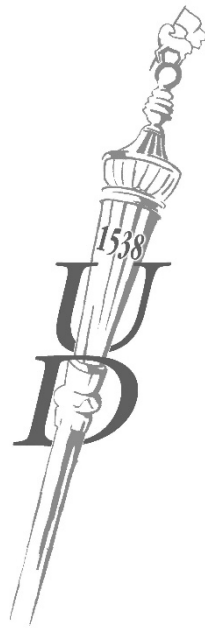


Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**MÁGNESES MAGREZONANCIA (NMR) MÓDSZEREK
TOVÁBBFEJLESZTÉSE SZÉLESSÁVÚ HOMONUKLEÁRIS
PROTONLECSATOLÁS BEÉPÍTÉSÉVEL**

Timári István

Témavezető: Dr. E. Kövér Katalin, egyetemi tanár



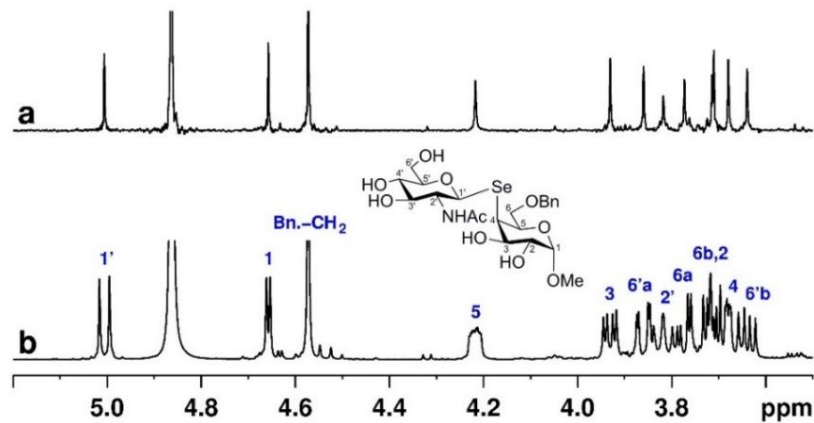
DEBRECENI EGYETEM
Kémiai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2016.

I. BEVEZETÉS, CÉLKITÚZÉSEK

A mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia az egyik leghatékonyabb eszköz molekulák szerkezetének, dinamikai jellemzőinek és egymással való kölcsönhatásának vizsgálatára, ennek köszönhetően napjainkra egy rendkívül széleskörűen használt módszerré vált a legtöbb kémiai tudományterületen és a szerkezeti biológiában egyaránt. Ahhoz, hogy megbízható információt kapjunk NMR méréseinkből, jó minőségű spektrumokra van szükségünk. A jel-zaj arány (érzékenység) és a felbontás az a két paraméter, amely leginkább meghatározza egy NMR spektrum kvalitását. Az utóbbi két évtizedben az elektronikai fejlesztéseknek, az egyre erősebb terű mágnesek készítésének és a hűtött mérőfejek bevezetésének köszönhetően több, mint egy nagyságrenddel nőtt az NMR mérések érzékenysége. Ezzel ellentétben a spektrális felbontás hozzávetőlegesen csak a kétszeresére növekedett, ha a jelenleg és a 20 évvel ezelőtt elérhető legnagyobb terű mágneseket vesszük összehasonlításunk alapjául. Azaz továbbra is nagy szükség mutatkozik olyan NMR módszerek kidolgozására, amelyek képesek növelni a felbontást.

Jelátfedésekből származó problémákkal leggyakrabban ^1H spektrumok esetén szembesülhetünk, ami egyrészt a korlátozott kémiai eltolódás tartománynak (~10-15 ppm), másrészt a proton-proton csatolások okozta kiterjedt felhasadásoknak köszönhető. Ezzel szemben egy szélessávú homonukleáris protonlecsatolt ^1H spektrumban – ahogy az 1. ábrán is látható – minden egyes multipllett szinguletté egyszerűsödik, aminek számos előnye van. Egyrészt a spektrális felbontás jelentősen nő, a jelátfedések megszűnnek vagy minimálisra csökkennek, aminek kiemelt jelentősége van makromolekulák és többkomponensű rendszerek (pl. diasztereomer keverékek, reakciótermék-elegyek, metabolitok) spektrumainak kiértékelésénél. Másrészt a spektrumok egyszerűsödésével az adott kísérletben mérendő NMR paraméterek (pl. kémiai eltolódások, heteronukleáris csatolási állandók) meghatározása egyszerűbbé és pontosabbá válik. Harmadrészt az automata csúskeresés is hatékonyabb a szingulett jeleken, és ezáltal bonyolult spektrumok kiértékelése jelentősen gyorsítható.



1. ábra Szélessávú homonukleáris protonlecsatolt ^1H (a) és normál ^1H (b) spektrum összehasonlítása

A potenciális előnyök miatt már az ezredforduló előtti évtizedekben is többféle módszert javasoltak a szélessávú homonukleáris protonlecsatolás megvalósítására. Mivel ezek mindegyike csak egy kétdimenziós spektrum indirekt dimenziójában alkalmazható, valamint többnyire bonyolult adatfeldolgozást igényel, és néhány közülük jelentős érzékenységvesztéssel is jár, így nem terjedtek el a gyakorlatban. Az utóbbi évek ötleteinek és fejlesztéseinek köszönhetően a szélessávú homonukleáris protonlecsatolás a reneszánszát éli. Az új módszerek egyik legnagyobb előnye, hogy többdimenziós, protondetektálású kísérletek direkt, akvizíciós dimenziójában is alkalmasak a jelek egyszerűsítésére és a felbontás növelésére.

2012-ben kutatócsoportunk is bekapcsolódott az NMR spektroszkópia ezen dinamikus fejlődő kutatási területébe, azzal a céllal, hogy megfelelő, szélessávú homonukleáris protonlecsatolást eredményező impulzusszekvencia-elemek beépítésével növeljük az irodalomból ismert NMR kísérletek teljesítőképességét. Ennek megfelelően munkánk során egyrészt célul tűztük ki olyan, szélessávú protonlecsatolt—heteronukleáris korrelációs kísérletek kidolgozását, melyek megnövekedett felbontású spektrumot eredményeznek, és ugyanakkor könnyűvízes minták mérése esetén hatékony vízelnyomást biztosítanak. Másrészt egy- illetve többkötéses heteronukleáris csatolási állandók meghatározására alkalmas módszerek továbbfejlesztését terveztük szélessávú protonlecsatolás beépítésével. Célunk volt a kidolgozott módszerek alkalmazása szénhidrátszármazékok heteronukleáris csatolási állandóinak mérésére.

