BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA

Fluoreszcens jelzőanyagok protolitikus reakciói

Tézisfüzet

Készítette: Hessz Dóra

Témavezető: Dr. Kubinyi Miklós

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék

Spektroszkópia csoport

Budapest 2021

1. Bevezetés

A fluoreszcencia mérésén alapuló technikák nagy érzékenységüknek és szelektivitásuknak köszönhetően napjainkra széleskörben alkalmazott módszerékké váltak. Meghatározó szerepük van a modern képalkotás területén, ezt bizonyítja, hogy a XXI. században két kémiai Nobel-díjat is a fluoreszcenciás képalkotásban elért eredményért ítéltek oda: 2008-ban a zöld fluoreszcens fehérje felfedezését,[1] míg 2014-ben a szuperfelbontású fluoreszcencia-mikroszkópiai módszerek kifejlesztését ismerték el Nobel-díjjal.[2a-c]

Munkám során három vegyületcsalád öt képviselőjének spektroszkópiai tulajdonságait tanulmányoztam, sav-bázis egyensúlyait jellemeztem. A vizsgált vegyületek közül a kumarin 102 (C102), a 4'-dietilamino-3-hidroxiflavon (FET) és a Brooker-merocianin (M1) jól ismert fluoreszcens próbák. Szolvatokróm tulajdonságaikkal számos publikáció foglalkozott, sokféle anyagtudományi és sejtbiológiai kutatásban alkalmazták őket. Ehhez képest a korábbi kutatások keveset foglalkoztak a C102 és a FET szerkezetével vizes közegben, beleértve sav-bázis tulajdonságaikat. A C102 és a FET-re vonatkozó kutatásaim célja az volt, hogy feltárjam ezen vegyületek szerkezeti és spektroszkópiai jellemzőit vizes közegben, jellemezzem sav-bázis karakterüket alap- és gerjesztett állapotban.

A Brooker-merocianin vizes közegbeli fotofizikájáról jelentek meg tanulmányok, így referencia vegyületként szolgált munkánkban, amelyben összehasonlítottuk M1 tulajdonságait két új származékával (M2 és M3). Az utóbbiak saverőssége és komplexképző tulajdonsága különbözött M1-étől.

Kutatásaim további célja a jelzőanyagok potenciális analitikai alkalmazásaihoz kapcsolódott. A FET-re vonatkozó vizsgálatokat kiegészítettem a FET-ATP komplex fluoreszcenciasajátságainak vizsgálatával, előkészítve egy új szelektív fluoreszcens ATP-szenzor tervezését. Az M3 merocianint felhasználva pedig indikátor kiszorításos assay-t készítettem, amely alkalmas a trimetil-lizin szelektív mérésére.

2. Irodalmi háttér

2.1. A kumarin 102 spektroszkópiai tulajdonságai protikus oldószerekben

A C102 (1. ábra) sokoldalú fluoreszcens jelzőanyag. Az aminocsoport rögzítése megakadályozza, hogy a gerjesztett molekula TICT mechanizmussal (az aminocsoport elcsavarodásaként leírható) dezaktiválódjon, ennek köszönhetően fluoreszcencia-

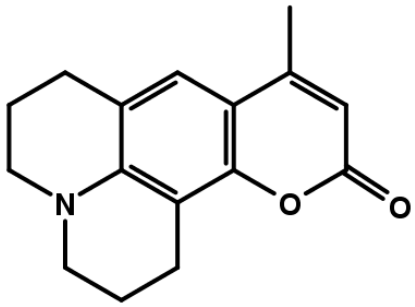
---

[1] Shimomura, O.; Chalfie, M.; Tsien, R.Y. *Nobel Lectures: Chemistry: 2006 – 2010* World Scientific Publishing Co. **2014**, pp 124.

[2] (a) Betzig E. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2015**, *54*, 8034.; (b) Hell S.W. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2015**, *54*, 8054.; (c) Moerner W.E. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2015**, *54*, 8067.

kvantumhatásfoka a legtöbb közegben nagy.[3] További előnye, hogy fluoreszcenciatulajdonságai érzékenyek a környezet polaritására és hidrogénhíd donor/akceptor jellegére.

Protikus oldószerekkel karbonil-, ill. aminocsoportja révén is képez hidrogénhidat. Stacionárius és időfelbontásos fluoreszcenciaspektroszkópiai vizsgálatok alapján a gerjesztett állapotú C102 erősebb hidrogénkötést képez alifás alkoholokkal és fenollal,[4] mint az alapállapotú C102. Viszont, időfelbontásos rezgési spektroszkópiai kísérletek nyomán arra következtettek, hogy a C102 hidrogénkötéses fenol, anilin és vízkomplexe a gerjesztést követően pár száz fs alatt felhasad. Elméleti számítások a hidrogén-híd erősödését valószínűsítették a gerjesztést követően.[5]



1. ábra: A C102 szerkezeti képlete

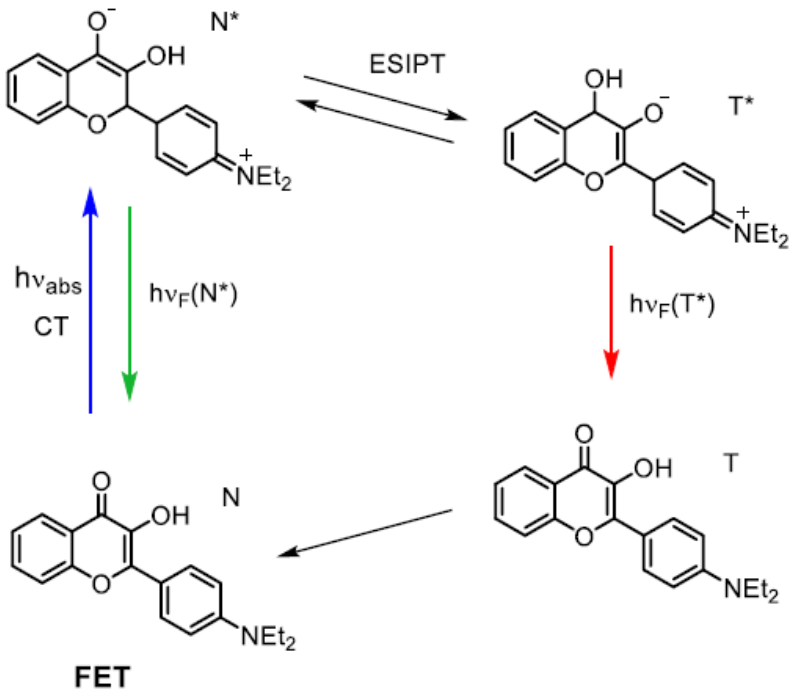
Az elektrongerjesztést kísérő töltésátmenet a C102 sav-bázis jellegét is megváltoztatja. Vizes és etanolos oldatban a gerjesztett állapotú indikátor és az oldószer közötti protontranszfert figyeltek meg.[6]

2.2. A 4'-dietilamino-3-hidroxiflavon spektroszkópiai tulajdonságai vízben és aceton-víz elegyben

A FET (2. ábra) a 3-hidroxiflavon alapvegyülethez hasonlóan képes gerjesztett állapotú intramolekuláris protontranszferre (ESIPT).[7] A gerjesztett normál (N*) és fototautomer (T*) alakja is emittál, ezért a fluoreszcenciaspektrumban két sáv jelenik meg. Az N→N* gerjesztés során nagy a dipólusmomentum-változás,[7] ennek a sávnak a helyzete érzékeny a környezet

