



**A nagyhatékonyságú-folyadékkromatográfia alkalmazása szénhidrátkémiai
és szénhidrát-biokémiai kutatásokban**

doktori (PhD) értekezés tézisei

Gyémánt Gyöngyi

**Debreceni Egyetem, TTK
Biokémiai Tanszék
Debrecen, 2001.**

1. Bevezetés, célkitűzés

A szénhidrátok és glikokonjugátumok fontos biológiai szerepe régóta ismert. A sejtek felszínén található glikokonjugátumok a sejt és környezete közötti információcsere antennái. Erre alkalmassá teszi őket rendkívüli változatosságuk. Jelenleg közel 250 természetben előforduló monoszacharid ismert, melyek kombinálódásával igen nagy számú különböző oligoszacharid jöhet létre. Az oligoszacharidok biológiai jelentőségének felismerése miatt kutatásuk intenzív fejlődésnek indult az elmúlt néhány évtizedben. Az ezen a területen folyó széleskörű kutatások a szénhidrátok analitikájának fejlődését is kiváltották, így az elmúlt évtizedekben a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) vált a legfontosabb módszerré a szénhidrátok kinyerésében és meghatározásában egyaránt.

1994-ben kapcsolódtam be a Biokémiai Tanszéken folyó szénhidrátkémiai-biokémiai kutatásokba. Feladatom volt a tanszék kromatográfias laboratóriumában rendelkezésre álló folyadék- és gázkromatográfok segítségével a szintetikus kémiai és enzimológiai kutatások elválasztástechnikai hátterének biztosítása. A szintézisek követésén, termékarányok meghatározásán kívül a végtermékek félpreparatív méretű elválasztása, tisztítása is gyakran igényli a HPLC nyújtotta nagy felbontóképességet. α -Amiláz enzimek aktív centrumának tanulmányozása kromofor csoportot tartalmazó szubsztrát sorozatok segítségével régóta művelt kutatási téma a tanszéken. A termékanalízis elképzelhetetlen HPLC technika nélkül, hiszen az enzim működésének eredményeként összetett termékelegyek képződnek. A termékek egymástól és a szubsztráttól való elválasztása, mennyiségi arányaik megadása csak HPLC segítségével valósítható meg.

A dolgozat fejezeteit a kutatási cél eléréséhez alkalmazott módszer, a HPLC fűzi össze. A szintetikus munkához kapcsolódó elválasztások esetén a cél a szintetikus célkitűzések elérésének elősegítése volt, a preparatív vagy analitikai kromatográfia eszközeivel. A bemutatott elválasztások válogatást jelentenek a megoldott feladatok köréből, demonstrálандó a felmerülő feladatok változatosságát. Az α -amiláz enzimek vizsgálatával célunk egy humán diagnosztikai és egy ipari jelentőségű enzim (humán nyál és *Bacillus licheniformis* α -amiláz) aktív centrumának feltérképezése volt. Ehhez a különböző tagszámú maltooligoszacharid szubsztrátok hidrolízis termékeinek HPLC-vel történő termékanalízisét használtuk eszközkül. Az eredményeket az alábbi csoportosításban foglaltam össze:

-Szintetikus munkához kapcsolódó elválasztások:

- Preparatív elválasztások

- Analitikai elválasztások
- α -Amiláz enzimek vizsgálata
 - Amiláz szubsztrátok előállítása kemoenzimatis módszerrel
 - Humán nyál α -amiláz aktív centrumának vizsgálata
 - *Bacillus licheniformis* α -amiláz szubsztrát kötőhelyének vizsgálata

2. Alkalmazott vizsgálati módszerek

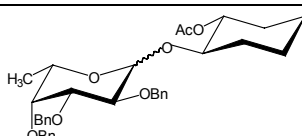
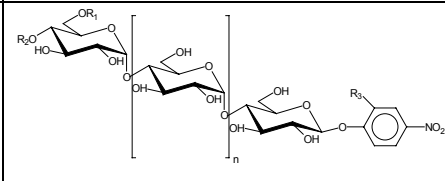
Az alapvető vizsgálati módszer a HPLC volt. Emellett a dolgozatban összefoglalt kísérleti munka során alkalmaztam egyéb kromatográfiás technikákat (VRK, oszlop), valamint a termékek tisztaságának ellenőrzésére NMR és MALDI-TOF MS módszereket. Az enzimológiai vizsgálatokhoz a klasszikus enzimkinetikai vizsgálati módszereket egészítettük ki HPLC termékanalízissel.

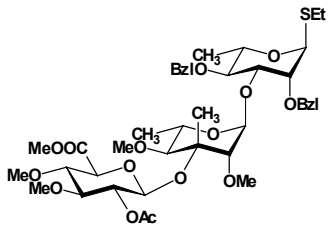
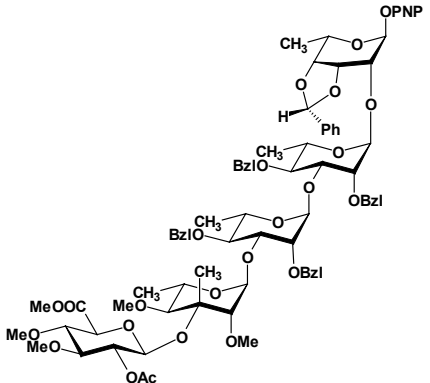
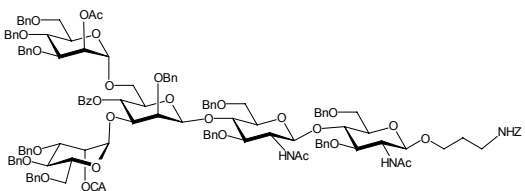
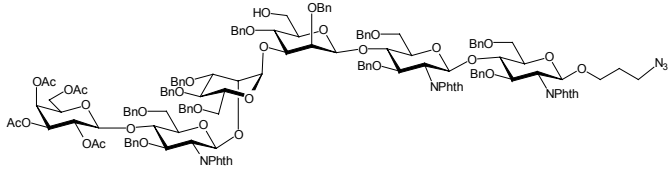
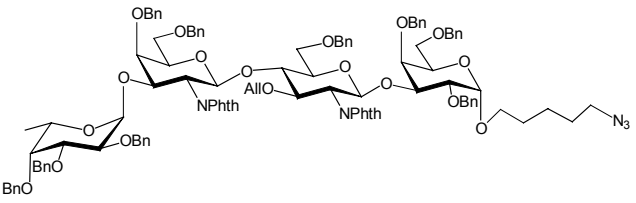
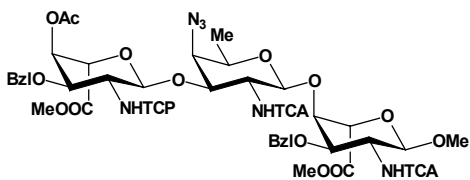
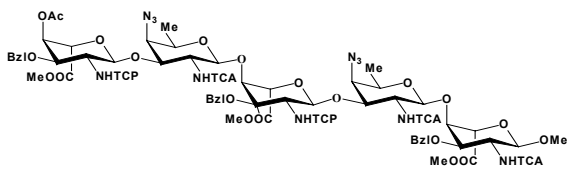
3. Az értekezés új tudományos eredményei

