

Akridin- és akridonegységet tartalmazó makrociklusok előállítása, molekuláris felismerése és alkalmazása†

GOLCS Ádám,^{a,*} HUSZTHY Péter^a és TÓTH Tünde^{a,b}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Szent Gellért tér 4. 1111 Budapest

^bEnergiatudományi Kutatóközpont, Sugárkémiai Laboratórium, Konkoly-Thege Miklós út 29-33. 1121 Budapest

1. Bevezetés

Egy szubsztrát receptor általi szelektív megkötése a kölcsönható partnerek tulajdonságai által meghatározott „molekuláris információ” alapszik. A jelenség olyan receptorok által valósulhat meg, melyek elektronikus és szterikus jellemzői kiegészítik egymást a szubsztrátum ezen tulajdonságaival, így a kettőjük között ébredő másodrendű kölcsönhatások révén egy dinamikus rendeződő komplex, úgynevezett szupramolekula jön létre. A szupramolekuláris kémia szintetikus gazdamolekulái, köztük a koronaéterek ezen molekuláris felismerőképességük által képesek ellátni szerteágazó funkcióikat, potenciálisan hasznos anyagokat teremtve ezzel számos technológia ágazat számára. A gyakorlati alkalmazhatóság céljából a makrociklusokat a biológiai rendszerek leképezéseként szintetikus membránokba ágyazhatjuk. Az így kapott szilárd hordozóhoz rögzített molekuláris felismerőegységek utat nyithatnak rendkívül változatos célfunkciókat ellátó komponensspecifikus kémiai szenzorok és szelektorok fejlesztéséhez.

Munkánk új, a makrogyűrűben akridin- vagy akridonegységet tartalmazó makrociklusok szintézisét, alkalmazásorientált tanulmányozását és interdiszciplináris felhasználását foglalja magában. Elsődleges célunk volt a hagyományosnak számító, szupramolekuláris kölcsönhatásokon alapuló molekuláris szenzor- és szelektoralkalmazások jellemző korlátainak kiküszöbölése az új gazdamolekulák membránkötött felhasználásán és új koncepción alapuló alkalmazások bevezetésén keresztül.

Az akridon-, illetve akridinegységet tartalmazó vegyületeket régóta alkalmazzák gyógyszerhatóanyagok építőelemeként, fluoreszcens indikátorokként, reagensekként vagy optokémiai szenzormolekulák jelképzésért felelős alegységeként az analitikai kémiában^{1,2}. Az első akridon-, illetve akridinegységet tartalmazó koronaétereket Huszthy és munkatársai szintetizálták az 1990-es évek végén^{3,4}. Az évek során végzett kutatások azt igazolják, hogy a triciklusos gyűrű lágy nukleofil heteroatomjának és a makrociklus váz merev szerkezetének, illetve kiterjedt

π -elektronrendszerének köszönhetően a vegyületcsalád elsősorban nehézfémionok, különösképpen Pb^{2+} felismerésre alkalmas, valamint nagyobb szelektivitást mutat kismolekulás biogén protonált primer aminok enantiomerfelismerése során számos heterociklusos koronaéter-analognál⁵.

A szupramolekuláris kölcsönhatások kiaknázására épülő kémiai érzékelők két legnagyobb csoportját az elektro-, illetve optokémiai szenzorok alkotják. Ezek hagyományosan ionofortartalmú polimer membránok alkalmazásán alapuló módszerek, melyek jelentősebb eltérései a jelképzésért és jelátalakításért felelős műszeres megvalósítás kapcsán mutatkoznak⁶. Bár mindkét alkalmazási terület évtizedek óta intenzív tudományos érdeklődésre tart számot, az elektrokémiai szenzorok esetében az ionszelektív membránok körülményes egyedi előállítás⁷, illetve elektromos vezetőképességének megteremtése⁸, míg az optokémiai szenzorok esetében a membránok ionos komponenseinek jelenléte, szorosan pH-függő, egyensúlyi ioncsere-alapú jelképzése, valamint az ezekkel összefüggésben álló gyenge regenerálhatósága és lassú válaszüzeje jelentik a legnagyobb kihívásokat⁶. A kiküszöbölésükre tett erőfeszítések ellenére ezen korlátok máig jelentősen hátráltatják az említett módszerek széleskörű elterjedését a mindennapos felhasználói gyakorlatban.

A folyadékmembrán alapú enantiomerelválasztás kapcsán szintén számos eljárást fejlesztettek az elmúlt évtizedekben. Ezen kutatások többsége elsősorban biológiai rendszerek modellezését, illetve összetettebb technológiai megvalósítást alkalmazó módszerek egyszerűsített, folyadékmembrán-cella kísérleteken alapuló előzetes vizsgálatát és paramétereinek optimalizálását célozza^{9,10}. Utóbbi szerepeken túl az enantiomerfelismerésre képes koronaéterek mikrotálca-alapú folyadékmembrán-szeparációs eljárás keretében alkalmasak lehetnek optikailag aktív biogén amin típusú vegyületek nagy áteresztőképességű enantiomerűdítésére, mely egy máig megoldatlan feladatot jelentő, ipari jelentőségű perspektíva.

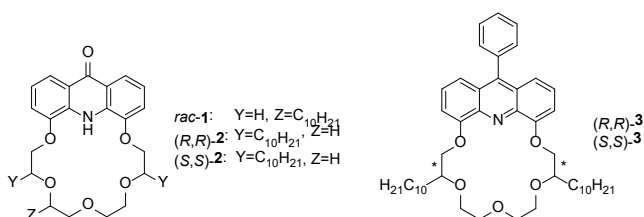
† Golcs Ádám azonos című PhD értekezéséhez kapcsolódó tézisfüzet alapján készült.

