

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Dibenzilbutirolakton lignánok azonosítása,
bioszintézisük nyomon követése *Arctium*, *Centaurea*,
Cirsium fajok terméseiben és mennyiségi
meghatározása *Centaurea* termésekben és *in vitro*
sejttenyészteteiben**

Szokol-Borsodi Lilla

Témavezetők:

Dr. Böddi Béla
tanszékvezető egyetemi tanár
az MTA doktora

és

Dr. Gyurján István†
professor emeritus
az MTA doktora

ELTE Biológia Doktori Iskola
Vezetője: Dr. Erdei Anna
Kísérletes Növénybiológia Doktori Program
Programvezető: Dr. Szigeti Zoltán

ELTE Növény szerkezettani Tanszék
Budapest
2013

I. Bevezetés és célkitűzések

Világszerte egyre nagyobb a gyógyszeripar érdeklődése a természetes eredetű hatóanyagok iránt. Ezek a vegyületek túlnyomórészt a növény másodlagos anyagcseretermékei közül kerülnek ki. Az analitikai módszerek fejlődésének és az igen változatos gyógyászati felhasználhatóságnak köszönhetően nőtt meg a jelentőségük többek között a fenoloidok közé tartozó lignánoknak is. Szerkezetük két fahéjsav származék, vagy biogenetikai ekvivalensük egyesüléséből alakul ki. A lignánok, többek között az arctigenin, a matairesinol, a trachelogenin, illetve ezek glikozidjai, a kutatások középpontjába kerültek.

Biológiai hatásvizsgálatok során igazolódott a lignánok szerepe a növényi védekezésben, mint antibakteriális, antivirális, antifungális, antioxidáns, valamint rovarölő másodlagos anyagcseretermékek, valamint rákellenes, HIV ellenes, gyulladáscsökkentő, máj- és idegrendszer védő tulajdonsága, illetve szabadgyök fogó képessége is. Gyógyászati alkalmazási lehetőségük igen széles spektrumú (Ayres és Loike 1990).

Az arctigenin, a matairesinol, a trachelogenin, illetve ezek glikozidjai több nemzetségben is jelentős mennyiségben fordulnak elő, melyek többek között az *Arctium*, *Centaurea*, *Cirsium*, *Ipomoea* illetve a *Forsythia*. Irodalmi adatok alapján, illetve a rendelkezésre állási lehetőségek alapján választottuk ki az *Arctium lappa*-t, 11 *Centaurea* fajt és a *Cirsium arvense*-t vizsgálataink tárgyául.

A növényekben a lignánok glikozidos, és aglikonos formában jelennek meg a különböző szervekben. A növények a lignánokat legnagyobb mennyiségben glikozidos formában raktározzák. Mivel azonban az aglikonos forma a biológiailag aktívabb, a növénynek a patogénekkal szembeni hatékony védekezés érdekében a glükóz molekulát el kell hidrolizálnia a glikozidos formáról β -glikozidáz enzim segítségével (Yoo és mtsai. 2010).

A természetes vegyületeket tartalmazó készítmények iránti fokozott kereslet miatt az intakt növényekből történő hatóanyag kinyerés mellett az *in vitro* sejtenyészeteket egyre nagyobb mértékben alkalmazzák a másodlagos anyagcseretermékek előállítására, mivel a sejt kultúrákban a farmakológiailag aktív vegyületek szabályozott, optimalizált körülmények között termeltethetőek, ezen felül könnyebb és hatékonyabb az anyagok kivonása.

A disszertáció témája a korábban említett lignánok, és glikozidjainak azonosítása és bioszintézis vizsgálata volt *Arctium*, *Centaurea*, és *Cirsium* fajokban a termésérés és csírázás során, a széles körben elterjedt *Centaurea* fajok érett terméseiben, illetve *in vitro* kultúráiban annak érdekében, hogy e hatóanyagokat nagy mennyiségben, és tiszta formában előállíthatóak legyenek egy későbbi, gyógyszeripari felhasználás céljából.

Ennek érdekében négy fő célt tűztünk ki.