3.1. Preparatív elválasztások

A preparatív elválasztások az oligoszacharidok szintézisére irányuló kutatások részeként képezték, lehetővé tették a reakciótermék szerkezetvizsgáló módszerek (NMR, MS) által megkövetelt tisztaságban való kinyerését, így a termékek szerkezetének igazolását, néhány esetben a további szintézist. Az elválasztások bemutatásával a célom a felmerülő feladatok és az azok megoldására alkalmazott HPLC módszerek változatosságának demonstrálása volt. Az elválasztásokat az 1. táblázatban összegeztem.

1. táblázat

Téma	Elválasztott vegyület	Krom. rendszer
Szialil LewisX analógok előállítása		C18 MeCN:víz=9:1 3 ml/perc DAD 254 nm
Maltooligoszacharid szubsztrátok előállítása	 $n = 5-9, R_{1,2} = H, R_3 = Cl$	Amino MeCN:víz=7:3 3 ml/perc DAD 302 nm

<i>Mycobacterium avium</i> sejtfelszíni antigén oligoszacharidjának előállítása	 	C18 MeCN:víz=9:1 3 ml/perc DAD 200 nm Szilika Hexán:EtOAc=6:4 3 ml/perc DAD 294 nm
N-glikoprotein antennák törzs oligoszacharidjának szintézise	 	Szilika DKM:MeOH=98:2 3 ml/perc DAD 254 nm Szilika Hexán:EtOAc=1:1 3 ml/perc DAD 254 nm
<i>Shistosoma mansoni</i> glikokalix oligoszacharidjának szintézis		Szilika Hexán:EtOAc=7:3 3 ml/perc DAD 254 nm
Vakcina előállítás <i>Shigella sonnei</i> fertőzés ellen	 	Szilika Hexán:EtOAc=1:1 3 ml/perc DAD 254 nm Szilika Hexán:aceton=6:4 3 ml/perc DAD 214 nm

3.2. Analitikai elválasztások

3.2.1. Me-glikozidok előállítása

Pentózok és két 6-dezoxi-hexóz jódnal katalizálta metil-glikozid képződését tanulmányoztuk HPLC termékanalízissel szulfát formára hozott amino állófázison. A következő törvényszerűségeket figyeltük meg:

