negatívnak adódtak, és megfigyelhettük, hogy az **51** minta esetében voltak a legnegatívabbak. A **13. ábra** segítségével nyomon követhetjük, hogy az **51** amino-alkohol rendelkezik két fenil-gyűrűvel, egy OH-csoporttal és nem utolsó sorban egy primer amino-csoporttal. Ezeknek a szerkezeti elemeknek a jelenléte mindenképp előnyös tulajdonság hatékony enantiomer elválasztás létrehozásához.

18. Táblázat Különböző hőmérsékleteken mért kromatográfiás paraméterek értékei CF6-IP és CF6-RN oszlopon.

Minta	Kolonna	Eluens	k_I, α, R_S	Hőmérséklet (°C)				
				5	10	20	30	40
43	CF6-P	a	k_I	7,47	6,93	5,96	5,10	4,65
			α	1,13	1,13	1,10	1,10	1,10
			R_S	0,45	0,45	0,43	0,43	0,43
51	CF6-P	b	k_I	3,32	2,95	2,38	1,81	1,57
			α	1,35	1,30	1,24	1,18	1,15
			R_S	1,69	1,64	1,47	1,03	0,94
52	CF6-RN	c	k_I	22,74	18,68	11,06	7,91	6,05
			α	1,07	1,06	1,10	1,00	1,00
			R_S	0,25	0,20	0,20	0,00	0,00

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-IP, CF6-RN; eluens összetétel; **a**, heptán/2-PrOH/TFA = 30/70/0,1 (v/v/v), **b**, heptán/2-PrOH/TFA = 40/60/0,1 (v/v/v), **c**, heptán/EtOH/TFA=75/25/0,1; áramlási sebesség: 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm.

5.2.3. A kémiai szerkezet és kromatográfiás viselkedés összefüggése

A mérések során kapott eredményekből egyértelműen látszik, hogy a különböző vegyületek elválasztása nagyban függ azok sztereokémiájától, szerkezetétől. Vegyületeink a primer amino-csoporton túl, különböző funkciós csoportokat is tartalmaztak, úgymint hidroxil-csoport, amid-csoport, melyek által kialakított kölcsönhatások szintén felelősek a királis felismerésért.

Fontos megemlítenünk, hogy a sztérikus kölcsönhatás is jelentősen befolyásolja az enantioszelektivitást. Több megjelent közlemény igazolja, hogy ha nincs sztérikus illeszkedés, nem megfelelő az elválasztás sem [33,54-56]. Továbbá a primer amino-csoport és a királis centrum közötti távolság is fontos szerepet tölt be a királis megkülönböztetés szempontjából. Ha a királis centrum α vagy β helyzetben van, jobb elválasztást tapasztaltak. A hidroxil-csoport létezésének is jelentőséget tulajdonítottak, mely a H-kötés révén fokozta a királis felismerést [33,55,56].

Állandó mozgófázis összetételénél, a hasonló retenciós faktorok ellenére az aromás gyűrűn elhelyezkedő metil szubsztituens (16 vs. 17 és 32 vs. 33) nagyobb szelektivitást és felbontást eredményez, valószínűleg a sztérikus hatások következményeképpen. A MeO- funkciós csoport megléte az 18 és 34 minták esetén nagyobb retenciós faktor értékeket eredményezett - a lehetséges H-híd kölcsönhatások folytán -, de ez nem párosult a szelektivitás és a felbontás növekedésével.

Az aromás gyűrűn elhelyezkedő halogén szubsztituens megváltoztatja a molekula polaritását, térkitöltését és sztérikus merevségét. Azonos eluens összetételénél, a halogén szubsztituált naftol analógok (19, 20, 21, 23, 35, 36, 37 és 38) esetén, a nagyobb mértékű poláris és sztérikus hatások következtében, a k_1 és k_2 értékekben növekedés volt tapasztalható, összehasonlítva a nem szubsztituált analógokkal. Egyedüli kivételt a 23, 38 minták jelentettek. Ezzel párhuzamosan az α és R_S értékek is növekedtek, a fluor atommal szubsztituált minták kivételével (19, 35).

A bróm szubsztituens elhelyezkedése (3 vagy 4 pozíció) befolyásolta a kromatográfiás értékeket. Hasonló vagy kicsit nagyobb szelektivitás és felbontás volt megfigyelhető a szerkezetileg merevebb, 3-szubsztituált 23, 38 analógoknál a 4-szubsztituált 21, 37 analógokhoz képest, míg a retenció csökkent.

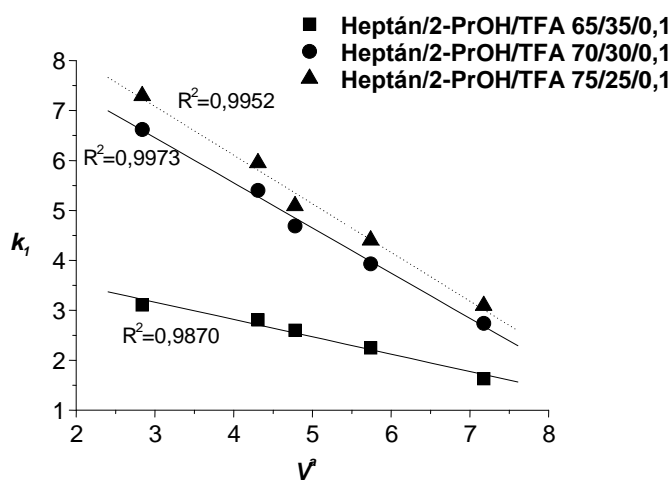
A nitrocsoportot tartalmazó 22, 24 és 39 vegyületek esetén a retenciós faktor értékek nagyobbak voltak, összehasonlítva a szubsztituálatlan 16, 32 analógokkal, ezek azonban nem párosultak kedvezőbb szelektivitással, azaz a nitrocsoport jelenléte csak a nem enantioszelektív

kölcsönhatások arányát növelte meg. Ezen funkciós csoportok elhelyezkedése is befolyásolta a retenciót és elválasztást. A sztérikusan merevebb **24** vegyület esetében jobb elválasztás volt megfigyelhető, mint a sztérikusan kevésbé merev **22** mintánál.

A kén atom helyzete a heteroaril szubsztituált analógok esetében (**25**, **26** és **40**, **41**) oly módon befolyásolta az elválasztást, hogy nagyobb szelektivitás és felbontás értékek tartoztak a vizsgált 1-naftol analógokhoz, mint a 2-naftolokhoz.

A különböző alkil szubsztituenseket tartalmazó 2-naftol analógok (**27-31**) kromatográfiás viselkedésének vizsgálata állandó eluens összetételnél azt mutatja, hogy ezen vegyületek retenciós faktor értékei nagyobbak, mint azoké a 2-naftol analógoké, amelyek fenil gyűrűt tartalmaznak. Ez alól kivételt a **31** minta jelentett. A különböző alkil-csoport eltérő mértékben gyakorol hatást a szelektivitásra és a felbontásra. Azok a minták, amelyek nagyobb térkitöltésű alifás oldallánccal rendelkeztek, rövidebb idő alatt eluálódtak, mellyel párhuzamosan a szelektivitás, valamint a felbontás értéke is kisebbnek adódott. A **30** enantiomert nem sikerült elválasztani 2-PrOH-t tartalmazó mozgófázis esetén. Az alkil szubsztituensek térkitöltésének hatását a retenciós faktorra az előző fejezethez hasonlóan a Meyer-paraméter (V^a) segítségével számszerűsíthetjük. A k_1 -t három különböző eluens összetétel esetén ábrázoltuk a Meyer-paraméterek függvényében, mindegyik esetben a mérési pontokra jó korrelációval volt illeszthető egyenes. Ezt a **21. ábra** szemlélteti. Láthatjuk, hogy a szubsztituens térkitöltése jelentős hatással van a minta retenciójára. A nagyobb méretű szubsztituensek akadályozzák a minta kölcsönhatását az állófázissal és ezzel egy időben a két sztereoizomer kölcsönhatása a szelektorral észrevehetően különbözik. A kisebb k értékekkel párhuzamosan az α és R_S értékek kis mértékben csökkentek az alifás oldallánc szénatomszámának növekedésével. A **31** minta esetében valamelyest nagyobb csökkenés volt megfigyelhető, amiből arra lehet következtetni, hogy a szubsztituens minőségén (alifás vagy aromás) kívül a sztérikus hatások is erősen befolyásolják a retenciót és a királis megkülönböztetést.

A másik vegyületcsaládba tartozó **45**, **46** vegyületeket CF6-IP kolonnán nem tudtuk elválasztani. Ennek valószínű oka az, hogy a kiralitás centrumon lévő metil-amino-csoport gátolja a királis felismerést. A CF6-RN oszlopon azonban részleges elválasztást tapasztalhattunk, amelyet a szelektoron lévő naftil gyűrű és a mintáink fenilcsoportja közötti π - π kölcsönhatásnak tulajdoníthatunk.



21. ábra

k_1 értékei a Meyer-paraméter függvényében,
 Kolonna, CF6-IP; vizsgált analógok, **27-31**; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA; áramlási
 sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 210 nm.

A π - π és poláris kölcsönhatások mellett a H-kötésnek is jelentős szerepe van a királis felismerésben. Ha összehasonlítjuk a **43** vs. **52** és **44** vs. **53** mintákat, láthatjuk, hogy jobb eredményeket a **43** és **44** vegyületeknél értünk el, ahol a karbonilcsoport képes lehet a szelektor karbamátcsoportjával H-kötést kialakítani. Másrészt, a **15.** és **19. Táblázatban** jól követhető, hogy mind a CF6-IP, mind pedig a CF6-RN jobb elválasztásra képes az aminos-alkoholok esetében (**47-51**), melyet szintén az OH-csoport H-kötésre való hajlamával magyarázhatunk.

