

**MAGYARORSZÁGI POLYGONACEAE FAJOK BIOLÓGIAILAG AKTÍV
VEGYÜLETEINEK IZOLÁLÁSA ÉS SZERKEZETMEGHATÁROZÁSA**

OTKA PD 101432

Zárójelentés

Készítette:

DR. VASAS ANDREA

egyetemi docens

Szeged

2014

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés.....	2
2. A kutatás eredményei	4
2.1. Polygonaceae fajok antiproliferatív szűrővizsgálata	4
2.2. Polygonaceae fajok ioncsatornák működését gátló hatásának vizsgálata.....	5
2.3. Polygonaceae fajok xantin-oxidáz gátló hatásának szűrővizsgálata	6
2.4. A <i>Rumex thyrsiflorus</i> vegyületeinek izolálása és szerkezet-meghatározása	6
2.5. A <i>Rumex aquaticus</i> vegyületeinek izolálása és szerkezet-meghatározása.....	7
2.6. A <i>R. aquaticus</i> ból izolált flavonoidok neuroprotektív hatásának vizsgálata	8
2.7. Biológiailag aktív vegyületek izolálása a <i>Persicaria maculosá</i> ból.....	8
2.8. A <i>Rumex</i> fajokkal kapcsolatos fitokémiai és farmakológiai adatok összegyűjtése, rendszerezése	11
3. Összefoglalás	12
4. Publikációk.....	14
5. Irodalomjegyzék	16

1. BEVEZETÉS

Napjainkban a szív és érrendszeri, illetve a daganatos betegségek a halálozások okai között kiemelten magas gyakorisággal szerepelnek. A megbetegedések incidenciája ma világszerte emelkedik, Magyarországon az elhalálozások felének háttérében kardiovaszkuláris, negyedében pedig tumoros megbetegedés áll. A kardiovaszkuláris megbetegedésekben és a tumorterápiában alkalmazható gyógyszerek kifejlesztése ezért a gyógyszerkutatások egyik kiemelt területe. A kutatások motivációs tényezője továbbá az is, hogy számos ráktípus ellen ma még nem rendelkezünk megfelelően hatékony gyógyszerekkel, illetve számos ma használatos gyógyszerrel szemben a tumorsejtek rezisztenciája alakul ki. A klinikai onkológiában folyamatos igény mutatkozik új, szelektíven ható, rezisztens sejtvonalak ellen is hatékony, kedvezőbb mellékhatás-spektrummal rendelkező gyógyszerek iránt. A szívelégtelenség kezelésében az elmúlt évtizedekben bekövetkezett jelentős fejlődés ellenére a betegség mortalitása ma is igen magas, eléri vagy meg is haladja a malignus betegségekét. A xantin-oxidáz (XO) enzimrendszer szerepe mindkét betegségcsoport szempontjából igen jelentős. Ez az enzim ugyanis nem csak a köszvény kialakulásában játszik szerepet, hanem egyike a legfőbb szabadgyök-forrásoknak, amelyek a különböző stresszállapotokban súlyos sejtkárosítást okoznak.¹

A növényi és egyéb természetes eredetű vegyületek a gyógyszerkutatásban napjainkban is jelentős szerepet kapnak. A modern gyógyszervegyületek jelentős része ma is természetes eredetű, vagy természetes vegyületekkel rokon.² A Farmakognóziail Intézetben már több mint egy évtizede folyik növényi kivonatok és tiszta vegyületek tumorellenes hatásának vizsgálata. A pályázat keretében elsősorban tumorsejtek szaporodását gátló, ezen kívül különböző ioncsatornák működését befolyásoló valamint gyulladásos folyamatokban szerepet játszó (COX-, XO-gátló hatású) természetes vegyületek keresését tűztük ki célul. A Kárpát-medencében előforduló, a Polygonaceae családba tartozó fajokból terveztük elsősorban terpenoidok és fenolos anyagok izolálását, szerkezet-meghatározását és farmakológiai hatásuk vizsgálatát azzal a céllal, hogy olyan természetes vegyületeket ismerjünk meg, amelyek tumorellenes, gyulladáscsökkentő illetve ioncsatornákra gyakorolt hatásuk révén új gyógyszerjelölt molekulák kifejlesztéséhez járulhatnak hozzá.

A Polygonaceae családba mintegy 1200 növényfaj tartozik, legismertebb nemzetségei a *Polygonum* (keserűfű), *Rheum* (rebarbara), *Fagopyrum* (hajdina) és a *Rumex* (sóska). Az ide

tartozó növények a Kárpát-medencében nagy számban előfordulnak, Magyarországon 32 Polygonaceae faj honos.³ Népgyógyászati alkalmazásuk azonban elsősorban Ázsiában tekint vissza nagy múltra, gyulladások, hepatitis, epekő, égési sérülések kezelésére valamint hashajtóként történő felhasználásuk elterjedt. Számos közlemény számolt már be a Polygonaceae fajok komponenseinek különféle farmakológiai aktivitásáról (pl. gyulladáscsökkentő, antimikrobiális, tumorellenes, antioxidáns); főbb hatóanyagaik a szeszkviterpének, flavonoidok, antrakinonok és stilbének csoportjába tartoznak.^{4,5} Az eddigi vizsgálatokat elsősorban Ázsiában végezték. A Kárpát-medencében található Polygonaceae fajok biológiai aktivitása kis mértékben tanulmányozott, ezért célul tűztük ki ezek fitokémiai és farmakológiai analízisét.