[3] Dobek, K.; Karolczak, J,; Kubicki, J.; *Dyes Pigm.* **2014**, *100*, 222.
[4] Chudoba, C.; Nibbering, E. T. J.; Elsaesser, T. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 5625.
[5] Zhao, G.-J.; Han, K.-L. J. Phys. Chem. A 2007, 111, 2469.
[6] Campillo, A. J.; Clark, J. H.; Shapiro, S. L.; Winn, K. R.;Woodbridge, P. K. *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *67*, 218.
[7] Klymchenko, A. S.; Demchenko, A. P. *Phys. Chem. Chem. Phem.* **2003**, *5*, 461.

polaritására. A dimetilamino-származékról (FME) igazolták, hogy ATP-vel komplexet képez, mely reakció fluorimetriásan követhető.[8]



2. ábra: A FET gerjesztett állapotú intramolekuláris protontranszferének sémája

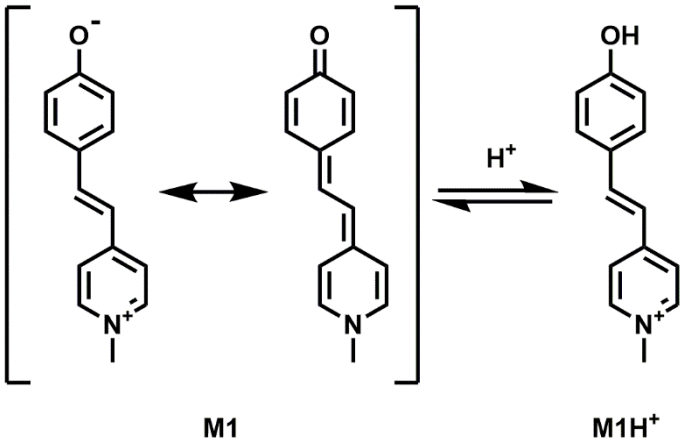
A kutatások végső célja új hidroxiflavon-alapú fluoreszcens ATP-szenzor kifejlesztése volt, amelynek szelektivitása jobb az FME-hez és a FET-hez képest. A témához kapcsolódva vizsgáltuk a FET fotofizikai tulajdonságait vizes közegben. A szolvatokróm tulajdonságokról részletes tanulmányok jelentek meg, amelyekben sokféle szerves oldószerben mért spektrumot hasonlítottak össze.[7] A vizes oldatban felvett spektrumokról azonban kevés volt az információ, pedig ezekre szükség az új ATP szenzor tervezéséhez.

2.3. Brooker-típusú merocianinok komplexképzése pillérarénnal

A Brooker-merocianin (M1 az 3. ábrán) egy piridínium-fenolát festék, melyre az erős negatív szolvatokromizmus jellemző.[9] A szolvatokróm viselkedés kvalitatíve magyarázható úgy, hogy az alapállapotú merocianin polárisabb szerkezetű, mint a gerjesztett állapotú. Ezért az alapállapotú szolvatált molekula energiája csökken az oldószer polaritásával, a gerjesztési energia pedig nő. Elméleti számítások azt mutatták, hogy a jelzővegyület szolvatokróm

[8] Yushchenko, D. A.; Vadzyuk, O. B.; Kosterin, S. O.; Duportail, G.;Mély, Y.; Pivovarenko, V. G. *Anal. Biochem.* **2007**, *369*, 218.
[9] Jacques, P. *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 5535.

tulajdonságát az oldószer polaritása mellett a hidrogénkötés-donor tulajdonsága is befolyásolja.[10]



3. ábra: A Brooker-merocianin fenolát és fenol formája. A fenolát forma az ikerionos és semleges határszerkezettel jellemezhető

Kihasználva a Brooker-merocianin nagy érzékenységét a lokális környezetre, gyakran alkalmazzák szolvatokróm próbavegyületként.

M1 aromás gyűrűi és ellentétes töltésű végcsoportjai elősegítik komplexképzését többféle makrociklussal. Ciklodextrinekkel történő komplexképzését abszorpciós és fluoreszcencia mérésekkel vizsgálták.[11] Eszerint az M1 β-ciklodextrinnel alkotja a legstabilabb komplexet, a kisebb üregméretű α-CD-nel gyengébb, a nagyobb üregű γ-CD-nel még gyengébb komplex keletkezik.

A nyolc tagszámú kukurbituril üregmérete jóval nagyobb, így képes két M1 vendégmolekulával kölcsönhatásba lépni,[12] amelyek a makrociklus üregében ellentétesen orientálva helyezkednek el.

Kutatómunkám során M1-nek és két származékának, M2-nek és M3-nak karboxiláto-pillér[6] arénnel (WP6) alkotott komplexeit vizsgáltam. Várható volt, hogy a komponensek ellentétes töltései miatt viszonylag erős komplexek keletkeznek, továbbá az, hogy az erősen szolvatokrom festékek komplexképzését a spektrumokban nagy változások jelzik. Ezek alapján lehetségesnek látszott, hogy Brooker-típusú merocianinból és WP6-ból kiszorításos szenzorként működő rendszert hozzunk létre.

---

[10] Murugan, N. A.; Kongsted, J.; Rinkevicius, Z.; Aidas, K.; Agren, H. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 13349.
[11] Nicolini, J.; Venturini, C. G.; Andreaus, J.; Machado, C.; Machado, V. G. *Spectrosc. Lett.* **2009**, *42*, 35.
[12] Kang, Y.-T.; Tang, X.-Y.; Yu, H.-D.; Cai, Z.-G.; Huang, Z.-H.; Wang, D.; Xu, J.-F.; Zhang, X. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 8357.

3. Alkalmazott módszerek

A vizsgált anyagok közül a C102-őt az Exciton cégtől vásároltuk, a FET, M1, M2 és M3 próbavegyületeket Bitter István és Bojtár Márton állították elő a BME Szerves Kémia és Technológia Tanszékén.

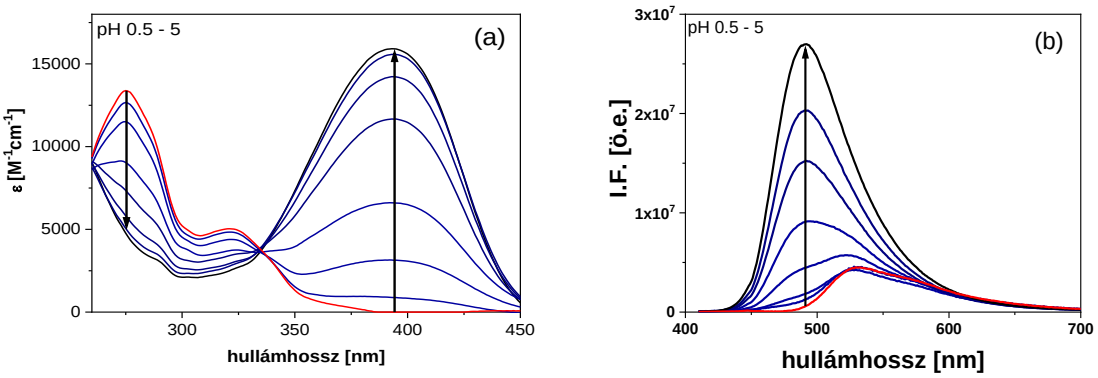
Kísérleteimhez abszorpciós, valamint stacionárius és időfelbontásos fluoreszcencia spektroszkópiai módszereket alkalmaztam. Az abszorpciós kísérleteimet a BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszéken végeztem. Az időfelbontásos fluoreszcencia vizsgálatokat időkorrelált egyfoton számláló rendszerekkel végeztem a Természettudományi Kutatóközpontban, a kísérletek eredményeit kinetikai modellek alapján értelmeztük.