- 1) Mivel a szakirodalmi adatok egyértelműen azt mutatták, hogy a dibenzilbutirolakton típusú lignánok gyógyszeripari szempontból fontos vegyületek, és szintetikus előállításuk többnyire nincs megoldva, valamint igen költséges, munkánk első részében olyan természetes növényi anyagokat kerestünk, amelyek ígéretesnek tűntek lignánok kinyerésére és termeltetésére. Korábbi közlések alapján az *Arctium lappa*, *Cirsium arvense*, *Centaurea scabiosa*, és további 10 *Centaurea* faj érett terméseire terjesztettük ki vizsgálatainkat. A lignánok azonosítását, mennyiségi meghatározására, szétválasztására HPLC-UV, és HPLC-ESPI-MS módszereket terveztünk használni.
- 2) Azonosítani kívántuk, hogy a termés (mag) melyik része tartalmazza a legnagyobb mennyiségben a lignánokat, illetve a termésérés és a csírázás mely fázisaiban miként változik a lignánösszetétel, illetve a lignántartalom. Mivel az aglikon forma farmakológiai szempontból hatékonyabb, tanulmányozni kívántuk a lignán glikozidok hidrolíziséért felelős β -glikozidáz enzim natív előfordulását, illetve aktivitásának élettani körülményeit.
- 3) Munkánk második részében az előzőekben említett *Centaurea* fajokból terveztük sejttenyészetek illetve sejtszuspenziós kultúrák létrehozását, amelyek segítségével a hatóanyag kinyerés gazdaságosan történik, és a tenyészet folyamatos növekedésével, differenciációjával a termeltetés hosszútávra megoldható.
- 4) Összefüggést kerestünk a kallusz kultúrák differenciálódása, és a különböző irányokban elkötelezett sejtcsoportok lignánösszetétele, valamint lignántartalma között. A sejtek differenciálódásának nyomon követésére fénymikroszkópos, transzmissziós- és szkennig elektonmikroszkópos vizsgálatokat terveztünk a minták analitikai vizsgálatával párhuzamosan.

II. Anyagok és módszerek

Növényi minták

Vizsgálatainkban a következő növényfajokat használtuk: *Arctium lappa*, *Cirsium arvense*, *Centaurea adjarica*, *C. americana*, *C. calcitrapa*, *C. cyanus*, *C. dealbata*, *C. jacea*, *C. montana*, *C. pannonica*, *C. scabiosa*, *C. solstitialis*, *C. triumfetti*. Valamennyi faj érett termésében meghatároztuk a lignánok összetételét. A lignánok mennyiségi változását a termésérés és csírázás folyamat során, több állapoton keresztül, is nyomon követtük.

Nyolc *Centaurea* fajból szövettenyészetet hoztunk létre, a primer kalluszokat Gamborg B5 (0,5 mg l⁻¹ 2,4-diklórfenoxiecetsav) (Gamborg és mtsai. 1968) táptalajra, a szekunder kalluszokat egy módosított Murashige-Skoog (2 mg l⁻¹ naftalinsav (NAA), 0,2 mg l⁻¹ kinetin) (Murashige és Skoog 1962) táptalajra helyeztük. Szobahőmérsékleten (20-25 °C), labor ablakon átszűrődő, kis intenzitású, szórt természetes fény (10-20 μmol m⁻²s⁻¹) mellett tartottuk fenn a kallusz kultúrákat. Ilyen körülmények között fotooxidáció nem ment végbe, de különböző differenciációs formák jelente meg. Ez a táptalaj a kalluszok differenciációját indította el, ami indokolta a differenciáció és hatóanyag termelés közötti összefüggés vizsgálatát.

A differenciálódott kultúrák morfológiai, anatómiai, és ultrastrukturális vizsgálata

Munkánk során a sejtenyészetek morfológiáját sztereo-, anatómiáját fény-, és scanning elektronmikroszkópiával, az ultrastrukturáját pedig elektronmikroszkóppal követtük nyomon.

Analitikai vizsgálatok

A visszafolyós hűtő melletti forralásnál (refluxálás) a liofilizált mintákat 80 % (v/v) metanollal, 60 °C-on extraháltuk.

A trifluorecetsavas hidrolízishez a kivonatokat rotációs vákuumbepárló segítségével megszáritottuk. A szárított kivonathoz 2 mol l⁻¹ koncentrációjú trifluorecetsavat mértünk, majd újra megszáritottuk, és metil alkoholban (80% (v/v)) feloldottuk.

