

A 2-hidroxipropil- β -ciklodextrin és a sugammadex szerkezeti és funkcionális jellemzése NMR spektroszkópia segítségével

Doktori tézisek

Kalydi Eszter

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. Béni Szabolcs, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Tőke Orsolya, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Dr. Mirzahasseini Arash, Ph.D., egyetemi adjunktus

Komplex vizsga bizottság elnöke:

Dr. Antal István, Ph.D., egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottság tagjai:

Dr. Szakács Zoltán, Ph.D., senior kutató-fejlesztő

Dr. Tóth Gergő, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest, 2025

1. Bevezetés

A ciklodextrinek (CD-k) természetes, ciklikus oligoszacharidok, melyek α -1,4-glükopiránóz (GP) egységekből épülnek fel. Háromdimenziós szerkezetük egy üreges csonkagúlához hasonlítható. Míg felületük hidrofil, addig az üreg hidrofób jelleggel bír, amely vizes közegben lehetővé teszi hidrofób vegyületek befogadását nem kovalens, gazda-vendég típusú komplex kialakulása révén, mely számos területen nyer felhasználást. Az alkalmazások közel fele gyógyszerészethez köthető, ahol a CD-ket elsősorban segédanyagként (farmakológiailag inert adalékként) alkalmazzák a hatóanyagok oldhatóságának, stabilitásának és bioaktivitásának növelése céljából. A natív CD-k mellett (melyek a 6-, 7- ill. 8 GP egységből felépülő α -CD, β -CD és γ -CD) számos félszintetikus származékot is előállítottak és alkalmaznak gyógyszerészeti célokra. Bár a CD-k felhasználása továbbra is főként segédanyagként történik, az elmúlt évtizedekben aktív hatóanyagként (active pharmaceutical ingredient, API) való alkalmazásuk előtérbe került. Az első API-ként alkalmazott CD a γ -CD oktatiopropionsav származéka, a sugammadex (SGM), amely az első szelektív izomrelaxáns kötő molekula, melyet az aminoszteroid típusú izomrelaxáns rokurónium (ROC) által kiváltott neuromuszkuláris blokádnak megszüntetésére fejlesztettek ki.

A 2-hidroxypropil- β -CD (HPBCD) a β -CD random szubsztituált (RS) származéka. Ez a molekula egyetlen meghatározott szerkezettel nem írható le, mert izomerek összetett keveréke, melyek különböznek a szubsztitúció mértékében (degree of substitution, DS) és a szubsztituensek elhelyezkedésében (pattern of substitution, PS). Segédanyagként történő széleskörű felhasználása mellett, a HPBCD 2015-ben egy ritka betegség kezelésére aktív hatóanyagként történő alkalmazását is engedélyezték, azonban API-ként való széleskörű felhasználását komplex összetételéből fakadó elégtelen szerkezetjellemezése - megakadályozza.

2. Célkitűzés

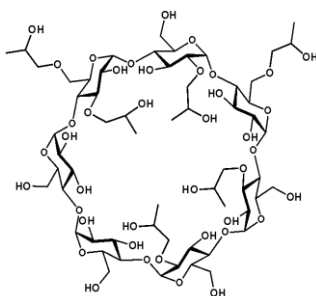
Munkám célja a HPBCD és SGM szerkezetének és specifikus kölcsönhatásainak tanulmányozása volt, API-ként történő alkalmazásuk kiterjesztésének érdekében.

2.1. Egyszerű, megbízható módszer kifejlesztése a HPBCD szerkezetjellemezésére

Mivel mind a DS, mind a PS befolyásolja a HPBCD átlagos szerkezetét (mely hatással van annak farmakológiailag fontos tulajdonságaira), egy egyszerű, megbízható módszer kifejlesztését tűztük ki célul, amely a jelenleg elérhető technikáknál részletesebb szerkezeti jellemzést szolgáltat. Ezt NMR spektroszkópia segítségével terveztük megvalósítani.

Céljaink közt szerepelt:

- A HPBCD ^1H és ^{13}C NMR jeleinek részletes hozzárendelése különböző 2D mérések segítségével (COSY, HSQC, HMBC)
- A különböző pozíciókhoz kapcsolódó hidroxipropil (HP) láncok azonosítása és a kapcsolódás helyének meghatározása.
- A különböző pozíciókon kapcsolódott HP láncok kvantitatív meghatározása.



