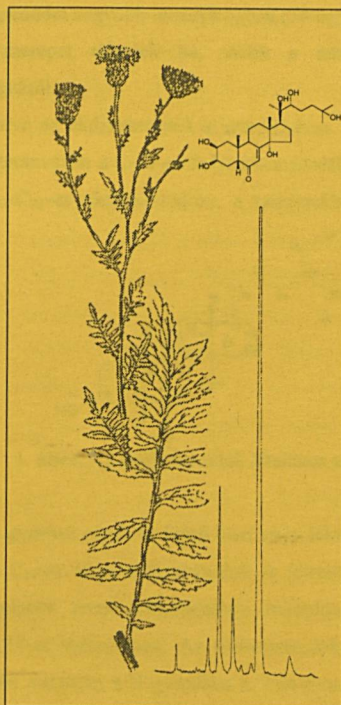


Szegedi Tudományegyetem
Farmakognóziai Intézet

PhD értekezés tézisei

Hunyadi Attila:
***A pompás zsoltina, mint
ígéretes ekdiszteroid-forrás***

Témavezető: Prof. Dr. Báthori Mária



Szeged
2006.

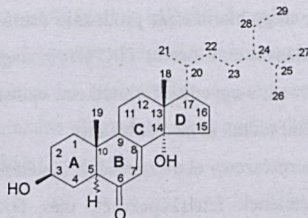
1. Bevezetés

1.1. Az ekdiszteroidok előfordulása, szerkezete és hatása

Az ekdiszteroidok az ízeltlábúak szteroid hormonjai. Az elsőként felfedezett ekdiszteroid az ekdizon (E) volt, melyet Butenandt és Karlson izolált selyemhernyó bábból 1954-ben, s szerkezetét Huber és Hoppe határozta meg. Az ekdiszteroidok a rovarokban fejlődésszabályozó hormon szerepet töltenek be, irányítják a rovar embriogenezist, vedlést, diapauzát, befolyásolják a pete- és a spermiumérést. A rovarokra rendkívül toxikusak, lipofil ekdiszteroid-analógokat napjainkban is használnak a növényvédelemben. Az ekdiszteroidok nemcsak a nagy fajszerű ízeltlábú törzsben, hanem a korallokban, férgekben, puhatestűekben, illetve a tüskésbőrűekben is előfordulnak, ezen fajokban betöltött szerepük jelenleg is kiterjedt kutatások tárgya.

Rendkívül érdekes ugyanakkor, hogy ezeket a vegyületeket növények is szintetizálják, sőt gyakran több nagyságrenddel nagyobb mennyiségben (50 ng/g - 30 mg/g), mint a rovarok. Valószínűleg védelmi szerepet töltenek be, védik a növényt a nem adaptálódott rovarkártevőktől, talajférgektől.

Szerkezetüket tekintve az ekdiszteroidok a szteránvázis vegyületek egyik jellegzetes csoportját alkotják. A szteránvázison a C-17-es helyzetben általában C₈-C₁₀ alkil vagy alkenil oldalláncot viselnek (C₂₇-C₂₉-es ekdiszteroidok), a szterinekhez illetve brasszolidokhoz hasonlóan (1. ábra).



1. ábra. Az ekdiszteroidok általános szerkezete

Az oldallánc gyakran gyűrűvé zárul, és belső étert vagy laktongyűrűt alkot. Az oldallánc hasadásával C₁₉, C₂₁ és C₂₄-es vázú ekdiszteroidok is létrejöhetnek. A C₁₉-es és C₂₁-es ekdiszteroidoknál az emlősök nemi hormonjaihoz hasonlóan hidroxil, karbonil, vagy acetilcsoport található a 17-es szénatomon. Az ekdiszteroidokra általában jellemző a 14 α illetve a 3 β hidroxileződés, valamint a B gyűrűben a 7-én-6-on kromofór csoport jelenléte; többszörösen hidroxilezett (3-8 hidroxil), többnyire az 5 β -androsztán sorba tartozó szteroidok.