A β-glikozidáz enzimes hidrolízishez a homogenizált növényi mintákat szuszpendáltuk 1 ml desztillált vízben. Ezt követően a mintákat újból liofilizáltuk, és a fent említett módszer szerint extraháltuk.

A lignánok azonosítása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztásuk után tömegspektrometriás (MS) detektálással, és mennyiségi meghatározása ultraibolya spektrofotometriás (UV) detektálással történt.

III. Eredmények

A lignánösszetétel folyadékkromatográfiás meghatározása

Az *Arctium lappa*, a *Centaurea scabiosa*, és a *Cirsium arvense* terméseiben megtalálható lignánok azonosítása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztásuk után tömegspektrometriás (MS) detektálással, és mennyiségi meghatározása ultraibolya spektrofotometriával (UV) történt. Az *Arctium lappa* 78 mg g⁻¹ arctiint, a *Centaurea scabiosa* 41,7 mg g⁻¹ matairesinosidot, a *Cirsium arvense* pedig 14 mg g⁻¹ trachelosidot tartalmazott.

A növényi mintákat nemcsak intakt formában, de savas és enzimés hidrolízist követően is megvizsgáltuk lignánösszetételüket illetően, ezzel igazolva a glikozid-aglikon párok azonosságát különböző körülmények között, valamint eredményeink igazolták, hogy az átalakulás teljes mértékű, mennyiségi volt és dibenzilbutirolakton lignán aglikonok savas hidrolízist követően is stabilak maradtak.

Kimutatható volt a fajok különböző mintáiban az arctiin-arctigenint, matairesinod-matairesinolt, valamint a trachelosid-trachelogenint, igazolva hogy ez a módszer alkalmazható a lignánok kimutatására és mennyiségi meghatározására.

A lignánösszetétel változása a termés érése és csírázása során, valamint a lignánok megoszlása a kaszattermés termésfala és az embrió részei között

Az *Arctium lappa*, a *Centaurea scabiosa*, és a *Cirsium arvense* fajoknál vizsgáltuk a lignánok megoszlását a termések különböző fejlettségi állapotaiban, illetve különböző részei között. A termés érési fázisaiban, a teljes virágzás állapotától az érett termés állapotáig, illetve a csírázás során követtük nyomon a hatóanyag változását.

A lignánok mennyisége folyamatosan növekedett az érés folyamán az *Arctium lappa* és *Cirsium arvense* fajok esetében, míg a *Centaurea scabiosa* esetében már jóval az érett termés állapot elérése előtt befejeződött a lignánok mennyiségi növekedése. A lignán glikozidok izolálására az *Arctium* és *Cirsium* fajok szinte teljesen érett termései voltak a legmegfelelőbbek, mivel szinte az érett termésben található lignán tartalom volt kinyerhető szinte, míg a *Centaurea* termésekből már egy korábbi fázis elérése után is. Mindhárom faj esetében megállapítottuk, hogy a lignán aglikonok mennyisége igen alacsony volt, a glikozidok mennyiségéhez viszonyítva. Az általunk vizsgált fajok közül a csírázás során nem változott sem a lignán glikozidok, sem az aglikonok mennyisége.

Eddigi eredményeink azt mutatták, hogy a lignán glikozidok igen nagy mennyiségben jelennek meg az érett termésben, ezért meghatároztuk, hogy a termés egyes részeiben milyen arányban halmozódnak fel a lignánok. A lignánösszetételt vizsgálva megállapítottuk, hogy a hatóanyagok legnagyobb mértékben a termések embrió részében halmozódtak fel a natív mintákban. A minták enzimatis hidrolízisét követően megállapítottuk, hogy az *Arctium* és a *Cirsium* fajokban felhalmozódott glikozid lignánok teljes mértékben a megfelelő aglikonná hidrolizáltak, ezzel szemben a *C. scabiosa* érett termése nem. A kapott eredmények azt bizonyítják, hogy a *C. scabiosa* β -glikozidáz enzime a termés érése során inaktív, míg csírázás hatására aktiválódik.

A hatóanyag izolálására megfelelő kiindulási anyag a csíráztatott termés, mivel a lignánok jelentős mennyiségben az embrió részben halmozódnak fel. Előnyös, hogy a csírázás során, természetes úton elválik az embrió a termésfaltól, megkönnyítve ezzel a hatóanyag kivonását.