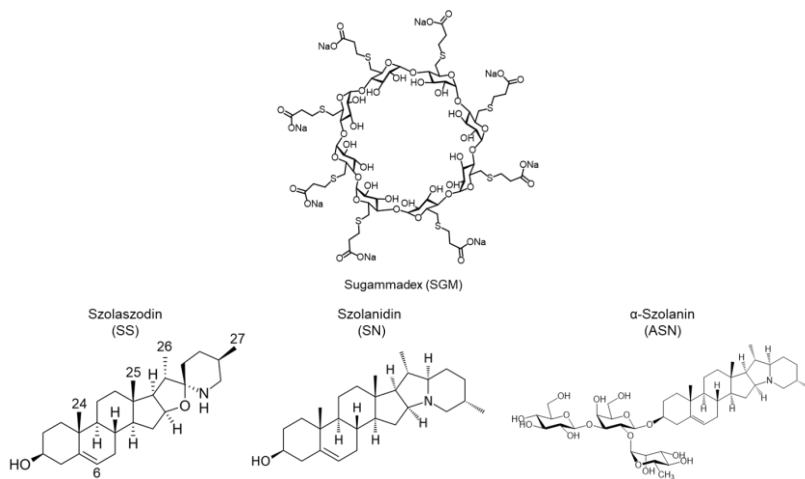
1. ábra. A HPBCD (DS = 6) egy reprezentatív szerkezete.

2.2. A SGM növényi aminoszteroid-kötő képességének vizsgálata

A természetben számos, a ROC-mal rokon szerkezetű növényi toxin megtalálható. Többek között a burgonyafélék (*Solanaceae*) családjának számos fajában is termelődik érés, vagy nem megfelelő tárolás közben. Ezek elfogyasztása esetén akár mérgezés tünetei is felléphetnek. Ezen toxinoknak jelenleg antidótuma nem ismert, így mérgezés esetén csak szupportív terápiával kezelhető a beteg.

Céljaink közt szerepelt:

- A SGM különböző *Solanaceae* toxinokkal való kölcsönhatásának vizsgálata.
A választott modellvegyületek: szolaszodin (SS), szolanidin (SN) és α -szolanin (ASN)
- Komplexképzés vizsgálata, a komplexstabilitás hőmérséklet- és pH-függésének ill. a glikoziláció hatásának vizsgálata
NMR spektroszkópia és izoterm titrációs kalorimetria (ITC) segítségével
- Az SGM hatásának vizsgálata a választott modellvegyületek által kiváltott sejttoxicitásra



2. ábra. A sugammadex (SGM) és a vizsgált *Solanaceae* modellvegyületek, a szolaszodin (SS), szolanidin (SN) és α -szolanin (ASN) kémiai szerkezete.

3. Módszerek

3.1. A HPBCD szubsztitúciós mintázatának jellemzése

A módszer kidolgozása során mind kereskedelmi forgalomban kapható, mind kutatócsoportunk által szintetizált származékokat is vizsgáltunk.

Kereskedelmi forgalomból beszerzett CD-k:

- β -Ciklodextrin (CAVAMAX[®] W7) – Wacker (Wacker Chemie, München, Németország)
- HPBCD DS 4.5 (CAVASOL[®] W7 HP) – Wacker (Wacker Chemie, München, Németország)
- Metil- β -ciklodextrin (CAVASOL[®] W7 M) – Wacker (Wacker Chemie, München, Németország)
- HPBCD DS 6.3 (KLEPTOSE[®]) – Roquette (Roquette Frères, Lestrem, Franciaország)

Kutatócsoportunk által előállított CD-k:

- HPBCD, különböző DS

1. táblázat. A HPBCD minták szintézise során alkalmazott reakciókörülmények

Reakció	BCD	H ₂ O	NaOH	Propilén oxid	DS
1	1 mmol	3 ml	4 eq	1 eq.	0.5
2	1 mmol	3 ml	4 eq	2 eq.	1.21
3	1 mmol	3 ml	4 eq	3 eq.	2.53
4	1 mmol	3 ml	4 eq	8 eq.	3.39
5	1 mmol	3 ml	4 eq	10 eq.	7.05
6	1 mmol	3 ml	4 eq	12 eq.	9.18
7	1 mmol	3 ml	6 eq	1 eq.	0.71
8	1 mmol	3 ml	6 eq	2 eq.	1.43
9	1 mmol	3 ml	6 eq	3 eq.	1.53
10	1 mmol	3 ml	6 eq	8 eq.	7.1
11	1 mmol	3 ml	6 eq	10 eq.	9.8
12	1 mmol	3 ml	6 eq	12 eq.	10.7

20 mg szilárd anyagot oldottunk 600 µl D₂O-ban, mely 21-25 mM-os tiszta oldatokat eredményezett. A mérések 5mm-es standard NMR csőben 25 °C-on történtek.

