

**JUNCACEAE FAJOK BIOLÓGIAILAG AKTÍV VEGYÜLETEINEK  
IZOLÁLÁSA ÉS SZERKEZETMEGHATÁROZÁSA**

**OTKA K 128963**

**Zárójelentés**

Készítette:

**DR. VASAS ANDREA**

egyetemi docens

SZTE Farmakognóziai Intézet

Szeged

2023

## Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	2
2. A kutatás eredményei .....	3
2.1. Juncaceae fajok lelőhelyeinek felkutatása, fitokémiai és farmakológiai vizsgálatokhoz szükséges nyersanyag begyűjtése, kivonatok készítése.....	3
2.2. Fitokémiai vizsgálatok, vegyületek izolálása, szerkezetmeghatározása.....	3
2.3. Félszintetikus átalakítások.....	7
2.4. Farmakológiai vizsgálatok.....	7
2.5. Kemotaxonómiai értékelés.....	7
2.6. Növénymorfológiai és biokémiai vizsgálatok .....	8
2.7. Folyamatban lévő témák .....	8
2.8. Az eredmények bemutatása konferenciákon, publikálása lektorált folyóiratokban .....	8
3. Összefoglalás .....	9
4. Publikációk.....	10
5. Folyamatban lévő munkák .....	14

## 1. Bevezetés

A természetes anyagok kiemelkedően fontos szerepet játszanak a gyógyszerkutatásban, illetve a fejlesztési folyamatokban. A forgalomba hozott kemoterapeutikumok mintegy kétharmada természetes vegyület vagy annak félszintetikus származéka, illetve olyan molekula, amelyet bár szintetikus úton nyertek, kifejlesztésükhöz természetes vegyületek szolgáltak modellként, vezérmolekulaként.<sup>1</sup> Az elmúlt évtizedek sikeres, természetes alapú gyógyszerfejlesztéseit olyan molekulák fémjelzik, mint a tubulin polimerizáció gátlásán keresztül ható paclitaxel, amelyet a *Taxus brevifolia* kérgéből izoláltak, vagy a *Catharanthus*-alkaloidok, a vinblasztin és a vinkrisztin. A másik nagy csoport a topoizomeráz I/II enzim gátlásával ható podofilotoxinszármazék etopozid és tenipozid vagy a kamptotecin analóg irinotekán.

A tumorellenes szerek kutatásának egyik érdekes területét alkotják a *cisz*-stilbén szerkezetű kombretasztatinok. A leghatásosabb vegyület, a kombretasztatin A-4, amit a *Combretum cafrumból* izoláltak. Dinátrium foszfát prodrug formájában jelenleg klinikai vizsgálatok alatt áll és hatékonynak mutatkozik különböző szolid tumorok ellen. A fenantrének, a *cisz*-stilbének konformációsán gátolt analógjai, amelyeket munkánkat megelőzően antiproliferatív hatás szempontjából még nem vizsgáltak részletesebben. A fenantrének három fő csoportba sorolhatók: mono-, di- és trifenantrének. A monofenantrének a C-9 és C-10 atomok közötti kötés telítettsége alapján fenantrénekre és dihidrofenantrénekre oszthatók. Ezek a vegyületek ritka előfordulásúak, munkánkat megelőzően kb. 450 fenantrént azonosítottak különböző növényfajokból, a vegyületek több mint felét az utóbbi két évtizedben izolálták. Legjelentősebb fenantrénforrásnak az Orchidaceae és Juncaceae család fajai tekinthetők. Ritka előfordulásuknak és jellegzetes szubsztituáltságuknak köszönhetően a vegyületek fontos kemotaxonómiai markerek; vinilcsoporttal szubsztituált fenantréneket csak Juncaceae, míg prenilcsoportot tartalmazó vegyületeket eddig kizárólag Orchidaceae fajokból írtak le.

A Juncaceae család (szittyófélek) 7 genuszába közel 500 növényfaj tartozik, legnagyobb nemzetségei a *Juncus* (n=347) és a *Luzula* (n=115). Hazánkban 15 *Juncus* és 6 *Luzula* faj honos. A Juncaceae családdal végzett korábbi fitokémiai és farmakológia vizsgálatok során csak igen kisszámú, szinte kizárólag a *Juncus* nemzetségbe tartozó fajt tanulmányoztak és megállapították, hogy különböző vegyületcsoportokba tartozó speciális anyagcseretermékeket halmoznak fel (pl. fenantrének, flavonoidok, kumarinok, terpenoidok), amelyek közül kiemelkedő jelentőségűek a figyelemre méltó biológiai aktivitással és szerkezeti változékonysággal rendelkező fenantrének. Munkánkat megelőzően öt *Juncus* fajból több mint 70 fenantrént izoláltak, amely vegyületek nagy szerkezeti változatosságot mutatnak, és számos közülük jelentős biológiai aktivitással rendelkezik. A *Luzula* fajokból vékonyrétegekromatográfiás módszerrel flavonoidokat (luteolin és krizoeriol származékokat)

---

<sup>1</sup> Newman DJ, Cragg, GM, *J. Nat. Prod.* **2020**, 83: 770–803.

azonosítottak, azonban a nemzetségbe tartozó növényeket korábban sem preparatív fitokémiai, sem farmakológiai szempontból nem vizsgálták.

A fenantréneket tartalmazó növényeket, köztük a Juncaceae család számos tagját is gyakran használták a népi gyógyászatban a legkülönbébb betegségek (pl. láz, alvászavarok) kezelésére. A vegyületek széleskörű farmakológiai vizsgálata több esetben igazolta a népi gyógyászati felhasználást. Több anyag rendelkezik *in vitro* citotoxikus, antimikrobiális (baktérium-, gomba- és vírusellenes), antioxidáns és gyulladáscsökkentő, valamint központi idegrendszerre és simaizmokra kifejtett hatással.

