

Ph.D. értekezés tézisei

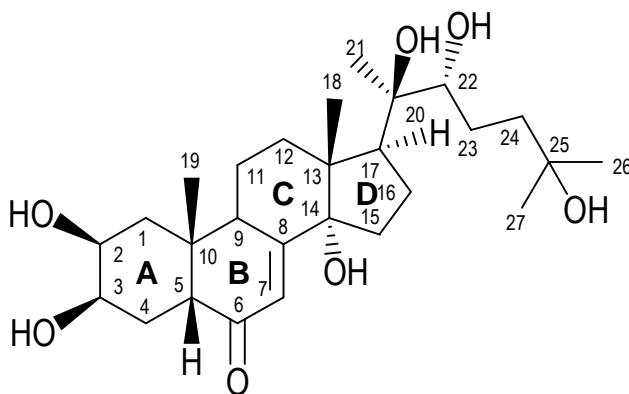
A Silene viridiflora ekdiszteroid profilja és a
20-hidroxiiekdizon *in vivo* hatása patkány izomrostokon

Tóth Noémi

Szegedi Tudományegyetem
Szeged
2010.

Bevezetés

Az ekdiszteroidok a szterán vázas vegyületek egyik jellegzetes csoportját alkotják. A szterán vázon a C-17-es helyzetben általában C₈-C₁₀ alkil oldalláncot viselnek (C₂₇-C₂₉ ekdiszteroidok). A B gyűrűben jellemző a 7-én-6-on kromofór csoport jelenléte, mely tautomerizáció során képes az 5,7-dién szerkezet kialakítására. Mivel az oldallánc egyes C-C kötései szabad rotációra képesek, így elmondható, hogy az ekdiszteroidok a flexibilis konformációjú szteroidok közé tartoznak. Előfordulhat azonban, hogy az oldallánc lehasadásával C₁₉, C₂₁ és C₂₄-es vázú ekdiszteroidok jönnek létre. Az ekdiszteroidok általában többszörösen hidroxilezett vegyületek. Jellegzetes a hidroxileződés a 3β- és 14α helyzetben, ugyanakkor számos további hidroxil csoport épülhet a C-1, 2, 5, 11, 20, 22, 25, 26 vagy 27 atomokra. Az A/B gyűrű rendszerint *cisz*, míg a C/D gyűrű *transz* illeszkedése jellemzi ezeket a vegyületeket. A leggyakrabban előforduló fitoekdiszteroid, a 20-hidroxi ekdizon (20E) képlete az **1. ábrán** látható.



1. ábra A 20E szerkezete.

Az ekdiszteroidok a rovarokban fejlődésszabályozó hormon szerepet töltenek be, felelősek többek között az embriogeneziséért, a vedléséért, befolyásolják a pete- és spermiumérést. Az ekdiszteroidok növényekben való felfedezése után megindult az ekdiszteroidokban gazdag fajok szisztematikus feltérképezése. Kiderült, hogy a növények gyakran 2-5 nagyságrenddel nagyobb mennyiségben szintetizálják ezeket a vegyületeket, mint a rovarok. Nem ritka a növények száraz tömegéhez viszonyított 0,1 %-os 20E koncentráció, ugyanakkor bizonyos növényekben 20E 1-3%-ban is előfordulhat. A növényekből nyert, több mint 300 különböző ekdiszteroiddal megindulhatott ezeknek a vegyületeknek a farmakológiai vizsgálata. A vizsgálatok bizonyították, hogy az ekdiszteroidok számos élettani hatást váltanak ki az emlős szervezetben, ugyanakkor toxicitásuk rendkívül alacsony. A leginkább

vizsgált hatásuk a fehérjeszintézist fokozó, anabolikus hatás, mely nem az emlős androgén, ösztrogén, vagy glükokortikoid receptorokon keresztül modulálódik. Az ekdiszteroidok hatásmechanizmusa jelenleg még nagymértékben feltérképezetlen, feltételezhető azonban, hogy az emlősökre kifejtett hatásukban a D vitamin által is aktivált, nem genomikus, jelátviteli utak játszanak szerepet.

Célkitűzés

Jelenleg is növekszik az igény az ekdiszteroidok, elsősorban a 20E, gazdaságos, nagy mennyiségben történő előállítására, melynek jelenleg a növényekből való izolálás az egyetlen elérhető módja. A *Silene* fajok ekdiszteroid profiljának feltérképezése régi múltra tekint vissza a Szegedi Tudományegyetem Farmakognóziai Intézetében, melynek egyik fő célja olyan alkalmas növényfaj felkutatása, mely magas ekdiszteroid tartalmú és Magyarországon honos, vagy termesztésbe vonható. Az előkísérletek eredményei és irodalmi adatok alapján a *S. viridiflora* L. (magyar nevén zöldvirágú habszegfű) ekdiszteroid tartalma 1% körülnek mutatkozott, valamint a rétegekromatográfiás (TLC) vizsgálatok alapján a növény ekdiszteroid spektruma is érdekesnek bizonyult. Irodalmi források szerint a *S. viridiflora* herbájából kivont teljes ekdiszteroid koktélt, mint adaptogént, javasolják intenzív sportolás, fáradtság, fizikai kimerültség és súlyos betegség utáni felépülés esetén. Az is köztudott, hogy az ekdiszteroidokat széles körben ajánlják és alkalmazzák anabolikumként, annak ellenére, hogy az izmokra kifejtett hatásuk nem tisztázott. Mindezek alapján célul tűztük ki az alábbiakat:

