

# Ciklodextrinek analitikája

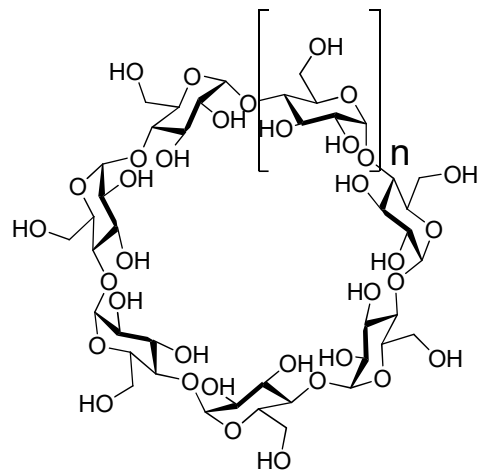
## Ciklodextrinek az analitikában

**Dr. Varga Erzsébet**  
**Kutató vegyész / analitikus**

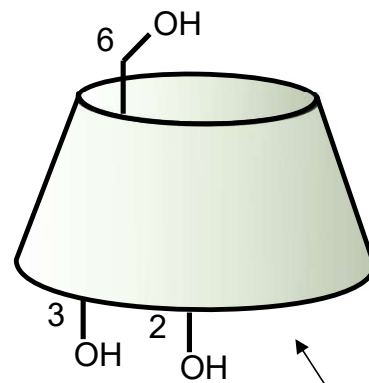
2022.10.17.



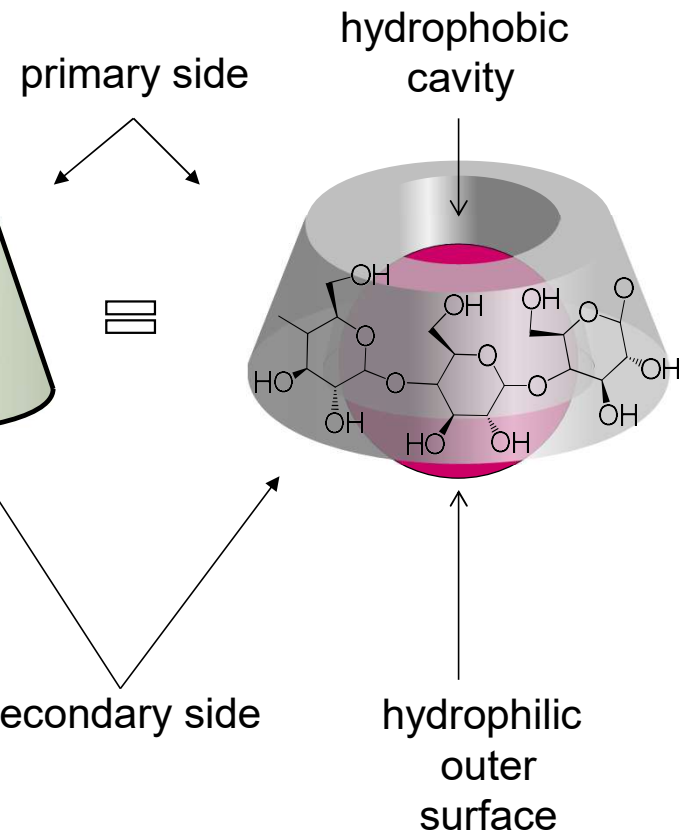
# Ciklodextrinek



≡



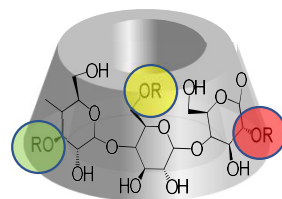
≡



CD	Number of glucose units
$\alpha$	6
$\beta$	7
$\gamma$	8

# Ciklodextrin származékok izomerjei

Random/statistical substitution

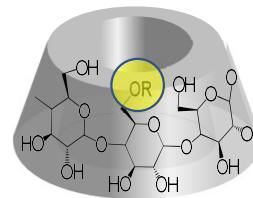
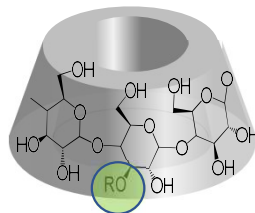
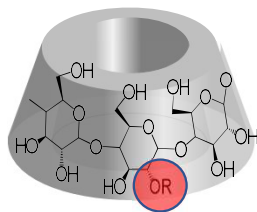


 position 2-O

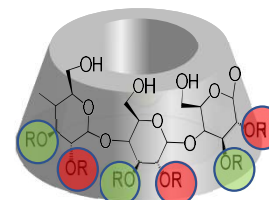
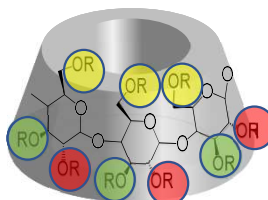
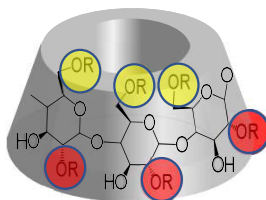
 position 3-O

 position 6-O

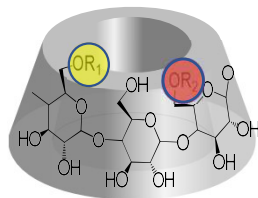
Monosubstitution



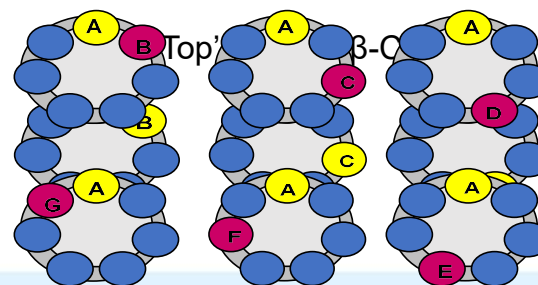
Persubstitution



Disubstitution



'Top' view for  $\beta$ -CD



pseudoenantiomers

# A feladat pontos meghatározása

## Mi a vizsgálandó anyag?

- ✓ Alap ciklodextrinek
- ✓ Ciklodextrin származékok
  - Semleges, ionos
  - Random szubsztituált vagy single-isomer

## Milyen minőségben?

- ✓ finomvegyszer
- ✓ alapanyag
- ✓ gyógyszer segédanyag
- ✓ API

## Mi a cél?

- ✓ tartalmi meghatározás
- ✓ szennyezések, bomlástermékek vizsgálata (egyéb ciklodextrinek, lineáris dextrinek, szintézis melléktermékek, szerves és szervetlen ionok, oldószerek, nehézfémek)

## Alkalmazott technikák

- ✓ HPLC, HPLC-MS
- ✓ GC
- ✓ CE, IC
- ✓ ICP-MS

## Alkalmazott detektorok

- ✓ RI
- ✓ ELSD
- ✓ CAD
- ✓ MS

# Ciklodextrinek analitikája

## Alap ciklodextrinek

- ✓ ACD, BCD, GCD
- ✓ Gyógyszerkönyvi módszer (E.P. 9.3, E.P. 9.8, E.P. 10.0)
- ✓ Tartalmi meghatározás (assay)
- ✓ Egyéb ciklodextrinek, bomlástermékek
- ✓ HPLC-RID
- ✓ C18 oszlop, víz/metanol eluens rendszer

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 11

Gammadex

04/2018:2769  
corrected 10.1

## GAMMADEX

Gammadexum

*The following chromatogram is shown for information but will not be published in the European Pharmacopoeia.*

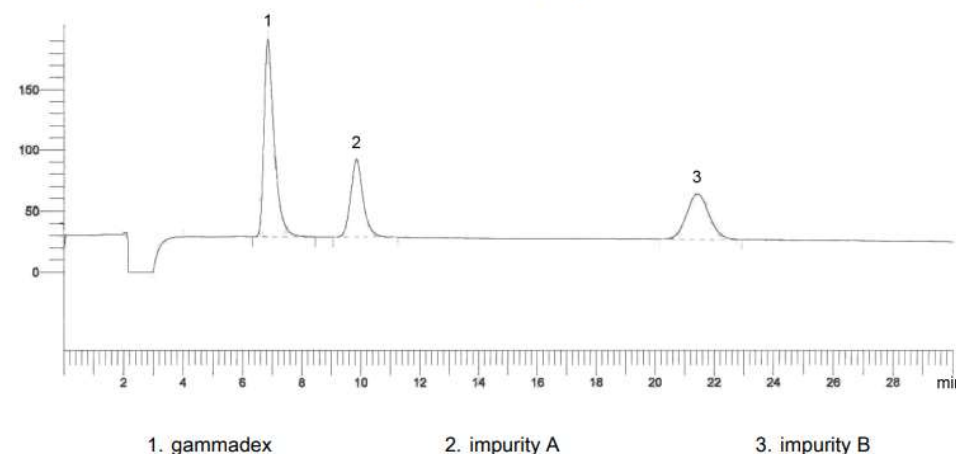


Figure 2769.-1. – Chromatogram for the test for related substances of gammadex: reference solution (a)

# Random szubsztituált származékok jellemzése / DS mintázat (HPLC, CE, MALDI)

## Szubsztitúciós fok:

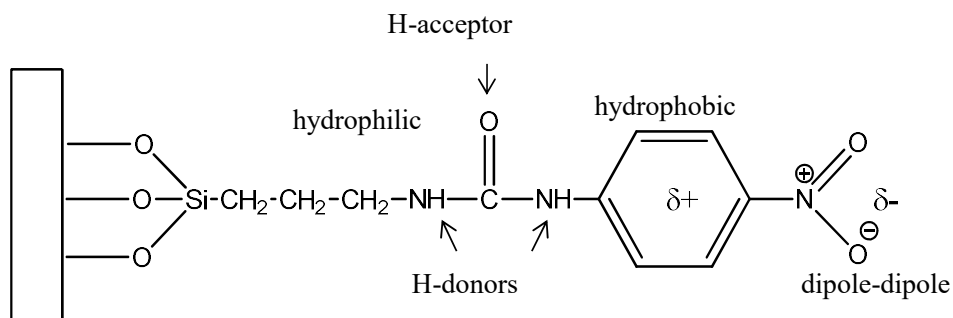
Degree of substitution (DS): Szubsztituensek átlagos száma egy ciklodextrin gyűrűn

Moláris (MS): a szubsztituensek átlagos száma egy glükóz egységen

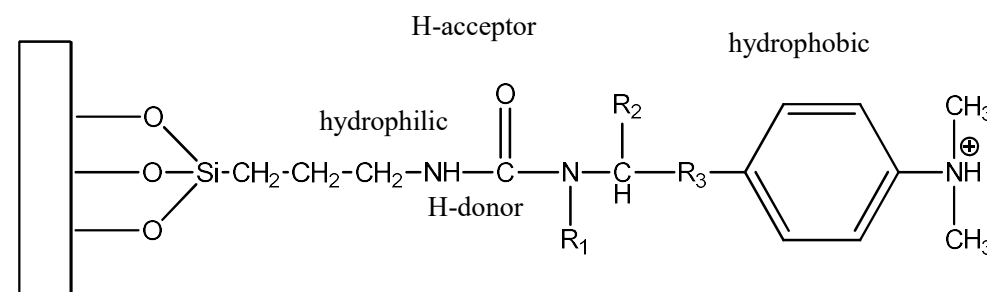
## Szubsztitúciós mintázat:

A szubsztituensek elrendeződése a ciklodextrin gyűrűn

### CD-Screen oszlop

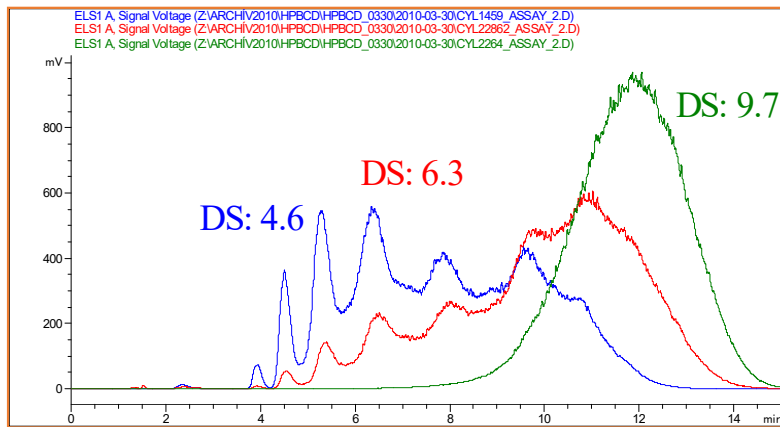


### CD-Screen-IEC oszlop

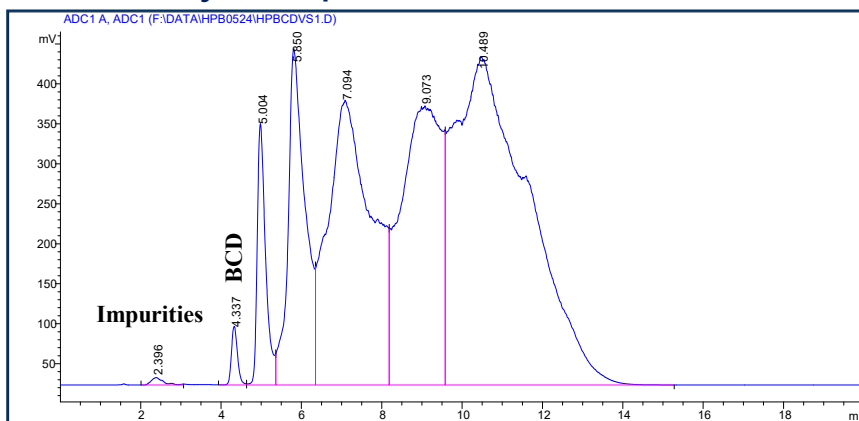


## DS mintázat : HPBCD

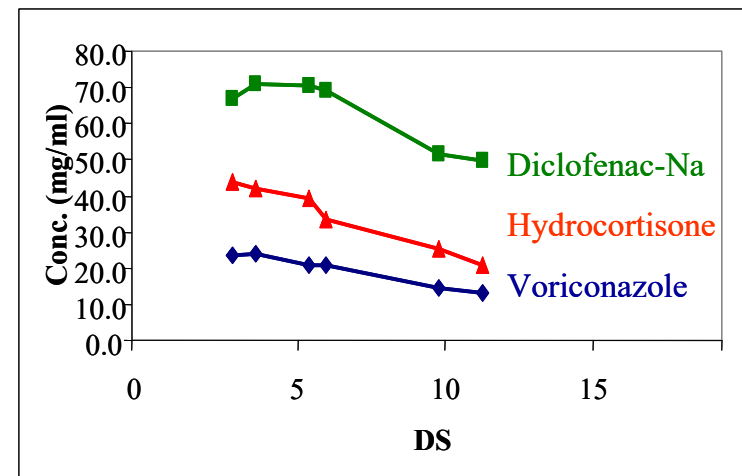
- ✓ Szubsztitúciós fok: 2-10
- ✓ CDScreen oszlop (víz/metanol)



## ✓ szennyezésprofil

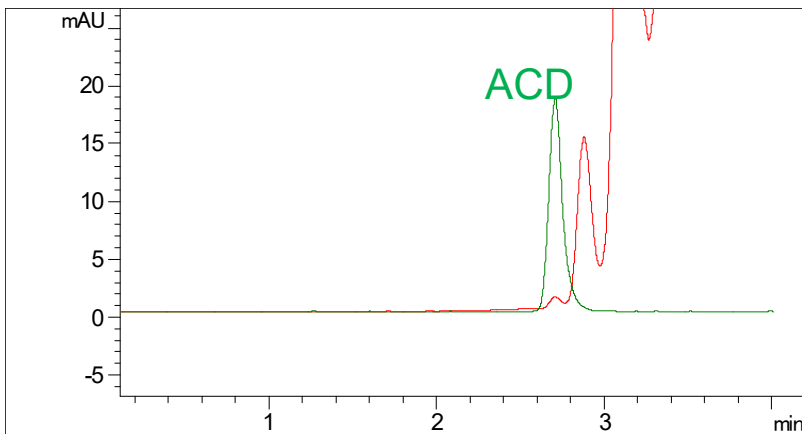
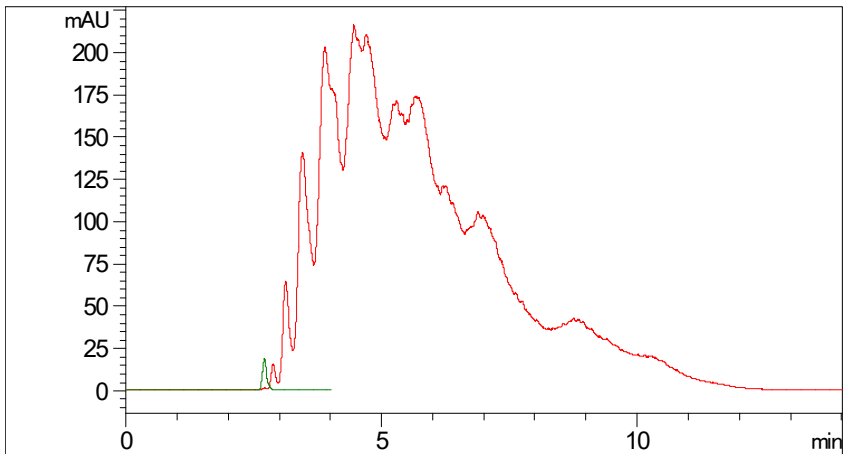