## 2. A kutatás eredményei

### 2.1. Juncaceae fajok lelőhelyeinek felkutatása, fitokémiai és farmakológiai vizsgálatokhoz szükséges nyersanyag begyűjtése, kivonatok készítése

A *Juncus atratus*, *J. articulatus*, *J. bufonius*, *J. compressus*, *J. gerardii*, *J. maritimus* és *J. tenuis* fajokból a szűrővizsgálathoz szükséges mintát begyűjtöttük. A fajok lelőhelyeit botanikus kollégák segítségével kutattuk fel. A *J. kraussii* esetén a metanolos kivonatot Dél-Afrikából kaptuk egy együttműködés keretében. A *J. ensifolius*, *Luzula sylvatica* és *L. nivea* esetén kertészetekből vásároltunk növényi nyersanyagot. A tíz növényből elvégeztük a fitokémiai szűrővizsgálatokat. Növéymintánként 4 különböző polaritású (*n*-hexán, kloroform, etil-acetát, víz) kivonatot készítettünk további fitokémiai és farmakológiai vizsgálatok céljából.

A tudományos szakirodalom áttekintését követően megállapítottuk, hogy a növényfajokkal kapcsolatban fitokémiai és farmakológiai vizsgálatokról korábban csak a *J. maritimus* esetén számoltak be. A *J. atratus*, *J. articulatus*, *J. compressus*, *J. ensifolius*, *J. maritimus* és *J. tenuis* fajokból ezt követően preparatív munkához szükséges mennyiséget gyűjtöttünk be.

### 2.2. Fitokémiai vizsgálatok, vegyületek izolálása, szerkezetmeghatározása

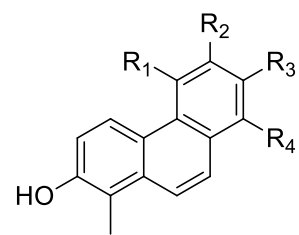
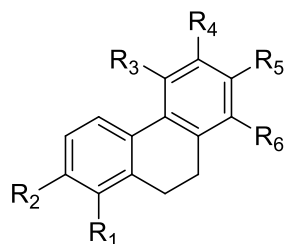
A preparatív vizsgálat során a növényi nyersanyagot (*J. atratus*, *J. articulatus*, *J. compressus*, *J. ensifolius*, *J. gerardii*, *J. maritimus*, *J. tenuis*) szobahőmérsékleten, árnyékos helyet szárítottuk, aprítottuk, majd metanollal perkoláltuk. A kivonatot betöményítettük, majd víz hozzáadását követően *n*-hexánnal, kloroformmal és végül etil-acetáttal folyadék–folyadék megosztást végeztünk. A vékonyréteg kromatográfiás ellenőrzés során megállapítottuk, hogy a fenantrének a kloroformos fázisban dúsultak fel. Egy növényfaj, a *J. gerardii* esetén az etil-acetátos fázisban is láttunk fenantrének jelenlétére utaló foltokat. A továbbiakban ezekkel a frakciókkal dolgoztunk. Az elválasztás különböző kromatográfiás technikák (MPLC, VLC, GF, TLC és HPLC) kombinált alkalmazásával történt, amelynek eredményeként **65** tiszta vegyületet nyertünk. A vegyületek szerkezetmeghatározása tömeg és NMR spektroszkópiai mérésekkel történt. Valamennyi izolált anyag esetén nagy felbontású tömegspektroszkópiás

mérésekkel határoztuk meg a vegyületek molekulatömegét és molekulaösszetételét. Megállapítottuk, hogy a vegyületek közül **59 fenantrén**, amelyek közül **33 új természetes anyag**.

A vegyületek többsége monomer, legtöbb esetben fenantrén-dihydrofenantrén párok együttes jelenlétét detektáltuk a növényben. Szubsztituensként metil-, hidroxil-, metoxi-, aldehid-, hidroximetil-, vinil-, metoximetil-, hidroxietil-, metoxietil-, karbonil-, acetilén-, illetve acetilcsoportok vannak jelen a molekulákban. Öt fenantrént (**1–5**) azonosítottunk a *J. atratus*ból, 23 fenantrént (**4, 5, 10–30**) a *J. gerardii*ből, 11 fenantrént (**4, 24, 26, 30, 32–38**) a *J. maritimus*ból, 17 fenantrént (**2, 3, 17, 39–52**), a *J. ensifolius*ból, kilencet a *J. compressus*ból és hármat a *J. tenuis*ből. A *J. maritimus*ból izolált effuzol (**4**) kivételével minden vegyületet elsőként azonosítottunk a növényekből. 37 Fenantrén monomer (33 dihydrofenantrén, 4 fenantrén), 10 pedig dimer. A monomerek közül legérdekesebbek a flavonoid-, illetve 4-hidroxibenzaldehid addukt **39** és **40** jelzésű vegyületek. A **34** és **41** szintén figyelemre méltóak, a **34** esetén gyűrűzáródás történik a C-4 és C-13 között egy tetraciklusos vázat eredményezve, a **41** különlegessége pedig a C-10 helyzetű szubsztitúció. A **12, 13, 15** és a **16** komponensek glükozidok.

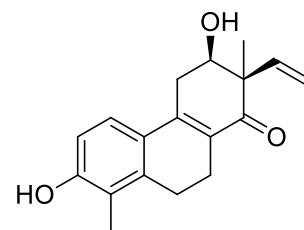
A dimerek esetén leggyakrabban két effuzol (**4**) monomer kapcsolódik különböző módon egymáshoz C–C (**30**) vagy éterkötésen (**20, 35**) keresztül. A **18** és **19** esetén a két monomer a vinilcsoportjain keresztül, egy heptaciklusos gyűrűrendszert létrehozva kapcsolódik. A **21**-es vegyületben egy effuzol (**4**) és egy dehidroeffuzol (**5**) kapcsolódásával alakul ki a dimer fenantrén.

A fenantréntartalom alapján a *J. gerardii* és a *J. ensifolius* jó fenantrénforrásoknak tekinthetők. A junkuzol (**24**) és az effuzol (**4**) a *Juncus* fajokban általános előforduló vegyületek, szinte minden eddig vizsgált fajban azonosították őket. Prekurzorként szolgálnak a többi Juncaceae fenantrén bioszintéziséhez.