- A *S. viridiflora* ekdiszteroid profiljának feltérképezése, mely az ekdiszteroidjainak izolálását, illetve az esetleges új természetes vegyületek szerkezetének meghatározását foglalja magába.
- Az eddig alkalmazott izolálási eljárás egyszerűsítésével egy viszonylag új, gazdaságos és gyors módszer kidolgozása a 20E nagy mennyiségű kinyerésére.
- Előzetes kísérletekben néhány ekdiszteroid acetonidot izoláltunk a növényből.¹ Mivel nem zárható ki a műtermék képződés az izolálási eljárás során, célunk volt az ekdiszteroid acetonid származékok eredetiségének vizsgálata.
- A 20E *in vivo*, patkány az izomrostok méretére és eloszlására kifejtett hatásnak vizsgálata a következő izommodellekben:

¹ Poszterelőadás a 53th GA Kongresszuson, 2005. augusztus 21-25, Firenze, Olaszország: Tóth N., Hunyadi A., Máthé I., Báthori M.; New 26-hydroxylated Ecdysteroids from *Silene viridiflora*.

- A 20E hatásának vizsgálata fiziológias körülmények között normál vázizomban (soleus és EDL izmok).
- A 20E vázizmok regenerálódására kifejtett hatásának vizsgálata (notexin injekcióval elroncsolt soleus izom).
- Glükokortikoiddal indukált izomatrófia esetén (rekeszizom) annak a vizsgálata, hogy képes-e a 20E meggátolni az izomrostok atrófiáját, ha együtt adagoljuk metilprednizolonnal.

Anyagok és módszerek

Növényi nyersanyag

A Caryophyllaceae családba tartozó *S. viridiflora* föld feletti része a Vácraóti Arborétumból származik, termesztett állományból. A begyűjtés 2002 júniusában történt. A mintapéldány SV-020612 számon a Farmakognóziái Intézetben megtalálható.

Reagensek és tesztanyagok

Az analitikai tisztaságú oldószereket a Reanal (Budapest, Magyarország), a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) tisztaságúakat a Merck (Darmstadt, Németország) szállította. A referencia ekdiszteroidok korábbi izolálási munkából származnak. Szerkezetüket és tisztaságukat HPLC és mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) vizsgálatokkal igazoltuk.

Az izolálás során alkalmazott módszerek

Az ekdiszteroidok kivonására metanolt alkalmaztunk. A metanos kivonat előtisztítását *n*-hexános kirázással és frakcionált acetonos kicsapással végeztük. Az ekdiszteroidok izolálását az előtisztított kivonatból kromatográfiás módszerek; normál és fordított fázisú oszlopkromatográfia (NP-, RP-CC), rotációs rétegekromatográfia és HPLC optimalizált kombinálásával hajtottuk végre. Az elválasztás követésére TLC-t használtunk.

Szerkezetmeghatározás

Az ismert vegyületek azonosítása fizikai és spektroszkópiái tulajdonságaik irodalmi adatokkal való közvetlen összehasonlításán alapult. A referencia ekdiszteroidokkal történő összehasonlításukhoz normál és fordított fázisú rétegekromatográfiát, illetve HPLC-t

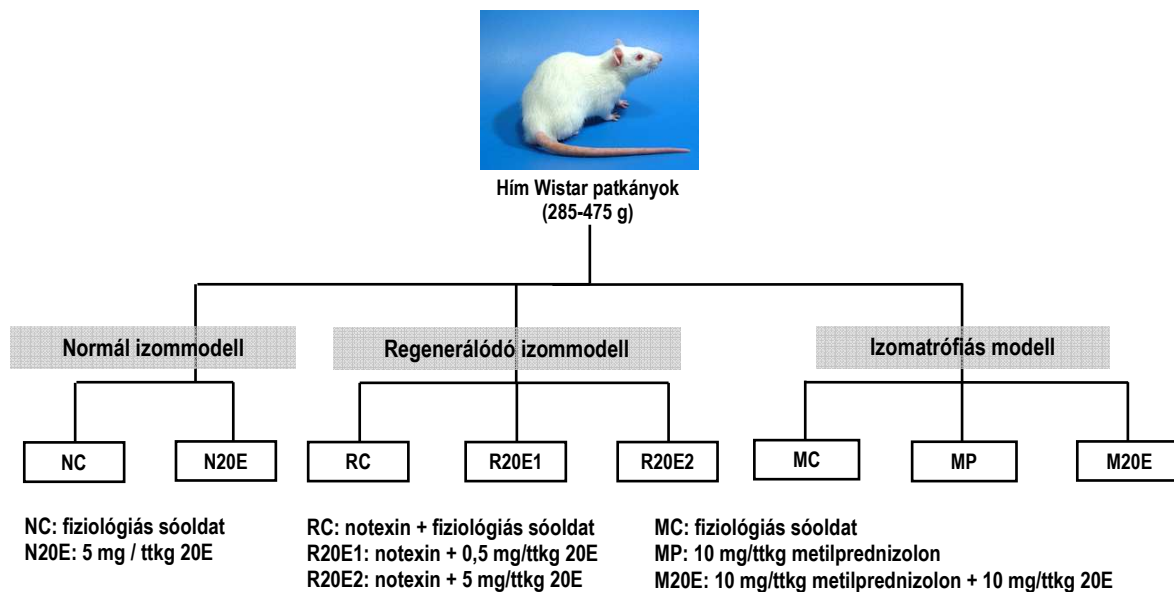
használtunk fel. Az izolált ekdiszteroidok szerkezetét UV spektroszkópia, NMR és tömegspektrometria (MS) vizsgálatokkal állapítottuk meg.