5.2.4. Különböző ciklofruktán alapú kolonnák elválasztó képességének összehasonlítása

Egy adott eluens összetételénél nem történtek mérések mindhárom ciklofruktán típusú kolonnán, néhány alapvető következtetést azonban így is meg lehet fogalmazni.

Az 1- és 2-naftol analógok esetén csak CF6-IP oszlopon végeztünk méréseket, azt azonban láthattuk, hogy az esetek döntő többségében az enantiomer elválasztás sikeresen megvalósítható a körülmények alkalmas megválasztásával. Ezzel ellentétben – bármelyik állófázist is vesszük figyelembe – a savamidok, diaminok és amino-alkoholok csoportjában a kromatográfiás adatok csak részleges elválasztást mutattak (kivéve **50**, **51** vegyület). A **15.** és **19. Táblázatból** kitűnik, hogy a **43**, **44**, **47**, **49**, **50** és **51** vegyületeknél a CF6-IP, míg a **45**, és **46** minták esetében a CF6-RN bizonyult hatékonyabbnak. (a **46** minta esetében a CF-RN oszlopon is csak minimális elválasztást tapasztaltunk).

19. Táblázat. A különböző kolonnák alkalmazása esetén kapott retenciósfaktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékek a savamidok, diaminok és amino-alkoholok elválasztása során.

Minta	Kolonna	Eluens (v/v/v)	k_I	α	R_s	Elúciós sorrend
43	CF6-RN	70/30/0,1, a	16,71	1,05	0,50	$S < R$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	10,93	1,11	0,80	$S < R$
	CF7-DMP	70/30/0,1, a	7,86	1,12	0,75	$S < R$
	CF7-DMP	75/25/0,1, b	4,40	1,08	0,40	$S < R$
44	CF6-RN	70/30/0,1, a	10,11	1,15	0,95	$S < R$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	10,40	1,14	0,80	$S < R$
	CF7-DMP	70/30/0,1, a	5,25	1,25	1,25	$S < R$
	CF7-DMP	75/25/0,1, b	2,97	1,22	0,75	$S < R$
45	CF6-RN	70/30/0,1, a	16,05	1,09	0,40	$S < R$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	4,95	1,12	1,25	$S < R$
	CF7-DMP	75/25/0,1, b	5,70	1,06	0,25	$S < R$
46	CF6-RN	70/30/0,1, a	10,90	1,00	<0,20	-
	CF6-RN	77/23/0,1, b	2,37	1,03	0,30	$R < S$
47	CF6-RN	70/30/0,1, a	10,85	1,14	0,95	$S < R$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	6,86	1,17	0,85	$S < R$
48	CF6-RN	70/30/0,1, a	7,56	1,10	0,60	$S < R$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	6,11	1,12	1,20	$S < R$
49	CF6-RN	70/30/0,1, a	1,76	1,00	0,00	-
	CF6-RN	85/15/0,1, b	10,83	1,15	0,95	$S < R$

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-RN; CF7-DMP; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v), **b**, heptán/EtOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

19. Táblázat (folytatás). A különböző kolonnák alkalmazása esetén kapott retenciós faktor (k), szelektivitási tényező (α) és felbontás (R_s) értékek a savamidok, diamino- és amino-alkoholok elválasztása során.

Minta	Kolonna	Eluens (v/v/v)	k_I	α	R_s	Elúciós sorrend
50	CF6-RN	70/30/0,1, a	7,63	1,27	1,70	$1S,2R < 1R,2S$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	6,50	1,23	1,55	$1S,2R < 1R,2S$
51	CF6-RN	70/30/0,1, a	3,04	1,48	2,35	$1S,2R < 1R,2S$
	CF6-RN	77/23/0,1, b	3,99	1,43	2,46	$1S,2R < 1R,2S$
52	CF6-RN	70/30/0,1, a	16,99	1,00	0,00	-
	CF6-RN	77/23/0,1, b	18,67	1,07	1,05	$R < S$
	CF7-DMP	70/30/0,1, a	6,01	1,00	0,00	-
	CF7-DMP	75/25/0,1, b	7,12	1,11	1,45	$R < S$
53	CF6-RN	70/30/0,1, a	8,21	1,00	0,00	-
	CF7-DMP	80/20/0,1, a	20,73	1,05	0,40	$S < R$

Kromatográfiás körülmények: kolonna, CF6-RN; CF7-DMP; eluens összetétel, **a**, heptán/2-PrOH/TFA (v/v/v), **b**, heptán/EtOH/TFA (v/v/v); áramlási sebesség, 0,5 ml perc⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

Összességében tehát elmondhatjuk, hogy a királis felismerés mechanizmusa az ilyen típusú kolonnákon ma még nem teljesen ismert. Láthattuk, hogy CF6-IP oszlop esetén mindenképp szükség van legalább primer amino-csoport jelenlétére, lehetőleg a kiralitás centrumhoz közel, illetve sikeresebb elválasztást tapasztaltunk CF6-RN állófázison, köszönhetően annak, hogy mind a mintáink, mind a szelektorunk tartalmazott aromás részt.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során különböző biológiai és gyógyszeripari szempontból fontos egy- vagy két kiralitáscentrummal rendelkező amino-naftolok, amino-alkoholok valamint diaminok sztereoisomerjeinek elválasztását tanulmányoztuk. A közvetlen folyadékkromatográfiás módszereket új fejlesztésű ciklofruktán illetve poliszacharid típusú kolonnákon dolgoztuk ki.

Poliszacharid típusú királis kolonnákon történő elválasztások

Az egy és két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol enantiomerek elválasztását különböző poliszacharid típusú kolonnákon valósítottuk meg. A folyadékkromatográfiás vizsgálatokhoz normál fázisú módszert választottunk, ahol az eluens apoláris komponense 98-70% heptán volt, amely 2-30%-ban tartalmazott poláris módosítót. Míg a 2-naftol analógok első csoportjára (**1-5**) három típusú, addig az 1- és 2-naftol (**6-15**) analógokra a rendelkezésre álló öt típusú poliszacharid oszloppal végeztünk kísérleteket. A mérések során a 3,5-dimetilfenil-karbamát szelektorrall rendelkező Cellulose-1 bizonyult a leghatékonyabbnak, a megfelelő körülmények megválasztásával az összes anyagot sikerült elválasztanunk.

Vizsgáltuk az eluens összetételének mennyiségi, valamint a poláris módosító (alkohol) minőségi hatását az elválasztásra. A mozgófázisban lévő alkohol koncentrációjának növelésével a visszatartás mindegyik esetben csökkent, tehát tipikus normál fázisú viselkedést tapasztaltunk. A poláris módosítók minősége nagyban befolyásolta mind a retenciók faktor, szelektivitás illetve felbontás értékeit, melyet az alkoholok különböző apolaritásának, valamint eltérő szolvatáló képességének tulajdonítottunk.

A hőmérséklet hatását viszonylag széles 5 °C és 50 °C közötti tartományban vizsgáltuk. A kromatográfiás adatok a hőmérséklet emelkedésének hatására a legtöbb esetben csökkentek. A kromatográfiában használatos van't Hoff egyenlet segítségével számoltuk az elválasztást kísérő entalpia és entrópia változásokat. Az esetek többségében entalpia vezérelt elválasztásokat kaptunk, de néhány analóg példáján keresztül az entrópia vezérelt királis megkülönböztetést is megfigyelhettük. Ennek sajátága, hogy rövidebb analízis idő alatt, hatékonyabb elválasztást kapunk. Vizsgálatainkat a **2c-d** analóg esetében -5 °C - 40 °C hőmérséklettartományra is kiterjesztettük. Ezáltal megfigyelhettünk egy, a hőmérséklet hatására bekövetkező elúciós sorrend változást. Az enantiomerek elúciójának sorrendje egy fontos momentuma a királis analíziseknek, hiszen az aminonaftolok biológiai és katalitikus aktivitása is jelentősen függ az analóg konfigurációjától.

A szerkezet-kromatográfiás viselkedés közti kapcsolatot tanulmányozva egyértelműen láthattuk, hogy a szubsztituensek minősége és helyzete befolyásolja a minták polaritását, térbeli szerkezetét és ezzel kromatográfiás viselkedését. Azonban nem szabad figyelmen kívül hagynunk a királis szelektoron lévő funkciós csoportokat, illetve a poliszacharid szerkezetét, mely hatással van a minta és szelektor közötti kölcsönhatásokra, ezáltal az elválasztásra. Megállapíthattuk, hogy a naftil-csoport jelenléte a molekulán erősebb π - π kölcsönhatást eredményezett, így a retenció növekedett. Az Amylose alapú kolonnán általánosan nagyobb visszatartást tapasztaltunk, melyet főként a szelektor eltérő merev, helikális szerkezetének tulajdonítható. Vizsgálataink azt is mutatták, hogy ha az aromás gyűrűben a heteroatom (nitrogén) különböző – *orto*, *meta*, vagy *para* – helyzetben van, eltérő eredményeket kaphatunk. Az alkil szubsztituens hatásának tanulmányozása érdekében vizsgáltuk a Meyer-paraméterek értékeit a retenciós faktorok függvényében. Egyértelmű korrelációt állapítottunk meg a kromatográfiás adatok és az alkilcsoport térkitöltését jellemző Meyer-paraméterek között.