Az ekdiszteroidok emlősökön mutatott toxicitása rendkívül alacsony, a 20-hidroxiekdizon (20E) *per os* LD₅₀ értéke egérben több, mint 9g/ttkg. Ugyanakkor, bár az emlős endokrin

rendszer semmilyen kimutatható módon nem befolyásolja, számos igazolt farmakológiai hatással rendelkeznek. Nagyszámú, különböző fajokon végzett állatkísérlet, de néhány humán vizsgálat is igazolta fehérjeszintézist fokozó, anabolikus hatásukat. Serkentik a növekedést illetve lokálisan alkalmazva a sejtprolifерációt, s mivel fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő hatással is bírnak, sebek kezelésére is alkalmasak lehetnek. Egyes szerzők Ginseng-szerű hatásokat tulajdonítanak ezeknek a vegyületeknek, s elsősorban a távol-keleten orális antidiabetikumként alkalmaznak ekdiszteroid-tartalmú növényeket illetve készítményeket.

1.2. Célkitűzések

Jelenleg is növekszik az igény az ekdiszteroidok, elsősorban a (20E) gazdaságos, nagy mennyiségben történő előállítására. Az erre a célra használt növények vagy egzotikus előfordulásuk (pl. *Achyranthes* és *Cyathula* fajok), vagy alacsony ekdiszteroid-tartalmuk (*Spinacia oleracea*, *Chenopodium album*) miatt hazai viszonylatban nem tekinthetők alkalmas ekdiszteroid-forrásnak. Bizonyos nagyobb ekdiszteroid tartalmú fajok esetében (*Silene otites*, *Silene nutans*, *Serratula tinctoria*) a termesztés tűnik nehezen kivitelezhetőnek. Ezek alapján kezdett munkacsoportunk további *Serratula* fajok vizsgálatához. A *Serratula wolffii* avagy pompás zsoltina, ezen értekezés tárgya megfelel a fent vázolt követelményeknek: erőteljes, nagy biomasszát produkáló évelő növény, amely nem igényel különleges termesztési körülményeket. Előzetes TLC szűrővizsgálataink alapján ekdiszteroid-tartalma megközelítheti az 1%-ot, s egyedinek mutatózó ekdiszteroid összetétele is kevésbé vizsgált. Mindezek alapján célul tűztük ki az alábbiakat:

1. Lehetőség szerint új természetes ekdiszteroidok izolálása a növényből. Ez egyúttal a növény ekdiszteroid összetételének feltérképezését, más fajokból ismert ekdiszteroidok izolálását is jelenti, ezáltal kiterjesztve a fajról ill. nemzetségről hozzáférhető ismeretanyagot.
2. Biológiai aktív vegyületek izolálása. Az ismert szerkezet-hatás összefüggések alapján a hatásért felelős szerkezeti elemek szűrővizsgálatszerű azonosítása lehetővé teszi, hogy az izolálás célzott módon történjen.
3. A rendkívül nagyszámú minor ekdiszteroid jelenléte ugyanakkor kihívást jelentett új, a korábbiaknál hatékonyabb elválasztástechnikai módszerek kifejlesztésére is.

2. Anyagok és módszerek

2.1. Növényi nyersanyag. A *S. wolffii* földfeletti része az észak-magyarországi Herencsényből származik, termesztett állományból. A begyűjtés 2001 júliusában történt.

2.2 Reagensek és tesztanyagok. Az analitikai tisztaságú oldószereket a Reanal (Budapest, Magyarország), a HPLC tisztaságúakat a Merck (Darmstadt, Németország) szállította. Az összehasonlító ekdiszteroidok korábbi izolálási munkánk eredményeként álltak rendelkezésre.

2.3. Az izolálás során alkalmazott módszerek. A növényi nyersanyagból metanollal végzett perkolálással készítettünk kivonatot. A metanolos kivonatot előtisztítottuk, emelkedő arányú acetonnal frakcionált kicsapást, valamint 50%-os vizes metanol és n-hexán közötti oldószer-oldószer megosztást végezve. Az izolálás során különböző elválasztástechnikai műveletek széles skáláját alkalmaztuk: klasszikus oszlopkromatográfiát (alumínium-oxid illetve szilikagél állófázison), poliamidon végzett szilárd-fázisú extrakciót, vákuum oszlopkromatográfiát (szilikagél, oktadecilszilika vagy ciano-szilika állófázis használatával), normál fázisú preparatív rétegekromatográfiát, illetve végső tisztítási lépésként normál fázisú HPLC-t. Az elválasztás követésére a HPLC-t megelőző valamennyi lépés esetében rétegekromatográfiát (szilikagél, oktadecilszilika vagy ciano-szilika rétegen) használtunk.