Az ekdiszteroid acetonidok eredetiségének vizsgálata

A műtermék képződés kizárásának céljából az izolálási eljárás kritikus lépésének modellezésével vizsgáltuk az ekdiszteroid acetonidok keletkezésének lehetőségét. A 2-dezoxi-20-hidroxiiekdizon 20,22-acetonid jelenlétének vizsgálata különböző időpontokban gyűjtött *S. viridiflora* herbában, NP-, RP-HPLC és folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometriás (LC-MS/MS) mérésekkel történt.

Állatkísérlet során alkalmazott kezelések

Az állatokat az állatkísérletekre vonatkozó magyar és flamand előírások szerint tartottuk és kezeltük. 38 felnőtt, hím Wistar patkányt (304 ± 19 g a normál és regenerálódó izommodell esetén, és 454 ± 37 g az izomatrófiás modell esetén), 8 különböző, egyenként 4-6 állatot tartalmazó csoportba soroltuk. Az állatok a **2. ábrán** látható kezelésekben részesültek.



2. ábra Kezelési protokollok a 20E izomrostokra kifejtett hatásának vizsgálatában.

Izomok feldolgozása, metszetek festése hematoxilin-eozinnel és immunhisztokémiai módszerrel

A kivett normál, regenerálódó és atrófiás izmokat folyékony nitrogénnel hűtött izopentánban fagyasztottuk és a feldolgozásig -70 °C-on tartottuk. Fagyasztva 15 μ m-es izommetszeteket készítettünk, melyeket -20 °C-on tároltunk majd hematoxilin-eozinnel, vagy

immunhisztokémiai módszerrel festettünk. BA-D5 (egér, 1:50), SC-71 (egér, 1:20), BF-F3 (egér, 1:10) elsődleges antitesteket használtunk a MyHC1, 2a és 2b festéséhez. A MyHC2x festéséhez az előző három antitestet kombinálva alkalmaztuk és a nem festődő rostokat vettük figyelembe.

Rostméret és mionukleáris domén

Izmonként legalább 150 izomrost méretét mértük Olympus DP-soft, 3.2 programmal (Olympus, Hamburg, Németország). A sejtmagok számát (legalább 100 rost/izom) hematoxilín-eozinnal festett mintánkon számoltuk a fénymikroszkóp 40x-es objektíve segítségével a **NC**, **N20E**, **RC**, **R20E1** és **R20E2** csoportokban.

Statisztika

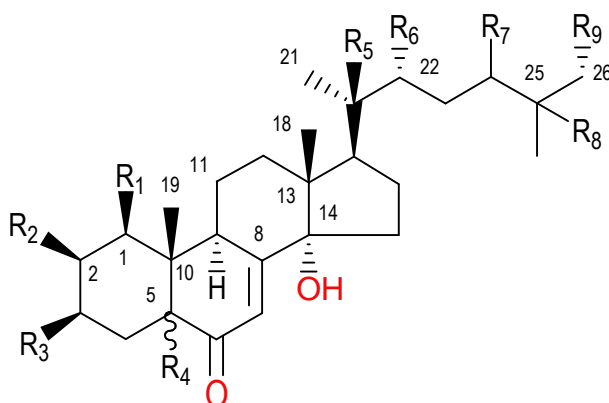
A sejtmagok számát, valamint az izomrostok és a mionukleáris domén méretét izmonként páratlan t-próbával, vagy Newman-Keuls és Bonferroni teszttel kombinált ANOVA módszerrel hasonlítottuk össze. A statisztikai analízisekhez a GraphPad Prism 4.00 programot használtuk. A különbségeket $p < 0.05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. Az adatokat átlag \pm SE formában fejeztük ki.