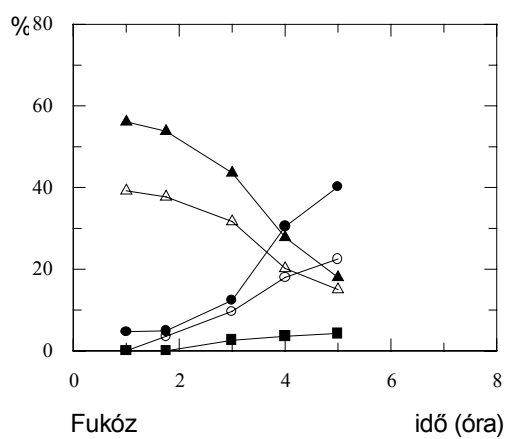
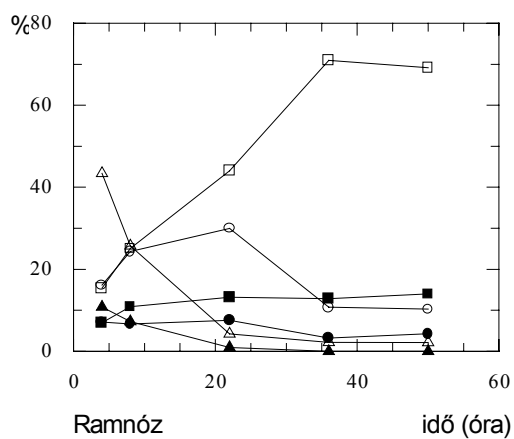
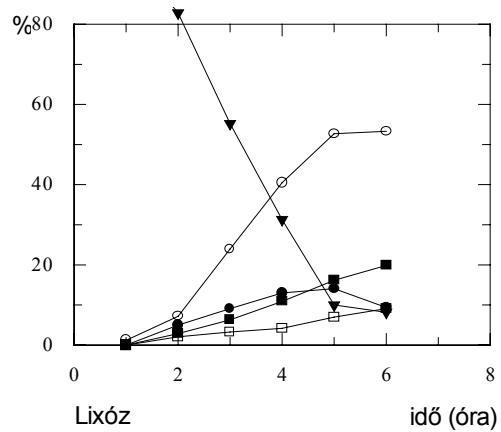
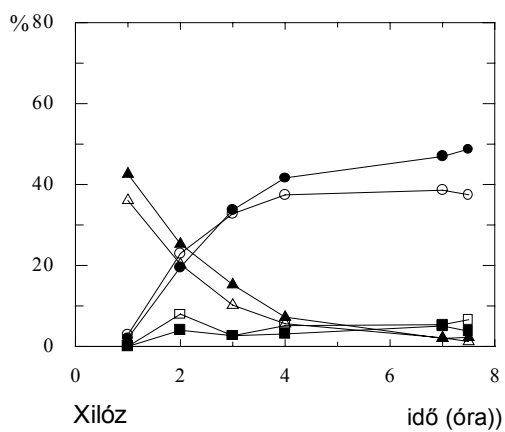
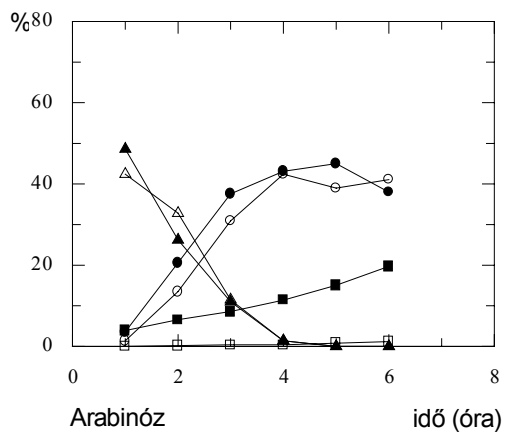
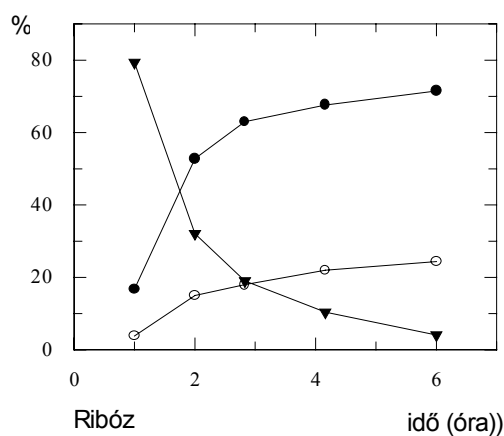
- A szabad cukrok esetében mindig az α -piranóz eluálódik korábban, kivéve az arabinózt. Ez a megfigyelés alátámasztja Jäger és munkatársai megfigyelését, miszerint az ekvatoriális hidroxil csoportok számának növekedése retenciós idő növekedést okoz.
- Metil-furanozidok esetében az 1,2-*transz* izomer retenciós ideje a kisebb.
- A metil-glikozidok képződéséhez 4-5 óra szükséges, a fő termékek furanozidok, melyek a reakció későbbi stádiumában a termodinamikailag stabilabb piranozidokká alakulnak.
- Az anomer szelektivitás alacsony, 1,2-*transz* termékek képződése kedvezményezett a ribóz, lixóz és ramnóz esetében.

A termékelegyek összetételének változását az 1. ábrán mutatom be.

3.2.2. Maltooligoszacharid szubsztrátok elválasztása

Szubsztrátok kémiai és kemoenzimatisz szintézisének követésére és enzim-szubsztrát reakciók termékanalíziséhez dolgoztunk ki HPLC elválasztásokat. Különböző maltooligoszacharid sorozatok tagjait választottuk el szilika, diol, amino és C18 állófázison. Lineáris összefüggést találtunk a retenciós idő és/vagy a kapacitási faktor logaritmus és az oligoszacharid tagszáma között. A vizsgált sorozatokat és alkalmazott elválasztási módszereket valamint, a kapott egyenesek paramétereit a 2. táblázatban foglaltam össze.

C18 állófázison egyetlen vizsgált esetben sem lineáris az összefüggés. A tapasztalt törvényszerűségeket az elválasztási mechanizmusok segítségével értelmeztük.



1. ábra A reakcióelegyek összetételének változása az idő függvényében

Jelölések: ○ α-furanosid, ● β-furanosid, □ α-piranosid, ■ β-piranosid, △ α-piranoz, ▲ β-piranoz, ▼ α- és β-piranoz együtt

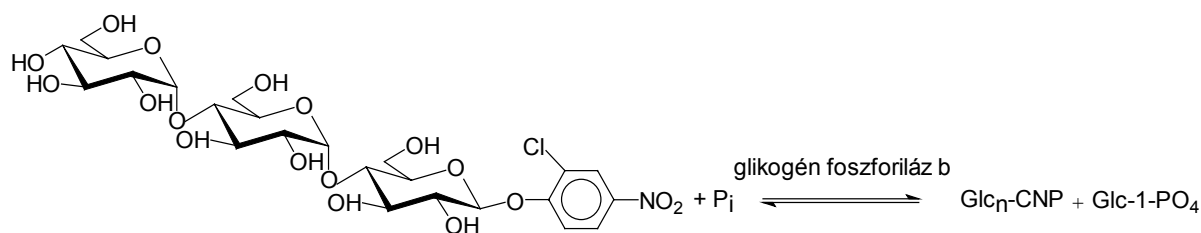
3.3. α -Amiláz enzimek vizsgálata

α -Amiláz enzim szinte valamennyi élő szervezetben termelődik, és a keményítő lebontásában játszik szerepet. A humán enzimek vizsgálatát az orvos-diagnosztikában és egyes betegségek gyógyításában betöltött szerepük indokolja. A *Bacillus* család által termelt enzimek ipari felhasználása jelentős, vizsgálatuk ezért biotechnológiai szempontból fontos. Az α -amiláz enzim család katalitikus mechanizmusa alaposan tanulmányozott, és a vizsgálatok szerint erősen konzervált a család enzimeiben. Ez a hidrolízis mechanizmus azonban csak a -1 , $+1$ alhely szerepére ad magyarázatot, amelynek felépítése azonos az α -amilázoknál. A különböző eredetű enzimek bontási képének eltérései az alhelyek számában és felépítésében való eltéréseket jelzik. Ugyanazon enzim különböző hosszúságú szubsztrátokon mutatott bontási képnek elemzése információt ad a szubsztrátkötő hely méretéről, polaritási viszonyairól, a szubsztrát kötődésben résztvevő és részt nem vevő csoportjairól. Az α -amiláz enzimek vizsgálatához hasznosak a jól definiált maltooligoszacharid sorozatok, melyek a detektálás megkönnyítésére, érzékenységeinek növelésére β -kötésű kromofor aglikont tartalmaznak. A β -kötés lényeges, mivel ezt nem hasíthatja a amiláz enzim, így garantált hogy kromofor tartalmú hasítási termékeket kapunk.

