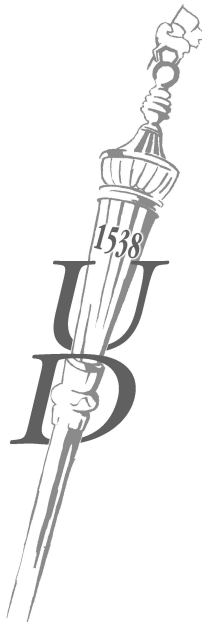


Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Biológiai jelentőségű vegyületek modern tömegspektrometriai vizsgálata

Kalmár-Biri Bernadett

Témavezető: *Dr. Kéki Sándor*



Debreceni Egyetem
Kémiai Tudományok Doktori Iskola
Debrecen, 2014.

I. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

A tömegspektrometria (MS) egyre szélesebb körben alkalmazott nagy érzékenységű analitikai módszer.

Tiszta anyagok és keverékek közvetlenül analizálhatók ezzel a technikával. A lágyionizációs módszereknek köszönhetően, a molekulák többnyire fragmentáció nélkül ionizálhatók. A nagy pontossággal mért tömeg/töltés (m/z) érték alapján, az ion töltésének ismeretében, az ismeretlen komponensek molekulatömegét határozhatjuk meg, és javaslatot tehetünk az összegképletére is. Szerkezeti információt azonban csak tandem MS (MS/MS) mérésekből nyerhetünk. Két analizátorral felszerelt tömegspektrométer esetén, az első analizátorral kiválasztjuk a vizsgálandó prekursoriont, amit egy ütközési cellában fragmentálunk, és a második analizátorral meghatározzuk a képződött fragmensionok m/z értékét. A megfelelő körülmények között felvett MS/MS spektrum lehetőséget nyújt ujjenyomat-szerű azonosításra is.

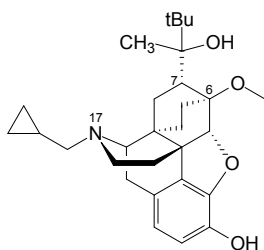
A folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria (LC-MS) az egyik legelterjedtebben használt műszeres analitikai módszerek közé tartozik. A mérések információtartalma többszöröse annak, mint amit a két technikával külön-külön kaphatunk. Nem csak minőségi, hanem mennyiségi meghatározásokra is használható. Azonban a vegyületek egyértelmű azonosítására még ez a módszer sem elegendő, hiszen a nem megfelelő elválasztási módszer esetén előfordulhat koelúció hasonló szerkezetű vegyületek között, amelyek molekulatömege is megegyezhet. Az LC-MS/MS technikát a minőségi azonosság megállapítására is használják, oly módon, hogy a retenciós idő és a molekulatömeg egyezése mellett, a vegyületre jellemző termékionok jelenlétét is vizsgálják. Mennyiségi meghatározáshoz az egyik legérzékenyebb és legspecifikusabb detektor.

Ehhez azonban ismerni kell a vizsgálandó vegyületek fragmentációs viselkedését. Céлом volt különböző biológiai jelentőségű vegyületek részletes fragmentációs vizsgálata. Kutatásaim során vizsgáltam a buprenorfint és szintézisének 4 közttermékét,

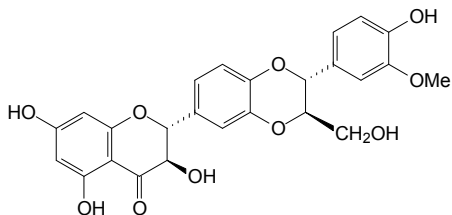
amelyek csak a kondenzált gyűrűs alapvázon lévő szubsztituensekben térnek el egymástól. A buprenorfin olyan félszintetikus opioid, amely a központi idegrendszerre ható részletes agonista, antagonist. Ugyanazon receptorhoz kötődik, mint a morfin, de hatása eltérő, és nem okoz függőséget. Nagyobb dózisban a morfin függőség kezelésére, kisebb dózisban fájdalomcsillapítóként használják.