Ciklofruktán típusú királis állófázisokon történő elválasztások

Az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1- és 2-naftol, valamint savamidok, diaminok és amino-alkoholok analógjainak elválasztását három típusú ciklofruktán királis kolonnán vizsgáltuk. Szintén normál fázisú körülményt alkalmazva, az eluens apoláris komponense 40-80% heptán volt, míg poláris módosítóként 60-20% alkoholt használtunk a 0,1% TFA sav adalék mellett. Az 1- és 2-naftol enantiomerek elválasztását CF6-IP, míg a diaminok, savamidok, amino-alkoholok elválasztását CF6-IP, CF6-RN és CF6-DMP királis oszlopokon valósítottuk meg. A naftol analógok tekintetében a körülmények alkalmas megválasztásával négy (**25**, **26**, **30**, **34**) esetet kivéve sikerült az enantiomereket 1,0-nél nagyobb felbontás értékekkel elválasztani. A vizsgált vegyületek másik csoportját képező analógoknál már sok esetben csak részleges elválasztást tapasztaltunk CF6-IP kolonnán, de CF6-RN vagy CF7-DMP állófázisok alkalmazásával már jobb eredményeket kaptunk.

Tanulmányoztuk a mozgófázis poláris komponensének mennyiségi változtatására bekövetkező hatásokat. Az alkohol koncentrációjának csökkentésével a retenciós faktorok értéke növekedett ugyan, de ez a legtöbb esetben kis mértékű hatással volt a szelektivitásra. A felbontás tekintetében az eredmények különbözőek. A naftol illetve savamid analógoknál a felbontás általában nőtt az eluens alkohol tartalmának csökkentésével, míg az amino-alkoholoknál épp a retenciós faktorról ellenkezőleg csökkent, a diaminok esetében pedig nem tapasztaltunk lényeges változást. Az eluens poláris komponensének minőségi változtatása révén megfigyelhettük, hogy

a naftol analógoknál az elágazó-láncú alkoholok szolvatációs készsége előnyösebb lehet, így a szelektivitás és felbontás tekintetében jobb eredményeket kaptunk.

A mozgófázishoz adagolt sav (TFA) koncentrációjának növelésével a retenciós faktorok értékei kismértékben ugyan, de csökkentek, melyet a megnövekedett ionos kölcsönhatásoknak tulajdonítottunk a minta és mozgófázis között. A vizsgált analógok mindegyikére a 0,1% TFA alkalmazása bizonyult a leghatékonyabbnak. A savamid, diamin, amino-alkohol analógjaira hat, különböző savas módosítót is alkalmaztunk. A TFA mellett azonban csak a kénsav és perklórsav esetén sikerült elválasztást elérni, elfogadható retenciós idővel. A jégecet alkalmazásakor nagy retenciós faktor értékeket tapasztaltunk, melyek nem párosultak a szelektivitás és felbontás növekedésével. Ezt a nem enantioszelektív kölcsönhatások számának növekedésével magyarázhatjuk.

A hőmérséklet hatását 5 °C – 40 °C közötti tartományban vizsgálva a hőmérséklet emelkedésével minden esetben csökkentek a kromatográfiás adatok értékei. A van't Hoff egyenlet által meghatározott termodinamikai paraméterek értékei minden esetben negatívak voltak, amely az entalpia vezérelt elválasztásokra utal.

A szerkezet-kromatográfiás viselkedés közötti összefüggést vizsgálva megállapítottuk, hogy a fenilgyűrűn különböző halogéneket – fluor, klór, bróm – tartalmazó naftol analógok esetén a kromatográfiás adatok értékei növekedtek – kivéve **23**, **38** minták – összehasonlítva a nem szubsztituált analógokkal. A szubsztituens helyzete pedig, szterikus okokra visszavezethetően további különbségeket eredményezhet. Megfigyelhettük továbbá, hogy a nitro-csoport jelenléte nagyobb retenciót eredményezett ugyan, de a szelektivitás és felbontás értékeiben nem mutatott jelentős különbséget. Ezáltal valószínűsítjük, hogy a nem enantioszelektív kölcsönhatások arányát növelte meg.

A különböző alkil szubsztituenseket tartalmazó 2-naftol analógok kromatográfiás viselkedésének tanulmányozásakor láthattuk, hogy ezen analógok retenciója nagyobb, mint azoké, amelyek fenil-gyűrűt tartalmaznak. Az alkil-szubsztituensek különbözőképpen befolyásolják a szelektivitást és a felbontást. A Meyer-paraméterek alapján megállapítottuk, hogy a nagyobb méretű szubsztituensek akadályozzák a minta kölcsönhatását a szelektorral, kisebb kromatográfiás paramétereket eredményezve.

A diaminok, savamidok, amino-alkoholok vizsgálata esetén láthattuk, hogy a π - π illetve poláris kölcsönhatások mellett, a H-híd kötés is fontos szerepet kap a királis felismerési folyamatokban. A karbonil-csoporttal rendelkező analógokra jobb elválasztást kaptunk összehasonlítva azokkal a mintákkal, amelyek nem rendelkeztek ezen szubsztituenssel. Az

amino-alkoholok esetében mindkét kolonnán jobb elválasztást kaptunk, mely szintén az OH-csoport hidrogén-kötésre való hajlamával hozható összefüggésbe.

7. SUMMARY

The enantioseparation of several biologically and pharmaceutically important compounds containing one or two chiral centres was investigated, e.g. aminonaphthols, aminoalcohols and the stereoisomers of diamines. Direct liquid chromatographic methods were introduced for newly-developed cyclofructane- and polysaccharide-based columns.

Enantiomer separation on polysaccharide-based chiral stationary phases

The separation of aminonaphthols with one or two chiral centres was achieved on polysaccharide-based columns. For the liquid chromatographic measurements, normal-phase methods were chosen, where the eluent contained 98-70% heptane, as apolar component and 2-30% of a polar modifier. Three types of polysaccharide columns were applied for the investigation of the first group of 2-naphthol analogues (**1-5**), while for the 1- and 2-naphthol (**6-15**) analogues all five available columns were used. Our results indicated that the Cellulose-1 column with the 3,5-dimethylphenylcarbamate selector was the most effective, since all the investigated analytes could be separated through the choice of appropriate conditions.

The effects of the eluent composition and the nature of the polar modifier (alcohol) on the separations were also studied. With increasing alcohol concentration in the mobile phase, the retention decreased in every case, which reflects typical normal-phase behaviour. The nature of the polar modifier had a strong influence on the retention factor, the selectivity and the resolution, which might be attributed to the differences in polarity and solvation capability of the alcohols.

The effect of temperature was investigated in the relatively wide range between 5 °C and 50 °C. In most cases, the chromatographic parameters decreased with increasing temperature. From van't Hoff plots, entropy and enthalpy changes were calculated. In most cases, enthalpy-controlled separations were achieved, but for certain analogues entropy-controlled separations were also observed. (In entropy-controlled separations, higher resolution can be achieved in a shorter analysis time.) For analogues **2c-d**, an extended temperature range (-5 °C to 40 °C) was applied and temperature-induced elution sequence changes could be observed. The elution sequence of the enantiomers is an important feature in chiral analysis because the biological and catalytic activities of the enantiomers depend significantly on the configurations of the analogues.

Structure – retention relationships were studied to be able to draw conclusions as to how the analyte structure influences the chromatographic behaviour. The results revealed that the nature and the position of the substituent exerted a significant influence on the sample polarity, the geometrical structure and hence the chromatographic behaviour. However, we should not ignore the functional groups of the chiral selector and the structure of the polysaccharide, which affect the interaction between the sample and selector, and thus the separation. It can be stated that the presence of a naphthyl group resulted in a stronger π - π interaction, and hence the retention increased. On the amylose-based column higher retention was generally observed mainly due to the rigid, helical structures. When a heteroatom (nitrogen) was present at different positions of the aromatic ring (ortho, meta or para), different chromatographic results were observed. In order to study the effects of alkyl substituents, the Meyer parameters were examined as a function of the retention factor. It could be concluded that the chromatographic parameters depend strongly on the size and the geometry of the alkyl group.

Enantiomer separation on cyclofructane - based chiral stationary phases

The separations of 1- and 2-naphthol analogues, acid amides, diamines and amino alcohols were investigated on three different cyclofructane - based chiral columns. The normal - phase mode was applied, where the apolar component of the eluent was 40-80% heptane, and 60-20% of polar modifier was used with 0.1% TFA as additive. The separations of 1- and 2-naphthol enantiomers were achieved on the CF6-IP column, while the diamines, acid amides and amino alcohols were studied on the CF6-IP, CF6-RN and CF6-DMP chiral columns. For the naphthol analogues (except for **25**, **26**, **30**, **34**), separation proved successful with higher than 1.0 resolution by choosing the appropriate conditions. The other group of examined analogues could be partially resolved on CF6-IP, but better separations were achieved with the use of the CF6-RN and CF7-DMP columns. The effects of polar components in the mobile phase were studied. With decreasing alcohol concentration, the retention factors increased, but in most cases there were no significant changes in the selectivity. As regards the resolution, the results were different. In the cases of the naphthol and amino acid amide analogues, the resolution usually increased with decreasing alcohol concentration, while for the amino alcohol analogues lower resolutions were observed. No relevant changes were observed in the resolution of the diamines. The results obtained demonstrate that the application of branched - chain alcohols as polar modifiers resulted in higher selectivity and resolution through better solvation capabilities.

The effects of the concentration of the acidic modifier applied in the mobile phase were

also investigated. On increase of the TFA concentration, the retention factor decreased slightly in every case. This might be attributed to the increased ionic interactions between the sample and the mobile phase. For all of the examined analogues, the application of 0.1% TFA proved to be the most effective. Six different acidic modifiers were applied for the separation of amino acid amide, diamine and amino alcohol analogues. On the use of sulphuric acid and perchloric acid, we could achieve separations with acceptable retention times. On the application of acetic acid in the eluent, higher retention factors were observed, but the selectivity and resolution did not follow this trend. This might be explained in terms of the increasing non-enantioselective interactions.