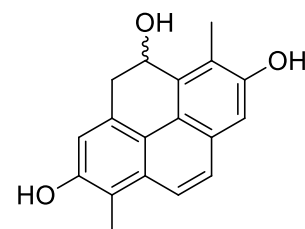


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
1	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>
2	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	CCH
3	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>
4	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	H
10	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	H
11	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>
12	CH <sub>3</sub>	O-glc	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	H
13	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	O-glc	H
14	CH <sub>3</sub>	OH	CH(CH <sub>3</sub> )OH	H	OH	H
15	CH <sub>3</sub>	O-glc	CH(CH <sub>3</sub> )OH	H	OH	H
16	CH <sub>3</sub>	OH	CH(CH <sub>3</sub> )OH	H	O-glc	H
22	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H
23	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	H
24	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H
25	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> OH	H
26	CH <sub>3</sub>	OH	CHO	H	OH	H
27	CH <sub>3</sub>	OH	CH(CH <sub>3</sub> )OCH <sub>3</sub>	H	OH	H
28	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>2</sub> OH	H	OH	H
32	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	CH <sub>2</sub> OH
33	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	CH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>
36	CH <sub>3</sub>	OH	H	CH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>	H
37	CH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	CH <sub>3</sub>
38	CH <sub>3</sub>	OH	CH(CH <sub>3</sub> )OCH <sub>3</sub>	H	OH	H
42	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
43	CH <sub>3</sub>	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	CHCH <sub>2</sub>
44	CH <sub>3</sub>	OH	OH	H	CH <sub>2</sub> OH	CHCH <sub>2</sub>
45	CH <sub>3</sub>	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>
46	CH <sub>3</sub>	OH	H	OH	CH <sub>2</sub> OH	CCH
52	CH <sub>2</sub> OH	OH	CHCH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H

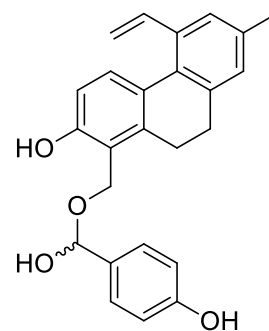
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
5	CHCH <sub>2</sub>	H	OH	H
17	CHCH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
47	H	OH	CH <sub>3</sub>	CCH



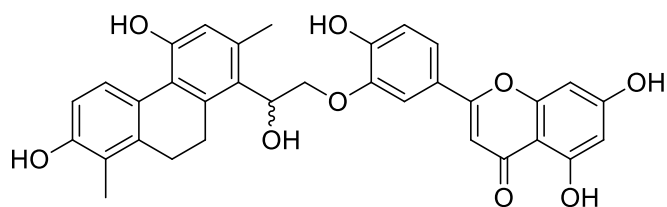
29



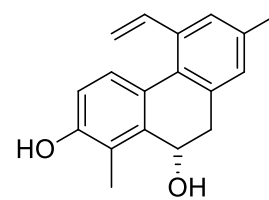
34



40

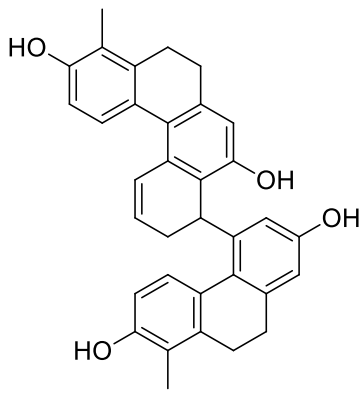


39

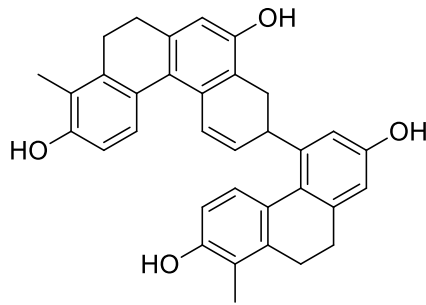


41

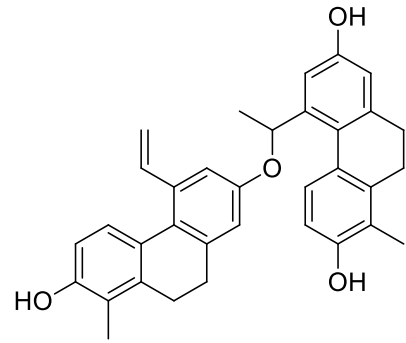
A vizsgált *Juncus* fajokból izolált monofenantrenek szerkezete