2. A KUTATÁS EREDMÉNYEI

2.1. Polygonaceae fajok antiproliferatív szűrővizsgálata

Munkánk során elsőként a Kárpát-medencében előforduló 27, a *Fallopia*, *Oxyria*, *Persicaria*, *Polygonum* és *Rumex* nemzetségekbe tartozó faj különböző polaritású kivonatainak preparatív előállítását és ezek *in vitro* antiproliferatív szűrővizsgálatát végeztük el. A friss növényeket – amennyiben lehetséges volt – szervekre bontottuk, majd szárítottuk, és feldolgozásukig szobahőmérsékleten tároltuk. Kísérleteinkhez a növények metanolos kivonatának folyadék-folyadék megosztással előállított frakcióit (*n*-hexán, kloroform, vizes metanolos maradék), valamint a vizes kivonatokot használtuk.

A kivonatok antiproliferatív hatását három humán sejtvonalon [cervixkarcinóma (HeLa), epitheliális eredetű bőrkarcinóma (A431) és emlőkarcinóma (MCF7)] MTT teszt alkalmazásával tesztelték az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében. Aktívnak tekintettük azokat a kivonatok, amelyek a vizsgált 30 µg/ml koncentrációban a tumorsejtek szaporodását 50%-ot meghaladó mértékben gátolták. Megállapítottuk, hogy a tumorelleses hatású anyagok a lipofil *n*-hexános (A) és a kloroformos (B) frakciókban halmozódtak fel, a vizes-metanolos (C) és a vizes (D) frakciók minden esetben inaktívnak (< 50%-os gátlás) bizonyultak. Hat kivonat mutatott jelentős gátló hatást (≥ 50% sejt proliferációs gátlás) 10 µg/ml vagy 30 µg/ml koncentrációban egy vagy több sejtvonalon.

Megállapítottuk, hogy tumorelleses hatást tekintve a *Rumex* nemzetség fajai a leginkább figyelemre méltóak. 5 sóska faj, a *R. acetosa*, *R. alpinus*, *R. aquaticus*, *R. scutatus* és *R. thysiflorus* kivonata 50 %-ot meghaladó sejtproliferáció gátló hatást mutatott. Leghatásosabbnak a *R. thysiflorus* gyökeréből készült kloroformos kivonat mutatkozott, mivel A431 és MCF7 sejtvonalakon, 30 µg/ml-es koncentrációban egyaránt jelentősen (96,2% és 88,6%) gátolta a tumorsejtek proliferációját. A *Polygonum* nemzetség fajai közül a *P. hydropiper* metanolos kivonata esetén tapasztaltunk aktivitást. A gyökérből készült metanolos kivonat *n*-hexános frakciója 30 µg/ml-es koncentrációban HeLa sejtvonalon 54,75%-os gátló hatást mutatott, a másik két sejtvonalon mérsékelt proliferáció gátlás volt észlelhető (A431 46,6% és MCF7 48,2%) (1. táblázat).

Több növényfaj esetén a szűrővizsgálati eredmények összhangban vannak a népgyógyászati tapasztalatokkal, azaz a daganatok kezelésére alkalmazott növényfajok kivonatai hatásosak voltak *in vitro* modellünkön, más esetében azonban a fajok tradicionális

gyógyászati alkalmazása ellenére nem tapasztaltunk kísérleteinkben tumorsejtek szaporodását gátló aktivitását.

1. táblázat. Az antiproliferatív szűrővizsgálat során legaktívabbnak mutatkozó kivonatok

Faj	N.r.	Osz.	Sejtnövekedést gátló hatás (% \pm SEM)					
			HeLa		A431		MCF7	
			10 μ g/ml	30 μ g/ml	10 μ g/ml	30 μ g/ml	10 μ g/ml	30 μ g/ml
<i>P. hydropiper</i>	Gy	A	38.2 \pm 1.1	54.8 \pm 1.0	26.7 \pm 2.2	46.6 \pm 1.0	20.7 \pm 1.7	48.2 \pm 2.2
<i>R. acetosa</i>	Ffr	B	77.7 \pm 0.3	97.0 \pm 0.3	-	14.9 \pm 1.6	22.6 \pm 1.0	55.1 \pm 1.9
<i>R. alpinus</i>	Gy	A	-	42.6 \pm 1.6	12.3 \pm 1.9	58.3 \pm 0.6	14.7 \pm 2.5	58.8 \pm 1.5
<i>R. aquaticus</i>	Gy	A	21.0 \pm 1.1	60.9 \pm 0.9	15.8 \pm 2.6	32.6 \pm 1.0	-	69.3 \pm 2.6
<i>R. scutatus</i>	En	A	47.1 \pm 1.0	51.2 \pm 1.5	28.9 \pm 1.4	38.7 \pm 1.3	49.3 \pm 1.1	56.2 \pm 0.8
<i>R. thyriflorus</i>	Gy	B	-	-	11.5 \pm 1.9	96.2 \pm 0.2	-	88.6 \pm 0.3