Furthermore, the effects of temperature were studied in the range 5–40 °C. With increasing temperature, the chromatographic parameters decreased in every case. When van't Hoff plots were used for the determination of the thermodynamic parameters, negative values were obtained in all cases, which points to enthalpy - controlled enantioseparations.

Our observations permit several conclusions on the structure – chromatographic behaviour relationships. The investigated naphthol analogues contained a phenyl ring with different chloro, fluoro and bromo substituents. For these compounds (except for **23** and **38**) the chromatographic parameters were higher relative to the non-substituted analogues. The various steric positions of the substituents led to further differences. The presence of a nitro group resulted in a higher retention time, but without significant differences in selectivity and resolution, probably because of the increased ratio of the non-enantioselective interactions.

For 2-naphthol analogues with different alkyl substituents, the retentions were higher than for the analogues with a phenyl substituent. Alkyl substituents have different effects on the selectivity and resolution. For larger analytes, lower chromatographic parameters were obtained. The geometrical effects of the alkyl substituents as a function of the Meyer parameters were also studied. It was found that the larger substituents prevented the interaction between the sample and the selector.

From studies of the various groups of analogues it was evident that, besides the π - π and polar interactions, H-bonding has an important role in chiral discrimination. Better results were observed for the analytes possessing carbonyl substituents. Moreover, the separation of amino alcohols resulted in better resolution on both columns, which might be explained by the H-bonding ability of the OH group.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] M. Hollósi, I. Laczkó, Zs. Majer, A sztereokémia és kiroptikai spektroszkópia alapjai, Budapest Nemzeti Tankönyvkiadó Rt, (2004).
- [2] J. Fekete, Folyadékkromatográfia. Jáva-98 Kft, 322-345 (2003).
- [3] R. Bentley, Arch. Biochem. Biophys. 414 (2003) 1.
- [4] L.H. Easson, E. Stedman, Biochem. J. 27 (1933) 1257.
- [5] W.H. Pirkle, T.C. Pochapsky, Chem. Rev. 89 (1989) 347.
- [6] K. Jozwiak, R. Moaddel, S. Ravichandran, A. Plazinska, J. Kozak, S. Patel, R. Yamaguchi, I.W. Wainer, J. Chromatogr. B 875 (2008) 200.
- [7] G. Uccello-Barretta, C. Bertucci, E. Domenici, P. Salvadori, J. Am. Chem. Soc. 113 (1991) 7017.
- [8] N.M. Maier, S. Schefzick, G.M. Lombardo, M. Feliz, K. Rissanen, W. Lindner, K.B. Lipkowitz, J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 8611.
- [9] K. Akasaka, K. Gyimesi-Forras, M. Lammerhofer, T. Fujita, M. Watanabe, N. Harada, W. Lindner, Chirality 17 (2005) 544.
- [10] M. Lammerhoffer, J. Chrom. A. 1217 (2010) 814.
- [11] G. Hesse, R. Hagel, Chromatographia 6 (1973) 277.
- [12] G. Hesse, R. Hagel, Justus Liebigs Annalen der Chemie 3 (1976) 996.
- [13] E. Francotte, R.M. Wolf, Chirality 3 (1991) 43.
- [14] T. Ikai, C. Yamamoto, M. Kamigaito, Y. Okamoto, J. Sep. Sci. 30 (2007) 971.
- [15] Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 5357.
- [16] E. Francotte, R.M. Wolf, D. Lohmann, R. Mueller, J. Chromatogr. 347 (1985) 25.
- [17] T.D. Booth, I.W. Wainer, J. Chromatogr. A 737 (1996) 157.
- [18] E. Yashima, C. Yamamoto, Y. Okamoto, J. Am. Chem. Soc. 118 (1996) 4036.
- [19] C. Yamamoto, E. Yashima, Y. Okamoto, J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 12583.
- [20] Y.K. Ye, S. Bai, S. Vyas, M.J. Wirth, J. Phys. Chem. B 111 (2007) 1189.
- [21] R.B. Kasat, N.-H.L. Wang, E.I. Franses, Biomacromolecules 8 (2007) 1676.
- [22] T. O'Brien, L. Crocker, R. Thompson, K. Thompson, P.H. Toma, D.A. Conlon, B. Feibush, C. Moeder, G. Bicker, N. Grinberg, Anal. Chem. 69 (1997) 1999.
- [23] E. Yashima, M. Yamada, Y. Kaida, Y. Okamoto, J. Chromatogr. A 694 (1995) 347.

- [24] R.W. Stringham, J.A. Blackwell, *Anal. Chem.* 68 (1996) 2179.
- [25] T.D. Booth, W.J. Lough, M. Saeed, T.A.G. Noctor, I.W. Wainer, *Chirality* 9 (1997) 173.
- [26] T.D. Booth, K. Azzaoui, I.W. Wainer, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3879.
- [27] T.D. Booth, I.W. Wainer, *J. Chromatogr. A* 741 (1996) 205.
- [28] T.E. Beesley, *LCGC North Am.* 28 (S4) (2010) 32.
- [29] A.G. Peterson, E.S. Ahuja, J.P. Foley, *J. Chromatogr. B* 683 (1996) 15.
- [30] M. Kavamura, K. Uchiyama, *Carbohydr. Res.* 192 (1989) 83-90.
- [31] G.D.Y. Sogah, D.J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 3035.
- [32] L.R. Sousa, G.D.Y. Sogah, D.H. Hoffman, D.J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 4569.
- [33] M. Hilton, D.W. Armstrong, *J. Liq. Chromatogr.* 14 (1991) 3673.
- [34] T. Shinbo, T. Yamaguchi, K. Nishimura, M. Sugiura, *J. Chromatogr.* 405 (1987) 145.
- [35] T. Shinbo, T. Yamaguchi, H. Yanagishita, D. Kitamoto, K. Sakaki, M. Sugiura, *J. Chromatogr.* 625 (1992) 101.
- [36] M.H. Hyun, J.S. Jin, W. Lee, *J. Chromatogr. A* 822 (1998) 155.
- [37] M. Sawada, T. Tanaka, Y. Takai, *Chem. Lett.* (1990) 2011.
- [38] M. Sawada, T. Tanaka, Y. Takai, T. Hanafusa, T. Taniguchi, M. Kawamura, T. Uchiyama, *Carbohydr. Res.* 217 (1991) 7.
- [39] S. Immel, G.E. Schmitt, F.W. Lichtenthaler, *Carbohydr. Res.* 313 (1998) 91.
- [40] P. Sun, D.W. Armstrong, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 4910.
- [41] L. Janečková, K. Kalíková, J. Vozka, D.W. Armstrong, Z. Bosáková, E. Tesařová, *J. Sep. Sci.* 34 (2011) 2638.
- [42] K. Kalíková, L. Janečková, D.W. Armstrong, E. Tesařová, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 1393.
- [43] P. Sun, C.L. Wang, N.L.T. Padivitage, Y.S. Nanayakkara, S. Perera, H.X. Qiu, Y. Zhang, D.W. Armstrong, *Analyst* 136 (2011) 787.
- [44] T. Gondova, J. Petrovaj, P. Kutschy, D.W. Armstrong, *J. Chromatogr. A* 1272 (2013) 100.
- [45] A. Aranyi, A. Bagi, I. Ilisz, Z. Pataj, F. Fülöp, D.W. Armstrong, A. Péter, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 617.
- [46] S. Perera, Y.C. Na, T. Doundoulakis, V.J. Ngo, Q. Feng, Z.S. Breitbach, C.J. Lovely, D.W. Armstrong, *Chirality* 25 (2013) 133.
- [47] J. Vozka, K. Kalíková, L. Janečková, D.W. Armstrong, E. Tesařová, *Anal. Lett.* 45