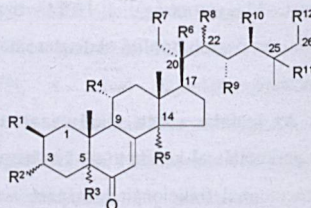
2.4. Szerkezetvizsgálat. Az ismert ekdiszteroidok azonosítása fizikai és spektroszkópiai tulajdonságaiknak az irodalomban publikált adatokkal való közvetlen összehasonlítása alapján történt. Tiszta összehasonlító ekdiszteroidokkal való kromatográfiás összehasonlításukhoz rétegekromatográfiát (normál, fordított illetve ciano fázison) és/vagy normál és fordított fázisú HPLC-t használtunk. A kromatográfia mellett különböző spektroszkópiai módszereket (UV, IR, NMR és MS) alkalmaztunk. A vegyületek szerkezetére vonatkozó alapvető információkat NMR és tömegspektrumaik elemzése szolgáltatta. A szerkezetfelderítés során ezeket a spektrumokat rendszerint a leginkább elterjedt ekdiszteroid, a 20E megfelelő spektrumaival való összehasonlításban vizsgáltuk.

3. Eredményeink

3.1. Az ekdiszteroidok izolálása. Kombinált kromatográfiás módszerek használatával 25 ekdiszteroidot izoláltunk a *Serratula wolffii* Andrae metanolos kivonatából. Ezen anyagok közül négyet (11 α -hidroxiposztszteron, herkeszteron, 25-hidroxidakrihainanszteron és 14-epi-20E) elsőként sikerült természetes forrásból előállítani. Ebből a növényfajból új ekdiszteroid további 14 (dakrihainanszteron, makiszteron C, 22-dezoxi-20E, E, makiszteron A, 3-epi-20E, 22-epi-20E, 20,26-dihidroxiekdizon, ajugaszteron C 2,3;20,22-diacetonid, ajugaszteron D, 5 α -20E, 22-dezoxi-20,21-dihidroxiekdizon, izovitexiron és turkeszteron), amelyek közül az utóbbi hatot a *Serratula* genusból is munkacsoportunk mutatta ki elsőként. Az izolált

vegyületek szerkezetét az 1. és 2. táblázat foglalja össze, az új természetes vegyületeket " * " jelöli.

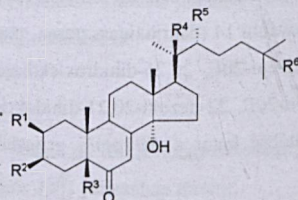
1. Táblázat. Az izolált klasszikus 7-én-6-on ekdiszteroidok szerkezete



Ekdiszteroid	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸	R ⁹	R ¹⁰	R ¹¹	R ¹²
Ajugaszteron C	OH	βOH	H	OH	αOH	OH	H	αOH	H	H	H	H
Ajugaszteron C 2,3;20,22-diacetonid			H	OH	αOH							
Ajugaszteron C 20,22-acetonid	OH	βOH	H	OH	αOH							
Ajugaszteron D	OH	βOH	H	H	αOH							
22-Dezoxi-20,21-dihydroiekdizon	OH	βOH	H	H	αOH	OH	O	H	H	H	OH	H
22-Dezoxi-20E	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	H	H	H	OH	H
20,26-Dihydroiekdizon	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	OH
E	OH	βOH	H	H	αOH	H	H	αOH	H	H	OH	H
3-Epi-20E	OH	αOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
14-Epi-20E*	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
22-Epi-20E	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
5α-20E	OH	βOH	αH	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
20E	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
20E 2,3;20,22-diacetonid			H	H	αOH							
20E 20,22-acetonid	OH	βOH	H	H	αOH							
11α-Hidroxiposzteron*	OH	βOH	H	OH	αOH							
Izovitexiron	OH	βOH	H	OH	αOH							
Makiszeron A	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	CH ₃	OH	H
Makiszeron C	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	C ₂ H ₅	OH	H
Polipodin B	OH	βOH	OH	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
Pteroszteron	OH	βOH	H	H	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H
Turkeszteron	OH	βOH	OH	OH	αOH	OH	H	αOH	H	H	OH	H

