

# Új, bioaktív szintetikus protoflavon származékok előállítása

Doktori értekezés tézise

**Dankó Balázs**

Farmakognóziai Intézet  
Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2019

Szegedi Tudományegyetem  
Gyógyszertudományok Doktori Iskola  
Farmakognóziái Ph. D. program  
Programvezető: Prof. Hohmann Judit, DSc.

# Új, bioaktív szintetikus protoflavon származékok előállítása

Doktori értekezés tézise

Témavezető:

**Dr. Hunyadi Attila, PhD.**

**Prof. Dr. Chang Fang-Rong, PhD.**

**Prof. Dr. Wu Yang-Chang, PhD.**

**Balázs Dankó**

Szigorlati Bizottság:

Elnök:

Tagok:

Bíráló Bizottság:

Elnök:

Opponensek:

Szeged

2019

## Bevezetés

A protoflavonoidok a természetes flavonoidok egy különleges csoportját alkotják. Nem aromás B gyűrűvel illetve C-1' helyzetű hidroxilcsoporttal rendelkeznek. Az első protoflavont (protogenkvanin 4'-glükozid) az *Equisetum arvense*-ből izolálták. A protoflavonoidokat eddig elsősorban páfrány fajokból írták le, de nem kizárólag. Ezen flavonoid család tagjait az *Apium graveolens* és *Piper carniconnectivum* fajokból is izolálták. Az eddig leginkább vizsgált protoflavonoid származék a protoapigenon, amelyet a *Thelypteris torresiana*-ból izoláltak 2005 ben. A protoflavonoidok biológiailag aktív vegyületek. A protoapigenon jelentős tumor ellenes hatást mutat mind *in vitro* mind *in vivo*. Ezen vegyület és egy szintetikus származéka (WYC0209) képes gátolni az ATR-függő jelátvitelt, így érzékenyíti a ráksejteket a DNS károsító kemoterápiás szerekkel szemben. A protoapigenon ezen kívül vírusellenes hatást is mutat Epstein-Barr vírussal szemben.

A vegyület és számos szintetikus származék totálszintézissel történő előállítását 2007 –ben Lin és munkatársai valósították meg. Kiindulási anyagként trihidroxiacetofenont (metoximetil védőcsoporttal védve) és 4-benziloxibenzaldehidet használtak. Ezt követte a benzil védőcsoport eltávolítása, majd a B-gyűrű oxidatív dearomatizációja és a metoximetil védőcsoportok eltávolítása. Ezt az eljárást alacsony hozam és nagy időigény jellemzi. A protoapigenon ugyanakkor félszintetikus is előállítható apigeninből, ezt a szintetikus eljárást Hunyadi Attila dolgozta ki 2011–ben. Ezen módszer segítségével a protoapigenon és származékainak gyors és hatékony szintézise megoldhatóvá vált akár grammos nagyságrendben is. Ezáltal lehetővé vált a vegyület szélesebb körű biológiai vizsgálata is. PhD munkám kezdetén lehetőségem volt ezen munkához csatlakozni, ami egy jó kiindulási alapot jelentett a doktori munkámhoz.

## Célkitűzések

A doktori munka során az alábbi célok megvalósítását tűztük ki:

1. Új, biológiailag aktív, A-gyűrűn módosított szintetikus protoflavonok, és ezen vegyületek 1'-*O*-alkoxi származékainak előállítása.
2. Apigenin szabadgyökkel történő reakciójának *in vitro* és *in silico* vizsgálata, és a potenciálisan keletkező protoapigenon jelenlétének vizsgálata.
3. Az újonnan szintetizált vegyületek *in vitro* farmakológiai vizsgálata szenzitív és multi-drog-rezisztens tumor sejtvonalakon. Az ismert szerkezet-hatás összefüggések kiterjesztése.
4. A szintetizált vegyületek egyéb, nem tumor ellenes hatással összefüggő biológiai vizsgálatainak megkezdése.