A kísérleti eredmények értelmezéséhez felhasználtam elméleti számítások eredményeit, amelyeket Kállay Mihály, Hégely Bence és Mester Dávid végeztek.

4. Eredmények

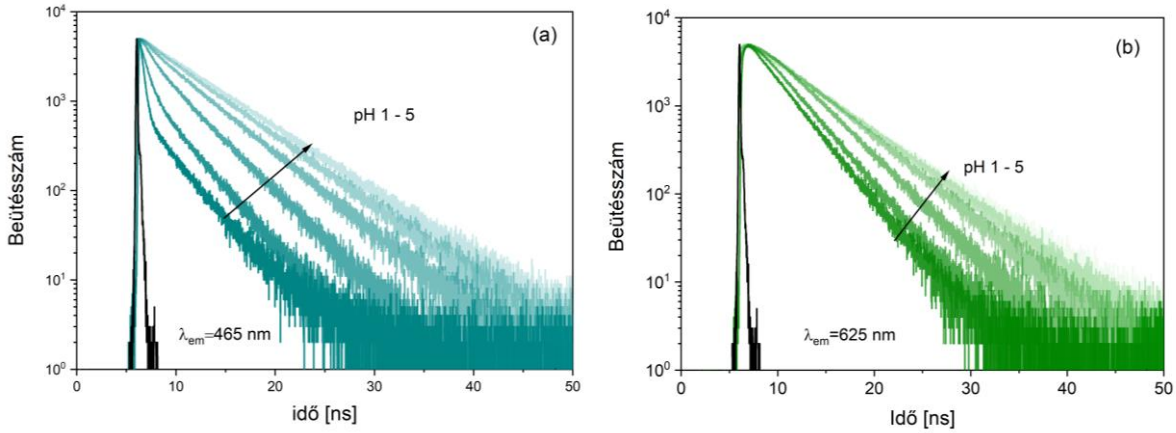
4.1. A kumarin 102 szolvatációja és protonálódása vizes közegben

A C102 protolízisének vizsgálata során felvettem a jelzőanyag abszorpciós és fluoreszcenciaszínképét különböző savasságú oldatokban (4. ábra). A semleges molekula mellett a protonált kumarin is fluoreszcensnek bizonyult, az előbbi sávja 493-nél, az utóbbié 532 nm-nél jelent meg. A pH függő spektrumokból meghatároztam a savi disszociációs állandót, az abszorpciós színképekből pK_a=1,61, a fluoreszcenciaszínképekből p$K_{a,F}$=2,19 értéket kaptam. Ez arra utal, hogy a vegyület gerjesztett állapotban bázikusabb karakterű, mint alapállapotban.

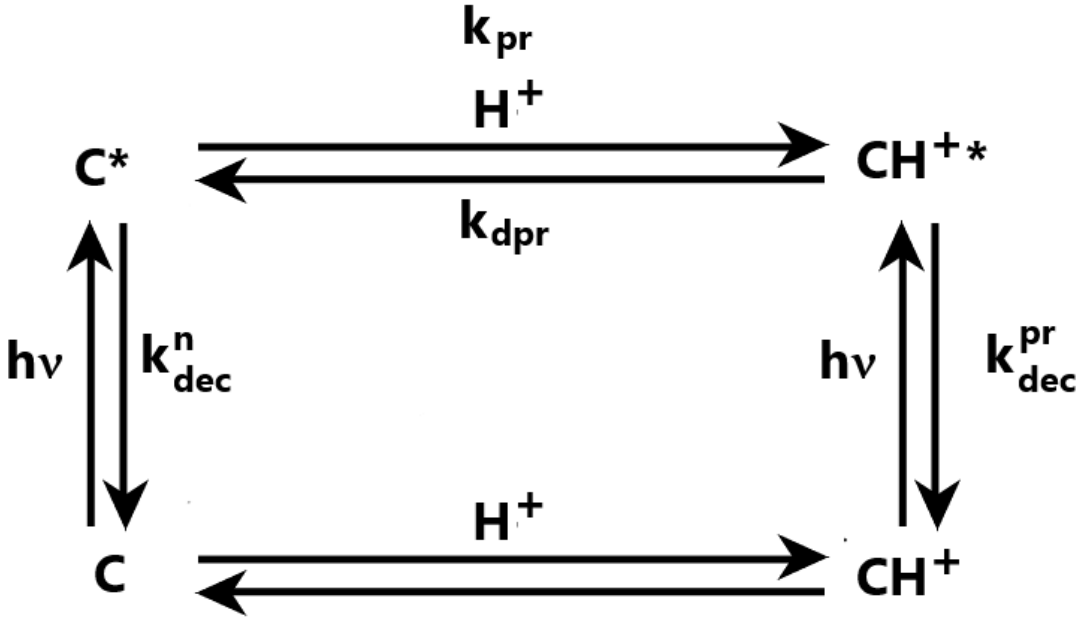


4. ábra: A kumarin 102 vegyület abszorpciós (a) és emissziós (b) spektruma különböző pH-értékeken, fekete és piros színnel jelölve az illesztésből nyert protonált és deprotonált forma spektruma

A protolízis kinetikai vizsgálata céljából felvettem a fluoreszcencia lecsengési görbéket különböző pH-jú mintákban, az emissziót 465 nm-en és 625 nm-en detektálva (5. ábra). A 6. ábrán látható reakciósémát alapul véve, az adatokból illesztéssel meghatároztam a semleges és a protonált C102 dezaktíválódásának sebességi állandóját (k_{dec}^{n}, k_{dec}^{pr}), továbbá a gerjesztett festék protonálódásának és a fordított reakciónak a sebességi állandóját (k_{pr}, k_{dpr}). Az eredmények alapján a protonálódás és a deprotonálódás is viszonylag gyors, a gerjesztett állapotú élettartamok pedig viszonylag hosszúak, ezért erősen savas oldatokban a gerjesztett állapotú protontranszfer közel jut az egyensúlyi reakcióhoz.