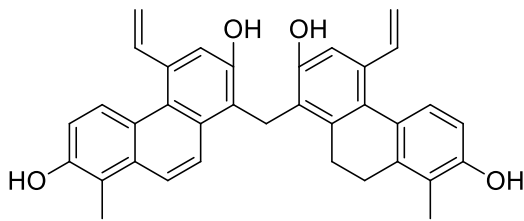
18



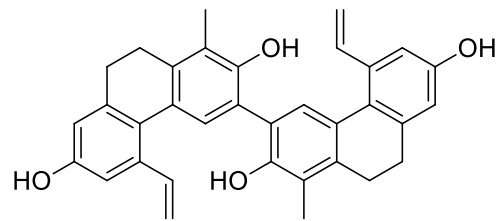
19



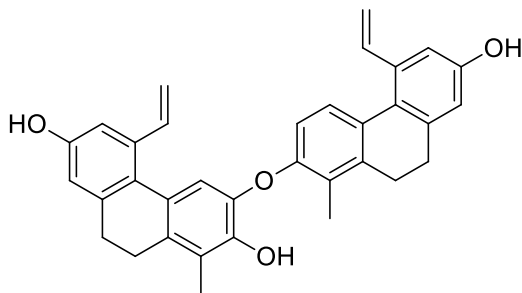
20



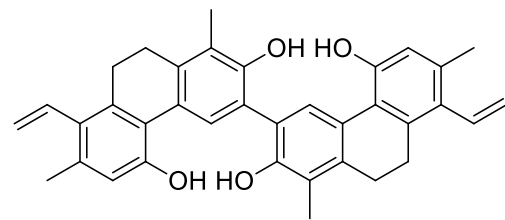
21



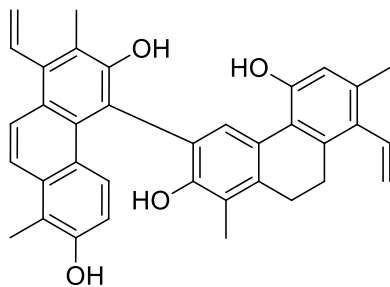
30



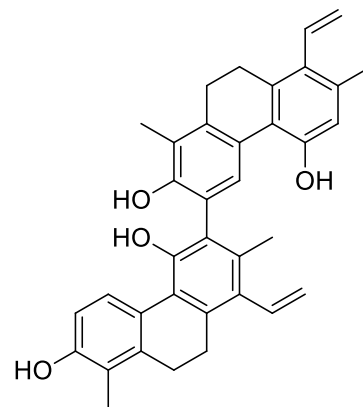
35



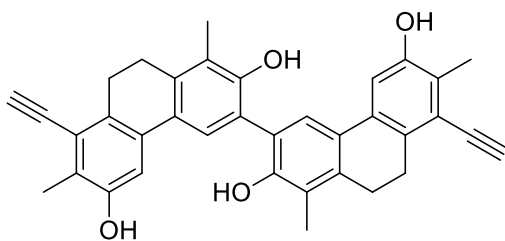
48



49



50



51

A vizsgált *Juncus* fajokból izolált difenantrenek szerkezete

### 2.3. Félszintetikus átalakítások

A *J. inflexus*ból nagy mennyiségben (850 mg) izolált fenantrén, a junkuenin B, illetve a *J. tenuis* fő fenantrénkomponensei, a junkuzol és az effuzol (350 mg) félszintetikus átalakítását oxidáló reagensek (pl. PIFA, PIDA) segítségével végeztük. Mivel a vegyületek fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz, oxidáció hatására *p*-kinol szerkezetű vegyületek megjelenését vártuk. A junkuenin B esetén a reakcióelegyekből 13 vegyületet, a másik két vegyület esetén pedig 6 komponenst izoláltunk kromatográfiai módszerek (prep. TLC, MPLC és HPLC) kombinálásával. A vegyületek metoxi-, etoxi- és butoxi-csoportokkal szubsztituáltak, legtöbb komponens tartalmazza a *p*-kinol szerkezetrészt; mindegyikük új anyag. Több esetben enantiomerek elválasztását is sikerült megoldani. A vegyületek szerkezetmeghatározása NMR és kiroptikai módszerek segítségével történik.

### 2.4. Farmakológiai vizsgálatok

Farmakológiai szempontból a fenantrének antiproliferatív, illetve a tumorterápiában általánosan alkalmazott doxorubicinnel megfigyelt szinergista hatása emelhető ki. Az antiproliferatív vizsgálatok esetén a HeLa sejtek bizonyultak legérzékenyebbnak a vegyületek iránt. A **2–5**, **24** és **33** komponensek jelentős aktivitást [ $IC_{50}$  értékek  $2,3 \mu M$  (**2**),  $2,9 \mu M$  (**3**),  $3,7 \mu M$  (**4**),  $7,8 \mu M$  (**5**),  $0,5 \mu M$  (**24**),  $11 \mu M$  (**33**) és  $8,3 \mu M$  (**39**)] mutattak a méhnyakrák sejtek ellen. Az effuzol (**18–20**), illetve az effuzol és dehidroeffuzol kapcsolódásával keletkező (**21**) dimerek aktivitása összemérhető volt a pozitív kontrol doxorubicinéval a 4T1 [ $IC_{50}$  értékek  $7,8 \mu M$  (**18**),  $5,6 \mu M$  (**19**) és  $8,1 \mu M$  (**20**)] és MDA-MB-231 [ $IC_{50}$  értékek  $8,0 \mu M$  (**18**),  $6,6 \mu M$  (**19**) és  $7,3 \mu M$  (**21**)] sejteken. Érdekeség, hogy a monomerek (**4** és **5**) inaktívák voltak, vagy csak nagyon alacsony aktivitással rendelkeztek az említett sejtvonalakon. A szintén effuzol monomerekből felépülő **30** és **35** jelzésű vegyületek jelentősen [ $IC_{50}$   $6,2 \mu M$  (**30**) és  $9,1 \mu M$  (**35**)] gátolták a T-47D sejtek szaporodását. A luteolin-szubsztituált **39**-es vegyület a COLO 205 sejteken ( $IC_{50}$   $3,9 \mu M$ ) mutatott magas aktivitást. Végül a kombinációs vizsgálat során, amelyben a *J. ensifolius*ból izolált fenantréneket doxorubicinnel együtt adagolva teszteltük HeLa sejteken, a **43** és **46** jelzésű anyagok nagyon erős szinergista hatást mutattak a vegyülettel; CI értékük 0,1 alatti volt.

### 2.5. Kemotaxonómiai értékelés

A vinil-szubsztituált származékok kemotaxonómiai markerként szolgálhatnak a Juncaceae család fajai esetén, mivel ilyen vegyületeket eddig csak *Juncus* és *Luzula* fajokból írtak le. Napjainkig mindössze két *Luzula* faj (*L. luzuloides* és *L. sylvatica*) esetén végeztek átfogó fitokémiai vizsgálatot. A korábbi kutatások elsősorban a fajok flavonoidtartalmára fókuszáltak. Mivel az eddig vizsgált *Luzula* és *Juncus* fajok fenantréntartalma nagyon hasonló, ez megerősítheti a két nemzetség szoros botanikai rokonságát.



## 2.6. Növénymorfológiai és biokémiai vizsgálatok

A vizsgálatokat a *J. gerardiival* kezdtük, mértük a hajtás és a gyökér hosszát illetve a biomasszát. A fotoszintézishez szükséges pigmentek (klorofill A és B), illetve néhány antioxidáns enzim (SOD, CAT, POD) vizsgálata spektrofotométerrel történt.

Ezen kívül vizsgáltuk a *Juncus* fajok két főkomponensének, a junkuzolnak és az effuzolnak az *Arabidopsis thaliana* antioxidáns védekező mechanizmusára gyakorolt hatását.