- (2012) 2344.
- [48] J. Vozka, K. Kalíková, C. Roussel, D.W. Armstrong, E. Tesařová, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 1711.
 - [49] Y. Takai, Y. Okumura, T. Tanaka, M. Sawada, S. Shigetoshi, M. Shiro, M. Kawa-mura, T. Uchiyama, *J. Org. Chem.* 59 (1994) 2967.
 - [50] J.C. Reijenga, T. Verheggen, M. Chiari, *J. Chromatogr. A* 838 (1999) 111.
 - [51] C. Wang, S.H. Yang, J. Wang, P. Kroll, K.A. Schug, D.W. Armstrong, *Int. J. MassSpectrom.* 291 (2010) 118.
 - [52] L. Wang, Y.F. Chai, C.R. Sun, D.W. Armstrong, *Int. J. Mass Spectrom.* 21 (2012) 323.
 - [53] C. Wang, P. Sun, D.W. Armstrong in: A. Berthod, *Chiral recognition in separation methods, mechanism and applications*, Springer-Verlag, Berlin, 2010.
 - [54] C. Wang, D.W. Armstrong, D.S. Risley, *Anal. Chem.* 79 (2007) 8125.
 - [55] M.H. Hyun, in: G. Subramanian (Ed.), *Chiral Separation Techniques*, Third edition, John & Sons, Wiley, 2007, p. 275.
 - [56] H. Nishi, K. Nakamura, H. Nakai, T. Sato, *J. Chromatogr. A* 757 (1997) 225.
 - [57] P. Sun, C. Wang, Z.S. Breitbach, Y. Zhang, D.W. Armstrong, *Anal. Chem.* 81 (2009)
 - [58] T. Fornstedt, P. Sajonz, G. Guichon, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 1254.
 - [59] T. Fornstedt, P. Sajonz, G. Guichon, *Chirality* 10 (1998) 375.
 - [60] B. Koppenhoefer, E. Bayer, *Chromatographia* 19 (1984) 123.
 - [61] V. Schurig, J. Ossig, R. Link, *Angew. Chem.* 101 (1989) 197.
 - [62] S. Allenmark, V. Schurig, *J. Mater. Sci.*, 7 (1977) 1955.
 - [63] I. Spanik, J. Krupcik, V. Schurig, *J. Chromatogr. A* 843 (1999) 123.
 - [64] G. Gotmar, T. Fornstedt, G. Guiochon, *Anal. Chem.* 72 (2000) 3908.
 - [65] A. Cavazzini, G. Nadalini, F. Dondi, F. Gasparrini, A. Ciogli, C. Villani, *J. Chromatogr. A* 1031 (2004) 143.
 - [66] J. Oxelbark, S. Allenmark, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1587 (1999) 1587.
 - [67] L. Thurnberg, S. Allenmark, A. Friberg, F. Ek, T. Frejd, *Chirality* 16 614 (2004) 614.
 - [68] E. Peyrin, Y.C. Guillaume, C. Guinchard, *Anal. Chem.* 69 (1997) 4979.
 - [69] K. Watabe, R. Charles, E. Gil-Av, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 28 (1989) 192.
 - [70] V. Schurig, F. Betschinger, *Chem. Rev.* 92 (1992) 873.
 - [71] V. Schurig, J. Ossig, R. Link, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 28 (1989) 194.
 - [72] V. Schurig, *J. Chromatogr. A* 965 (2002) 315.
 - [73] Z.J. Zhang, V. Schurig, *J. Chromatogr. A* 1186 (2008) 262.
 - [74] K. Balmér, P.O. Lagerström, B.A. Persson, *J. Chromatogr. A* 592 (1992) 331.

- [75] W.H. Pirkle, P.G. Murray, J. High Resolut. Chromatogr. 16 (1993) 285.
- [76] K. Fulde, A.W. Frahm, J. Chromatogr. A 858 (1999) 33.
- [77] M. Schlauch, A.W. Frahm, Anal. Chem. 73 (2001) 262.
- [78] B. Yao, F. Zhan, G. Yu, Z. Chen, W. Fan, X. Zeng, Q. Zeng, W. Weng, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 5429.
- [79] R.W. Stringham, J.A. Blackwell, Anal. Chem. 69 (1997) 1414.
- [80] M. Betti, Gazzetta Chim. Ital. 31 (1901) 191.
- [81] C. Cardellicchio, G. Ciccarella, F. Naso, F. Perna, P. Tortorella, Tetrahedron 55 (1999) 14685.
- [82] J.X. Ji, L.Q. Qiu, C.W. Yip, A.S.C. Chan, J. Org. Chem. 68 (2003) 1589.
- [83] N.C. Desai, H.K. Shukla, N.A. Langalia, K.A. Thaker, J. Indian Chem. Soc. 61 (1984) 711.
- [84] Y. Perez-Fuertes, A.M. Kelly, J.S. Fossey, M.E. Powell, S.D. Bull, T.D. James, Nat. Protoc. 3 (2008) 210.
- [85] G. Grigorean, C.B. Lebrilla, Anal. Chem. 73 (2001) 1684.
- [86] M.H. Hyun, J. Sep. Sci. 26 (2003) 242.
- [87] G.G. Smith, K.M. Williams, D.M. Wonnacott, J. Org. Chem. 43 (1978) 1.
- [88] J. Kim, Y. Lee, Food Sci. Technol. Int. (London, U.K.) 15 (2009) 291.
- [89] M.P. Johnson, A.J. Hoffman, D.E. Nichols, Eur. J. Pharmacol. 132 (1986) 269.
- [90] R.R. Fenton, W.J. Easdale, H.M. Er, S.M. O'Mara, M.J. McKeage, P.J. Russell, T.W. Hambley, J. Med. Chem. 40 (1997) 1090.
- [91] L. Dong, Q. Du, C. Lou, J. Zhang, R. Lu, M. Yan, Synlett 2 (2010) 266.
- [92] Y. Wang, H. Yang, J. Yu, Z. Miao, R. Chen, Adv. Synth. Catal. 351 (2009) 3057.
- [93] S. Luo, Y. Qiao, L. Zhang, J. Li, X. Li, J. Cheng, J. Org. Chem. 74 (2009) 9521.
- [94] L. Xu, J. Luo, Y. Lu, Chem. Commun. (Cambridge, U.K.) (2009) 1807.
- [95] Y. Chen, Synlett 1 (2008) 1919.
- [96] F. Peng, Z. Shao, J. Mol. Catal. A: Chem. 285 (2008) 1.
- [97] A. Aranyi, I. Ilisz, N. Grecsó, R. Csütörtöki, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, J. Pharm. and Biomed. Anal 76 (2013) 183.
- [98] A. Péter, A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, ISC, 28th International Symposium on Chromatography, 12-17 September, Valencia, Spain (2010)
- [99] A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 4869.
- [100] T. Wang, R.M. Winslow, J. Chromatogr. A 1015 (2003) 99.

[101] I. Ilisz, Z. Pataj, R. Berkecz, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2980.

[102] A.Z. Meyer J. Chem. Soc. Perkin. Trans 2 (1986) 1567.

9. KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

9.1. Az értekezésben feldolgozott közlemények

2011

A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter

High-performance liquid chromatographic enantioseparation of 1-(phenylethylamino)- or 1-(naphthylethylamino)methyl-2-naphthol analogs and a temperature-induced inversion of the elution sequence on polysaccharide-based chiral stationary phases

Journal of Chromatography A, 1218, 4869-4876

Impakt faktor: **4,582**

A. Aranyi, I. Ilisz, I., Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, D. W. Armstrong, A. Péter

High-performance liquid chromatographic enantioseparation of Betti base analogs on a newly developed isopropyl carbamate-cyclofructan6-based (IP-CF6) chiral stationary phase

Chirality, 23, 549-556

Impakt faktor: **2,350**

2012

A. Aranyi, Á. Bagi, I. Ilisz, Z. Pataj, F. Fülöp, D. W. Armstrong, A. Péter

High-performance liquid chromatographic enantioseparation of amino compounds on a newly developed isopropyl carbamate-cyclofructan6-based (IP-CF6) chiral stationary phase

Journal of Separation Science, 35, 617-624

Impakt faktor: **2,733**

2013

A. Aranyi, I. Ilisz, N. GreCsó, R. Csütörtöki, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter

Development of the high-performance liquid chromatographic method for the enantioseparation of unusual glycine ester analogs on polysaccharide-based chiral stationary phases.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 76, 183-191

Impakt faktor: **2,967**

Összesített impakt faktor: **12,632**

9.2. Az értekezés témájához kapcsolódó fel nem használt közlemények

2010

Z. Pataj, I. Ilisz, **A. Aranyi**, E. Forró, F. Fülöp, D. W. Armstrong, A. Péter

LC Separation of γ -Amino Acid Enantiomers

Chromatographia, 71, 13-19

Impakt faktor: **1,075**

I. Ilisz, Z. Pataj, **A. Aranyi**, A. Péter

Chiral HPLC separation of amino acid enantiomers and epimers of small, biologically important peptides

Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 10, 287-298

Impakt faktor: **2,622**

2011

I. Ilisz, **A. Aranyi**, Z. Pataj, A. Péter

Enantioseparations by High-Performance Liquid Chromatography Using Macrocyclic Glycopeptide-Based Chiral Stationary Phases

Chiral Separations-Methods and Protocols

Szerkesztő: G. Scriba, Humana Press, Totowa, NJ, USA, Könyvfejezet

2012

I. Ilisz, Z. Pataj, **A. Aranyi**, A. Péter

Macrocyclic antibiotic selectors in direct HPLC enantioseparations

Separation and Purification Reviews, 41, 207-249

Impakt faktor: **2,429**

I. Ilisz, **A. Aranyi**, Z. Pataj, A. Péter

Recent advances in the enantioseparation of amino acids and related compounds: A review

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 69, 28-41

Impakt faktor: **2,967**

I. Ilisz, **A. Aranyi**, Z. Pataj, A Péter

Enantiomeric separation of nonproteinogenic amino acids by high-performance liquid chromatography

Journal of Chromatography A, 1269, 94-121

Impakt faktor: **4,612**

L. Sipos, I. Ilisz, **A. Aranyi**, Zs. Gecse, M. Nonn, F. Fülöp, M.H. Hyun, A. Péter

High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on (+)-(18-Crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phases

Chirality, 24, 817-824, 2012.

Impakt faktor: **2,350**

2013

I. Ilisz, **A. Aranyi**, A. Péter

Chiral derivatizations applied for the separation of unusual amino acid enantiomers by liquid chromatography and related techniques

Journal of Chromatography A, 1296, 119-139.

Impakt faktor: **4,582**

2014

I. Ilisz, N. Grecsó, **A. Aranyi**, P. Suchotin, D. Tymecka, B. Wilenska, A. Misicka, F. Fülöp, W. Lindner, A. Péter

Enantioseparation of β^2 -amino acids on *cinchona* alkaloid-based zwitterionic chiral stationary phases. Structural and temperature effects.