A *Centaurea* fajok terméseinek lignánösszetétel vizsgálata

A *Centaurea* nemzetség lignán tartalmának heterogenitását 11 fajon, a termések azonos érettségi állapotában, vizsgáltuk meg.

Az általunk vizsgált fajok terméseinek mindegyike tartalmazott lignánokat, de az egyes fajok között mind az összetételben, mind a mennyiségben igen nagy eltérések mutatkoztak. Az összlignán tartalom is igen változatos képet mutatott.

Mindegyik faj termése tartalmazott arctiint, amely lignán 2 fajt (*C. scabiosa* és *C. solstitialis*) kivéve, a legnagyobb mennyiségben volt jelen a natív mintákban, amely a legnagyobb mennyiségben a *C. calcitrapa* termésében volt jelen (59,6 mg g⁻¹), de vizsgálataink alapján az *Arctium lappa* termése (73,9 mg g⁻¹) többet tartalmazott, így arctiin izolálására ez a faj a legalkalmasabb. Arctigenint az *A. lappa* enzim hidrolizált mintájából nyerhetünk ki. Matairesinosidot a *C. scabiosa* natív terméséből, matairesinolt pedig hidrolízis után lehet a leggazdaságosabban izolálni. A vizsgált fajok esetében a trachelosid tartalom egyik fajban sem jelentős, szemben a vizsgált *Cirsium arvense*-nél, így az izoláláshoz ez a faj a legideálisabb, enzimes hidrolízist követően pedig trachelogenint tudunk nagy mennyiségben kinyerni a termésből.

A termésekben előforduló lignánok összetétele és mennyiségi meghatározása igen fontos információval szolgál az *in vitro* kallusz kultúrák elindításához. Az egyes fajok terméseiben előforduló lignánok mennyisége között igen nagy a heterogenitás, de egyes

fajokból gazdaságosan lehet a lignánokat izolálni, ezek a *Centaurea scabiosa* és a *Centaurea calcitrapa*.

A *Centaurea* fajok szövettenyésztéseinek létrehozása, lignán összetételének és mennyiségének vizsgálata, valamint morfológiája

Mivel a szövettenyésztetek függetlenek a klimatikus és szezonális hatásoktól, tenyésztésük pontosan ismert és szabályozott körülmények között zajlik, 8 *Centaurea* fajból sikeresen szövettenyészteteket hoztunk létre.

A szekunder kalluszokat MSA30 táptalajra helyeztük fenntartás és differenciálódás céljából. Azt tapasztaltuk, hogy az egyes genotípusok eltérő módon reagáltak a táptalajra. Egyes fajok hajtásszerű (*C. jacea*), hajtás- és gyökérszerű (*C. adjarica*), mások csak gyökérszerű (*C. americana* és *C. scabiosa*) szerveket képeztek, míg pl. a *C. solstitialis* nem mutatott organizációs hajlamot és tipikus kallusz állapotban maradt, a többi, fel nem sorolt faj kallusz tenyésztéséhez hasonlóan.

A különbözőképpen differenciálódott szervkezdeményeket vetettük alá analitikai és struktúrális vizsgálatoknak. A *C. adjarica* hajtásszerű differenciációt mutató kallusz kultúrája tartalmazta a legtöbb arctiint, 2,96 mg g⁻¹-ot. A *C. adjarica* gyökérdifferenciációt mutató kallusz kultúrája pedig a legtöbb arctigenint, 1,92 mg g⁻¹-ot. Az irodalmi adatokkal megegyezően, a natív mintákhoz képest az *in vitro* kultúrák csak kis mennyiségben (0,01-4%) tartalmaztak lignánokat.

A sejttenyésztetek differenciációjával párhuzamosan nőtt a lignántartalom, a sejttenyésztetek ugyanazokat a lignánokat tartalmazták, mint amik a természetben előfordultak, de arányuk és mennyiségük is különböző volt.

IV. Következtetések

1) Kimutattuk, hogy az *Arctium lappa*, *Centaurea scabiosa* és *Cirsium arvense* fajok termése ígéretes alapanyag lehet a gyógyszeriparban lignánok előállítására. Azonosítottunk, és mennyiségileg meghatároztunk HPLC-UV és HPLC-ESI-MS módszerekkel három glikozid-aglikon lignán párt, az arctiin-arctigenint, a matairesinol-matairesinosidot és a trachelosid-trachelogenint. A termésekben főleg lignán glikozidok találhatóak, amelyekből trifluorecetsavas hidrolízissel kvantitatív módon kinyerhetőek a stabil, és biológiai szempontból előnyösebb aglikonok.