N.r.: növényi rész; Osz.: oldószer; Gy: gyökér; Ffr: föld feletti rész; En: egész növény

A hatásosnak talált növényekkel kapcsolatban fitokémiai vizsgálatok ezidáig alig történtek. A *R. acetosából* emodint, a *R. alpinusból* szintén antrakinon származékokat, krizofanolt és emodint izoláltak, míg a *R. aquaticusból* kvercetin-3-glükuronidot írtak le. A *R. scutatus* és a *R. thyriflorus* esetén sem farmakológiai sem fitokémiai vizsgálatokat nem közöltek a tudományos irodalomban.

Eredményeinket publikáció formájában jelentettük meg:

Lajter I, Zupkó I, Molnár J, Jakab G, Balogh L, **Vasas A**, Hohmann J

Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines

Phytotherapy Research 27: 77-85 (2013), DOI: 10.1002/ptr.4690

2.2. Polygonaceae fajok ioncsatornák működését gátló hatásának vizsgálata

Munkacsoportunk a Rytmion Kft.-vel közös kutatási programot indított el növényi kivonatok és természetes vegyületek K⁺ ioncsatornákra kifejtett hatásának tesztelésére. A szűrővizsgálatok során G-fehérje kapcsolt befelé rektifikáló K⁺ csatornákon, u.n. GIRK csatornákon, embrionális vesesejtvonalon történt az értékelés patch clamp mérésekkel. A

GIRK ioncsatornák a szív pitvari részében expresszálódnak és azok a vegyületek, amelyek ezt gátolják, a krónikus pitvarfibrilláció ellen lehetnek hatékony antiarritmiás szerek.

Az első vizsgálatok két növényfaj kivonataival történtek. A *Fallopia japonica* gyökeréből és a *Persicaria maculosa* föld feletti részéből készítettünk alkoholos illetve vizes kivonatokat. Az alkoholos kivonat anyagait folyadék-folyadék közti megosztással (*n*-hexán, kloroform) frakcionáltuk. Az így nyert frakciók tesztelése két koncentrációban történt whole-cell konfigurációban, négycsatornás Patchliner berendezéssel, propafenon referencia gátlószer alkalmazásával. Figyelemre méltó GIRK gátló aktivitást a *P. maculosa* kloroformos frakciója mutatott. A pályázat időszaka alatt elvégeztük a növény preparatív feldolgozását.

2.3. Polygonaceae fajok xantin-oxidáz gátló hatásának szűrővizsgálata

A szűrővizsgálat során a Polygonaceae család 5 genuszába (*Fallopia*, *Oxyria*, *Persicaria*, *Polygonum* and *Rumex*) tartozó 27 faj, különböző polaritású (*n*-hexán, kloroform, vizes-metanol és vizes) oldószerrel készült kivonatainak xantin-oxidáz gátló hatását szervenkénti bontásban teszteltük *in vitro*. Azt tapasztaltuk, hogy a *Fallopia* fajok közül a *F. bohemica*, *F. japonica* és *F. sachalinensis*, a *Rumex* fajok közül a *R. acetosa*, *R. acetosella*, *R. alpinus*, *R. obtusifolius* subsp. *subalpinus*, *R. patientia* valamint a *Polygonum hydropiper* kloroformos kivonata mutatta a legmagasabb (> 85% gátlás) XO-gátló aktivitást 400 µg/mL koncentrációban. Ezekben az esetekben az IC₅₀ értékeket is meghatároztuk. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a *P. hydropiper* (IC₅₀ = 16.41 ± 3.36 µg/ml) és a *R. acetosella* (IC₅₀ = 19.32 ± 3.11 µg/ml) javasolható további biológiaiilag követett izolálásra.

Eredményeinket publikáció formájában közöltük:

Orbán-Gyapai O, Lajter I, Hohmann J, Jakab G, **Vasas A**

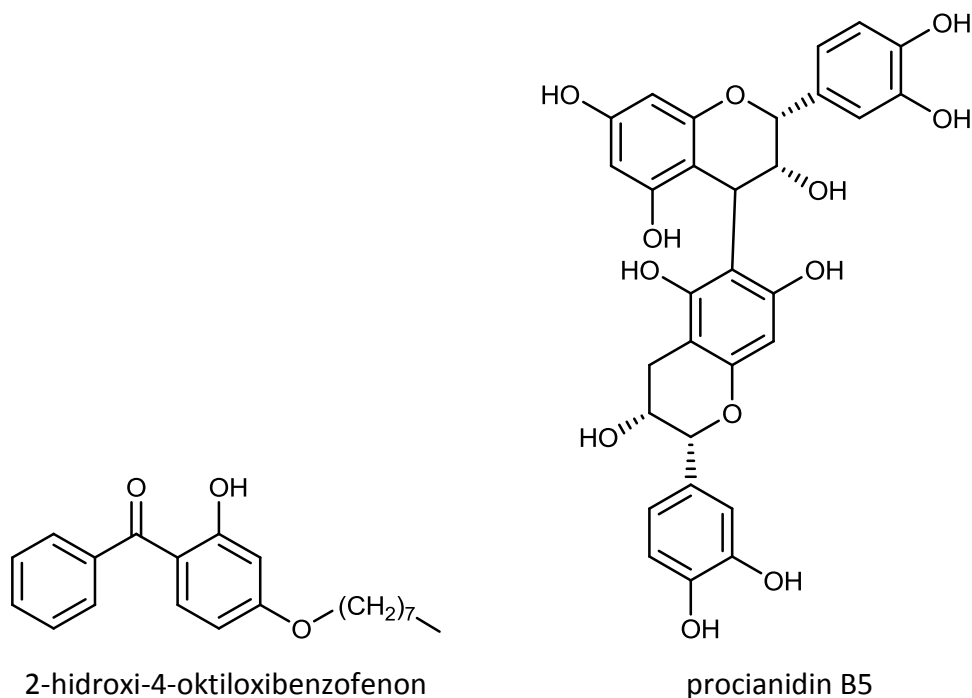
Xanthine oxidase inhibitory activity of extracts prepared from Polygonaceae species