A kutatócsoportunkban korábban új módszert dolgoztak ki a *Silybum marianum* (máriatövis) növény magvából a hatóanyagok kinyerésére. A kinyert keverék a szilimarín, amely fő komponensei a szilibinek (A és B) és a izoszilibinek (A és B), de kisebb mennyiségben más azonos összegképletű vegyületet is tartalmaz, úgymint a szilikrisztin A és B, a szilidianin, valamint a fő komponensek cisz izomerei. A komponensek elválasztására számos LC-MS módszert dolgoztak ki, és a komponensek fragmentációját is vizsgálták különböző ionizációs technikákkal. Céлом volt megvizsgálni a szilimarín komponensek fragmentációjának energiaszükségletét. A szilimarint főként májvédő, májregeneráló hatása miatt étrendkiegészítőnek használják. Egyik fő komponensének, a szilibinek anti-tumor hatását is bizonyították.

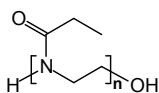
Doktori dolgozatom harmadik részében az előállított poli(2-etil-2-oxazolin) polimer karakterizálását követően, az ESI (elektroporlasztásos ionizáció) körülmények között képződő protonált ionok fragmentációs viselkedését tanulmányoztam. Ez a polimer élőkationos polimerizációval állítható elő, így a polimerizációs foka jól szabályozható. Biokompatibilitása és hőérzékenysége miatt számos alkalmazási területe lehet, például gyógyszer vivőanyagként használható.



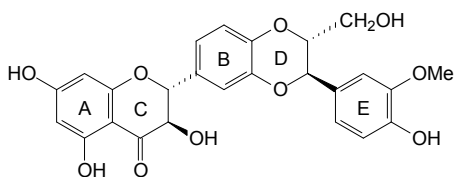
Buprenorfin



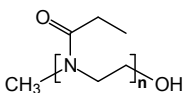
Szilibin A



H-pEtOx



Izoszilibin A



Me-pEtOx

1. ábra. A tanulmányozott vegyületek szerkezetei.

II. KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

A dolgozatban szereplő összes vegyület fragmentációs vizsgálatát Bruker micrOTOF_Q tömegspektrométerrel végeztük. Ionforrásként légköri nyomású lágyionizációs technikákat alkalmaztunk, úgymint az elektroporlasztásos ionizáció (ESI), légköri nyomású kémiai ionizáció (APCI) és valós idejű közvetlen ionizáció (DART). Tandem MS vizsgálatok során az első kvadrupól (Q) analizátorral kiválasztott prekursor iont egy szintén kvadrupól ütközési cellában adott feszültséggel gyorsítunk, majd inert N₂ gázzal ütköztettük, így az disszociál. A képződő termékionok m/z értékét a második repülési idő analizátor (TOF) segítségével mérjük. A kapott MS és MS/MS spektrumok kiértékelését Bruker DataAnalysis 3.4 szoftverrel végeztük.

Pszeudo MS³ mérések során a korábban meghatározott m/z értékű termékiont már az ionforrásban generáltuk, és az első analizátorral ezt választottuk ki prekursor ionként, és vizsgáltuk a további fragmentációját.

Az MS/MS spektrumban megjelenő termékionok intenzitását az alkalmazott ütközési energia függvényében ábrázolva kapjuk a letörési görbéket, amelyekről jól leolvasható az adott termékion megjelenési energiája és az az energia, ahol az intenzitása maximális.

A szilimarin komponenseinek fragmentációs vizsgálatánál előzetes folyadékkromatográfiás elválasztásra volt szükség, hiszen a keverék komponenseinek összegképlete, így molekulatömege is megegyezik. Ehhez diódasoros detektorral felszerelt HPLC készüléket használtunk (Waters W2695 Separations Module, W2996 DAD detektor). Az LC-MS csatlakozásnál egy szplittert alkalmaztunk, ami a jobb ionizációs hatásfok elérése érdekében csak a kolonnáról lejövő folyadékarom egy részét engedte az ESI ionforrásba.

A pEtOx polimer karakterizálásánál méretkiszorítós kromatográfiát és tömegspektrometriai módszereket használtunk. Utóbbival nem csak a számátlag és tömegátlag molekulatömeg, hanem

a polimer szerkezete, az ismétlődő egységek tömege és a végcsoportok is meghatározhatóak. MALDI-TOF (mátrix segített lézer deszorpció/ionizáció) tömegspektrométert valamint ESI, APCI és DART ionforrásokkal felszerelt Q-TOF tömegspektrométert is használtunk a polimer jellemzésére. Kétféle végcsoportú pEtOx polimert azonosítottunk; a H-pEtOx (hidrogén és hidroxil végcsoportú) és a Me-pEtOx (metil és hidroxil végcsoportú) polimert, melyek jelenlétét fordított fázisú kromatográfiával igazoltunk. Ehhez a már említett diódasoros detektorral felszerelt HPLC készüléket használtunk (Waters W2695 Separations Module, W2996 DAD detektor). A kétféle végcsoportú polimer sorozat különböző polimerizáció fokú tagjainak fragmentációját ESI, APCI és DART ionizációs körülmények között Q-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltuk.

III. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

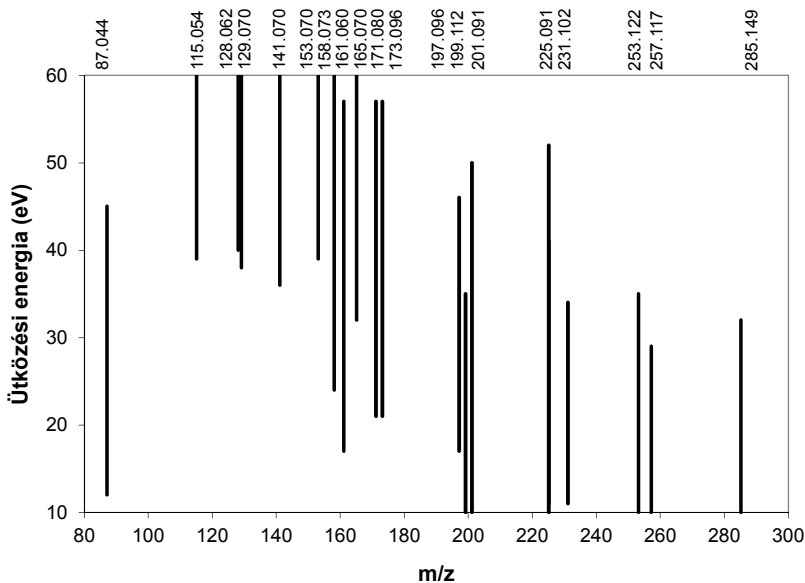
1. Buprenorfin és származékainak ESI Q-TOF MS/MS fragmentációs vizsgálata

1.1. Megállapítottuk, hogy az ESI-MS körülmények között képződő egyszerűen pozitív töltésű protonált buprenorfin prekursor ionként kiválasztva, a kvadrupól ütközési cellában semleges molekulák lehasadása mellett disszociál. A fragmentáció a nitrogénen lévő szubsztituens lehasadásával kezdődik, amely során a metilén-ciklopropil csoport a piperidin gyűrű egy részével együtt távozik az prekursor ionról. Ezzel párhuzamosan a C(6) szénatomon lévő metoxi csoport is lehasad metanolként, valamint a C(7) szénatomon lévő csoport fragmentációja is elindul, kis molekulák kilépésével. Meghatároztuk az MS/MS spektrumban megjelenő fragmensionok letörési görbéit, amelyek a alkalmazott ütközési energia függvényében mutatják a termékion intenzitását. Az ionok megjelenési energiáját valamint a maximális intenzitását összehasonlítva javaslatot lehet tenni az ionok képződésének sorrendjére. Felismerhetőek az egymás utáni vagy párhuzamos reakcióutak.

1.2. A disszociáció energiafüggésének vizsgálatakor megállapítottuk, hogy azon származékok, ahol a C(7) szénatomon acetyl csoport található nagyobb ütközési energiánál fragmentálódnak, mint azok a származékok, ahol a C(7) szénatomon $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{tBu})\text{OH}$ vagy $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{Pr})\text{OH}$ csoportok vannak. Megmutattuk azt is, hogy a C(7) szénatomon lévő szekunder alkohol csoportok fragmentációja két vagy három lépésben történik, de a disszociációs lépések során nem alakulnak át acetyl csoporttá. Mivel a N-en és a C(7) szénatomon lévő szubsztituensek már kis energiánál lehasadnak, a további fragmentáció mind az öt vizsgált vegyület esetében egy közös termékionból vezethető tovább.