## 2.7. Folyamatban lévő témák

- *LC-MS módszer kidolgozása a Juncaceae fenantrének kvantitatív meghatározására*
- *Egy korábban a Luzula luzuloidesből izolált fenantrén ECD egyezésének javítása egyszerűsített, oldószeres dinamika alapú módszer segítségével*
- *Fenantrének izolálása Juncaceae fajokból*

## 2.8. Az eredmények bemutatása konferenciákon, publikálása lektorált folyóiratokban

Eredményeinkből eddig kilenc folyóiratcikk került publikálásra lektorált folyóiratokban, amelyek a vegyületek izolálását, félszintézissel előállított vegyületeket, és az anyagok antiproliferatív hatásvizsgálatát foglalják össze.

A vizsgálatába bekapcsolódott doktoranduszhallgatók (3 fő) az eddig elért eredményeikről tudományos fórumokon számoltak be előadások, illetve poszterek formájában (n=16). A pályázat időtartama alatt, két PhD disszertáció került benyújtásra. A pályázatban kutatott téma TDK hallgatók tudományos munkába való bevonását is lehetővé tette, közülük ketten doktoranduszként folytatták/folytatják a kutatómunkát.

### 3. Összefoglalás

Munkánk célja Juncaceae fajok fitokémiai és farmakológiai vizsgálata, ezen belül biológiailag aktív vegyületek izolálása és szerkezetmeghatározása volt Juncaceae fajokból. A preparatív munka során a lipofil növényi kivonatokat ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CHCl}_3$  és EtOAc) többlépcsős elválasztástechnikai módszerek (OCC, VLC, MPLC, GF, PLC és HPLC) kombinálásával tisztítottuk és jutottunk végül a tiszta anyagokhoz. A vegyületek szerkezetmeghatározása spektroszkópiai módszerek (HR-MS és NMR) segítségével történt.

Munkánk eredményeként 65 vegyületet izoláltunk a hat vizsgált *Juncus* fajból, közülük 59 fenantrén típusú, 33 új természetes anyag. A fenantréntartalom alapján a *J. gerardii* és a *J. ensifolius* jó fenantrénforrásoknak tekinthetők. A junkuzol (**24**) és az effuzol (**4**) a *Juncus* fajokban általános előforduló vegyületek, szinte minden eddig vizsgált fajban azonosították őket. Prekursorként szolgálnak a többi Juncaceae fenantrén bioszintéziséhez.

A vinil-szubsztituált származékok kemotaxonómiai markerként szolgálhatnak a Juncaceae család fajai esetén, mivel ilyen vegyületeket eddig csak *Juncus* és *Luzula* fajokból írtak le.

Farmakológiai szempontból a fenantrének antiproliferatív, illetve a tumorterápiában általánosan alkalmazott doxorubicinnel megfigyelt szinergista hatásuk emelhető ki. Az antiproliferatív vizsgálatok esetén a HeLa sejtek bizonyultak legérzékenyebbnek a vegyületek iránt. A doxorubicinnel végzett kombinációs vizsgálat során, a *J. ensifolius*ból izolált fenantrének közül kettő nagyon erős szinergista hatást mutattak a terápiában alkalmazott gyógyszerrel; CI értékük 0,1 alatti volt.

Eredményeink új fenantrének azonosításán túl, rámutatnak arra, hogy a Juncaceae család fajai ígéretes források lehetnek új biológiailag aktív molekuláknak, amelyek kiindulási vegyületekként szolgálhatnak további tumorelles hatóanyagok megismeréséhez. Az izolált, illetve félszintézissel előállított vegyületek gazdagítják az intézetünkben meglévő, hazai vonatkozásban igen gazdag „természetes vegyületkönyvtárát”, 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 (kemotaxonómia) értékeléséhez.

A pályázat időtartama alatt elért eredményekből eddig 9, nemzetközi folyóiratban publikált közlemény született, kettő publikálása folyamatban van. A vizsgálatok fiatal kutatók és hallgatók bevonásával történtek, így PhD értekezések (n = 2), TDK pályamunkák (n = 1), szakdolgozatok (n = 1), tudományos prezentációk kidolgozásával (n = 16) hozzájárulnak a graduális és posztgraduális képzéshez, az utánpótlásneveléshez és a szakirányú továbbképzésekben is felhasználható új ismereteket nyújtanak.

## 4. Publikációk

### 4.1. Tudományos folyóiratban megjelent publikációk:

1. Bús Cs, Kúsz N, Jakab G, Senobar Tahaei SA, Zupkó I, Endrész V, Bogdanov A, Burián K, Csupor-Löffler B, Hohmann J, **Vasas A**  
Phenanthrenes from *Juncus compressus* Jacq. with promising antiproliferative and anti-HSV-2 activities  
*Molecules* **23**: 2085 (2018) DOI: 10.3390/molecules23082085  
IF: 3,060
2. Stefkó D, Kúsz N, Csorba A, Jakab G, Bérdi P, Zupkó I, Hohmann J, **Vasas A**  
Phenanthrenes from *Juncus atratus* with antiproliferative activity  
*Tetrahedron* **75**: 116–120 (2019) DOI: 10.1016/j.tet.2018.11.039  
IF: 2,379
3. Kuo CY, Schelz Z, Tóth B, **Vasas A**, Ocsovszki I, Chang FR, Hohmann J, Zupkó I, Wang HC  
Investigation of natural phenanthrenes and the antiproliferative potential of juncusol in cervical cancer cell lines  
*Phytomedicine* **58**: 152770, 1–10 (2019) DOI: 10.1016/j.phymed.2018.11.030  
IF: 4,180
4. Bús Cs, Kulmány Á, Kúsz N, Gonda T, Zupkó I, Mándi A, Kurtán T, Tóth B, Hohmann J, Hunyadi A, **Vasas A**  
Oxidized juncuenin B analogues with increased antiproliferative activity on human adherent cell lines: semisynthesis and biological evaluation  
*Journal of Natural Products* (2020), DOI: 10.1021/acs.jnatprod.0c00499  
IF: 3,779
5. Stefkó D, Kúsz N, Barta A, Kele Z, Bakacsy L, Szepesi A, Fazakas Cs, Wilhelm I, Krizbai IA, Hohmann J, **Vasas A**  
Gerardiins A–L and structurally related phenanthrenes from the halophyte plant *Juncus gerardii* and their cytotoxicity against triple-negative breast cancer cells  
*Journal of Natural Products* (2020) DOI: 10.1021/acs.jnatprod.0c00631  
IF: 3,779
6. Bús Cs, Kúsz N, Kincses A, Szemerédi N, Spengler G, Bakacsy L, Purger D, Berkecz R, Hohmann J, Hunyadi A, **Vasas A**  
Antiproliferative phenanthrenes from *Juncus tenuis*: isolation and diversity-oriented semisynthetic modification  
*Molecules* **25**: 5983 (2020); doi: 10.3390/molecules25245983  
IF: 4,411
7. Kúsz N, Stefkó D, Barta A, Kincses A, Szemerédi N, Spengler G, Hohmann J, **Vasas A**  
Juncaceae species as promising sources of phenanthrenes: Antiproliferative compounds from *Juncus maritimus* Lam.  
*Molecules* **26**: 999 (2021), 11 p. doi:10.3390/molecules26040999  
IF: 4,411
8. Bakacsy L, Sípos L, Barta A, Stefkó D, **Vasas A**, Szepesi Á.  
Concentration-dependent effects of effusol and juncusol from *Juncus compressus* on seedling development of *Arabidopsis thaliana*  
*Scientific Reports* **2022**, *12*:13870. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18063-5>  
IF: 4,996