## Eszközök és módszerek

### Kiindulási anyagok

A kereskedelmi forgalomban hozzáférhető flavonoidokat (4'-hidroxiflavon, 4'-hidroxi-6-metilflavon, 4'-hidroxi-6-metoxiflavon, 4'-hidroxi- $\beta$ -naftoflavon) az Indofine Chemical Company, Inc. (Hillsborough USA) gyártótól vásároltuk. Az egyéb reagenseket, anyagokat a Sigma Aldrich, Inc. (USA) vállalattól szereztük be.

### Protoflavon származékok előállítása

#### *Félszintetikus eljárás*

Protoflavon 1'-*O*-alkil étereket apigenin, genkwanin, 4'-hidroxi-6-metilflavon, 4'-hidroxi-6-metoxiflavon illetve 4'-hidroxi- $\beta$ -naftoflavon felhasználásával állítottuk elő egy lépéses szintézis segítségével. Az oxidatív dearomatizációs eljárás során hipervalens jód reagenst, [bisz(trifluoroacetoxi)jodo]benzolt (PIFA) alkalmaztunk, a kiindulási anyagot acetonitrilben oldottuk, amely 10%-ban tartalmazott vizet vagy egy megfelelő alkoholt, a kívánt kialakítandó C-1' szubsztituensnek (OH vagy *O*-alkil) megfelelően.

## *Totál szintézis*

C-6 pozícióban módosított származékokat hidroxiacetofenon, 4-etil-, illetve 4-pentilfenol kiindulási anyagok alkalmazásával, 4-6 lépésben valósítottuk meg, különböző szintézistechnikák kombinálásával (Fries átrendeződés, Claisen-Schmidt kondenzáció, Suzuki keresztkapcsolási reakció, debenzilezés, illetve oxidatív dearomatizáció).

### A szerkezet-meghatározás módszerei

Az előállított vegyületek szerkezetét tömegspektroszkópiás (API 2000 triple-quadrupole; Ab Sciex, USA, ill. LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Japán), illetve NMR-spektroszkópiás módszerek segítségével határoztuk meg (Varian Gemini-2000, 200 MHz vagy Bruker Avance DRX-500).

### Protoapigenon apigeninből történő keletkezésének *in silico* vizsgálata

A számítógépes számításokhoz Gaussian09 szoftvert használtunk. A fenolos hidroxilcsoport disszociációs entalpiáját (BDE) a Fl-OH (flavonoid) és a Fl-O<sup>•</sup>+ H<sup>•</sup> (flavonoid gyök) különbségéből számítottuk. Az oldószer jelenlétét az IEF-PCM modell segítségével szimuláltuk.

### Apigenin-protoapigenin átalakulás kísérletes vizsgálata

Az apigenint vízmentes metanolban oldottuk, majd az oldat pH-ját H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> segítségével 4-re állítottuk. Ezután a reakcióelegyhez vas katalizátort adtunk (FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O), majd lassan 30% -os hidrogén-peroxid oldatot adagoltunk. Az így keletkezett reakcióelegyet szilárd fázisú extrakció segítségével tisztítottuk. Az előtisztított mintákat fordított fázisú HPLC segítségével vizsgáltuk. Az átalakulást és időfüggését kutatási együttműködés keretében kapilláris elektroforézis segítségével is vizsgáltuk.

## **A vegyületek biológiai hatásvizsgálata**

### Tumor ellenes hatás

A vegyületek in vitro tumor ellenes hatásvizsgálata kutatási együttműködés keretében történt, ennek során négy humán sejtvonalat (HepG2, Hep3B, A549, MDA-MB-23), továbbá öt szenzitív/multi-drog rezisztens sejtvonal párt (A431 és A431<sub>B1</sub>, ill. A431<sub>G2</sub>, MES-SA és MES-SA/Dx5, KB-3-1 és KB-V1, L5178 és L5178<sub>B1</sub>, valamint MCF-7 és MCF-7<sub>dox</sub>) alkalmaztunk.