II. KÍSÉRLETI RÉSZ

Minden kísérletet 11,75 Teslán (500 MHz protonfrekvencia) egy BBI (szélessávú, protondetektálású (inverz)) vagy TXI (hármaszonancia, protondetektálású) z-gradienses mérőfejjel felszerelt, Bruker Avance II típusú NMR spektrométeren (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Németország) végeztünk. A nyers adatokat a TopSpin 2.1 vagy 3.0 (Bruker Biospin GmbH, Karlsruhe, Németország) szoftverrel dolgoztuk fel, értékeltük ki és ábráztuk.

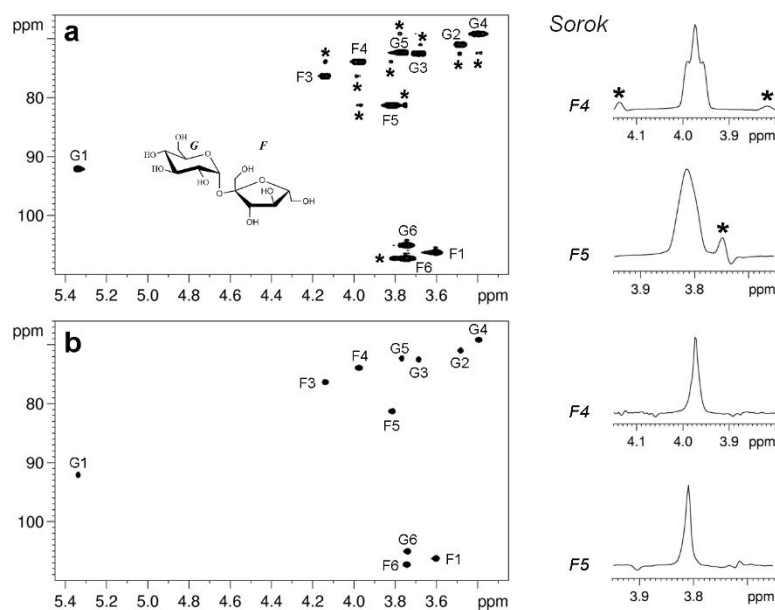
III. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A klasszikus HSQC kísérletet továbbfejlesztettük BIRD^d szekvencián alapuló szélessávú homonukleáris protonlecsatolás beépítésével.

A HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*) kísérlet impulzusszekvenciájába, a protondetektálás elé beépítettük a szélessávú homonukleáris protonlecsatolást eredményező BIRD^d (*Bilinear Rotation Decoupling*) impulzusblokkot és egy nem-szelektív 180°-os protonimpulzust. Az új, interferogram-típusú adatgyűjtési stratégiát alkalmazó kísérlet impulzusainak időzítését és fázisprogramját egyszerű szénhidrátszármazékokon végzett tesztmérések segítségével tökéletesítettük. A kapott spektrumokban a korrelációs csúcsok jellegzetes multipllett struktúrája szinguletté egyszerűsödik (2. ábra).

A kifejlesztett módszert összehasonlítottuk az egyetlen korábban közölt, hasonló elven működő, protonlecsatolt HSQC kísérlettel, és azt találtuk, hogy módszerünk robusztusabb, mint elődje, azaz kevésbé érzékeny az egykötéses heteronukleáris csatolási állandótól függő INEPT (*Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer*)/BIRD idők változtatására.

Megmutattuk, hogy az alkalmazott BIRD^d modul további előnye, hogy hatékonyan kiszűri a szoros csatolásból adódó, nem kívánt korrelációs csúcsokat a spektrumból (2. ábra).



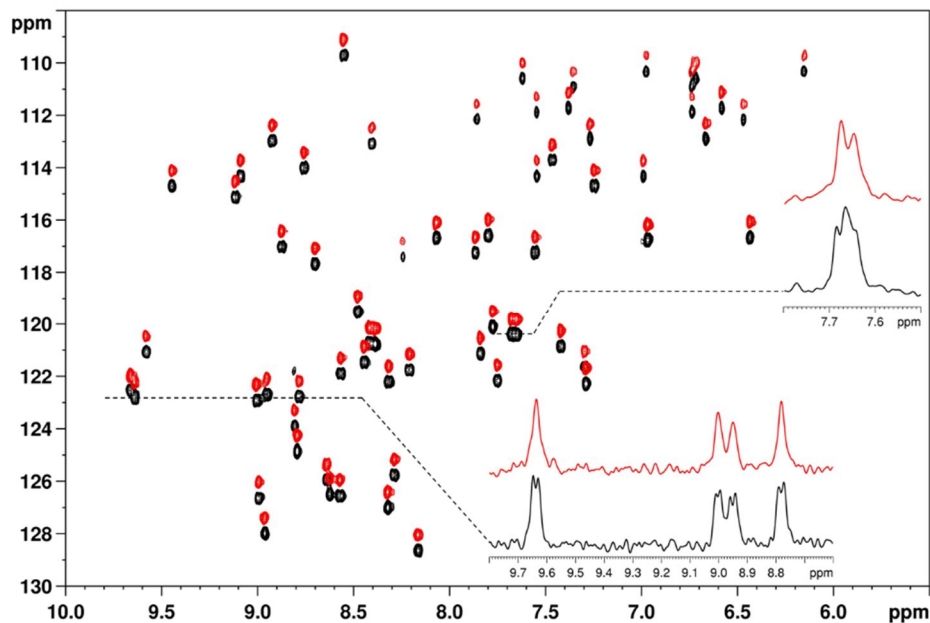
2. ábra Szacharóz ¹H-¹³C HSQC (a) és szélessávú protonlecsatolt ¹H-¹³C HSQC (b) spektrumának illetve kiemelt sorainak összehasonlítása. Csillagokkal (*) jelöltem a szoros csatolásból adódó, nem kívánt korrelációs csúcsokat.

A BIRD és a „perfect echo” szekvenciaelemek kombinálásával kidolgoztunk egy új, „perfectBIRD”-nek elnevezett impulzusblokkot, amely a geminális proton-proton csatolás hatását is képes kiszűrni a HSQC spektrumból. Ezáltal kiküszöböltük a BIRD-lecsatolás legkomolyabb hátrányát.

2. Kifejlesztettünk egy olyan ún. valós idejű szélessávú protonlecsatolt, érzékenységnövelt ^1H - ^{15}N HSQC kísérletet, amely könnyűvízben oldott minták vizsgálatára is alkalmas.

Körültekintő optimalizálást követően a BIRD impulzusszekvencia-elem és az azt követő 180° -os protonimpulzus körüli megfelelő hosszúságú és erősségű gradiens párok beépítésével oldottuk meg a vízelnyomást a valós idejű akvizíciós stratégiát alkalmazó, szélessávú protonlecsatolt, érzékenységnövelt ^1H - ^{15}N HSQC módszer esetén.