5. ábra: A C102 vegyület lecsengési görbéjének pH-függése 465 (a) és 625 nm-es (b) hullámhosszokon detektálva



6. ábra: A C102 gerjesztésének és protonálódásának sematikus rajza

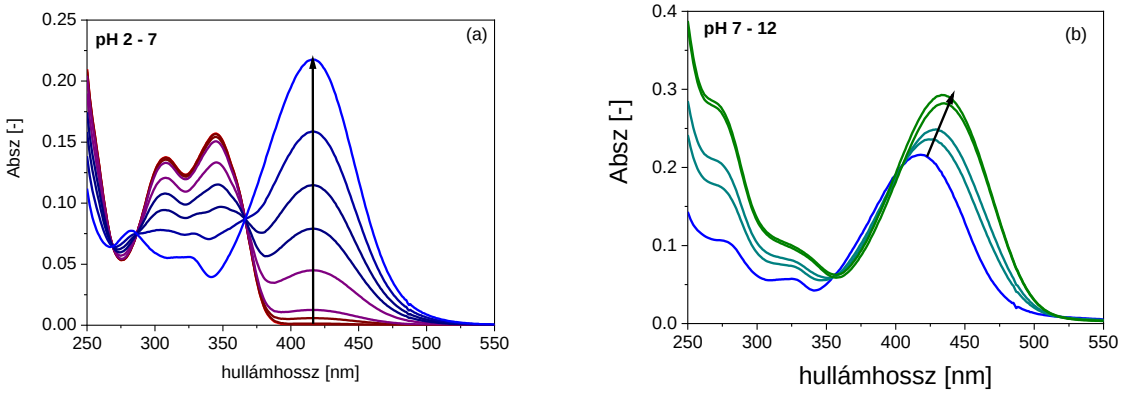
A protonálódási és deprotonálódási sebességi együtthatók hányadosa megadja a gerjesztett állapotbeli protonálódás egyensúlyi állandóját, amire így $K_{pr}^{*} = \frac{k_{pr}}{k_{dpr}} = 117\ \mathrm{M}^{-1}$ adódik. Ez jól egyezik a fluoreszcenciaszínképekből kapott $K_{a,F} = 155\ \mathrm{M}^{-1}$ értékkel, megerősítve, hogy a C102 erősen savas oldatokban fluoreszcenciaszínképei inkább a gerjesztett állapotú egyensúlyi koncentrációkat tükrözik.

A színképek értelmezéséhez kvantumkémiai számításokat is végeztünk. A számítások azt valószínűsítették, hogy vizes közegben az alapállapotú C102-nek olyan komplexe dominál, melyben a vízmolekula hidrogénhíddal a C102 karbonilcsoportjához kötődik. Gerjesztett állapotban ez a komplex elbomlik. A számított és a kísérleti spektumokból együtt a protonált forma szerkezetére is következtetni lehet. Valószínű, hogy a protonálódás az alapállapotú C102 aminocsoportján történik, míg gerjesztett állapotú molekulának a karbonilcsoportján. Ez a szerkezeti változás okozhatja a protonált C102 tapasztalt szokatlanul nagy Stokes-eltolódását.

4.2. 4'-dietilamino-3-hidroxiflavon vizsgálata vizes oldatban és aceton-víz elegyben

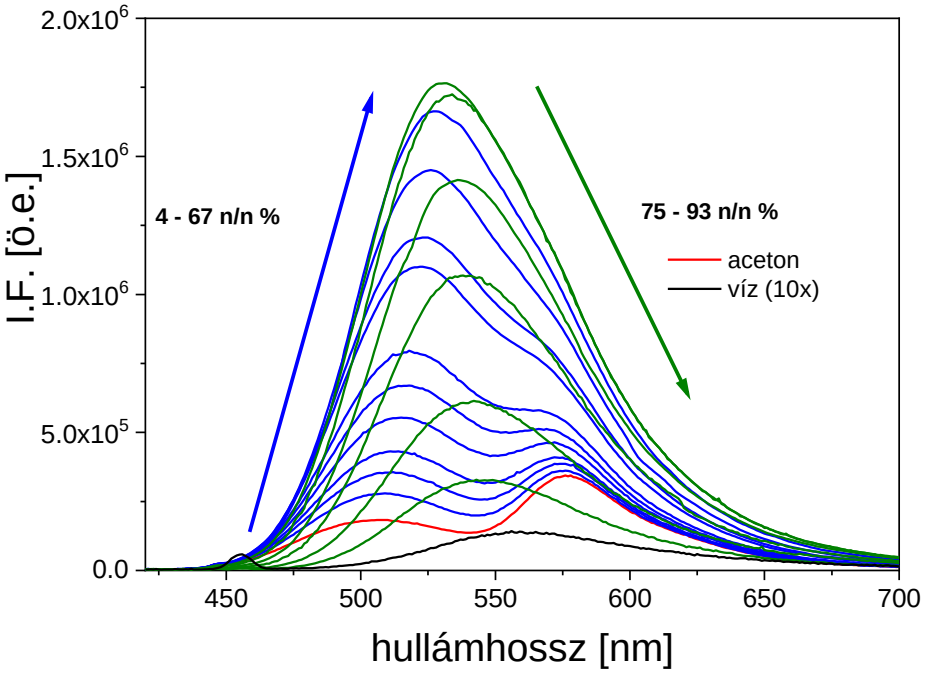
Dolgozatom következő fejezetében a FET sav-bázis egyensúlyaival foglalkoztam, illetve a vegyület vízkomplexének fotofizikai és termodinamikai tulajdonságait igyekeztem feltárni.

Abszorpciós spektrumokból (7. ábra) meghatároztam vizes oldatban a vegyület két savi disszociációs állandóját. A protonált aminocsoport disszociációjára pK_{a1}=4,50, a fenolos hidroxicsoport disszociációjára pK_{a2}=9,70 értéket kaptam. Meghatároztam a protonált, a semleges és az anionos specieszek kvantumhatásfokát és élettartamát. Förster-ciklussal megbecsültem a gerjesztett állapotú savi disszociációs állandó értékét, az eredmény pK_{a2}*=8,05 volt, tehát a gerjesztett molekulában a fenolos hidroxicsoport savassága erősebb.



7. ábra: A FET abszorpciós spektruma a pH függvényében

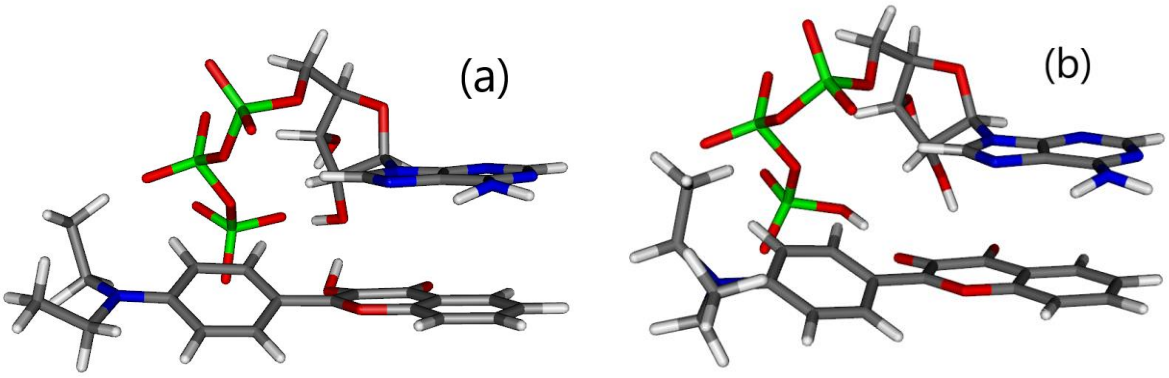
Vizsgáltam a FET-víz komplex tulajdonságait aceton-víz elegyben. Acetonban alacsony vízkoncentráció mellett a fluoreszcencia nő, ami olyan FET-víz komplextől származik, melyben a vízmolekula nem lép kölcsönhatásba a többi víz molekulával. A víz koncentrációját növelve kioltás tapasztalható, ekkor a FET kölcsönhat a vízmolekulákból álló hidrogénkötéses klaszterrel. Meghatároztam a vegyület vízzel alkotott komplexének egyensúlyi állandóját ($K=4{,}5\cdot10^{-2}$ M^{-1}), és a komplex fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjét ($\Phi_{FET\cdot H2O}=0{,}45$), ami sokszorosa a vízben mért $\Phi_{FET\cdot(H2O)n}$ ~ 0,001 értéknek.



