

**Szegedi Tudományegyetem**  
**Gyógyszerésztudományi Kar**  
**Gyógyszertudományok Doktori Iskola**  
**Programvezető: Prof. Dr. Hohmann Judit**  
**Farmakognóziai Intézet**  
**Témavezetők: Prof. Dr. Csupor Dezső és Dr. Kiss Tivadar**

**Kovács Balázs**

## ***Az *Ambrosia artemisiifolia* kémiai és farmakológiai vizsgálata***

Doktori értekezés tézisei

### **Komplex Vizsga Bizottság:**

**Elnök:** Prof. Dr. Hohmann Judit

**Tagok:** Prof. Dr. Hunyadi Attila, Prof. Dr. Janicsák Gábor

### **Bírálni bizottság:**

**Elnök:** Prof. Dr. Ilisz István

**Opponensek:** Dr. Boldizsár Imre, Dr. Benesik Tímea

**Bizottság tagja:** Dr. Sztojkov-Ivanov Anita

**Titkár:** Dr. Budai-Szűcs Mária



## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

- I. **Kovács B**, Szemerédi N, Kúsz N, Kiss T, Csupor-Löffler B, Tsai Y. C, Rác B, Spengler G & Csupor D.  
Antiproliferative and cytotoxic effects of sesquiterpene lactones isolated from *Ambrosia artemisiifolia* on human adenocarcinoma and normal cell lines  
*Pharmaceutical Biology* **2022**, 60(1): 1519  
Scopus – Complementary and Alternative Medicine; SJR: Q1 IF: 3.8
- II. **Kovács B**, Szemerédi N, Csikós O, Kiss T, Veres K, Spengler G, Csupor-Löffler B & Csupor D.  
Chemical composition, antimicrobial and antiproliferative activity of the essential oil from *Ambrosia artemisiifolia* L.  
*Journal of Essential Oil Research* **2024**, 34 (1):42  
Scopus - Chemistry; SJR: Q2 IF:2.2 (2023)
- III. **Kovács B**, Püski P, Bajtel Á, Ferencz E, Csupor-Löffler B, Csupor D & Kiss T.  
Targeted screening and quantification of characteristic sesquiterpene lactones in *Ambrosia artemisiifolia* L. at different growth stages  
*Plants* **2024**, 13 (15): 2053  
Scopus – Plant Sciences; SJR: Q1 IF: 4.0 (2023)

A disszertációhoz felhasznált közlemények kumulatív impakt faktora: 10,0



## 1. BEVEZETÉS

A természetben megtalálható vegyületek kémiai és farmakológiai vizsgálata mellett a modern farmakognóziái kutatások célja a potenciálisan veszélyes és mérgező vegyületek azonosítása és biztonságossági vizsgálata. A fent említett kérdésekkel foglalkozó kutatások különösen annak fényében jelentősek, hogy egyes növényeket vagy növényi részeket még ma is a biztonságos felhasználásukra vonatkozó megfelelő tudományos háttér vagy empirikus ismeretek nélkül fogyasztanak.

A parlagfű vagy közönséges parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia* L.) az őszirózsafélék (Asteraceae) családjába tartozó, a Sonora-sivatagból (Amerikai Egyesült Államok) származó inváziós faj, amely elmúlt 150 évben Európában is elterjedt, főként mezőgazdasági és bolygatott területeken. Jóllehet néhány etnobotanikai forrás említést tesz arról, hogy az amerikai őslakosok a parlagfüvet bizonyos gyógyászati célokra felhasználták, ezek csak a néprajzi vonatkozásokkal foglalkoznak, és nem részletezik a farmakológiai hátteret. A parlagfű Európában soha nem képezte részét a népi gyógyászatnak, ugyanakkor gyógynövényként való felhasználata nemrégiben kezdődött és gyorsan terjed napjainkban is.

A szeszkviterpén-laktonok az Asteraceae család jellegzetes specifikus anyagcseretermékei. Ezek a természetben előforduló növényi metabolitok, amellyel, hogy szerkezetileg az egyik legváltozatosabb terpenoidcsoportot alkotják, számos biológiai aktivitással rendelkeznek, mint például citotoxikus, antiproliferatív, gombaellenes, antibakteriális és antiprotozoon aktivitás. A parlagfű által nagy mennyiségben termelt pollen erősen allergizáló hatású, amely emberek millióinak okoz szezonális nátha jellegű tüneteket. A növény jól ismert allergizáló potenciálja mellett a bőrön keresztüli expozíció kontakt dermatitist okozhat, amely reakcióért a növény szeszkviterpénlakton-tartalma felelős, amint azt korábban más, az Asteraceae családba tartozó fajok esetében is leírták. Kutatócsoportunk korábban a parlagfű föld feletti részeivel is végzett kísérletet patkányokon egy ún. ismételt dózisu toxicitási vizsgálatban. A parlagfűpüre szubkrónikus adagolása patkányok esetében csökkentette a máj enzimaktivitását, szignifikánsan csökkentette a máj tömegét és megemelte az agy tömegét a testtömeghez viszonyítva.

Jelen munkánk során az elsődleges cél az volt, hogy megvizsgáljuk a parlagfű föld feletti hajtásainak kémiai összetételét, különös tekintettel a szeszkviterpénlakton-tartalomra, beleértve az izolált vegyületek bioaktivitásának vizsgálatát. A másik célkitűzésünk az volt, hogy két különböző extrakciós módszert alkalmazva mind kvantitatívan, mind pedig kvalitatívan is megvizsgáljuk a parlagfű föld feletti hajtásában található illóolaj komponenseket, valamint

hogy feltárjuk a kinyert illóolaj bioaktivitását, beleértve annak lehetséges citotoxikus és antibakteriális hatását. A parlagfűben található szeszkviterpén-lakton-mennyiség szezonális változásának tanulmányozására egy olyan nagy teljesítményű folyadékkromatográfias módszer kifejlesztését tűztük ki célul, amely lehetővé teszi a növény különböző földrajzi eredetű, és különböző vegetációs periódusában gyűjtött, föld feletti részekből származó mintákban a szeszkviterpén-laktonok azonosítását és mennyiségi meghatározását. Jóllehet a parlagfű a jól ismert allergizáló hatása miatt nem tartozik a perspektivikusnak tartott gyógynövények közé, munkánk célja az volt, hogy tudományos eszközökkel feltárjuk a növény kémiai és farmakológiai jellemzőit, amelyek megkönnyíthetik a növény vagy egyes kivonatainak és vegyületeinek potenciális felhasználását.

## 2. CÉLKITŰZÉS

Kutatómunkánk célkitűzései a következők voltak:

- a parlagfűvel kapcsolatos irodalom áttekintése, érintve a növény botanikai, fitokémiai és farmakológiai jellemzőit leíró tudományos publikációkat;
- a növényben található specifikus metabolitok izolálása különböző kromatográfias módszereket felhasználva, elsősorban a szeszkviterpén-lakton-tartalomra fókuszálva;
- két különböző extrakciós technikát alkalmazva (vízgőzdesztilláció és mikrohullámú illóolaj-extrakció) a parlagfű föld feletti hajtásából illóolaj kinyerése, majd az illóolajban található komponensek azonosítása és összehasonlítása GC-FID és GC-MS módszerekkel;
- az izolált szeszkviterpén-laktonok és a kinyert illóolaj biológiai aktivitásának vizsgálata, a lehetséges citotoxikus, antiproliferatív és antimikrobiális hatásaikra összpontosítva;
- egy olyan HPLC módszer kidolgozása, amely lehetővé teszi a szeszkviterpén-laktonok azonosítását és mennyiségi meghatározását a parlagfű föld feletti hajtásában, valamint az említett vegyületek mennyiségének nyomon követését a különböző földrajzi eredetű és eltérő vegetációs időszakokban gyűjtött növényi mintákban.

### **3. ANYAG ÉS MÓDSZER**

#### **3.1 Szeszkviterpén-laktonok izolálása a parlagfű föld feletti hajtásából**

A parlagfű föld feletti hajtásából a szeszkviterpén-laktonok izolálása többlépcsős kromatográfiás módszerrel történt, ideértve a vákuum folyadék kromatográfiát, preparatív rotációs planáris kromatográfiát és a preparatív HPLC-t. A kivonat, a frakciók és tiszta vegyületek kvalitatív vizsgálatára vékonyréteg-kromatográfiát és analitikai HPLC-t alkalmaztunk. HPLC analízissel és NMR spektroszkópiával végeztük a vegyületek azonosítását és a szerkezetmeghatározását. A kivonás, izolálás, szerkezetmeghatározás módszereinek részletes ismertetése a jelen disszertációhoz tartozó [I] számú publikációban részletesen közlésre került (Kovács B et al. *Pharmaceutical Biology* 2022, **60**(1): 1519).

#### **3.2 Illóolaj kinyerése**

A parlagfű-illóolaj előállítására két módszert alkalmaztunk: a hagyományos vízgőzdesztillációt, valamint a mikrohullámú illóolaj-extrakciót. Az illóolaj összetevőit GC-FID és GC-MS segítségével azonosítottuk. A részletes módszerleírást a jelen disszertációhoz tartozó [II] számú publikációban ismertettük részletesen (Kovács B. et al. *Journal of Essential Oil Research* 2024, **34**(1):42). A különböző módszerekkel kinyert illóolajok mennyiségének és összetételének összehasonlító vizsgálatát, valamint az illóolajok antibakteriális és antiproliferatív hatásának vizsgálatát végeztük el.

#### **3.3 Az izolált szeszkviterpén-laktonok és kinyert növényi illóolaj antibakteriális és antiproliferatív aktivitása**

Az izolált szeszkviterpén-laktonokat és a vízgőzdesztillációval, illetve mikrohullámú illóolaj-extrakcióval kinyert illóolajat különböző biológiai hatásvizsgálatoknak vetettük alá. Az antimikrobiális és antiproliferatív aktivitás vizsgálatok kísérleti körülményeit a dolgozathoz tartozó [I]. és [II]. tanulmányok részletesen ismertetik.