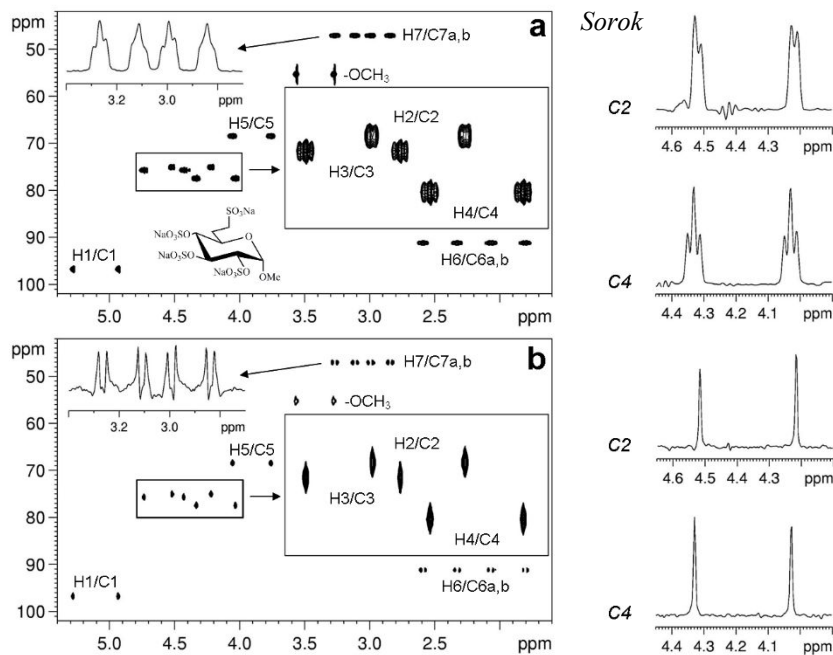
Megmutattuk, hogy a kifejlesztett kísérlet még természetes ^{15}N -izotópgyakoriságú minták esetén is alkalmas H_2O -ben oldott, kisméretű fehérjék ^1H - ^{15}N HSQC spektrumának felvételére (3. ábra).



3. ábra Jelöletlen PAF^{D55N} fehérje (55 aminosavegység) érzékenységnövelt ^1H - ^{15}N HSQC (fekete, alsó) és valós idejű protonlecsatolt, érzékenységnövelt ^1H - ^{15}N HSQC (piros, felső) spektrumának összehasonlítása könnyűvízes közegben (95 % H_2O / 5 % D_2O). A nitrogén dimenzióban eltoltam a protonlecsatolt spektrumot a jobb összehasonlíthatóság kedvéért.

3. Interferogram-típusú, szélessávú protonlecsatolt CLIP/CLAP-HSQC módszereket fejlesztettünk ki egykötéses heteronukleáris csatolási állandók meghatározására.

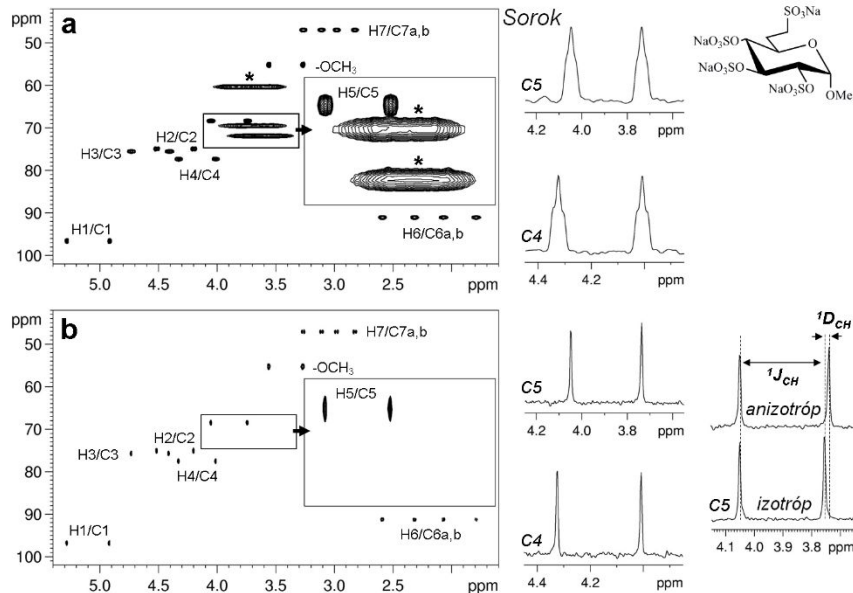
A BIRD^d impulzusblokk és egy nem-szelektív 180°-os protonimpulzus megfelelő beépítésével szélessávú homonukleáris protonlecsatolást értünk el az egykötéses heteronukleáris csatolások mérésére széles körben használt CLIP/CLAP-HSQC (*C*Lean *I*n-*P*hase/*C*Lean *A*nti-*P*hase) kísérletekben. Az új NMR módszer alkalmazásával az egykötéses heteronukleáris csatolási állandók meghatározása két szingulett jel közötti frekvenciakülönbség mérésére egyszerűsödik, és ezáltal pontos, megbízható eredményt ad komplex proton-proton csatolási hálózattal rendelkező molekulák esetén is (4. ábra).



4. ábra ¹H-¹³C CLIP-HSQC (a) és szélessávú protonlecsatolt ¹H-¹³C CLIP-HSQC (b) spektrum illetve kiemelt sorainak összehasonlítása

Tanulmányoztuk a kifejlesztett kísérletek toleranciáját az egykötéses heteronukleáris csatolási állandótól függő INEPT/BIRD idők változtatásával szemben, és azt találtuk, hogy a tényleges csatolási állandóhoz képest egy kb. ± 30-40 Hz-es intervallumnak megfelelően változtatva azokat a jelintenzitás ugyan csökken, de a jelalak tiszta abszorpciós fázisú marad. Ez előre vetítette a módszer alkalmazhatóságát gyengén orientált közegben is, ahol a csatolási állandók szélesebb tartományba eshetnek.

Anizotróp körülmények között végzett méréseinkkel bizonyítottuk, hogy a szélessávú protonlecsatolt CLIP/CLAP-HSQC módszer jól használható a fontos térszerkezeti és/vagy dinamikai információt hordozó, maradék dipoláris csatolási állandók (RDC) meghatározására is (5. ábra).



5. ábra ^1H - ^{13}C CLIP-HSQC (a) és szélessávú protonlecsatolt ^1H - ^{13}C CLIP-HSQC (b) spektrum illetve kiemelt sorainak összehasonlítása anizotróp közegben. Az orientáló közeg korrelációs csúcsait csillagokkal jelöltem. A jobb alsó sarokban látható ábra a $^1D_{\text{CH}}$ maradék dipoláris csatolási állandó (RDC) meghatározását mutatja be egy példán keresztül.