Különböző gyógyszermolekulák oldhatósága vizes HPBCD oldatban a szubsztitúciós fok függvényében

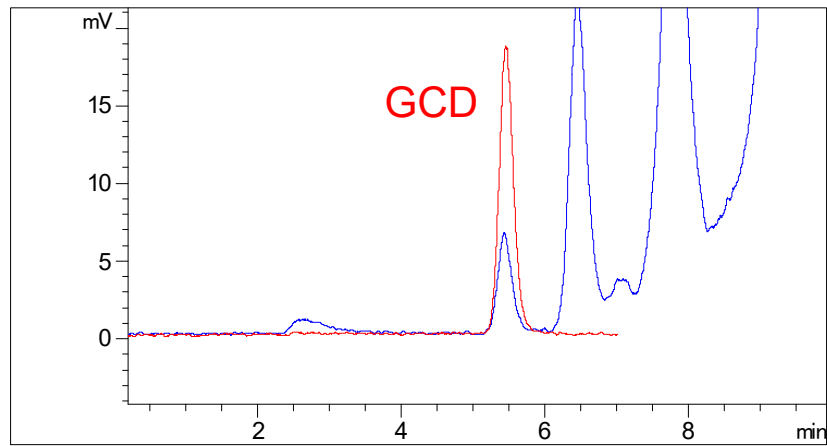
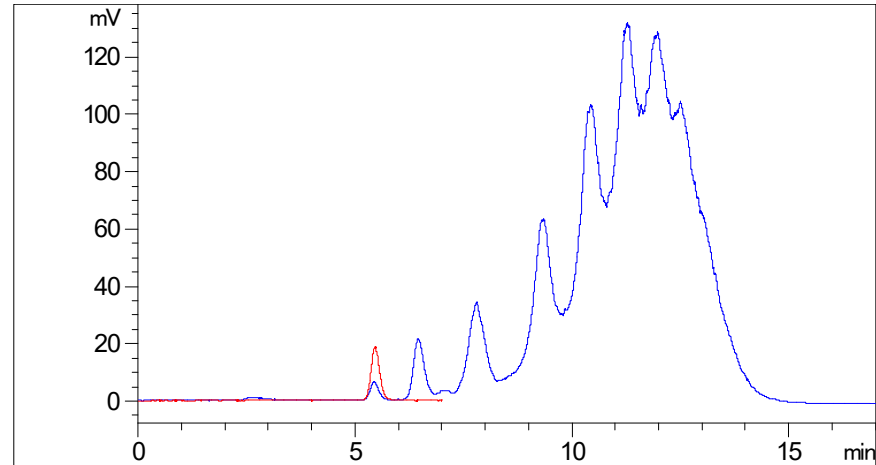


FDA 2010 szeptember: Hydroxypropyl Betadex orphan drug !

## HPACD



## HPGCD



DS szerinti  
elválasztás a  
CDScreen  
oszlopon

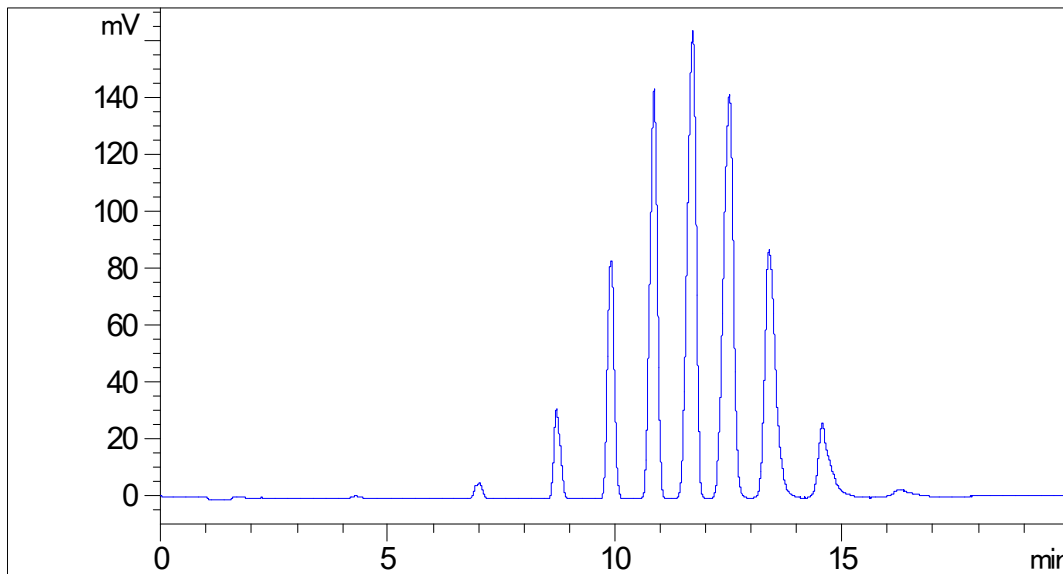
Alap CD mint  
lehetséges  
szennyező

Egyéb  
bomlástermékek  
detektálása



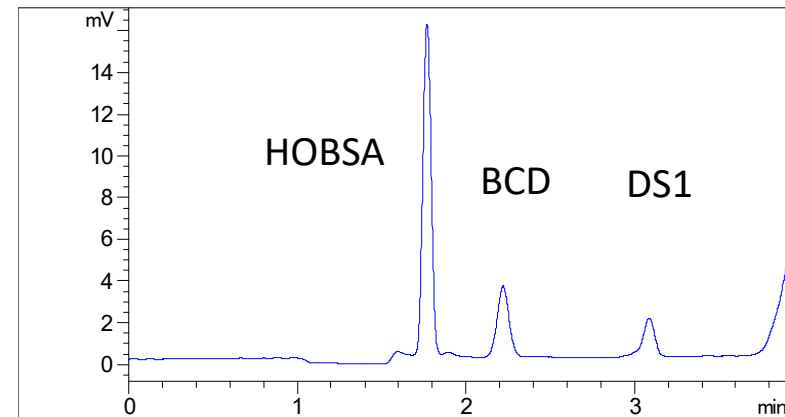
## DS mintázat : SBECD

- ✓ Szubsztitúciós fok: 6.2-6.9
- ✓ CDSscreen-IEC oszlop (E.P. 10.3)
- ✓ HPLC-ELSD



DS szerinti elválasztás (1-9)

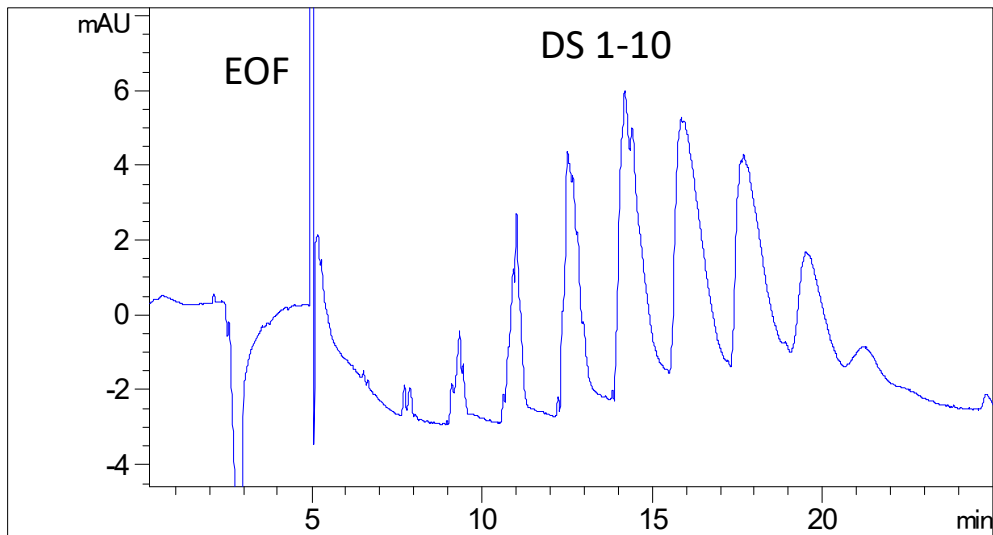
DS meghatározás nem lehetséges az ELSD detektálás miatt



A módszer alkalmas a szennyezők detektálására is

## DS mintázat : SBECD

- ✓ Szubsztitúciós fok: 6.2-6.9
- ✓ CE-UV
- ✓ pTSA/TRIS pH=8 puffer

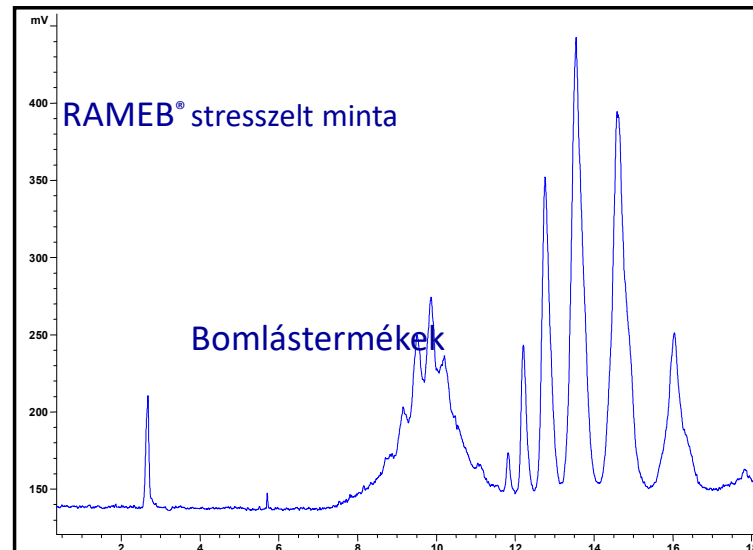
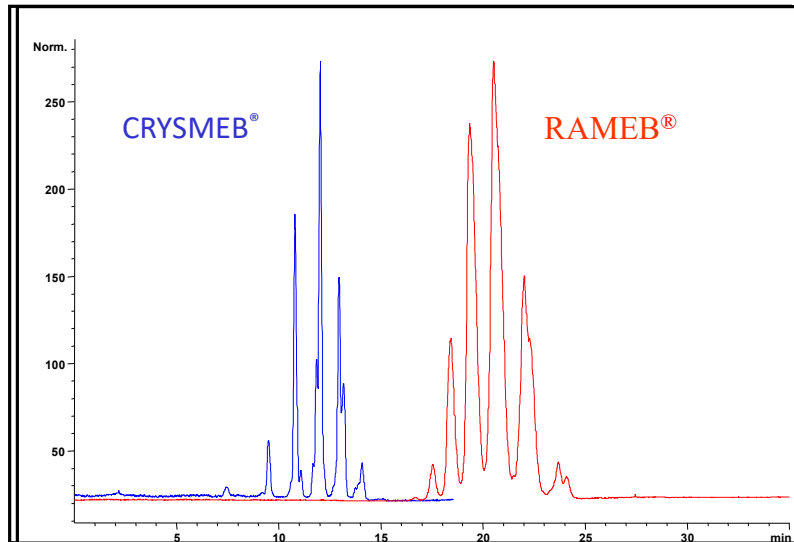
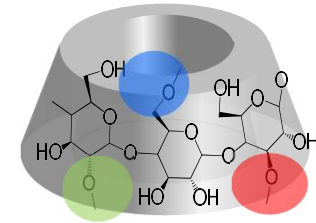


47K320922 1		effective length	Migration time	Corr Area	Norm A	DS			
DS	Area								
1	1.52	50	6.5	11.58	0.25	0.25	0.11	Complies	
2	8.71	50	7.91	55.00	1.18	2.35	0.63	Complies	
3	33.39	50	9.41	177.51	3.79	11.38	2.40	Complies	
4	88.99	50	11.09	401.06	8.57	34.28	6.39	Complies	
5	202.83	50	12.62	803.59	17.17	85.86	14.57	Complies	
6	319.36	50	14.34	1113.93	23.81	142.83	22.95	Complies	
7	326.55	50	16.02	1019.20	21.78	152.47	23.47	Complies	
8	252.95	50	17.87	707.63	15.12	120.98	18.18	Complies	
9	120.62	50	19.79	304.75	6.51	58.61	8.67	Complies	
10	36.75	50	21.58	85.13	1.82	18.19	2.64	Complies	
						6.27		Complies	

# Metil-ciklodextrinek (izomerkeverések)



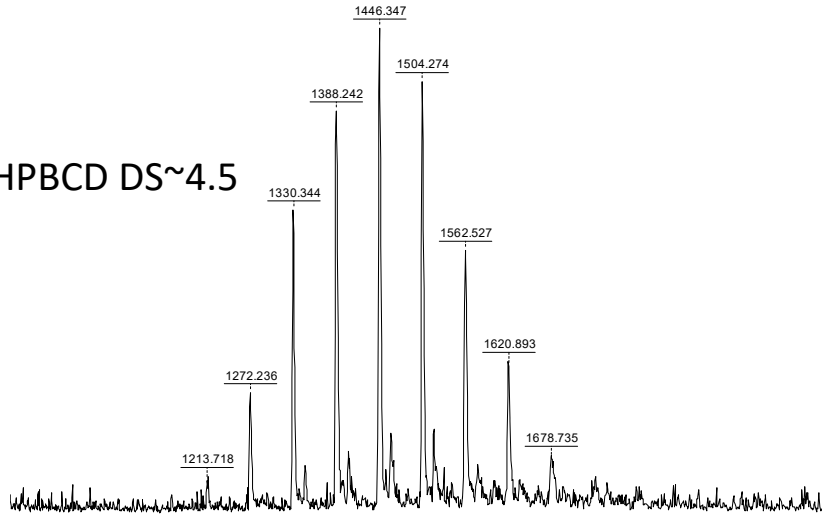
- “Ujjlenyomat kromatogramok”
- Batch-to-batch ismételhetőség ellenőrzése
- Bomlástermékek – metil-maltooligomerek- ellenőrzése



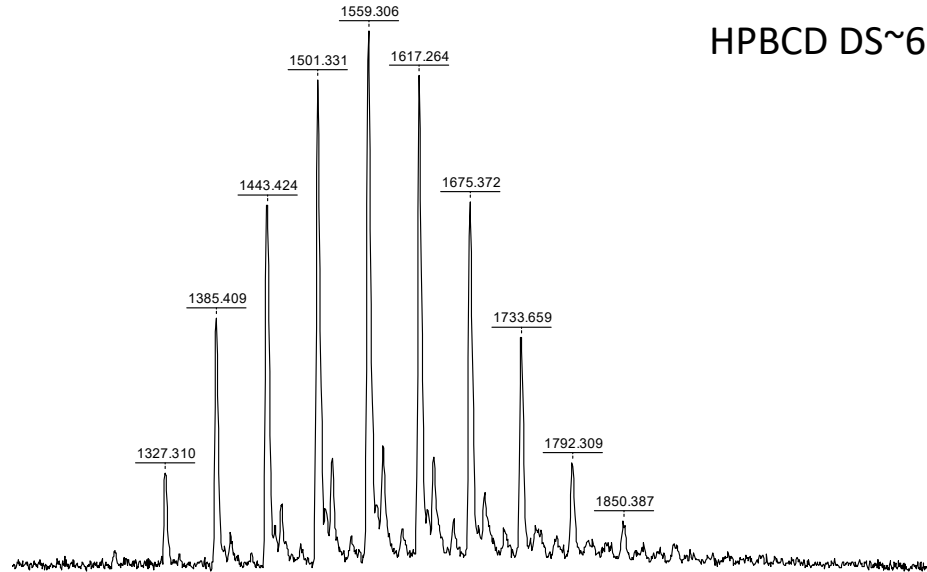
HPLC conditions: water : methanol gradient elution, CD-Screen (Bio-Sol Dex) stationary phase, ELS detection