1.3. Az ütközési energia növelésével megindul a kondenzált gyűrűs alapváz fragmentációja, és számos új termékion jelenik meg. Ennél az energiánál már mind az öt vizsgált vegyület MS/MS spektruma hasonló, mint ezt korábban is említettük, hiszen a

kondenzált gyűrűs alapváz megegyezik (eltekintve az aromás gyűrűn lévő metoxi vagy hidroxil csoporttól). Javaslatot tettünk a legtöbb képződött termékion szerkezetére és a képződésükhöz vezető elemi lépésekre. Javaslataink összhangban vannak a pontos tömeg alapján meghatározott összegképlettel és a prekursor ion szerkezetével. Pszeudo MS³ méréseket végeztünk, mely során a jelentősebb termékionokat már az ionforrásban generáltuk, és ezen ionok további fragmentációs lépéseit határoztuk meg. Ezen kísérletekkel igazoltuk az MS/MS eredményekből feltételezett fragmentációs útvonalakat. Az alapváz fragmentációjakor keletkező ionok letörési görbéit egy két-dimenziós ábrán gyűjtöttük össze (2.ábra).



2. ábra Buprenorfin alapvázának disszociációjakor keletkező termékionok az MS/MS spektrumban az ütközési energia függvényében.

Erről leolvasható, hogy az egyes termékionok milyen ütközési energiánál jelennek meg, és milyen energiánál bomlanak tovább. Másrésről megmutatja, hogy adott ütközési energiánál milyen termékionok jelenlétére számíthatunk a buprenorfin származékok MS/MS spektrumában.

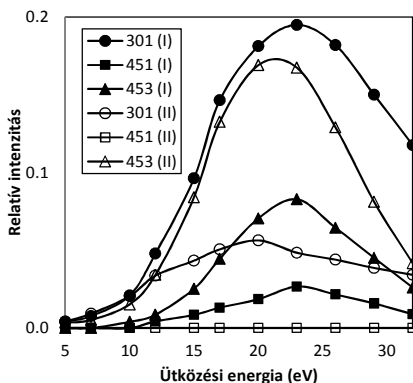
1.4. A buprenorfin fragmentációs viselkedését más morfinszármazékok fragmentációjával összehasonlítva megállapítottuk, hogy sok fragmension közös, a különbségeket a C(18)-C(19) etilén hídból eredő eltérő viselkedés eredményezi. Javaslatot tettünk azon termékionok képződésének mechanizmusára, amelyeknél ennek az etilén hídnak szerepe van.

2. Silymarin komponensek fragmentációjának energiafüggése. A hasonló szerkezetű vegyületek eltérő fragmentációjának értelmezése.

2.1. Megvizsgáltuk az ESI ionizációval keletkezett, egyszerűen negatív töltésű deprotonált szilimarin komponensek fragmentációjának energiafüggését. Meghatároztuk a szilimarin komponenseihez tartozó disszociálatlan hányad (*survival yield* - SY) értékeket minden ütközési energiánál. A SY nem más, mint a prekursor ion intenzitásának és az összes termékion intenzitásának az aránya az MS/MS spektrumban. Ezeket az értékeket az ütközési energia függvényében ábrázolva kapjuk a SY görbéket. Megállapítottuk, hogy a különböző szilibinek, izoszilibinek és a szilidianin esetében teljesen megegyeznek az SY görbék. A különböző szilikrisztinek esetében azonban a fragmentáció már 5 eV-tal kisebb energiánál lejátszódik. A görbék alapján meghatároztuk az egyes komponensekhez tartozó CE₅₀ értékeket, vagyis azt az ütközési energiát ahol az prekursor ion 50%-ban fragmentálódott.