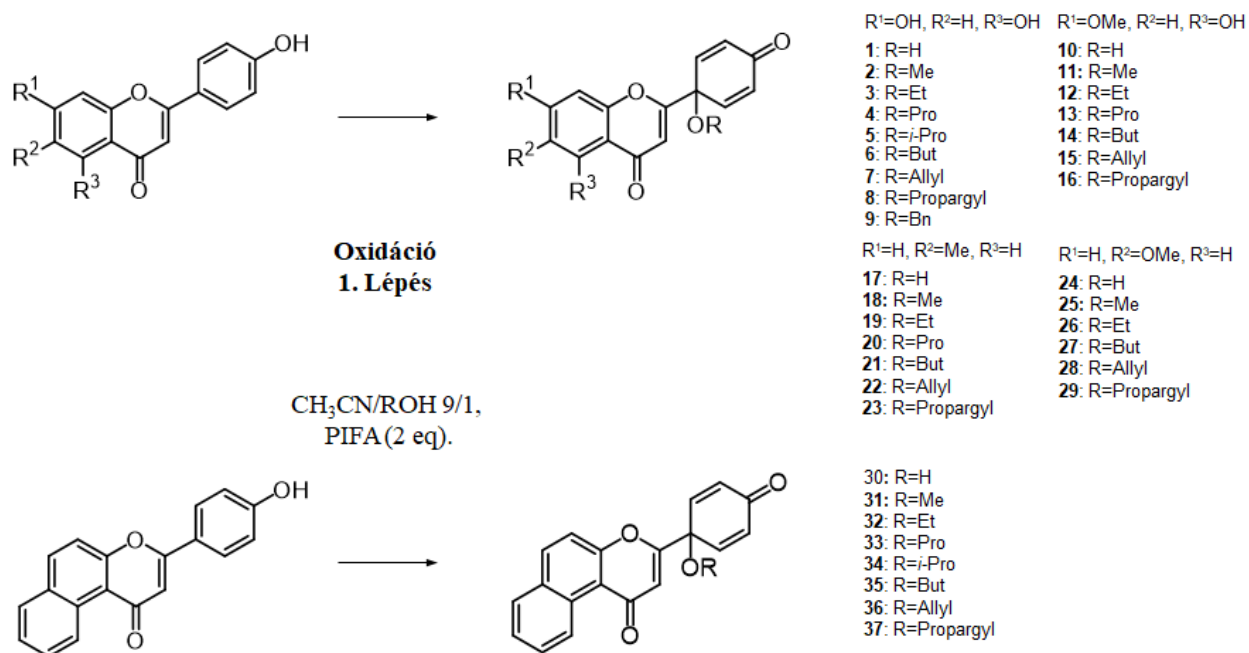
### Xantin - oxidáz enzim gátló hatás

A Xantin - oxidáz enzim gátló hatást kereskedelmi forgalomból beszerezhető kit (Sigma-Aldrich Ltd., USA) segítségével mértük, a gyártó cég útmutatásai alapján. A hatásosnak talált protoapigenon 1'-*O*-propargil éter enzimhez való kötődését in silico is megvizsgáltuk. Ennek során az anyag 3 dimenziós szerkezetét Gaussian09 (Gaussian Inc., Wallingford, USA) szoftver segítségével optimáltuk, amelyet iGEMDOCK 2.1 (BioXGEM, Hsinchu, Taiwan) szoftverrel dokkoltunk a 3NVY pdb azonosítójú fehérje (xantin oxidáz röntgendiffrakciós szerkezete kvercetinrel komplexben) kvercetin kötőhelyéhez. Az eredmények vizuális megjelenítését Discovery Studio 3 segítségével végeztük.