# DS mintázat : MALDI-TOF

HPBCD DS~4.5

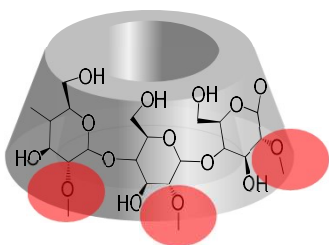


HPBCD DS~6

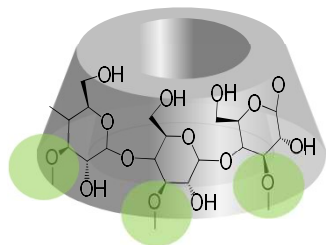


# Izomertiszta CD származékok jellemzése

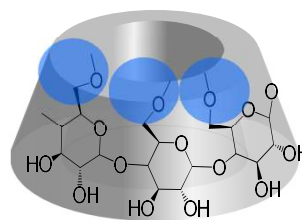
## Metil-ciklodextrinek



heptakis-(2-O-metil)- $\beta$ -CD  
**(2-MEB)**  
**DS=7**



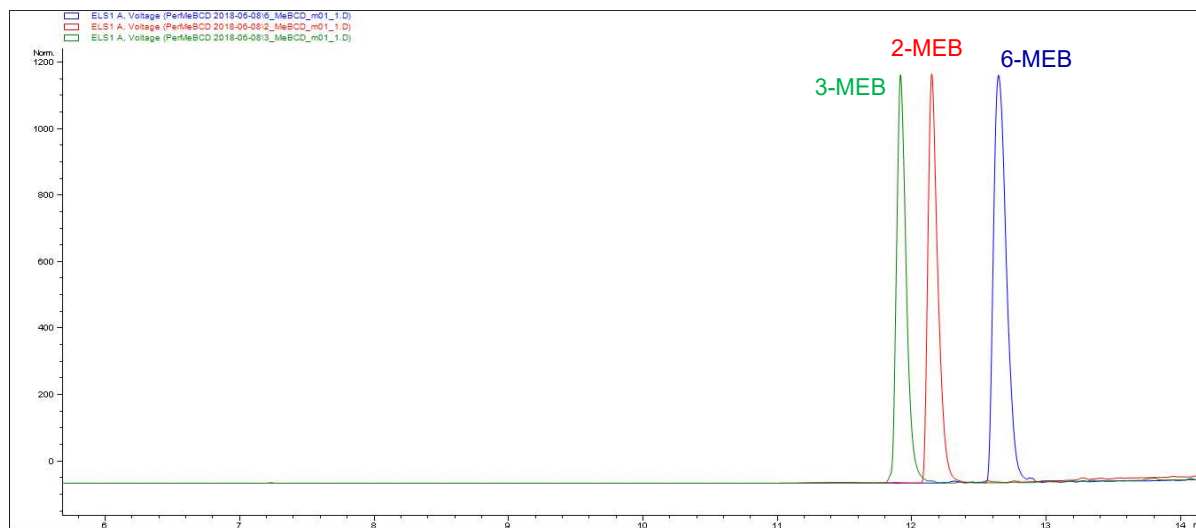
heptakis-(3-O-metil)- $\beta$ -CD  
**(3-MEB)**  
**DS=7**



heptakis-(6-O-metil)- $\beta$ -CD  
**(6-MEB)**  
**DS=7**

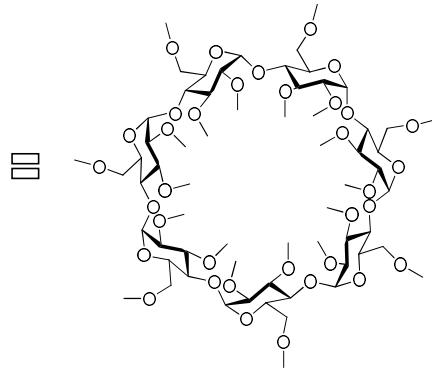
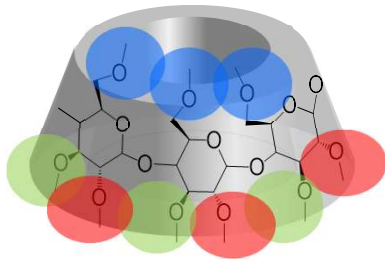
Metil-ciklodextrinek: Hipervitaminózis antidótum, hemolitikus hatás, penicillin stabilitásnövelés

J.Pitha and L.Szente: Rescue from hypervitaminosis A or potentiation of retinoid toxicity by different modes of cyclodextrin administration, Life Sci., 32 (7), 719-23, 1983



HPLC conditions: water : methanol gradient elution, Kinetex C18 (Phenomenex) stationary phase, ELS detection

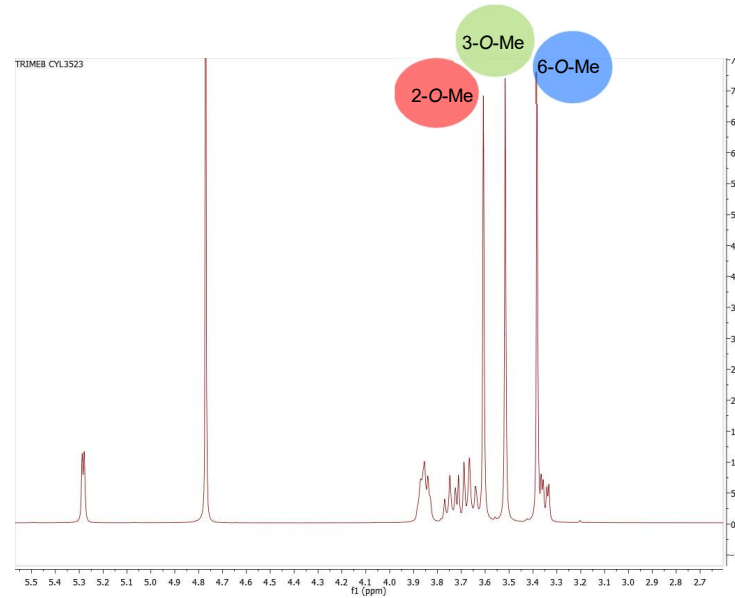
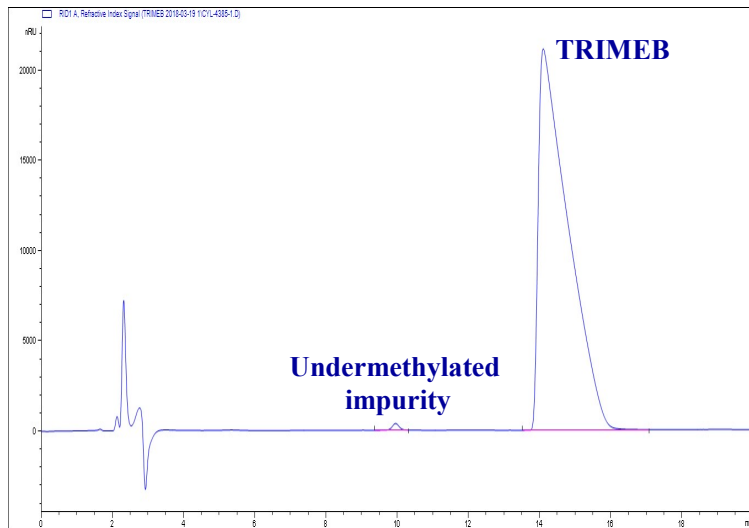
## Metil-ciklodextrinek (izomertiszta)



hexakis-(2,3,6-tri-O-metil)- $\alpha$ -CD (TRIMEA)

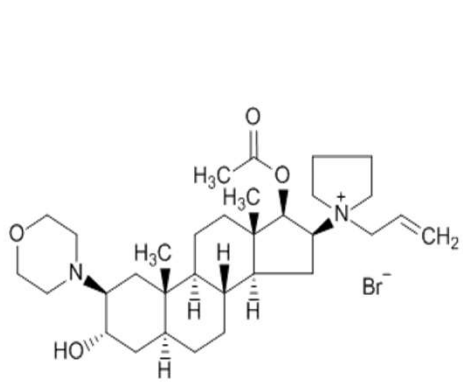
heptakis-(2,3,6-tri-O-metil)- $\beta$ -CD (TRIMEB)

oktakisz-(2,3,6-tri-O-metil)- $\gamma$ -CD (TRIMEG)

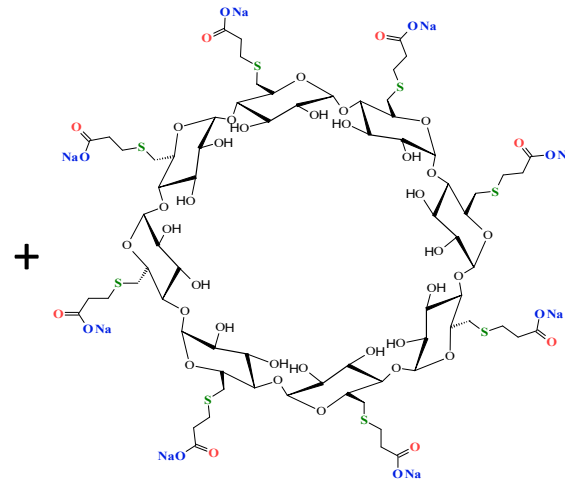


HPLC conditions: water : methanol : 2-propanol isocratic elution, Kinetex C18 (Phenomenex) stationary phase, refractive index detection

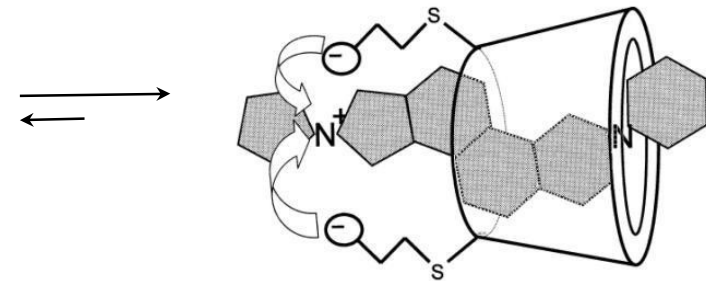
# Acetilkolinos Nikotin Receptor, Rocuronium és a Sugammadex



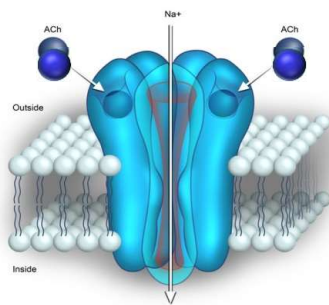
Rocuronium Bromid  
Aminoszteroid  
Izomrelaxáns



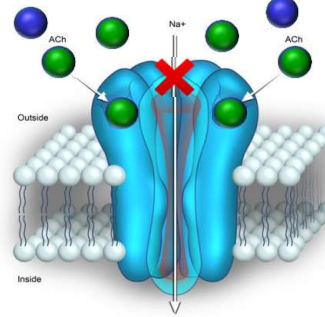
Sugammadex  
(Bridion®)



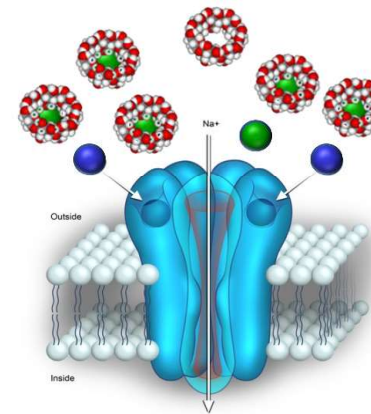
$K_d = 25.000.000 \text{ M}$



● Acetilkolín



● Rocuronium

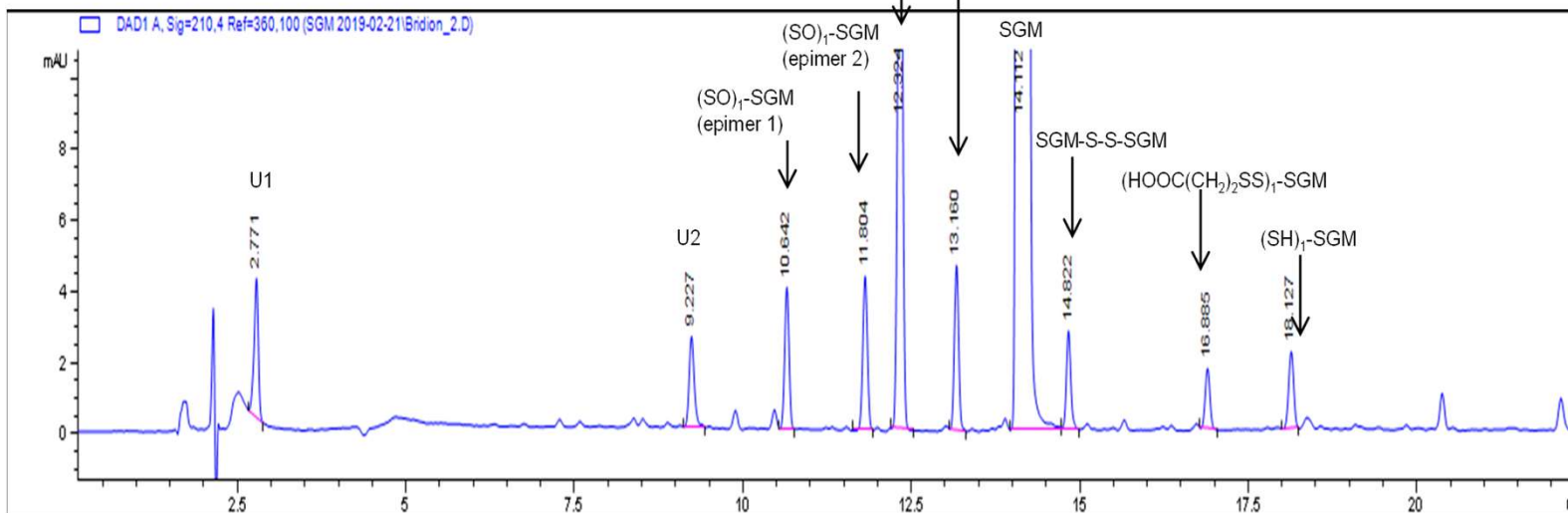


● Sugammadex

# Miért ennyire drága?

- Több mint 30 potenciális (szintézis úttól függő), ciklodextrin-eredetű szennyező
- 2020-ig erős szabadalmi védetség (synthetic process)
- Engedélyezés: EU-ban 2008-tól, USA-ban csak 2015-től

CycloLab saját fejlesztésű HPLC módszere:

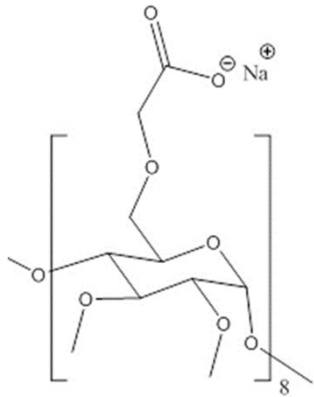


HPLC conditions: ACN : 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/Ammonium, pH= 2.6 gradient elution, Poroshell C<sub>18</sub>, 150 x 4,6 mm, 2.7 μm stationary phase, UV detection (210 nm)

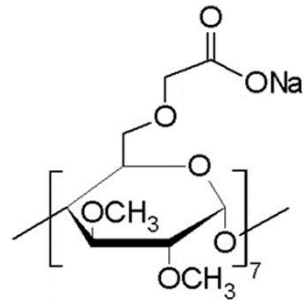


# Single CD származékok analitikája

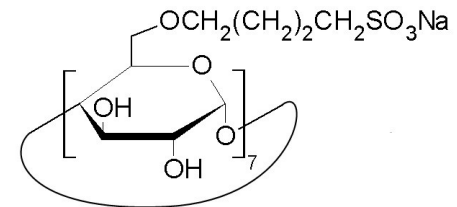
octakis-(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-carboxymethyl)- $\gamma$ -cyclodextrin (ODMCM)



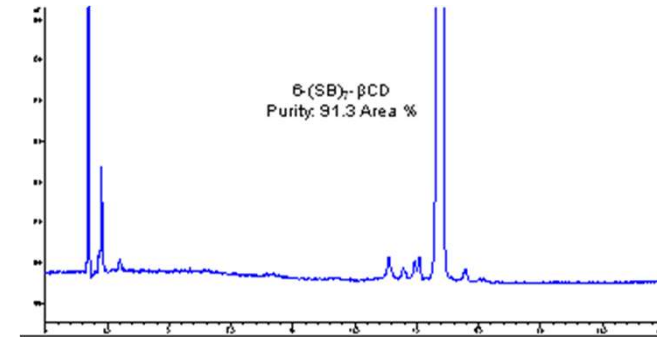
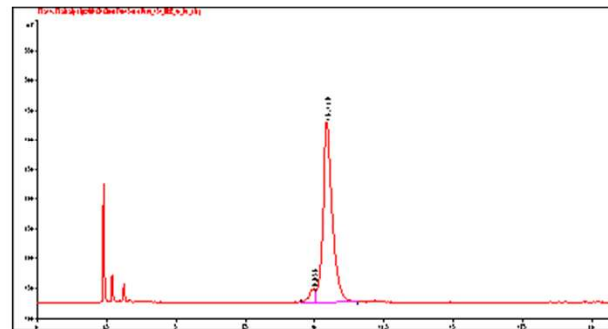
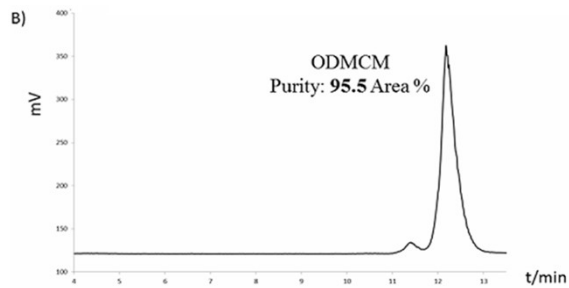
heptakis-(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-carboxymethyl)- $\beta$ -cyclodextrin (HDMCM)



heptakis-(6-*O*-sulfobutyl)- $\beta$ -cyclodextrin (6-(SB)<sub>7</sub>- $\beta$ -CD)