2.2. Megfigyeltük, hogy a szilibin A és az izoszilibin A fragmentációs viselkedése a két vegyület nagyfokú szerkezeti

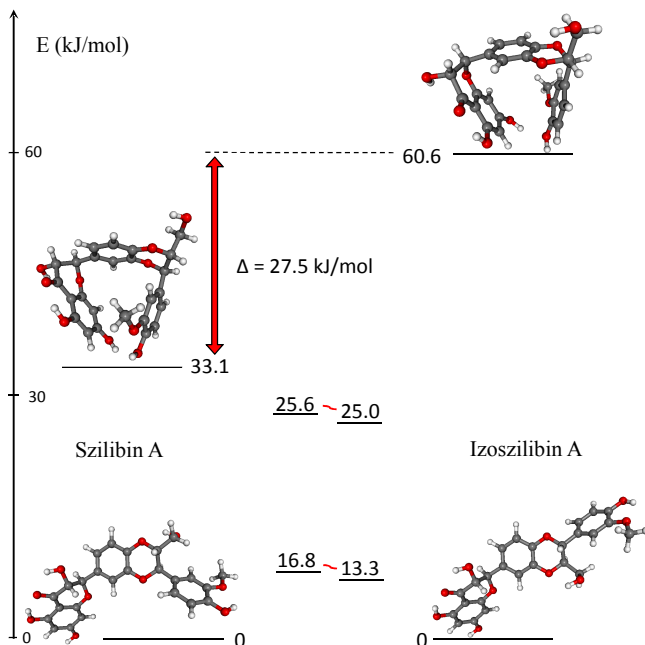
hasonlósága ellenére eltér egymástól. A három eltérő intenzitású termékion letörési görbéje látható a 3. ábrán.



3. ábra A szilibin (I, töltött jelek) és izoszilibin (II, üres jelek) fragmentációjánál keletkező ionok eltérő intenzitásai az ütközési energia függvényében (letörési görbék).

A szilibin A-ból nagyobb intenzitással keletkezik a 301 m/z ion, az izoszilibin A-ból pedig a 453 m/z ion. A 451 m/z ion pedig csak a szilibin A MS/MS spektrumában van jelen, az izoszilibin A spektrumából teljesen hiányzik. A megfigyelt különbségeket a másodlagos konformerek eltérő stabilitásával magyaráztuk. A legstabilabb konformerben mindkét vegyület esetén a C és a D gyűrű csavartkád állású és a rajtuk lévő szubsztituensek ekvatoriális helyzetűek. A szilibin és az izoszilibin esetén hasonló energiakülönbség szükséges ahhoz, hogy az egyik gyűrű konformációja megváltozzon, és a rajta lévő szubsztituensek axiális helyzetbe kerüljenek. Azok a konformerek azonban, ahol egyszerre mindkét gyűrűn lévő szubsztituensek axiális helyzetűek már eltérő stabilitást mutatnak a szilibin és az izoszilibin esetén. Tömegspektrometriás körülmények között a szilibin nagyobb valószínűséggel tudja felvenni ezt a konformációt, mint az izoszilibin. Konformáció analízist követően B3LYP/6-31G (d) elmélet alapján

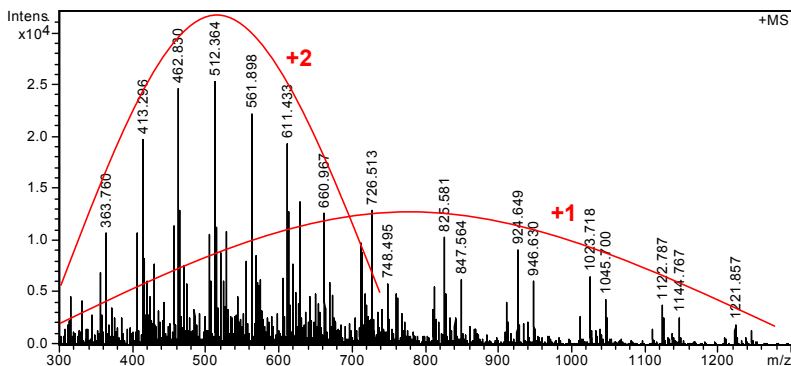
optimáltuk a térbeli konformációkat, és megállapítottuk a legkedvezőbb térszerkezethez tartozó energia értéket (4. ábra).



4. ábra A szilibin A és az izoszilibin A konformereikhez tartozó B3LYP energiák.

3. Poli(2-etil-2-oxazolin) polimer fragmentációs viselkedése különböző lágyionizációs technikák esetén. A termékionok intenzitásának energiafüggése és a polimerizáció fok hatása az azonos mértékű fragmentációhoz szükséges ütközési energiára

3.1. Karakterizáltuk a szintetizált poli(2-etil-2-oxazolin) polimert méretkizárásos kromatográfiával, MALDI-TOF MS és különböző ionforrással (úgy mint ESI, APCI, DART) felszerelt Q-TOF MS módszerrel. Megmutattuk, hogy a szintézis során kétféle láncvégű polimer keletkezik a H-pEtOx (hidrogén és hidroxil végcsoportú) és a Me-pEtOx (metil és hidroxil végcsoportú polimer).