A perfectBIRD szekvenciaelemet beépítve a CLIP/CLAP-HSQC kísérletekbe olyan NMR módszert hoztunk létre, amellyel az egykötéses heteronukleáris csatolások meghatározása a diasztereotóp metilén hidrogénatomok esetén is két csúcsmaximum közötti frekvenciakülönbség mérésére egyszerűsödik.

4. Kidolgoztuk a CLIP/CLAP-HSQC módszer valós idejű akvizíciós stratégiát alkalmazó szélessávú protonlecsatolt változatát.

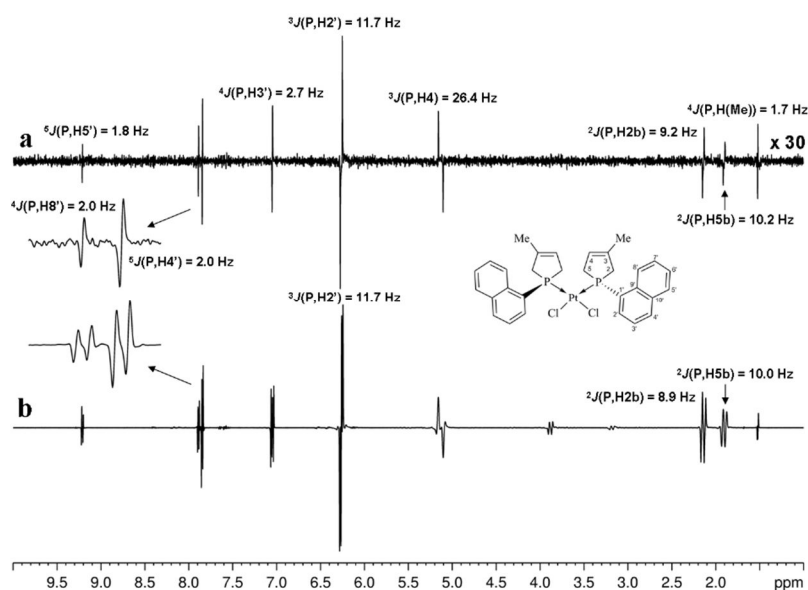
A detektálás ideje alatt, „valós időben” alkalmazott, „kapuzott” lecsatolással jelentősen felgyorsítottuk a kísérleteket az interferogram-típusúakhoz képest. Ezáltal olyan homonukleárisan lecsatolt módszert hoztunk létre, melynek érzékenysége nem kisebb – sőt kedvező esetekben nagyobb – mint a normál, protoncsatolt módszeré.

Tapasztalataink alapján a valós idejű, kapuzott protonlecsatolás a rezonanciajelek besugárzási frekvenciától való távolságától, valamint az alkalmazott BIRD időtől függően jelentősen torzíthatja a heteronukleáris csatolási állandókat. Igazoltuk, hogy ez a probléma minimalizálható a detektálás alatti impulzusok összetett fázisléptetésével.

Az optimalizált fázisprogramú kísérletekkel mért heteronukleáris csatolási állandók besugárzási frekvenciától és BIRD időtől való függését szisztematikusan tanulmányoztuk, és a módszert alkalmasnak találtuk kisméretű fehérjék egykötéses, ^1H - ^{15}N csatolási állandóinak meghatározására, akár gyengén orientált közegben is.

5. Interferogram-típusú, rétegszelekción alapuló, szélessávú protonlecsatolt CPMG-HSQMBC módszert fejlesztettünk ki többkötéses heteronukleáris csatolási állandók pontos meghatározására.

A kutatócsoportunkban korábban kidolgozott CPMG-HSQMBC (*Carr-Purcell-Meiboom-Gill Heteronuclear Single Quantum Multiple-Bond Correlation*) módszer impulzusszekvenciájába, a protondetektálás elé, beépítettünk egy, a Zangger-Sterk (ZS) rétegszelekciós elven alapuló blokkot, amellyel a proton-proton csatolások okozta, nem kívánt felhasadásokat kiszűrtük a kapott jelekből. Ezáltal a többkötéses heteronukleáris csatolási állandók meghatározása – komplex proton-proton csatolási hálózattal rendelkező molekulák esetén is – egy ellenfázisú dublett két csúcsmaximuma közötti frekvenciakülönbség mérésére egyszerűsödik (6. ábra).



6. ábra Szélessávú protonlecsatolt ^1H - ^{31}P CPMG-HSQMBC (a) és ^1H - ^{31}P CPMG-HSQMBC (b) spektrum összehasonlítása

Foszfortartalmú modellvegyületeken megmutattuk, hogy az új módszerrel a többkötéses heteronukleáris csatolási állandók széles tartományban (~ 2-26 Hz) egyszerre, egyetlen kísérletben mérhetők (6. ábra).

Diglikozil-(di)szelenidekben olyan ${}^nJ_{\text{SeH}}$ értékeket sikerült meghatározni, amelyeket a korábbi módszerrel – a proton-proton csatolások okozta jeltorzulások, -kioltások miatt – nem lehetett megtenni.

Többkötéses ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ csatolási állandók mérésére is vizsgáltuk a ZS-lecsatolt CPMG-HSQMBC kísérlet alkalmazhatóságát. Megállapítottuk, hogy a módszer a rétegszelekcióval járó jelentős érzékenysévesztésnek és a ${}^{13}\text{C}$ izotóp kis természetes gyakoriságának köszönhetően csak megfelelően nagy koncentrációjú minták ${}^nJ_{\text{CH}}$ -inak meghatározására használható.

6. Kidolgoztuk a Zangger-Sterk szélessávú protonlecsatolt CPMG-HSQMBC módszer valós idejű akvizíciós stratégiát alkalmazó változatát.

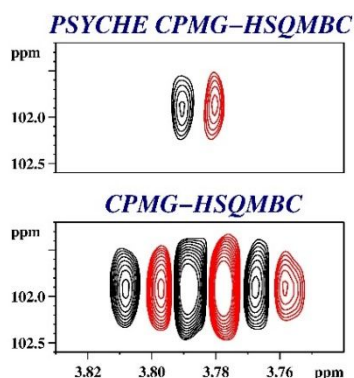
A valós idejű, kapuzott lecsatolás alkalmazásával jelentősen felgyorsítottuk a kísérletet az interferogram-típusúhoz képest. Megállapítottuk a módszer korlátait, nevezetesen, hogy a detektálás alatti lecsatolás vonalszélesedést eredményez, és esetenként zavaró jelek rontják a spektrumok tisztaságát.