6-(SB)<sub>7</sub>- $\beta$ CD

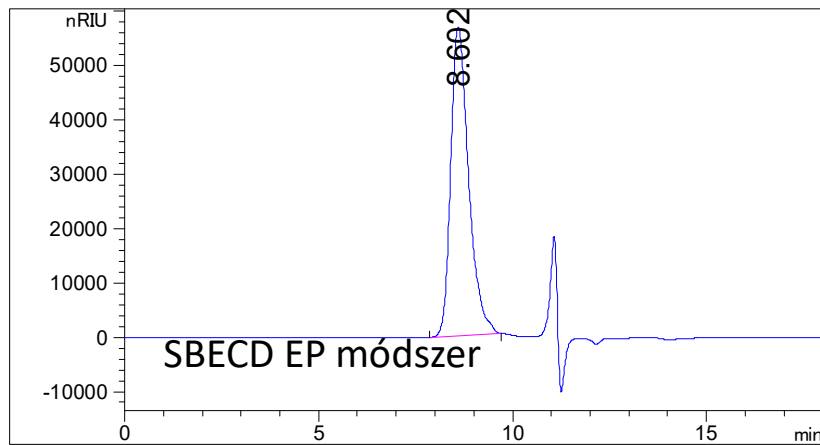


## Tartalmi meghatározás (assay mérés)

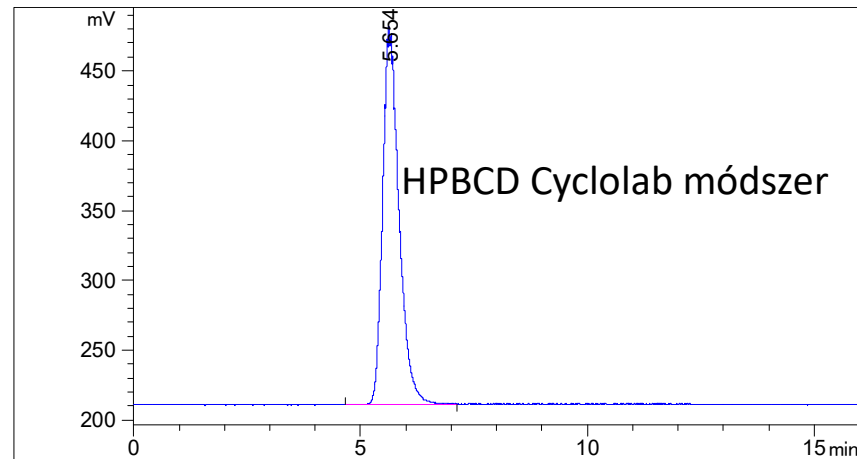
Cél: egy csúcsba „összenyomni az izomereket

- SBECD EP szerinti meghatározása, géloszlopon RI detektálással
- SBECD házon belüli módszer CDScreen oszlopon ELS detektálással
- HPBCD házon belüli módszer fenil-hexil oszlopon ELS detektálással

ELSD érzékenysége magasabb, alacsonyabb kimutatási határ érhető el, ezért ezek a módszerek alkalmasak biológiai mátrixokban CD mérésre



géloszlop, puffer, RID

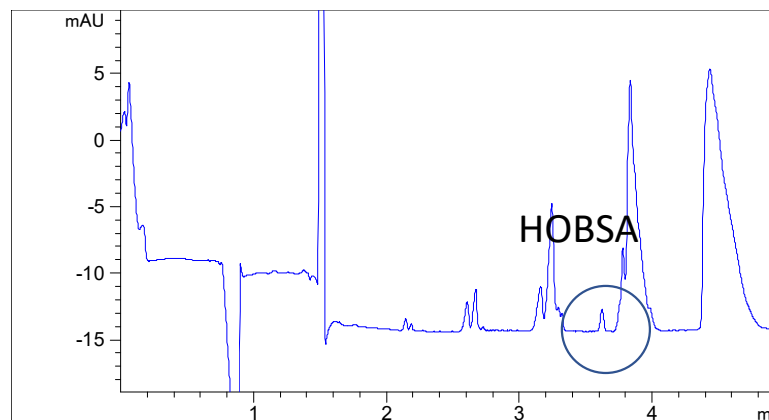
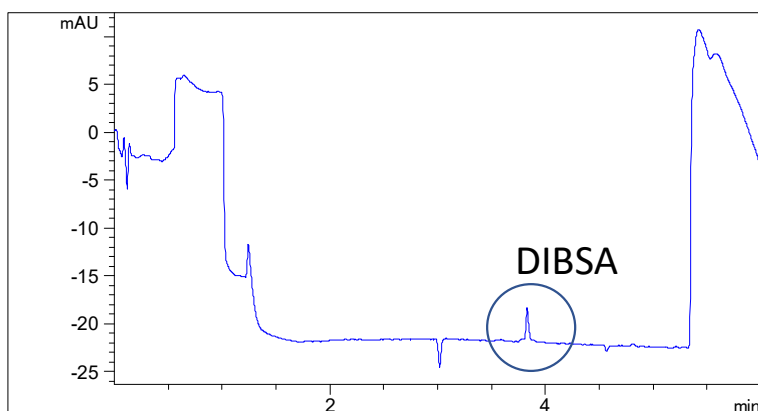


Fenil-hexil oszlop, víz/metanol, ELS

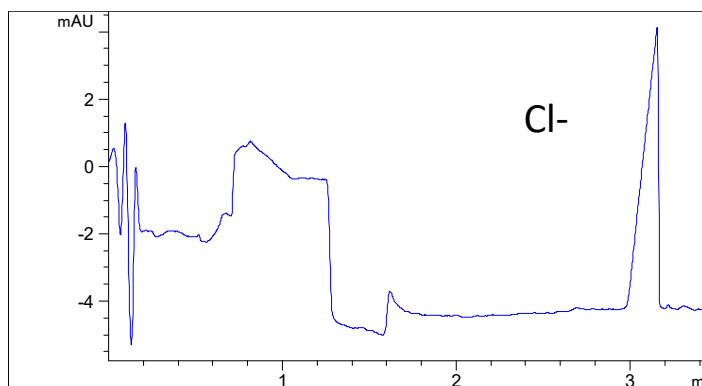
## Egyéb szennyezők meghatározása

➤ szervesen ionok meghatározása: CE

SBECD ionos szennyezőinek meghatározása  
HOBSA, DIBSA



Ezzel az anionos módszerrel további szervesen anionos származékok szennyezői is meghatározhatóak: klorid, acetát, formiát..

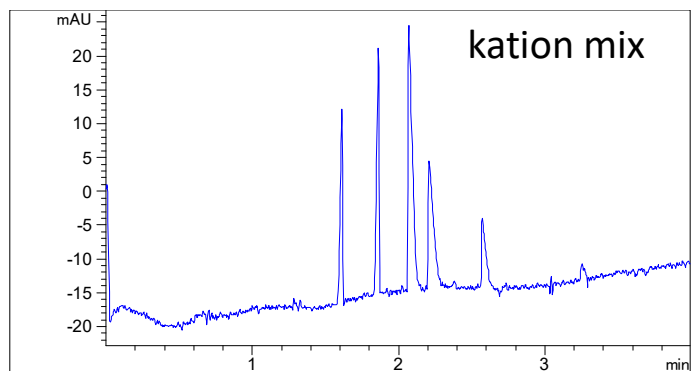
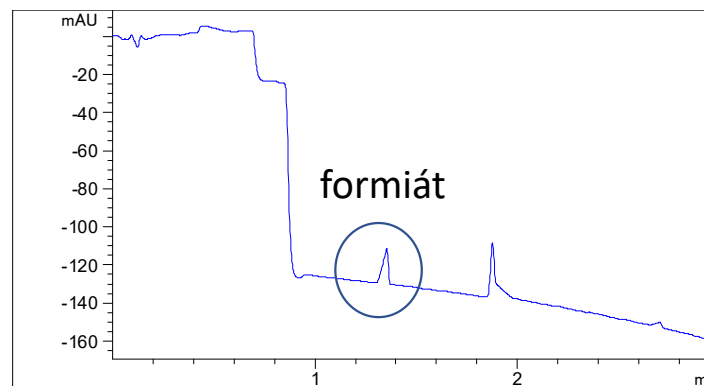
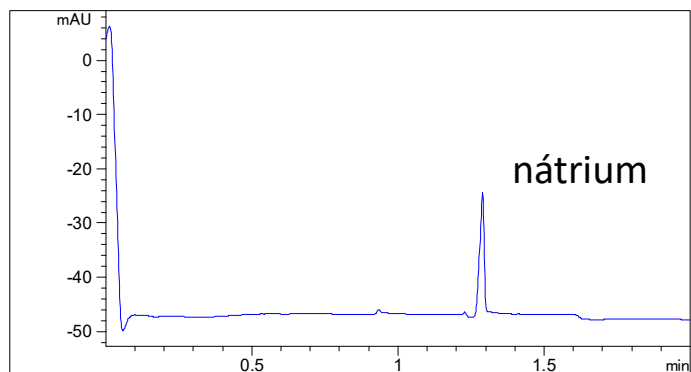


## Egyéb szennyezők meghatározása

➤ szervesetlen ionok meghatározása: CE

### SGM ionos szennyezőinek meghatározása

Na (kationos módszer), formiát (anionos módszer)



kation mix: K, Na, Mg, Ca, Ba,

## Egyéb szennyezők meghatározása

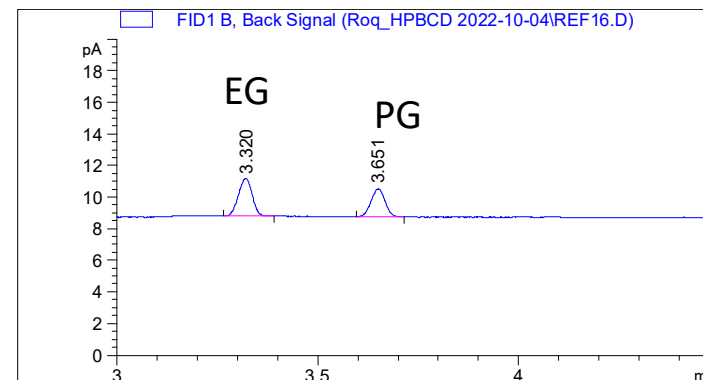
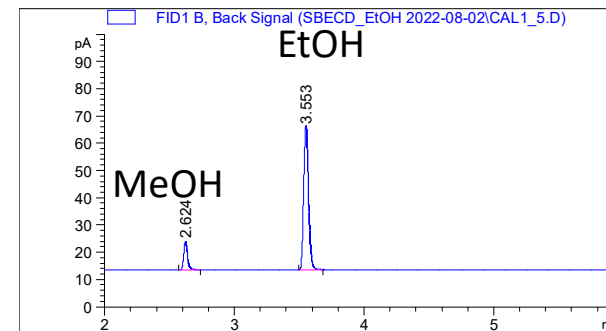
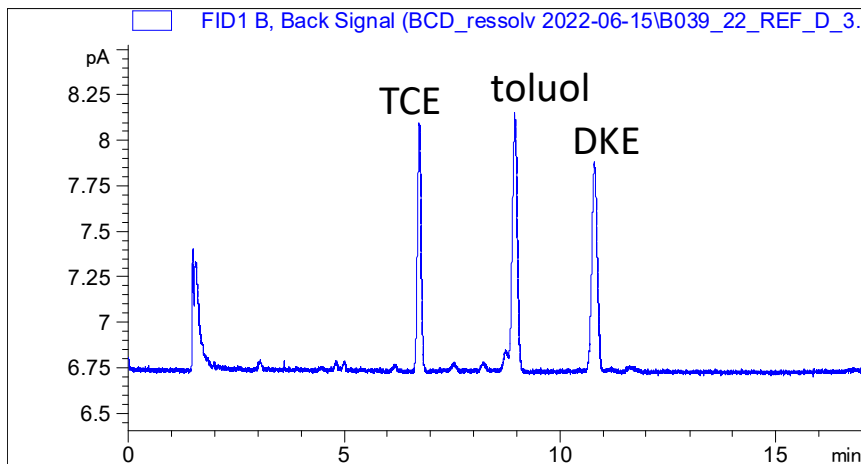
➤ Maradék oldószerek meghatározása: GC-FID

Mindig a preparatív labor mondja meg milyen típusú oldószereket kell mérnünk

Leggyakrabban mért oldószerek : metanol, etanol, DKM, IPA, toluol, TCE, propilén-glikol

Gyógyszerkönyvi módszerek: HPBCD PG tartalom

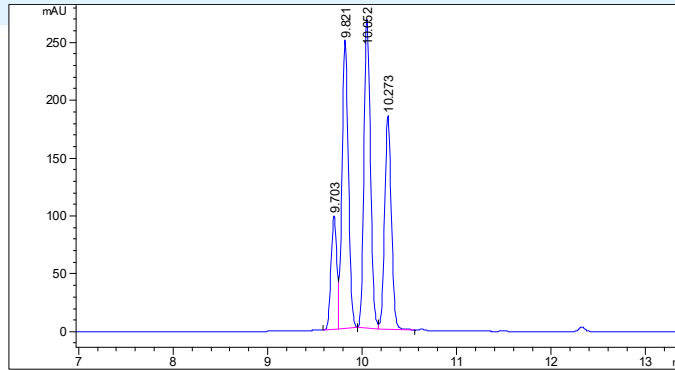
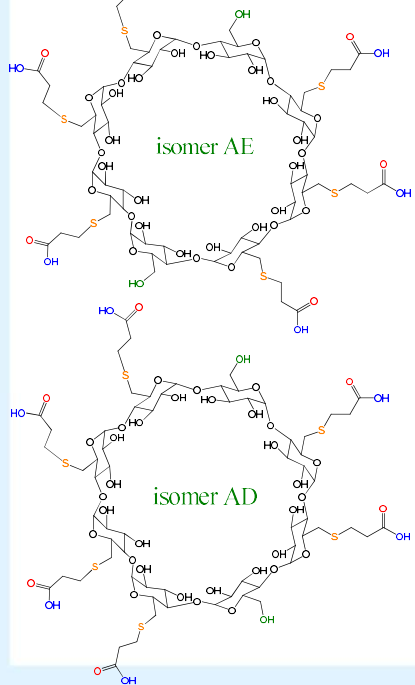
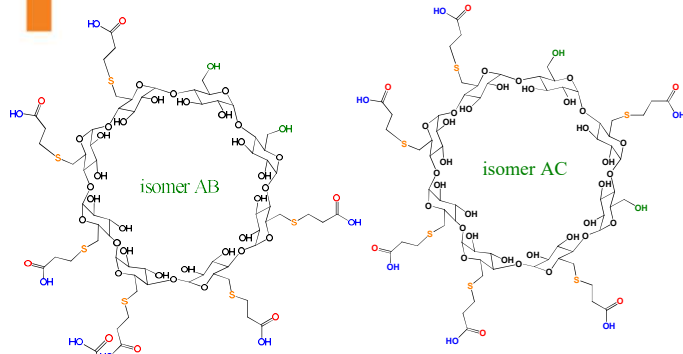
SBECD etanol tartalom



TCE, toluol a meghatározandók  
DKE az IST  
Nagy a mátrixhatás!!

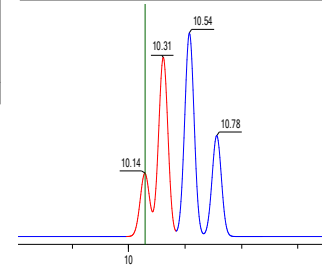
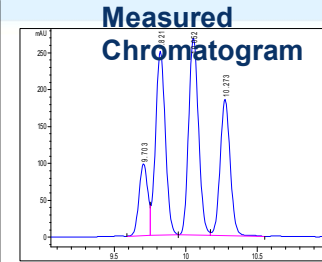
DryLab

# Di-OH-SGM izomerek elválasztása



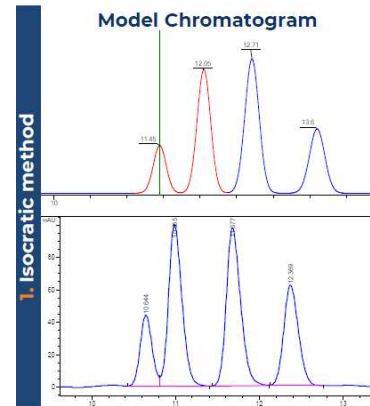
The gradient program was fixed during the analysis (B% increased 10-50%), the gradient time and temperature were varied :

1.  $t_g = 15 \text{ min}$ ,  $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$
2.  $t_g = 45 \text{ min}$ ,  $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$
3.  $t_g = 15 \text{ min}$ ,  $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$
4.  $t_g = 45 \text{ min}$ ,  $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$

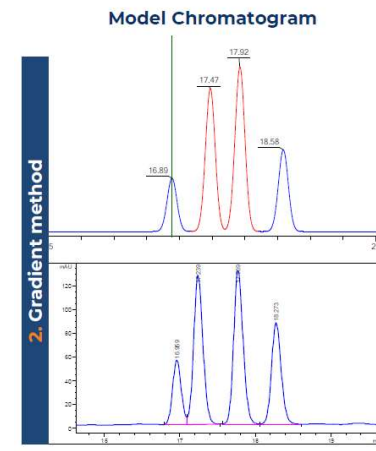


Model Chromatogram

Model Chromatogram



Measured Chromatogram



Measured Chromatogram



# VÉGE

# Ciklodextrinek az analitikában

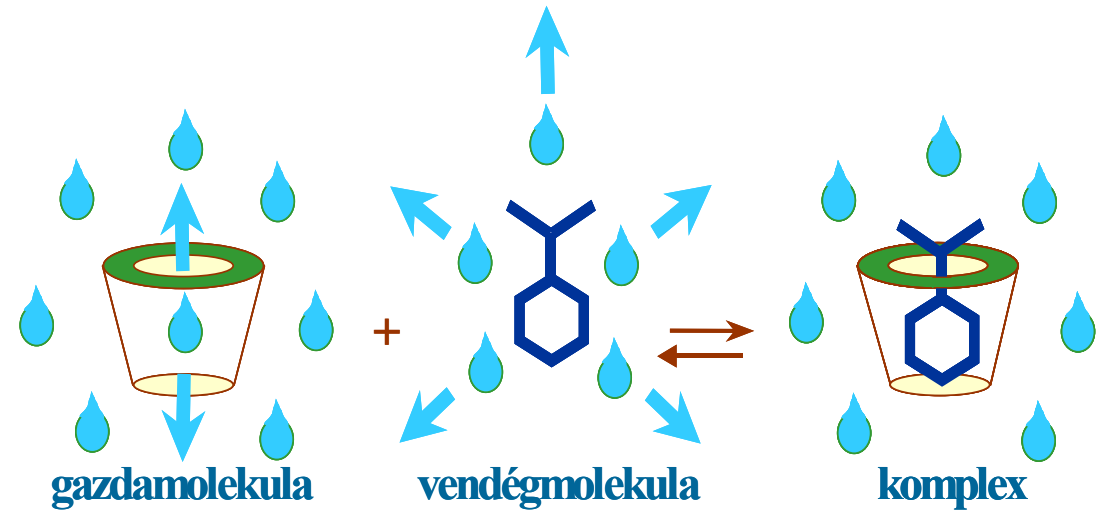
## Királis szelektor

- HPLC (eluens)
- Kapilláris elektroforézis
- Királis oszlop (HPLC, GC)
- CD SPE oszlop