Phytotherapy Research, közlésre beküldve

2.4. A *Rumex thyrsiflorus* vegyületeinek izolálása és szerkezet-meghatározása

Az antiproliferatív szűrővizsgálat alapján legaktívabbnak bizonyuló növények közül elsőként a *R. thyrsiflorus* növénykémiailag vizsgálatát kezdtük el. A metanolos kivonást követően *n*-hexánnal, kloroformmal és etil-acetáttal folyadék-folyadék extrakciót végeztünk. A kloroformos frakció további feldolgozását MPLC segítségével, metanol-víz növekvő polaritású arányú elegyeivel végeztük. A frakciók összetételét vékonyréteg-kromatográfia

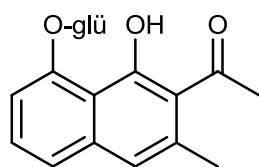
segítségével ellenőriztük és a hasonló komponenseket tartalmazókat egyesítettük. Ezt követően fordított fázisú vákuum-folyadékromatográfiás elválasztást, majd rotációs planár kromatográfiát (RPC), végül preparatív rétegekromatográfiát illetve nagyhatékonyságú folyadékromatográfiát alkalmaztunk. Munkánk eredményeként a növényből 9 vegyületet izoláltunk, amelyek közül eddig fenolos anyagokat (2-hidroxi-4-oktiloxibenzofenon, epikatechin, procianidin B5), egy monoacil-glicerolt és egy triterpént (β -szitoszterol) azonosítottunk. A többi komponens szerkezetazonosítása és farmakológiai vizsgálatuk folyamatban van.



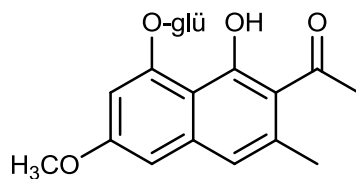
2.5. A *Rumex aquaticus* vegyületeinek izolálása és szerkezet-meghatározása

A *R. aquaticus* esetén metanolos kivonást követően *n*-hexánnal, kloroformmal és etil-acetáttal végeztünk folyadék-folyadék extrakciót. A kloroformos frakció további feldolgozását MPLC segítségével, metanol-víz növekvő polaritású arányú elegyeivel végeztük. A frakciók összetételét vékonyréteg-kromatográfia segítségével ellenőriztük és a hasonló komponenseket tartalmazókat egyesítettük. Ezt követően fordított fázisú vákuum-folyadékromatográfiás elválasztást, majd rotációs planár kromatográfiát (RPC), gélekromatográfiát, végül preparatív rétegekromatográfiát alkalmaztunk. Munkánk eredményeként a növényből eddig 15 vegyületet izoláltunk. A szerkezet-meghatározás során kvercetin, kvercetin-3-*O*-arabinozidot, kvercetin-3-*O*-galaktozidot, krizofanol-glükozidot, katechint, epikatechint, hidroxiemodint, musizin-8-*O*-glükozidot, torakrizon-glükozidot és

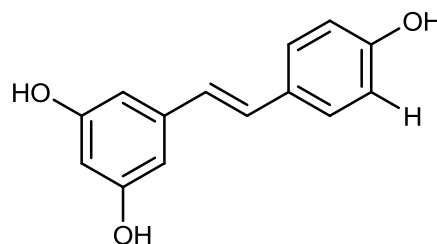
rezveratrolt azonosítottunk. A többi vegyület szerkezet-meghatározása és farmakológiai vizsgálatuk folyamatban van.



musizín-8-O-glükózid



torakrizon-8-O-glükózid



rezveratrol

2.6. A *R. aquaticus*ból izolált flavonoidok neuroprotektív hatásának vizsgálata

A kutatási program során lehetőségünk nyílt külföldi együttműködés keretében a *R. aquaticus*ból izolált vegyületeink (kvercetin-3-O-arabinozid és kvercetin-3-O-galaktozid) *in vitro* neuroprotektív hatásvizsgálatára. A cerebrovaszkuláris történések a második vezető halálozási ok a világon. Stroke során az agy visszafordíthatatlan, maradandó károsodást szenvedhet, amely részleges vagy teljes bénuláshoz, funkciókieséshez vezethet, lehetetlenné teszi a teljes élet folytatását, de súlyos esetben halálos kimenetelű is lehet. A vérkeringésből kizáródó agysejtek hipoxiássá válnak, valamint nem kapják meg a szükséges tápanyagokat (glükóz) emiatt anaerob metabolizmus indul el bennük.