Alkalmazott NMR készülékeket:

- Varian Mercury Plus (¹H: 400 MHz, ¹³C: 100 MHz)
- Bruker Avance III (¹H: 500 MHz, ¹³C: 125 MHz)
- BRUKER Avance III (¹H: 600 MHz, ¹³C: 151 MHz)

A spektrumok processzálásához az alábbi szoftvereket alkalmaztuk:

- MestReNova v9.0.1-13254 (Mestralab Research, S.L., Santiago de Compostela, Spanyolország) – Varian készüléken felvett mérésekhez
- TopSpin 3.6.5 (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Németország) software – Bruker készüléken felvett mérésekhez

3.2. SGM-fitotoxin kölcsönhatások tanulmányozása

A vizsgált SS-t, SN-t, és ASN-t a PhytoLab (PhytoLab GmbH & Co. KG, Vestenbergsgreuth, Németország) cégtől vásároltuk, míg a SGM-et kutatócsoportunk állította elő.

3.2.1. NMR vizsgálatok

Alkalmazott készülékek:

- 600 MHz Varian DDR NMR spektrométer 5mm inverz elrendezésű gradiens mérőfejjel felszerelve
- Bruker Avance III 700 MHz NMR spektrométer TCI H&F-C/N-D, z-gradiens mérőfejjel felszerelve
- Bruker Avance 500 MHz NMR spektrométer inverz BBI mérőfejjel felszerelve

A spektrumok processzálásához az alábbi szoftvereket alkalmaztuk:

- MestReNova v9.0.1-13254 (Mestralab Research, S.L., Santiago de Compostela, Spanyolország) – Varian készüléken felvett mérésekhez

- TopSpin 3.6.5 (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Németország) software – Bruker készüléken felvett mérésekhez

Mintaelőkészítés:

- Jelhozzárendelés céljából a vegyületeket 600 µl megfelelő oldószerben oldottuk (D₂O az SGM esetében, CD₃OD az SS, SN és ASN esetében). A mérések 25 °C-on történtek.
- SS/SGM kölcsönhatásának vizsgálatához az SS korlátozott oldhatósága miatt különböző oldószerelegyek alkalmaztunk: 10% DMSO D₂O-ban, 25% DMSO D₂O-ban, vagy 100% D₂O.
- Az ¹H NMR-titrálás során az SGM 3.2 mM-os oldatához adagoltuk a SS 10.6 mM-os törzsoldatát.
- Az SGM/SN és SGM/ASN komplexeket mozsárban történő őrléssel állítottuk elő. Kb. ~1.2 mM toxin kb. 0.9 mmol SGM 5 percig tartó őrlése után a keveréket 700 µL D₂O hozzáadásával oldottuk fel. A fel nem oldódott szilárd anyagot az NMR csőbe történő transzferálás előtt centrifugálással távolítottuk el. A pH-függő mérések esetében a pH-t DCl ill. NaOD oldat segítségével állítottuk be.

3.3. ITC kísérletek

A mérésekhez MicroCal PEAQ-ITC készüléket (Malvern Panalytical, Worcestershire, UK) alkalmaztunk.

Elkészített minták:

- SGM pH 7.4 0.5 mM és 1.0 mM oldatok
- SGM pH 4.0 0.5 mM és 1.0 mM oldatok
- ASN pH 7.4 50 µM oldat
- ASN pH 4.0 50 µM oldat
- SS + 0.5 – 5.0 mM γ-CD, pH 7.4 oldatok
- SS + 0.5 – 5.0 mM szulfobutiléter-γ-CD, pH 7.4 oldatok
- SN + 0.5 – 5.0 mM γ-CD, pH 7.4 oldatok
- SN + 0.5 – 5.0 mM szulfobutiléter-γ-CD, pH 7.4 oldatok

Az oldatok pH-ját 20 mM-os foszfát puffer (pH 7.4) vagy 20 mM-os acetát puffer (pH 4.0) alkalmazásával állítottuk be.

Az elkészített oldatokat egy éjszakán át 37 °C-on kevertettük, majd 0.22 µm pórusátmérőjű membránon szűrtük.

A mérések kiértékelését MicroCal PEAQ-ITC Analysis Software segítségével végeztük el direkt (ASN esetében) vagy kompetitív (SS és SN esetében) kötődési modellt alkalmazva.