8. ábra: A FET fluoreszcenciaszínképe aceton-víz elegyekben

Elméleti számításokkal vizsgáltuk a szabad FET molekulában, a FET-aceton és a FET-víz komplexben lejátszódó ESIPT reakciót. Az eredmények szerint az ESIPT mind a három modellrendszerben energiacsökkenéssel jár, de a vízkomplexben ennek mértéke kisebb, mint az acetonkomplexben, vagy a szabad FET molekulában. Továbbá, a gerjesztett állapotú FET-víz komplexben az intramolekuláris hidrogén-kötés gyengébb, az intermolekuláris hidrogénkötés viszont erősebb, mint az alapállapotú komplexben. Mindkét hatás az ESIPT folyamat ellenében hat.

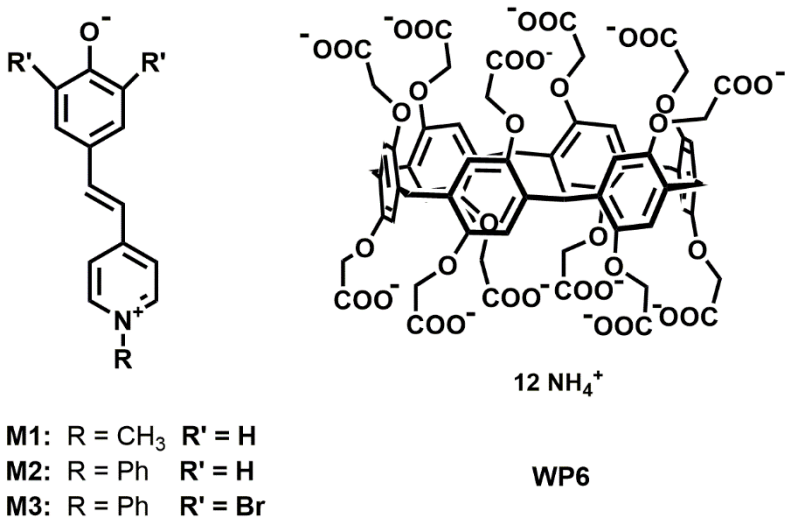
Vizsgáltuk a FET nukleotidszenzorként való alkalmazásának lehetőségét. ATP-t adva a FET vizes oldatához, a gerjesztési spektrumban új sáv jelent meg, az emissziós spektrumban az intenzitás növekedett. Elméleti számítások alapján feltételezhető, hogy a spektrális változásokat gerjesztett állapotú intermolekuláris protontranszfer okozza a FET hidroxicsoportjáról az ATP terminális foszfátcsoportjára (9. ábra). A feltevés mellett szól az is, hogy a hidroxilcsoporthoz tartozó pK_a nagyobb a FET gerjesztett állapotában, mint alapállapotában.



9. ábra: FET:ATP komplex szerkezete alap- (a) és gerjesztett állapotban (b).

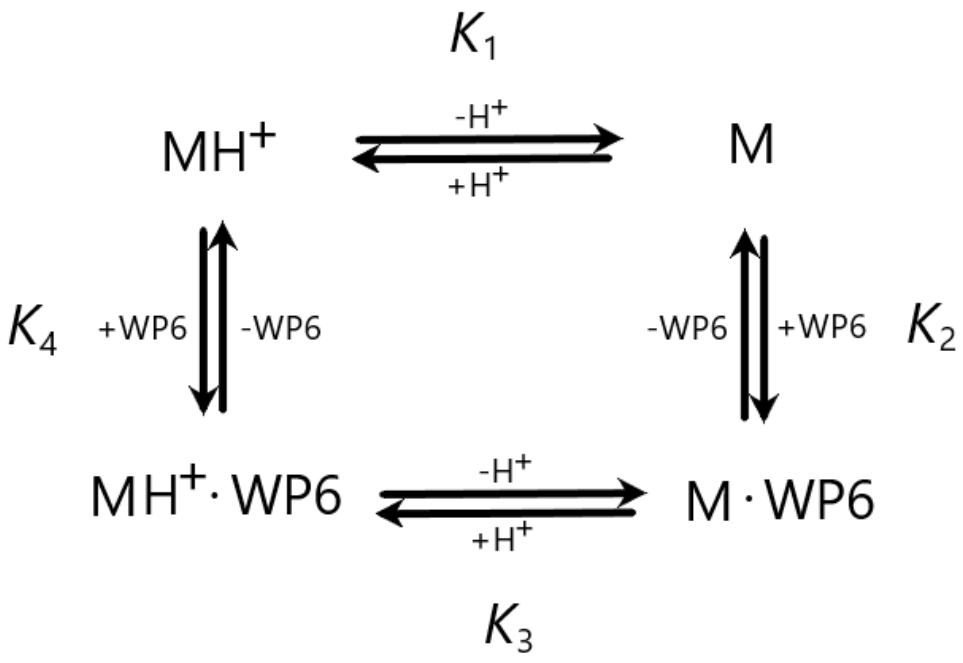
4.3. Brooker-merocianinnak és származékainak komplexképzése WP6 makrociklussal

A Brooker-merocianinnak és két új származékának (10. ábra) meghatároztam a savas disszociációs állandóit, majd komplexképzésüket tanulmányoztam a WP6 vízoldható pillérarén makrociklussal. Kísérleti módszerként abszorpciós spektroszkópiát használtam. Várakozásunk szerint a fenilszubsztituensek M2-ben és M3-ban megnövelik a komplexképző hajlamot, a brómszubsztituensek miatt pedig M3 savasabb jellegű lesz, mint M1 és M2.