Az izolált vegyületek sejtvédő hatását oxigén-glükózhányagnak kitett sejteken vizsgáltuk *in vitro*, PC12 pheochromocytoma sejtvonalon. Ezt követően teszteltük a vegyületek neurit-növekedést elősegítő hatását. A vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy mindkét flavonoid szignifikáns mértékben csökkentette a sejtkárosodást illetve elősegítette a neuritek fejlődését.

Az eredményeket publikáció formájában közöltük.

Orbán-Gyapai O, Raghavan A, **Vasas A**, Forgo P, Hohmann J, Shah Z

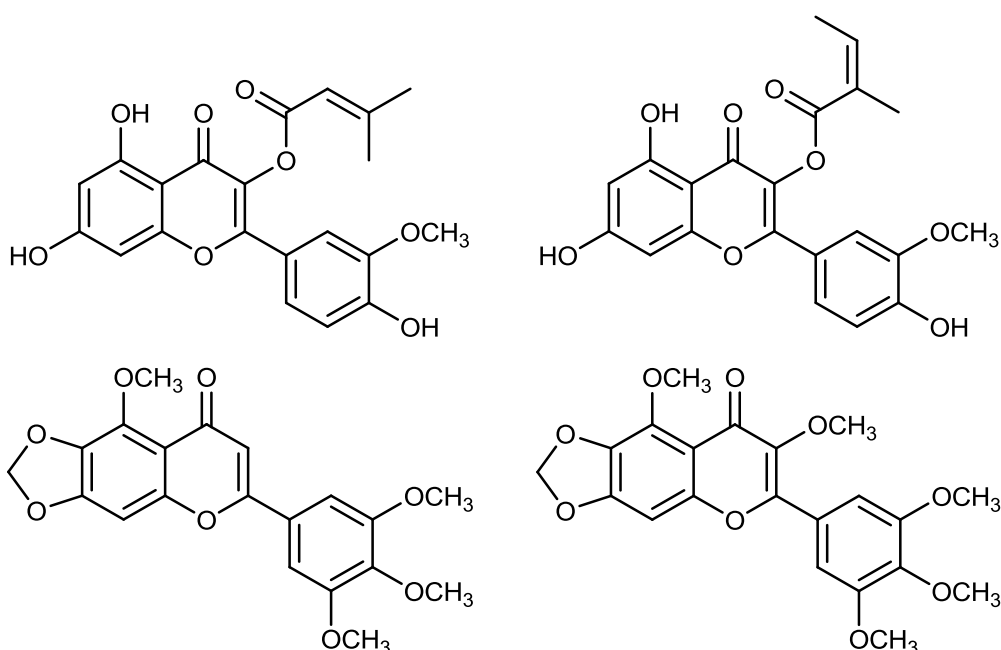
Flavonoids isolated from *Rumex aquaticus* exhibit neuroprotective and neurorestorative properties by enhancing neurite outgrowth and synaptophysin

CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, közlésre elfogadva

2.7. Biológiaiailag aktív vegyületek izolálása a *Persicaria maculosából*

A *P. maculosa* GIRK gátló hatást mutató kloroformos frakciójának kromatográfiás tisztítása 4 flavonoidot, köztük 3 új természetes vegyületet eredményezett. Az elválasztás különböző kromatográfiás technikák (MPLC, VLC, CPC, HPLC, TLC) kombinált alkalmazásával végeztük. A

vegyületek szerkezet-meghatározása tömeg és NMR spektroszkópiai mérésekkel történt. Valamennyi izolált anyag esetén nagy felbontású tömegspektroszkópiás mérésekkel határoztuk meg a vegyületek molekulatömegét és molekula-összetételét. Két vegyület 3-helyzetben észtercsoporttal szubsztituált, az egyik ritka szenecionil (=3-metil-butenoil) csoportot, míg a másik angeloil-csoportot tartalmaz. Szenecionil-csoportot tartalmazó vegyületek előfordulása nagyon ritka a növényvilágban, eddig csak néhány növényfajból, pl. *Elaeoselinum foetidum*ból, *Pogostemon auricularis*ból és az *Azadirachta indicá*ból izoláltak ilyen savval észterezett vegyületeket. A másik két komponens 6,7-metiléndioxi-flavonoid származék. Jellegetességük, hogy 4 illetve 5 metoxicsoporttal szubsztituáltak.