#### **3.4. Az *A. artemisiifolia* szeszkviterpénlakton-tartalmának HPLC/DAD módszerrel végzett célzott szűrővizsgálata és mennyiségi meghatározása**

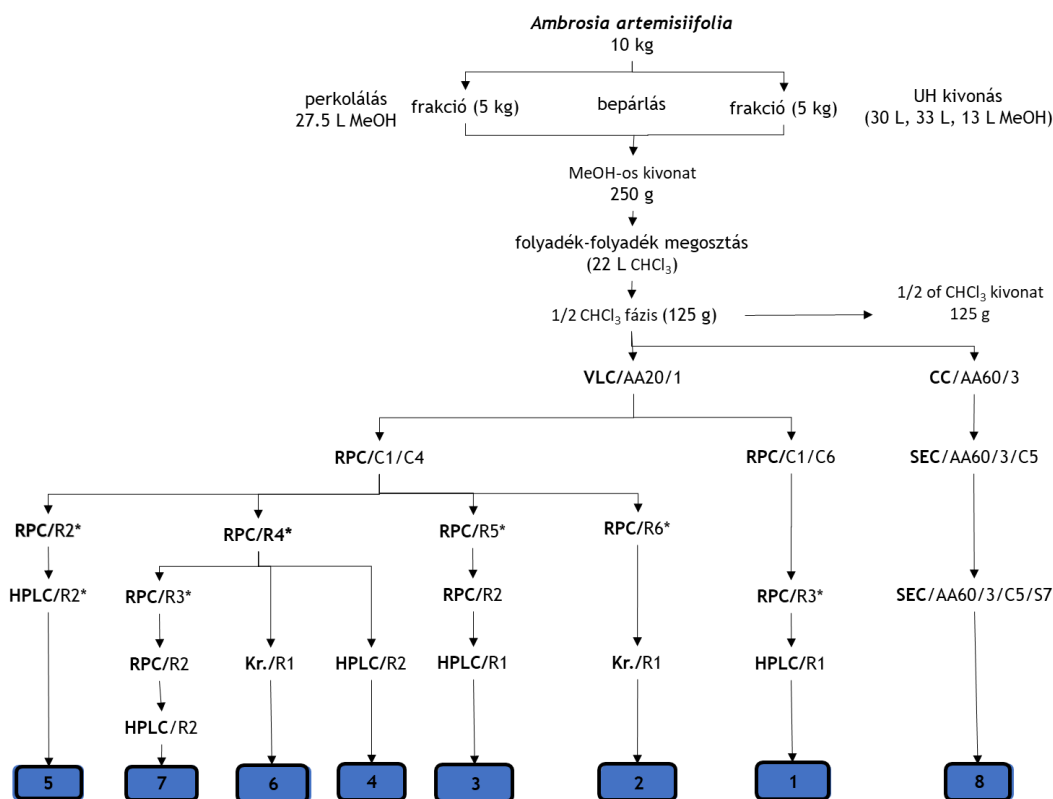
A markervegyületek célzott szűrővizsgálatát és azok mennyiségi meghatározását két gyűjtési helyről származó mintasorozaton végeztük el. Az eredményeket statisztikai módszerekkel értékeltük. A mintaelőkészítés, a HPLC/DAD elválasztási körülmények és a statisztikai elemzés módszertanának részletes leírását az értekezéshez tartozó [III]. számú közlemény tartalmazza (Kovács B. et al. *Plants-Basel* 2024, **13**(15): 2053).

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1 Az *Ambrosia artemisiifolia* szeszkviterpén-laktonjainak izolálása és azonosítása

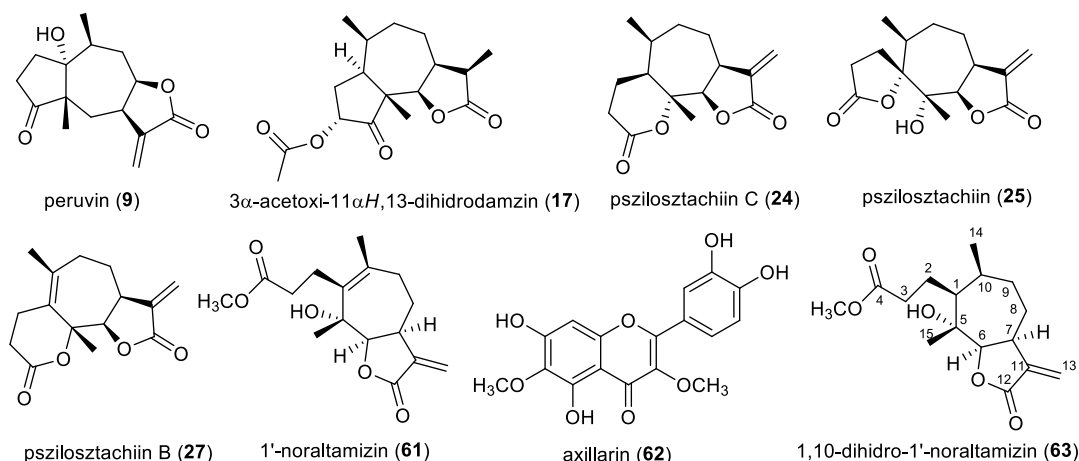
A fitokémiai vizsgálatok során az alkalmazott kromatográfiás tisztítási lépésekkel 8 vegyületet (1-8 vegyület) sikerült izolálni a parlagfű föld feletti hajtásának MeOH-os kivonatából. Az NMR és HR-MS spektrumok irodalmi adatokkal való összehasonlítása alapján a következő izolált vegyületeket azonosítottuk: az 1. vegyületet pszilosztachiin C-ként (**24**), a 2. vegyületet acetoxi-dihidrodamzinként (**17**), a 3. vegyületet peruvinként (**9**), a 4. vegyületet pszilosztachiinként (**25**), az 5. vegyületet 1'-noraltamizinként (**61**), a 6. vegyületet pszilosztachiin B-ként (**27**), a 8. vegyületet pedig axillarinként (**62**).

A 7. vegyületet az NMR és MS spektrumok alapján egy ritka *szeko*-pszilosztachinolidként azonosítottuk, és 1,10-dihidro-1'-noraltamin nevet kapta (**63**). A 7. vegyületet kutatócsoportunk elsőként izolálta, és a <sup>1</sup>H és <sup>13</sup>C NMR spektrumát először sikerült teljes egészében megfejteni.



1. ábra Parlagfűből izolált szeszkviterpén-laktonok





2. ábra A parlagfűből izolált szeszkviterpén-laktonok szerkezeti képlete

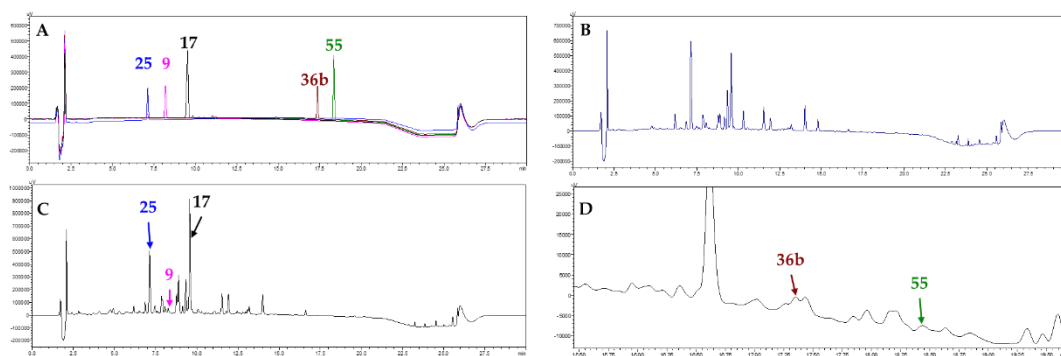
#### 4.2 *Ambrosia artemisiifolia* illóolaj kinyerése és jellemzése

A hagyományos vízgőzdesztillációs technikával 0,13% illóolaj-mennyiséget sikerült kinyernünk az *A. artemisiifolia* föld feletti részeiből (száritott növényi anyagra becsülve). A parlagfű illóolaj-komponenseit GC-FID és GC-MS segítségével vizsgáltuk. A GC-MS elemzést követően 73 komponenst azonosítottunk, amelyek az összillóolaj-tartalom 91,19%-át tették ki. Az illóolaj nagyrészt terpénekből állt, amelyben 74,40%-ban szeszkviterpén (ebből 31,91% oxigéntartalmú származék és 39,49% szénhidrogén) és 19,78%-ban monoterpén (ebből 8,72% szénhidrogén és 11,06% oxigéntartalmú monoterpén származék) található. A főkomponensek közül a germakrén D (18,81%), a spatulenol (6,98%), a kariofillén-oxid (6,45%), a mirtenál (4,3%) és a transz-β-ocimén (2,89%) voltak megtalálhatók. Ez az öt vegyület a teljes illóolaj mennyiség 39,43%-át tette ki, míg a monoterpén szénhidrogének (8,78%) és az oxigéntartalmú monoterpén-származékok (11,06%) kisebb mennyiségben fordultak elő.

A mikrohullámú illóolaj-extrakció eltérő illóolaj-összetételt eredményezett: a szeszkviterpének (39,91%) mellett az oxigéntartalmú monoterpén-származékok mennyisége volt a legnagyobb, ezek az összes illóolaj-tartalom 30,60%-át tették ki. A borneol (7,17%) és a bornil-acetát (8,76%) mint a legnagyobb mennyiségben előforduló oxigéntartalmú monoterpén-származék, míg a germakrén D (25,22%) mint legnagyobb mennyiségben előforduló szeszkviterpén volt jelen. A vízgőzdesztillációt követően a kohobációs víz összetevőit *n*-hexánnal történő folyadék-folyadék extrakció után vizsgáltuk. Ennek a fázisnak 81,97%-át oxigéntartalmú monoterpén-származékok tették ki, amelyek közül a legnagyobb mennyiségben borneol (36,67%) és a transz-verbenol (18,07%) fordult elő. A terpenoidok mellett kisebb mennyiségben a következő komponenseket is sikerült azonosítani: eugenol (1,91%) mint fenilpropanoid-származék.