3.3.1. Amiláz szubsztátok előállítása kemoenzimatis módszerrel

Korábbi eredmények szerint a humán α -amilázok legjobb szubsztrátjai a 4-6 glükóz egységből felépülő maltooligoszacharidok, míg a bakteriális eredetű amilázok vizsgálatához ennél hosszabb, 5-11 tagszámú szubsztrátok szükségesek. Tanszékünkön ciklodextrinekből kiindulva kidolgozták 4-8 tagszámú maltooligoszacharidok, majd 2-klór-4-nitrofenil (CNP) illetve 4-nitrofenil (PNP) maltooligoszacharid glikozidok szintézisét. A soklépéses kémiai szintézis kiváltására kemoenzimatis szintézis utat választottunk. A rendelkezésünkre álló G7-CNP enzimatis láncrövidítése és hosszabbítása számos előnnyel bír a kémiai szintézishez képest. A glikogén foszforiláz szervesetlen foszfát jelenlétében megfordítható reakcióban katalizálja a glikogén lebontását, a fordított reakcióban α -D-glükopiranozil-1-foszfát (Glc-1-P), mint donor jelenlétében viszont képes a lánchosszabbításra. Ezért ezt az enzimet választottam a szintézishez.

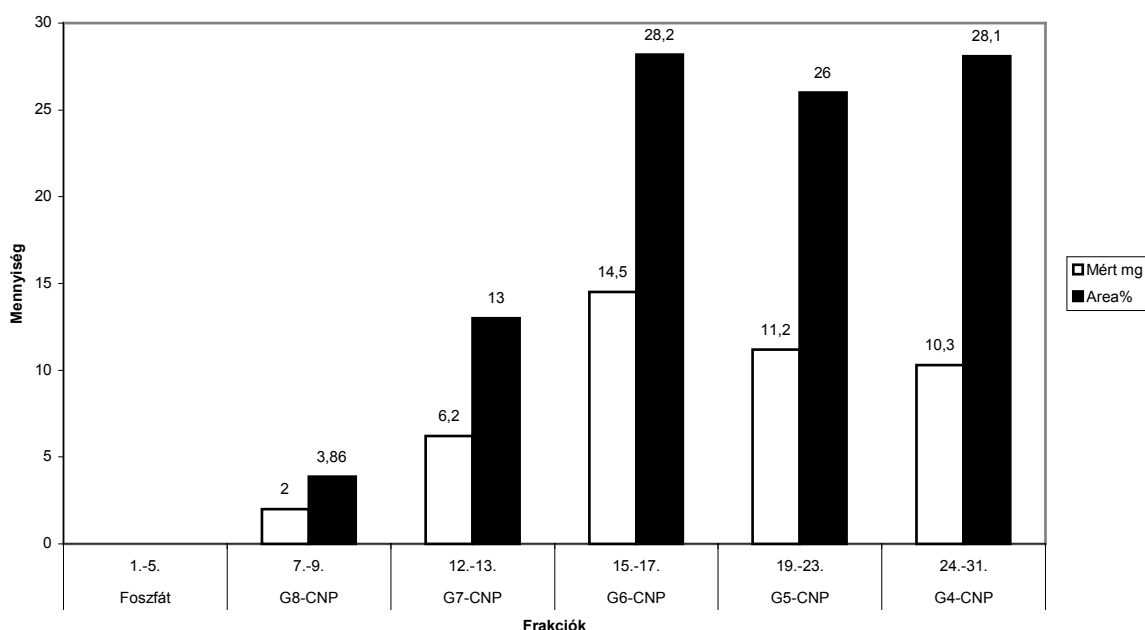
4-6 tagszámú szubsztrátok előállítása foszforolízissel



2. ábra CNP-G7 glikogén foszforiláz b enzim által katalizált foszforolízise

A reakciókörülmények optimalizálását az enzim és foszfát koncentráció, valamint a reakcióidő és a hőmérséklet a termékeloszlásra gyakorolt hatásának vizsgálatával végeztem el. A végtermékeket méret kizárási kromatográfiás (SEC) módszerrel választottuk el egymástól. Optimalizált reakciókörülmények: G7-CNP (65 mg, 5 mM) foszfát pufferrel (10 ml 100 mM, pH 6,8 , 10 mM β -merkaptotanol, 2 mM EDTA, 4 mM AMP) készült oldatához 100 μ l 1000 E/ml glikogén foszforiláz b enzimet adtunk és 10 °C hőmérsékleten 10 percig inkubáltuk.

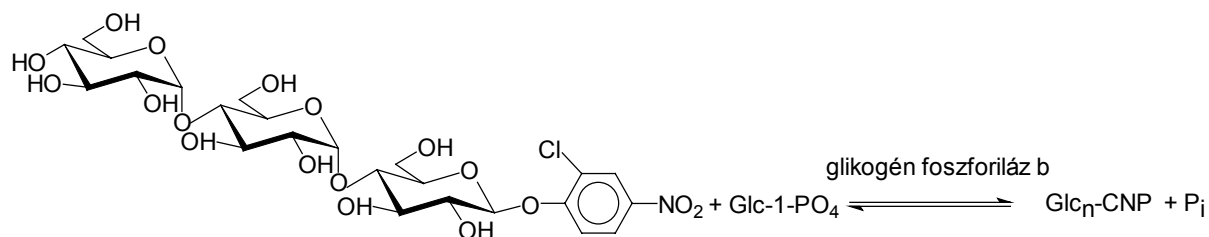
A foszforolízis reakciótermékeinek HPLC és SEC elválasztása a 3. ábrán láthatóak.