Journal of Chromatography A, 133, 44–54

Impakt faktor: **4,582**

A. Aranyi, I. Ilisz, A. Péter; F. Fülöp, G. K. E. Scriba

Cyclodextrin-mediated enantioseparation of phenylalanine amide derivatives and amino alcohols by capillary electrophoresis—Role of complexation constants and complex mobilities

Electrophoreses DOI 10.1002/elps.201400142

Impakt faktor: **3,261**

Összesített impakt faktor: 41,112

9.3. Poszterek

2010

Aranyi A., Ilisz I., Pataj Z., Szatmári I., Fülöp F., Péter A.

Aminonaftol sztereoizomerek nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás elválasztása poliszacharid alapú királis kolonnákon

Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2010, Tapolca, 2010. november 10-12.

A. Péter, **A. Aranyi**, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp

High-Performance Liquid Chromatographic Enantioseparation of Aminonaphthol Analogs on Polysaccharide-Based Chiral Stationary Phases

ISC 28th International Symposium on Chromatography,

Valencia, 2010. szeptember 12-16.

2011

A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter

HPLC Enantioseparation and a Temperature-Induced Inversion of the Elution Sequence of 1-(Phenylethylamino)- or 1-(Naphthylethylamino)methyl-2-Naphthol Analogs

36th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, Budapest, 2011. június 19-23.

A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter

HPLC Enantioseparation and a Temperature-Induced Inversion of the Elution Sequence of Aminonaphthol Analogs

17th International Symposium on Separation Sciences, Kolozsvár, 2011. szeptember 5-9.

A. Aranyi, I. Ilisz, Z. Pataj, I. Szatmári, F. Fülöp, A. Péter

HPLC Enantioseparation of Aminonaphthol Analogs on Polysaccharide-Based Chiral Stationary Phases

ISC 29th International Symposium on Chromatography, Torun, 2012. szeptember 9-13.

2013

A. Aranyi, I. Ilisz, N. Grecsó, A. Misicka, D. Tymecka, S. Wernisch, W. Lindner, A. Péter
 β -aminosavak folyadékkromatográfiás elválasztása, új zwitterion típusú állófázison
Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, 2013. Június 23-25.

2014

A. Aranyi, I. Ilisz, A. Péter; F. Fülöp, G. K. E. Scriba
Determination of binding constants and the influence of the cyclodextrin cavity size for the EMO
on the separation of amino compounds by capillary electrophoresis
MicroBioseparation Conference, Pécs, 2014. április 27- május 1

9.4. Előadások

2010

Aminonaftol enantiomerek királis folyadékkromatográfiás elválasztása
Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány Előadóülése, Szeged

Aminonaftol enantiomerek királis folyadékkromatográfiás elválasztása
XXXII. Kémiai Előadói Napok, Szeged

Aminonaftol enantiomerek királis folyadékkromatográfiás elválasztása
Műszaki TDK, Temesvár

2011

Aminonaftol enantiomerek királis folyadékkromatográfiás elválasztása
XXX. OTDK, Kémiai és Vegyipari Szekció, Analitikai Kémia szekció, Pécs

Betti-bázis analógok királis kromatográfiája poliszacharid-típusú állófázisokon
Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány Előadóülése, Szeged

2013

β^2 -aminosavak elválasztása új, zwitterion cserélő királis állófázisokon
MTA Peptidkémiai Munkabizottság Tudományos Ülése, Balatonszemes

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Legnagyobb köszönettel témavezetőmnek, **Prof. Dr. Péter Antal** egyetemi tanárnak tartozom, aki a kiváló szakmai tanácsai, önzetlen támogatása mellett, a többi Ph.D. hallgatóval egyetemben szinte lányaként kezelt, és minden felmerülő egyéb problémában bármikor bizalommal fordulhattam hozzá.

Köszönet illeti **Dr. habil Ilisz István** egyetemi docenst, aki nélkülözhetetlen szakmai tanácsaival, támogatásával alapvetően hozzájárult szakmai fejlődésemhez és sikeres munkámhoz. Köszönöm, hogy mindig rendelkezésemre állt, ha szakmailag, ha pedig barátilag volt rá szükségem.

Szeretném megköszönni **Dr. Pataj Zoltán** posztdoktornak a munkámhoz nyújtott segítségét, folyamatos szakmai, de legfőképpen baráti támogatását, a külföldi tanulmányút ösztönzését. Köszönöm elsősorban **Nektek**, valamint **Gecse Zsanett, Grecsó Nóra** PhD hallgatóknak és **Dr. Sipos Lászlónak** a laborban kialakított kiváló légkört, mely nagyban hozzájárult a hatékony munkámhoz, eredményeimhez és Szeged város iránti szeretetemhez.

Köszönöm **Prof. Dr. Kiss Tamás** tanszékvezető egyetemi tanárnak a lehetőséget, hogy a Tanszéken dolgozhattam.

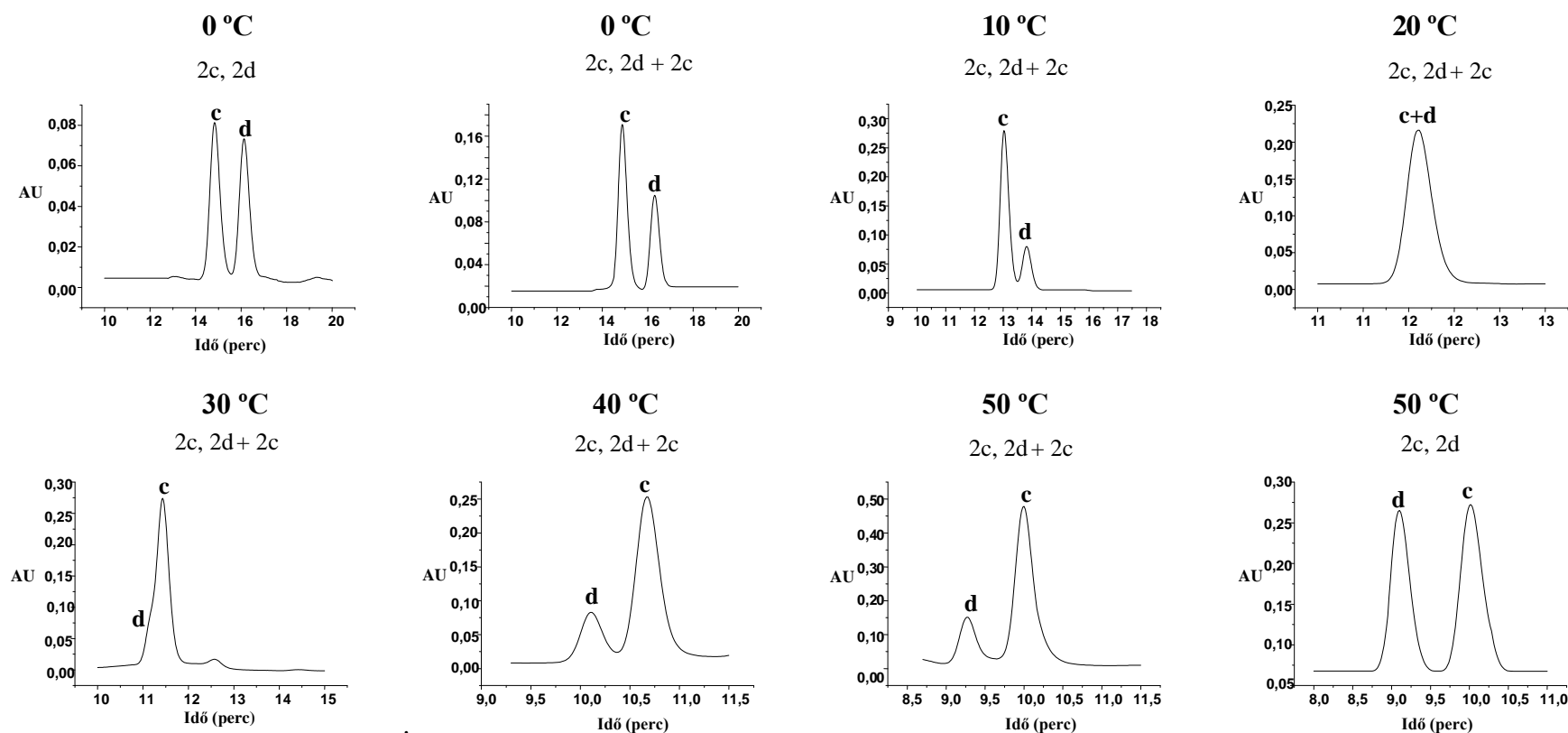
Köszönettel tartozom **Prof. Dr. Fülöp Ferenc** akadémikusnak és munkatársainak, hogy nagyszerű munkájuk eredményeivel az én kutatásaimat is segítették.

Hálásan köszönöm **Anyukámnak, Apukámnak** valamint testvéreimnek, **Zizinek és Jozsónak** az egyetemi és doktori évek során nyújtott erkölcsi és anyagi támogatást melyek nélkül most nem tarthatnék itt.