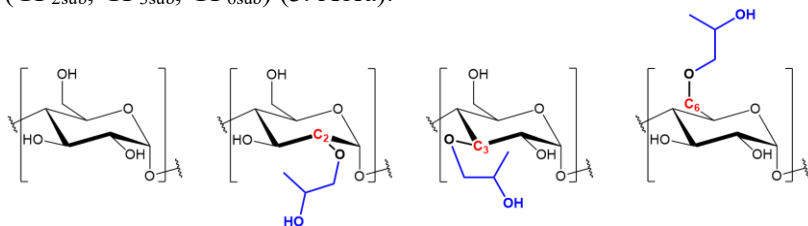
3.4. Citotoxicitási vizsgálatok

A CD-k (SGM, SB-γ-CD, GCD) és vizsgált toxinok (SS, SN, ASN) citotoxicitásának vizsgálatát mHippoE-14 egér hippokampális embrionális sejtvonalon (American Type Culture Collection) végeztük. A sejteket 37 °C-on 5% CO₂/95% levegőben inkubáltuk. 24 órás inkubálást követően 10 µl kezelőoldatot adtunk a sejtekhez, mely vagy CD-t, vagy toxint, vagy ezek keverékét tartalmazta. 72 óra inkubációt követően a médiumot eltávolítottuk, majd 50 µl friss 0.5 mg/ml 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromidot (MTT) tartalmazó médiumot adtunk a sejtekhez. 3 óra inkubációt követően az abszorbancia 570 nm-en történt leolvasásra egy Synergy H4 mikroplate olvasó (BioTek Instruments, Inc.) segítségével.

4. Eredmények

4.1. HPBCD szubsztitúciós mintázatának jellemzése

A HPBCD szintézise során a HP szubsztituensek három különböző pozícióban kapcsolódhatnak a GP egységhez: a 2-es, 3-as, vagy 6-os OH csoportokon. Feltételezve, hogy egy GP egységhez maximum egy HP kapcsolódik, így összesen 4 különböző GP egység fordulhat elő a keletkező HPBCD molekulában: szubsztituálatlan egység (GP_{unsub}), illetve a 2-es, 3-as, vagy 6-os helyzetben szubsztituált GP típusok (GP_{2sub} , GP_{3sub} , GP_{6sub}) (3. Ábra).

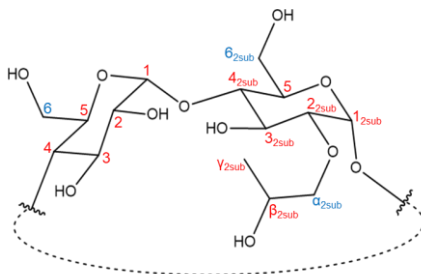


3. ábra. A lehetséges GP egységek szerkezete a HPBCD molekulában, GP egységként legfeljebb egy HP szubsztitúciót feltételezve.

A különböző pozíciókban kapcsolódott szubsztituensek átlagos számának meghatározásához az alábbi lépéseken keresztül jutottunk:

1. A HPBCD fő jeleinek asszignációja a multiplicitás-editált HSQC (DEPT-HSQC) spektrumban kis DS-ű mintán keresztül (HPBCD DS 3.4)
2. A szubsztituensek elkülönült jeleinek azonosítása és a kapcsolódási pozíciójának meghatározása HMBC spektrum segítségével magas DS-ű minta vizsgálatán keresztül (HPBCD DS 7.9)
3. A különböző helyzetű szubsztituensek mennyiségi jellemzése inverz lecsatolt ^{13}C spektrum segítségével

A jelhozzárendelés során az alábbi nomenklaturát alkalmaztuk.

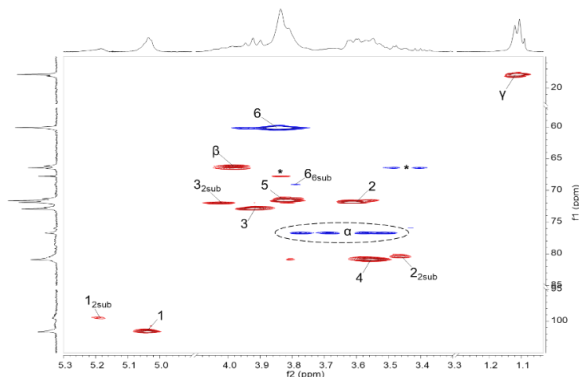


4. ábra. A HPBCD NMR jeleinek azonosítása során alkalmazott jelölések.

Az indexet nem viselő számok jelölik a szubsztituátlan GP egység atomjait. Az alsó indexet viselő számok a szubsztituált típusú egységek atomjait jelölik, ahol az index az adott GP egységen kapcsolódott szubsztituens helyét jelöli. A színkódolás megegyezik a multiplicitás-editált HSQC spektrumban az adott egységek (CH, CH₂ vagy CH₃) megjelenítési színével.