* Tel.: +36 20 622 6164; e-mail: golcs.adam@edu.bme.hu

2. Eredmények

2.1. Új makrociklusok és prekursoraik előállítása

Előállítottuk a szakirodalomból ismert Pb^{2+} -szelektív akridono-18-korona-6-éter^{4,11-13} egy decilláncot tartalmazó racém (*rac-1*), illetve két decilláncot tartalmazó enantiomertiszta lipofil analogonjait (**2,3** enantiomerpárjai) apoláros membránban fizikailag rögzített makrociklusokat tartalmazó eljárások fejlesztésének céljából (1. ábra).



1. Ábra. Lipofil, királis akridono- és 9-fenilakridino-makrociklusok

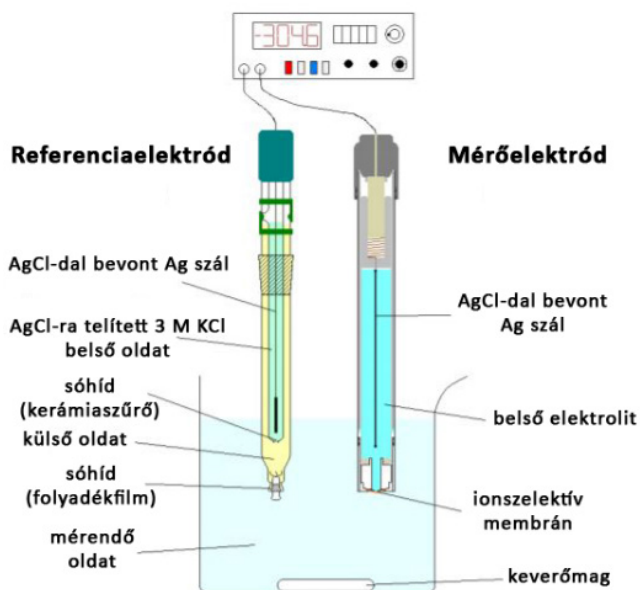
Minden gazdamolekula esetében spektroszkópai módszerekkel vizsgáltuk a fémionokkal, illetve protonált aminokkal szembeni szelektivitást^{14,15}.

Előállítottunk továbbá a szekunder amin funkciók keresztül könnyedén továbbalakítható 4,5-dimetilénakridin egységet tartalmazó makrociklusokat (**4-7**), melyek alapváza Zn^{2+} -szelektivitást mutatott, valamint számos 9-szubsztituált 4,5-bifunkciós fluoreszcens akridino-prekuzort (**8-14**), melyek a makrociklusos gazdamolekulák alegységeiként lehetőséget adnak azok membránhoz történő kovalens rögzítésére, mindemellett pedig igen kedvező fluoreszcenciás sajátságokat mutatnak (2. ábra).

Mindegyik gazdamolekula esetében spektroszkópai módszerekkel vizsgáltuk a szelektivitást, a kompetitív körülmények hatását a komplex-, illetve jelképzésre, továbbá meghatároztuk a $\log K$ és pK_a értékeket, mint a gyakorlati szempontból legfontosabb fizikokémiai paramétereket¹⁶⁻¹⁸. Az **1-3** makrociklusok Pb^{2+} -szelektivitást mutattak ($\log K_{Pb^{2+}}=3,6-5,1$), emellett a **3** koronaéter alkalmasnak bizonyult protonált primer aminok enantiomerszelektív megkülönböztetésére ($\Delta \log K_{S/R}=0,1-0,2$) is. A **4-7** makrociklusok elsősorban Zn^{2+} -nal szemben bizonyultak szelektívnek ($\log K_{Zn^{2+}}=5,1-5,7$). Az akridino-koronaéterek (**3, 4-7**) akridin *N*-atomjai gyengén bázikus sajátságot mutattak (konjugált sav $pK_a=8,8-9,7$, acetonitrilben).

2.2. Ionszelektív potenciometriás szenzormembránok fejlesztése

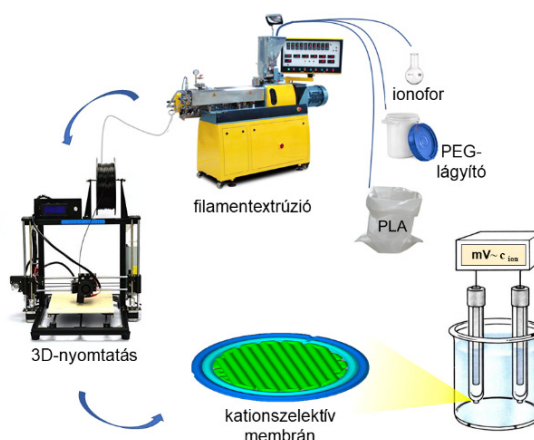
Az Pb^{2+} -szelektív lipofil akridono-18-korona-6-éter (*rac-1*) PVC-membránba történő fizikai rögzítése (ionofor:polimer:dioktil-szepakát lágyítószer=1:33:66 + kálium-tetrakis(4-klórfenil)-borát lipofil ionos adalék) révén potenciometriás szenzort fejlesztettünk (3. ábra), melyet rendhagyó módon többkomponensű mintákban is vizsgáltunk.