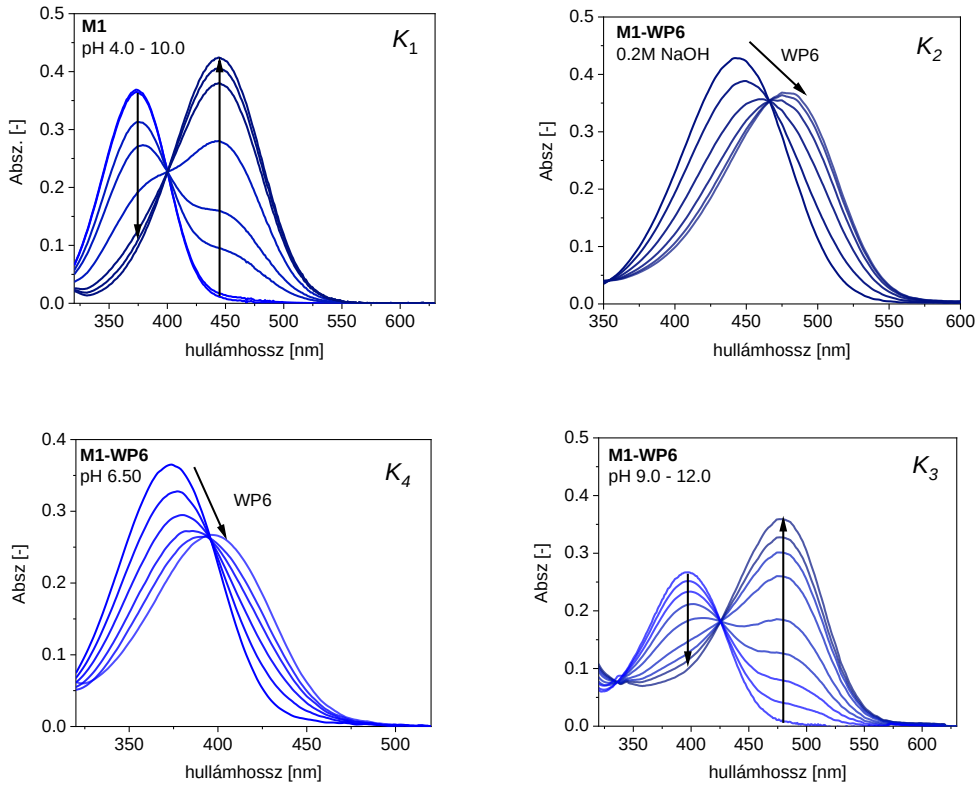
10. ábra: A vizsgált merocianin festékek és pillér[6]arén szerkezeti képlete

A festék-makrociklus rendszer négy egyensúllyal írható le, melyek a 11. ábrán látható ciklikus séma szerint tárgyalhatók. A makrociklussal mind a fenolos (K_4), mind az ikerionos forma komplexet képez (K_2), továbbá a szabad festék (K_1) és a komplex is jellemezhető egy-egy sav-bázis egyensúllyal (K_3).



11. ábra: A merocianin-pillérarén rendszerek reakciósémája

Az M1-WP6 rendszer abszorpciós spektrumai a 12. ábrán láthatók.

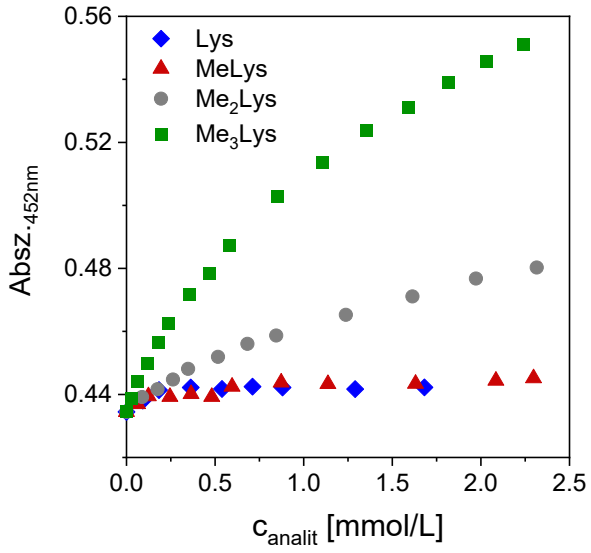


12. ábra: Az M1-WP6 rendszer egyensúlyi reakcióit jellemző abszorpciós spektrumok

Mindhárom merocianinnak a protonált formája stabilabb komplexet képez az anionos WP6 makrociklussal, mint az ikerionos merocianinok, a K_4 kötési állandók rendre egy

nagyságrenddel nagyobbak, mint a K_2 értékek. A komplexek pK_a értéke 1-1.6 egységgel nagyobb, mint a szabad merocianinoké. A savasság gyengülését az okozhatja, hogy a komplexekben a merocianinok elektronszívó piridiniumcsoportok pozitív töltését leárnyékolja a negatív töltésű pillérarén.

Az M3:WP6 rendszer esetében a komplex pK_a értéke közel állt a fiziológiás értékhez (pK_3=5,99), így ezt a rendszert választottuk, hogy kipróbáljuk indikátorkiszorításos assay-ként. Analitként a lizint (Lys) és metil-szubsztituált származékait (MeLys, Me_2Lys és Me_3Lys) választottuk. A kísérletek azt mutatták, hogy a Lys és MeLys egyáltalán nem tudta kiszorítani az M3-at a makrociklusból. A Me_2Lys hatására kismértékű kiszorítás történ ugyan, de a Me_3Lys esetén a változás sokkal markánsabb, szemmel látható volt. Az abszorbanciaváltozásokat az M3 jelzővegyület elnyelési maximumában az 13. ábra szemlélteti.



13. ábra: Az M3-WP6 elegy abszorbanciájának változása az analit koncentrációjának függvényében

Az M1-WP6 rendszer esetében az abszorpciós spektroszkópiai kísérleteket kiegészítettük fluoreszcenciás mérésekkel. Mind a pK_{a1} és pK_{a3} savi disszociációs állandókra, mind a K_2 és K_4 komplexstabilitási állandókra hasonló értéket kaptunk, mint az abszorpciós spektrumokból. Ennek alapján merocianin és a víz közötti protontranszfer, és a merocianin komplexképzése WP6-tal lassú folyamatok az emisszió időskáláján, a fluoreszcenciaszínképek az alapállapotú specieszek koncentrációját tükrözik. M1 fluoreszcenciaintenzitása megnő a komplexképzés hatására, ami alapján érdemes lehet ilyen típusú komponensekből álló fluoreszcenciás kémiai szenzort tervezni.

5. Tézispontok

1. Abszorpciós és fluoreszcencia-kísérletek alapján megállapítottam, hogy a C102 kumarinszármazék gerjesztett állapotban bázikusabb jellegű, mint alapállapotban, valamint hogy a protonált forma Stokes-eltolódása szokatlanul nagy. Elméleti számításaink megerősítették a C102 fotobázikus jellegét, és rámutattak arra, hogy a nagy Stokes-eltolódás szerkezeti változásból ered: alapállapotban a C102 aminocsoportja protonálódik, míg gerjesztett állapotban a karbonilcsoportja. [S3]

2. Időfelbontásos fluoreszcencia-mérésekkel meghatároztam a semleges és a protonált C102 fluoreszcencia-élettartamát, továbbá a protonfelvétel és -leadás sebességi állandóit. Mivel a két speciesz gerjesztett élettartama hosszú, a protonátadás pedig mindkét irányban gyors, igazoltam, hogy a gerjesztett állapotú protontranszfer közel egyensúlyi folyamat. [S3]

3. Fluoreszcencia-kísérletekkel igazoltam, hogy vizes oldatban a 4'-dietilamino-3-hidroxiflavon (FET) gerjesztett állapotú intramolekuláris protontranszfer (ESIPT) reakciója gátolt. Ezt az eredményt megerősítették az elméleti számítások, amelyek szerint az ESIPT a hidratált FET molekulában is energiacsökkenéssel jár, de ennek mértéke kisebb, mint az acetonban szolvatált, vagy a szabad molekulában. [S2]