4.1.1. A HPBCD fő jeleinek asszignációja

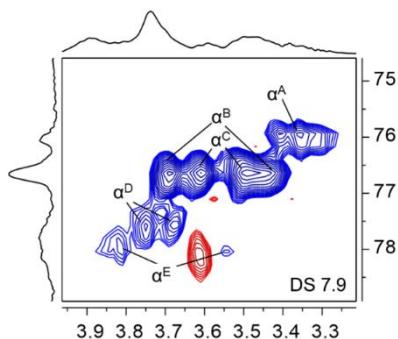
Az 5. ábra mutatja a HPBCD DEPT-HSQC spektrumát a fő jelek asszignációjával. A különböző HP oldalláncok α egységei 77 ppm ¹³C eltolódás körül külön jelcsoportot képeznek.



5. ábra. HPBCD DS 3.4 Multiplicitás-editált HSQC (DEPT-HSQC) spektruma a fő jelek asszignációjával. A csillaggal jelölt keresztesúcsok a HPBCD szintézise során keletkező melléktermék, a propilén-glikol jeleit jelöli (400 MHz, D₂O, 298 K).

4.1.2. Az elkülönült HP jelek és a kapcsolódási pontok azonosítása

A különböző pozíciókban kapcsolódott HP oldalláncok jeleinek azonosításához magasabb DS-ű mintát használtunk, ahol 5 elkülönült α keresztesűcs párt azonosítottunk (α^A - α^E) (6. Ábra).



6. ábra. HPBCD DS 7.9 DEPT-HSQC spektrumának α régiója 5 elkülönülő jelpárral (400 MHz, D₂O, 298 K).

A három lehetséges szubsztitúciós pozícióra jutó 5 jel a HP oldallánc kiralitásával magyarázható. A CD saját kiralitása miatt a kapcsolódó királis oldalláncokkal diasztereomerek képződnek, így az (*R*) és (*S*) konfigurációjú HP oldalláncok jelei bizonyos esetekben eltérő eltolódásnál jelentkeznek (jelmegkettőződés figyelhető meg).

Az azonosított oldalláncok kapcsolódási helyeit HMBC korrelációk segítségével határoztuk meg (7. Ábra, zöld kontúrok).

A szubsztituens eloszlás meghatározásának menete:

1. Anomer-tartomány (~98 – 102 ppm) integrálösszegét 7-re állítjuk
2. C γ jelének (~18 ppm) integrálja közvetlenül megadja a szubsztitúciós fokot (egy CD molekulához kapcsolódó HP láncok átlagos száma)
3. DS_{2sub} és DS_{6sub} értékét közvetlenül megadja ¹³Ca_{2sub} és ¹³Ca_{6sub} jelek integrál értéke
4. DS_{3sub} értéke jelátfedés miatt közvetlenül nem leolvasható, ennek értéke a DS₃ = DS – DS₂ – DS₆ képlettel számítható ki.

Hasonló módon a különböző típusú GP egységek elkülönülő anomer jeleiből (8. ábra) is kiszámolhatjuk a szubsztituens eloszlást.

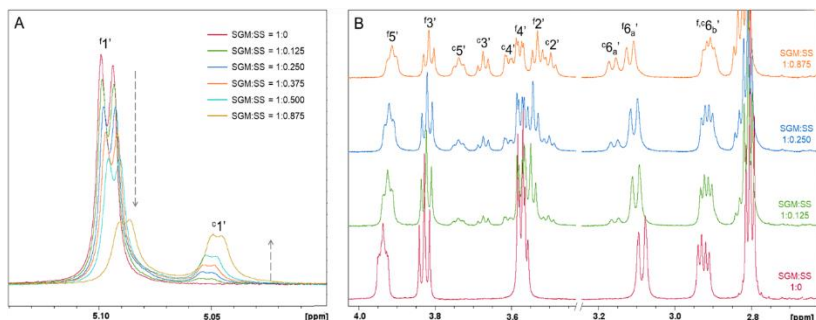
4.2. A SGM növényi aminoszteroid-kötő képességének vizsgálata