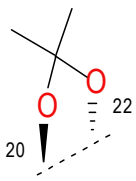
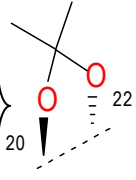
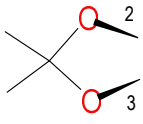
Az értekezés főbb eredményei és értékelésük

Izolálás és szerkezetmeghatározás

Kromatográfiás módszerek kombinálásával 20 ekdiszteroidot izoláltunk és karakterizáltunk a *S. viridiflora* föld feletti részéből. 9 új vegyület, míg 12 ekdiszteroidot elsőként mutattunk ki ebből a növényfajból. A 20E-t két lépésben nyertük ki a növényi kivonatból és *in vivo* állatkísérletekben használtuk fel. Az izolált ekdiszteroidok szerkezetét az **1. táblázat** tünteti fel.

1 táblázat. Az izolált ekdiszteroidok szerkezete. Az új vegyületeket dőlt betű és csillag jelöli.



No.	Név	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
<u>1</u>	20-hidroxiiekdizon	H	OH	OH	βH	OH	OH	H	OH	H
<u>2</u>	polipodin B	H	OH	OH	βOH	OH	OH	H	OH	H
<u>3</u>	2-dezoxi-20-hidroxiiekdizon 3-β-D-glükopiranozid	H	H	O-β-D-glu	βH	OH	OH	H	OH	H
<u>4</u>	2-dezoxipolipodin B 3-β-D-glükopiranozid	H	H	O-β-D-glu	βOH	OH	OH	H	OH	H
<u>5</u>	2-dezoxipolipodin B 22-β-D-glükopiranozid*	H	H	OH	βOH	OH	O-β-D-glu	H	OH	H
<u>6</u>	2-dezoxipolipodin B 25-β-D-glükopiranozid*	H	H	OH	βOH	OH	OH	H	O-β-D-glu	H
<u>7</u>	2-dezoxi-20,26-dihidroxiiekdizon	H	H	OH	βH	OH	OH	H	OH	OH
<u>8</u>	integriszteron A	OH	OH	OH	βH	OH	OH	H	OH	H
<u>9</u>	26-hidroxi-polipodin B	H	OH	OH	βOH	OH	OH	H	OH	OH
<u>10</u>	20,26-dihidroxiiekdizon	H	OH	OH	βH	OH	OH	H	OH	OH
<u>11</u>	2-dezoxi-20-hidroxiiekdizon	H	H	OH	βH	OH	OH	H	OH	H
<u>12</u>	2-dezoxi-integriszteron A	OH	H	OH	βH	OH	OH	H	OH	H
<u>13</u>	integriszteron A 20,22-acetonid*	OH	OH	OH	βH		H	OH	H	
<u>14</u>	2-dezoxi-26-hidroxi-polipodin B*	H	H	OH	βOH	OH	H	OH	OH	
<u>15</u>	26-hidroxi-polipodin B 20,22-acetonid*	H	OH	OH	βOH		H	OH	OH	
<u>16</u>	2-dezoxi-26-hidroxi-polipodin B 20,22-acetonid*	H	H	OH	βOH		H	OH	OH	
<u>17</u>	20,26-dihidroxiiekdizon 20,22-acetonid*	H	OH	OH	βH		H	OH	OH	
<u>18</u>	5α,2-dezoxi-20-hidroxiiekdizon 20,22-acetonid*	H	H	OH	αH		H	OH	H	
<u>19</u>	2-dezoxi-20-hidroxiiekdizon 20,22-acetonid	H	H	OH	βH		H	OH	H	
<u>20</u>	makiszteron C 2,3 20,22-diacetonid*	H			βH		CH ₂ -CH ₃	OH	H	

Az izolált vegyületek között számos, a *Silene* genusra jellemző 2-dezoxiekdiszteroid található, mint például 2-dezoxi-20-hidroxiokdizon 3- β -D-glükopiranozid (**3**), 2-dezoxipolipodin B 3- β -D- glükopiranozid (**4**), 2-dezoxipolipodin B 22- β -D-glükopiranozid (**5**), 2-dezoxipolipodin B 25- β -D-glükopiranozid (**6**), 2-dezoxi-20,26-dihidroxiokdizon (**7**), 2-dezoxi-20-hidroxiokdizon (**11**), 2-dezoxi-integriszteron A (**12**), 2-dezoxi-26-hidroxiolipodin B 20,22-acetonid (**16**), 5 α ,2-dezoxi-20-hidroxiokdizon 20,22-acetonid (**18**) és 2-dezoxi-20-hidroxiokdizon 20,22-acetonid (**19**). Jelentős számban izoláltunk 26-os helyzetben hidroxil csoportot tartalmazó vegyületeket, mint például a 2-dezoxi-20,26-dihidroxiokdizon (**7**), 26-hidroxiolipodin B (**9**), 20,26-dihidroxiokdizon (**10**), 2-dezoxi-26-hidroxiolipodin B (**14**), 26-hidroxiolipodin B 20,22-acetonid (**15**), 2-dezoxi-26-hidroxiolipodin B 20,22-acetonid (**16**) és a 20,26-dihidroxiokdizon 20,22-acetonid (**17**). 26-hidroxi ekdiszteroidok gyakori vegyületei a *Silene* fajoknak, a *S. viridiflora*-ból is már kimutatásra kerültek 2- és 22-dezoxi, valamint acetát származékok formájában. Izoláltunk számos ekdiszteroid származékot úgy, mint glikozidokat (**3-6**) és acetamidokat (**13** és **15-20**). Az acetamid csoport jelenléte kromatográfiai szempontból előnyt jelent, mivel csökkenti a vegyületek polaritását ezzel megkönnyítve az izolálási munkát.