### 4.3 Az *Ambrosia artemisiifolia* szeszkviterpén-laktonjainak célzott vizsgálata és mennyiségi meghatározása

Öt markervegyületet, a pszilosztachiint (**25**), a peruvint (**9**), az acetoxi-dihydrodamzint (**17**), a kosztunolidot (**36b**) és az izoalantolaktont (**55**) vizsgáltunk kvalitatív és kvantitatív módon az általunk kifejlesztett HPLC/DAD módszerrel, Magyarország két különböző régiójából, június és október között gyűjtött mintákból (parlagfű föld feletti hajtása). A HPLC-módszer lehetővé tette ezen vegyületek pontos kvantitatív és kvalitatív jellemzését a parlagfű mintákban (**3. ábra**).



**3. ábra.** A markerként használt vegyületek (A) és a nyers kivonatok (B, C és D) HPLC-kromatogramja 210 nm-en. (**25**: pszilosztachiin, **9**: peruvín, **17**: acetoxi-dihydrodamzín, **36b**: kosztunolid, **55**: izoalantolakton).

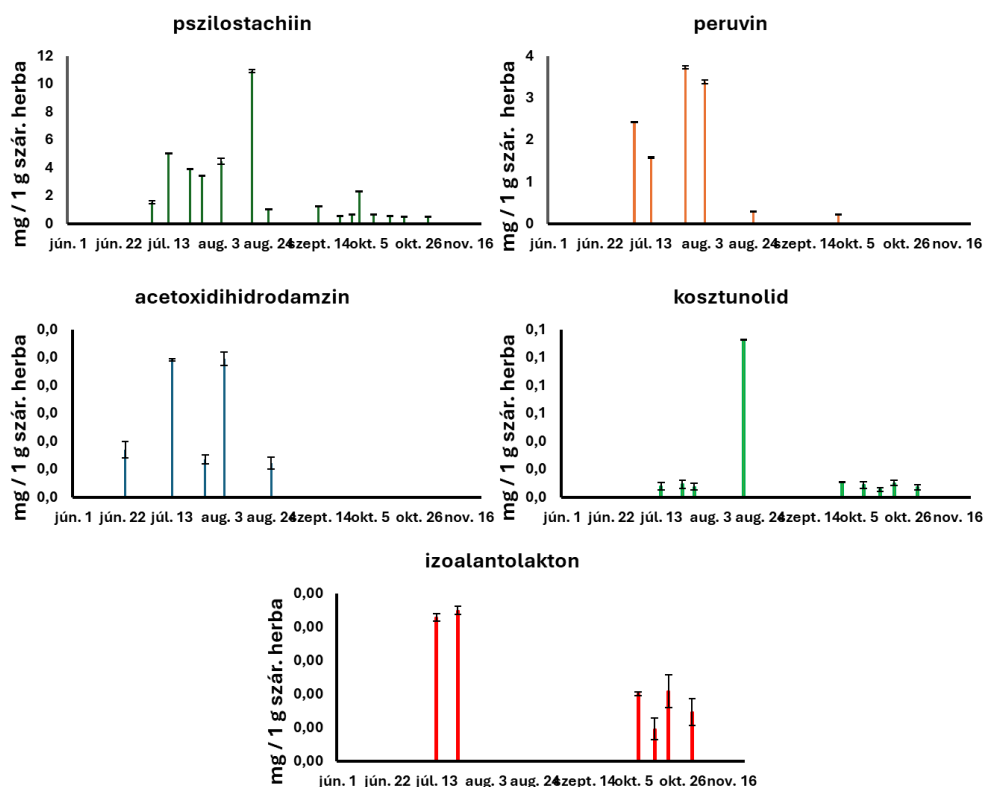
A kalibrációs egyenes felvételéhez 8-10 kalibrációs pontot használtunk. A kalibrációs egyenesek korrelációs együtthatója megközelítőleg 0,997 volt. Az analitikai rendszer megbízhatóságának értékeléséhez a referenciaként használt standardok kombinációját négy-mást követően négy-szer injektáltuk. A csúcs alatti területek (AUC) és a retenciós idők alacsony relatív standard deviációs (RSD%) értékei, valamint a csúcsok elnyúló aszimmetriáját jellemző ún. tailing faktorok azt mutatják, hogy a rendszer alkalmas ezen anyagok mérésére (**1. táblázat**).

**1. táblázat.** A kalibrációs egyenes jellemzői, a kimutatási és a mennyiségi meghatározási határértékek, valamint a rendszer alkalmassági vizsgálat eredményei. (LOD: kimutatási határ, LOQ: meghatározási határ, RSD: relatív standard deviáció, RT: retenciós idő).

Vegyület	LOD (µg/inj)	LOQ (µg/inj)	Kalibrációs pontok	Kalibrációs tartomány (µg/inj)	Regressziós egyenlet	AUC (RSD%)	Tailing faktor	RT (RSD%)
pszilosztachiin ( <b>25</b> )	0,04155	0,12590	9	0,02–20,00	$y = 621593,7970x - 150728,6813$ $R^2 = 0,9970$	1,00	0,876–1,224	0,16
peruvín ( <b>9</b> )	0,06877	0,20841	9	0,05–4	$y = 4929518558x - 46339884$ $R^2 = 0,9999$	0,78	0,947–1,216	0,11
acetoxi-dihydrodamzín ( <b>17</b> )	0,02688	0,08121	10	0,02–5	$y = 1178552,7162x + 52571,8051$ $R^2 = 0,9992$	0,54	1,081–1,110	0,13
kosztunolid ( <b>36b</b> )	0,17653	0,53496	8	0,02–2,5	$y = 417313,4111x - 32627130$ $R^2 = 0,9999$	0,78	1,108–1,789	0,12
izoalantolakton ( <b>55</b> )	0,07902	0,23947	8	0,02–2,5	$y = 851443,9139x + 6909,0185$ $R^2 = 0,9999$	0,29	1,108–1,239	0,11

#### 4.4 A szeszkviterpén-laktonok mennyiségi meghatározása

A szegedi és nyíri mintákban mért markervegyületek koncentrációját a 4-5. ábrán tüntettük fel. A június és október között, Szeged környékén begyűjtött hajtások jellemzően pszilosztachiint (25) (0,02–0,10 mg/g) és peruvint (9) (0,210–3,729 mg/g) nagyobb mennyiségben, míg acetoxidihidrodamzint (17) (0,499–10,917 mg/g), kosztunolidot (36b) (0,499–10,917 mg/g) és izoalantolaktont (55) (0,019–0,090 mg/g) kisebb mennyiségben tartalmaztak. A Nyíri környékén gyűjtött mintákban az acetoxi-dihidrodamzin (17) és kosztunolid (36b) volt jelen alacsonyabb koncentrációban, míg a pszilosztachiin (25) és a peruvin (9) mennyisége volt a legnagyobb (26,66 mg/g és 4,80 mg/g), izoalantolaktont (55) pedig nem tartalmazott ez a mintasorozat. Összeségében a szegedi minta szeszkviterpénlakton-tartalma alacsonyabb volt a nyíri mintához viszonyítva. A különbség a pszilosztachiin (25), peruvin (9) és acetoxidihidrodamzin (17) esetén szignifikáns volt, míg a különbség a kosztunolid (36b) és izoalantolaktont (55) esetén nem volt szignifikáns.



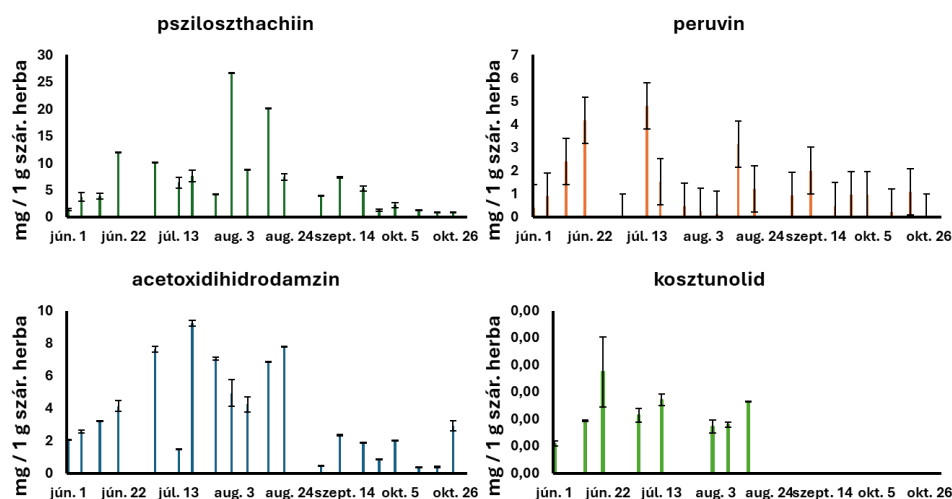
4. ábra A Szeged környékén, június és október között gyűjtött *Ambrosia artemisiifolia* minták szeszkviterpénlakton-koncentrációja.

Jellegzetes időbeli mintázat figyelhető meg a szeszkviterpénlakton-koncentráció változásában. Általában július végén és augusztus közepén figyelhető meg a legmagasabb koncentráció. A két különböző helyen gyűjtött növényben a koncentrációváltozásban eltérő mintázat figyelhető

meg. A szegedi mintában a főbb markervegyületek – pszilosztachiin (**25**) és peruvín (**9**) – július második felében és augusztus első felében érték el a legmagasabb koncentrációt. A pszilosztachiin (**25**) és a kisebb mennyiségben előforduló kosztunolid (**36b**) koncentrációváltásában ugyanazt a trendet figyelhetjük meg. A nyíri mintákban a markervegyületek koncentrációja a vegetációs periódus korábbi szakaszában elérte a csúcst, majd augusztus elején a nagyobb mennyiségben előforduló markervegyületek szignifikáns csökkenést mutattak (pszilosztachiin, peruvín és izoalantolakton).