4.2.1. NMR spektroszkópiás vizsgálatok

- *Komplexxépzés vizsgálata*
 - ¹H NMR titrálás (SGM/SS)
- *A komplex szerkezete*
 - ROESY térközelségi mérés (SGM/SS)
- *DMSO hatása az egyensúlyra*
 - ¹H NMR titrálás különböző arányú DMSO-d₆/D₂O oldószerkelegyekben (SGM/SS)
- *A komplexképzés hőmérsékletfüggése*
 - ¹H NMR és EXSY kísérletek (278 – 323 K) (SGM/SS)
- *A glikoziláció hatása a komplexképzésre*
 - ¹H NMR és ROESY kísérletek (SGM/SN és SGM/ASN)
- *A pH hatása a komplex stabilitásra*
 - ¹H NMR és ROESY kísérletek savas, semleges és bázikus közegben (pH 2-12) (SGM/SN és SGM/ASN)

1) Mindhárom vizsgált toxin esetében nagy stabilitású, az NMR időskálán lassú cserével leírható ekvimoláris komplexképződést figyeltük meg. Erre a szabad és komplexben lévő SGM külön jelsorának megjelenéséből következtettünk (9. ábra). A két jelsor

arányának elemzésével vizsgálataink során követni tudtuk a komplex kialakulását/disszociációját.



9. ábra. A SGM/SS komplex ^1H NMR spektrumának részletei különböző SGM:SS arányoknál A) anomer (H1) tartomány, B) GP (H2-H6) tartomány

2) Térközelségi mérések alapján igazoltuk a SGM szabad és komplex formájának hozzárendelését és megállapítottuk a fitotoxin orientációját az üregben. Eredményeink alapján a SS aminocsoportot tartalmazó gyűrűje a SGM negatív töltésű oldalláncai felé néz, elősegítve az intermolekuláris ionos kölcsönhatás létrejöttét.

3) A 9. ábrán látható kismértékű kémiai eltolódás változás a koszolvensként alkalmazott DMSO jelenlétének hatása. A DMSO kompetitorként lép fel a SGM-mel való komplexképzési egyensúlyban, gyors kicserélődésű folyamatban.

4) Mindhárom vizsgált komplex megőrizte kimagasló stabilitását magasabb hőmérsékleten is: SS esetében 5 – 50 °C, míg az SN és ASN komplexek esetében 25 – 40 °C között vizsgáltuk a komplexek viselkedését. Minden vizsgált hőmérsékleten lassú kicserélődésű egyensúlyt detektáltunk a komplexek disszociációja nélkül, mely a komplexek igen nagy stabilitására utal.

5) A glikoziláció hatását a komplexképzésre az SGM/SN és SGM/ASN komplexek összehasonlításával végeztük. Megállapítottuk, hogy míg a SN mindkét orientációban képes az üregbe jutni, illetve SGM:SN 2:1 komplex képződését is bizonyítottuk, addig a ASN csak az amino fejcsoporttal az SGM szekunder oldala felé néző orientáció kialakítására képes.

6) A pH hatását a komplexstabilitásra szintén az SGM/SN és SGM/ASN komplexek összehasonlításával végeztük.

a) Bázikus közegben mind az SGM/SN mind az SGM/ASN komplex részlegesen disszociált. Míg az SGM/SN komplex kb. 30%-a maradt disszociálatlanul, addig az SGM/ASN komplex esetében ez kb. 80%. Ez a triszacharid oldallánc stabilizáló hatását mutatja.

b) Savas közegben az SGM/SN komplex oldatból történő kiválását észleltük. Az oldatban disszociálatlan komplexet detektáltunk. A részleges kicsapódás a komplex csökkent oldhatóságával magyarázható. Az SGM/ASN rendszer esetében kicsapódást és disszociációt sem detektáltunk.

Ezek alapján a vizsgált toxinok protonált formában képesek az intermolekuláris ionos kölcsönhatás stabilizáló ereje nélkül is igen stabil komplex kialakítására. Az ASN triszacharid lánc növeli a komplex oldhatóságát.

4.2.2. ITC kísérletek

1) SGM/ASN vizsgálata direkt titrálás módszerével

Az ASN/SGM és ASN/ γ -CD komplexek stabilitási állandóit (K_a) különböző hőmérsékleteken határoztuk meg (2. Táblázat).

A kapott értékek gyenge hőmérsékletfüggést mutatnak. A 10^6 - 10^7 nagyságrendű K_a értékek igen nagy stabilitású komplex kialakulását bizonyítják. Ezek az értékek megközelítik az SGM/ROC komplex ismert K_a értékét.