2) Megállapítottuk, hogy az *Arctium lappa*, *Centaurea scabiosa* és *Cirsium arvense* fajok termésérési és csírázási fázisaiban változik a lignántartalom, melynek döntő többsége a termés embrió részében halmozódik fel; legelőnyösebb a termést fél-érett állapotban begyűjteni szabadföldi gyűjtéskor. Az *Arctium lappa* és a *Cirsium arvense* érett termése rendelkezik β -glikozidáz enzimmel, mely a lignán glikozidok hidrolíziséért felelős, viszont a *Centaurea scabiosa* glikozidáz enzime csak a csírázási folyamat során aktiválódik.

3) A *Centaurea* nemzetség 11 fajában megvizsgálva az arctiin-arctigenin, a matairesinosid-matairesinol, és a trachelosid-trachelogenin lignán glikozid/aglikon párok tartalmát és arányait az érett termésekben, azt tapasztaltuk, hogy a nemzetségen belül mindkét szempontból nagy változatosság van. Ezért a további kutatások előkészítéséhez szükséges az értekezésben bemutatott elővizsgálatokat elvégezni. A későbbi szövettényészetekkel történő lignántermeltetési vizsgálatokhoz mindegyik rendelkezésre álló fajból megkíséreltük *in vitro* sejttényészetek létrehozását.

4) Nyolc *Centaurea* fajból sikeresen *in vitro* szövettényészetet hoztunk létre. A szövettényészetekben a lignánok össz mennyisége lényegesen alacsonyabb volt a természetes növényi anyagéhoz képest, és a lignánok összetétele is eltérő volt. Ennek ellenére állíthatjuk, hogy az *in vitro* kultúrákkal való hatóanyag termeltetés előnyös lehet, mivel a természetből begyűjtött növényi anyag heterogén volt.

5) Megállapítottuk, hogy ugyanazon a táptalajon az egyes fajok teljesen eltérő differenciációt mutatnak, illetve egy tenyészetben belül is előfordulhatnak különféle differenciációs formák. A differenciálódott kalluszok mind lignán profilban, mind hatóanyag mennyiségben eltérnek a nem differenciálódott kalluszoktól. A szövettényészeteknél tehát még azonos táptalajon nőtt kultúrák is heterogének voltak a kallusz differenciálódási útvonalait tekintve. A differenciáció pedig jelentős mértékben befolyásolja a lignántermelést.

A *C. adjarica* hajtásorganizációt mutató tenyészetében az arctiin tartalom, gyökérorganizációt mutató tenyészetében pedig az arctigenin tartalom volt a legmagasabb. Ez mutatja a hatóanyagtermelés szervspecifitásának a jelentőségét.

6) Az egyes *Centaurea* fajokból létrehozott *in vitro* sejt- és szövettenyészetek alkalmasak lehetnek a lignánok hosszú távú, tartós forrást biztosító termelésére, amennyiben fokozni lehet lignán termelésüket. Az értekezésben bemutatott eredmények az *in vitro* termelés elvi lehetőségeit mutatták be. Annak ellenére, hogy ma még a természetből begyűjtött növényi nyersanyagokból lehet nagy mennyiségű lignánt izolálni, az *in vitro* sejttenyészetek ígéretes alapanyagok lehet a gyógyszeripar számára a lignánok hosszú távú, tartós forrást biztosító előállítására, mivel egy nagyléptékű fermentációs technológia kontrollált körülmények között zajlik, és gazdaságos formában üzemeltethető.

Hivatkozások

Ayres, D. C., & Loike, J. D. (1990). Chemistry and pharmacology of natural products. *Lignans: Chemical, Biological and Clinical Properties*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Gamborg, O. L., Miller, R., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental cell research*, 50(1), 151-158.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-479.

Yoo, J. H., Lee, H. J., Kang, K., Jho, E. H., Kim, C. Y., Baturen, D., Tunsag, J., & Nho, C. W. (2010). Lignans inhibit cell growth via regulation of Wnt/ β -catenin signaling. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2247-2252.