A legnagyobb mennyiségben előforduló markervegyület, a pszilosztachiin (**25**) koncentrációja a szegedi mintában augusztus elején, míg a nyíri mintában augusztus közepén érte el a maximumot. A szegedi mintában folyamatos emelkedés figyelhető meg augusztus közepéig, majd ezután augusztus végére lecsökken a koncentráció. A pszilosztachiin (**25**) koncentrációjában jelentős kiugrásokat lehet megfigyelni augusztus elején és a hónap második felében, majd a koncentráció október végéig folyamatosan csökken. A nyíri mintában a pszilosztachiin (**25**) legmagasabb koncentrációértéke 26,66 mg/g. Ezzel szemben, az ugyanabban az időpontban gyűjtött szegedi minta jelentősen kevesebb pszilosztachiint (**25**) tartalmaz (10,92 mg/g). Az izoalantolakton (**55**) olyan minor komponens, amely a meghatározási határ alatt volt jelen a szegedi mintákban, míg a nyíri mintákban nem volt kimutatható ez a vegyület. A kosztunolid (**36b**) viszont mindkét mintasorozatban nagyon alacsony koncentrációban fordult elő (0,06–1,13 mg/g). A szeszkviterpén-laktonok legmagasabb koncentrációértéke mindkét gyűjtési helyen a virágzási periódusra tehető: június végétől (2021. június 23.) szeptember utolsó hetéig (2021. szeptember 21).

Az acetoxi-dihidrodamin (**17**) szintje júniustól októberig 0,39 és 9,23 mg/g között volt mérhető. A legmagasabb értéket július közepén, míg a legalacsonyabb értéket (0,39 mg/g) október utolsó hetében gyűjtött mintában mértük (**5. ábra**). A peruvín (**9**) koncentrációja 0,01 mg/g (július 4.) és 4,80 mg/g (július 13.) között mozgott a nyíri mintákban. Ezzel szemben a szegedi mintában a legnagyobb mennyiséget a júliusi végén (3,73 mg/g) és augusztus első hetében (3,38 mg/g) gyűjtött mintában mértük (**4. ábra**).



5. ábra A Nyíri környékén, június és október között gyűjtött *Ambrosia artemisiifolia* szeszkviterpénlakton-koncentrációja.

A szegedi és nyíri mintákban mért markervegyületek koncentrációjában szignifikáns különbség írható le: psilosztachiin (**25**) ( $t(2)=6,32$ ,  $p<0,001$ ), peruvin (**9**) ( $t(2)=3,69$ ,  $p<0,001$ ), acetoxidihidrodamin (**17**) ( $t(2)=11,93$ ,  $p<0,001$ ) és kosztunolid (**36b**) ( $t(2)=6,32$ ,  $p<0,001$ ). A nyíri mintasorozatban nem volt izoalantolakton (**55**).

A HungaroMet adatbázisából meteorológiai adatokat gyűjtöttünk össze a hőmérsékletre (napi átlagos, legalacsonyabb, legmagasabb hőmérséklet), globálsugárzásra, és csapadékmennyiségre vonatkozóan (<http://odp.met.hu>). Pearson-féle korreláció számításával vizsgáltuk meg a szeszkviterpén-laktonok koncentrációja és az egyes meteorológiai paraméterek közötti összefüggést. Ezen statisztikai számítás alapján gyenge-közepes korreláció írható le a hőmérséklet és a vegyületek koncentrációja között. A nyíri minták esetén gyenge összefüggést kaptunk. Meglepő, hogy negatív vagy nem szignifikáns korreláció volt megfigyelhető a napi csapadékmennyiség és a markervegyületek szintje között a szegedi mintákban. Fontos megjegyezni azonban, hogy Szegeden csupán egyetlen nap volt csapadék a vizsgált időtartam alatt. Nem volt szignifikáns korreláció a globálsugárzás és a markervegyületek szintje között.

## 4.5 A szeszkviterpén-laktonok farmakológiai vizsgálata

### 4.5.1 Az izolált szeszkviterpén-laktonok antibakteriális aktivitása

A vizsgált vegyületek egyikénél sem figyelhető meg antibakteriális hatás. A vizsgált Gram-pozitív és -negatív baktériumtörzsek mindegyikénél a MIC érték meghaladta a 100  $\mu\text{M}$  értéket.

### 4.5.2 Az izolált szeszkviterpén-laktonok antiproliferatív és citotoxikus aktivitása

Az izolált vegyületek közül az acetoxi-dihydrodamzin esetén (17) 24 órás inkubálást követően citotoxikus aktivitás volt megfigyelhető,  $\text{IC}_{50} = 7,64 \pm 0,37 \mu\text{M}$  értékkel a doxorubicin-érzékeny (Colo 205) sejtvonalon. A pszilosztachiin C (24) mutatta a legerősebb citotoxikus hatást ( $\text{IC}_{50} = 26,6 \pm 0,48 \mu\text{M}$ ) a doxorubicin-érzékeny Colo 205 sejtvonalon, míg a pszilosztachiin (25) a multidrog-rezisztens Colo 320 sejtvonalon ( $\text{IC}_{50} = 17,7 \pm 0,20 \mu\text{M}$ ). A hasonló *szeke*-származék szerkezetű pszilosztachiin B (27) nem mutatott citotoxikus hatást a vizsgált sejtvonalakon (2. táblázat). Az izolált flavonoid (axillarin (62)) 24 órás inkubálás után nem mutatott citotoxikus hatást a vizsgált sejtvonalakon (2. táblázat).

2. táblázat A parlagfűből izolált vegyületek citotoxikus hatása ( $\text{IC}_{50}$  érték,  $\mu\text{M}$ )

Vegyület	Sejtvonal		
	MRC-5	Colo205	Colo320
pszilosztachiin C (24)	52,69 $\pm$ 2,62	26,60 $\pm$ 0,48	28,71 $\pm$ 0,11
acetoxi-dihydrodamzin (17)	23,77 $\pm$ 1,06	7,64 $\pm$ 0,37	10,75 $\pm$ 0,22
peruvín (9)	11,89 $\pm$ 1,45	64,44 $\pm$ 1,78	82,37 $\pm$ 1,17
pszilosztachiin (25)	37,57 $\pm$ 2,51	24,50 $\pm$ 0,45	17,7 $\pm$ 0,2
1'-noraltamizin (61)	41,82 $\pm$ 2,43	42,43 $\pm$ 2,37	40,08 $\pm$ 1,31
pszilosztachiin B (27)	>100	>100	>100
1,10-dihidro-1'-noraltamizin (63)	>100	53,57 $\pm$ 0,87	86,59 $\pm$ 1,06
axillarin (62)	>100	>100	>100

Az  $\text{IC}_{50}$  értékek átlagát (n=3) és SD értékét tüntettük fel a táblázatban.

72 órás inkubációs időt követően az acetoxidihydrodamzin (17) esetén volt megfigyelhető a legmarkánsabb antiproliferatív hatás mindkét adenokarcinoma sejtvonalon ( $\text{IC}_{50}$  értékek 5,14 $\pm$ 0,55  $\mu\text{M}$  a Colo 205-re és 3,67 $\pm$ 0,35  $\mu\text{M}$  a Colo 320-ra) (3. táblázat). Az axillarin (62) viszonylag alacsony dózisban ( $\text{IC}_{50} = 4,03 \pm 0,56 \mu\text{M}$ ) gátolta a humán embrionális tüdő fibroblaszt sejtek proliferációját, míg a pszilosztachiin B (27) esetén nem volt megfigyelhető aktivitás. Az acetoxidihydrodamzin (17) szelektív citotoxicitást mutatott a humán vastagbélrák sejtvonalakkal szemben a humán embrionális tüdő fibroblaszt sejtekkel szemben (szelektivitási index [SI] = 3,11). A pszilosztachiin (25) és a pszilosztachiin B (27) jelentős szelektivitást mutatott az MRC-5 sejtvonallal szemben (SI = 3,04 és SI = 4,98), bár a Colo320 multidrog-rezisztens sejtvonalon sejtnövekedést gátló hatásuk is megfigyelhető volt ( $\text{IC}_{50} = 8,78 \pm 0,22 \mu\text{M}$ , illetve 5,29  $\pm$  0,15  $\mu\text{M}$ ).

**3. táblázat** A parlagfűből izolált vegyületek antiproliferatív hatása (IC<sub>50</sub> érték, µM)

Vegyület	Sejtvonal		
	MRC-5	Colo205	Colo320
pszilosztachiin C (24)	35,13 ± 4,03	15,61 ± 0,83	14,66 ± 0,82
acetoxi-dihidrodamin (17)	10,96 ± 0,31	5,14 ± 0,55	3,67 ± 0,35
peruvin (9)	26,42 ± 1,30	26,35 ± 1,12	21,19 ± 0,72
pszilosztachiin (25)	26,36 ± 0,81	10,99 ± 0,56	5,29 ± 0,15
1'-noraltamizin (61)	26,72 ± 0,51	14,37 ± 1,00	8,78 ± 0,22
pszilosztachiin B (27)	>100	>100	>100
1,10-dihidro-1'-noraltamizin (63)	39,78 ± 0,53	17,01 ± 1,99	34,51 ± 2,07
axillarin (62)	4,03 ± 0,56	66,75 ± 0,96	50,40 ± 2,98

Az IC<sub>50</sub> értékek átlagát (n=3) és SD értékét tüntettük fel a táblázatban.

#### 4.5.3 A szeszkviterpén-laktonok ABCB1 efflux pumpa (P-glikoprotein) gátló hatása

A sejtpopuláció fluoreszcencia-intenzitásának értékelése után a FAR-értékek alapján egyik vegyület sem mutatott megfelelő gátló hatást. A vizsgált vegyületek FAR értékei 0,2 és 1,1 között mozogtak.

#### 4.5.4 Az izolált szeszkviterpén-laktonok és a doxorubicin közötti kölcsönhatások

Az 1,10-dihidro-1'-noraltamizin (63) és az axillarin (62) bizonyos koncentrációkban szinergista kölcsönhatást mutatott a doxorubicinnel. A pszilosztachiin C (24), acetoxi-dihidrodamin (17) és peruvin (9) adott koncentrációkban antagonistikus kölcsönhatást fejtett ki.

#### 4.5.5 A szeszkviterpén-laktonok hatása a bakteriális efflux pumpa (EP) működésére

Az izolált szeszkviterpén-laktonok közül egyik sem mutatott gátló hatást az EP funkcióra. Az RFI-értékek a kezeletlen mintához hasonlóak voltak, nulla körül mozogtak.