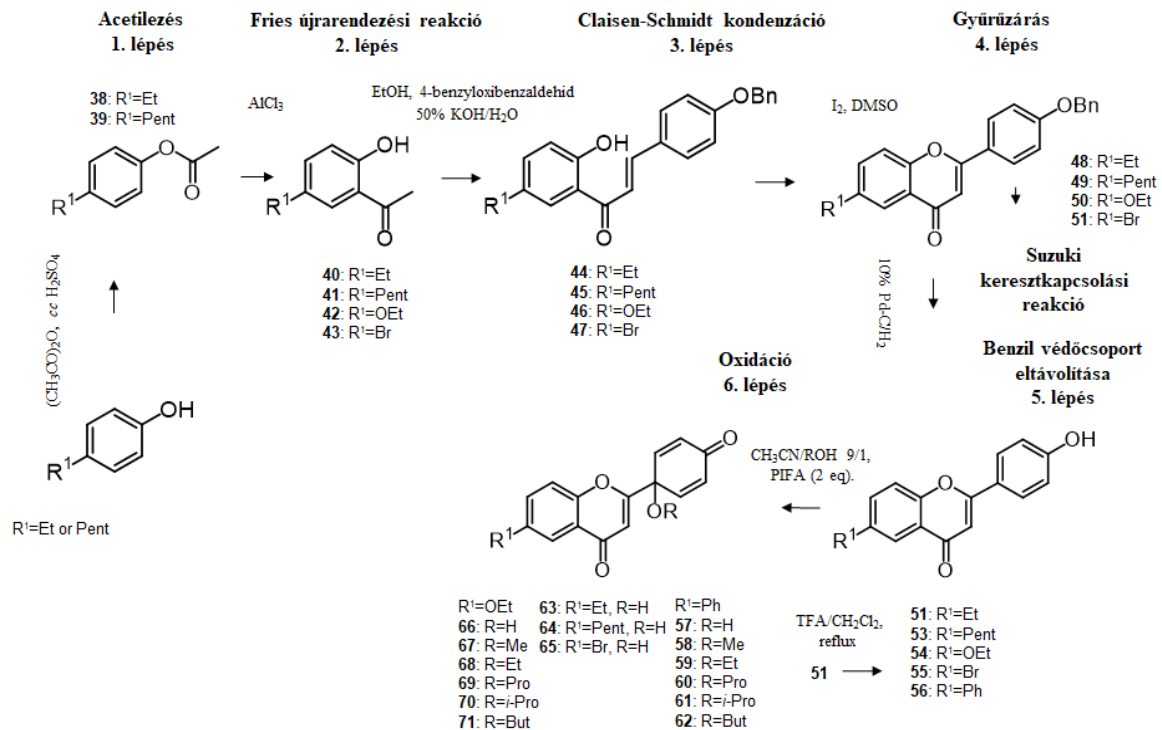
## Eredmények és értékelésük

### Szintézis

Harminchét protoflavon illetve protoflavon 1'-*O*-alkil éter származékot szintetizáltunk kereskedelmi forgalomban hozzáférhető 4'-hidroxiflavonokból (apigenin, genkvanin, 4'-hidroxi-6-metilflavon, 4'-hidroxi-6-metoxiflavon and 4'-hidroxi- $\beta$ -naftoflavon) PIFA -val végzett oxidatív dearomatizáció segítségével.



Tizenöt protoflavon illetve protoflavon 1'-*O*-alkil étert 4-6 lépéses szintézis segítségével állítottuk elő. Kiindulási anyagként 2'-hidroxiacetofenonokat használtunk. Első lépésként *p*-benziloxibenzaldehid hozzáadásával kalkont készítettünk. Következő lépésként gyűrűzárást hajtottunk végre DMSO oldószerben jód segítségével. A 6-bromo származék esetében a brómot fenil csoportra cseréltük Suzuki keresztkapcsolási reakció segítségével. A benzil védőcsoportot katalitikus hidrogénezéssel távolítottuk el. Végző lépésként PIFA segítségével állítottuk elő a kívánt végtermékeket, oldószerként acetonitril és víz, illetve acetonitril és az előállítandó oldalláncnak megfelelő alkohol 9:1 arányú elegyét alkalmaztuk.