## Stabilitási állandó meghatározása

- Kapilláris elektroforézis
- HPLC (eluens)

## Zárványkomplex-képzés



- ciklodextrinek általában 1:1 arányú (diasztereomer!) zárványkomplexeket képeznek
- $K_{\text{ass}}$  : 10 – 10000 M<sup>-1</sup>

$K_{\text{ass}}$ : asszociációs állandó

$K_{\text{dis}}$ : disszociációs állandó

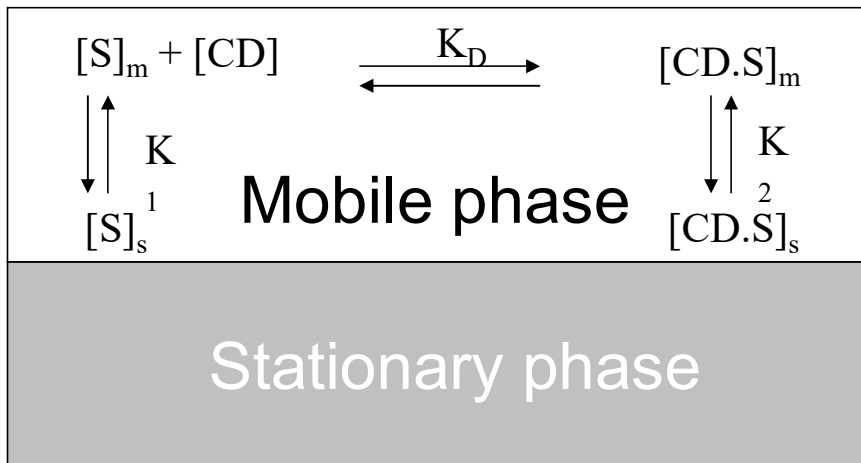


## CD, mint királis szelektor HPLC-ben, eluensben oldva

A cikodextrint felépítő glukóz egységek királis szénatomokat tartalmaznak

Az elválasztás alapja:

- a molekula illeszkedése a gyűrű üregébe
- hidrogénhidas, ionos kölcsönhatások a CD gyűrűn lévő OH vagy egyéb csoportokkal



### Az állófázis kiválasztása

Analit függő

$k'$  10-15 MeOH-víz < 50%

RP állófázisok: C18, C8, C4, CN (fenil)

Komplex stabilitási állandók különbsége!!

## Elválasztásra hatással van:

Eluens összetétel, szerves oldószer mennyisége-minősége (MeOH, EtOH, IPA, ACN, (THF)

- ✓ a komplex stabilitási állandóra
- ✓ analit - állófázis kölcsönhatásra

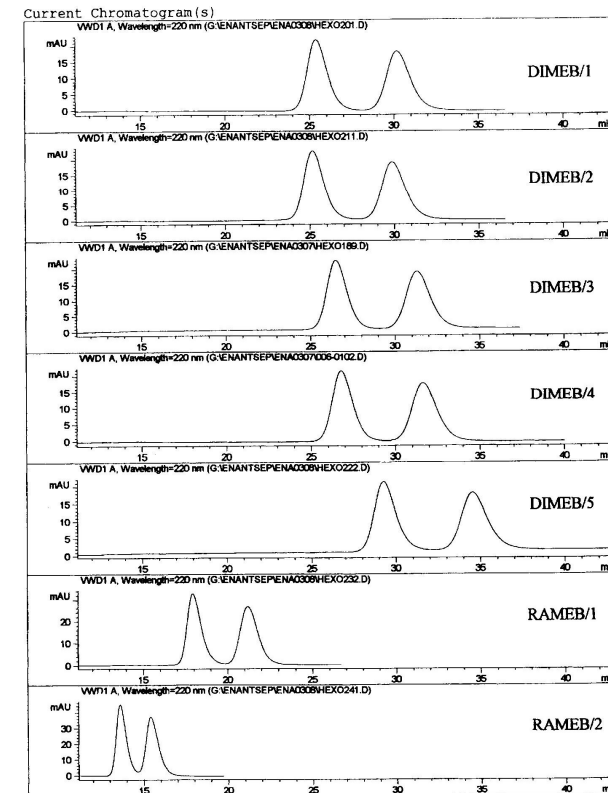
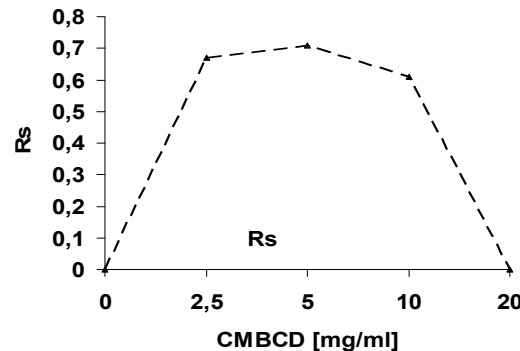
Puffer hatása

- ✓ pH
- ✓ ionerősség
- ✓ puffer kation-anion
- ✓ ionpárképzés és komplexképzés

Hőmérséklet szerepe

CD típusa

- ✓ üregméret a, b, g
- ✓ CD származékok
- ✓ semleges CD-k
- ✓ ionos CD származékok



## Ciklodextrinek alkalmazása a mozgó fázisban

### Előnyök

A szelektor minősége és koncentrációja könnyen változtatható  
Olcsó oszlopok ill. olcsó adalékok használhatók

### Hátrányok

A szelektor zavarhatja a detektálást (UV, MS)  
A szelektor igény viszonylag nagy  
(A szelektor minősége változó lehet)

## CD, mint királis szelektor kapilláris elektroforézisben (Királis kapilláris elektroforézis (vagy elektrokinetikus kromatográfia))

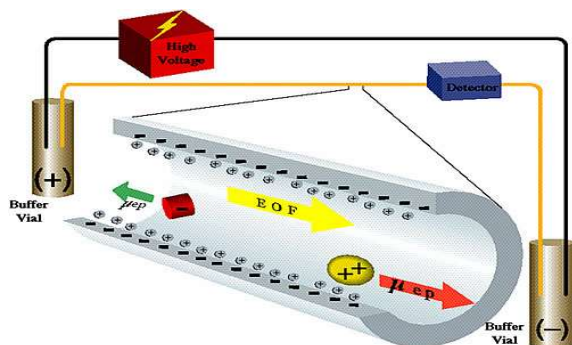
- Gyors, egyszerű és olcsó analitikai módszer.
- Királis szelektorok: ciklodextrinek, koronaéterek, makrociklusos antibiotikumok, fehérjék, micellák
- A ciklodextrinek és származékaik a leggyakrabban alkalmazott királis puffer adalékok.
- Több mint 4000 publikáció alkalmaz ciklodextrineket kapilláris elektroforézisben (utóbbi 15-20 év).
- Nagy és növekvő számú KIRÁLIS SZELEKTOROK
- Enantiomerarány és királis nyomszennyezés meghatározás
- Enantiomersorrend megváltoztatás

## Elektroforézis történeti fejlődése

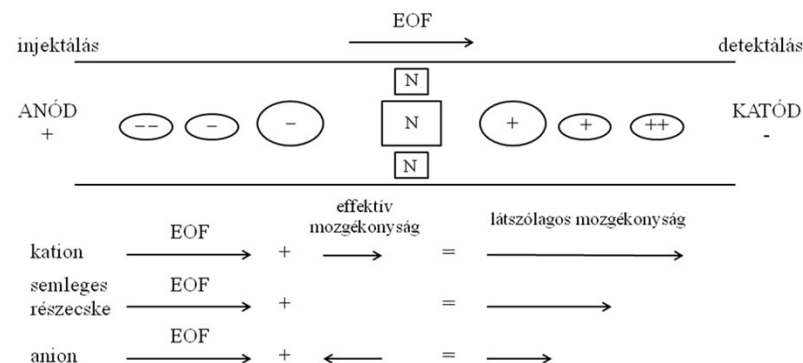
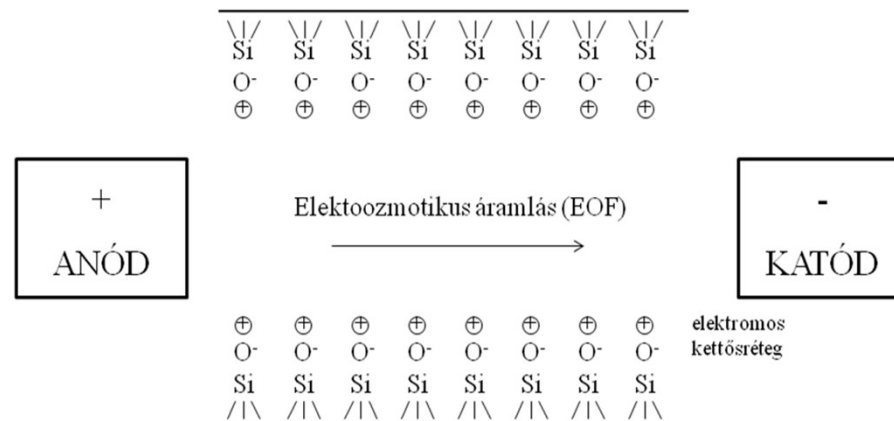
- 1925-1930 Tiselius (1948 kémiai Nobel díj) : folyadék fázisú elektroforézis készülék fehérjék elválasztására
- 1950-1960: - szintetikus polimerek (poliakrilamid) gélek bevezetése  
- készülékek, segédberendezések fejlesztése
- 1980: elérhetővé válnak a kis átmérőjű kvarckapillárisok  
Jorgenson és Lukacs elkészítik az első kapilláris elektroforézis készüléket
- 1990: kapilláris elektroforézis (elektrokromatográfiás) módszerek fejlesztése

# Kapilláris elektroforézis

- elektromos térben az oldott anyagok különböző sebességgel vándorolnak (q/m)
- vékony (25-75µm) kapilláris
- elektroosmotikus áramlás (EOF) jelenlétében
- elektroosmotikus áramlás (EOF) lehetővé teszi anionok és kationok egyidejű meghatározását



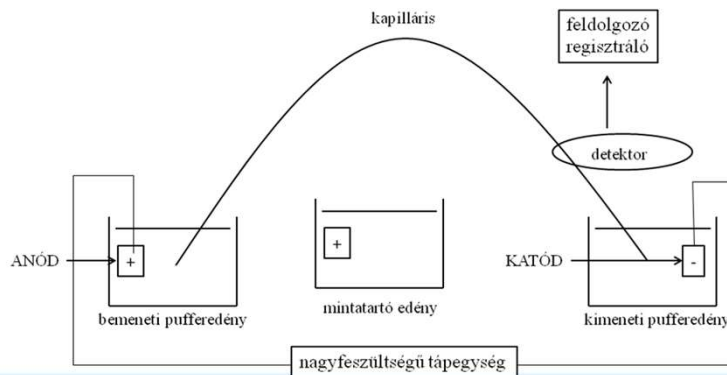
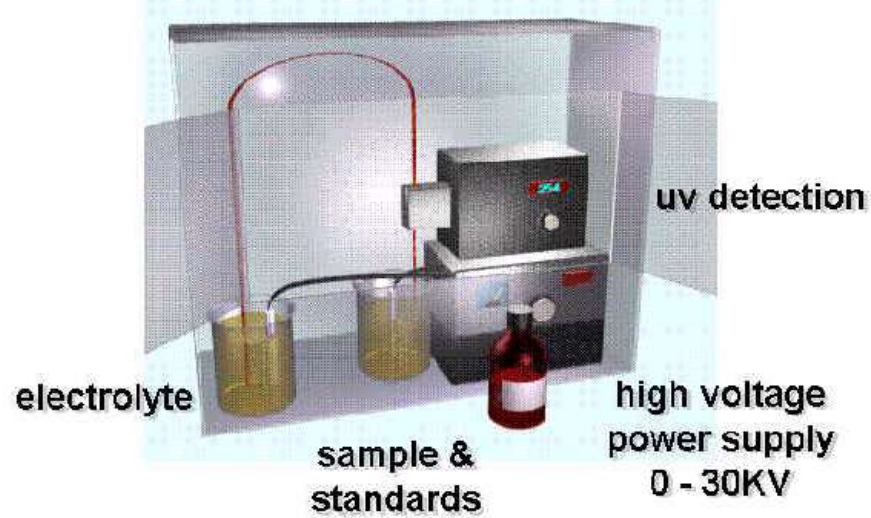
## EOF kialakulása



# CE készülék vázlatos felépítése

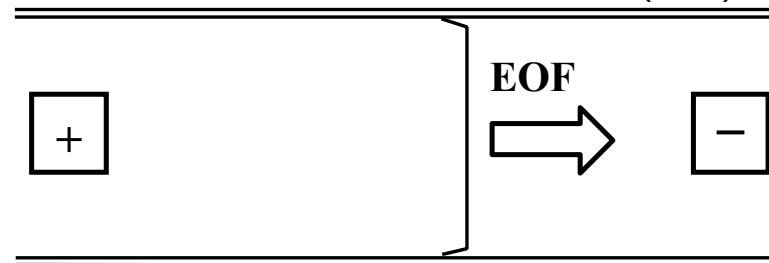
75 $\mu$ m x 60 cm  
Silica Capillary

constant temperature  
compartment, 20 - 30° C

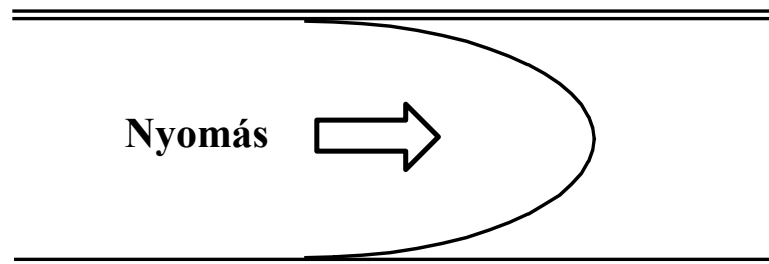


# Áramlási profil: CE vs. HPLC

Az áramlási profil keresztmetszete  
Elektroosztatikus Áramlás (CE)



Az áramlási profil keresztmetszete  
Hidrodinamikus Áramlás (HPLC)





## Kapilláris elektroforézis előnyei



- nagy felbontóképesség ( $N > 10^5 - 10^6$ )
- rövid analízis idő (ált. 30', de akár 5' alatt)
- széles körben változtatható paraméterek  
(pH, c(puffer, adalékok), ionerősség, T, U)
- gyors módszerfejlesztés (kond.: 2-10')
- egyszerű mintaelőkészítés
- kicsiny mintaigény (injektálva 1-50 nl)
- hidrodinamikus és elektrokinetikus injektálás
- vizes vagy nemvizes puffer
- magas szintű automatizáltság (replenishment)
- UV detektálás kapillárisban (v. indirekt, F, LIF, Amp., Vez.kép., MS,)



## Elektroforézisen alapuló eljárások összefoglalása

Módszer	Kapilláris	Az elválasztás alapja	Alkalmazási lehetőségek
Kapilláris zónaelektroforézis (CZE)	módosított / nem módosított	ionmozgékonyosság	sokrétű alkalmazás
Micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC)	nem módosított	az elektrolit és a micellák közötti megoszlás	sokrétű alkalmazás
Kapilláris gélelektroforézis (CGE)	módosított és töltött	a részecskék elektroforetikus vándorlása és a közeg molekulaszűrő hatása	fehérjék molekulaméret szerinti elválasztása
Kapilláris izoelektromos fókuszálás (CIEF)	módosított / nem módosított	izoelektromos pont	amfoter sajátságú anyagok elválasztása
Kapilláris izotachoforézis (CITP)	nem módosított	ionmozgékonyosság	híg oldatok dúsítása a CZE-t megelőzően
Kapilláris elektrokromatográfia (CEC)	töltött kapillárisok	elsősorban az állófázissal történő kölcsönhatások	általában megegyezik a HPLC-nél ismertekkel

# A kapilláris elektroforézis analitikai kémiai alkalmazásai

## Kisméretű ionok:

- Szervetlen anionok és kationok
- Szerves anionok és kationok
- Alkoholok, fenolok, szénhidrátok
- Aminosavak, peptidek, oligopeptidek
- Nukleozidok, nukleotidok
- Vitaminok, toxinok
- Növényvédőszeresek, gyógyszerhatóanyagok

## Nagyméretű ionok:

- Fehérjék
- Nukleinsavak és fragmentjeik
- Vírusok és sejtek
- Nanorészecskék

Ciklodextrin töltése	Elválasztható enantiomer	Ciklodextrin származékok
semleges	ionos	$\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -CD, acetilezett, DIMEB, TRIMEB
negatív	ionos és semleges	karboxi-alkil, szulfatált, foszfátalt
pozitív	ionos és semleges	amino: pri., szek., terc., kvat.