Megmutattuk, hogy a vizsgált molekula spinrendszere/jelhozrendelése ismeretében a módszer érzékenysége jelentősen növelhető többfrekvencián gerjesztő formázott impulzus használatával. Ebben az esetben ugyanis minden egyes protonjelet a minta több rétegéből is detektálhatunk, amennyiben a besugárzási frekvenciákat megfelelően - a véletlen visszacsatolásokat elkerülve - választjuk meg.

Tapasztalataink szerint a valós idejű Zangger-Sterk CPMG-HSQMBC módszer csak akkor alkalmazható többkötéses heteronukleáris csatolási állandók meghatározására, ha a vizsgált molekulában a csatoló partnerek proton rezonanciafrekvencia-különbsége legalább 90-100 Hz. Ebben az esetben relaxációs szempontból megfelelően rövid (max. ~10 ms) szelektív impulzus használható a detektálást megszakító, proton-proton lecsatolási blokkokban.

7. A CPMG-HSQMBC kísérletet továbbfejlesztettük interferogram-típusú akvizíciós stratégiát alkalmazó PSYCHE szélessávú protonlecsatolás beépítésével.

A PSYCHE (*Pure Shift Yielded by CHirp Excitation*) impulzusblokk megfelelően beillesztve a CPMG-HSQMBC szekvenciába hatékonyan megszünteti a proton-proton csatolások okozta felhasadásokat a mért spektrumokban, így a kapott tiszta ellenfázisú dublettekből a többkötéses heteronukleáris csatolási állandók közvetlenül és pontosan meghatározhatók (7. ábra).

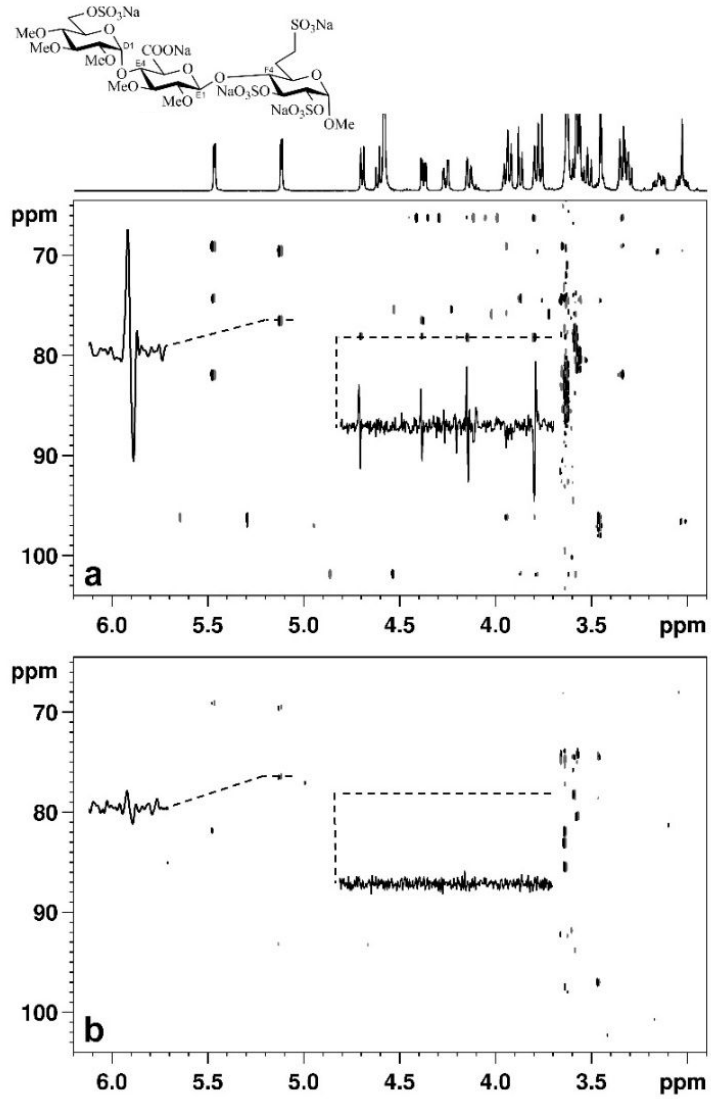


7. ábra PSYCHE ^1H - ^{13}C CPMG-HSQMBC és ^1H - ^{13}C CPMG-HSQMBC 2D spektrum egy kiemelt, reprezentatív korrelációjának összehasonlítása

A PSYCHE módszer hatalmas előnye a Zangger-Sterk kísérletekhez képest, hogy a homonukleáris lecsatolás hatékonysága gyakorlatilag független a vizsgált molekula spinrendszerétől, és emiatt a kísérlet paramétereit nem szükséges mintáról mintára optimalizálni, azaz rutinszerűen és általánosan használható.

Olyan molekulák esetén, amikor a csatoló partnerek proton rezonanciafrekvencia-különbsége kisebb, mint 50 Hz, a PSYCHE CPMG-HSQMBC érzékenysége akár egy nagyságrenddel nagyobb lehet, mint az interferogram-típusú ZS CPMG-HSQMBC kísérleté (8. ábra). A valós idejű változat pedig ilyen molekulák esetén egyáltalán nem alkalmazható, amint erre korábban (6. tézispont 3. bekezdés) már utaltam.

A PSYCHE CPMG-HSQMBC módszer hatékonyságát $^nJ_{\text{CH}}$ és $^nJ_{\text{SeH}}$ értékek különféle szénhidrátokban történő mérésével demonstráltuk. Ezek a csatolási állandók értékes információt hordoznak az oligoszacharidok glikozidos kötés körüli konformációjáról. Hagyományos, protoncsatolt HSQMBC multiplettekből való meghatározásuk hosszadalmas, számítógépes illesztést igényel, vagy egyáltalán nem lehetséges.



8. ábra Heparin-analóg triszacharid PSYCHE ^1H - ^{13}C CPMG-HSQMBC (a) és ZS ^1H - ^{13}C CPMG-HSQMBC (b) 2D spektrumának illetve kiemelt sorainak összehasonlítása

IV. AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

Kutatómunkánk során bekapcsolódtunk az NMR spektroszkópia azon dinamikusan fejlődő, módszerfejlesztéssel foglalkozó kutatási területébe, ahol a különféle módon szélessávú homonukleáris protonlecsatolást lehetővé tevő impulzus-szekvenciaelemek megfelelő beépítésével növeljük az irodalomból ismert NMR kísérletek teljesítőképességét. Munkánk eredményeként egyrészt megnövelt felbontást biztosító, a jelátfedéseket megszüntető, ezáltal automata csúskeresést is lehetővé tevő, szélessávú protonlecsatolt heteronukleáris módszereket fejlesztettünk ki. Ezek az új kísérletek számottevően segítik bonyolult molekulák és többkomponensű rendszerek (pl. diasztereomer keverékek, reakciótermék-elegyek, metabolitok) NMR spektrumainak jelhozzárendelését, ezáltal szerkezetigazolását, -felderítését. Másrészt olyan új, egy- és többkötéses heteronukleáris csatolási állandók pontos és közvetlen meghatározására jól használható NMR kísérleteket dolgoztunk ki, amelyek a szélessávú protonlecsatolás alkalmazásával a nem kívánt, proton-proton csatolások okozta vonalfelhasadásokat megszüntetik a spektrumokban. A heteronukleáris csatolási állandókat kiterjedten használják szerves vegyületek szerkezetfelderítésére és konformációanalízisére.