4. Megállapítottam, hogy aceton-víz elegyekben kis vízkoncentrációknál a FET erős N* fluoreszcenciát mutat, majd nagyobb vízkoncentrációknál a fluoreszcencia gyengül. Ennek magyarázata, hogy kis vízkoncentrációknál, ahol a vízmolekulák nagyrészt diszpergálva vannak, a FET és a víz 1:1 sztöchiometriájú komplexet képez, míg nagyobb vízkoncentrációknál a FET már vízklaszterekkel hat kölcsön, ami kioltást okoz. [S2]

5. Igazoltam, hogy a FET ATP-vel komplexet képez, ami fluorimetriásan követhető. A FET gerjesztési színképében új sáv jelenik meg, elméleti számítások alapján ez a gerjesztett FET molekula és az ATP tetraanion közötti protontranszferre vezethető vissza. [S4]

6. Abszorpciós spektroszkópiai vizsgálatokkal igazoltam, hogy az M1-M3 Brooker-típusú merocianinok protonált (fenolos) és ikerionos (fenolát) formája is komplexet képez az anionos WP6 pillérarén makrociklussal. Fiziológiás pH-n, az M1:WP6 és az M2:WP6 elegyekben főleg a protonált merocianinok és azok komplexei vannak jelen, míg a dibróm-szubsztituált M3 és WP6 elegyében az erősen szolvatokróm ikerionos merocianin és annak komplexe dominál. Az M3:WP6 komplex spektroszkópiai és protolitikus tulajdonságai kedvezőek ahhoz, hogy indikátor kiszorításos (ID) szenzorként alkalmazzuk. Kísérletileg igazoltam, hogy az M3:WP6 komplex kolorimetriás ID szenzorként működik, amellyel trimetil-lizint lehet szelektíven kimutatni. [S1]

6. Alkalmazási lehetőségek

A kumarinvázas vegyületeket széleskörben alkalmazzák próbavegyületként mind az anyagtudományban, mind a mikroszkópos képalkotásban, köszönhetően nagy kvantumhatásfokuknak és Stokes-eltolódásuknak. A kumarin 102-es próba protonált formájának vizsgálatával, protolízis folyamatának részletes feltárásával lehetőség nyílik arra, hogy a jövőben szélesebb pH-tartományban alkalmazzák ezt a vegyületet próbamolekulaként.

A 4'-dietilamino-3-hidroxiflavon többlépéses protonfelvételének jellemzése ugyancsak hozzájárul ahhoz, hogy biológiai és más víztartalmú minták esetében precízebben értelmezhetőek legyenek az eredmények. Az aceton-víz elegy tanulmányozása során megfigyelhető volt, hogy már kis mennyiségű víz is jelentősen befolyásolja az emissziót, így a módszer akár víz kimutatására is alkalmas lehet aprotikus poláris oldószerekben.

A Brooker-merocianin és származékainak abszorpciós és emissziós spektruma erősen függ a közeg polaritásától. Ez a kivételes tulajdonságuk lehetőséget ad arra, hogy egy makrociklussal alkotott komplexe ID/FID szenzoroként színtelen vegyületek kimutatására alkalmas legyen. Ilyen kolorimetriás szenzort fejlesztettünk a makrociklusok egy új családjának tagjával, a WP6 felhasználásával. Az M3:WP6 komplex alkalmas volt a trimetil-lizin szelektív detektálására, így a jövőben analitikai alkalmazása is elképzelhető.

7. Közlemények

7.1. Az értekezés alapját képező folyóirat-közlemények

[S1] Hessz, D.; Bádogos, S.; Bojtár, M.; Bitter, I.; Drahos, L.; Kubinyi, M. Complexes of carboxylato pillar[6]arene with Brooker-type merocyanines: Spectral properties, pKa shifts and the design of a displacement assay for trimethyl lysine *Spectrochim. Acta A* **2021**, *252*, 119455. DOI: 10.1016/j.saa.2021.119455. IF: 4,098; I: 0, FI: 0.

[S2] Hessz, D.; Bojtár, M.; Mester, D.; Szakács, Z.; Bitter, I.; Kállay, M.; Kubinyi, M. Hydrogen bonding effects on the fluorescence properties of 4′-diethylamino-3-hydroxyflavone in water and water-acetone mixtures *Spectrochim. Acta A* **2018**, *203*, 96.
DOI: 10.1016/j.saa.2018.05.104. IF: 2,880; I: 6, FI: 6.

[S3] Hessz, D., Hégely, B., Kállay, M., Vidóczy, T., Kubinyi, M. Solvation and protonation of coumarin 102 in aqueous media: A fluorescence spectroscopic and theoretical study *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 5238.
DOI: 10.1021/jp504496k. IF: 2,775; I: 8, FI: 7.

[S4] Bojtár, M.; Janzsó-Berend, P. Z.; Mester, D.; Hessz, D.; Kállay, M.; Kubinyi, M.; Bitter, I. An uracil-linked hydroxyflavone probe for the recognition of ATP *Beilstein J. Org. Chem.* 2018, *14*, 747.
DOI: 10.3762/bjoc.14.63. IF: 2,330; I: 5, FI: 2.

7.2. Az értekezéshez nem kapcsolódó folyóirat-közlemények

[S5] Paudics, A.; Hessz, D.; Bojtár, M; Gyarmati, B.; Szilágyi, A.; Kállay, M.; Bitter, I.; Kubinyi, M. Binding modes of a phenylpyridinium styryl fluorescent dye with cucurbiturils *Molecules*, **2020**, *21*, 5111.
DOI: 10.3390/molecules25215111. IF: 3,267; I: 0, FI: 0.

[S6] Szakács, Z.; Bojtár, M.; Hessz, D.; Rousseva, S.; Bitter, I.; Drahos, L.; Hilbers, M.; Zhang, H.; Kállay, M.; Kubinyi, M. Strong ion pair charge transfer interaction of 1,8-naphthalimide-bipyridinium conjugates with basic anions - towards the development of new type of turn-on fluorescent anion sensors *New J. Chem.*, **2019**, *43*, 6666.
DOI: 10.1039/c9nj00382g. IF: 3,069; I: 2, FI: 2.

[S7] Rapi, Z.; Nemcsók, T.; Grün, A.; Pálvölgyi, Á.; Samu, G.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Kállay, M.; Keglevich, G.; Bakó, P. Asymmetric cyclopropanation reactions catalyzed by carbohydrate-based crown ethers *Tetrahedron* **2018**, *74*, 3512.
DOI: 10.1016/j.tet.2018.04.087. IF: 2,377; I: 9, FI: 5.

[S8] Bagi,P.; Juhász, K.; Kállay, M.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Fogassy, E.; Keglevich, G. Preparation of enantiopure 1-isopentyl-3-methyl-3-phospholene 1-oxide via the formation of diastereomeric complexes *Heteroatom Chem.* **2018**, *29*, e21411.
DOI: 10.1002/hc.21411. IF: 1,137; I: 0, FI: 0.

[S9] Szakács, Z.; Rousseva, S.; Bojtár, M.; Hessz, D.; Bitter, I.; Kállay, M.; Hilbers, M.; Zhange, H.; Kubinyi, M. Experimental evidence of TICT state in 4-piperidinyl-1,8-naphthalimide - a kinetic and mechanistic study *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 10155.
DOI: 10.1039/c7cp08555a. IF: 3,906; I: 13, FI: 12.