### 4.6. Az illóolajok farmakológiai aktivitása

#### 4.6.1 A parlagfű illóolajának antibakteriális aktivitása

A 4. táblázatban az illóolaj két Gram-pozitív és két Gram-negatív baktériumtörzsön kifejtett hatásának MIC értékét tüntettük fel. Mikrohígítási módszert alkalmazva, mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumoknál növekedési gátlást észleltünk; az illóolaj hatékonyan gátolta a *S. aureus* ATCC 25923 törzs (MCI = 0,015%) és a meticillin-rezisztens *S. aureus* ATCC 43300 törzs (0,25%) növekedését. Az illóolaj nem volt hatásos a vizsgált két Gram-negatív baktériumtörzsön: *E. coli* (MIC = > 1%) *K. pneumoniae* (MIC = > 1%).

**4. táblázat** A parlagfű illóolajának minimális gátló koncentrációi (MIC)

Törzs	MIC
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,015%
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 43300	0,25%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>1%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	>1%

A MIC értékek átlagát (n=3) és SD értékét tüntettük fel a táblázatban.

#### 4.6.2 A kinyert illóolaj hatása a bakteriális efflux pumpa (EP) működésére

A kísérleti eredmények alapján elmondhatjuk, hogy az *A. artemisiifolia* illóolaja nem csökkentette a Gram-negatív *K. pneumoniae* ATCC 700603 törzs efflux pumpa aktivitását (**5. táblázat**). Az RFI-értékek közel azonosak voltak a kezeletlen mintával. Az *E. coli* ATCC 25922 törzs esetében magasabb RFI-értékeket kaptunk azonos illóolaj-koncentráció mellett, a CCP-vel kezelt kontrollhoz viszonyítva, ugyanakkor dóziszfüggő gátló aktivitás volt megfigyelhető. A rezerpinnel összehasonlítva a Gram-pozitív baktériumokra vonatkozó RFI-értékek mindkét esetben nagyobbak voltak: *S. aureus* ATCC 25923 törzs esetén (RFI = 0,68) 0,0075%-os illóolajjal történő kezelés után és az MRSA törzs (RFI = 0,56) 0,125%-os parlagfű illóolajjal történő kezelést követően (**6. táblázat**).

**5. táblázat.** Valós idejű etidium-bromid akkumulációs vizsgálat két Gram-negatív baktériumtörzsvonalon (*E. coli* és *K. pneumoniae*).

Törzs	EO%	CCCP ( $\mu$ M)	RFI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,50		2,88
	1		3,75
		50	1,79
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	0,50		0,22
	1		0,15
		50	1,11

EO: illóolaj százalékban kifejezett koncentrációja; CCCP: karbonilcianid-*m*-klorofenilhidrazon RFI: relatív fluoreszcencia index.

**6. táblázat** Valós idejű etidium-bromid akkumulációs vizsgálat két Gram-pozitív baktériumtörzsvonalon (*S. aureus* és meticillin-rezisztens *S. aureus*).

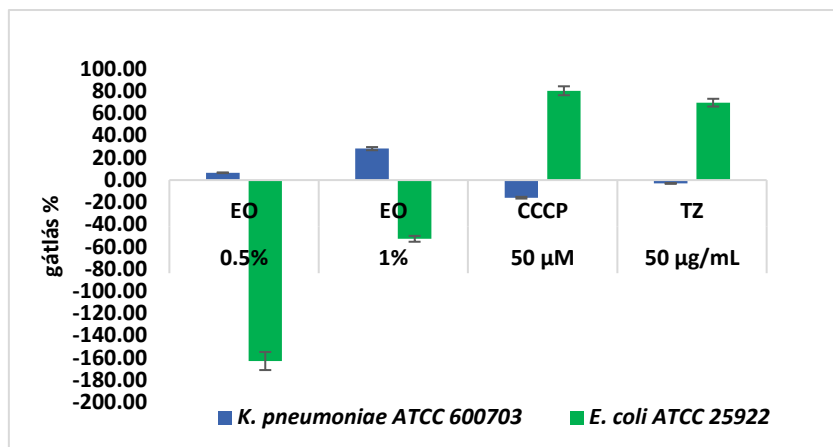
Törzs	EO%	REZ ( $\mu$ M)	RFI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,0075		0,68
		25	0,42
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 43300	0,125		0,56
		25	0,22

EO: illóolaj százalékban kifejezett koncentrációja; CCCP: karbonilcianid-*m*-klorofenilhidrazon REZ: rezerpin, RFI: relatív fluoreszcencia index.

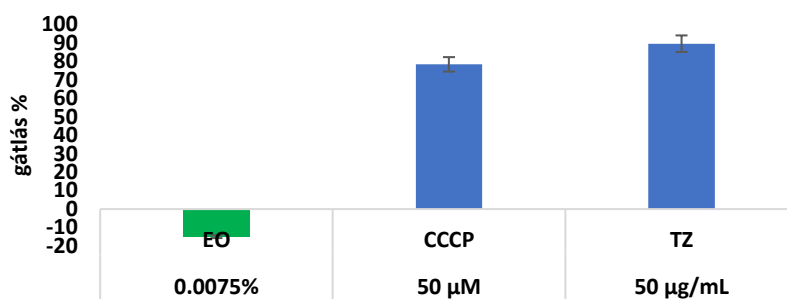
#### 4.6.3 Az illóolaj gátló hatása különböző baktériumtörzsek biofilmképzésére

Az magasabb koncentrációban alkalmazott illóolaj (0,5% és 1%) esetén nem volt megfigyelhető gátló hatás az *E. coli* ATCC 25922 törzs biofilmképzésére (**6. ábra**) a pozitív kontrollokhoz viszonyítva, míg ugyanez a koncentráció dóziszfüggő módon gátolta a *K. pneumoniae* ATCC 600703 törzs biofilmképzését (**6. ábra**). A Gram-festést követően, az alkalmazott MIC/2 illóolaj koncentrációk nem csökkentették a biofilmfejlődést a *S. aureus* ATCC 2593 (**7. ábra**) és a meticillin-rezisztens *S. aureus* ATCC 43300 törzs esetén sem (**8. ábra**).

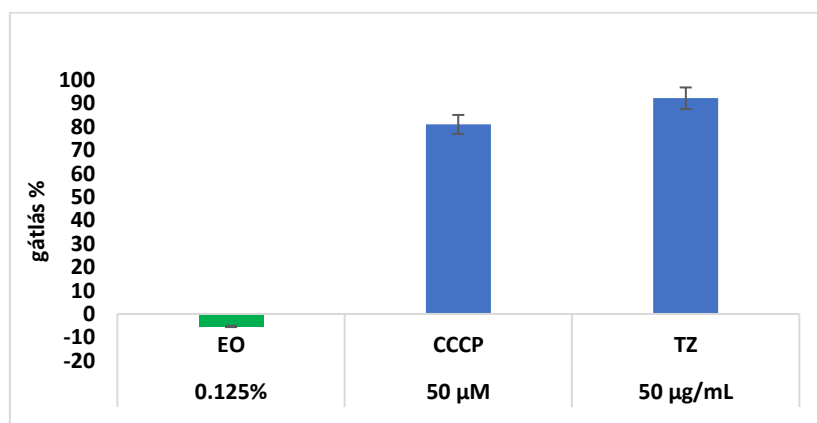




**6. ábra** Az *E. coli* ATCC 25922 törzs és a *K. pneumoniae* ATCC 600703 törzs biofilmképzésének csökkenése *A. artemisiifolia* illóolajának jelenlétében. (EO: illóolaj; CCCP: karbonilcianid-*m*-klorofenilhidrazon; TZ: thioridazine). Az oszlopdiagramon négy párhuzamos mérés átlag±SD értéke van feltüntetve.



**7. ábra** Az *S. aureus* ATCC 25923 törzs biofilmképzésének csökkenése *A. artemisiifolia* illóolajának jelenlétében (EO: illóolaj; CCCP: karbonilcianid-*m*-klorofenilhidrazon; TZ: thioridazin). Az oszlopdiagramon négy párhuzamos mérés átlag±SD értéke van feltüntetve.



**8. ábra** A *S. aureus* ATCC 43300 biofilmképzésének csökkenése *A. artemisiifolia* illóolajának jelenlétében (EO: illóolaj; CCCP: karbonilcianid-*m*-klorofenilhidrazon; TZ: thioridazin). Az oszlopdiagramon négy párhuzamos mérés átlag±SD értéke van feltüntetve.

#### 4.5.4 A parlagfű illóolaj citotoxikus és antiproliferatív hatása

A kinyert illóolaj erőteljes citotoxikus hatást fejtett ki az MDR (Colo 320) és a Colo 205 sejtvonalakra, amint azt a 24 órás inkubációs idő után kapott IC<sub>50</sub> értékek is mutatják (IC<sub>50</sub>: 0,0130% és 0,015%). Az MCF-7 sejtvonal esetén az illóolajjal történő rövid inkubálási időt követően 0,1605%-os IC<sub>50</sub> értékeket figyeltünk meg. Az A549 tüdőkarcinóma sejtvonal növényi illóolajjal történő kezelése alacsony gátlási koncentrációkat eredményezett, az IC<sub>50</sub> értékek 0,0413%-osak voltak. Az MRC-5 humán embrionális tüdő fibroblaszt sejtvonal esetén az IC<sub>50</sub> értékek egy nagyságrenddel magasabbak voltak (0,104%) (7. táblázat).

7. táblázat A meghatározott citotoxikus IC<sub>50</sub> értékek, különböző rákos és normál sejtvonalak esetén illóolajjal, doxorubicinnal és ciszplatinnal történő 24 órás kezelést követően.

	A549 AP	Colo 320 AP	Colo 205 AP	MCF-7 AP	MRC-5
<b>Illóolaj</b>	0,0413±0,0005 (%)	0,0103±0,0008 (%)	0,015±0,001 (%)	0,1605±0,0091 (%)	0,104±0,002 (%)
<b>Doxorubicin</b>	8,62 (μM)	4,03±0,89 (μM)	3,05±0,49 (μM)	2,11±0,08 (μM)	2,57±0,01 (μM)
<b>Ciszplatin</b>	>100 (μM)	13,32±0,49 (μM)	34,94±26,39 (μM)	17,68±0,31 (μM)	34,24±0,54 (μM)

Négy párhuzamos mérés IC<sub>50</sub> átlag±SD értéke van feltüntetve a táblázatban.