Összességében az általunk továbbfejlesztett NMR módszerek a korábbiaknál pontosabb és megbízhatóbb adatokat szolgáltatnak a molekuláris szerkezet és a biológiai hatás összefüggéseinek felderítéséhez, és ezáltal hozzájárulhatnak új gyógyszerhatóanyagok tervezéséhez és kifejlesztéséhez.

V. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

Angol nyelvű közlemények nemzetközi folyóiratban:

1. István Timári, Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Christina M. Thiele, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Accurate determination of one-bond heteronuclear coupling constants with “pure shift” broadband proton-decoupled CLIP/CLAP-HSQC experiments**

Journal of Magnetic Resonance, **2014**, 239, 130-138. (IF.: 2,510)

2. Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, István Timári, Volker Schmidts, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele: **“Perfecting” pure shift HSQC: full homodecoupling for accurate and precise determination of heteronuclear couplings**

Chemical Communications, **2014**, 50, 15702-15705. (IF.: 6,834)

3. István Timári, Tünde Z. Illyés, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, László Szilágyi, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Precise measurement of long-range heteronuclear coupling constants by a novel broadband proton-proton - decoupled CPMG-HSQMBC method**

Chemistry - A European Journal, **2015**, 21, 3472-3479. (IF. (2014.): 5,731)

4. Péter Király, Ralph W. Adams, Liladhar Paudel, Mohammadali Foroozandeh, Juan A. Aguilar, István Timári, Matthew J. Cliff, Mathias Nilsson, Péter Sándor, Gyula Batta, Jonathan P. Waltho, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris: **Real-time pure shift ¹⁵N HSQC of proteins: a real improvement in resolution and sensitivity**

Journal of Biomolecular NMR, **2015**, 62, 43-52. (IF. (2014.): 3,141)

5. István Timári, László Szilágyi, Katalin E. Kövér: **PSYCHE CPMG–HSQMBC: An NMR spectroscopic method for precise and simple measurement of long-range heteronuclear coupling constants**

Chemistry - A European Journal, **2015**, 21, 13939-13942. (IF. (2014.): 5,731)

6. István Timári, Lukas Kaltschnee, Mária H. Raics, Felix Roth, Nicholle G. A. Bell, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Dušan Uhrín, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele, Katalin E. Kövér: **Real-time broadband proton-homodecoupled CLIP/CLAP-HSQC for automated measurement of heteronuclear one-bond coupling constants**

RSC Advances, bírálóat alatt/under review

Az értekezés témájához szorosan nem kapcsolódó közlemények

Angol nyelvű közlemények nemzetközi folyóiratban:

7. Mihály Herczeg, László Lázár, Zsuzsanna Bereczky, Katalin E. Kövér, István Timári, János Kappelmayer, András Lipták, Sándor Antus, Anikó Borbás: **Synthesis and anticoagulant activity of bioisosteric sulfonic acid analogues of the antithrombin-binding pentasaccharide domain of heparin**

Chemistry - A European Journal, **2012**, 18, 10643-10652. (IF.: 5,831)

8. Attila Borics, Jayapal Reddy Mallareddy, István Timári, Katalin E. Kövér, Attila Keresztes, Géza Tóth: **The effect of Pro² modifications on the structural and pharmacological properties of endomorphin-2**

Journal of Medicinal Chemistry, **2012**, 55, 8418-8428. (IF.: 5,614)

9. Magdolna Csávás, Tamás Demeter, Mihály Herczegh, István Timári, Katalin E. Kövér, Pál Herczegh, Anikó Borbás: **Rapid synthesis of self-assembling 1,2-thiomannobioside glycoconjugates as potential multivalent ligands of mannose-binding lectins**

Tetrahedron Letters, **2014**, 55, 6983-6986. (IF.: 2,379)

10. Péter Bagi, Kinga Juhász, István Timári, Katalin E. Kövér, Dávid Mester, Mihály Kállay, Miklós Kubinyi, Tibor Szilvási, Péter Pongrácz, László Kollár, Konstantin Karaghiosoff, Mátyás Czugler, László Drahos, Elemér Fogassy, György Keglevich: **A study on the optical resolution of 1-isopropyl-3-methyl-3-phospholene 1-oxide and its use in the synthesis of borane and platinum complexes**

Journal of Organometallic Chemistry, **2015**, 797, 140-152. (IF. (2014.): 2,173)

11. Péter Bagi, Konstantin Karaghiosoff, Mátyás Czugler, Dóra Hessz, Mihály Kállay, Miklós Kubinyi, Tibor Szilvási, Péter Pongrácz, László Kollár, István Timári, Katalin E. Kövér, László Drahos, Elemér Fogassy, György Keglevich: **Synthesis, characterization and application of platinum(II) complexes incorporating racemic and optically active 1-phenyl-1,2,3,6-tetrahydrophosphinine ligand**

Heteroatom Chemistry, **2016**, 27, 91-101. (IF. (2014.): 1,076)

12. Péter L. Parajdi-Losonczy, Attila C. Bényei, Éva Kováts, István Timári, Tereza R. Muchova, Jana Kasparkova, Péter Buglyó: **[(η^6 -*p*-cym)Ru(H₂O)₃]²⁺ binding capability of aminohydroxamates – a solution and solid state study**

Journal of Inorganic Biochemistry, **2016**, 160, 236-245. (IF. (2014.): 3,444)

13. Krisztina Fehér, István Timári, Kinga Rákosi, János Szolomájer, Tünde Z. Illyés, Ádám Bartók, Zoltán Varga, György Panyi, Gábor K. Tóth, Katalin E. Kövér: **Probing pattern and dynamics of disulfide bridges using synthesis and NMR of an ion channel blocker peptide toxin with multiple diselenide bonds**

Chemical Science, **2016**, 7, 2666-2673. (IF. (2014.): 9,211)

Magyar nyelvű közlemények:

14. Timári István, Komáromi István, Fehér Krisztina, E. Kövér Katalin: **Heparin-analóg pentaszacharidok szerkezete és antitrombin III fehérjével való kölcsönhatása: NMR vizsgálatok és elméleti számítások**

Pro Scientia Aranyérmesek XI. Konferenciája, Konferenciakötet, Budapest, 2013, 119-123.