A származékolás célja:

- a stabilitási állandó megváltoztatása
- a „belső” szelektivitás növelése
- a mozgékony-különbség növelése a szabad és komplexált formák között

## A királis elválasztás követelményei

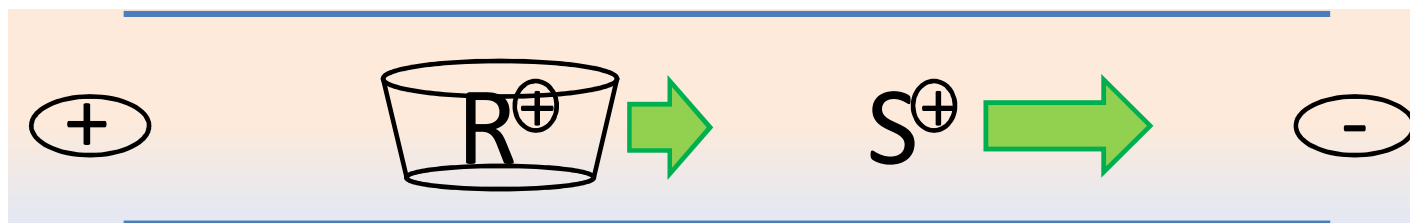
### Feltételek:

- Legalább az egyik enantiomer esetén:

$$\mu_{szabad} \neq \mu_{komplex}$$

- A kialakult komplexek mozgékonyága jelentősen különbözzön:

$$\mu_{S,kplx} \neq \mu_{R,kplx} (K_S \neq K_R)$$



## Stratégia



pH kiválasztása:

- bázis: pH 2.5 – 3
- sav: pH > pK<sub>a</sub>
- semleges: pH 2.5, 7.2, 9.2

Egyféle CD-t tartalmazó rendszerek:

- a három natív CD (a, b és g) négy-négy koncentráció pontban (üregméret kölcsönhatás vizsgálatok)
- a látszólagos stabilitási állandók meghatározása néhány új koncentráció pontban (ha szükséges)
- semleges CD származékok (HP, acetil, metil)  
1-3 koncentráció pontban
- ionizálható CD származékok (CM, amino, szulfát stb.)  
1-3 konc. pontban

**Optimalizálás (pH, konc., puffer, hőmérséklet stb.)**

**CD-ek kombinálása (dual rendszerek) vagy másik pH-án előlről**



## Az elválasztást befolyásoló főbb tényezők



- Ciklodextrin koncentráció (viszkozitás, felbontás, stb.)
- pH (protonáltsági állapot, EOF mobilitás)
- Alkalmazott feszültség (mobilitás)
- Puffer koncentráció (ionerősség)
- Hőmérséklet (viszkozitás, komplex stabilitás)
- Szerves adalékanyag (stabilitás, viszkozitás, adszorpció)

Az elválasztás jellemzése: felbontási érték ( $R_S$ ), szelektivitás ( $\alpha$ )



# Látszólagos komplex-stabilitási állandók meghatározása

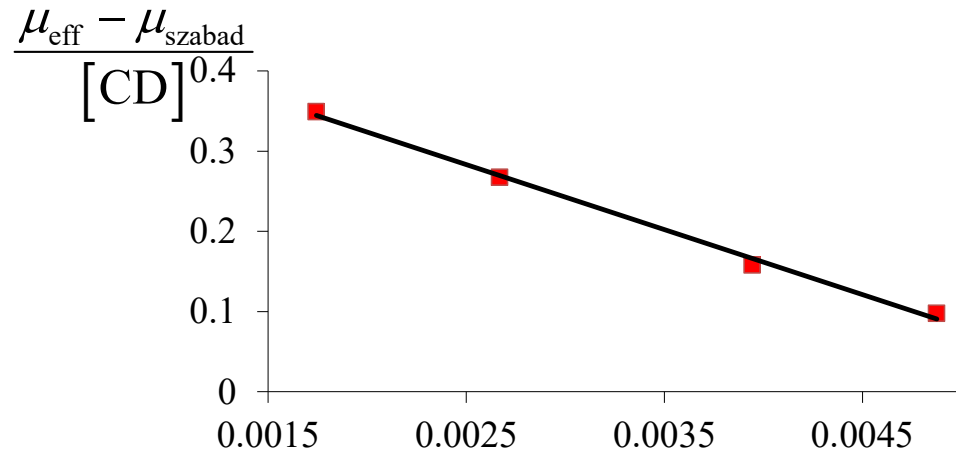
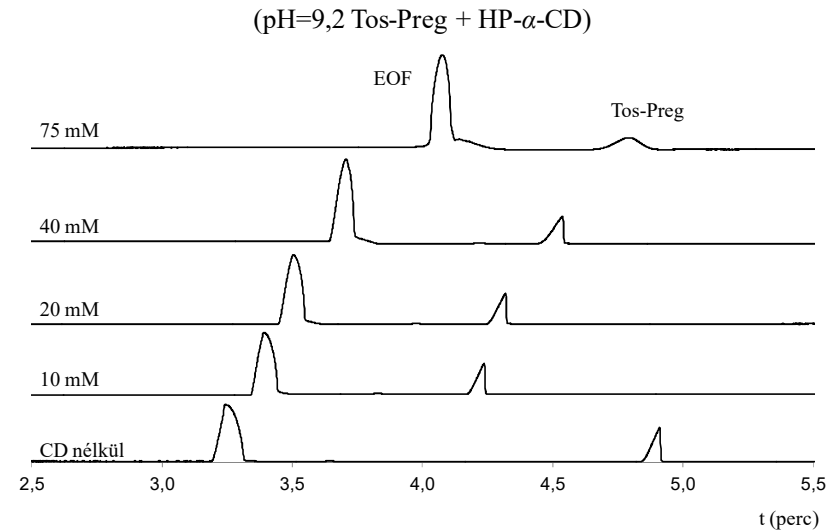
$$\mu_{\text{eff}}^i = \frac{\mu_{\text{free}} + \mu_{\text{cplx}} K[\text{CD}]}{1 + K[\text{CD}]}$$

**Linearizáció (x-  
reciprok módszer):**

$$\frac{(\mu_{\text{eff}}^i - \mu_{\text{free}})}{[\text{CD}]} = -K(\mu_{\text{eff}}^i - \mu_{\text{free}}) + K(\mu_{\text{cplx}} - \mu_{\text{free}})$$

**Ábrázolás:**

$$\frac{(\mu_{\text{eff}}^i - \mu_{\text{free}})}{[\text{CD}]}$$





# Stabilitási állandók meghatározása

CD származék	Stabilitási állandó (M <sup>-1</sup> ), felbontási érték
RAMEB-CD	K = 510 (1)
<u>RAMEG-CD</u>	<u>K<sub>S</sub> = 360 (2) K<sub>R</sub> = 590 (8)</u> <u>R<sub>S</sub> = 3,32</u>
CM-β-CD DS~3	K < 5
CM-γ-CD	K <sub>S</sub> = 54 (5) K <sub>R</sub> = 61 (3) R <sub>S</sub> = 1,38
CE-β-CD	K < 5
SP-α-CD DS~2	K < 5
SP-β-CD DS~4	K <sub>S</sub> = 280 (6) K <sub>R</sub> = 310 (8) R <sub>S</sub> = 1,01
SP-γ-CD DS~2	K < 5
SHP-γ-CD DS~3	K < 5
SB-α-CD DS~4	K = 28 (1)
SB-β-CD DS~4	K <sub>S</sub> = 610 (1) K <sub>R</sub> = 690 (2) R <sub>S</sub> = 0,62

Átlagos  
komplexstabilitási  
állandó

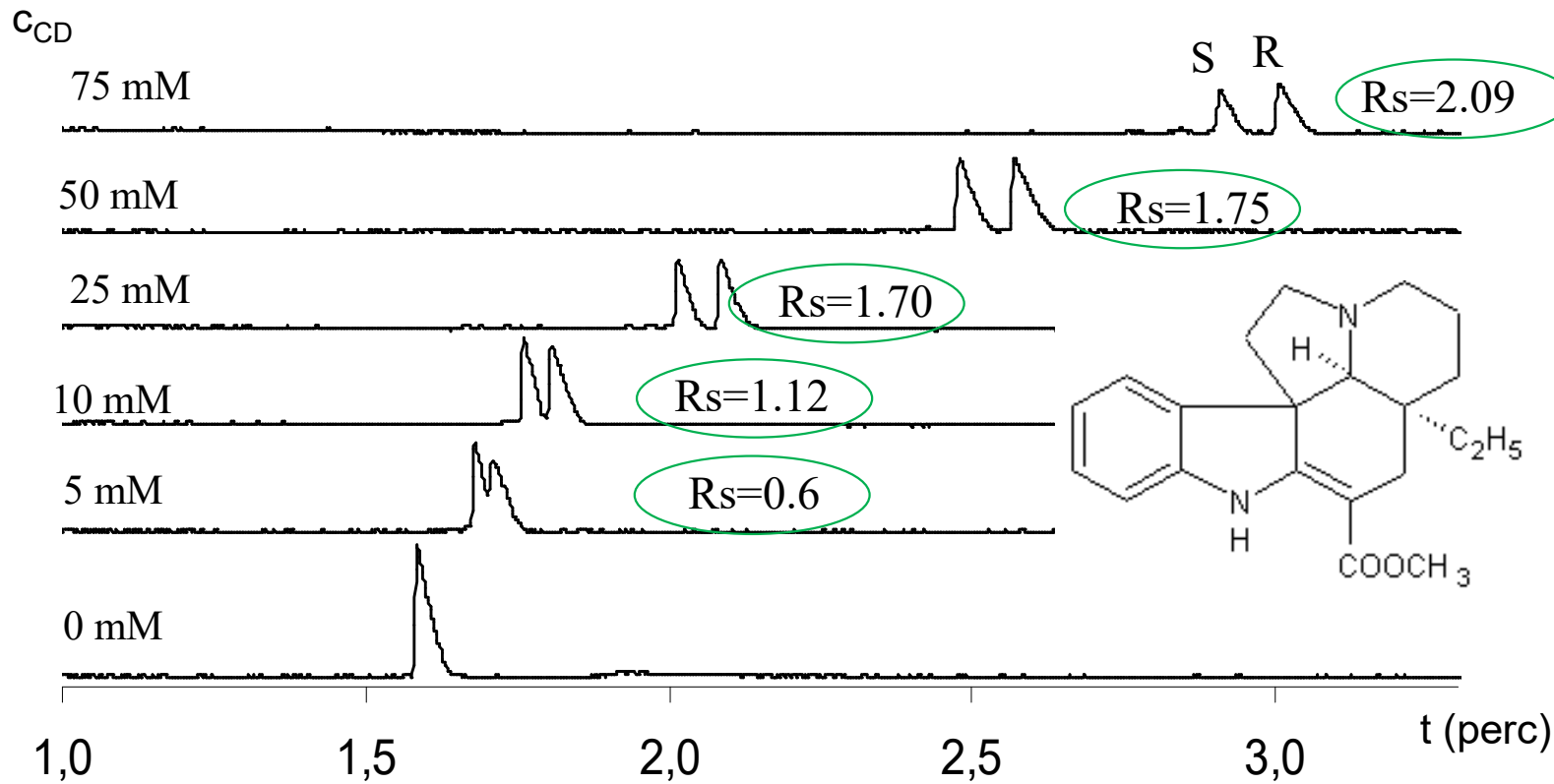
Enantioszelektivitás

Enantiomer sorrend

# Az elválasztás CD koncentráció függése

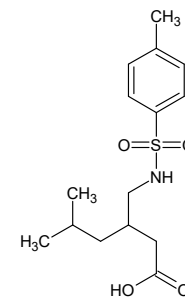
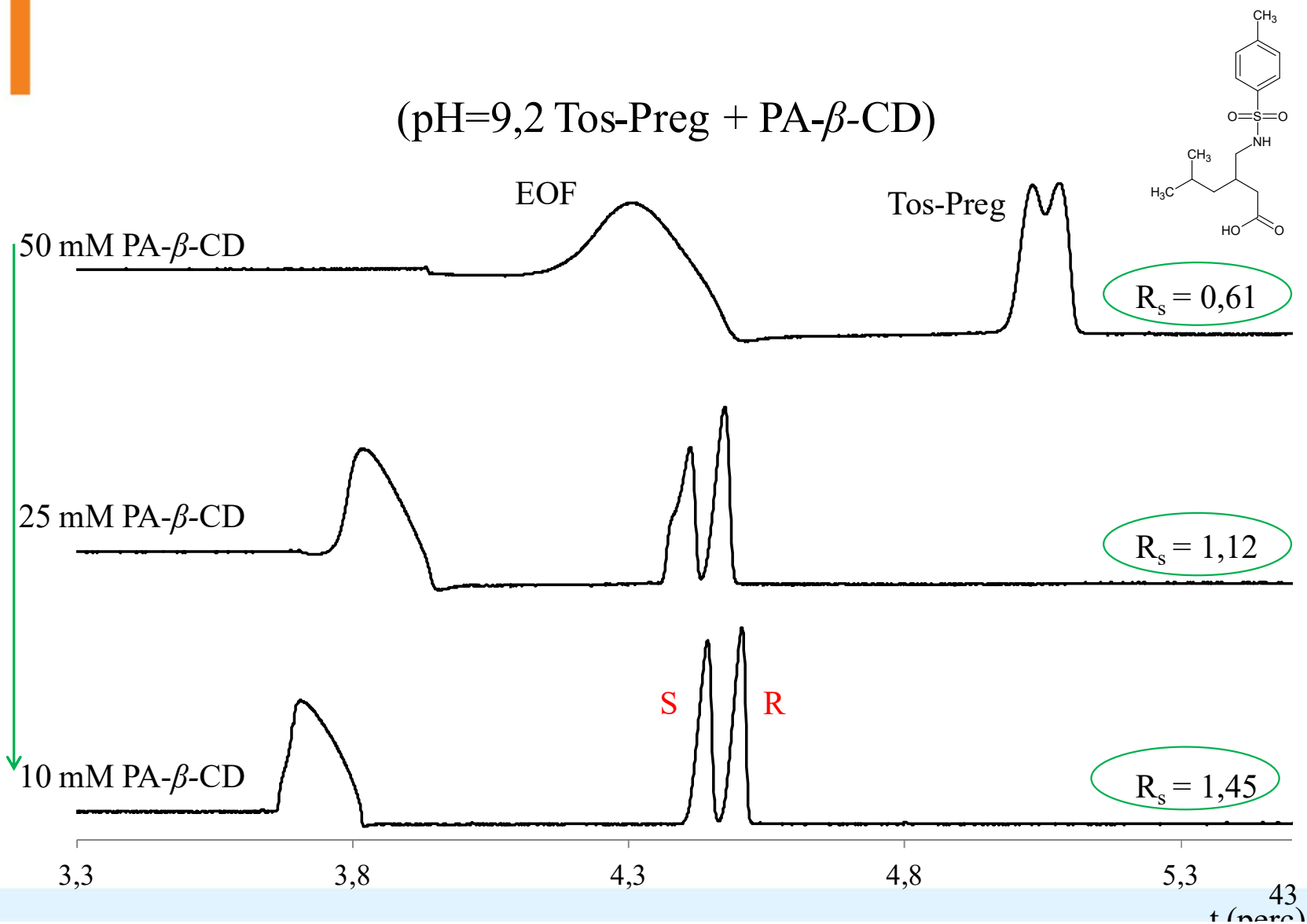
pH=2,5 (15 mM foszfát puffer)