A parlagfűből kinyert illóolaj erős antiproliferatív aktivitást mutatott a két humán vastagbélrák sejtvonalon az MTT-teszt eredményei alapján. Ahogy a 8. táblázatban látható, az 1%-os kiindulási koncentrációjú illóolaj esetén a kapott IC<sub>50</sub> érték 0,054% volt a doxorubicin-érzékeny Colo 205 sejtekre. Az MDR Colo 320 sejtek esetében a sejtproliferáció 50%-os gátlásához szükséges koncentráció még alacsonyabb volt (0,008%). A sejtproliferáció mértéke lelassult az MCF-7 emlőrákos sejtvonal növényi illóolajjal történő kezelése esetén, és alacsony IC<sub>50</sub> értékek voltak megfigyelhetők (0,099%). Az adenokarcinóma humán alveoláris bazális hámsejtek 72 órán keresztül illóolajjal történő inkubálását követően a kapott IC<sub>50</sub> értékek 0,3086% voltak (8. táblázat).

8. táblázat Az antiproliferatív hatást jellemző IC<sub>50</sub> értékek, különböző rákos és normál sejtvonalak esetén illóolajjal, doxorubicinnal és ciszplatinnal történő 72 órás kezelést követően.

	A549 AP	Colo 320 AP	Colo 205 AP	MCF-7 AP	MRC-5
<b>Illóolaj</b>	0,3086±0,0235 (%)	0,008±0,000 (%)	0,054±0,005 (%)	0,099±0,011 (%)	0,091±0,002 (%)
<b>Doxorubicin</b>	0,060±0,01	0,22±0,03	0,48±0,03	0,02±0,01	0,31±0,03
<b>Ciszplatin</b>	3,16±0,05	3,68±0,14	28,82±2,51	10,85±0,05	1,66±0,06

Négy párhuzamos mérés IC<sub>50</sub> átlag±SD értéke van feltüntetve a táblázatban.

## 5. MEGBESZÉLÉS

Jelen munka célkitűzései közé a következők tartoztak: szeszkviterpén-laktonok izolálása és illóolaj kinyerése az *A. artemisiifolia* föld feletti hajtásából, majd ezek farmakológiai aktivitásának vizsgálata, valamint a különböző parlagnfű minták szeszkviterpénlakton-tartalmának mérése. A vegyületek izolálásához különböző kromatográfiás technikákat alkalmaztunk, mint például légköri oszlopkromatográfiát, preparatív rotációs planáris kromatográfiát és nagy teljesítményű folyadékkromatográfiát. A parlagnfűminták szeszkviterpén-tartalmának meghatározásához a minta előkészítést követően analitikai HPLC készüléket használtunk.

A MeOH-os kivonatból nyolc vegyületet izoláltunk: pszilosztachiin C-t (**24**), acetoxidihydrodamzint (**17**), peruvint (**9**), pszilosztachiint (**25**), 1'-noraltamiint (**61**), pszilosztachiin B-t (**27**) és axillarint (**62**). Az NMR-adatok összehasonlítása után megállapítottuk, hogy az 1,10-dihidro-1'-noraltamizin (**63**) egy újonnan izolált szeszkviterpén-lakton a parlagnfűből, amely egy felnyílt gyűrűrendszerrel rendelkező, a *szeko*-pszilosztachinolidok közé tartozó vegyület.

Az izolált szeszkviterpén-laktonok citotoxikus és antiproliferatív aktivitását inkubációs (24 óras) mellett, viszonylag nagyobb sejtszámmal (citotoxikus aktivitás) és hosszú inkubációs (72 óras) idejű kezeléssel, alacsonyabb sejtszám mellett (citosztatikus vagy antiproliferatív aktivitás) vizsgáltuk. Rövidebb inkubációs időt követően az acetoxidihydrodamzin (**17**) esetén figyeltük meg a legerősebb citotoxikus hatást az érzékeny (Colo 205) sejtvonalon. Az 1'-noraltamizin (**61**) és a pszilosztachiin (**25**) jelentős antiproliferatív hatással mutatott a multidrog-rezisztens Colo 320 sejtvonalon, és mérsékelt szelektivitás volt megfigyelhető a humán embrionális tüdő fibroblaszt sejtvonallal szemben. A szeszkviterpén-laktonok citotoxicitása a  $\gamma$ -laktongyűrűn található exociklusos kettős kötés meglétéhez kapcsolódik, amely döntő fontosságú lehet a célenzimek nukleofil helyeinek alkilezésében. Az acetoxidihydrodamzin esetén (**17**) azonban ez a funkciós csoport hiányzik, és a C-3-hoz acetilcsoport kapcsolódik, ami azt mutatja, hogy az  $\alpha,\beta$ -telítetlen karbonilcsoport jelenléte nem döntő fontosságú a sejtosztódás gátlásához. Az axillarin (**62**) esetén erős antiproliferatív aktivitás volt megfigyelhető már viszonylag alacsony koncentrációban is az MRC-5 sejtvonalon, és nem mutatott szelektivitást ezen a sejtvonalon.

Az izolált szeszkviterpének P-glikoprotein (ABCB1) gátló hatásának vizsgálata után arra a következtetésre jutottunk, hogy az ilyen típusú másodlagos metabolitoknak nagy valószínűséggel eltérő célpontokkal rendelkeznek a rákos sejteken belül (DNS-metiláció gátlás, az NF- $\kappa$ B jelátviteli útvonal módosítás, apoptózisindukálás és sejtciklusgátlás). Figyelembe véve azt, hogy az *Ambrosia* nemzetségből izolált szeszkviterpén-laktonok különböző biológiai

aktivitással rendelkeznek (citotoxikus, antiproliferatív aktivitás stb.), amelyek több, sejten belüli célpontot is érintenek a rákos sejtek esetén, így ezek akár apoptózishoz vagy sejthalálhoz is vezethetnek, ezért ezek a specifikus metabolitok akár alkalmasak lehetnek a jövőben új gyógyszer molekulák fejlesztésére. Az ilyen típusú vegyületek esetén mindig szükséges felmérni ezek lehetséges citotoxikus hatásait, illetve a normál sejtvonalakkal szembeni szelektivitását is. A szeszkviterpén-laktonok lehetséges nemkívánatos hatásairól a parlagfű hosszú távú fogyasztása esetén nem áll rendelkezésre elegendő irodalmi adat. Ezért, akár a növény lehetséges jövőbeni hasznosítása, akár a specifikus anyagcseretermékeinek különböző célokra történő biztonságos felhasználása esetén szükséges megvizsgálni, hogy a növény szeszkviterpénlakton-tartalma hogyan változhat a különböző vegetációs periódusokban.

A szeszkviterpén-laktonoknak a növényen belüli mennyiségi változásainak felméréséhez két különböző magyarországi helyszínről (északkeletről és délkeletről) történt a különböző fenotípusú növényi minták gyűjtése. A Magyarország északkeleti részéből származó növéymintákat sokkal dúsabb levélzet borította, amelyen sűrű mirigyes trichomaréteg volt megtalálható, és a virágzási időszakban nagyobb mennyiségű összetett virágzat jellemezte. Ezzel szemben a Magyarország délkeleti részéből származó növényi minták kevésbé rendelkeztek sűrű levélzettel, viszont magasabb szárrendszer jellemezte ezeket. Az Asteraceae családba tartozó növényekben a szeszkviterpén-laktonok szintézise a mirigyes trichomák bazális sejtjeinek sima felszínű endoplazmatikus retikulájában megy végbe, majd ezt követően a vegyületek az extracelluláris és szubkutikuláris térbe szekretálódnak, mindez magyarázatot adhat a két gyűjtőhelyről származó növényi minták szeszkviterpénlakton-profiljában megfigyelt különbségekre. A szeszkviterpén bioszintézis kulcsenzimeit a levél felszínén elhelyezkedő mirigyes trichomák bazális sejtjeinek sima felszínű endoplazmatikus retikulumában találhatók.

A különböző geoklimatikus tényezők is hatással lehetnek a parlagfű specifikus anyagcseretermékeire, ami a különböző területekről vett növényi minták szeszkviterpén-lakton-profiljának eltéréseihez vezethet. Egyes irodalmi források beszámolnak arról, hogy a parlagfű jelentős genetikai változatossága miatt, még az azonos helyekről gyűjtött növényi minták is eltérő fitokémiai profilt eredményeztek (pl. Novara, Olaszország). A növény szeszkviterpén tartalmát mind a vegetációs időszak, mind a gyűjtési hely stb. befolyásolhatja, mégis egyes tanulmányok különböző, földrajzilag eltérő mintagyűjtési helyekről származó növények esetén az *Ambrosia* nemzetségre jellemző markervegyületeket írtak le. Továbbá a különböző geoklimatikus tényezők is hatással lehetnek a parlagfű szeszkviterpénlakton-tartalmára. A különböző környezeti stresszhatások jelentősen csökkenthetik a növények növekedési,

valamint a különböző fiziológiai paramétereit, ami korai öregedéshez vagy sejthalálhoz vezethet. A vízstressz az egyik legjelentősebb olyan környezeti probléma, amely megváltoztathatja a növények fejlődését és biomassza hozamukat. A vízhiányos állapot hatását egy, a parlagfűhöz filogenetikailag közel álló faj, az *Artemisia annua* L. esetén is megvizsgálták: a tanulmány szerzői azt figyelték meg, hogy a fő szeszkviterpén komponensek (artemizinin, artenuin-B stb.) mennyisége csökkent a vízhiány stressz hatására, ugyanakkor a mirigyes trichomák sűrűsége és mérete is csökkent. A fentebb említett eredmények összeegyeztethetők az általunk megfigyeltekkel: a Szeged közelében gyűjtött növényi mintákat szintén a mirigyes trichomák alacsonyabb sűrűsége jellemezte a Nyíri parlagfű mintákhoz viszonyítva. Továbbá egyes kutatások arra is rámutattak, hogy fentebb említett egynyári üröm esetén a szeszkviterpén-koncentráció a teljes virágzási szakaszban a legmagasabb és ezek az eredmények az általunk leírtakkal is korreálnak. Az általunk vizsgált célvegyületek megmért koncentrációja a teljes virágzás időszakára vetítve, július közepétől augusztus közepéig mindkét gyűjtőhelyről származó növényi mintában a legmagasabb értéket mutatta.