Ezt követően az azonosított vegyületek valamint a minoranyagokat tartalmazó eluátum GIRK csatorna aktivitásának vizsgálatára került sor. Meglepődve tapasztaltuk, hogy az izolált flavonoidok elhanyagolható mértékű K^+ ioncsatorna gátlást mutatnak, a tényleges hatóanyagokat a gyűjtött köztes frakció tartalmazza. Ezekkel a kísérletekkel párhuzamosan azt is értékeltük, hogy a GIRK-gátló frakciók hatása mennyire szelektív erre az ioncsatornára, vajon rendelkeznek-e anyagaink hatással a hERG csatornákon. Ez egy olyan feszültségfüggő ioncsatorna, amelynek gátlása szívritmuszavarok illetve hirtelen szívhalál kockázatát hordozza. Anyagainkat ugyanabban a koncentrációban hERG ioncsatornán tesztelve megfigyeltük, hogy a GIRK aktív frakciók a hERG csatornákon is hatnak, a tiszta izolált anyagaink azonban ezen az ioncsatornán sem mutatnak aktivitást. A HPLC elválasztás során gyűjtött, köztes frakció, amely mindkét típusú ioncsatornán hatott, újabb HPLC vizsgálataink

szerint igen összetett, a növényben rendkívül alacsony koncentrációban lévő számos komponenst tartalmaz. Ilyen összetett frakciók esetén feltételezhető, hogy a GIRK illetve hERG csatorna gátlásért más-más komponensek felelősek.

Eddigi eredményeinket publikáció formájában közöltük:

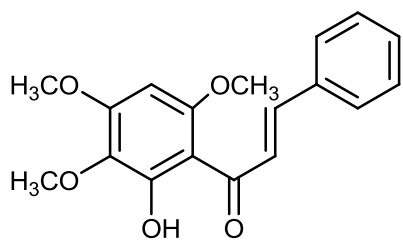
Lajter I, **Vasas A**, Orvos P, Bánsághi S, Tálosi L, Jakab G, Béni Z, Háda V, Forgo P, Hohmann J

Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channels by extracts of *Polygonum persicaria*, and isolation of new flavonoids from the chloroform extract of the herb

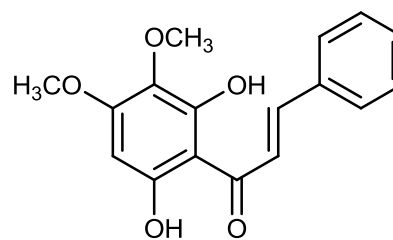
Planta Medica (2013), 79(18):1736-1741.

A preparatív célra begyűjtött nagyobb mennyiségű minta analízise azt mutatta, hogy abban a korábban azonosított vegyületek (flavonoidok) nincsenek jelen. Újabb növénymintákat gyűjtöttünk be annak eldöntésére, hogy a különböző fejlődési stádiumban lévő növények esetén melyek tartalmazzák ezeket a komponenseket, és megállapítottuk, hogy a virágzó állapotban lévő növényekben dúsulnak.

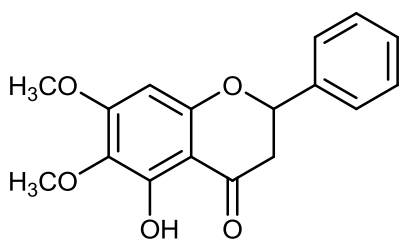
Bár a flavonoidok ioncsatornák működését befolyásoló hatással nem rendelkeznek, xantin-oxidáz gátló hatásuk vizsgálata ígéretes lehet. Az izolált mennyiség azonban csak a szerkezet azonosításukhoz és az ioncsatorna vizsgálatokhoz bizonyult elégségesnek, így újabb izolálásukat terveztük és megkezdtük a nagy mennyiségű minta preparatív feldolgozását. Metanolos kivonást követően folyadék-folyadék megosztást alkalmaztunk, majd a kloroformos frakcióval dolgoztunk tovább. Fordított fázison MPLC elválasztást végeztünk. Az egyesítéseket követően a kiválasztott frakciókat szilikagél oszlopon VLC-vel választottuk el, majd Sephadex LH-20 oszlopon gélszűrést végeztünk, végül preparatív rétegekromatográfiával 7 vegyületet nyertünk, melyek közül eddig négyet azonosítottunk: 2'-hidroxi-3',4',6'-trimetoxikalkon, 2',6'-dihidroxi-4',5'-dimetoxikalkon (pasanon), 5-hidroxi-6,7-dimetoxiflavanon (oniszilin), és pinosztrobin. Az izolációs munka, továbbá a vegyületek szerkezet-meghatározása és a farmakológiai vizsgálat folyamatban van.



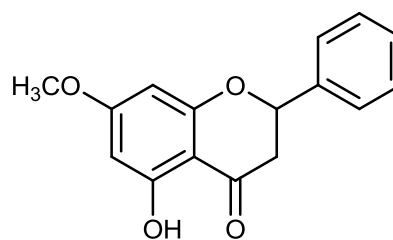
2'-hidroxi-3',4',6'-trimetoxikalkon



pasonon



oniszilin



pinosztrobin

2.8. A *Rumex* fajokkal kapcsolatos fitokémiai és farmakológiai adatok összegyűjtése, rendszerezése

Munkánk során összegyűjtöttük a *Rumex* genusszal kapcsolatban a szakirodalomban napjainkig rendelkezésre álló növénykémiai, tradicionális alkalmazással foglalkozó illetve farmakológiai témájú publikációkat, amelyeket szisztematikusan rendeztünk irányt mutatva a nemzetséget érintő további kutatások számára.