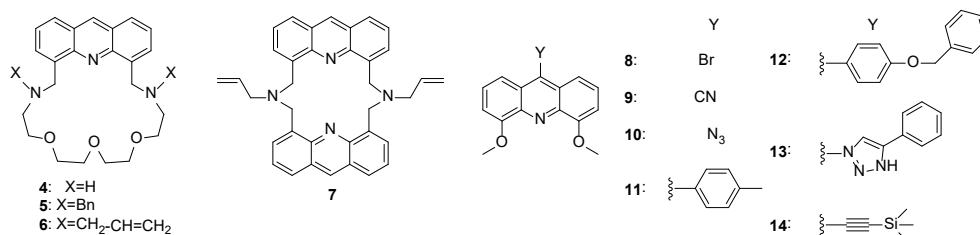
3. Ábra. Koronaétert tartalmazó ionszelektív membrán alapú potenciometriás mérőcella felépítése

Az eszköz matematikailag jósolható válaszjelet szolgáltatott kiemelkedően alacsony válaszidő mellett, 4,0-8,0 pH-tartományon, 4×10^{-6} M alsó kimutatási határkoncentráció felett¹⁴.

Kutatásunk kiterjesztéseként elsőként alkalmaztunk hozzáadott ionos adalékanyagoktól mentes, illetve lágyított PLA-membránokat (10-20% PEG-származék lágyítószer, 0,3 tömeg% ionofor) a hagyományos ionszelektív membránok alternatívájaként ugyanazon koronaéter (*rac-1*) felhasználásával¹⁹. Filamentextrúzió és az ezen alapuló 3D-nyomatási eljárás bevezetésével megvalósítottuk az elektródmembránok kísérleti sorozatgyártását¹⁹ (4. ábra), majd elektrokémiai sajátságait összehasonlítottuk a hagyományos alternatíváikéval¹⁴.



4. Ábra. Új típusú kationszelektív potenciometriás elektródmembránok előállítása¹⁹



2. Ábra. Új, 4,5-dimetilénakridin egységet tartalmazó makrociklusok és könnyen funkcionálizálható, fluoreszcens akridino-prekurzorok

A 20 tömeg% polietilén-glikol (Mn=1500)-monolaurát lágyítószer-tartalmú membránokat találtuk legalkalmasabbnak gyakorlati alkalmazások fejlesztésének céljára, melyek a hagyományos membránokhoz képest a potenciometriás jellemzők javulása (1. táblázat) mellett megnövekedett szelektivitást mutattak számos vizsgált zavaróionnal (Mg²⁺, Zn²⁺, Co²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺) szemben¹⁹.

1. Táblázat. Hagományos és új típusú membránokat tartalmazó elektródok főbb potenciometriás jellemzői

Membrán	Lineáris válasz-tartomány (M)	S _i (mV/dekád)	LOD (M)	Válaszidő (s)
A ^a	10 ⁻⁴ – 10 ⁻²	28,9	4×10 ⁻⁶	30
B ^b	10 ⁻⁶ – 10 ⁻²	28,8	1×10 ⁻⁷	60

^a Hagományos módszerrel készített 66% dioktil-szebakát lágyítószer-tartalmazó, PVC alapú elektródmembrán.

^b Új típusú 3D-nyomatott PLA alapú elektródmembrán 20 tömeg% M-PEG lágyítószerrel.

A membránok mátrixanyagaként alkalmazott, extrúziós feldolgozás során részleges degradációt szenvedett PLA ioncserélő sajátságait (az extrúzió során alkalmazott erélyes körülmények - >180 °C, >20 bar - hatására a PLA láncvégi karboxilátcsoportjain felül további negatív töltések jelennek meg a láncok felhasadásának következményeként, melyek negatív össztöltést kölcsönöznek a membránfelületnek, így az bizonyos mértékben képes ellátni a hagyományos esetben hozzáadott ioncserélő komponensek által kiváltott ioncserélő funkciót) érintő jövőbeli vizsgálatokkal kiegészítve a fejlesztett eljárás mérőföldkövet jelenthet a kationszelektív potenciometriás kémiai szenzorok fejlesztésének területén, illetve az egyszerűsített membránösszetétel és a gyárthatósági feltételek előteremtésén keresztül segítheti ezen típusú kemoszenzorok elterjedését az analitikai gyakorlatban.

2.3. Pb²⁺-szelektív direkt típusú mikrotálca-optód fejlesztése környezeti és szennyvízminták nagy áteresztőképességű vizsgálatára

A hagyományos optódokat jellemző hátrányos tulajdonságok kiküszöbölése céljából egy új koncepció szerint, nem-egyensúlyi elven működő, extrém vastagságú, direkt típusú lágyított PVC (50 tömeg% dioktil-szebakát) szenzormembránokat tartalmazó mikrotálca-optódot fejlesztettünk a *rac-1* ionofor felhasználásával (5. ábra).