9. Stefkó D, Kúsz N, Szemerédi N, Barta A, Spengler G, Berkecz R, Hohmann J, **Vasas A**. Unique phenanthrenes from *Juncus ensifolius* and their antiproliferative and synergistic effects with the conventional anticancer agent doxorubicin against human cancer cell lines. *Pharmaceutics* **2022**, *14*:608,; <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030608>  
IF: 6,525

#### 4.2. Könyvfejezet

1. Bakacsy L, Kovács H, Sípos L, Barta A, Stefkó D, **Vasas A**, Szepesi Á  
Az egyszikű juncus fajok (szittyók) hatóanyagai  
In: Poór P, Mézes M, Blázovics A (szerk.) Oxidatív stressz és antioxidáns védekezés a növényvilágtól a klinikumig  
Budapest, Magyarország : Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság, (2020) pp. 122-127, 5 p.

#### 4.3. PhD disszertáció

1. Bús Csaba. Isolation and diversity-oriented semisynthetic modification of biologically active phenanthrenes from *Juncus* species (*Juncus* fajok biológiailag aktív fenantrénjeinek izolálása és félszintetikus átalakítása)  
Szegedi Tudományegyetem (SZTE), Gyógyszertudományok Doktori Iskola, Vasas Andrea  
Disszertáció benyújtásának éve: 2021, Védés éve: 2021 Megjelenés/Fokozatszerzés éve: 2021
2. Stefkó Dóra. Isolation and structure elucidation of phenanthrenes from *Juncus* species (*Juncus* fajok fenantrénjeinek izolálása és szerkezetmeghatározása)  
Szegedi Tudományegyetem (SZTE), Gyógyszertudományok Doktori Iskola, Vasas Andrea  
Disszertáció benyújtásának éve: 2023, Védés éve: 2023

#### 4.4. Előadások, poszter prezentációk:

1. Bús Cs, Kúsz N, Gonda T, Kulmány Á, Zupkó I, Tóth B, Hohmann J, Hunyadi A, **Vasas A**  
Oxidised juncuenin B analogues with increased antiproliferative activity on human adherent cell lines: semisynthesis and biological evaluation  
The 67<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA) Innsbruck, Austria, 2019. szeptember 1-5. SL YRW-04, PO-200
2. Bakacsy L, Frank E, Kovács H, Szöllősi R, Barta A, Stefkó D, **Vasas A**, Szepesi Á  
Bioactivity tests of compounds from *Juncus* species on antioxidant defence mechanisms of *Arabidopsis thaliana*  
In: Poór, Péter; Blázovics, Anna (szerk.) Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság X. Kongresszusa: Program és összefoglalók  
Szeged, Magyarország, Szegedi Tudományegyetem, 2019. augusztus 29-30. p. 41.
3. Stefkó D, Barta A, Kúsz N, Csorba A, Kele Z, Bakacsy L, Szepesi Á, Bérdi P, Zupkó I, Hohmann J, **Vasas A**  
Mono- and diphenanthrenes with antiproliferative activity from *Juncus gerardii*  
In: Judit, Hohmann; Tivadar, Kiss; Dezső, Csupor (szerk.) Trends in Natural Product Research - PSE Young Scientists' Meeting on Biochemistry, Molecular Aspects and Pharmacology of Bioactive Natural Products  
Szeged, Magyarország, 2019. június 19-22. Paper: PO-18
4. Rimóczi A, Tóth L, **Vasas A**, Hohmann J, Antus S, Kurtán Tibor, Mándi Attila (DE, SZTE): Kis flexibilitású származékok ECD spektrumának szerves oldószeres dinamika alapú számítása  
MTA Alkaloid- és Flavonoidkémiai Munkabizottság ülése  
Mátrafüred, Magyarország, 2019. április 11-12.
5. Bús Cs, Kúsz N, Kulmány Á, Zupkó I, Tóth B, Hohmann J, Hunyadi A, **Vasas A**  
A juncuenin B félszintetikus származékainak előállítása és a vegyületek antiproliferatív hatásának vizsgálata