2. Táblázat. Az izolált diénon-szerkezetű ekdiszteroidok

Ekdiszteroid	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
Dakrihainanszteron	OH	OH	H	OH	OH	H
Herkeszteron*	OH	OH	OH	OH	OH	OH
25-Hidroxidakrihainanszteron*	OH	OH	H	OH	OH	OH



3.2. Potenciálisan hatásos ekdiszteroidok izolálása. A *S. wolffii* különösen gazdag 11 α -hidroxiekdiszteroidokban, amelyek a 2001-ben Syrov és mtsai. által publikált szerkezet-hatás összefüggések alapján kifejezett anabolikus hatást fejthetnek ki gerincesekben. A növény ezek közül a vegyületek közül a legnagyobb mennyiségben az ajugaszteron C-t tartalmazza, de 11 α -hidroxiposztzsteront, turkeszteront, izovitexiront, valamint az ajugaszteron C mono- és diacetoniidját is izoláltuk a növényből. Rétegekromatográfia segítségével már az izolálás előtt valószínűsíteni tudtuk a 11 α -hidroxilcsoport jelenlétét, ezek az ekdiszteroidok ugyanis megfigyeléseink szerint vanillinkénsavval történő előhívás után inkább vöröses színt mutattak természetes fénnel megvilágítva, szemben az általában tapasztalható kékes-zöldes színnel.

Potenciálisan hatásos vegyületek izolálását célzó stratégiánk három 7,9(11)-dién szerkezetű ekdiszteroid izolálását is eredményezte (dakrihainanszteron, herkeszteron, 20-hidroxidakrihainanszteron). Bourne kutatócsoportjának *Drosophila melanogaster* B₁₁ sejtvonalon végzett vizsgálatai alapján a 7,9(11)-dién ekdiszteroidok rovarokon jóval erőteljesebb hatást fejthetnek ki, mint a klasszikus 7-én-6-on szerkezetűek. Ezen ekdiszteroidok rétegekromatográfás előhívást követően hasonlóan viselkedtek, mint a 11 α -hidroxiekdiszteroidok. Ugyanakkor a HPLC-s elválasztás során is felismerhetőek voltak, a kiterjedtebb konjugáció miatt ugyanis UV elnyelési maximumuk magasabb hullámhosszra tolódik (298-300 nm), mint a klasszikus 7-én-6-on-ekdiszteroidoké (240-245 nm). Kettős UV-detektálást alkalmazva így a klasszikus ekdiszteroidokkal való átlapoltságuk esetén is azonosíthatóak voltak.

3.3. Csúcslevágás - egy új HPLC módszer. Az izolálás során egy speciális HPLC-módszert is kifejlesztettünk, amelynek segítségével javítani tudtuk két átlapolt csúcs elválását. Az izokratikusan használt eluens leggyengébb elúciós erővel rendelkező komponensét injektáltuk az oszlopra az elválasztás közben oly módon, hogy éppen a két elválasztandó anyag csúcsa között eluálódjon. Ez a később eluálódó anyag fokozott retencióját, s így jobb elválást eredményezett. A módszert normál fázisú HPLC-n diklórmetán - izopropanol - víz (125:40:3, v/v/v) rendszer esetében diklórmetán, ciklohexán - izopropanol - víz (100:40:3, v/v/v) rendszer esetében pedig ciklohexán megfelelően időzített injektálásával alkalmaztuk.