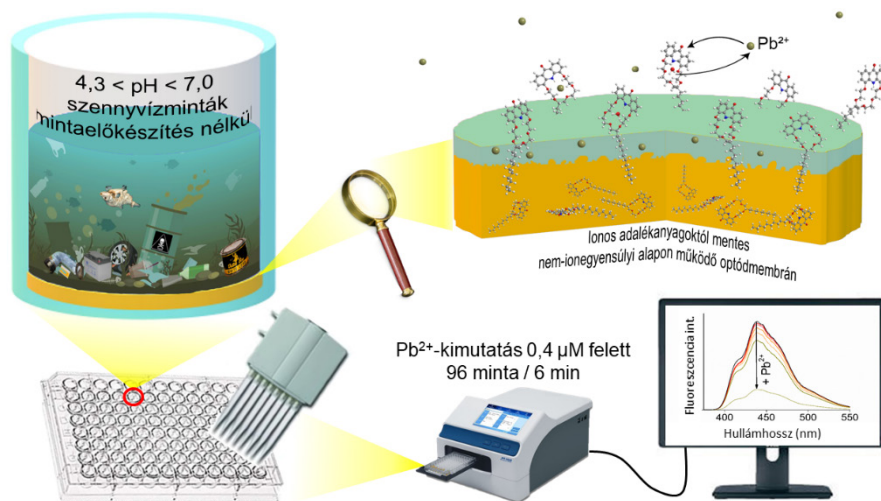
Ez az első példa olyan optódra, amely nem tartalmaz ionos adalékanyagot, rendelkezik pH-független működési

tartománnyal (4,3 < pH < 7,0), továbbá példátlanul rövid válaszidőt, kiemelkedő analitikai teljesítményt (~700 minta/óra) és várható élettartót mutat. Emellett az Pb²⁺-szelektív optokémiai szenzorok között a fejlesztett eszköz szintén elsőnek tekinthető a jelképzés szerinti direkt típusú membránja, valamint mikrotálca rendszerrel integrált mivolta miatt egyaránt. A viszonylag magas alsó kimutatási határ (4,0×10⁻⁷ M) nem teszi alkalmassá a szenzort ivóvíz vizsgálatára, viszont említett számos előnye, kiemelten a példátlanul gyors, egyszerű, automatizálható és költséghatékony működtetése alkalmassá teszi bármely széleskörűen használt műszeres analitikai technika releváns alternatívájaként környezeti és szennyvízminták nagy áteresztőképességű monitorozására²⁰.

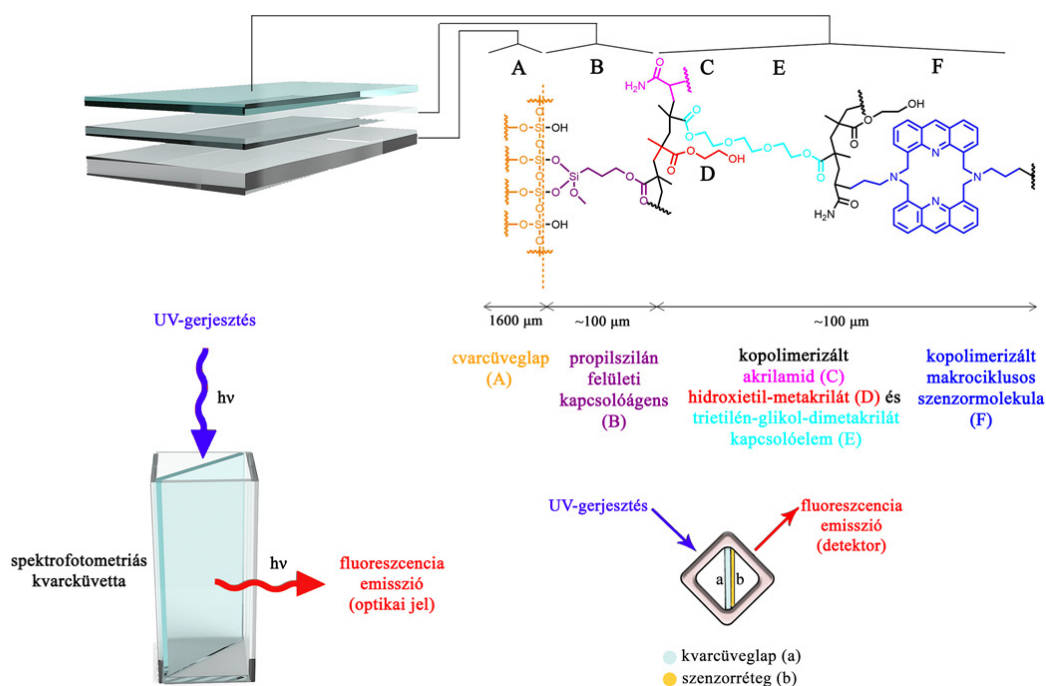
2.4. Kvarcüveg hordozón kovalensen rögzített makrociklus-kopolimer alapú optódmembrán fejlesztése hagyományos spektrofotométerek Zn²⁺-szenzorrá történő közvetlen átalakítására

Allilcsoportokat tartalmazó fluoreszcens (bis)akridino-makrociklus (7, ld. 2. ábra) előzetesen 3-(trimetoxiszilil)propil-metakriláttal módosított felületen végzett UV-fotokatalitikus kopolimerizációjával (akrilamid: 200 mg, DMF: 200 µl, 2-hidroxi-2-metil-1-fenilpropanon: 400 µl, trietilén-glikol-dimetakrilát: 200 µl, trietanolamin: 50 µl, fluoroinofor (7): 10 mg, 2-hidroxi-2-metil-1-fenilpropanon: 50 µl) létrehoztunk egy nem-készülék-specifikus, kvarcüveg alapú optódot, melyet spektrofotometriás küvetta helyezésre az adott spektrofotométer Zn²⁺-szelektív szenzorként működtethető (6. ábra)²¹.