2. táblázat. ASN SGM-el és γ -CD-nel képzett komplexének stabilitási állandói különböző hőmérsékleten

$T / ^\circ\text{C}$	$K_a(\text{SGM})/\text{M}^{-1}$	$K_a(\text{GCD})/\text{M}^{-1}$
20	$1.2 \times 10^7 \pm 3.9 \times 10^6$	$2.4 \times 10^4 \pm 1.0 \times 10^4$
25	$9.9 \times 10^6 \pm 2.7 \times 10^6$	$3.5 \times 10^4 \pm 8.9 \times 10^3$
30	$6.0 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4 \pm 5.6 \times 10^3$
37	$5.7 \times 10^6 \pm 1.5 \times 10^6$	$2.9 \times 10^4 \pm 4.5 \times 10^3$

2) SGM/SN és SGM/SS vizsgálata kompetitív titrálással

Az aglikonok korlátozott vízdoldhatósága miatt azok oldhatóságát γ -CD hozzáadásával növeltük. Így kompetitív kötődési modellt alkalmaztunk a kiértékelés során.

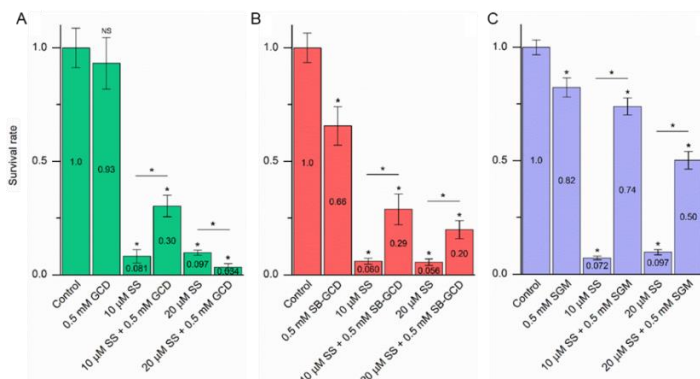
A kapott K_a értékek (3. táblázat) szintén kiemelkedően magas stabilitású komplexek képződését bizonyítja. Összehasonlítva az SGM/ASN esetében kapott értékekkel, a cukor oldallánc korábban megfigyelt komplex stabilizáló ereje támasztható alá.

3. táblázat. SS és SN SGM-mel és γ -CD-vel képzett komplexének stabilitási állandói különböző hőmérsékleten

Toxin	$T / ^\circ\text{C}$	$K_a(\text{SGM})/\text{M}^{-1}$	$K_a(\text{GCD})/\text{M}^{-1}$
SS	37	4.17×10^6	1.95×10^3
SS	25	7.03×10^6	2.14×10^3
SN	25	2.26×10^6	2.00×10^3

4.2.2. Citotoxicitási vizsgálatok

Mindhárom toxin esetében a toxicitás szignifikáns csökkenését mértük SGM-el történő kezelés mellett. Az SGM specifikus antidótum hatását γ -CD és SB- γ -CD-vel összehasonlításával bizonyítottuk, melyek az SGM-el szembe csak kis mértékben javították a toxinnal kezelt sejtek túlélését.



10. ábra A SS toxicitása HippoE-14 sejtvonalon.

5. Konklúzió

A doktori munkám során két gyógyszerészetileg fontos CD, a HPBCD és SGM szerkezetét és specifikus kölcsönhatásait vizsgáltuk.

Kidolgoztunk egy hatékony, NMR spektroszkópia-alapú módszert a HPBCD eddigi legrészletesebb szerkezetjellemezésére. Könnyen hozzáférhető műszeres felszereltség és standard NMR kísérletek felhasználásával sikerült azonosítanunk a különböző pozíciókban kapcsolódó HP oldalláncok elkülönült ^{13}C jeleit, mely lehetővé teszi a különböző pozíciókban történt szubsztitúció fokának kvantitatív meghatározását egy mérés segítségével. Ezáltal meghatározhatunk egy (néhány) egyedi molekulaszerkezetet, mely jól leírja az éppen vizsgált HPBCD keverék átlagos szerkezetét.

A módszer egyszerűsége, gyorsasága és nem destruktív jellege miatt egy jól alkalmazható eszköz lehet a HPBCD minőségellenőrzésében. Továbbá eredményeink megmutatták, hogy a SGM alkalmazható lehet bizonyos aminoszteroid típusú növényi mérgek antidótumaként. Az SGM mindhárom vizsgált toxinnal kimagaslóan erős gazda-vendég komplex kialakítására képes. A komplexek széles hőmérséklet- és pH tartományban stabilnak bizonyultak. Citotoxicitási vizsgálataink során az SGM jelentősen növelte a toxinnal kezelt sejtek túlélési arányát. Ezek alapján elmondhatjuk, hogy az SGM, mint antidótum alkalmas lehet új indikációban történő felhasználásra. Eredményeink tovább erősítik a két vizsgált CD API-ként történő újabb felhasználásokra való kiterjesztésének lehetőségét, mely új terápiás módszerekre ad lehetőséget.