Fordított fázisú HPLC esetében metanol - víz (6:4, v/v) elegy használata mellett víz injektálásával választottunk el két átlapolt ekdiszteroidot, a 20E -t és a 3-epi-20E -t. Mivel az erősen lecsökkenő oldószerezerség képesnek bizonyult a tiszta anyag csúcsának kettéhasítására is, az elválasztás tényleges javulásának igazolása érdekében modelleztük a

jelenséget. Öt párhuzamos vizsgálatot végeztünk a 20E és a 3-epi-20E külön-külön kromatografálásával, a korábban meghatározott időpontban történő vízinjektálással illetve anélkül. A négy sorozatot a retenciók szerinti növekvő sorba rendeztük és rendre kromatogram-párokat képeztünk. Az így nyert kromatogram-párok átlapoló területeit az alábbiak szerint határoztuk meg:

- Egymásra helyezve a két kromatogramot, meghatároztuk a csúcsok metszéspontját
- Mindkét csúcst két részben integráltuk: a csúcs kezdetétől a metszéspontig, illetve attól a csúcs végéig
- Az "elméleti frakcióváltás" (amennyiben együtt injektáltuk volna a két átlapolódó anyagot) időpontjának a két görbe metszéspontját tekintettük, ez alapján a korábban eluálódó anyag később eluálódó részét vettük a később eluálódót szennyező veszteségnek, s ugyanígy tekintettük a később eluálódó anyag korábban eluálódó részét

A szokásos kromatográfiai technika és a csúcslevágás alkalmazásával számított átlapoló területek közötti különbséget egymintás T-próbával ellenőriztük 95%-os szignifikancia szint mellett, s az elválasztás szignifikáns javulását állapítottuk meg. A vizsgált körülmények között a 20E és 3-epi-20E tekintetében elérhető maximális kitermelést és tisztaságot a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. Táblázat. A 20E és 3-epi-20E elválasztásának javulása csúcslevágás használatával

H = hagyományos mód; C_s = csúcslevágás használata. A szennyezés mennyiségét az elméletileg izolált anyagmennyiség tömegszázalékában adtuk meg az alábbi képlet szerint:

$$\text{szennyezés } \%_{20E} = [1 - (m_{\text{inj. } 20E} - m_{\text{veszt. } 20E}) / (m_{\text{inj. } 20E} - m_{\text{veszt. } 20E} + m_{\text{veszt. } 3\text{-epi-}20E})] \times 100$$

	20E				3-epi 20E			
	Kitermelés (%)		Szennyezés (%)		Kitermelés (%)		Szennyezés (%)	
	H	C_s	H	C_s	H	C_s	H	C_s
1	98,06	98,90	1,94	1,10	95,26	97,39	4,74	2,61
2	98,29	99,14	1,71	0,86	95,73	97,05	4,29	2,95
3	97,92	99,50	2,08	0,50	95,75	97,63	4,25	2,37
4	98,45	99,41	1,55	0,59	96,55	98,67	3,44	1,33
5	97,87	99,22	2,10	0,78	95,09	98,11	4,91	1,89
Átlag	98,12	99,24	1,88	0,76	95,68	97,77	4,32	2,23
(+/- SD)	(+/- 0,25)	(+/- 0,24)	(+/- 0,25)	(+/- 0,24)	(+/- 0,58)	(+/- 0,63)	(+/- 0,58)	(+/- 0,63)

Módszerünket alkalmazva ugyanakkor a manuális frakciószedés jóval pontosabbá válik, mivel a szuperponált görbe a két csúcs között jóval kisebb meredekségű.

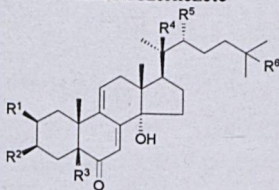
Mindezek alapján a csúcslévágás egy gyors és egyszerű alternatívát kínál az áramlási sebesség csökkentésére (időt takarítva meg) illetve a szelektívebb eluens-elegy keresésére (időt és költséges oldószert megtakarítva).

3.4. A 11 α -hidroxiekdiszteroidok szelektív dehidratációjá. Amint korábban már említettük, Bourne kutatócsoportjának eredményei szerkezet-hatás összefüggésre utalnak az ekdiszteroidok 7,9(11)-dién szerkezete és a *Drosophila melanogaster* ekdiszteroid-receptorához való affinitás között. Mivel a 11 α -hidroxiekdiszteroidok nagyságrendekkel kisebb hatákonyságúak, azok dehidratációjá a megfelelő diénon struktúrájú vegyületté értékes modellvegyületeket szolgáltathat új inszekticidek tervezéséhez. A reakciót az általunk kidolgozott módszerrel végeztük el, a *S. wolffii*-ből izolált négy 11 α -hidroxiekdiszteroid (ajugaszteron C 2,3;20,22-diacetonid, turkeszteron, izovitexiron és 11 α -hidroxiposztszteron) felhasználásával.