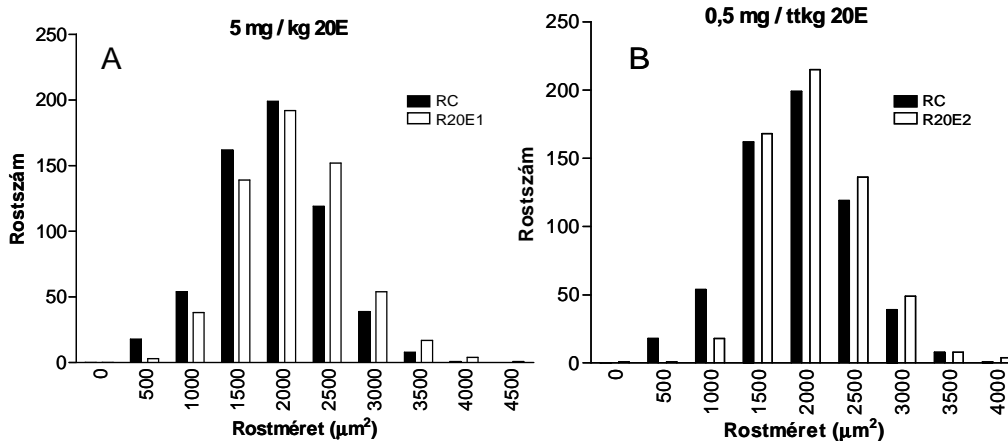
Az ekdiszteroid acetamidok eredetiségének vizsgálata

Indirekt modellezéssel és egy ekdiszteroid acetamid a 2-dezoxi-20-hidroxiokdizon 20,22-acetonid (**19**) direkt kimutatásával a *S. viridiflora* herba előtisztított kivonatában igazoltuk, hogy az ekdiszteroid acetamidok előfordulhatnak a növényben. A növény herbájának előtisztított metanolos kivonatát NP- és RP-HPLC-vel vizsgálva megállapítottuk, hogy a **19** számú vegyület nagy valószínűséggel jelen van a kivonatban. Végső bizonyítékként négy, különböző időpontban begyűjtött növény metanolos kivonatában a **19** jelenlétét LC-MS/MS vizsgálatokkal támasztottuk alá. A **19** fő fragmens ionjait mind a négy kivonatban megtaláltuk, mely arra enged következtetni, hogy a *S. viridiflora* szárított herbája eredetileg is tartalmazta ezt a vegyületet, tehát **19** nem egy, az izolálás során képződött műtermék. Ezért valószínűsíthető, hogy a növényből izolált többi ekdiszteroid acetamid (**13**, **15-18** és **20**) is természetes vegyület.

20E in vivo hatása patkány vázizomban

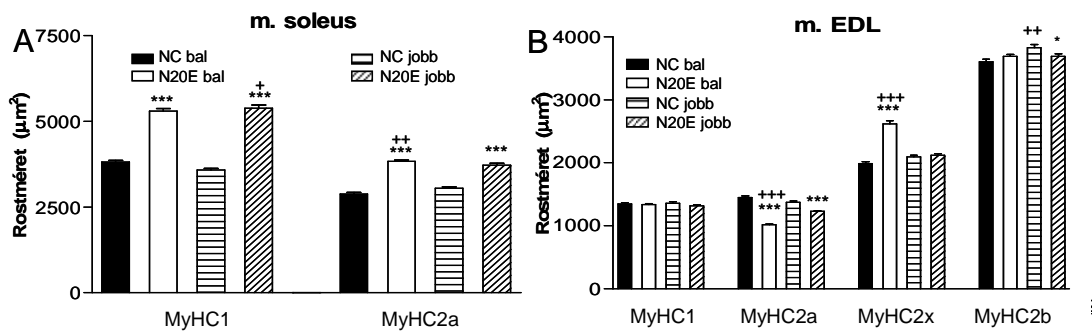
Megállapítottuk, hogy a 20E befolyásolja az izomrostok méretét mind normál (m. soleus, m. EDL), mind pedig regenerálódó izomban (m. soleus) már 7 napos kezelés esetén is.

A 20E növelte az izomrostok területét a regenerálódó soleus izomban, azaz pozitívan befolyásolva a regenerálódás ütemét. A hatás mértéke különböző volt a két alkalmazott koncentrációban (5 mg/kg, 0,5 mg/kg), ami a 20E dóziszfüggő hatását sugallja **3. ábra**.