11. FÜGGELÉK

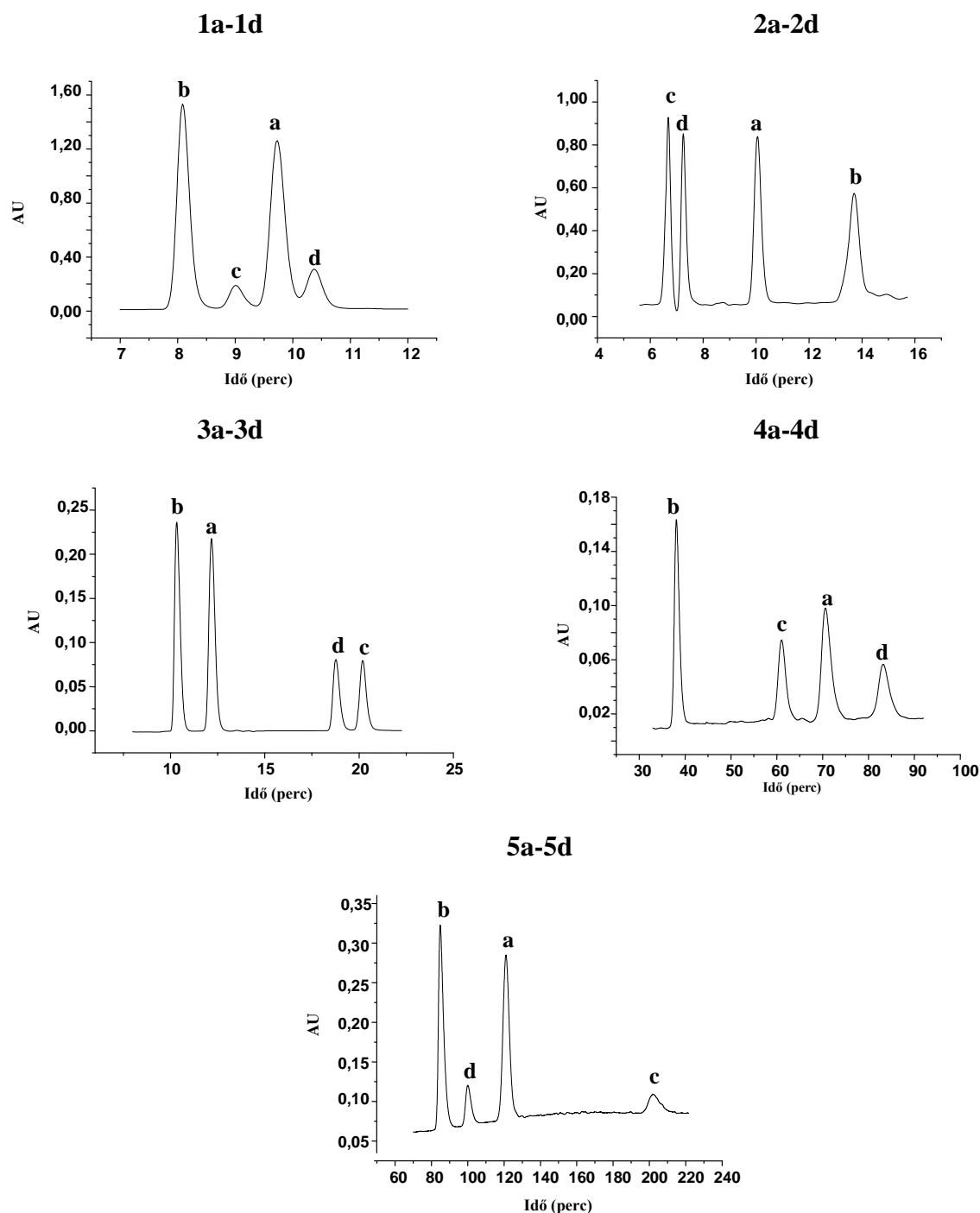
11.1. A két kiralitáscentrummal rendelkező aminonaftol analógok kromatogramjai

11.1.1. A 2 aminonaftol analóg c-d enantiomerek elúciós sorrendjének változása a hőmérséklet hatására



Kolonna: Lux Cellulose-1, **eluens,** heptán/2-PrOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v); **áramlási sebesség,** 0,5 ml perc⁻¹; **detektálás,** 230 nm; **hőmérséklet,** 0-50°C

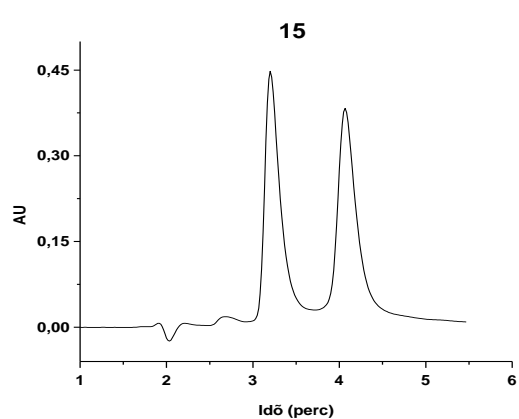
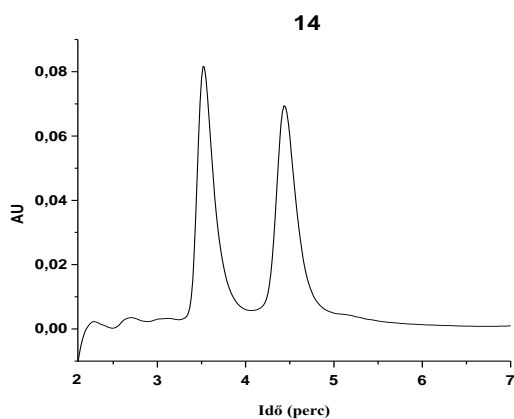
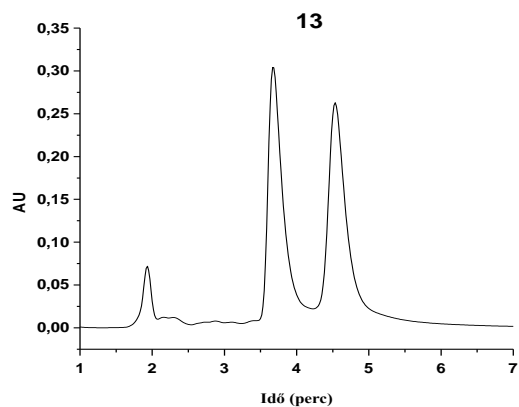
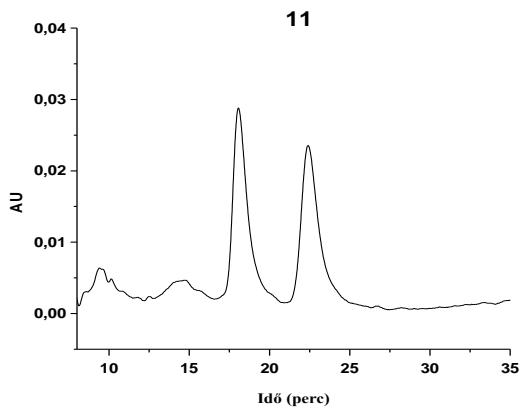
11.1.2. Válogatott kromatogramok



Kolonna: Lux Cellulose-1; **eluens összetétel:** heptán/*t*-BuOH/DEA 95/5/0,1 (v/v/v) (**1a-1d**), heptán/PrOH/DEA=99/1/0,1 (v/v/v) (**2a-2d**), heptán/*t*-BuOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) (**3a-3d**), heptán/MeOH/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) (**4a-4d**); heptán/IPA/DEA=98/2/0,1 (v/v/v) (**5a-5d**)
áramlási sebesség: 0,5 ml perc⁻¹; **detektálás:** 230 nm; **hőmérséklet:** 25 °C (**1a-1d**, **2a-2d**, **4a-4d**, **5a-5d**), 5 °C (**3a-3d**)

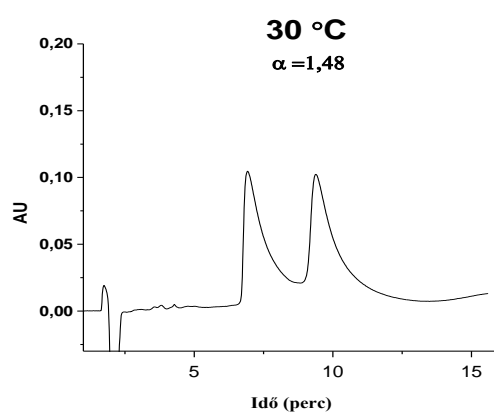
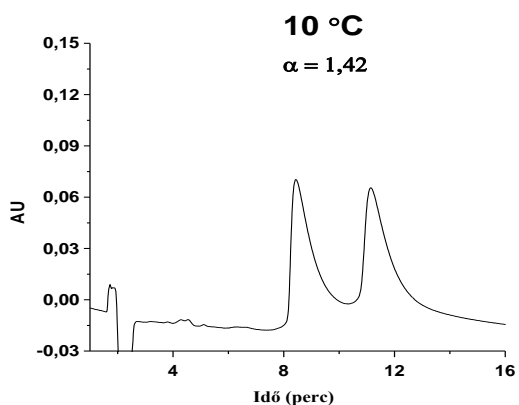
11.2. Az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1-naftol analógok kromatogramjai

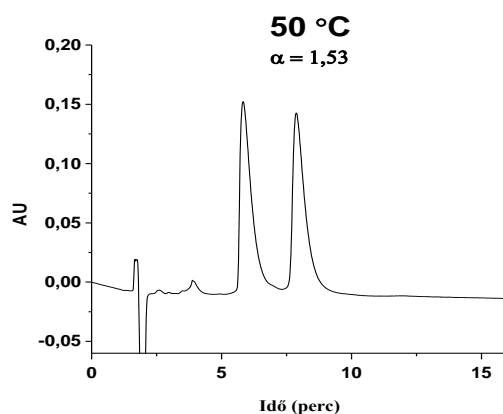
11.2.1. Válogatott kromatogramok



Kolonna: Lux Cellulose-1 (**13-15**), Lux Cellulose-2 (**11**); **eluens összetétel:** heptán/2-PrOH /DEA 80/20/0,1 (v/v/v) (**11**), heptán/2-PrOH/DEA=60/40/0,1 (v/v/v) (**13-15**); **áramlási sebesség:** 1,0 ml perc⁻¹; **detektálás:** 230 nm; **hőmérséklet:** 25 °C