A vegyületeket metanolban oldottuk, s az oldatokat rendre semleges alumínium-oxid kromatográfiás állófázisra adszorbeáltattuk vákuumbepárló készülék segítségével, 50°C-os hőmérsékleten. Az ekdiszteroidokat az adszorbensről metanollal azonnal lemostuk, s a reakció lefolyását normál fázisú HPLC segítségével vizsgáltuk, 298 és 242 nm-es hullámhosszokon végzett kettős detektálás segítségével. A kromatogramok segítségével mólarányt számítottunk; a nyert vegyületek és kitermelési százalékaik az alábbiak voltak: 25-hidroxidakrihainanszteron (85.66%, *n/n*) turkeszteronból, 25,26-didehidrodakrihainanszteron (93.76%, *n/n*) izovitexironból, 9,11-didehidroposztszteron (93.92 %, *n/n*) 11 α -hidroxiposztszteronból, valamint dakrihainanszteron 2,3;20,22-diacetonid (96.56 %, *n/n*) az ajugaszteron C 2,3;20,22-diacetonidból; az utóbbi három ekdiszteroid új vegyület. Valamennyi terméket azonosítottuk ^1H és ^{13}C NMR spektrumaik alapján, az új ekdiszteroidok szerkezetét a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. Táblázat

A dehidratációval nyert új ekdiszteroidok szerkezete



Ecdiszteroid	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
25,26-Didehidrodakrihainanszteron	OH	OH	H			
Dakrihainanszteron 2,3;20,22-diacetonid			H			
9(11)-Didehidroposztszteron	OH	OH	H			

Módszerünk egyszerűbb és hatékonyabb utat kínál a 7,9(11)-dién ekdiszteroidok előállítására, mint az irodalomban korábban publikált módszerek.

3.5. A diénon-ekdiszteroidok természetes eredetének igazolása. Az izolálás első lépéseként alumínium-oxid kromatográfiás állófázist használtunk. Az előzőek alapján így felmerült a kérdés, vajon az izolált 7,9(11)-dién ekdiszteroidok nem a megfelelő 11 α -hidroxiekdiszteroidok dehidratációjával az izolálás során keletkezett műtermékek-e. A vizsgálatra a *S. wolffii* acetonnal végzett frakcionált kicsapással előtisztított metanolos kivonatát használtuk. A kivonat dakrihainanszteron-tartalmát három független módszerrel vizsgáltuk meg. Kettős detektálással végzett fordított fázisú HPLC segítségével a retenciósidő mellett a megfelelő csúcs spektroszkópai viselkedése is ezen ekdiszteroid jelenlétét utalt. Ezt egy normál fázisú, kétdimenziós rétegekromatográfiás vizsgálat is megerősítette.

A herkeszteron és a 25-hidroxi-dakrihainanszteron kivonatban való jelenlétének vizsgálatához fordított fázisú HPLC-t használtunk kettős detektálással, s 298 nm-en a herkeszteronnak megfelelő retenciósidőjű anyagot mutattunk ki a kivonatban. A kromatogramok első deriváltjának vizsgálata azt mutatta, hogy a görbe alakja 298 nm-en történő detektálás esetén oly módon változik meg a 245 nm-en felvett kromatogramhoz képest, hogy megfelelő inflexióspontja is egybeesik a tiszta herkeszteron csúcsának inflexióspontjával. A kivonat 298 nm-en felvett kromatogramjának első deriváltja a megfelelő lokális maximum és minimumhelyek alapján kis mennyiségű, más anyagokkal átlapolódott 25-hidroxi-dakrihainanszteron jelenlétét valószínűsíti.