15. Gróf Pál, Knapp Krisztina, Schlosser Gitta, Nagy Tamás Milán, Timári István, Borics Attila, Kövér Katalin, Csík Gabriella, Majer Zsuzsa: **Diszulfidhidat tartalmazó ciklikus peptidok UV-besugárzásának hatására keletkező szabadgyökök és szulfhidril-csoportok detektálása**

Magyar Tudomány, **2016**, 177, 50-54.

Az értekezés témakörében tartott előadások

1. Timári István, Illyés Tünde Zita, Szilágyi László, E. Kövér Katalin: **Információnyerés információvesztéssel avagy a szélessávú proton-lecsatolás alkalmazásai**

MTA NMR Munkabizottsági Ülés, 2013. május 9-10., Pécs

2. István Timári, Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Tünde Zita Illyés, László Szilágyi, Christina M. Thiele, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Losing some sensitivity to gain more information or the novel applications of broadband proton-decoupling**

15th Austrian Chemistry Days, 2013. szeptember 23-26., Graz, Ausztria

3. Timári István: **Mágneses magrezonancia (NMR) módszerek fejlesztése szélessávú proton-lecsatolás beépítésével**

Debreceni Egyetem Hatvani István Szakkollégium Tavaszi Konferenciája, 2014. május 2-3., Debrecen

4. Timári István, Batta Gyula, E. Kövér Katalin: **Valós idejű szélessávú proton-lecsatolt, heteronukleáris NMR módszerek fejlesztése fehérjék vizsgálatára**

MTA Peptidkémiai Munkabizottsági Ülés, 2014. május 28-30., Balatonszemes

5. Timári István, E. Kövér Katalin: **Különbféle szélessávú protonlecsatolt NMR módszerek összehasonlítása: előnyök és hátrányok**

MTA NMR Munkabizottsági Ülés, 2014. október 2-3., Balatonszemes

6. Timári István, E. Kövér Katalin: **Mágneses magrezonancia (NMR) módszerek fejlesztése, avagy hogyan készül az „NMR-szimfónia”**

Pro Scientia Aranyérmesek XII. Konferenciája, 2014. november 6-8., Eger

7. Katalin E. Kövér, István Timári, Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Tünde Z. Illyés, László Szilágyi, Christina M. Thiele, Gareth A. Morris: **Precise measurement of heteronuclear coupling constants: novel applications of broadband proton-proton decoupling**

Magnetic Moments in Central Europe 2015, 2015. február 25 - március 1., Krynica-Zdrój, Lengyelország

Az értekezés témakörében bemutatott posztetek

1. István Timári, Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Christina M. Thiele, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Measuring one-bond heteronuclear coupling constants with improved resolution. Utilizing the potential of novel broadband proton-decoupled HSQC-based methods**

EUROMAR 2013 (European Magnetic Resonance Conference), 2013. június 30 - július 5., Hersonissos, Kréta, Görögország

2. István Timári, Zita Tünde Illyés, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, László Szilágyi, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Highly accurate measurement of long-range heteronuclear coupling constants with a novel broadband proton-decoupled CPMG-HSQMBC method**

EUROMAR 2013 (European Magnetic Resonance Conference), 2013. június 30 - július 5., Hersonissos, Kréta, Görögország

3. Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, István Timári, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele: **Pure Shift HSQC measurements with perfectBIRD decoupling – a method to decouple diastereotopic protons**

EUROMAR 2013 (European Magnetic Resonance Conference), 2013. június 30 - július 5., Hersonissos, Kréta, Görögország

4. Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, István Timári, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele: **Pure Shift HSQC Measurements with perfectBIRD Decoupling – a Method to Decouple Diastereotopic Protons**

35th FGMR Discussion Meeting and Joint Conference of the German, Italian and Slovenian Magnetic Resonance Societies, 2013. szeptember 9-12., Frauenchiemsee, Németország

5. Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, István Timári, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele: **Pure Shift HSQC measurements with perfectBIRD decoupling – a method to decouple diastereotopic protons**
SMASH 2013 (Small Molecule NMR Conference), 2013. szeptember 22-25., Santiago de Compostela, Spanyolország

6. István Timári, Gyula Batta, Katalin E. Kövér: **Real-time broadband proton-decoupled (pure shift) methods with efficient water suppression: sensitivity enhanced ^1H - ^{15}N HSQC and TROSY experiments of labelled and unlabelled proteins**
EUROMAR 2014 (European Magnetic Resonance Conference), 2014. június 29 - július 3., Zürich, Svájc

7. Lukas Kaltschnee, Andreas Kolmer, István Timári, Volker Schmidts, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Katalin E. Kövér, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele: **Applications of pure shift HSQC experiments with “perfectBIRD“ decoupling**
EUROMAR 2014 (European Magnetic Resonance Conference), 2014. június 29 - július 3., Zürich, Svájc

8. István Timári, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Tünde Z. Illyés, László Szilágyi, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Simple and precise measurement of heteronuclear coupling constants by novel broadband homonuclear decoupled NMR methods**
56th Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference (ENC), 2015. április 19-24., Pacific Grove, Kalifornia, USA

9. István Timári, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Tünde Z. Illyés, László Szilágyi, Gareth A. Morris, Katalin E. Kövér: **Broadband homonuclear decoupled CPMG-HSQMBC methods for the precise and direct measurement of long-range heteronuclear coupling constants**
Central European NMR Symposium, 2015. szeptember 28., Linz, Ausztria

10. István Timári, Lukas Kaltschnee, Mária H. Raics, Felix Roth, Nicholle G. A. Bell, Ralph W. Adams, Mathias Nilsson, Dušan Uhrín, Gareth A. Morris, Christina M. Thiele, Katalin E. Kövér: **Real-time broadband proton-homodecoupled CLIP/CLAP-HSQC for precise and automated measurement of heteronuclear one-bond coupling constants**
EUROMAR 2016 (European Magnetic Resonance Conference), 2016. július 3-7., Aarhus, Dánia



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/140/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Timári István
Neptun kód: NHD4T1
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10044234

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemény(ek) külföldi folyóiratban (5)