3. ábra A foszforolízis reakciótermékeinek SEC (Mért mg) és HPLC (Area%) elválasztása

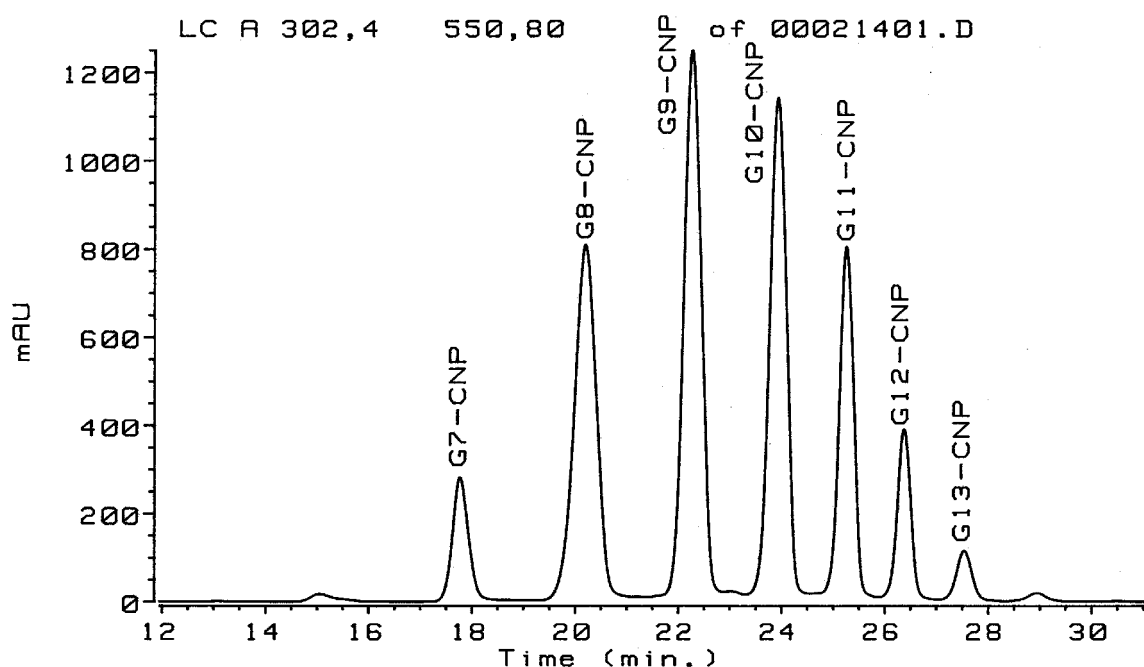
Körülmények: SEC: oszlop: Toyopearl HW-40F, 180 * 15 mm, 30-60 μ m, eluens: víz, 1,5 ml/perc, HPLC: kolonna: Amino 250 * 4 mm, 5 μ m, gradiens elúció: MeCN 70% -ról 20 perc alatt 50%, detektor: DAD 302 nm.

8-11 tagszámú szubsztrátok előállítása transzglykozilezéssel



4. ábra Szubsztrátok előállítása glikogén foszforiláz b enzim transzglykozilezési reakciójával

A lánchosszabbítási reakcióra hasonló megfontolások érvényesek, mint a lánchrövidítésre, így a reakciókörülményeket a Glc-1-P koncentráció, a hőmérséklet és az enzimkoncentráció változtatásával optimalizáltam. Vizsgáltam egy ismert amiláz és glikozidáz inhibitor, az akarbóz hatását a foszforolízis és transzglykozilezési reakció termékeloszlására. Megállapítottam, hogy az akarbóz gátolja a foszforolízist, és elősegíti a transzglykozilezést. A végtermékeket féltrepreparatív HPLC alkalmazásával tisztítottuk, szerkezetüket MALDI-TOF MS módszerrel és a retenciós idők analízisével igazoltuk. Az optimalizált reakció termékeinek HPLC kromatogramja az 5. ábrán látható.



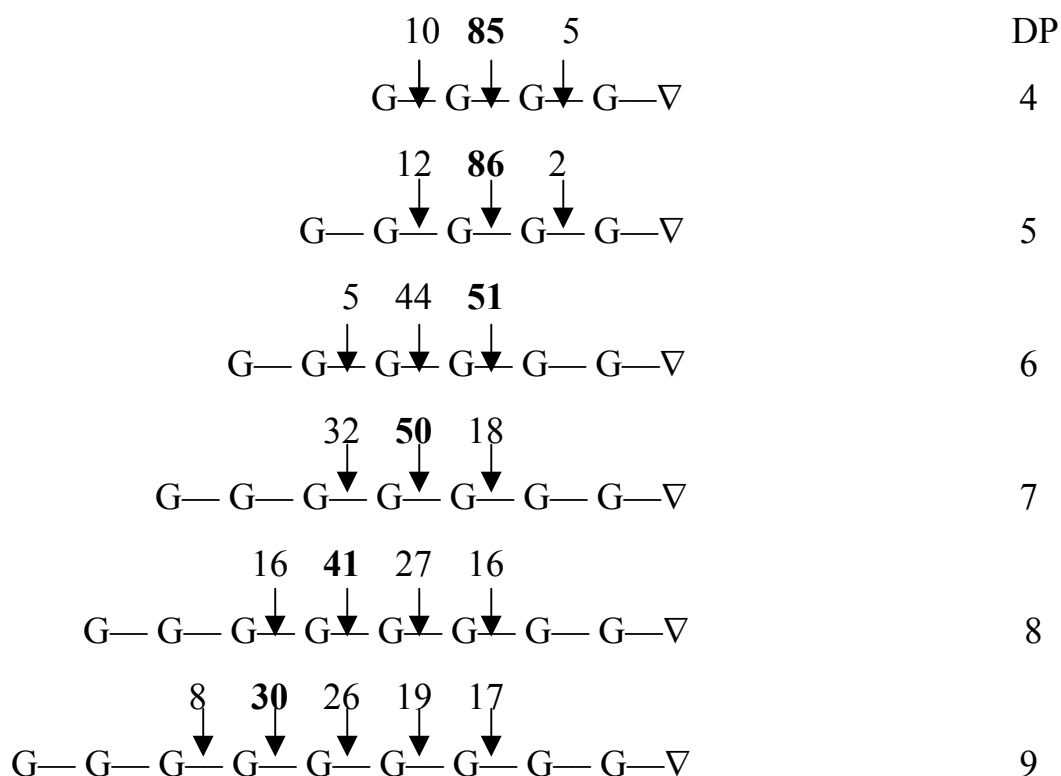
5. ábra Enzimes szintézissel előállított CNP maltooligoszacharid glikozidok HPLC elválasztása.