A Zn²⁺-szelektív analízis 2,2×10⁻⁷ M kimutatási határ felett, 1 percnél belül (c_{Zn²⁺} < 10⁻³ M) volt megvalósítható. A meghatározást a magas Cd²⁺- és Pb²⁺-tartalom, illetve a 10⁻⁵ M feletti szervesanyag-tartalom (emésztett fehérjemintát reprezentáló aminosavkeverék vizes oldatával vizsgálva) korlátozhatja a gyakorlatban. Míg az optód a szelektivitás és a mennyiségi meghatározás pontossága tekintetében elmarad a széleskörűen alkalmazott műszeres analitikai technikáktól (ICP-OES módszerrel összehasonlítva) – a hagyományos optódokat jelentősen felülmúlva regenerálhatóságában – azok egyéb jellemző működési paramétereivel összemérhető eredményeket mutat. A fejlesztett termék analítiszpecifikus műszerezettség hiányában is megteremt a lehetőséget Zn²⁺ szelektív, perturbációmentes analízisére, egy hordozható, regenerálható, gyors eredményt szolgáltató eszközt biztosítva a kizárólag rutin spektrofotométerrel rendelkező felhasználók számára²¹.



5. Ábra. Az új típusú lágyított (50 tömeg% dioktil-szebakát) PVC szenzormembránok és a mérési eljárás vázlatja



6. Ábra. Kvarcűveglap alapú szenzormembrán

2.5. Bioaktív aminok nagy átérésztőképességű folyadékmembrán szeparációs enantiomerdúsítása a “parallel artificial membrane permeability assay” (PAMPA) rendszer újszerű alkalmazásán keresztül

Folyadékmembrán-szeparációs enantiomerdúsítási eljárást fejlesztettünk a PAMPA-rendszer újszerű átalakításával. A korábbi oldatfázisú- és folyadékmembrán-fázistranszport vizsgálatok kiterjesztésével sikerült optikailag aktív biogén aminok körében jelentős enantiomerfelismerést mutató li-

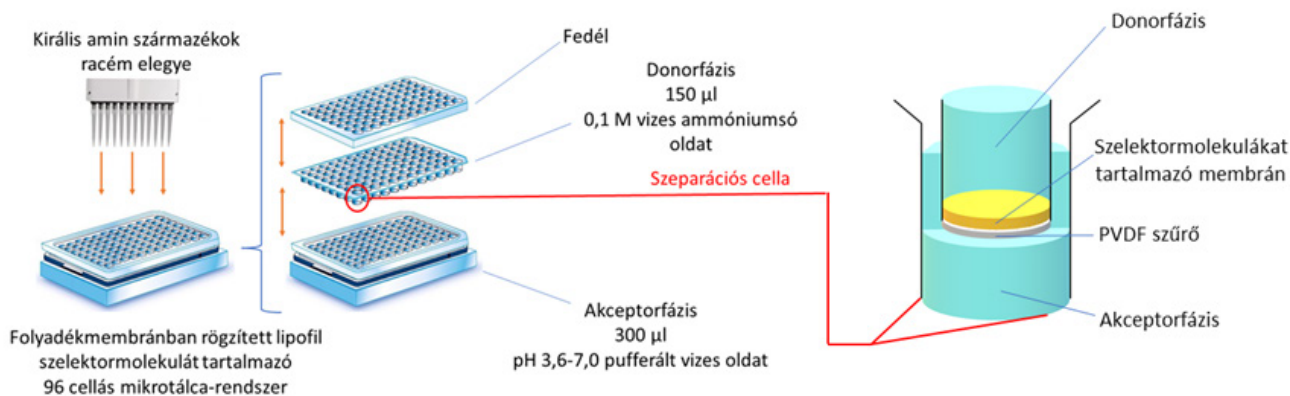
pofil fenilakridino-makrociklusokat [(*R,R*)-3 és (*S,S*)-3, ld. 1. ábra] dodekán-dodekanol alapú folyadékmembránban rögzíteni és mikrotálca-rendszerbe integrálni. Ezt követően vizsgáltuk az amin enantiomerek membránpermeációjának kinetikáját, szerkezet-hatás összefüggéseit, valamint elvégeztük a folyamat fizikokémiai paramétereinek optimalizálását. Vizsgálataink alapján a rögzített királis szelektormolekulák jelenléte enantiomerszelektív membránretenciót eredményezett a mikrotálca-rendszer donor-, illetve akceptor fázisai között, mely lehetővé tette különböző amin-,

aminosav-, valamint egyéb neurotranszmitter származékok racém elegyből kiinduló mikromoláris léptékű enantiomer-dúsítását. Az elválasztás során amin származékok racém elegyét vizes oldat formájában a szelektormolekulákat tartalmazó folyadékmembránra vittük (7. ábra).

A tálca akceptoroldalán kellő inkubációt követően a vizsgált vegyületek egyik enantiomerében dúsított formája nyerhető ki, amennyiben a koncentrációgradiens hajtotta passzív diffúziót egy nem-egyensúlyi szakaszában szakítjuk meg.