## Tumor ellenes hatás

Az újonnan előállított vegyületek *in vitro* tumor ellenes hatását számos multidrog-rezisztens – szenzitív sejtvonal páron vizsgáltuk. Igazoltuk, hogy a vizsgált protoflavon származékok képesek megkerülni az ABCB1 és az ABCG2 efflux transzporterekhez köthető multidrog - rezisztenciát, egy kivétellel: a protoapigenont ABCG2 szubsztrátként azonosítottuk. Számos protoflavon származék esetében ugyanakkor MDR szelektív citotoxicitást is megfigyeltünk egy doxorubicinre rezisztens emlőtumor sejtvonalon (MCF-7<sub>Dox</sub>).



### Egyes kiválasztott vegyületek biológiai aktivitása xantin - oxidáz enzimen

Egyes vegyületeinket xantin - oxidáz gátló hatásra is teszteltünk. A genkwain származékok esetében hatástalanok voltak, a naftoflavon származékok esetén pedig csekély gátló hatást volt megfigyelhető. Egy kivétellel az összes protoflavon származék gyenge, illetve közepes gátló aktivitást mutatott. A protoapigenon 1'-*O*-propargil éter esetén viszont jelentős enzim gátló hatást mértünk, a tesztelt koncentrációban az enzimet szinte teljesen gátolta. Ezen vegyület esetében meghatároztuk a dózis-hatás görbét és összehasonlítottuk az allopurinol illetve apigenin görbéivel. A vegyület gátló hatásának hatásmechanizmusát is vizsgáltuk. A kinetikus görbe alapján elmondhatjuk, hogy a vegyület az enzim kompetitív inhibitora. Az protoapigenon 1'-*O*-propargil éter enzimhez való kötését *in silico* vizsgáltuk. A dokkolás sorány nert azt mutatja, hogy a vegyület propargil láncá tökéletesen beillik az enzim egyik hidrofób zsebébe (Leu648, Phe649, Asp872, Leu873 and His875).

### OH gyök szerepe az apigenin – protoapigenon átalakulásban

Első lépésként *in silico* vizsgáltuk az apigenin – protoapigenon átalakulást. Az apigenin 4'OH kémiai kötés felszakadási entalpiája (BDE) az oldószer figyelembevételével kiszámításra került. A keletkező gyök elektron eloszlását meghatároztuk, s ezen alapján megjósoltuk, hogy az OH gyök melyik pozícióba milyen valószínűséggel tud kapcsolódni. A számítások azt mutatják, hogy az 1' helyzet a preferált. Az *in silico* vizsgálatok alapján elmondható, hogy bár magas energia befektetést igényel a reakció, ennek ellenére az átalakulás lehetséges, és a fő termék feltételezhetően a protoapigenon.

Ezen elmélet megerősítése vagy cáfolata céljából kísérletes vizsgálatokat végeztünk. Fenton reakciót hajtottunk végre apigeninen és az így kapott reakcióelegyet előtisztítottuk, majd RP-HPLC-DAD módszer segítségével vizsgáltuk. A reakcióelegyből a protoapigenon kimutatható volt. A reakciót megismételtük, majd ezúttal a reakcióelegyet tisztítás nélkül CE módszer segítségével vizsgáltuk. Megállapítható, hogy a protoapigenon a fő metabolit. Ezenkívül redukált glutationnal 24 óra alatt sikeresen visszaredukáltuk a protoapigenont apigeninre. Ez alapján valószínűsíthető egy apigenin-protoapigenon-apigenin redox ciklus létezése.

## Összefoglalás

- 52 protoflavon származékot állítottunk elő, ebből 50 új vegyület.
- Igazoltuk, hogy a protoflavonoidok képesek megkerülni az efflux mediált multidrug - rezisztenciát ABCG2 és ABCG2 expresszált sejtvonalakon.
- MDR szelektív citotoxicitást volt megfigyelhető a legtöbb protoflavon származék esetében doxorubicin rezisztens sejtvonalon (MCF-7<sub>Dox</sub>).
- A protoapigenon 1'-*O*-propargyl éterer a xantin - oxidáz enzim hatásos gátlójának bizonyult.
- *In silico* DFT számításokkal illetve HPLC és CE módszerek segítségével igazoltunk, hogy az apigenin - protoapigenin átalakulás hidroxil gyök jelenlétében lehetséges.

## Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni őszinte köszönetemet témavezetőimnek dr. Hunyadi Attilának, Prof. Fang-Rong Chang -nak és Prof. Yang-Chang Wu -nak, akik felbecsülhetetlen szakmai tudásukkal segítették doktori munkámat. Köszönettel tartozom továbbá Prof. Molnár Józsefnek és dr. Ana Martinsnak illetve dr. Szakács Gergelynek és Tóth Szilárdnak az előállított vegyületek MDR sejtvonalakon történő biológiai vizsgálataiért, továbbá Prof. dr. Falkay Györgynek a xantin -oxidáz gátló hatás vizsgálatért. Köszönöm Dr. Németh Krisztinának a kapillár elektroforézissal elvégzett vizsgálatokért. Külön köszönettel tartozom dr. Patrick Trouillas –nak, aki lehetőséget biztosított, hogy kutatócsoportjához csatlakozzam a Limoges-i egyetemen, és segítséget nyújtott az *in silico* számítások kivitelezésében. Ezenkívül hálás köszönettel tartozom a szegedi illetve a kaohsiung –i Farmakognóziai Intézet összes munkatársának. Külön köszönetemet szeretném kifejezni Hevérné Herke Ibolyának, Kúsz Norbertnek, Vágvölgyi Máténak, Horváth Attilának Dr. Wan-Chun Lai-nak illetve Dr. Da-Wei Chuang-nak a laboratóriumi munkában nyújtott segítségért. Köszönettel tartozom Prof. Lonard Amaral -nak aki doktori munkám során értékes tanácsokkal látott el. Végezetül pedig szeretnék köszönetet mondani a Richter Gedeon Zrt. –nek, az Európai Unió COST szervezetének, illetve a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak (NKFIH; K-119770) a kutatásaimhoz nyújtott anyagi támogatásért.

## Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- I. Hunyadi A, Chuang DW, **Danko B**, Chiang MY, Lee CL, Wang HC, Wu CC, Chang FR, Wu YC; Direct Semi-synthesis of the Anticancer Lead-drug Protoapigenone from Apigenin, and Synthesis of Further New Cytotoxic Protoflavone Derivatives. *PLoS ONE* **2011**, Vol. 6(8), e23922. **IF: 4.092**
- II. **Danko B**, Martins A, Chuang DW, Wang HC, Amaral L, Molnar J, Chang FR, Wu YC, Hunyadi A; *In vitro* Cytotoxic Activity of Novel Protoflavone Analogs – Selectivity against a Multi-drug Resistant Cancer Cell Line. *Anticancer Res.* **2012**, Vol. 32, pp. 2863-2870. **IF: 1.725**
- III. Poor M, Li Y, Kunsagi-Mate S, Varga Zs, Hunyadi A, **Dankó B**, Chang FG, Wu YC, Kőszegi T; Protoapigenone Derivatives: Albumin Binding Properties and Effects on HepG2 Cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* **2013**, Vol 124, pp. 20-26. **IF: 3.110**
- IV. Hunyadi A, Martins A, **Danko B**, Chuang D-W, Trouillas P, Chang F-R, Wu Y-C, Falkay G; Discovery of The First Non-planar Flavonoid That Can Strongly Inhibit Xanthine Oxidase: Protoapigenone 1'-o-propargyl ether. *Tetrahedron Letters* **2013**, Vol 54(48), pp. 6529-6532. **IF: 2.397**
- V. Hunyadi A, Martins A, **Danko B**, Chang FR, Wu YC; Protoflavones: a Class of Unusual Flavonoids As Promising Novel Anticancer Agents *Phytochemistry Reviews*, **2014**, Vol 13, pp. 69-77. **IF: 2.407**
- VI. Stankovic T, **Danko B**, Martins A, Dragoj M, Stojkovic, Isakovic A, Wang H-C, Wu Y-C, Hunyadi A, Pesic M. Lower Antioxidative Capacity of Multidrug-Resistant Cancer Cells Confers Collateral Sensitivity to Protoflavone Derivatives. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2015**, Vol 76(3), pp. 555-565. **IF:2.824**
- VII. **Danko B**, Toth S, Martins A, Vagvolgyi M, Kusz N, Molnar J, Chang FR, Wu YC, Szakacs G, Hunyadi A. Synthesis and SAR Study of Novel Anticancer Protoflavone Derivatives – Investigation of Cytotoxicity and Interaction with the ABCB1 and ABCG2 Multidrug Efflux Transporters. *ChemMedChem*, 2017, Vol. 12, pp 850-859. **IF=3.225**