Optimalizált reakciókörülmények: G7-CNP (65 mg, 5 mM) és G-1-P (168 mg, 50 mM) glicerofoszfát pufferrel (10 ml 25 mM, pH 7,0 , 10 mM β -merkaptoetanol, 2 mM EDTA, 4 mM AMP) készült oldatához 100 μ l 1000 E/ml glikogén foszforiláz b enzimet adtam, és 15 °C hőmérsékleten 30 percig inkubáltam.

3.3.2. Humán nyál α -amiláz aktív centrumának vizsgálata

Kutatásaink humán nyál amiláz bontási képének és a CNP, Bnl-NP glikozidok aktív centrumhoz való kötődésének meghatározására irányultak. HPLC termékanalízissel vizsgáltuk a bontási képet és tanulmányoztuk a szubsztrát méretének, az aglikonnak, valamint a nem redukáló végen levő Bnl csoportnak a kötőhasítások gyakoriságára kifejtett hatását. Az eredményeket Phillips és munkatársai által bevezetett kötőhely elmélet alapján tárgyaltuk.

A kísérletileg meghatározott bontási képeket a 6. ábrán mutatom be.



6. ábra Hasítási frekvenciák CNP-glikozidok HSA enzim katalizálta hidrolízisében

G: glükóz egység, ∇ : 2-klór-4-nitrofenil csoport, —: glikozidos kötés

A CNP-G2 minden szubsztrát hidrolízisekor megjelenik, a G4 domináns termék a hatnál nagyobb tagszámú szubsztrátok esetén. A bontási kép alapján a korábban javasolt 5

kötőhelyes modell helyett a HSA aktív centrumában hat alhelyre tettünk javaslatot, 4 glikon és 2 aglikon kötőhelyre. A –4 kötőhely létezését a különböző tagszámú szubsztrátoknak a többi alhely betöltésével létrehozott kötőmódjaiban mért hasítási gyakoriságok összevetésével igazoltuk.

3. táblázat

-4 alhely vizsgálata a többi alhely betöltésével létrejövő kötőmódokban

Szubsztrátok			Hasítási gyakoriság %		
1	2	3	1	2	3
G6-CNP	Bnl-G6-NP	G7-CNP	44	13	50+18
G7-CNP	Bnl-G7-NP	G8-CNP	32	11	41+27+16
G8-CNP	Bnl-G8-NP	G9-CNP	16	19	30+26+19+17

1. -4 alhely nincs betöltve
2. -4 alhely Bnl csoporttal van betöltve
3. -4 alhely glükóz egységgel van betöltve

A 3. táblázat adatainak összevetése mutatja, hogy a benzilidén csoport jelenléte a –4 kötőhelyen kedvezőtlenebb, mint akár annak üresen maradása, akár glükóz egységgel történő betöltése. A glükóz egység bekötődése kedvezőbb az üresen maradáshoz és a benzilidén bekötődéshez képest is.

3.3.3. *Bacillus licheniformis* α -amiláz szubsztrát kötőhelyének vizsgálata

Célul tűzttem ki a *Bacillus licheniformis* által termelt hőtűrő α -amiláz (BLA) bontási képének, a CNP- és Bnl-NP glikozidok aktív centrumhoz való kötődésének meghatározását. HPLC termékanalízissel vizsgáltam a bontási képet, valamint a szubsztrát tagszáma és a nem redukáló végen levő benzilidén csoport hatását a kötőhasítások gyakoriságára.

A 7. ábrán bemutatott bontási képek alapján 8 kötőhelyet tételeztünk fel, 5 glikon és 3 aglikon kötőhelyet. A BLA érdekes kettős termék specifikitást mutat, a rövid DP<8 szubsztrátok esetén a fő hidrolízis termék a maltopentaóz. A hosszú szubsztrátok DP>8 esetén a fő termék G3-CNP. A kettős termék specifikitása a nem redukáló végen benzilidén csoportot hordozó szubsztrátoknál is megfigyelhető. A –5 kötőhely kiemelt szerepet játszik a hasításban, ezt a kinetikai mérések is igazolják, melyek szerint a maltopentaóz BLA katalizálta hidrolízisének