Mivel a szelektormolekulák a membránon belül gyakorlatilag „rögzített” állapotban vannak, így a vendégmolekulákkal reverzibilis komplexet képezve azok membrándiffúziója gátolható. Amennyiben a gazdamolekula eltérő termodinamikai vagy kinetikai stabilitású komplexet képez a vendégmolekula-enantiomerekkel és az okozott gátló hatás a membránátmenet szempontjából optimális mértékű, a gátlás és ezáltal a membránáthaladás egyaránt sztereoselektivitást mutat. Túl nagy komplexstabilitási állandó esetén a korai membrántelítést követően a fennmaradó anyaghányad szelektivitás nélkül haladhat át a membránon, míg ellenkező esetben a koncentrációkülönbségek okozta hajtóerő elnyomja a diasztereomer komplexek stabilitásbeli különbségeit. A komplexképzés szempontjából kedvezményezett, a gazdamolekula homokirális preferenciájának megfelelő térszerkezetű izomer membránáthaladása során többször, vagy hosszabb ideig képez komplexet a szelektormolekulákkal, ennél fogva anyagtranszportja lelassul, míg a kevésbé kedvezményezett enantiomerpárjának passzív diffúziója kevésbé gátolt, így szabadabban haladhat át a membránon.

A fejlesztett folyadékmembrán-szeparációs eljárás segítségével sikerült megvalósítanunk néhány biogén amin modellvegyület 4-5 konsekutív membránpermeáció általi jelentős ($e_e > 80\%$) enantiomer-dúsítását, mely eljárás a későbbiekben könnyedén integrálható automatizált folyadékkezelő-, így különböző robotizált, nagy áteresztőképességű rendszerekbe.



7. Ábra. A PAMPA módszer átalakításával kapott enantiomerszeparációs rendszer felépítése

3. Kísérleti rész

A vegyületek előállítás és tisztítása során vékonyréteg-kromatográfiát, oszlopkromatográfiát, preparatív vékonyréteg-kromatográfiát, átkristályosítást, desztillációt és eldörzsölést alkalmaztunk. A vegyületek karakterizálását olvadáspont- és optikai forgatóképesség-mérés, továbbá IR-, $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ -spektroszkópiái, valamint MS-, illetve HRMS-spektrometriai, elemanalitikai és királis HPLC módszerek alkalmazásával végeztük. A gazdamolekulák komplexképzési sajátosságainak vizsgálatát UV/Vis, valamint fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel végeztük. A különböző fotofizikai és fizikokémiai állandók meghatározására spektrofotometriás titráláson alapuló globális nemlineáris regressziós módszereket alkalmaztunk. A paraméterek optimalizálása során a statisztikai kísérlettervezés módszereit alkalmaztuk. A többkomponensű ionoldatok összetételét ICP-OES segítségével, míg az enantiomerelegyek összetételét királis HPLC módszerrel határozták meg. Az elektrokémiai témakörben végzett

munka során potenciometriás mérőcellát, ikercsigás extrúdert, 3D-nyomatott és elektronmikroszkópos vizsgálatokat alkalmaztunk. Az optokémiai érzékelők fejlesztése kapcsán a hagyományos spektrofotométereken túl mikrotálca-olvasó berendezést (plate-reader) használtunk. A membránválasztási műveletek fejlesztése során általánosan alkalmazott folyadékmembrán-cellát és PAMPA-mikrotálca-rendszert használtunk.

4. Összefoglalás

Előállítottuk az Pb^{2+} -szelektív akridon-18-korona-6-éter új, decilláncot tartalmazó, lipofil analogonját, melyet PVC-membránba ágyazva alkalmaztunk Pb^{2+} potenciometriás analízisére pontosan jósolható jelképzés és kiemelkedően alacsony válaszidő mellett. Elsőként használtunk lágyított politejsav alapú polimermembránt ionszelektív elektródmembránok mátrixanyagaként. Ugyancsak elsőként alkalmaztunk 3D-nyomatási technológiát a potenciometriás

ionszelektív analízis területén, melynek során először állítottunk elő hozzáadott ioncserélő komponensből mentes ionszelektív membránokat a hagyományos membránok szorogatgyártható alternatíváiként.

Decilláncot tartalmazó, lipofil akridon-18-korona-6-éter ionofor felhasználásával egy új, nem-ioneqyensúly alapú koncepcióra építő optódot fejlesztettünk a hagyományos, lágyított polimermembránt tartalmazó ionszelektív optódok hátrányos működési sajátságai kiküszöbölésének érdekében. Ez az első lágyított polimermembrán alapú optód, amely ionos komponensektől mentes és pH-független működést ($4,3 < \text{pH} < 7,0$) mutat, továbbá az első mikrotálca alapú direkt érzékelő Pb^{2+} optokémiai analízisére. Igazoltuk, hogy a szenzor a válaszjel linearitásának és érzékenységének rovására kiemelten hatékony regenerálhatóságot mutat és példátlan analitikai teljesítmény mellett képes megvalósítani Pb^{2+} -tartalmú környezeti- és szennyvízminták ultra nagy áteresztőképességű analízisét.

Előállítottunk új 4,5-dimetilénakridin-egységet tartalmazó makrociklus analogonokat, melyek alapváza Zn^{2+} -szelektivitást mutat. Az allilsoportokat tartalmazó származékból kopolimerizáció útján regenerálható szenzormembrán-réteget képeztünk spektrofotometriás küvetával kompatibilis kvarcüveglap felületén, mely hordozható eszköz segítségével bármely rutin spektrofotométer közvetlenül Zn^{2+} -szelektív szenzorral alakítható. A módszer lehetővé teszi Zn^{2+} -tartalmú vizes oldatok perturbációmentes analízisét specifikus műszerigény nélkül.