## Egyéb publikációk

- VIII. Hunyadi A, **Danko B**, Boni, M, Militaru A, Alexandru T, Nastasa V, Andrei IR, Pascu M, Amaral L; Rapid, Laser-Induced Concersion of 20-Hydroxyecdysone and It's Diacetone – Experimental Set-up of a System for Photochemical Transformation of Bioactive Substances. *Anticancer Res.* **2012**, Vol 32(4), pp. 1291-1297. **IF: 1.725**
- IX. Csupor D, Widowitz U, Blazsó G, Laczko-Zold E, Tatsimo J. S. N., Balogh A, Boros K, **Danko B**, Bauer R, Hohmann J; Anti-inflammatory Activities of Eleven *Centaurea* Species Occurring in the Carpathia Basin. *Phytotherapy Res.* 2013 Vol 27 pp540-544. **IF: 2.650**
- X. Csupor D, Boros K, **Danko B**, Veres K, Szendrei K, Hohmann J; Rapid Identification of Sibutramine in Dietary Supplements Using a Stepwise Approach. *Pharmazie* **2013**, Vol 68, pp. 15-18. **IF:1.006**
- XI. Pascu ML, **Danko B**, Martins A, Jedlinszki N, Alexandru T, Nastasa V, Boni M, Militaru A, Andrei IR, Staicu A, Hunyadi A, Fanning S, Amaral L; Exposure of Chlorpromazine to 266nm Laser Beam Generates New Species with Antibacterial Properties: Contributions to a New Process for Drug Discovery. *Plos One* **2013**, Vol 8(2), pp. e55767. **IF:4.490**
- XII. Hunyadi A, Veres K, **Danko B**, Kele Z, Weber E, Hetenyi A, Zupko I, Hsieh TJ; In vitro Anti-diabetic Activity and Chemical Characterization of an Apolar Fraction of *Morus alba* Leaf Water Extract. *Phytotherapy Research* **2013**, Vol 27(6) pp. 847-851. **IF: 2.086**
- XIII. Armada AM, Alexandru T, Machado D, **Danko B**, Hunyadi A, Dinache A, Nastasa V, Boni M, Ramos J, Viveiros M, Molnar J, Pascu ML, Amaral L; The In Vitro Activity of Products Formed from Exposure of Chlorpromazine to a 266nm LASER Beam against Species of Mycobacteria of Human Interest. *In Vivo* **2013**, Vol 27(5) pp. 605-610. **IF: 1.148**
- XIV. Alexandru T, Armada A, **Danko B**, Hunyadi A, Militaru A, Boni M, Nastasa V, Martins A, Alexandru Viveiros M, Pascu ML, Molnar J, Amaral L; Biological Evaluation of Products Formed from the Irradiation of Chlorpromazine with a 266 nm Laser Beam. *Biochemistry and Pharmacology* **2013**, Vol 2(1) pp. 1-4. **IF: -**
- XV. Lai WC, **Danko B**, Csabi J, Kele Z, Chang FR, Pascu ML, Gáti T, Simon A, Amaral L, Tóth G, Hunyadi A. Rapid, Laser-Induced Conversion of 20-Hydroxyecdysone - a Follow-up Study on the Products Obtained *Steroids* **2014**, Vol 89, pp. 56-62. **IF: 2.639**