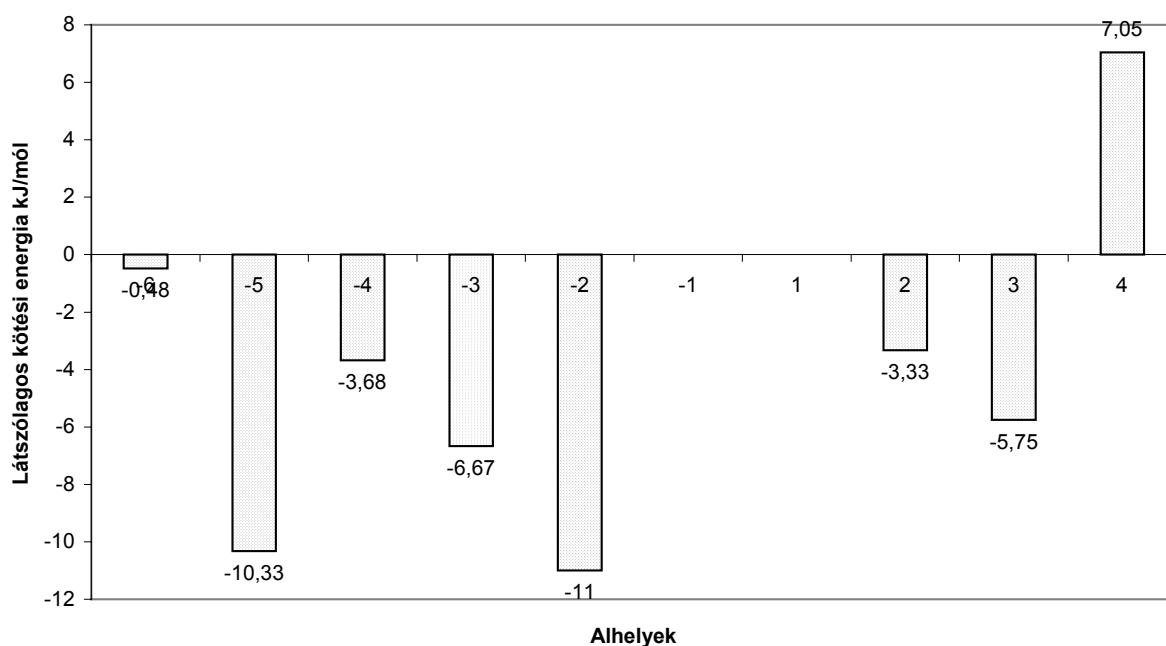
sebessége nagyságrendekkel kisebb mint a maltohexaózé. A maltopentaóz ugyanis nem képezhet olyan produktív komplexet amelyben a -5 alhely is betöltött.

	$ \begin{array}{ccccccc} & & 12 & 78 & 10 & & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	DP 4
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 48 & 34 & 18 & & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	5
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 25 & 7 & 68 & & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	6
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 11 & 84 & 5 & & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	7
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 85 & 13 & 2 & & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	8
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 4 & 83 & 10 & 3 & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	9
	$ \begin{array}{ccccccc} & & 5 & 6 & 83 & 6 & \\ & & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow & \\ G & - & G & - & G & - & \nabla \end{array} $	10

7. ábra Hasítási frekvenciák a CNP glikozidok BLA katalizálta hidrolízisében

G: glükóz egység, ∇: 2-klór-4-nitrofenil csoport, —: glikozidos kötés

A meghatározott hasítási frekvenciák alapján kiszámítottam a BLA szubsztrátkötő helyeinek kötési energiáit, elkészítettem az hely térképet. A számítások igazolták a feltételezett 8 kötőhely létezését és egy ún. gát hely jelenlétét a +3 hely mellett. Ez az energia gát okozza a kötőhelynél hosszabb szubsztrátok hasításakor keletkező 3 tagszámú termékek dominanciáját. A kötéshasítási frekvenciákból a hasítási hely melletti kötőhelyek kötési energiái nem határozhatók meg, mivel ezek a produktív komplexekben mindig betöltöttek.



8. ábra BLA aktív centrumának számított energia térképe

4. Publikációk jegyzéke

A dolgozat témájához kapcsolódó közlemények

1. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt, Erzsébet Farkas, András Lipták
Action pattern of porcine pancreatic alpha-amylase on three different series of β -maltooligosaccharide glycosides
Carbohydr. Res. **298**, 237-242 (1997)
2. Gyöngyi Gyémánt and András Lipták
HPLC analysis of the product distribution in the iodine-catalysed methyl-glycosidation of pentoses and two 6-deoxyhexoses
J. Carbohydr. Chem. **17**(3), 359-368 (1998)
3. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt, András Lipták
Chemoenzymatic preparation of 2-chlor-4-nitrophenyl- β -maltooligosaccharides glycosides using glycogen phosphorylase b.
Carbohydr. Res. **315**, 180-186 (1999)
4. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt
Examination of the active sites of Human Salivary α -Amylase (HSA)
Carbohydr. Res., **329**, 579-585 (2000)
5. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt, Magda Pál, Mariann Petró, Judit Remenyik, András Lipták
Chemoenzymatic synthesis of 2-chloro-4-nitrophenyl β -maltoheptaoside acceptor products using glycogen phosphorylase b
Carbohydr. Res., **333**, 129-136 (2001)
6. Gyöngyi Gyémánt, Anikó Tóth, István Bajza, Lili Kandra, András Lipták,
Identification and structural analysis of synthetic oligosaccharides of *Shigella sonnei* using MALDI-TOF MS
Carbohydr. Res., **334**, 315-322 (2001)