A parlagfű illóolaját ellentétben néhány más, szintén az őszirózsafélék családjába tartozó faj illóolajával szemben (pl. kamilla, cickafark), nem használják a gyógyászatban, és összetételéről kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. A parlagfű illóolajának kinyerésére két különböző technikát alkalmaztunk: vízgőzdesztillációt és mikrohullámú illóolaj-extrakciót. A vízgőzdesztillációs extrakcióval 0,13%-os hozamot sikerült elérni. A kapott illóolaj mennyisége azonos egy kínai parlagfű mintából kinyert mennyiséggel, ezzel ellentétben a szerbiai Belgrád mellett gyűjtött növényi minta-, ahol a geoklimatikus viszonyok szinte azonosak-, 0,18%-os illóolaj hozamot ért el, ami meghaladja az általunk leírt eredményeket. A kinyert parlagfű illóolaj GC-FID és GC-MS elemzése a fent említett két technika alkalmazás esetén bizonyos összetételbeli különbségeket mutatott ki. A mikrohullámú illóolaj-extrakció lényegesen nagyobb mennyiségű az oxigéntartalmú szeszkviterpént (31,91%) eredményezett, ugyanakkor a fő komponensnek számító germakrén D (25,22%) is nagyobb mennyiségben fordult elő, összehasonlítva a hagyományos vízgőzdesztillációval. Egy koreai gyűjtésből származó parlagfű mintából két különböző extrakciós technikával (szilárdfázisú mikroextrakcióval és vízgőzdesztillációval) kinyert illóolaj mennyisége és komponensei esetén is különbségeket találtak. A fentebb említett extrakciós technikák lehetővé tették a szeszkviterpének nagyobb mennyiségben történő kinyerését (67,58%), ami megegyezik az általunk leírt eredményeinkkel, ahol szintén a germakrén D (32,92%) volt a fő komponens. Szintén vízgőzdesztillációs technikát alkalmazva, egy szerbiai parlagfű mintából hasonló

szeszkviterpén tartalmú illóolajat sikerült kinyerni, ahol ugyancsak a germakrén D (24,1%) volt a fő komponens.

Az őszirózsafélék családjába tartozó fajok illóolajai nemcsak gyulladáscsökkentő, hanem antimikrobiális hatásuk miatt is figyelmet érdemelnek. Egyes, az *Achillea* és a *Matricaria* nemzetségbe tartozó fajokat különböző célokra is használták: a cickafarkat (*Achillea millefolium* L.) zúzódások, rándulások, duzzadt szövetek stb. kezelésére már évszázadok óta sikerrel alkalmazzák. Gyulladáscsökkentő, antibakteriális antioxidáns hatása miatt a növény illóolajával kapcsolatosan napjainkban is számos tudományos kísérletet végeznek. A kamillát (*Matricaria recutita* L.) szintén már évezredek óta különböző gyógyászati célokra használják, és a növény fő illóolaj-komponensei ( $\alpha$ -bizabolol és azulének) antimikrobiális és antioxidáns hatásúak.

A növényből kinyert illóolaj EP-gátló hatását *E. coli*, *K. pneumoniae* és antibiotikumokra rezisztens és -érzékeny *S. aureus* törzseken vizsgáltuk. A parlagfű illóolaj növelte az EB felhalmozódását a meticillinérzékeny és -rezisztens *S. aureus* törzsek esetén. A vizsgált illóolaj erősebb effluxpumpa-gátló hatást fejtett ki az *E. coli* törzsre, azonban a *K. pneumoniae* törzs esetén nem volt effluxpumpa-gátló hatás megfigyelhető. Az egyik lehetséges magyarázat erre az lehet, hogy a Gram-negatív baktériumok eltérő érzékenységgel reagálnak az effluxpumpa-gátlókra, ami elsősorban az eltérő sejtfalszerkezetükkel magyarázható. Más tanulmányok is hasonló eredményekkel zárultak, amelyekben egyes illóolaj-komponensek (timol, karvakrol, eugenol) hatását vizsgálták a szintén egy Gram-negatív *Salmonella thyphimurium* törzsek esetén. A növényi illóolajok csökkenthetik a baktériumok biofilmfejlődését azáltal, hogy ennek a felépítésében részt vevő számos rendszerre hatással vannak. Az kinyert illóolaj biofilmképzésre kifejtett hatásának vizsgálatához két, klinikai szempontból is fontos baktériumtörzset használtunk (*E. coli* és *S. aureus*). Az meticillin-érzékeny és -rezisztens *S. aureus* törzsek esetében a vizsgált illóolaj MIC alatti koncentrációban (MIC/2 vagy annál alacsonyabb) nem gátolta biofilmfejlődést. Magasabb koncentrációk (0,5% és 1%) alkalmazása esetén a növényi illóolaj gátolta a *K. pneumoniae* biofilm fejlődését. A parlagfű-illóolaj fő komponensei között terpenoidokat tartalmaz (ciklikus terpének, terpénalkoholok). Az növényi illóolajkomponenseknek az elsődleges célpontja a baktériumok sejtfala és sejtmembránja. Abban az esetben, ha a sejtmembrán elveszíti az integritását, ami a sejt-komponensek extracelluláris térbe való kijutását eredményezi, az a baktériumsejtek pusztulásához is vezethet. A Gram-negatív baktériumok esetén megfigyelték, hogy ellenállóbbak a növényi illóolajok hatásával szemben, mint a Gram-pozitívak, ugyanakkor ezzel ellentétben az általunk elvégzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a Gram-pozitív

baktériumtörzsek egyike esetén sem volt megfigyelhető a parlagfű illóolajjal szembeni érzékenység. Továbbá a monoterpénekben és fenilpropanoidokban gazdag növényi illóolajok hatékonyan képesek gátolni a különböző baktériumok biofilmfejlődését. Az általunk kapott eredmények alapján viszont az mondható el, hogy a parlagfűből nyert illóolaj a vizsgált baktériumtörzseken nem gátolta biofilmfejlődést. Ennek egyik lehetséges magyarázata lehet a ciklikus terpének alacsony koncentrációja az általunk kivont illóolajban. Ahhoz, hogy jobban megértsük a növényi illóolajoknak a biofilmképzést gátló hatása mögött álló molekuláris mechanizmusokat, jövőbeni tanulmányokat szükséges végezni ezek feltárására, ugyanakkor az egyes összetevők aktivitásának megismerésére is, amelyek így részletesebb betekintést nyújthatnak ezen folyamatokba.

Habár a vizsgált *Ambrosia* nemzetségbe tartozó faj egy invazív és allergén gyomnövény, és széles körben elterjedt gyógynövényként való használatát a rendelkezésre álló irodalmi adatok nem bizonyították, az izolált szeszkviterpének és a kivont illóolaj jelentős citotoxikus és antiproliferatív hatással rendelkezik az általunk megvizsgált rákos sejtvonalakon. További vizsgálatok szükségesek a növény specifikus anyagcseretermékei és az illóolaj toxikológiai profiljának teljeskörű megismeréséhez, valamint azon pozitív tulajdonságok feltárásához helyezéséhez, amelyek a növény gyógyászati felhasználásához elengedhetetlenek.

## **Köszönetnyilvánítás**

Hálámat és köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőimnek, Csupor Dezsőnek és Kiss Tivadarnak, akik szakmai tudássukkal vezették doktori munkámat, és akik végig támogattak és fáradhatatlanul segítettek ezen az úton. Mindig hálás leszek nekik.

Hálás vagyok Prof. Hohmann Juditnak, aki lehetővé tette számomra, hogy a kutatómunkát a Farmakognóziai Intézetben végezhessem.

Mindig hálás leszek kollégáimnak, Horváth Attilának, Kerekes Diánának, Bajtel Ákosnak, Püski Péternek, Vollár Martinnak, Zomborszki Zoltán Péternek, Javad Mottaghipishehnek, Horváth-Boros Klárának és Manarnak Madahnak, akik a támogatásuk mellett mindig inspiráltak a munkában és akik igazán élvezetessé és emlékezetessé tették az elmúlt éveket.

Nagyon hálás vagyok Bajtelné Hmelyvoszki Zsuzsannának a parlagfű minták gyűjtéséért; Berkecz Róbertnek, hogy segített az LC-MS mérésekben; Kúsz Norbertnek és Yu-Chi Tsainak az NMR mérésekért és kiértékelésekért; Csikós Orsolyának (Pepszint Kft, Szeged) a mikrohullámú illóolaj-extrakcióért; Veres Katalinnak a GC-FID és GC-MS analíziséért, valamint Szemerédi Nikolettának és Spengler Gabriellának (Szent-Györgyi Albert Egészségügyi Központ, Orvosi Mikrobiológiai Tanszék és Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Szegedi Tudományegyetem) a citotoxikus és antiproliferatív vizsgálatokért.

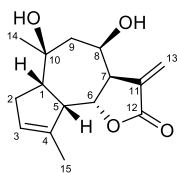
Nagyon hálás vagyok korábbi témavezetőmnek, Fodorpataki Lászlónak, aki már alapszakos biológia tanulmányaim alatt mindig ösztönzött és nagyon sokat segített a kutatómunka elkezdésében.

Végezetül külön köszönetet szeretnék mondani szüleimnek, nővéremnek, rokonaimnak és barátaimnak. Támogatásuk és szeretetük nélkül nem valósulhatott volna meg ez a munka.