Vizsgálataink alapján az izolált 7,9(11)-dién ekdiszteroidokat genuin vegyületeknek tekintjük. Ugyanakkor a szintén jelen lévő megfelelő 11 α -hidroxiekdiszteroidok minden bizonnyal bomlást szenvedtek az izolálási eljárás során, így az izolált diénon-szerkezetű ekdiszteroidok mennyisége alapján nem következtethetünk a növény által bioszintetizált mennyiségekre.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton is hálás köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Báthori Mária professzorasszonynak munkám folyamatos irányításáért, szeretetteljes támogatásáért, és disszertációm elkészítéséhez nyújtott áldozatkész segítségéért.

Hálával tartozom Dr. Máthé Imre professzor úrnak, az SZTE Gyógyszerésztudományi Kar Farmakognóziái Intézetének igazgatójának az intézetben való munkám elvégzésének folyamatos támogatásáért.

Külön köszönet illeti Dr. Szendrei Kálmán professzor urat, az intézet ekdiszteroidokkal kapcsolatos kutatásainak elindítóját, disszertációm elkészítéséhez nyújtott segítségéért és értékes, lelkesítő tanácsaiért.

Köszönöm Dr. Kalász Huba professzor úr támogatását és elválasztástechnikai kérdésekben nyújtott értékes szakmai tanácsait.

Köszönettel tartozom Dr. Prasznai Lajosnak a növényi nyersanyag biztosításáért. Köszönöm társszerzőim disszertációm alapjául szolgáló munkámhoz nyújtott segítségét: Dr. Tóth Gábornak és Dr. Simon Andrásnak az NMR-vizsgálatok felvételét és kiértékelését, Dr. Gergely Andrásnak a cirkuláris dikroizmus vizsgálatok elvégzését és az adatfeldolgozáshoz adott értékes tanácsait. Dr. Kele Zoltánnak és Dr. Mák Mariannának a tömegspektrometriai vizsgálatok elvégzését és Dr. Janicsák Gábornak a TLC-denzitometriai vizsgálatokat. Köszönet illeti társszerzőimet, Dr. Zupkó Istvánt, Dr. Forgó Pétert, Dr. Dinya Zoltánt, Dr. Gácsné-Baitz Erikát és Dr. Csedő Károlyt kollegiális támogatásukért.

Hálás köszönet illeti Hevért Herke Ibolyát, laboratóriumunk lelkét, akinek tapasztalatai nagy segítségemre voltak az izolálási munka során, s akinek neve méltán jelenik meg a herkeszteron elnevezésében.

Köszönöm továbbá laboratóriumunkban dolgozó kollégáimnak, Liktör-Busa Erikának és Tóth Noéminek, valamint a Farmakognóziái Intézet valamennyi munkatársának támogatását, tanácsait s a munkavégzéshez elengedhetetlen kellemes légkör megteremtését.

Végül, de nem utolsósorban hálásan köszönöm családom bizalmát és támogatását.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

I. Báthori, M., Zupkó, I., **Hunyadi, A.**, Gácsné-Baitz, E., Dinya, Z., Forgó, P.:

Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various *Serratula* species and isolation of flavonoids from *Serratula coronata*. *Fitoterapia* 2004, **75**: 162-167. i.f.: **0,848**

II. **Hunyadi, A.**, Tóth, G., Simon, A., Mák, M., Kele, Z., Máthé, I., Báthori, M.:

Two new ecdysteroids from *Serratula wolffii*. *J. Nat. Prod.* 2004, **67**: 1070-1072. i.f.: **1,849**

III. Báthori, M., **Hunyadi, A.**, Janicsák, G., Máthé, I.:

TLC of ecdysteroids with four mobile phases and three stationary phases. *J. Planar Chromatogr.* 2004, **17**: 335-341. i.f.: **0,879**

IV. Kalász, H., **Hunyadi, A.**, Báthori, M.:

Novel results of two-dimensional thin-layer chromatography. *J. Liquid Chromatogr.* 2005, **28**: 2489-2497. várható i.f.: **0,836**

V. **Hunyadi, A.**, Gergely, A., Simon, A., Tóth, G., Veress, G., Báthori, M.:

Preparative-Scale Chromatography of Ecdysteroids of *Serratula wolffii* Andrae. *J. Chrom. Sci.* (közlés alatt) várható i.f.: **1,166**

összesített i.f.: **5,578**

Az értekezés témájával rokon tárgyú, egyéb közlemények

I.a Szendrei, K., Csedő, K., **Hunyadi, A.**:

Gyógynövény alkalmazások a Kárpát-medencében: Mit ér az eperfalevél? I. rész. *Gyógyszerészet* 2006, **50**: 243-248.