3. ábra Rostméret eloszlás a regenerálódó m. soleus izomban 5 mg/ttkg (A) és 0,5 mg/ttkg (B) 20E 7 napos adagolása után. Átlagos rostméret az RC csoportban $1714 \pm 28.34 \mu\text{m}^2$. Átlagos rostméret **R20E1** és **R20E2** csoportokban rendre, $2077 \pm 24.58 \mu\text{m}^2$ és $1857 \pm 21.40 \mu\text{m}^2$. A nagyobb rostok száma koncentrációfüggően nőtt a regenerálódó izmokban.

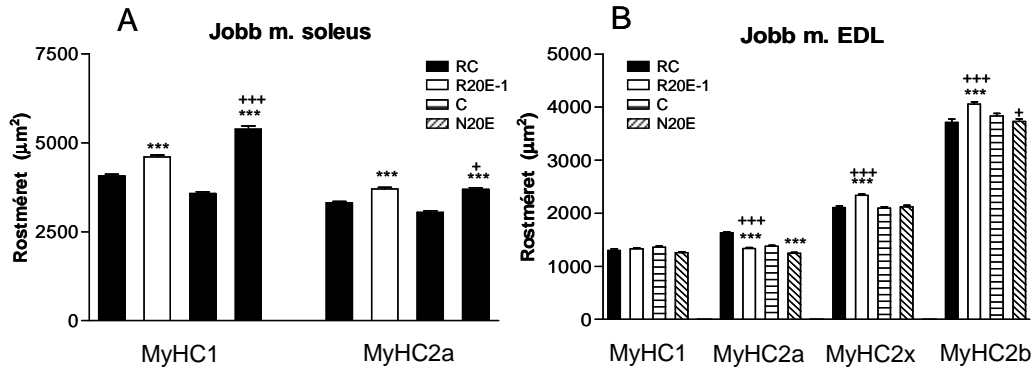
Megállapítottuk, hogy a 20E különböző módon befolyásolja az izomrostok méretét a soleus és az EDL izmokban, tehát a 20E izomrostokra gyakorolt hatása függ az izom típusától (**4. ábra**).



4. ábra A különböző MyHC-t expresszáló izomrostok mérete az **N20E** csoportba tartozó patkányok bal és a jobb soleus és EDL izmában. Jelölések * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ a megfelelő kontrollhoz hasonlítva, + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$ a másik oldali megfelelő izmok rostjainak méretváltozásához viszonyítva.

Eredményeink szerint, a regenerálódó soleus izom jelenléte a bal hátsó végtagban befolyásolta a 20E hatását az ellenoldali végtagban. Ez nem magyarázható a bal oldali végtag csökkent használata miatt esetlegesen kialakuló megnövekedett jobb oldali igénybevétellel, mert az, a lassú I-es típusú izomrostok méretét növelné a jobb végtagban. Valószínűsíthető,

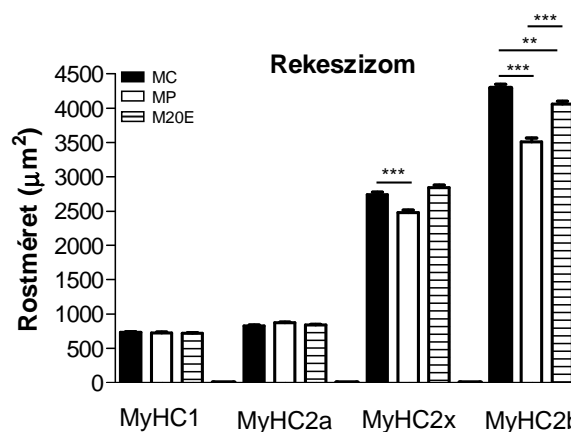
hogy a regenerálódó soleus izom jelenléte a szervezetben bizonyos növekedési faktorok befolyásolásán keresztül módosítja a 20E hatását a jobb EDL izomban (**5. ábra**).



5. ábra A regenerálódó soleus izom jelenléte a bal végtagban módosítja a 20E hatását az ellenoldali normál soleus (**A**) és EDL (**B**) izmokban. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ a megfelelő kontrollhoz hasonlítva. + $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ a különböző csoportokba tartozó, notexinnel kezelt, illetve nem kezelt állatok jobb oldali megfelelő izmaiban kialakuló rostméret-változáshoz hasonlítva.

Az egyes izomrostokban levő sejtmagok számát a 20E kezelés a rostméret-növekedéssel arányban növelte, így az ún. mionukleáris domén (egy sejtmag körüli átlagos szarkoplazma térfogat) mérete általában nem változott. Ebből valószínűsíthető, hogy a 20E izomrostokra gyakorolt hatásában szerepet játszik a szatellita sejtek aktivációja.