A tézisek alapjául szolgáló közlemények

Referált folyóiratban megjelent cikkek:

Sedlák, É., Boldizsár, I., Borsodi, L., Füzfai, Z., Molnár-Perl, I., Preininger, É., & Gyurján, I. (2008). Identification and quantification of lignans, carboxylic acids and sugars in the leaves of Forsythia species and cultivars. *Chromatographia*, 68(1), 35-41.

Boldizsár, I., Füzfai, Z., Tóth, F., Sedlák, É., Borsodi, L., & Molnár-Perl, I. (2010). Mass fragmentation study of the trimethylsilyl derivatives of arctiin, matairesinoside, arctigenin, phylligenin, matairesinol, pinoresinol and methylarctigenin: their gas and liquid chromatographic analysis in plant extracts. *Journal of Chromatography A*, 1217(10), 1674-1682.

Szokol-Borsodi, L., Sólyomváry, A., Molnár-Perl, I., & Boldizsár, I. (2012). Optimum Yields of Dibenzylbutyrolactone-type Lignans from Cynareae Fruits, During their Ripening,

Germination and Enzymatic Hydrolysis Processes, Determined by On-line Chromatographic Methods. *Phytochemical Analysis*, 23(6), 598-603.

Nem referált folyóiratban megjelent cikk:

Sedlák, É., Borsodi, L., Boldizsár, I., Preininger, É., László, M., Szőke, É., & Gyurján, I. (2008). Biologically active phenols in leaves of *Forsythia* species. *Int. J. Horticult. Sci.* 14(3), 57-9.

Referált folyóiratban megjelent konferencia összefoglaló:

Szokol Borsodi, L., Sedlák, É., Boldizsár, I., Paku, S., Preininger, É., & Gyurján, I. (2010). Determination of dibenzylbutyrolactone-type lignans in *Centraurea* species and analysis of arctigenin's anticancer effect. *Planta Medica*, 76(12), P1338.

Poszter azonos címmel bemutatva: 7th Tannin Conference and 58th International Congress of the GA, Berlin, Németország, 2010. augusztus 29 - szeptember 2.

Konferencia összefoglalók:

magyar nyelvű konferencia kiadványban:

Sedlák, É., Borsodi, L., & Gyurján, I. (2008) Fenoloidok és lignánok akkumulációja *Forsythia x intermedia* (Aranyfa) kultúrváltozataiban. Kiadvány 124. oldal

Poszter azonos címmel bemutatva: Semmelweis Egyetem PhD Tudományos Napok, Budapest, április 10-11.

angol nyelvű konferencia kiadványban:

Sedlák, É., Boldizsár, I., Borsodi, L., Fűzfai, Zs., Molnár-Perl, I., Preininger, É., & Gyurján, I. (2007) Bioactive Phenolic Compounds in Leaves of the *Forsythia* Species and Cultivars. Kiadvány 168. oldal.

Poszter azonos címmel bemutatva: 7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods In Memoriam Szabolcs Nyiredi, Siófok, szeptember 5-7.

Sedlák, É., Boldizsár, I., Borsodi, L., Preininger, É., & Gyurján, I. (2008) Lignans in leaves of *Forsythia* species, cultivars and its in vitro cultures. Kiadvány 43. oldal.

Poszter azonos címmel bemutatva: International PSE Symposium on Natural Products in Cancer Therapy, Nápoly, Olaszország, szeptember 23-26.

Sedlák, É., Borsodi, L., László, M., Boldizsár, I., Preininger, É., & Gyurján, I. (2008) Production of biologically active lignans with *Forsythia* cell cultures in bioreactor. Kiadvány 68-69. oldal.

Poszter azonos címmel bemutatva: Magyar Mikrobiológiai Társaság 2008. évi Nagygyűlése és a XI. Fermentációs Kollokvium, Keszthely, október 15-17.

Szokol Borsodi, L., Sedlák, É., Boldizsár, I., Preininger, É., & Gyurján, I. (2010). Differences In Lignan Content Among *Centaurea* Species In Fruits and *In Vitro* Cultures. Kiadvány 51. oldal.

Poszter azonos címmel bemutatva: 6th SPPS PhD Student Conference, Espoo, Finnország, szeptember 2-5.