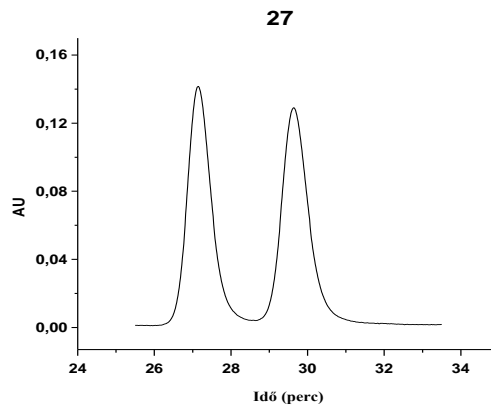
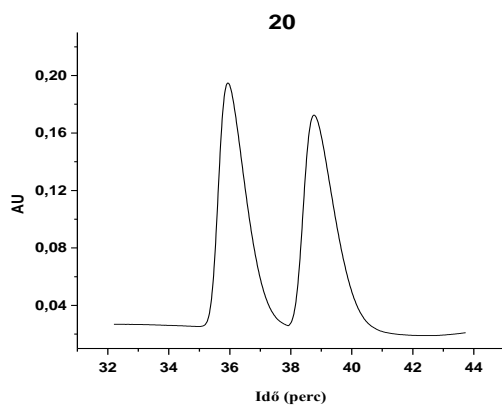
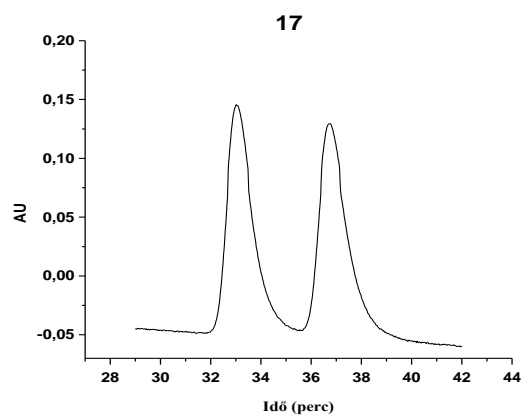
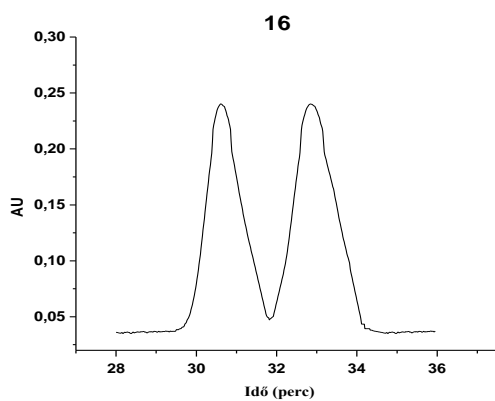
11.2.2. A 10 minta kromatogramjai különböző hőmérsékleten

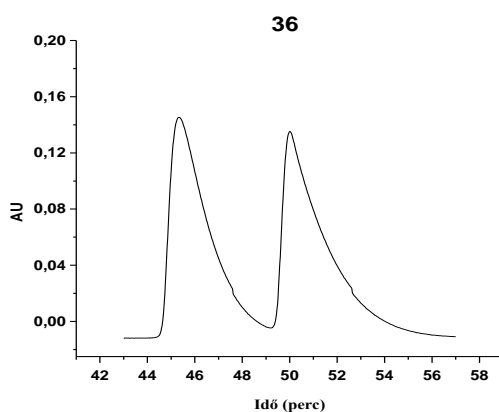
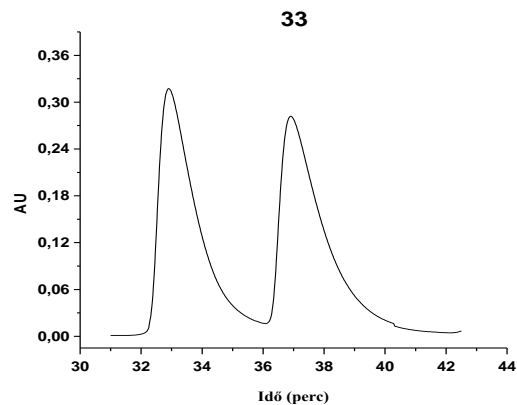
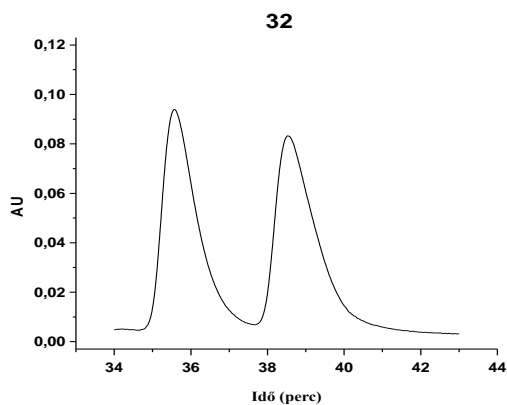




Kolonna: Lux- Cellulose-1, **eluens,** heptán/2-PrOH/DEA=80/20/0,1 (v/v/v); **áramlási sebesség,** 0,5 ml perc⁻¹; **detektálás,** 230 nm; **hőmérséklet,** 10, 30 és 50°C.

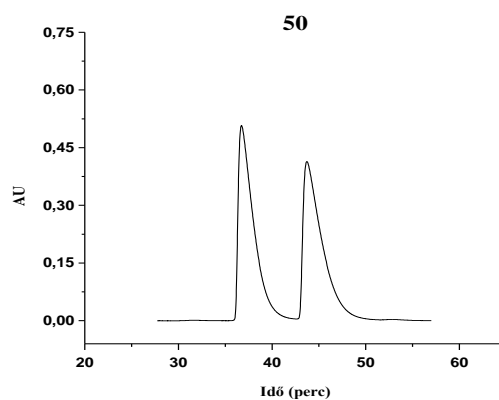
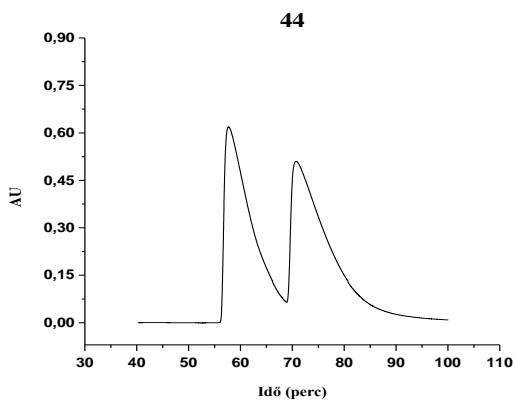
11.3. Az egy kiralitáscentrummal rendelkező 1-és 2-naftol analógok kromatogramjai

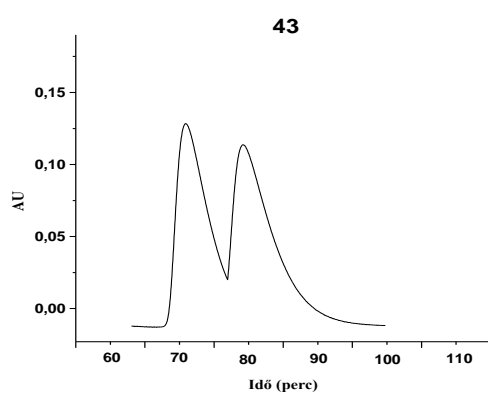
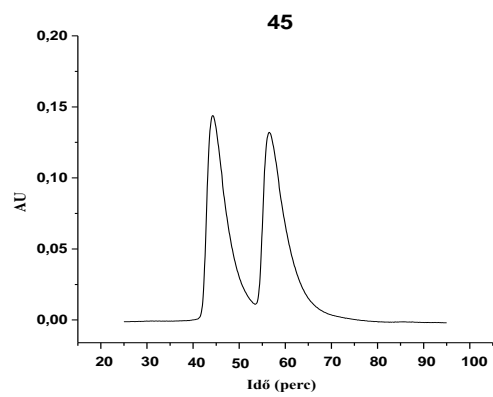
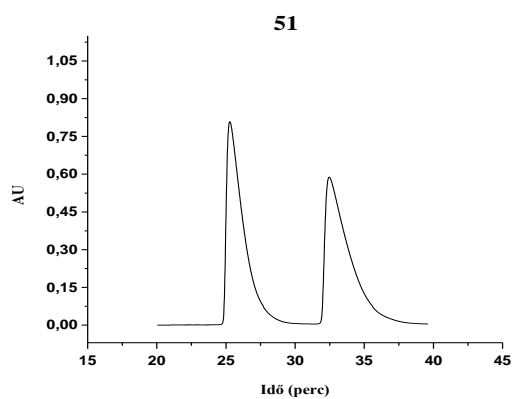




Kolonna, CF6-P; eluens összetétel, heptán/2-PrOH/TFA = 65/35/0,1 (v/v/v) (27), 70/30/0,1 (v/v/v) (33), 75/25/0,1 (v/v/v) (16, 17, 36) 70/30/0,3 (v/v/v) (20, 32); áramlási sebesség, 0,8 ml min⁻¹; detektálás, 215 nm; szobahőmérséklet.

11.4. Savamid, amino-alkohol és diamin analógok kromatogramjai





Kolonna: CF6-RN (**43-45**), CF6-IP (**44, 50, 51**); **eluens összetétel:** heptán/EtOH/TFA 77/23/0,1 (v/v/v), heptán/2-PrOH/TFA 40/60/0,1 (v/v/v) (**44, 50**), heptán/BuOH/TFA=64/36/0,1 (v/v/v) (**51**); **áramlási sebesség:** 0,5 ml perc⁻¹; **detektálás:** 210 nm; **hőmérséklet:** 25 °C.