- In: Csupor, Dezső; Rédei, Dóra; Kiss, Tivadar (szerk.) *Fiatal Gyógynövénykutatók Fóruma : A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógynövény Szakosztályának tudományos konferenciája*  
 Szeged, Magyarország, 2018. november 30. Paper: B4 , 2 p.
6. Stefkó D, Barta A, Kúsz N, Csorba A, Bakacsy L, Szepesi Á, Hohmann J, **Vasas A**  
*A *Juncus gerardii* fitokémiai vizsgálata*  
 In: Csupor, Dezső; Rédei, Dóra; Kiss, Tivadar (szerk.) *Fiatal Gyógynövénykutatók Fóruma : A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógynövény Szakosztályának tudományos konferenciája*  
 Szeged, Magyarország, 2018. november 30. Paper: A4
  7. Stefkó D, Barta A, Kúsz N, Bakacsy L, Hohmann J, **Vasas A**  
*Isolation of phenanthrenes from *Juncus maritimus**  
 In: Alapi T, Ilisz I (szerk.) *Proceedings of the 25th International Symposium on Analytical and Environmental Problems*  
 Szeged, Magyarország, University of Szeged, (2019. október 7-8.) p. 397, 1 p.
  8. Stefkó D, Kúsz N, Hohmann J, **Vasas A**  
*Isolation of phenanthrenes from *Juncus ensifolius**  
 In: Alapi, Tünde; Berkecz, Róbert; Ilisz, István (szerk.) *Proceedings of the 26th International Symposium on Analytical and Environmental Problems*  
 Szeged, Magyarország : University of Szeged (2020) 405 p. p. 327 , 1 p.
  9. Barta A, Kúsz N, Purger D, Hohmann J, **Vasas A**  
*Phytochemical investigation of jointleaf rush (*Juncus articulatus*)*  
 69<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA) 2021. szeptember 5–8. online konferencia, poszter prezentáció
  10. Stefkó D, Kúsz N, Szemerédi N, Spengler G, Hohmann J, **Vasas A**  
*Biologically active phenanthrenes from four *Juncus* species native to Hungary*  
 69<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA) 2021. szeptember 5–8. online konferencia, szóbeli prezentáció
  11. Barta A (témavezető **Vasas A**)  
*Isolation and structure determination of compounds from *Juncus articulatus**  
 In: Tivadar, Kiss; Judit, Hohmann (szerk.) *2nd Symposium of Young Researchers on Pharmacognosy : Book of Abstract*  
 Szeged, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem, Farmakognózi Intézet (2021) 25 p.  
 Paper: A4
  12. Stefkó D (témavezető **Vasas A**)  
*Ensifolins A-M, new phenanthrenes from *Juncus ensifolius**  
 In: Tivadar, Kiss; Judit, Hohmann (szerk.) *2nd Symposium of Young Researchers on Pharmacognosy : Book of Abstract*  
 Szeged, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem, Farmakognózi Intézet (2021) 25 p.  
 Paper: A16
  13. Bús Cs, Kása Z, **Vasas A**, Sipos P.  
*Preparation of oxidised phenanthrenoid derivatives with increased antiproliferative activity on human adherent cell lines*  
 XXVIII. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry – Recent progress in coordination, bioinorganic and applied inorganic chemistry  
 Smolenice, Szlovákia 2022, június 5–10. előadás

14. Barta A, Körmöczi T, Bús Cs, Stefkó D, Hohmann J, **Vasas A**, Berkecz R  
Targeted liquid chromatography-quadrupole Orbitrap mass spectrometry method for the quantification of phenanthrenes in *Juncus compressus* Jacq.  
70<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA)  
Thessaloniki, Görögország, 2022. augusztus 28–31. poszter prezentáció
15. Szepesi Á, Sípos L, Barta A, Stefkó D, **Vasas A**, Bakacsy L.  
Bioactivity of rush-specific (*Juncus* sp.) compounds on antioxidant defence mechanisms of *Arabidopsis thaliana*  
Redox Biology Congress  
Ghent, Belgium, 2022. augusztus 24–26. előadás
16. Barta A (témavezető **Vasas A**)  
Phytochemical investigation of *Juncus articulatus* and *J. kraussii*  
In: Tivadar, Kiss; Judit, Hohmann (szerk.) 3rd Symposium of Young Researchers on Pharmacognosy: Book of Abstract  
Szeged, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem, Farmakognóziai Intézet 2022. február 3–4 28 p. Paper: A4, előadás

## 5. Folyamatban lévő munkák

### 1. Fenantrének vizsgálata *Juncaceae* fajokból készült kivonatokban HPLC-MS módszerrel

A korábban vizsgált *J. compressus*ból izolált fenantrének segítségével HPLC-MS módszert dolgoztunk ki a fenantrének mennyiségi meghatározására különböző helyről gyűjtött *J. compressus* mintákból készített kivonatokból. A módszer segítségével lehetőség nyílik a vizsgálni kívánt növényi kivonat összetételének jellemzésére a komponensek izolálása előtt, továbbá a komponensek mennyiségi meghatározásával a preparatív munka hatékonyságáról is információ nyerhető.

Elkészült a módszer kidolgozása, validálása. A közlemény írása folyamatban van.

#### 1. táblázat A kidolgozott UHPLC-HRMS/MS módszer esetén a validálás fő paraméterei.

	Compounds						
	JC-22	JC-8	JC-39	JC-40	JC-70	JC-4	JC-1
Linearity range (nM)	1-5000	1-5000	1-5000	1-5000	1-5000	1-5000	1-5000
Regression model	linear	linear	linear	linear	quadratic	linear	linear
Transformation	no	no	no	no	no	no	no
Weight	1/x	1/x	1/x	1/x	equal	1/x	1/x
Forced through origin	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes
R <sup>2</sup>	0.995	0.996	0.993	0.990	0.997	0.993	0.994
LOD (nM)	4.65	13.47	7.78	16.03	15.39	7.72	10.12
LOQ (nM)	14.09	40.80	23.57	48.56	46.63	23.40	30.67
Carry-over (%)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
RSD% QC	8.2	7.0	9.4	16.9	14.8	8.5	10.8
Inter-day stability „Low” (%)	-32.9	-1.9	-21.1	-38.2	-6.7	-23.7	-37.2
Inter-day stability „Mid” (%)	-15.6	-13.8	-16.1	-1.5	3.1	-10.5	-18.8
Inter-day stability „High” (%)	-10.1	-3.4	-15.8	-15.5	5.3	0.3	-1.8
Accuracy „Low” (%)	105.3	90.2	111.8	64.5	105.5	112.0	83.5
Accuracy „Mid” (%)	96.7	92.5	103.4	95.5	125.3	95.7	82.8
Accuracy „High” (%)	98.3	96.7	105.4	96.6	97.3	105.8	105.7
Precision „Low” (%CV)	14.0	9.0	9.4	19.3	4.3	15.5	16.4
Precision „Mid” (%CV)	9.6	7.9	9.9	1.9	1.4	9.0	8.5
Precision „High” (%CV)	5.8	2.7	7.6	8.7	4.2	8.9	8.3
Retention stability (min)	2.14 ± 0.02	2.42 ± 0.02	2.45 ± 0.01	2.63 ± 0.02	3.39 ± 0.01	3.53 ± 0.01	3.75 ± 0.02

Coefficient of determination of linear regression (R<sup>2</sup>), limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and percent coefficient of variation (%CV).