A PAMPA-mikrotálca-rendszer újszerű átalakításával folyadékmembrán alapú enantiomerdúsítási eljárást fejlesztettünk racém biogén aminok nagy áteresztőképességű sztereoselektív elválasztásának céljából. A membránfázisban rögzített szelektormolekulák jelenléte a passzív diffúzió hajtotta folyamat enantiomerszelektív membránretencióját eredményezte, mely konzekutív elválasztási lépések révén lehetővé tette a vendégmolekulák mikromoláris léptékű akceptoroldali dúsítását a szelektormolekula által kevésbé kedvezményezett enantiomerben. Az eljárás könnyedén integrálható automatizált folyadékkezelő eszközökkel és egyéb nagy áteresztőképességű eljárásokkal.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet Dr. Balogh György Tibor aktív közreműködéséért a nagy áteresztőképességű eljárások fejlesztése kapcsán. Köszönet továbbá Ster Dánielnek és Vezse Pannának a kísérleti munka, illetve a kézirat elkészítése során nyújtott érdemi segítségükért. A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH ny. sz.: K128473) és az Új Nemzeti Kiválóság Program (ny. sz.: ÚNKP-19-3) pályázatai támogatták.

Hivatkozások

- Prasher, P.; Sharma, M. *MedChemComm* **2018**, *9*, 1589–1618. <https://doi.org/10.1039/C8MD00384J>
- You, L.; Zha, D.; Anslyn, E. V. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7840–7892. <https://doi.org/10.1021/cr5005524>
- Huszthy, P.; Samu, E.; Vermes, B.; Mezey-Vándor, G.; Nógrádi, M.; Bradshaw, J. S.; Izatt, R. M. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1491–1504. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)01128-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)01128-4)
- Huszthy, P.; Köntös, Z.; Vermes, B.; Pintér, Á. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4967–4975. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)00408-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)00408-2)
- Prodi, L.; Bolletta, F.; Montalti, M.; Zaccaroni, N.; Huszthy, P.; Samu, E.; Vermes, B. *New J. Chem.* **2000**, *24*, 781–785. <https://doi.org/10.1039/b004600k>
- Bakker, E.; Bühlmann, P.; Pretsch, E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 3083–3132. <https://doi.org/10.1021/cr940394a>
- Maksymiuk, K.; Stelmach, E.; Michalska, A. *Membranes* **2020**, *10*, 266–279. <https://doi.org/10.3390/membranes10100266>
- Cardoso, R. M.; Mendonça, D. M.; Silva, W. P.; Silva, M. N.; Nossol, E.; da Silva, R. A.; Richter, E. M.; Muñoz, R. A. *Anal. Chim. Acta*, **2018**, *1033*, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.021>
- Lamb, J. D.; Izatt, R. M.; Garrick, D. G.; Bradshaw, J. S.; Christensen, J. J. *J. Membr. Sci.* **1981**, *9*, 83–107. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(00\)85119-4](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(00)85119-4)
- Yourd, E. R.; Tyson, J. F. *Can. J. Chem.* **2003**, *81*, 1061–1069. <https://doi.org/10.1139/v03-130>
- Szalay, L.; Farkas, V.; Vass, E.; Hollósi, M.; Móczár, I.; Pintér, Á.; Huszthy, P. *Tetrahedron: Asymm.* **2004**, *15*, 1487–1493. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.03.024>
- Németh, T.; Kormos, A.; Tóth, T.; Balogh, G. T.; Huszthy, P. *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 1291–1297. <https://doi.org/10.1007/s00706-015-1454-3>
- Németh, T.; Golcs, Á.; Leveles, I.; Tóth, T.; Vértessy, B. G.; Huszthy, P. *Structural Chemistry* **2015**, *26*, 1467–1471. <https://doi.org/10.1007/s11224-015-0657-x>
- Golcs, Á.; Horváth, V.; Huszthy, P.; Tóth, T. *Sensors* **2018**, *18*, 1407–1420. <https://doi.org/10.3390/s18051407>
- Golcs, Á.; Ádám, B. Á.; Horváth, V.; Tóth, T.; Huszthy, P. *Molecules* **2020**, *25*, 2571–2593. <https://doi.org/10.3390/molecules25112571>
- Golcs, Á.; Kovács, K.; Vezse, P.; Tóth, T.; Huszthy, P. *Molecules* **2021**, *26*, 4043–4063. <https://doi.org/10.3390/molecules26134043>
- Golcs, Á.; Ádám, B. Á.; Vezse, P.; Huszthy, P.; Tóth, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, *2021*, 2485–2497. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202100291>
- Golcs, Á.; Kovács, K.; Vezse, P.; Huszthy, P.; Tóth, T. *J. Fluoresc.* **2022**, *32*, 473–481. <https://doi.org/10.1007/s10895-021-02851-9>
- Golcs, Á.; Vermes, B.; Siwek, D. C.; Huszthy, P.; Tóth, T. *J. Appl. Electrochem.* **2022**. <https://doi.org/10.1007/s10800-022-01706-w>
- Golcs, Á.; Dargó, G.; Balogh, G. T.; Huszthy, P.; Tóth, T. *Anal. Chim. Acta* **2021**, *1167*, 338586–338596. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338586>
- Golcs, Á.; Kovács, K.; Vezse, P.; Bezúr, L.; Huszthy, P.; Tóth, T. *Methods Appl. Fluoresc.* **2022**, *10*. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ac6ecb>

Synthesis, molecular recognition and application of macrocycles containing acridine or acridone unit

The selective binding of a substrate by a receptor is based on the “molecular information” determined by the properties of the interacting partners. This phenomenon can be realized by receptors with electronic and steric properties, which are complementary to those of a substrate, thus a dynamically organized complex, a so-called “supramolecule” can be formed by secondary binding forces. Synthetic host molecules - like crown ethers - in supramolecular chemistry are able to perform diverse functions attributed to their molecular recognition ability, which can be utilized in creating potentially useful materials for various sectors of technology. Similarly to biological systems, macrocycles can be embedded in synthetic membranes for practical applications.