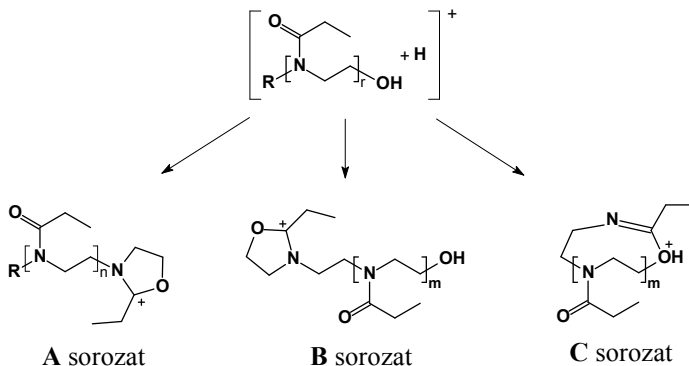


5. ábra A pEtOx polimer ESI Q-TOF MS spektruma

Meghatároztuk a számátlag valamint tömegátlag molekulatömegeket és a polidiszperzitást minden említett technikával. Összehasonlítva a kapott eredményeket megállapítottuk, hogy a APCI ionforrással meghatározott átlag molekula tömegek alacsonyabbak, ami annak köszönhető, hogy a nagyobb tömegű molekulák fragmentációja már a magas hőmérsékletű ionforrásban elkezdődik.

A méretkiszorításos kromatográfia segítségével a kétféle végcsoportú polimer nem választható el. Azonban a jelenlétüket fordított fázisú gradiens kromatográfiás elválasztással igazoltuk.

3.2. Az egyszeres pozitív töltésű protonált ionok fragmentációját mindkét végcsoportú polimer esetén megvizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy az egyes prekursor ionok MS/MS spektrumában 3 fragmension sorozat van jelen. A mért pontos tömegek alapján javaslatot tettünk ezen sorozatok szerkezetére (6. ábra).



6. ábra A pEtOx polimer MS/MS spektrumában lévő termékion sorozatok

Pseudo MS^3 mérésekkel alátámasztottuk a fragmentációs útvonalakat, és mechanizmust javasoltunk a fragmension sorozatok képződésére. Deuterált oldószerben végzett MS/MS vizsgálatokkal további bizonyítékot szolgáltatunk a javasolt szerkezetekre és fragmentációs utakra.

3.3. A fragmentáció hatásfokát disszociálatlan hányad (SY) görbék segítségével jellemeztük. Meghatároztuk a különböző polimerizációs fokú polimerek fragmentációjára jellemző CE_{50} ütközési energiákat. Megállapítottuk, hogy lineáris összefüggés van a monomer egységek száma és a CE_{50} értékek között.

IV. AZ EREDMÉNYEK LEHETSÉGES ALKALMAZÁSA

A folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria (LC-MS) és tandem tömegspektrometria (MS/MS) olyan műszeres analitikai módszerek, amely mind minőségi, mind mennyiségi meghatározáshoz jól használhatóak a nagy érzékenységüknek és pontosságuknak köszönhetően. Az általunk feltérképezett fragmentációs utak, termékion szerkezetek segítséget nyújthatnak a még nem tanulmányozott vegyületek fragmentációs viselkedésének előrejelzésében, értelmezésében. Az adott vegyület családra jellemző termékionok az ismeretlen vegyület besorolásában, az egyes vegyületekre specifikus termékionok, vagy akár ionpárok, pedig a vegyület egyértelmű azonosításában lehetnek segítségükre. Mennyiségi meghatározásokra a legkisebb kimutatási határ érhető el egy specifikus termékion mérésével azon az ütközési energián, ahol a legnagyobb annak az intenzitása. A megfelelő ütközési energia kiválasztása minden MS/MS módszeren alapuló analízisnél elengedhetetlen. Hiszen a túl kicsi energiánál még nem indul meg a fragmentáció, túl nagy ütközési energia alkalmazásánál pedig olyan sok termékion jelenhet meg, hogy már értelmezhetetlen lesz a spektrum. A speciális analitikai problémák megoldásában, a minél specifikusabb módszerek kifejlesztésében is nagy szerepe lehet a különböző ütközési energián jelen lévő termékionok ismeretének.

V. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

1. Energy-dependent collision-induced dissociation study of buprenorphine and its synthetic precursors
B. Biri, J. Kalmár, L. Nagy, A. Sipos, M. Zsuga, S. Kéki
Rapid Communications in Mass Spectrometry (2011), 25(1), 41-49.
IF: 2,790
2. Collision induced dissociation study of the major components of silymarin
Á. Kuki, B. Biri, L. Nagy, Gy. Deák, J. Kalmár, A. Mándi, M. Nagy, M. Zsuga, S. Kéki
International Journal of Mass Spectrometry (2012), 315, 46
IF: 2,549
3. Collision-induced dissociation study of poly(2-ethyl-2-oxazoline) using survival yields and breakdown curves
B. Biri, L. Nagy, Á. Kuki, E.R. Tőke, Gy. Deák, M. Zsuga, S. Kéki
Journal of Mass Spectrometry (2013), 48(1), 16-23.
IF: 3,268

Σ IF=8,607

Az értekezésben nem tárgyalt közlemények:

1. Photodecomposition of o-phthaldialdehyde-derivatized amino acids by the photodiode array detector during their high-performance liquid chromatographic analysis
S. Kéki, J. Török, B. Biri, J. Zsuga, R. Gesztelyi, D. Bereczki, M. Zsuga
Journal of Chromatography A (2008), 1185, 301. **IF: 3,756**
2. Increased production of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in ankylosing spondylitis: Association with other clinical and laboratory parameters
Á. Kemény-Beke, R. Gesztelyi, N. Bodnár, J. Zsuga, Gy. Kerekes, M. Zsuga, B. Biri, S. Kéki, P. Szodoray, A. Berta, Z. Szekanecz, S. Szántó
Joint Bone Spine (2011), 78(2), 184. **IF: 2,274**
3. Systematic identification of active ingredients of Silybum Marianum seed
L. Nagy, Á. Kuki, G. Deák, B. Biri, M. Nagy, M. Zsuga, S. Kéki
Jurnal Medical Aradean (Arad Medical Journal) (2011), 14 (2), 9-12. **IF: -**
4. Mechanism of Decomposition of the Human Defense Factor Hypothiocyanite Near Physiological pH
J. Kalmar, K. Woldegiorgis, B. Biri, M. Ashby
Journal of the American Chemical Society (2011), 133 (49), 19911. **IF: 9,907**

5. Detailed Mechanism of the Autoxidation of N-hydroxyurea Catalyzed by an SOD mimic Mn(III) porphyrin: Formation of the Nitrosylated Mn(II) porphyrin as an Intermediate

J. Kalmár, B. Biri, G. Lente, I. Bányai, A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle, I. Fábián

Dalton Transaction (2012), 41, 11875-11884.

IF: 3,838

6. Identification and characterization of microbial biofilm communities associated with corroded oil pipeline surfaces

T. R. Lenhart, K. E. Duncan, I. B. Beech, J. A. Sunner, W. Smith, V. Bonifay, B. Biri, J. M. Suflita

Biofouling közlésre beküldve

Σ IF=19,775

Résztétel hazai és nemzetközi konferenciákon:

1. Methylarginine metabolism is different in acute and chronic hypoxia:

12AP1 – 3

T. Molnár, B. Sütő, B. Biri, L. Nagy, S. Kéki, I. Ruzsics

European Journal of Anaesthesiology **2013**; 30: 181.

2. Szénhidrogének anaerob biodegradációja során képződő metabolitok LC/MS vizsgálata (E)

Biri B., D. Aktaz, J. Sunner, Kéki S.

XVII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2011. nov. 3-6., Kolozsvár.