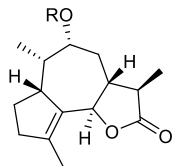


## Szerkezeti képletek

### Parlagfűből izolált szeszkviterpén-laktonok

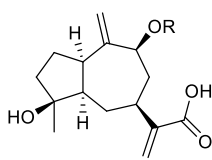


kumambrin B (1)



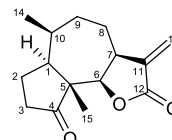
17  
1β,7β,9β,10β,13αH-guaja-4(5)-én-  
12,6β-olid-9-O-β-D-glukozid (2)

R = Glc

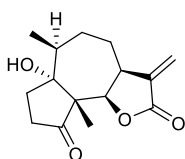


4β-hidroxi-1α,5α,7α,9αH-  
guaja-10(14),11(13)-  
dién-12-sav 9-O-β-D-glukozid (3)

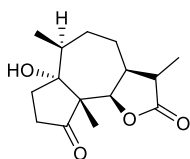
R = Glc



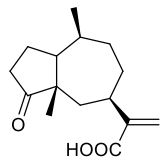
damzin (4)



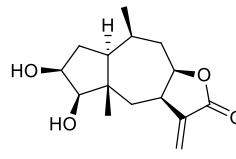
koronopilin (5)



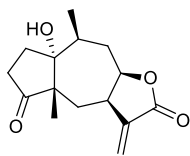
dihidrokoronopilin (6)



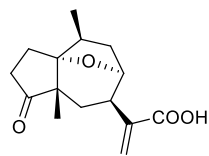
damzinsav (7)



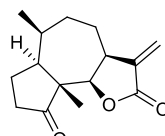
kumanin (8)



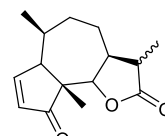
peruvín (9)



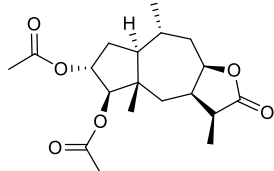
ambrozinsav (10)



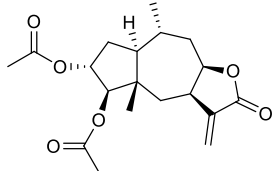
amborzín (11)



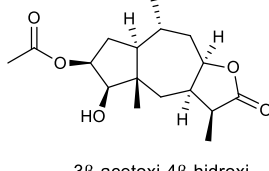
artesovín (12)



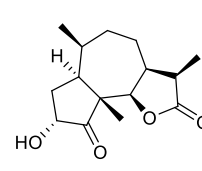
3-dezacetoxilhímenalon (13)



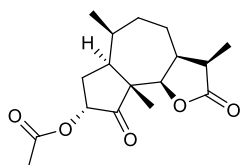
3α,4β-diacetilhímenoratin (14)



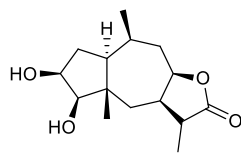
3β-acetoxi-4β-hidroxi-  
1α,7α,10β,11αH-  
pszeudoguaja-12,8β-olid (15)



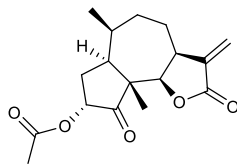
3α-hidroxi-11αH,13-  
dihídrodamzín (16)



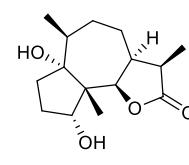
acetoxidihídrodamzín (17)



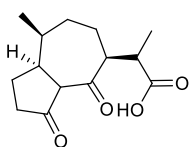
dihidrokumanín (18)



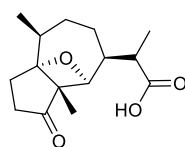
3-acetoxidamzín (19)



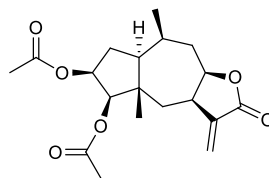
tetrahídrokoronopilin (20)



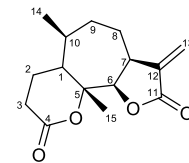
6-oxidamzinsav (21)



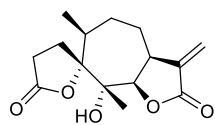
ambroxatán (22)



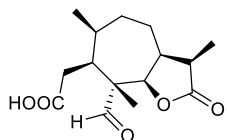
kumanín-diacetát (23)



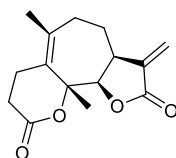
pszilosztachiín C (24)



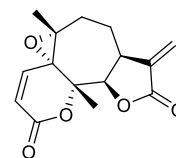
pszilosztachiin (25)



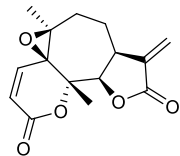
4-oxo-3,4-szeko-ambrozán-6,12-olid-3-karboxilsav (26)



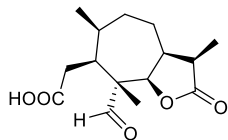
pszilosztachiin B (27)



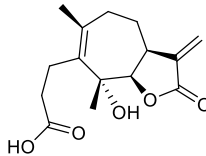
paulitin (28)



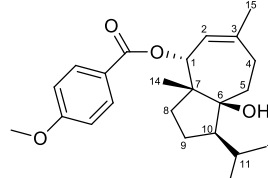
izopaulitin (29)



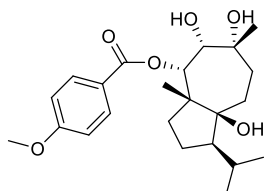
4-oxo-3,4-szeko-ambrozán-6,12-olid-3-karboxilsav (30)



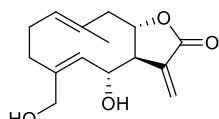
altamizinsav (31)



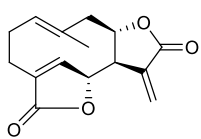
lazidiolanizát (32)



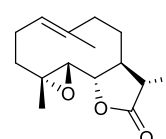
2,3-dihidro-2,3-dihidroxilazidiol 1-anizát (33)



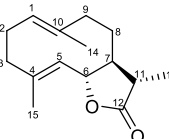
artemiziifolin (34)



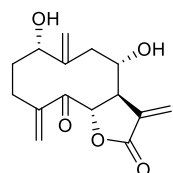
izabelin (35)



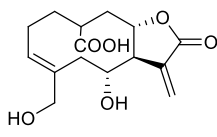
dihidroparthenolid (36)



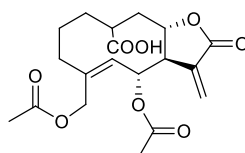
kosztunolid (36b)



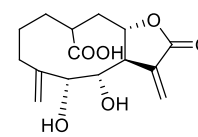
5-oxo-8 $\alpha$ -hidroxi-1-epiartemorin (37)



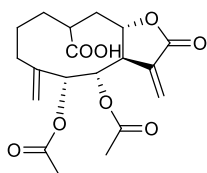
artemiziifolinsav (38)



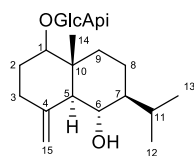
diacetyl-artemiziifolinsav (39)



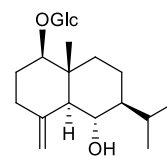
izoartemiziifolinsav (40)



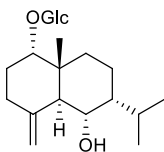
diacetyl-izoartemiziifolinsav (41)



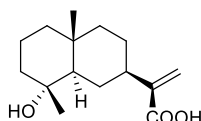
1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-eudezmán-4(15)-én-1-O- $\beta$ -D-apiofuranozil(1"-6')-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (42)



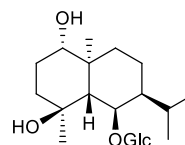
1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-eudezmán-4(15)-én-1-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (43)



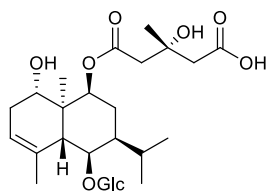
7-epi-eudezm-4(15)-én-1 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -diol 1-O- $\beta$ -D-glucopiranozid (44)



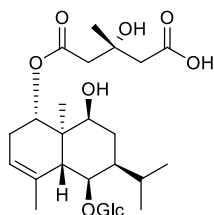
ilicinsav (45)



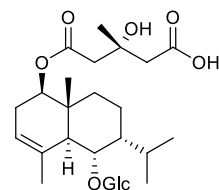
pumilazid A (46)



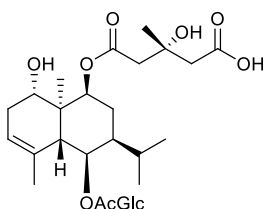
1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,9 $\beta$ -trihidroxi-5,10-bisz-epi-eudezm-3-én-9-O-[(S)-3"-hidroxi-3"-metilglutaril]-6-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (47)



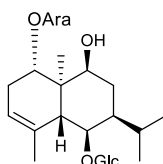
1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,9 $\beta$ -trihidroxi-5,10-bisz-epi-eudezm-3-én-1-O-[(S)-3"-hidroxi-3"-metilglutaril]-6-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (48)



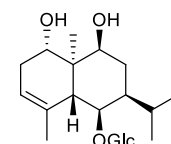
1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-eudezm-3-én-1-O-[(S)-3"-hidroxi-3"-metilglutaril]-6-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (49)



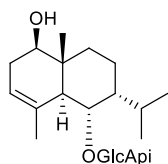
1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,9 $\beta$ -trihidroxi-5,10-bisz-epi-eudezm-3-én-9-O-[(S)-3"-hidroxi-3"-metilglutaril]-6-O-(6'-O-acetil)- $\beta$ -D-glukopiranozid (50)



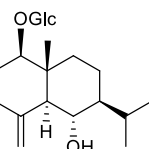
1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,9 $\beta$ -trihidroxi-5,10-bisz-epi-eudezm-3-én-1-O- $\alpha$ -L-arabinopiranozil-6-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (51)



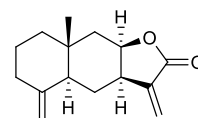
1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,9 $\beta$ -trihidroxi-5,10-bisz-epi-eudezm-3-én-6-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (52)



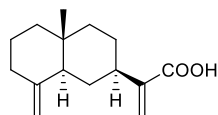
1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-eudezm-3-én-6-O- $\beta$ -D-apiofuranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranozid (53)



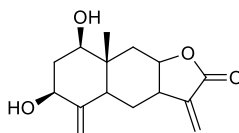
1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-eudezmán-4(15)-én-1-O- $\beta$ -D-glukopiranozid (54)



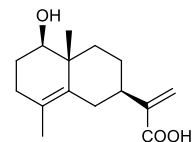
izoalantolakton (55)



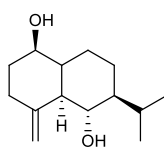
kosztinsav (56)



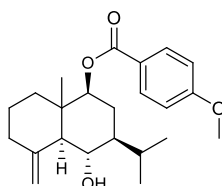
granilin (57)



1 $\beta$ -hidroxi-eudezm-4,11(13)-dién-12-karboxilsav (58)



1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-eudezm-4(15)-én (59)



6 $\alpha$ -hidroxi-eudezm-4(15)-én-9 $\beta$ -O-ánizsát (60)