I.b Szendrei, K., Csedő, K., **Hunyadi, A.**:

Gyógynövény alkalmazások a Kárpát-medencében: Mit ér az eperfalevél? II. rész. *Gyógyszerészet*, 2006, **50**: 422-427.

II. **Hunyadi, A.**, Báthori, M., Szendrei, K.:

Ekdiszteroidok és ekdiszteroidtartalmú növények - gyógyászati és egyéb alkalmazások. Képzés egy életen át, Közlés alatt

Előadások az értekezés témájában

- Hunyadi A., Báthori M., Fekete G., Praszná L. és Máthé I.:** *Serratula* ekdiszteroidok izolálása és *in vivo* aktivitása zöldborsó levéltetűn (*Acyrtosyphon pisum* Harris). Magyar Gyógynövény Konferencia, 8.Gyógyszerkutatói Konferencia, 5. Magyar Fitoterápiás Konferencia, Kecskemét, 2002. november 13-15.
- Hunyadi A., Báthori M., Simon A., Tóth G., Máthé I.:** Générápiás szempontból ígéretes ekdiszteroidok a *Serratula wolffii*-ből. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XII., Budapest, 2003. május 8-10.
- Hunyadi A., Simon A., Máthé I., Tóth G., Báthori M.:** Isolation of Minor Ecdysteroids Using Liquid Chromatography. ACE&CC 2003-Advances in Chromatography and Electrophoresis Conferentia Chemometrica 2003, Budapest, 2003. Október 27-29.
- Báthori M., Kálmán A., Tóth G., Argay Gy., Simon A., Hunyadi A.:** Kihívások a fitoekdiszteroidok izolálásában. – Modellvegyületek felszintézisekhez. MTA Gyógyszerésztudományi Osztályközi Komplex Bizottság Tudományos Ülése, Budapest, 2003. november 26.
- Hunyadi A., Báthori M., Simon A., Tóth G., Gergely A., Máthé I.:** Speciális módszerek alkalmazása az ekdiszteroidok izolálásában és analizálásában. Fiatal Analitikusok Előadói Napja, Budapest 2003. november 25.
- Hunyadi A., Simon A., Tóth G., Máthé I., Báthori M.:** Isolation of new phytoecdysteroids promising for the use in ecdysteroid regulated gene switch. Future Trends in Phytochemistry, A Young Scientists Symposium, Gargnano, Olaszország, 2004. május 5-8.
- Hunyadi A., Báthori M., Simon A., Tóth G., Máthé I.:** Ígéretes ekdiszteroidok izolálása a *Serratula wolffii*-ből. A Gyógynövénykutatás aktuális kérdései, Budapest, 2004. május 10.
- Hunyadi A., Fekete G.:** Inszekticid ekdiszteroidok előállítás a *Serratula wolffii*-ből. Clauser Ottó emléktverseny, Visegrád, 2004. október 14-15
- Hunyadi A., Fekete G., Báthori M., Máthé I.:** Növényvédelmi szempontból ígéretes ekdiszteroidok a *Serratula wolffii*-ből. A tudomány napja, Szeged, 2004. november 2-19.
- Hunyadi A., Kalász H., Tóth N., Máthé I., Báthori M.:** Thin-Layer Chromatography on 20-Hydroxyecdysone in *Serratula tinctoria*. Planar Chromatography 2005 - Milestones in Instrumental TLC, Siófok, 2005. május 29-31.
- Hunyadi A., Tóth N., Báthori M., Szendrei K.:** Az ekdiszteroidokról - gyógyszerészeti szemmel. "Gyógynövények napjaink gyógyszerészetében - tradíciók és újdonságok" XI. Magyar Gyógynövény Konferencia, Dobogókő, 2005. október 13-15.
- Hunyadi A., Gergely A., Máthé I., Báthori M.:** Csúcslevágás - új preparatív HPLC módszer az ekdiszteroidok tisztításában. Fiatal analitikusok 20. előadói napja, Budapest, 2005. november 9.