- XVI. Lai WC, Wu YC, **Danko B**, Cheng YB, Hsieh TJ, Martins A, Hohmann J, Hunyadi A, Chang FR. Bioactive Constituents of *Cirsium japonicum var. australe*. *Journal of Natural Products* **2014**, Vol 77, pp. 1624-1631. **IF: 3.798**

### **Az értekezés témájához kapcsolódó előadások és poszterek:**

1. Hunyadi A, **Danko B**, Chuang DW, Chen SL, Martins A, Molnar J, Chang FR Wu YC; Microwave-assisted one-step synthesis and *in vitro* cytotoxic activity of protoapigenone and its 1'-O-alkyl derivatives. 25th Symposium on Natural Products, Nov. 6-7. 2010. Checheng, Taiwan,
2. **Danko B**, Lee JC, Chang FR, Wu YC, Hunyadi A; Synthesis and anti-HCV activity of 1'-O-alkyl protoflavone derivatives. Trends in Natural Products Research: A PSE Young Scientist's Meeting, June 12–15. 2011. Kolymvari, Crete, Greece
3. Hunyadi A, **Danko B**, Chuang DW, Chang FR, Wu YC, Falkay G; Strong inhibition of xanthine oxidase by a non-planar flavonoid, protoapigenone 1'-O-propargylether. 12th Eurasia Conference on Chemical Sciences, Apr. 16-21. 2012. Corfu, Greece
4. **Danko B**, Bayach I, Fabre G, Trouillas P, Hunyadi A; In silico study of the redox properties of apigenin and protoapigenone - a midterm STSM progress report. COST Action CM0804, joint cost meeting, November 5-6, 2012, Salerno, Italy
5. **Danko B**, Martins A, Chang FR, Wu YC, Hunyadi A; Total synthesis of new protoflavone derivatives. COST Action CM1106, 2nd Working Group Meeting, September 19 – 20 2013, Warsaw, Poland
6. **Danko B**, Martins A, Amaral L, Molnar J, Chang FR, Wu YC, Hunyadi A; Synthesis of new MDR selective protoflavone derivatives. COST Action CM1106, 3rd Working Group Meeting, 27 – 28 March 2014, Budapest, Hungary
7. Stankovic T, **Danko B**, Milosevic Z, Bankovic J, Martins A, Molnar J, Amaral L, Hunyadi A, Pesic M; Selectivity of protoflavone derivatives towards human multi-drug resistant cancer cell lines. COST Action CM1106 3rd Working Group Meeting, March 27 – 28 2014, Budapest, Hungary

8. **Danko B**, Martins A, Amaral L, Molnar J, Pesic M, Szakács G, Hunyadi A; Semi- and total-synthetic protoflavone derivatives as mdr selective anticancer agents 9th International Conference of Anticancer Research, 6 - 10 October 2014, Sithonia, Greece.
9. **Dankó B**, Jin-Ching Lee, Fang-Rong Chang, Yang-Chang Wu, Hunyadi Attila; P-8 Synthesis and anti-HCV activity of 1'-O-alkyl protoflavone derivatives XII. Magyar Gyógynövény Konferencia, 5-7 May 2011. Szeged.
10. Hunyadi A, **Dankó B**, Martins A, Amaral L, Molnár J; Protoflavonok előállítása és farmakológiai vizsgálata. Az MTA Alkaloidkémiai és Flavonoidkémiai munkabizottsága Előadóülése. 12-13 May 2014. Balatonalmádi.
11. **Dankó B**, Martins A, Chang FR, Wu YC, Hunyadi A. MDR szelektív rák ellenes hatással rendelkező protoflavon származékok előállítása. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XV, 10-12 April 2014 Budapest