Vinkadiformin + RAMEB CD



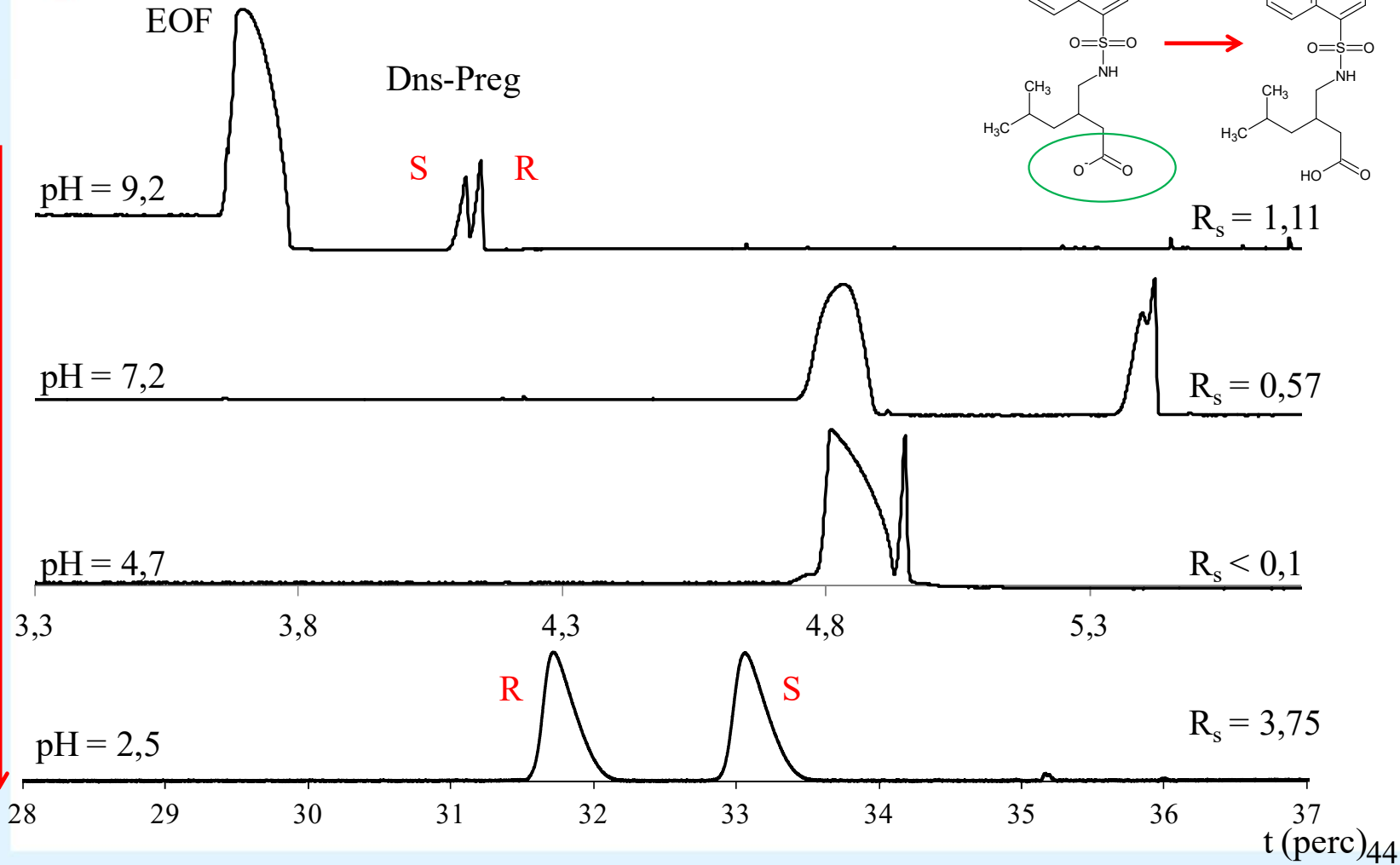
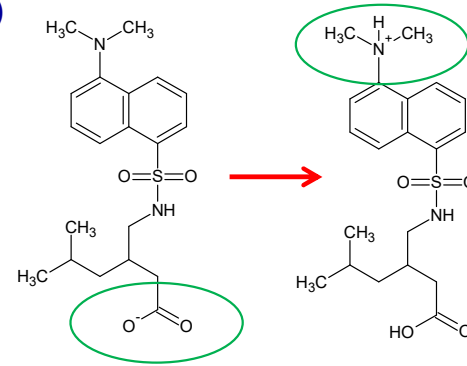
## Az elválasztás CD koncentráció függése

(pH=9,2 Tos-Preg + PA- $\beta$ -CD)



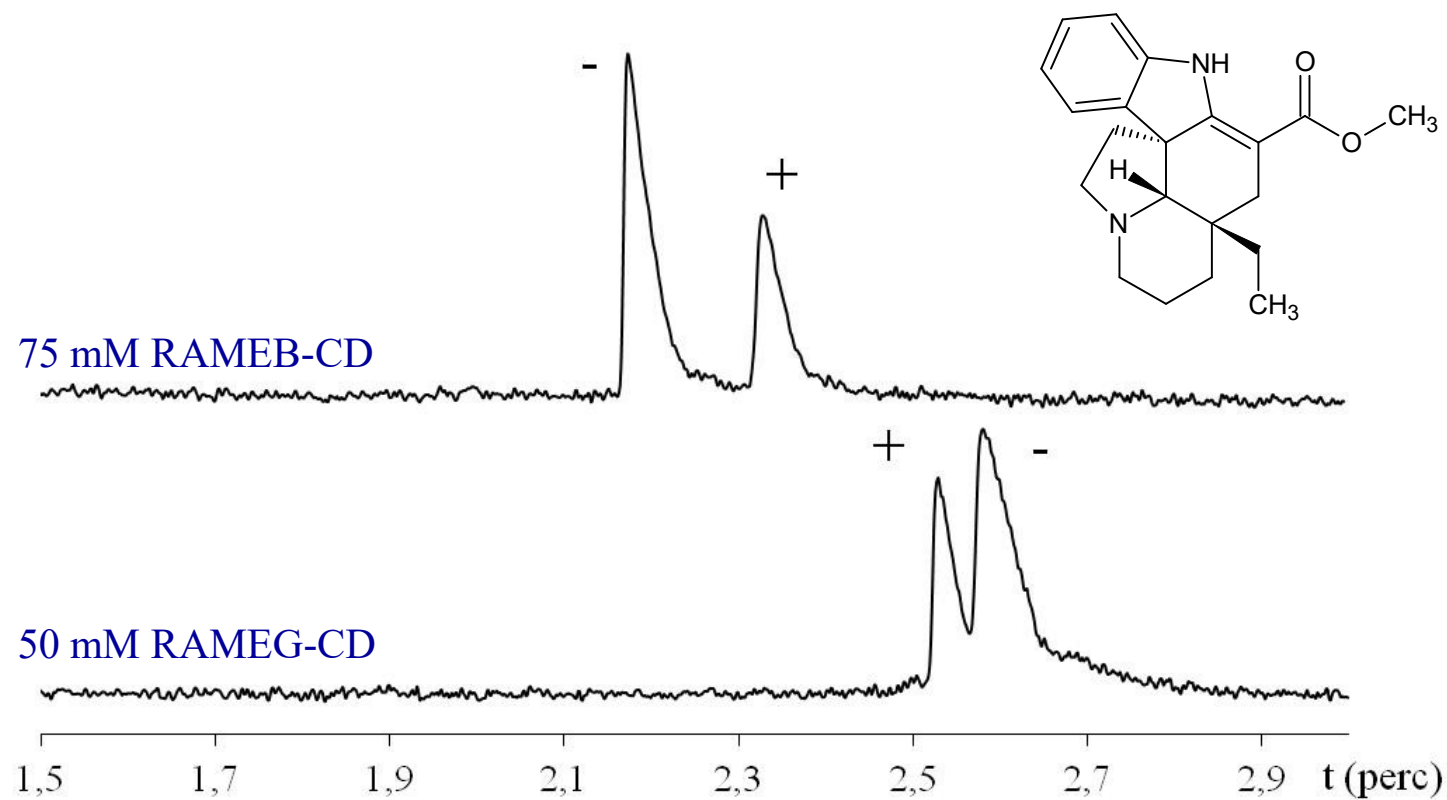
# Az elválasztás pH-függése

(Dns-preg + DIMEB-CD)

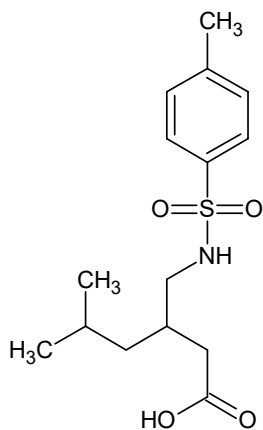
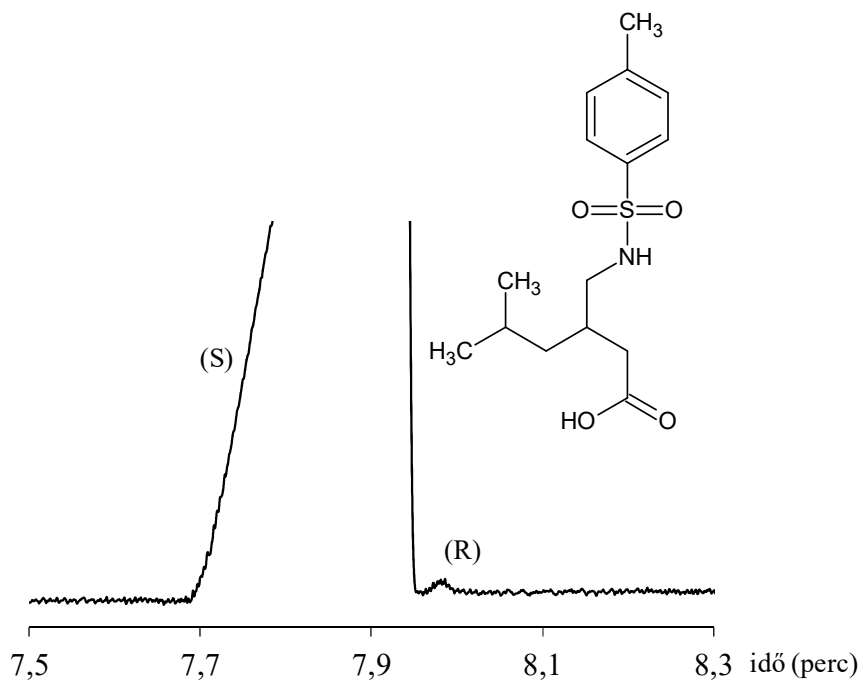


# Enantiomer sorrend megfordulás

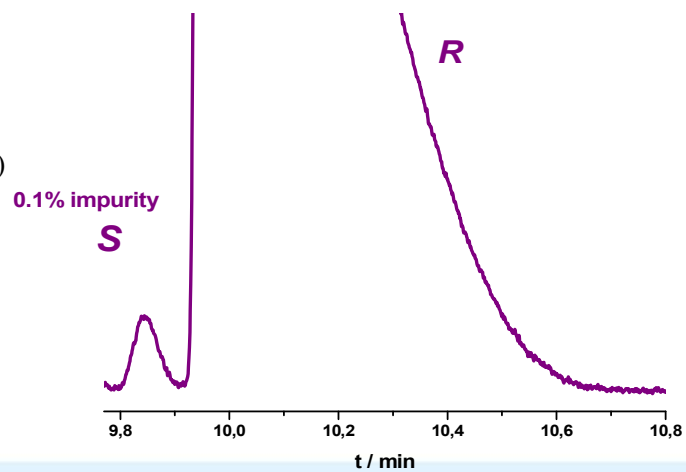
(Vinkadiformin + RAMEB/RAMEG-CD)



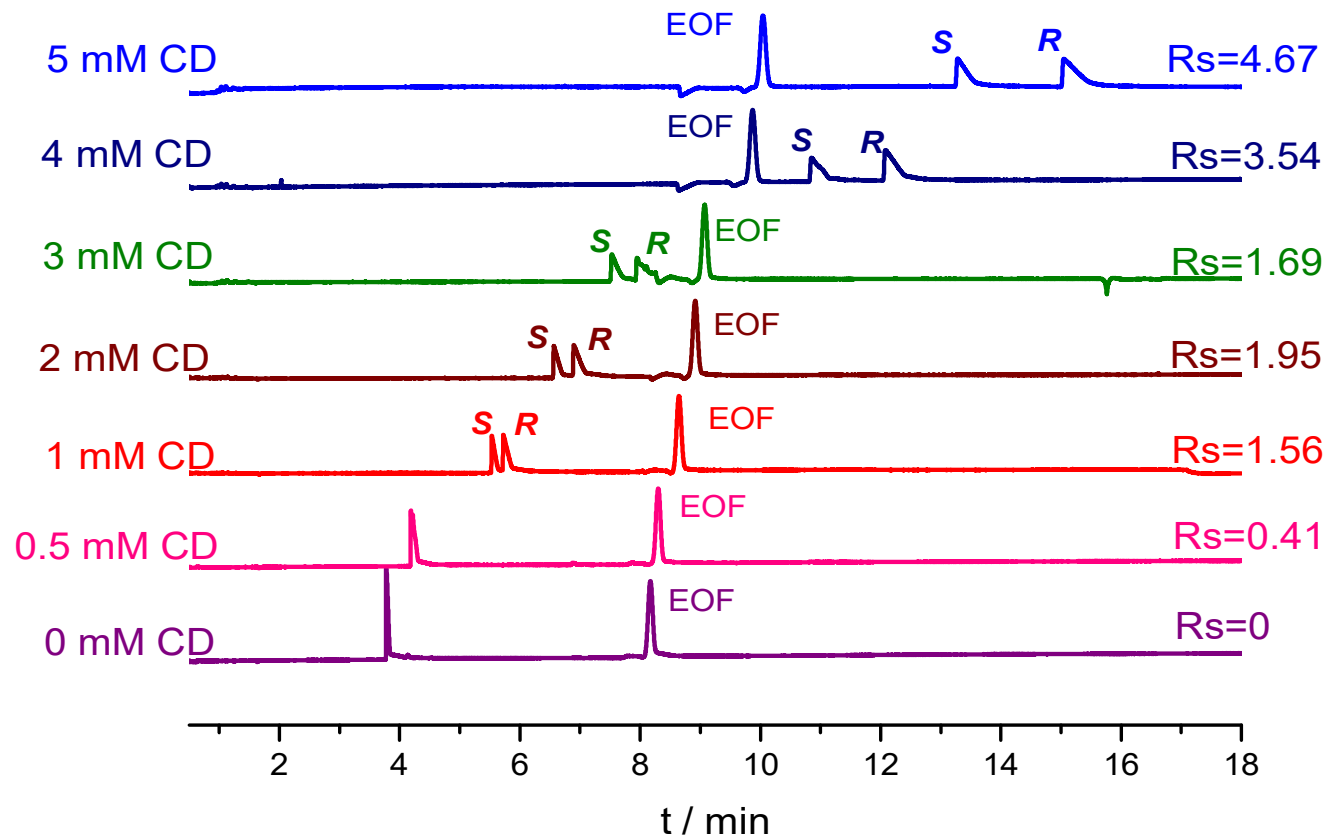
# Szennyezésvizsgálat (Tos-preg + PA- $\beta$ -CD; Alogliptin + SBE-BCD)



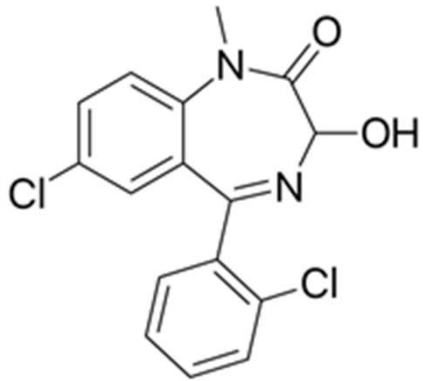
0,1% enantiomer  
szennyezés



## Mobilitás változása (Alogliptin – SBE-BCD)

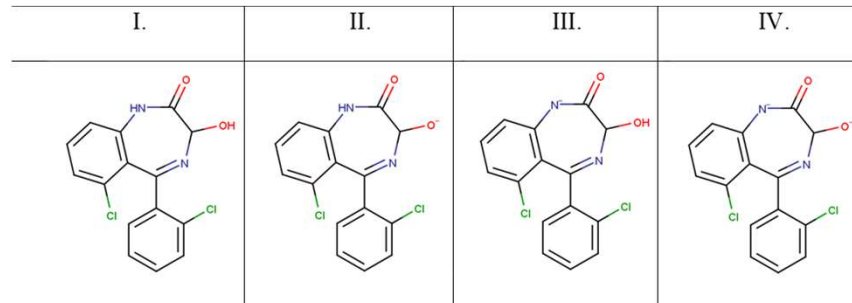
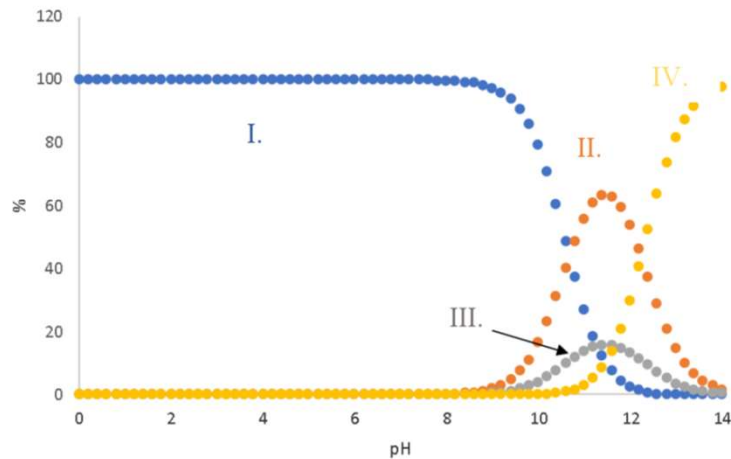


# Lormetazepam enantiomerek elválasztása I.



- lormetazepam enantiomerek elválasztása fél-preparatív HPLC-vel eluensben oldott ciklodextrin alkalmazásával
- kapilláris elektroforézis méréssel a legalkalmasabb ciklodextrin kiválasztása
- HPLC módszerfejlesztés
- frakcionálás