1. **Timári, I.**, Szilágyi, L., Kövér, K.E.: PSYCHE CPMG-HSQMBC: An NMR Spectroscopic Method for Precise and Simple Measurement of Long-Range Heteronuclear Coupling Constants. *Chem.-Eur. J.* 21 (40), 13939-13942, 2015. ISSN: 0947-6539.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201502641>
IF:5.731 (2014)
2. **Timári, I.**, Illyés, T.Z., Adams, R.W., Nilsson, M., Szilágyi, L., Morris, G.A., Kövér, K.E.: Precise Measurement of Long-Range Heteronuclear Coupling Constants by a Novel Broadband Proton-Proton-Decoupled CPMG-HSQMBC Method. *Chem.-Eur. J.* 21 (8), 3472-3479, 2015. ISSN: 0947-6539.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201405535>
IF:5.731 (2014)
3. Kiraly, P., Adams, R.W., Paudel, L., Foroozandeh, M., Aguilar, J.A., **Timári, I.**, Cliff, M.J., Nilsson, M., Sándor, P., Batta, G., Waltho, J.P., Kövér, K.E., Morris, G.A.: Real-time pure shift 15N HSQC of proteins: A real improvement in resolution and sensitivity. *J. Biomol. NMR.* 62 (1), 43-52, 2015. ISSN: 0925-2738.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10858-015-9913-z>
IF:3.141 (2014)



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: www.lib.unideb.hu



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



4. **Timári, I.**, Kaltschnee, L., Kolmer, A., Adams, R.W., Nilsson, M., Thiele, C.M., Morris, G.A., Kövér, K.E.: Accurate determination of one-bond heteronuclear coupling constants with "pure shift" broadband proton-decoupled CLIP/CLAP-HSQC experiments.
J. Magn. Reson. 239, 130-138, 2014. ISSN: 1090-7807.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmr.2013.10.023>
IF:2.51
5. Kaltschnee, L., Kolmer, A., **Timári, I.**, Schmidts, V., Adams, R.W., Nilsson, M., Kövér, K.E., Morris, G.A., Thiele, C.M.: "Perfecting" pure shift HSQC: full homodecoupling for accurate and precise determination of heteronuclear couplings.
Chem. Commun. 50 (99), 15702-15705, 2014. ISSN: 1359-7345.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C4CC04217D>
IF:6.834

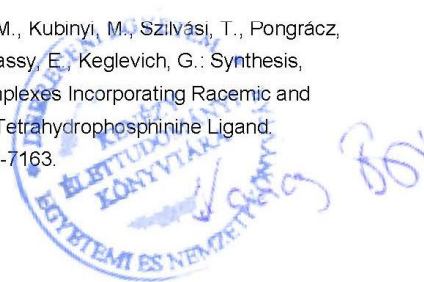
További Közlemények

Magyar nyelvű közlemény(ek) hazai folyóiratban (1)

6. Gróf P., Knapp K., Schlosser G., Nagy T.M., **Timári I.**, Borics A., Kövér K., Csík G., Májer Z.:
Diszulfidhidat tartalmazó ciklikus peptidok UV-besugárzásának hatására keletkező szabadgyökök és szulfhidril-csoportok detektálása.
Magyar Tud. 177 (1), 50-54, 2016. ISSN: 0025-0325.

Idegen nyelvű közlemény(ek) külföldi folyóiratban (7)

7. Bagi, P., Karaghiosoff, K., Czugler, M., Hesz, D., Kállay, M., Kubinyi, M., Szilyási, 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. 27 (2), 91-101, 2016. ISSN: 1042-7163.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/hc.21305>
IF:1.076 (2014)





DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



8. Parajdi-Losonczy, P.L., Béneyei, A.C., Kováts, É., **Timári, I.**, Muchova, T.R., Novohradsky, V., Kasparkova, J., Buglyó, P.: [(Eta6-p-cymene)Ru(H2O)3]2+ binding capability of aminohydroxamates: A solution and solid state study.
J. Inorg. Biochem. Epub ahead of print (2016) ISSN: 0162-0134.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.032>
IF:3.444 (2014)
9. Fehér, K., **Timári, I.**, Rákosi, K., Szolomájer, J., Illyés, T.Z., Bartók, Á., Varga, Z., Panyi, G., Tóth, G.K., Kövér, K.E.: Probing pattern and dynamics of disulfide bridges using synthesis and NMR of an ion channel blocker peptide toxin with multiple diselenide bonds.
Chem. Sci. 7, 2666-2673, 2016. ISSN: 2041-6520.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C5SC03995A>
IF:9.211 (2014)
10. Bagi, P., Juhász, K., **Timári, I.**, Kövér, K.E., Mester, D., Kállay, M., Kubinyi, M., Szilvási, T., Pongrácz, P., Kollár, L., Karaghiosoff, K., Czugler, M., Drahos, L., Fogassy, E., Keglevich, G.: A study on the optical resolution of 1-isopropyl-3-methyl-3-phospholene 1-oxide and its use in the synthesis of borane and platinum complexes.
J. Organomet. Chem. 797, 140-152, 2015. ISSN: 0022-328X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2015.08.013>
IF:2.173 (2014)
11. Csávás, M., Demeter, T., Herczeg, M., **Timári, I.**, Kövér, K.E., Herczegh, P., Borbás, A.: Rapid synthesis of self-assembling 1,2-thiomannobioside glycoconjugates as potential multivalent ligands of mannose-binding lectins.
Tetrahedron Lett. 55 (51), 6983-6986, 2014. ISSN: 0040-4039.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.10.104>
IF:2.379
12. Borics, A., Mallareddy, J.R., **Timári, I.**, Kövér, K.E., Keresztes, A., Tóth, G.: The Effect of Pro2 Modifications on the Structural and Pharmacological Properties of Endomorphin-2.
J. Med. Chem. 55 (19), 8418-8428, 2012. ISSN: 0022-2623.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jm300836n>
IF:5.614





DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



13. Herczeg, M., Lázár, L., Bereczky, Z., Kövér, K.E., **Timári, I.**, Kappelmayer, J., Lipták, A., Antus, S., Borbás, A.: Synthesis and Anticoagulant Activity of Bioisosteric Sulfonic-Acid Analogues of the Antithrombin-Binding Pentasaccharide Domain of Heparin.
Chem.-Eur. J. 18 (34), 10643-10652, 2012. ISSN: 0947-6539.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201201041>
IF:5.831

Magyar nyelvű konferencia közlemény(ek) (1)

14. **Timári I.**, Komáromi I., Fehér K., E. Kövér K.: Heparin-analóg pentaszacharidok szerkezete és antitrombin III fehérjével való kölcsönhatása: NMR vizsgálatok és elméleti számítások.
In: Pro Scientia Aranyérmesek XI. Konferenciája : Szeged, 2012. november 8-10. : előadások. Szerk.: Szöllősi László, Pro Scientia Aranyérmesek Társ., Budapest, 119-123, 2013. ISBN: 9789638828927

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 53,675

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 23,947

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2016.06.06.