A Polygonaceae család második legnagyobb nemzetsége a *Rumex* genusz, melynek közel 200 tagja világszerte előfordul. Néhány fajt már régóta alkalmaznak élelmiszernövényként illetve a népi gyógyászatban. Napjainkig több mint 130 vegyületet írtak le a nemzetség tagjaiból, melyek között antrakinonok, naftalének, flavonoidok, stilbének, triterpének, karotionoidok, fenolkarbonsavak és egyéb komponensek (pl. aszkorbinsav, oxálsav) találhatóak. A növényi kivonatokkal illetve a tiszta vegyületekkel kapcsolatban számos farmakológiai vizsgálatot végeztek és leírták gyulladáscsökkentő, antioxidáns, antitumor, antimikrobiális hatásukat.

A publikációt közlésre beküldtünk.

Vasas A, Orbán-Gyapai O, Hohmann J

A systematic review of the medicinal uses and phytochemistry of *Rumex* genus

Phytochemistry Reviews, közlésre beküldve

3. ÖSSZEFOGLALÁS

A "Magyarországi Polygonaceae fajok biológiailag aktív vegyületeinek izolálása és szerkezetmeghatározása" című projekt keretében fő célunk volt a keserűfűfélék családjába tartozó, a Kárpát-medencében előforduló növényfajok fitokémiai és farmakológiai potenciáljának feltérképezése. Munkánk során először botanikusok segítségével felkutattuk a potenciális lelőhelyeket majd 27 növényfajt gyűjtöttünk be Horvátország, Magyarország és Románia különböző területeiről, melyek a család öt legnagyobb genuszába (*Fallopia*, *Oxyria*, *Polygonum*, *Rumex* és *Persicaria*) tartoznak. Ezt követően lehetőség szerint szervenkénti bontásban vizsgáltuk a különböző oldószerekkel (*n*-hexán, kloroform, vizes metanol) készült kivonatok (*n* = 196) *in vitro* antiproliferatív illetve xantin-oxidáz gátló hatását. Két faj esetén ioncsatornák (GIRK és hERG) működését befolyásoló szűrővizsgálat elvégzésére is lehetőségünk nyílt.

Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy tumorelles hatást tekintve a *Rumex* nemzetség fajai a leginkább figyelemre méltóak. 5 sóska faj, a *R. acetosa*, *R. alpinus*, *R. aquaticus*, *R. scutatus* és *R. thyrsiflorus* kivonata 50 %-ot meghaladó sejtproliferáció gátló hatást mutatott. További biológiailag követett izolálás céljára a leghatásosabbnak mutatkozó *R. thyrsiflorus* és *R. aquaticus* választottuk ki, melyből preparatív munkára alkalmas mennyiséget gyűjtöttünk be. A két növényből eddig több mint 20 vegyületet nyertünk, melyek között fenolos anyagokat (flavonoidokat, antranoidokat, naftalén-származékokat) és terpenoidokat azonosítottunk. A tiszta komponensek antiproliferatív vizsgálata folyamatban van. A XO-gátló vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy 32 kivonat (főként a kloroformos frakciók) mutatott jelentős (> 85%) gátló hatást. Ezekben az esetekben az IC₅₀ értékeket is meghatároztuk. Eredményeink alapján a *P. hydropiper* és a *R. acetosella* javasolható további biológiailag követett izolálásra. A GIRK csatornára gyakorolt gátló hatás alapján a *P. maculosa* vegyületeinek biológiailag követett izolálását kezdtük el, melynek során négy új flavonoidot azonosítottunk. Az ioncsatorna-gátló hatásért azonban nem ezek a komponensek a felelősek, ezért tovább folytattuk a preparatív munkát és eddig hét vegyületet nyertünk, ebből négy szerkezetét határoztuk meg (kalkonok, flavonoidok).

A *R. aquaticus*ból izolált két flavonoid (kvercetin-3-*O*-arabinozid és kvercetin-3-*O*-galaktozid) esetén lehetőségünk nyílt külföldi együttműködés keretében a vegyületek neuroprotektív hatásvizsgálatának elvégzésére. Mindkét vegyület szignifikáns mértékben

csökkentette az oxigén-glükózhiány miatt kialakuló sejtkárosodás mértékét illetve elősegítette a neuritek fejlődését.

Végül rendszereztük a *Rumex* genusszal kapcsolatos, a tudományos irodalomban eddig közölt népi gyógyászati, fitokémiai és farmakológiai eredményeket. Eddigi eredményeinkből eddig 5 publikáció született, további 2 közlésre előkészítése folyamatban van.