A 20E (10 mg/ttkg) öt napos kezelés után képes volt megakadályozni az egyenlő koncentrációban adagolt metilprednizolon által előidézett IIB és IIX típusú izomrostok atrófiáját a rekeszizomban. Az izomrostok méretére gyakorolt hatást a **6. ábra** mutatja.



6. ábra A rekeszizom különböző izomrostjainak mérete. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

A rekeszizom kontrakciós paraméterei, mint például a kontrakciós erő-frekvencia görbe, nem tudunk szignifikáns különbséget kimutatni a különböző csoportok között (C vs. MP vagy M20E, MP vs. M20E, az adatok nem kerülnek bemutatásra). A probléma

valószínűleg a kezelés időtartamával, vagy adagolásával lehetett, ugyanis a rekeszizom kontrakciós paraméterei a metilprednizolonnal kezelt és a kontroll csoport között sem mutattak eltérést (**MP** vs. **C**). Ebben a kérdésben, így nem vonhatunk le végső következtetéseket, további vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy megállapíthassuk a 20E által a rekeszizom kontrakciós erejére kifejtett hatást. Mindenképpen hosszabb kezelési idő, vagy nagyobb koncentrációjú metilprednizolon és/vagy 20E adagolás lenne szükséges ahhoz, hogy a hisztokémiai és funkcionális eredményeket érdemben össze lehessen kapcsolni.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik e disszertáció elkészítésében segítségemre voltak. Elsőként is hálásan köszönöm témavezetőim, Dr. Báthori Mária Professzorasszony és Dr. Zádor Ernő folyamatos felügyeletét, bátorítását és a munkám során nyújtott tanácsait. Segítségük és irányításuk nélkül munkám kivitelezése elképzelhetetlen lett volna.

Köszönettel tartozom Dr. Máthé Imre Professzor Úrnak a Farmakognóziái Intézet korábbi és Dr. Hohmann Judit Professzorasszonynak az intézet jelenlegi vezetőjének, hogy lehetőséget biztosítottak munkám elvégzéséhez.

Hálámat szeretném kifejezni Dr. Marc Decramer Professzor Úrnak és Dr. Ghislaine Gayan-Ramirez Professzorasszonynak, a lehetőség biztosításáért, hogy intézetükben dolgozhassam (Leuveni Katolikus Egyetem, Belgium).

Disszertációm megírásához kapcsolódó személyes útmutatásokért köszönettel tartozom Dr. Szendrei Kálmán Professzor Úrnak.

A növényi nyersanyag termesztésért és biztosításáért köszönet illeti Dr. Miklóssy-Váry Vilmost.

Köszönetem fejezem ki társszerzőimnek, Dr. Tóth Gábor Professzor Úrnak, Dr. Simon Andrásnak, Takács Máriának és Groska Juditnak az NMR mérések elvégzéséért és kiértékeléséért, Dr. Kele Zoltánnak a tömegspektrumok felvételéért, Dr. Márki Árpádnak a receptorkötési vizsgálatok elvégzéséért, valamint Kacsala Péternek, Szabó Andrásnak és Héger Júliának az állatkísérletekben nyújtott segítségéért.

Hálás köszönet illeti Hevérné Herke Ibolyát a labormunkát illető értékes tanácsaiért és segítségéért, illetve a kellemes társaságáért, melyet a laborban eltöltött idő alatt élvezhettem.

Külön szeretném kifejezni köszönetem Dr. Hunyadi Attilának, mert lelkesítése és barátsága segített túllendülni a „holtpontokon”, és megteremtette számomra azt a kellemes légkört, amelyben dolgozhattam. Szakmai jártassága és tanácsai elősegítették munkámat és a belőle születő publikációkat.

Hálás vagyok közvetlen munkatársaimnak Dr. Liktör-Busa Erikának, Ványolós Attilának és Dankó Baláznak továbbá a Farmakognóziái Intézet minden dolgozójának, segítségükért és érdeklődő támogatásukért.

Végül köszönöm családom támogatását, türelmét és szeretetét.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- I. **Tóth N.**, Báthori M.
Preparative scale-chromatography of ecdysteroids, a class of biologically active steroids
Journal of Chromatographic Science, **2008**, 46, 111-116. IF: **1,135**
- II. Báthori M., **Tóth N.**, Hunyadi A., Márki Á., Zádor E.
Phytoecdysteroids and Anabolic-Androgenic Steroids – Structure and Effects on Humans
Current Medicinal Chemistry, **2008**, 15, 75-91. IF: **4,823**
- III. **Tóth N.**, Szabó A., Kacsala P., Héger J., Zádor E.
20-Hydroxyecdysone increases fibre size in a muscle-specific fashion in rat
Phytomedicine, **2008**, 15, 691-698. IF: **2,33**
- IV. **Tóth N.**, Simon A., Tóth G., Kele Z., Hunyadi A., Báthori M.
26-Hydroxylated ecdysteroids from *Silene viridiflora*.
Journal of Natural Products, **2008**, 71, 1461-1463. IF: **2,843**
- V. Simon A., **Tóth N.**, Tóth G., Kele Z., Groska J., Báthori M.
Ecdysteroids from *Silene viridiflora*
Helvetica Chimica Acta, **2009**, 92, 753-761. IF: **1,396**
(2008)
- VI. **Tóth N.**, Hunyadi A., Báthori M., Zádor E.
Phytoecdysteroids and Vitamin D Analogues – Similarities in Structure and Mode of Action
Current Medicinal Chemistry, **2010**, 17, 1974-1994. IF: **4,823**
(2008)