3. A hipotiocianos-sav (HOSCN) vizes oldatbeli bomlása fiziológiához közeli pH-n (E)
Kalmár J., Biri B., K. L. Woldegiorgis, M. T. Ashby
XVII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2011. nov. 3-6., Kolozsvár.
4. Egy nem azonosított Silymarin komponens elválasztása oszlopkromatográfiás módszerrel (E)
Deák Gy., Biri B., Kuki Á., Nagy L., Zsuga M., Kéki S.
XVII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2011. nov. 3-6., Kolozsvár.
5. Mass spectrometric approaches to the study of bacterial metabolomes aimed at diagnosis of anaerobic hydrocarbon degradation and associated biocorrosion (P)
J. Sunner, B. Biri, S. Foster, I. Beech, M. Kowalski, J. Suflita, D. Aktas, I. Davidova
59th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, June 5-9, 2011, Denver, Colorado, USA
6. A hipotiocianos-sav (HOSCN) vizes oldatbeli bomlásának mechanizmusa fiziológiához közeli pH-n (E)
Kalmár J., Biri B., K. L. Woldegiorgis, M. T. Ashby
MTA Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése, 2011. okt. 27-28., Gyöngyöstarján.
7. Zsírsvav származékok mennyiségi meghatározása (E)
Biri B., Oláh A., Sós K., Zsuga M., Kéki S.
MTA Tudomány Napja, Doktoranduszok Fóruma, 2010. nov. 4., Debrecen
8. Tandem tömegspektrometria szerepe: Szilimarín komponensének APCI-MS/MS fragmentációs vizsgálata (E)
B. Biri, L. Nagy, Á. Kuki, M. Zsuga, S. Kéki
International Conference „Natural and artificial ecosystems in the Somes- Cris- Mures- Tisa river basin” May 7-8, 2010, Macea, Romania

9. Vércsérum aminosav tartalmának meghatározása (E)
Biri B., Zsuga J., Gesztelyi R., Bereczki D., Zsuga M., Kéki S.
XV. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2009. nov. 12-15.,
Marosvásárhely.
10. Anandamid és 2-Arachidonoil-glicerín meghatározása APCI-MS
módszerrel (E)
Biri B., Kéki S.
*MTA Műanyag és Természetes Polimerek Munkabizottság:
munkabizottsági ülés*, 2009. ápr. 23., Budapest
11. Anandamid és 2-Arachidonoyl-glicerín kvantitatív meghatározása
sejtkultúrákból (E)
Biri B., Kuki Á., Nagy L., Kéki S., Zsuga M., Ambrus L., Lisztes
E.
XIV. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2008. nov. 13-15., Kolozsvár

(E: Előadás, P: Poszter)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Kéki Sándor egyetemi tanárnak, az Alkalmazott Kémiai Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tette és mindvégig figyelemmel kísérte a dolgozat elkészítését. Köszönöm neki a munkám során nyújtott sokrétű, önzetlen segítségét, végtelen türelmét és megértését.

Köszönetemet szeretném kifejezni *Dr. Nagy Lajosnak, Dr. Kuki Ákosnak és Dr. Deák Györgynek* szakmai és emberi támogatásukért, és a kísérletek kivitelezésében valamint az eredmények értelmezésében tett nélkülözhetetlen hozzájárulásukért. Köszönöm *Dr. Zsuga Miklós* professzor emeritusnak támogatását, hogy mindvégig figyelemmel kísérte és hasznos tanácsokkal látta el munkámat.

Szeretnék megköszönni a legösztönzőbb munkatársamnak (és férjemnek), *Dr. Kalmár Józsefnek* a türelmét és biztatását a dolgozat elkészítéséhez, valamint nem csak szakmai támogatását és tanácsait a közös munkánk során.

Szeretnék köszönetet mondani:

- *Dr. Sipos Attilának* a buprenorfin származékok szintéziséért.
- *Dr. Tőke Enikőnek* a pEtOx polimer szintéziséért.
- *Dr. Mándi Attilának* a molekulaszervezet számításokért.
- *Dr. Jan Sunner és Dr. Steven Foster* kutatóknak (Department of Biochemistry, University of Oklahoma, Oklahoma, USA), hogy befogadtak csoportjukba és támogattam tömegspektrometriai ismereteimet.
- *Tóth Georgina, Nagy Zsigmond Tamás és Szabó Zsuzsanna* diplomamunkás hallgatóknak a kísérleti munkában nyújtott segítségért.

Köszönettel tartozom az *Alkalmazott Kémiai Tanszék* minden tagjának a munkám során adott tanácsaikért, segítségükért és biztatásukért, valamint azért, hogy a munkám elvégzéséhez baráti légkört biztosítottak. Külön is szeretnék köszönetet mondani *Jakab Alexandrának* és *Dékány-Adamoczkynak*, hogy bármikor, bármilyen kéréssel fordulhattam hozzájuk.

Hálával tartozom családomnak támogatásukért.

A dolgozat elkészítését az OTKA K-101850 és a HURO/0901/058/2.2.2. számú pályázatok, valamint a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0036 számú projekt támogatta, amely az Európai Unió támogatásával és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.