A program eredményeként új, daganatsejtek növekedését gátló, ioncsatornák működését befolyásoló valamint xantin-oxidáz gátló hatású növényeket, természetes anyagokat ismerhettünk meg, továbbá ismert növényi vegyületek fent említett aktivitását igazolhattuk. Tekintve, hogy egy intenzíven kutatott területről van szó, eredményeink a biológiailag aktív természetes anyagok vizsgálata terén – mind fitokémiai mind farmakológiai szempontból – nemzetközi érdeklődésre tarthatnak számot. Új, hatásos természetes vegyületek gyógyszerfejlesztések modellanyagaiként szolgálhatnak, a kiemelkedően hatásos vegyületek mélyebb hatásmechanizmus vizsgálatra, illetve *in vivo* vizsgálatokra kerülhetnek. Rokon szerkezetű anyagok izolálása és hatástani vizsgálata lehetőséget ad hatás-szerkezet elemzésekre, és számítógépes molekulatervezések részét képezheti.

Az izolált vegyületek gazdagítják az intézetünkben meglévő, hazai vonatkozásban igen gazdag „természetes vegyületkönyvtárat”, így a jövőben más farmakológiai kutatásokban is hasznosulhatnak. Az eredmények bővítik a hazai flóra fajaira vonatkozó kémiai ismereteinket, és újabb adatokat szolgáltatnak a taxonok kémiai rendszerének (kemetaxonómia) értékeléséhez.

A vizsgálatok fiatal kutatók és hallgatók bevonásával történtek, így PhD értekezések (n = 2), TDK pályamunkák (n = 1), szakdolgozatok (n = 1), tudományos prezentációk kidolgozásával (n = 9) hozzájárulnak a graduális és posztgraduális képzéshez és a szakirányú továbbképzésekben is felhasználható új ismereteket nyújtanak.

4. PUBLIKÁCIÓK

4.1. Tudományos folyóiratban megjelent publikációk:

1. Lajter I, Zupkó I, Molnár J, Jakab G, Balogh L, **Vasas A**, Hohmann J
Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines
Phytotherapy Research 27: 77-85 (2013), DOI: 10.1002/ptr.4690
MTMT: 2102862
2. Lajter I, **Vasas A**, Orvos P, Bánsághi S, Tálosi L, Jakab G, Béni Z, Háda V, Forgo P, Hohmann J
Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channels by extracts of *Polygonum persicaria*, and isolation of new flavonoids from the chloroform extract of the herb
Planta Medica (2013), 79(18):1736-1741.
MTMT: 2482757
3. Orbán-Gyapai O, Raghavan A, **Vasas A**, Forgo P, Hohmann J, Shah Z
Flavonoids isolated from *Rumex aquaticus* exhibit neuroprotective and neurorestorative properties by enhancing neurite outgrowth and synaptophysin
CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, közlésre elfogadva
4. **Vasas A**, Orbán-Gyapai O, Hohmann J
A systematic review of the medicinal uses and phytochemistry of *Rumex* genus
Phytochemistry Reviews, közlésre beküldve
5. Orbán-Gyapai O, Lajter I, Hohmann J, Jakab G, **Vasas A**
Xanthine oxidase inhibitory activity of extracts prepared from Polygonaceae species
Phytotherapy Research, közlésre beküldve

4.2. Előadások, poszter prezentációk:

1. Orban-Gyapai O, Raghavan A, **Vasas A**, Forgo P, Shah ZA, Hohmann J
Flavonoid-glycosides from *Rumex aquaticus* with neuroprotective activity
62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research - GA2014

- Guimaraes, Portugália, 2014.08.31-2014.09.04. Paper P1L110.
MTMT: 2726711
2. Orbán-Gyapai O, Raghavan A, **Vasas A**, Forgó P, Shah ZA, Hohmann J
Neuroprotektív hatású vegyületek izolálása a *Rumex aquaticus*ból
In: Csupor Dezső, Kiss Tivadar (szerk.)
Fiatal Gyógynövénykutatók Fóruma. 27 p.
Konferencia helye, ideje: Budakalász, Magyarország, 2014.02.14 Szeged: Paper B-3.
MTMT: 2531741
3. Orbán-Gyapai O, Raghavan A, **Vasas A**, Forgó P, Zahoor SA, Hohmann J
Neuroprotektív hatású flavonoidok izolálása a *Rumex aquaticus*ból
Gyógyszerészet 58:(Suppl. I.) Paper P-65. (2014)
Congressus Pharmaceuticus XV.. Budapest, Magyarország: 2014.04.10 -2014.04.12.
MTMT: 2573537
4. Lajter I, **Vasas A**, Orvos P, Tálosi L, Forgó P, Béni Z, Hohmann J
Inhibition of GIRK channels by extract of *Polygonum persicaria* and isolation of new
flavonoids
*61th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and
Natural Product Research*
Münster, Németország, 2013. szeptember 1-4.
Planta Medica 79: 1215 (2013) (P-PJ21)
MTMT: 2394051

5. IRODALOMJEGYZÉK

-
- ¹ Friedl HP, Till CO, Trentz O, Ward PA. *Klin. Wochenschr.* 69: 1109-1112 (1991).
 - ² Newman DJ, Cragg, GM, *J. Nat. Prod.* 75: 311-335 (2012)
 - ³ Jávorka S, Csapody V, Akadémiai Kiadó, Budapest 1991.
 - ⁴ Hartwell JL, *J. Nat. Prod.* 1970, 33, 373-384.
 - ⁵ Hegnauer R, *Chemotaxonomie der Pflanzen* 1990, Volume 9, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin, pp. 268-284.