The resulting receptor units attached to a solid carrier can pave the way for the development of component-specific chemical sensors and selectors with a wide variety of target functionalities.

Our work involves the synthesis, application-oriented study and interdisciplinary use of new macrocycles containing acridine or acridone units. The primary goal was to overcome the typical limitations of conventional supramolecular interaction-based molecular sensor and selector applications through the membrane-based applications of the new host molecules and the introduction of novel concepts in their applications.

Results are classified according to the topics of electro- and optochemical analysis and liquid membrane separation.

Compounds containing an acridone or acridine moiety have long been used in analytical chemistry as building blocks, fluorescent indicators, reagents or signaling units of optochemical sensor molecules. The first crown ethers containing an acridone or an acridine unit were synthesized by *Huszthy* and coworkers in the late 1990s. Over the years, this research has shown that due to the soft nucleophilic nitrogen atom of the tricyclic ring, the rigid structure and the extensive π -electron system of the macrocycle backbone, this family of host compounds is primarily suitable for the recognition of heavy metal ions, especially for Pb^{2+} , and shows higher selectivity in the enantiomeric recognition toward small molecules of biogenic protonated primary amines than several heterocyclic crown ether analogues.

The two largest groups of chemical sensors based on the exploitation of supramolecular interactions are the electro- and optochemical sensors. These methods are traditionally based on the application of ionophore-containing polymer membranes with significant differences in the instrumental implementation responsible for signal-induction and -conversion. Although both of the former applications have been the subject of intense scientific interest for decades, in the case of electrochemical sensors the difficult individual manufacturing and the required electrical conductivity of ion-selective membranes, while in the case of optochemical sensors the presence of ionic components in membranes, the pH-dependent, ion-exchange equilibrium-based signal induction, the associated poor regenerability and the slow response time are the biggest challenges in development. Despite many efforts, these limitations still significantly hinder the widespread use of these methods in everyday practice.

A number of processes for liquid membrane-based enantioseparation has also been developed in recent decades. Most of these works are primarily aimed to investigate biological systems as well as to preliminarily study and optimize the parameters of methods using more complex technological implementations based on simplified fluid membrane cell experiments. In addition to the latter roles, enantioselective crown ethers may be suitable for a high-throughput enantioenrichment of optically active bio-

genic amines in a microtiter plate-based liquid membrane separation process, which is a perspective of industrial significance involving a number of unsolved tasks.

We have prepared a new lipophilic Pb^{2+} -selective acridono-18-crown-6 ether, which was embedded in a PVC membrane and successfully applied for the potentiometric analysis of Pb^{2+} with well-predictable signaling and remarkably short response time. We used plasticized polylactic acid-based polymer membrane as a matrix material for ion-selective electrode membranes for the first time. We were also the first to introduce 3D-printing technology in potentiometric ion-selective analysis and to produce ion-selective membranes free of added ion-exchange components as series-producible alternatives to conventional membranes.

We have developed an ion-selective optode by using a membrane-incorporated lipophilic acridono-18-crown-6 ether ionophore, which sensor was operated according to a novel non-equilibrium-based concept to overcome the disadvantages of conventional sensors containing a plasticized polymer membrane. It is the first plasticized membrane-based optode, which is ionic component-free and shows a pH-independent working range ($4.3 < pH < 7.0$), as well as the first microtiter plate-based direct type sensor for Pb^{2+} -selective optochemical analysis. We have demonstrated that the sensor exhibits highly efficient regenerability at the expense of linearity and sensitivity of the response signal, and is able to perform uHTS-analysis of Pb^{2+} -containing environmental and wastewater samples with an unprecedented analytical performance.

We have prepared some new macrocyclic analogues containing 4,5-dimethyleneacridine units, the backbone of which shows Zn^{2+} -selectivity. A sensor membrane layer was formed by the copolymerization of the macrocycle containing allyl groups on the surface of a quartz glass sheet compatible with a spectrofluorimetric cuvette, which can be used to convert any routine spectrofluorometer directly to a Zn^{2+} -selective chemosensor. The method enables the perturbation-free analysis of Zn^{2+} -containing aqueous solutions without the requirement of specific instrumentation.

A liquid membrane-based enantioenrichment process by a novel modification of the PAMPA system was developed. Extending previous solution-phase and liquid membrane-transport studies, lipophilic phenylacridino macrocycles with proper enantiomeric recognition ability toward biogenic amines were immobilized in a dodecane-dodecanol-based liquid membrane, then integrated into a microtiter plate system. Subsequently, the kinetics of membrane permeation of the amine enantiomers as well as the structure-activity relationships were studied and the physicochemical parameters of the process were thoroughly optimized. According to the studies, the presence of the immobilized chiral selector molecules resulted in an enantioselective membrane retention between the donor and acceptor phases of the microtiter plate system, which allowed the enantioenrichment of various amine, amino acid, and other neurotransmitter derivatives on a micromolar scale. We were able to achieve significant ($ee > 80\%$) enantioenrichment of some biogenic amine model compounds by applying the developed liquid membrane separation method during 4-5 consecutive membrane permeation steps. The novel technique can easily be integrated into automated liquid handling systems, such as various robotic high-throughput platforms.