Lormetazepam specieszek eloszlása a pH függvényében





# Lormetazepam enantiomerek elválasztása II.

bórsav SDS-sel, pH 8,0

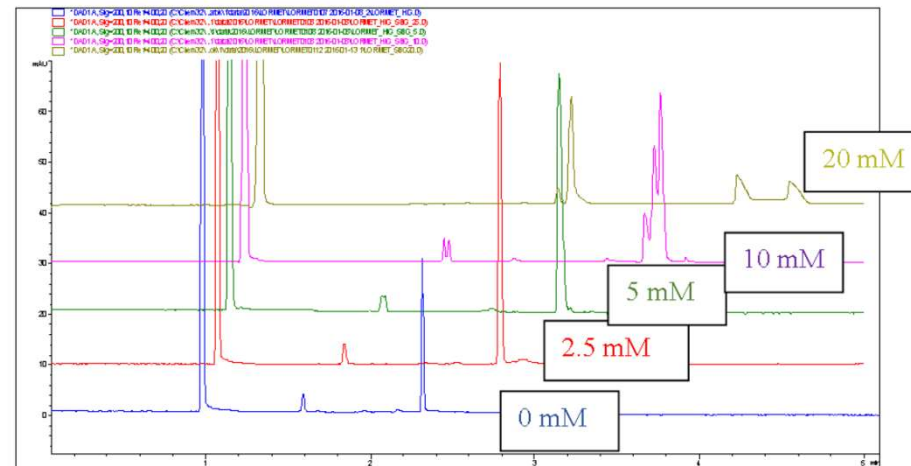
Alkalmazott ciklodextrinek:

- $\beta$ -CD származékok
- $\gamma$ -CD származékok



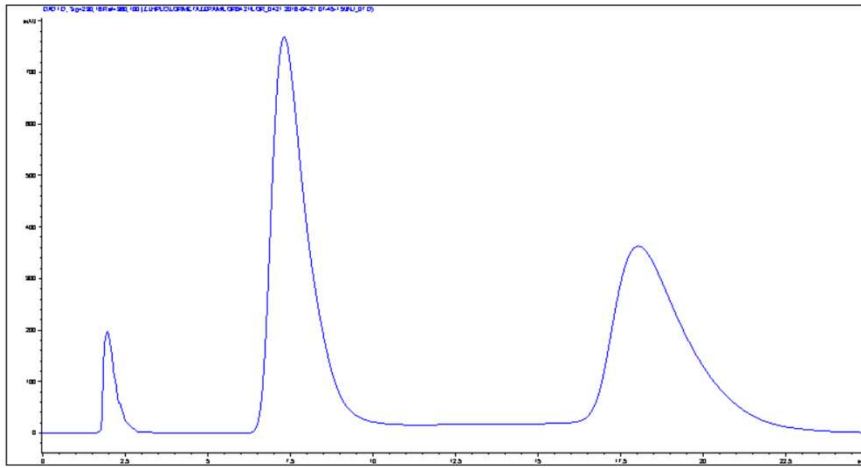
$\gamma$ -CD a megfelelő

	Koncentráció (mM)	Felbontás (Rs)
SBEGCD	2.5	0
	5	0
	10	0.65
	20	2.83
CMGCD	2.5	0
	5	0
	10	0.69
	20	2.08
RAMEG	10	1.47
	20	1.05
HPGCD	10	0.71
	20	1.91



## Lormetazepam enantiomerek elválasztása III.

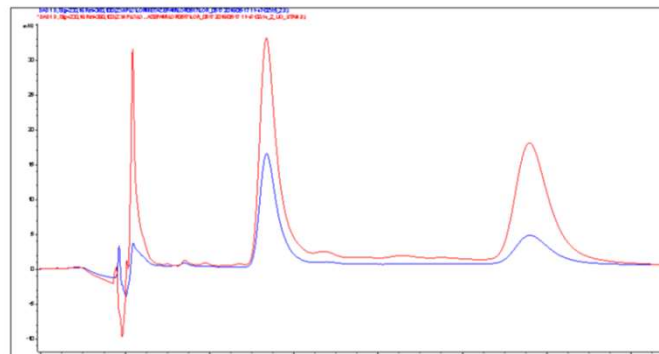
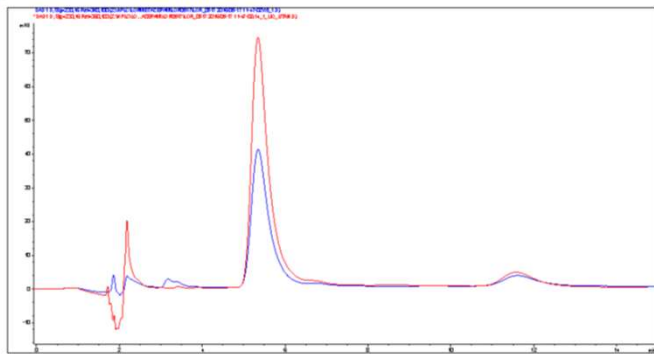
Az optimált módszerrel (10% etanol  
10°C, 0.7 mL/perc) kapott kromatogram



CE vs. HPLC

5 perc ↔ 25 perc  
mg ↔ g

Gyors  
paraméter  
változtatás



# Nemvizes közegű elválasztások



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Chromatography A

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chroma](http://www.elsevier.com/locate/chroma)



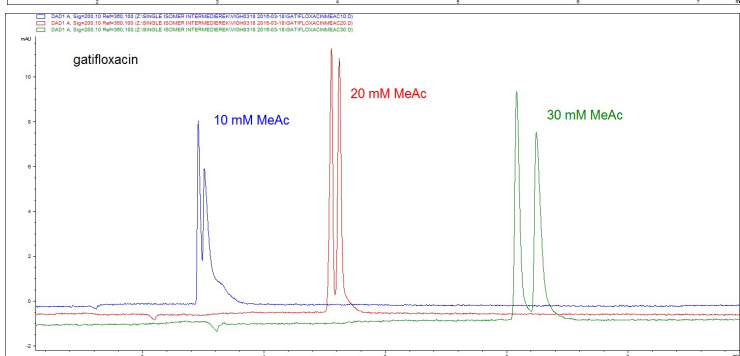
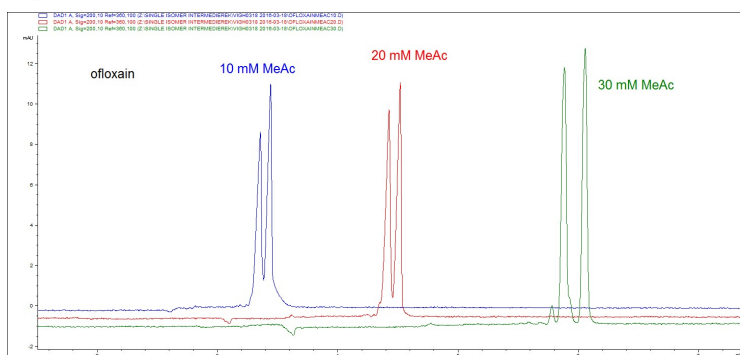
Comparative evaluation of the chiral recognition potential of single-isomer sulfated beta-cyclodextrin synthesis intermediates in non-aqueous capillary electrophoresis

Ida Fejős<sup>a</sup>, Erzsébet Varga<sup>b</sup>, Gábor Benkovics<sup>b,c</sup>, András Darcsi<sup>a</sup>, Milo Malanga<sup>b</sup>, Éva Fenyvesi<sup>b</sup>, Tamás Sohajda<sup>b</sup>, Lajos Szenté<sup>b</sup>, Szabolcs Béni<sup>a,\*</sup>

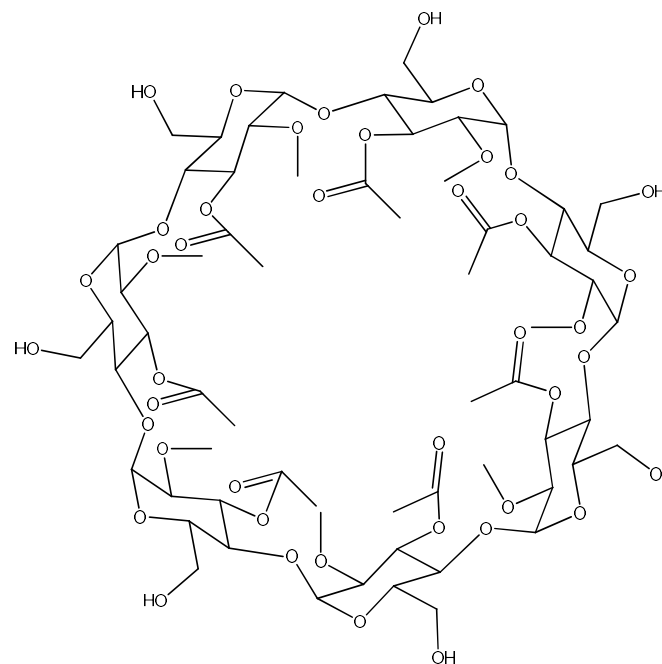
<sup>a</sup> Department of Pharmacognosy, Semmelweis University, Budapest, H-1085 Üllői út 26, Hungary

<sup>b</sup> CycloLab, Cyclodextrin R&D Ltd, Budapest, H-1097 Illatos út 7, Hungary

<sup>c</sup> Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Hlavova 8, 128 43, Prague 2, Czech Republic



## Heptakis-2-methyl-3-acetyl-6-OH-BCD



A name could not be generated for this structure.

Chemical Formula:  $C_{63}H_{98}O_{42}$

Exact Mass: 1526,55

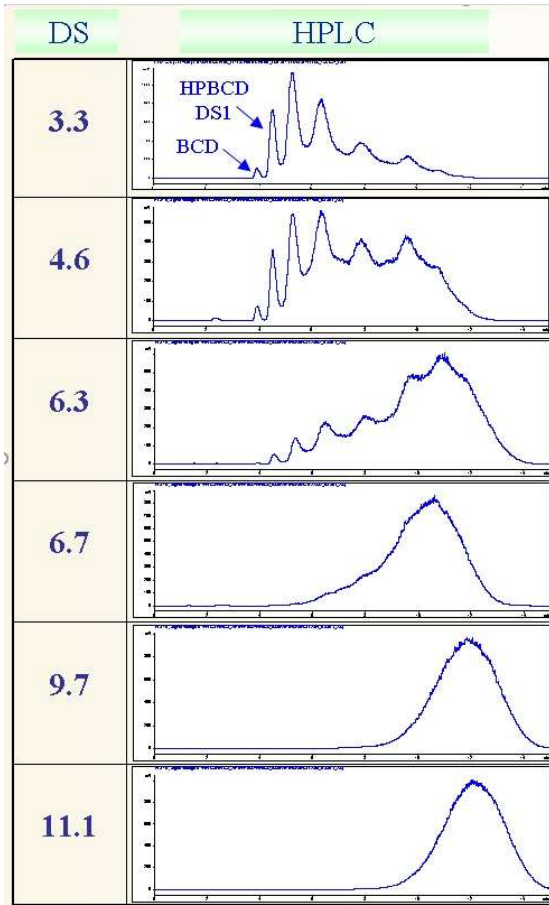
Molecular Weight: 1527,43

$m/z$  1526.55 (100.0%), 1527.56 (70.9%), 1528.56 (33.4%), 1529.56 (11.5%), 1530.56 (2.3%), 1530.57 (1.1%)

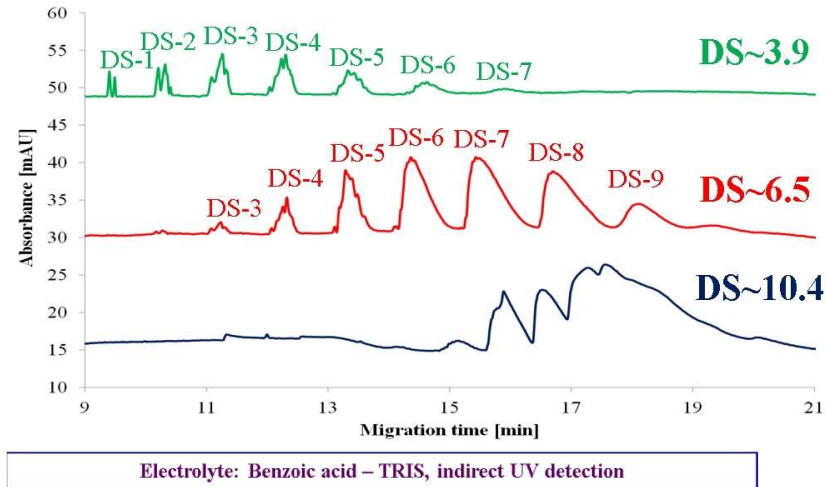
Elemental Analysis: C, 49.54; H, 6.47; O, 43.99

# Random or single?

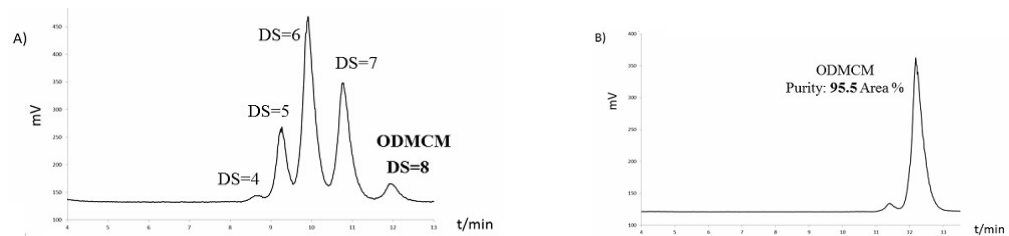
HPBCD samples with different DS



SBEB CD samples with different DS



octakis-2,3-di-O-methyl-6-carboxymethyl-γ-CD (ODMCM)

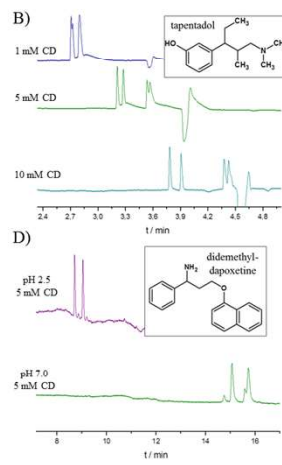
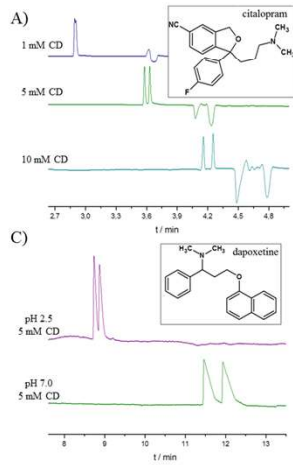


Column: CD-Screen (ChiroQuest, Hungary), mobile phase: water-methanol with gradient elution, detection: ELSD (Alltech)

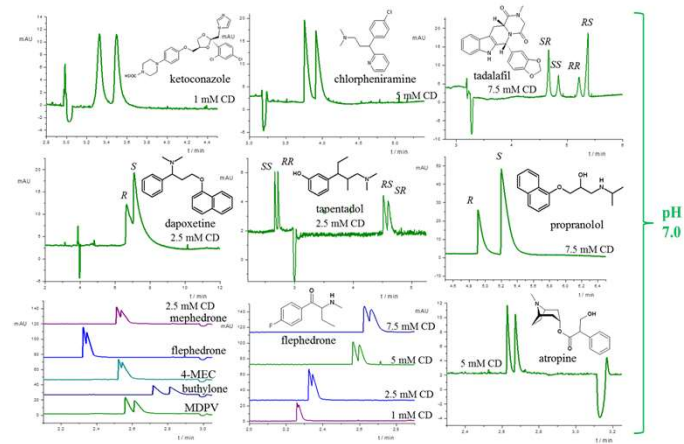
Benkovics et al., JOCA Volume 1467, 7 October 2016, Pages 445-453

# Single isomer CD-k elválasztó képessége

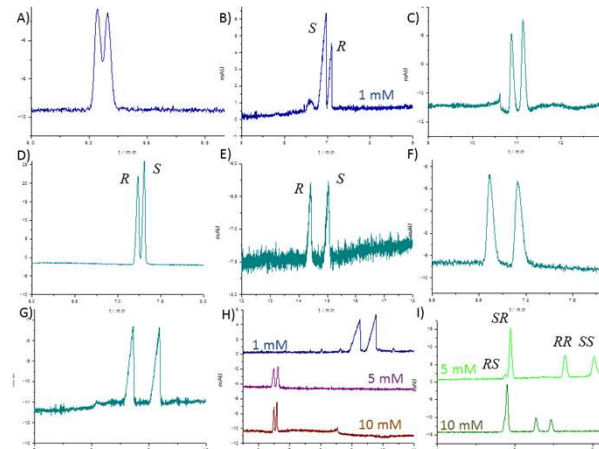
## ODMCM



## HDMCM

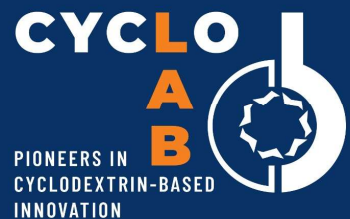


## per-6-SBEBCD



## Távlati tervek

- ✓ Újonnan előállított CD származékok királis felismerő képességének vizsgálata
- ✓ Növényi extraktumok stabilitási állandóinak meghatározása
- ✓ CE-MS kapcsolat megvalósítása



Köszönöm a  
figyelmet!