6. A jelölt publikációs listája

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

Kalydi, E., Malanga, M., Nielsen, T. T., Wimmer, R., & Béni, S. (2024). Solving the puzzle of 2-hydroxypropyl β -cyclodextrin: Detailed assignment of the substituent distribution by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 338(February), 122167. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122167> (IF: 10,7*)

Kalydi, E., Sebák, F., Fiser, B., Minofar, B., Moussong, É., Malanga, M., Bodor, A., Kardos, J., & Béni, S. (2025). Exceptional stability of the sugammadex-solasodine complex: Insights from experimental and theoretical studies. *Carbohydrate Polymers*, 348(July 2024). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122819> (IF: 10,7*)

Kalydi E., Murvai N., Saridakis E., Mavridis IM., Malanga M., Kardos J., Yannakopoulou K., Béni S. Molecular encapsulation of the aminosteroid phytotoxins solanidine and α -solanine by sugammadex: new insights into atomic-level interactions. *Carbohydrate Polymers*, 2025 Oct;366(May):123824. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123824> (IF: 10,7*)

Az értekezés témájához nem kapcsolódó egyéb közlemények:

Fejős, I., **Kalydi, E.,** Malanga, M., Benkovics, G., & Béni, S. (2020). Single isomer cyclodextrins as chiral selectors in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1627, 461375. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2020.461375> (IF: 4,759)

Seggio, M., Payamifar, S., Fraix, A., **Kalydi, E.,** Kasal, P., Catanzano, O., Conte, C., Quaglia, F., & Sortino, S. (2021). Visible light-activatable cyclodextrin-conjugates for the efficient delivery of nitric oxide with fluorescent reporter and their inclusion complexes with betaxolol. *New Journal of Chemistry*, 45(19), 8449–8455. <https://doi.org/10.1039/d1nj00039j> (IF: 3,925)

Fejős, I., **Kalydi, E.,** Kukk, E. L., Seggio, M., Malanga, M., & Béni, S. (2021). Single isomer n-heterocyclic cyclodextrin derivatives as chiral selectors in capillary electrophoresis. *Molecules*, 26(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175271> (IF: 4,927)

Kalydi, E., Malanga, M., Ujj, D., Benkovics, G., Szakács, Z., & Béni, S. (2022). Fully Symmetric Cyclodextrin Polycarboxylates: How to Determine Reliable Protonation Constants from NMR Titration Data. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22). <https://doi.org/10.3390/ijms232214448> (IF: 5,6)

Ujj, D., **Kalydi, E.,** Malanga, M., Varga, E., Sohajda, T., Béni, S., & Benkovics, G. (2022). Sugammadex analogue cyclodextrins as chiral selectors for enantioseparation of cathinone derivatives by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1683, 463506. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463506> (IF: 4,1)

Agnes, M., Mazza, A., **Kalydi, E.,** Béni, S., Malanga, M., & Manet, I. (2023). A Cyclodextrin Polymer as Supramolecular Matrix for Scalable Green Photooxygenation of Hydrophobic Substrates in Homogeneous Phase. *Chemistry – A European Journal*. <https://doi.org/10.1002/chem.202300511> (IF: 3,9)

Osztie, R., Czeglédi, T., Ross, S., Stipsicz, B., **Kalydi, E.,** Béni, S., Boldizsár, I., Riethmüller, E., Bösze, S. E., & Alberti, Á. (2024). Comprehensive Characterization of Phytochemical Composition, Membrane Permeability, and Antiproliferative Activity of *Juglans nigra* Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 1–28. <https://doi.org/10.3390/ijms25136930> (IF: 4,9*)

Dunkel, P., Bogdán, D., Deme, R., Zimber, Á., Ballayová, V., Csizmadia, E., Kontra, B., **Kalydi, E.,** Bényei, A., Mátyus, P., & Mucsi, Z. (2024). C(sp³)-H cyclizations of 2-(2-vinyl)phenoxy-tert-anilines. *RSC Advances*, 14(24), 16784–16800. <https://doi.org/10.1039/d3ra08974f> (IF: 3,9*)

Dohárszky, A., **Kalydi, E.,** Völgyi, G., Béni, S., & Fejős, I. (2024). Cyclodextrin-Enabled Enantioselective Complexation Study of Cathinone Analogs. *Molecules*, 29(4). <https://doi.org/10.3390/molecules29040876> (IF: 4,2*)

Összesített impakt faktor: 72,3