[S10] Bojtár M.; Kozma, J.; Szakács, Z.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Bitter, I. Pillararene-based fluorescent indicator displacement assay for the selective recognition of ATP *Sens. Actuat. B* **2017**, *248*, 305
DOI: 10.1016/j.snb.2017.03.163. IF: 5,401; I: 31, FI: 28.

[S11] Szakács, Z; Bojtár, M.; Drahos, L.; Hessz, D.; Kállay, M.; Vidóczy, T.; Bitter, I.; Kubinyi, M. The kinetics and mechanism of photooxygenation of 4′-diethylamino-3-hydroxyflavone *Photochem. Photobiol. Sci.* **2016**, *15*, 219.
DOI: 10.1039/c5pp00358j. IF: 2,267; I: 8, FI: 6.

[S12] Bojtár, M.; Paudics, A; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Bitter, I. Amino acid recognition by fine tuning the association constants: tailored naphthalimides in pillar[5]arene-based indicator displacement assays *RSC Adv.* **2016**, *6*, 86269.
DOI: 10.1039/c6ra15003a. IF: 3,289; I: 21, FI: 17.

[S13] Rapi, Zs.; Grün, A.; Nemcsok, T.; Hessz, D.; Kállay, M.; Kubinyi, M.; Keglevich, G.; Bakó P. Crown ether derived from D-glucose as an efficient phase-transfer catalyst for the enantioselective Michael addition of malonates to enones *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 960.
DOI: 10.1016/j.tetasy.2016.08.010. IF: 2,108; I: 13, FI: 5.

[S14] Bojtár, M.; Szakács, Z.; Hessz, D.; , Bazso, F.L.; Kállay, M.; Kubinyi, M.;Bitter, I. Supramolecular FRET modulation by pseudorotaxane formation of a ditopic stilbazolium dye and carboxylato-pillar[5]arene *Dyes Pigm.* **2016**, *133*, 415.
DOI: 10.1016/j.dyepig.2016.06.030. IF: 4,055; I: 9, FI: 7.

[S15] Bagi, P., Karaghiosoff K., Czugler, M., Hessz, D., Kállay, M., Kubinyi, M., Szilvasi, T., Pongrácz, P., Kollár, L.; Timári, I., Kövér, K. E., Drahos, L., Fogassy, E., Keglevich, G. Synthesis, Characterization, and Application of Platinum(II) Complexes Incorporating Racemic and Optically Active 4-Chloro-5-Methyl-1-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydrophosphinine Ligand *Heteroatom Chem.* **2016,** *27*, 91.
DOI: 10.1002/hc.21305. IF: 1,076; I: 11, FI: 4.

[S16] Bojtár, M., Szakács, Z., Hessz, D., Kubinyi, M., Bitter, I. Optical spectroscopic studies on the complexation of stilbazolium dyes with a water soluble pillar[5]arene *RSC Adv.* **2015**, *5*, 26504.
DOI: 10.1039/c4ra14809f. IF: 3,708; I: 18, FI: 12.

[S17] Bagi, P., Fekete, A., Kállay, M., Hessz, D., Kubinyi, M., Holczbauer, T., Czugler, M., Fogassy, E., Keglevich, G. A case study on the resolution of the 1-i-Butyl-3-methyl-3-phospholene 1-oxide via diastereomeric complex formation using TADDOL derivatives and via diastereomeric coordination complexes formed from the calcium salts of O,O′-Diaroyl-(2R,3R)-tartaric acids *Heteroatom Chem.* **2015**, *26*, 79.
DOI: 10.1002/hc.21218. IF: 1,257; I: 11, FI: 0.

[S18] Bagi, P., Fekete, A., Kállay, M., Hessz, D., Kubinyi, M., Holczbauer, T., Czugler, M., Fogassy, E., Keglevich, G. Resolution of 1-n-butyl-3-methyl-3-phospholene 1-oxide with TADDOL derivatives and calcium salts of O,O'-dibenzoyl-(2R,3R)- or O,O'-di-p-toluoyl-(2R,3R)-tartaric acid *Chirality* **2014**, *26*, 174.
DOI: 10.1002/chir.22293. IF: 1,724; I: 11, F: 3.

[S19] Bagi, P., Kállay, M., Hessz, D., Kubinyi, M., Holczbauer, T., Czugler, M., Fogassy, E., Keglevich, G. Resolution of 1-n-propoxy-3-methyl-3-phospholene 1-oxide by diastereomeric complex formation using TADDOL derivatives and calcium salts of O,O′-dibenzoyl-(2R,3R)- or O,O′-di-p-toluoyl-(2R,3R)-tartaric acid *Tetrahedron: Asymmetry* **2014**, *25*, 318.
DOI: 10.1016/j.tetasy.2014.01.002. IF: 2,165; I: 14, FI: 5.

[S20] Czirok, J. B., Bojtár, M., Hessz, D., Baranyai, P., Drahos, L., Kubinyi, M., Bitter, I. Aminonaphthalimide-based dipodal imidazolium/triazole receptors for fluorescent sensing of nucleoside polyphosphates *Sens. Actuators, B* **2013**, *182*, 280.
DOI: 10.1016/j.snb.2013.02.046. IF: 3,840; I: 15, FI: 11.

[S21] Faigl, F., Mátravölgyi, B., Erdélyi, Z., Pál, K., Hessz, D., Kubinyi, M.
Synthesis and resolution of 4,4,6,6-tetramethyl-4H,6H-pyrrolo[1,2-a][4,1] benzoxazepine-1,10-dicarboxylic acid *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2920.
DOI: 10.1016/j.tetasy.2010.12.005. IF: 2,484; I: 1, FI: 0.

7.3 Az értekezéshez kapcsolódó szóbeli és poszter előadások

[S22] Hessz Dóra, Hégely Bence, Kállay Mihály, Vidóczy Tamás, Kubinyi Miklós, A kumarin-102 fluoreszcens jelzőanyag fotofizikája vizes közegben, MTA Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottsági Ülése, Mátrafüred, 2014. november 6-7. (hazai előadás)

[S23] Hessz Dóra, Bojtár Márton, Mester Dávid, Kállay Mihály, Bitter István, Kubinyi Miklós, Nukleotidok meghatározása fluoreszcens szenzorokkal MKE 2. Nemzetközi Konferencia Hajdúszoboszló 2015. 08. 31. – 09. 02. (hazai előadás)

[S24] Hessz Dóra, Bojtár Márton, Hégely Bence, Rapi Zsolt, Kubinyi Miklós, Bitter István, Kállay Mihály, Bakó Péter, Fluoreszcens jelzőmolekulák és molekuláris szenzorok alkalmazásai Oláh György Doktori Iskola PhD konferencia Budapest, 2016. 02. 11. (hazai előadás)

[S25] D. Hessz, M. Bojtár, D. Mester, Z. Szakács, I. Bitter, M. Kállay, M. Kubinyi Supramolecular receptors for the fluorescence sensing of ATP, 14th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry, June 2-6, 2019, Lecce, Italy (nemzetközi poszterelőadás)