összesített IF:17.350

Az értekezés témájával rokon tárgyú, egyéb közlemények

- I. Báthori M., **Tóth N.**
Ecdysteroids, a promising group of steroids from a chromatographic standpoint.
Magyar Kémikusok Lapja, **2007**, 62(8-9), 258-260.
- II. Laufer R., Báthori M., Csermely T., Petroianu G., Kuca K., **Tóth N.**, Kalász H.
TLC Determination of Hydrophilicity Parameter of Some Pyridinium Aldoximes
Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, **2007**, 30, 13-16.
IF: **0,977**

Előadások az értekezés témájában

Kalász, H., Báthori, M., **Tóth N.**

New ecdysteroids from *Silene viridiflora*.

ICOB-5 and ISCND-25 IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products Kyoto, Japan, 23-28 July 2006.

Tóth, N.

Silene viridiflora, mint új ekdiszteroidok forrása

Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2006. április 5-7.

Tóth, N.

A 20-hidroxi-ekdiszteroid hatása patkány vázizomban

Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2007. február 8-10.

Tóth, N.

A 20-hidroxi-ekdiszteroid izolálása és hatása patkány vázizomban

VIII. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2007. április 12-13.

Tóth N., Simon A., Tóth G., Miklóssy Vári V., Máthé I., Báthory M.

Új 26-hidroxi-ekdiszteroidok izolálása a *Silene viridiflora*-ból

Sesiunea Stiintifica Jubiliara, Marosvásárhely, 2007. április 23-24.

Tóth N.

A 20-hidroxi-ekdiszteroid anabolikus hatása patkány vázizomban

Tavaszi Szél Konferencia, Budapest, 2007. május 17-20.

Bátori M., Liktör-Busa, E., **Tóth, N.**, Hunyadi, A., Máthé, I., Simon, A., Tóth, G.

Anabolikus szteroidok, ekdiszteroidok izolálása növényi nyersanyagforrásokból.

Centenárium Vegyészkonferencia. Sopron, 2007. május 29-június 1.

Tóth N.

20E and skeletal muscle: Is it a new anabolic agent?

Cell signalling controlling muscle plasticity workshop in the frame of the Flemish-Hungarian Bilateral Cooperation BIL 04/33. Leuven, Belgium, 6 December 2007.

Tóth N.

20E and muscle: a new anabolic agent?

Annual Workshop Pneumology. Oostende, Belgium, 16-17 November 2007.

Hunyadi A., **Tóth N.**, Simon A., Tóth G., Báthori M.

Isolation of new phytoecdysteroids from *Silene viridiflora* and investigation of the natural origin of ecdysteroid acetonides

Ecdysone-Workshop, Ulm, Germany, 20-24 July 2008.

Tóth N., Báthori M., Gayan-Ramirez G., Szabó A., Kacsala P., Héger J., Zádor E.

Effect of 20E on different rat muscle models

Ecdysone-Workshop, Ulm, Germany, 20-24 July 2008.

Tóth N., Hunyadi A., Simon A., Tóth G., Báthori M.

A *Silene viridiflora* ekdiszteroidjai. Az izolálási eljárás műtermékei-e az ekdiszteroid acetonidok?

Gyógynövény Szimpózium, Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, Gyógynövény Szakosztály, Pécs, 2008. október 16-18.

Tóth N., Zádor E., Simon A., Báthori M.

A *Silene viridiflora* ekdiszteroid profilja. Hatásos-e a 20-hidroxiokdizon?

MTA Szteroidkémiai Munkabizottság Előadói Nap, Szeged, 2008. november 27.

Tóth N.

A *Silene viridiflora* ekdiszteroid profilja és a 20-hidroxiokdizon *in vivo* hatása patkányban

Magyar Tudomány Ünnepe rendezvénysorozat, Szegedi Tudományegyetem Gyógyszertudományok Doktori Iskola PhD hallgatóinak kutatási eredményei, Szeged, 2008. november 27.

Martins A., **Tóth N.**, Molnár J., Hohmann J., Báthori M., Hunyadi A.

Ecdysteroid derivatives as new modulators of resistance on multi-drug resistant cancer cells
Second International Workshop on Phytoecdysteroids. Syktyvkar, Republic of Komi, Russia, 4-7 July 2010.

Martins A., **Tóth N.**, Molnár J., Hohmann J., Báthori M., Hunyadi A.

Ecdysteroids reverse resistance of human mdr1 gene transfected mouse lymphoma cells
58th GA Congress, Berlin, Germany, 29 August – 2 September 2010.