2. táblázat A vizsgált fenantrének koncentrációja a metanolos és diklórmetános frakciókban.

Sample	Fraction	Dilution	JC-22		JC-8		JC-39		JC-40		JC-70		JC-4		JC-1	
			µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant	µmol/g	nmol/g dried plant
Plant 1	MeOH	-	< LOQ	< LOQ	22.33	3590.90	8.05	1294.52	2.16	347.35	0.63	101.31	0.71	114.18	1.28	205.84
		10x	ND	ND	17.42	2801.32	6.61	1062.96	< LOD	< LOD	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
		100x	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	0.35	4.15	OCR	OCR	OCR	OCR	23.08	273.66	6.08	72.09	< LOD	< LOD	ND	ND
		10x	< LOQ	< LOQ	215.66	2557.0	77.65	920.70	22.54	267.26	5.82	69.01	ND	ND	ND	ND
		100x	ND	ND	195.15	2313.91	70.41	834.86	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Plant 2	MeOH	-	ND	ND	3.16	453.31	1.05	150.63	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0.34	48.77	0.38	54.51
		10x	ND	ND	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	ND	ND	< LOQ	< LOQ	ND	ND	ND	ND
		100x	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	< LOD	< LOD	OCR	OCR	9.88	120.36	2.16	26.31	1.66	20.22	< LOD	< LOD	ND	ND
		10x	< LOD	< LOD	35.12	427.85	11.10	135.23	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	ND	ND	ND	ND
		100x	ND	ND	<LOQ	<LOQ	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Plant 3	MeOH	-	< LOD	< LOD	21.53	3571.80	8.33	1381.94	3.13	519.26	0.67	111.15	1.39	230.60	3.95	655.30
		10x	ND	ND	21.57	3578.44	7.91	1312.26	< LOD	< LOD	ND	ND	< LOD	< LOD	3.43	569.03
		100x	ND	ND	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	0.46	4.73	OCR	OCR	OCR	OCR	33.61	345.85	7.50	77.18	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
		10x	< LOQ	< LOQ	OCR	OCR	98.32	1011.73	29.53	303.87	7.63	78.51	< LOD	< LOD	ND	ND
		100x	< LOD	< LOD	294.57	3031.17	109.67	1128.52	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND
Plant 4	MeOH	-	ND	ND	4.85	772.37	2.50	398.13	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	0.41	65.29	0.69	109.88
		10x	ND	ND	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
		100x	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	< LOQ	< LOQ	OCR	OCR	32.07	277.17	7.63	65.94	2.08	17.98	< LOD	< LOD	ND	ND
		10x	< LOD	< LOD	77.34	668.43	41.23	356.34	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	ND	ND	ND	ND
		100x	ND	ND	78.43	677.85	38.02	328.60	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Plant 5	MeOH	-	< LOD	< LOD	11.49	1256.61	4.07	445.12	0.65	71.09	< LOQ	< LOQ	2.87	313.88	3.05	333.56
		10x	ND	ND	11.46	1253.33	4.02	439.65	ND	ND	ND	ND	2.87	313.88	< LOQ	< LOQ
		100x	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND	< LOD	< LOD	ND	ND
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-	0.43	3.10	OCR	OCR	41.14	296.88	7.09	51.16	5.48	39.55	0.31	2.24	ND	ND
		10x	< LOQ	< LOQ	145.23	1048.04	49.11	354.40	< LOQ	< LOQ	5.41	39.04	< LOD	< LOD	ND	ND
		100x	ND	ND	154.16	1112.48	51.26	369.91	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	ND	ND	ND	ND

\*ND – not detected, < LOD – lower than limit of detection, < LOQ – lower than limit of quantification, OCR – out of calibration range



## 2. Egy korábban a *Luzula luzuloides*ből izolált fenantrén ECD egyezésének javítása egyszerűsített, oldószeres dinamika alapú módszer segítségével

Együtműködés keretében, normál konformációs analízis alapú megközelítéssel egy problémás fenantrén, a *Luzula luzuloides*ből izolált luzulin A ECD egyezésének javítását céloztuk meg egy egyszerűsített, oldószeres dinamika alapú módszer segítségével. A vegyület esetén a normál módszer legalacsonyabb energiájú szerkezetéből indított szobahőmérsékletű kloroformos ill. acetonitriles oldószerdobozban végzett molekuladinamika alapján nyert nyers szerkezetekre történő számítás jobb egyezéseket eredményezett a korábban leírtaknál, a dimerizáció (aggregáció) figyelembevételével sikerült az egyezéseken javítani. Aggregációra utaló jeleket az NMR spektrumokban is sikerült azonosítani. Vizsgáltuk továbbá az oldószerrel alkotott komplexek szerepét is az ECD spektrumok tekintetében, de a várttal ellentétben ezek hatása elhanyagolhatónak bizonyult.

A közlemény megírása folyamatban van, befejezés előtt áll.

## 3. Fenantrének izolálása *Juncaceae* fajokból

A *J. tenuis* esetén új kísérletet kezdtünk, és eddig 6 fenantrént és egy flavonoidot azonosítottunk. A dél-afrikai eredetű *J. kraussii* esetén az izolációs munka és a vegyületek szerkezetmeghatározása folyamatban van. Megkezdődött a természetből származó *J. hybridus* feldolgozása is, ebben az esetben a kloroformos fázison kívül az etil-acetátos frakciót is feldolgozzuk, mert abban is detektáltunk érdekesnek tűnő komponenseket. A *J. articulatus* esetén a vegyületek izolálása és szerkezetmeghatározása befejeződött, a farmakológiai vizsgálatok még folyamatban vannak. A HPLC-MS módszerrel kapcsolatos közlemény beküldés előtt áll.