Egyéb közlemények

1. István Bányai, László Dózsa, Mihály T. Beck and Gyöngyi Gyémánt
Kinetics and Mechanism of the Reaction between Pentacyanonitrosylferrate (II) and Hydroxylamine
J. Coord. Chem. **37**. 257-270 (1996)
2. Horváth Zsolt, Gyémánt Gyöngyi, Dános Béla, Nánási Pál
Echinops fajok poliszacharidjainak tanulmányozása
Gyógynövény poliszacharidok I.
Acta Pharmaceutica Hungarica **68**. 214-219. (1998)
3. Kiss Tünde, Gyémánt Gyöngyi, Dános Béla és Nánási Pál
A Glycyrrhiza glabra L. és a *Glycyrrhiza echinata* L. poliszacharidjainak tanulmányozása
Gyógynövény poliszacharidok II.
Acta Pharmaceutica Hungarica **68**. 263-268. (1998)
4. János Kerékgyártó János Rákó, Károly Ágoston, Gyöngyi Gyémánt, and Zoltán Szurmai
New factors governing stereoselectivity in borohydride reductions of β -D-glycoside-2-uloses. The peculiar effect of "activated" DMSO.
Eur. J. Org. Chem., 2000. 3931-3935
5. Leiter, Éva, Emri, Tamás, Gyémánt, Gyöngyi, Nagy, István, Pócsi, Imre, Winkelmann, Günther and Pócsi, István
Penicillin V production by *Penicillium chrysogenum* in the presence of Fe(III) and in low-iron culture medium
Folia Microbiol., **46**, 127-132 (2001)
6. Gyémánt Gyöngyi, Lenkey Béla és Nánási Pál
Különböző eredetű *Glycyrrhiza glabra* L. és *Glycyrrhiza echinata* L. fajok összehasonlító vizsgálata. Gyógynövény poliszacharidok III.
Acta Pharmaceutica Hungarica, nyomdában.

Előadások, posztterek

1. Gyémánt Gyöngyi
Lidokain és pantenol tartalom meghatározás kúpokból HPLC-vel
I. Hungarian-Dutch Symposium on Chromatography, 1986. Kecskemét (poszter)
2. Gyémánt Gyöngyi, Szamosújváriné Jávor Judit
Természetes eredetű anyagok komponenseinek HS-GC és HS-GC-MS vizsgálata
XV. Kromatográfás Vándorgyűlés, 1990. Bükkfürdő (poszter)
3. Gyémánt Gyöngyi
Trehalóz tartalom meghatározás biológiai mintákból
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság Előadóülése 1995. Debrecen (előadás)
4. Kandra Lili, Gyémánt Gyöngyi, Farkas Erzsébet, Lipták András
Alfa-amiláz szubsztrátok előállítás és vizsgálata
Magyar Kémikusok Egyesülete 1995 évi Vegyészkonferenciája, Debrecen (poszter)
5. Gyöngyi Gyémánt, András Lipták
Evaluation of the product distribution of the iodine-catalysed methanolysis of pentoses and two 6-deoxyhexoses
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság Előadóülése 1997. Mátrafüred (előadás)
6. Erzsébet Farkas, Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt and András Lipták
Synthesis of chromogenic maltooligosaccharide series and their use as substrates of α -

- amylase
9th European Carbohydrate Symposium, 1997. Utrecht (poszter)
7. Gyöngyi Gyémánt and András Lipták
Separation of different oligosaccharide series by HPLC
9th European Carbohydrate Symposium, 1997. Utrecht (poszter)
 8. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt, Lóránt Jánossy and András Lipták
Chemoenzymatic preparation of 2-chloro-4--nitrophenyl β -maltooligosaccharides
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság Előadói ülése 1999. Mátrafüred (előadás)
 8. Gyöngyi Gyémánt, Anikó Tóth, Károly Ágoston, István Bajza, Zoltán Szurmai, Lili Kandra and András Lipták
MALDI-TOF, new instrument, new opportunity for carbohydrate chemists
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság Előadói ülése 2000. Mátrafüred (előadás)
 9. János Rákó, Károly Ágoston, Gyöngyi Gyémánt, Zoltán Szurmai and János Kerékgyártó
New factors governing stereoselectivity in borohydride reductions of β -D-glycoside-2-
uloses. The peculiar effect of "activated" DMSO.
European Training Course on Carbohydrates, Debrecen, 2000. 07.8-14. (poszter)
 10. Gyémánt Gyöngyi, Kandra Lili, Lipták András
A MALDI-TOF tömegspektrometria alkalmazása biokémiai kutatásokban
Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológia Szakosztálya 6. Munkaértekezlete
Sárospatak 2001. május 14-17. (poszter)
 11. Gyémánt Gyöngyi, Lipták András
MALDI-TOF MS a szintetikus szerves kémia szolgálatában
Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló 2001. június 27-29. (poszter)
 12. Kandra Lili, Gyémánt Gyöngyi, Lipták András
2-klór-4-nitrofenil β -maltooligoszacharidok kemoenzimátikus szintézise
Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló 2001. június 27-29. (poszter)
 13. Lili Kandra, Gyöngyi Gyémánt, András Lipták
Action pattern of α -amylases on different maltooligosaccharide series
1.st Symposium on the Alpha-Amylase Family, Smolenice, 2001. szept.30-okt. 4.

2. Táblázat

Sorozat (állófázis)	Eluens	Detektor	Paraméter	Meredekség	Tengelymetszet	Korelációs koeficiens
Maltooligoszacharidok (amino)	MeCN:víz=7:3	RID	lgRt	0,0933	0,4417	0,9983
			lg k'	0,1336	0,0818	0,9948
Maltooligoszacharid peracetátok (diol)	Hexán: EtOAc=1:1	RID	lgRt	0,1054	0,096	0,9995
			lg k'	0,1540	-0,4174	0,9993
pNP-maltooligoszacharidok (amino)	MeCN:víz=8:2	DAD	lgRt	0,1033	0,3277	0,9904
			lg k'	0,2136	-0,7675	0,9987
CNP-maltooligoszacharidok (amino)	MeCN:víz=7:3	DAD	lgRt	0,2200	-0,2610	0,9986
			lg k'	0,2748	-0,7056	0,9998
CNP-maltooligoszacharid glikozid acetátok (diol)	Hexán: EtOAc=1:1	DAD	lgRt	0,1368	-0,0364	0,9997
			lg k'	0,1811	-0,4596	0,9988
4,6-Bnl--pNP-maltooligoszacharid glikozidok (amino)	MeCN:víz=7:3	DAD	lgRt	0,0665	0,2395	0,9879
			lg k'	0,1603	0,1028	0,9911