

Izomer anyatej oligoszacharidok szerkezet-jellemzése ^1H - ^{15}N NMR spektroszkópiával

Doktori tézisek

Garádi Zsófia

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. Béni Szabolcs, Ph.D. egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Mazákné Kraszni Márta, Ph.D. egyetemi docens
Dr. Timári István, Ph.D. egyetemi adjunktus

Komplex vizsgabizottság elnöke: Dr. Antal István, Ph.D. egyetemi tanár

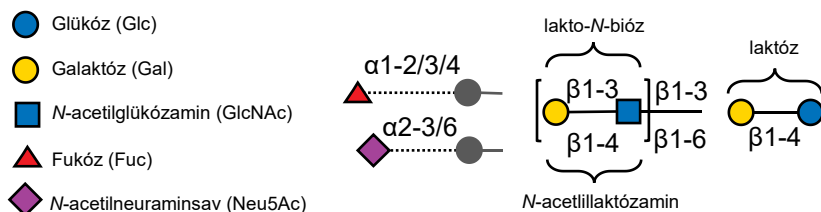
Komplex vizsgabizottság tagjai: Dr. Szakács Zoltán, Ph.D.
Dr. Völgyi Gergely, Ph.D.

Budapest
2025

1. Bevezetés

Az anyatej oligoszacharidok (HMOk) az anyatej harmadik legnagyobb mennyiségben előforduló szilárd összetevői a laktóz és a lipidek után. A HMOk összetett, konjugátlan glikánok, melyek az utóbbi évtizedekben kiemelt figyelmet kaptak a csecsemők egészségében betöltött sokrétű szerepük miatt. Bár a humán enzimek nem képesek megemésztetni őket, a HMOk prebiotikus hatásuk révén támogatják a jótékony bélflóra kialakulását, erősítik a bélfalat, megakadályozzák a kórokozók megtapadását, szabályozzák az immunválaszt és hozzájárulnak az agyi fejlődéshez.

Az anyatej oligoszacharidok rendkívül változatos szerkezetűek: eddig közel 200 különböző szerkezetet azonosítottak, melyek öt alapvető monoszacharidból épülnek fel: glükóz (Glc), galaktóz (Gal), *N*-acetilglükózamin (GlcNAc), fukóz (Fuc) és szialsav *N*-acetilneuraminsav (Neu5Ac) formájában. Minden HMO molekula laktózt (Gal β 1-4Glc) tartalmaz a redukáló végén, amely β 1-3 vagy β 1-6 kötéseken keresztül laktó-*N*-biózzal (Gal β 1-3GlcNAc) vagy *N*-acetil-laktózámmal (Gal β 1-4GlcNAc) hosszabbítható. A laktóz vagy a hosszabbított lánc fukoziláción és/vagy szialiláción mehet keresztül, ami jelentős szerkezeti és funkcionális diverzitást eredményez.



1. ábra A HMOk monoszacharid építőelemei, általános szerkezetük és a lánchosszabbítási ill. szubsztitúciós lehetőségeik.

A HMOK szerkezeti és izomer sokfélesége komoly analitikai kihívást jelent, ugyanakkor ezek pontos meghatározása elengedhetetlen funkcionális szerepük megértéséhez. Míg a tömegspektrometria hatékonyan tárja fel a szerkezeti elemeket, az NMR nélkülözhetetlen a glikozidos kötések típusa és a sztereokémia pontos feltérképezéséhez.

A glükózaminoglikánok példájára mutatott, hogy a ^{15}N NMR spektroszkópia, különösen annak ^1H -detektált technikái, alkalmasak lehetnek összetett, *N*-acetilált szénhidrátok részletes szerkezeti vizsgálatára. Hasonlóan, a HMOK esetében is ígéretes lehetőségként merül fel a ^{15}N NMR alkalmazása az izomerek megkülönböztetésére és finomszerkezeti jellemzésre.

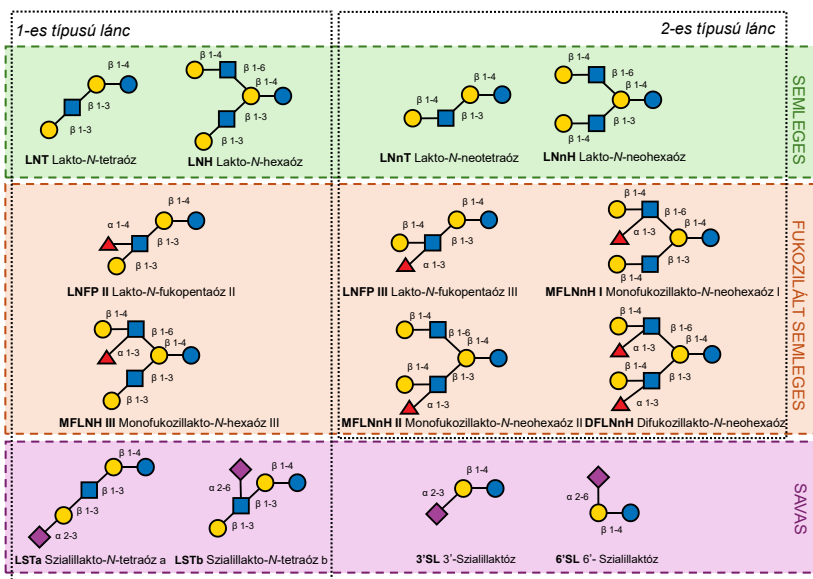
2. Célkitűzés

Tekintve, hogy a legtöbb HMO tartalmaz ^{15}N NMR-aktív építőelemeket az az *N*-acetilglükózamin és az *N*-acetilneuraminsav egységeknek köszönhetően, lehetőség nyílik ezen részegységek ^{15}N és ^1H kémiai eltolódásainak felhasználására a HMOK részletes szerkezeti jellemzésében. A munkánk célja ^{15}N NMR-alapú módszerek, elsősorban ^1H - ^{15}N HSQC és kapcsolódó technikák fejlesztése és alkalmazása volt HMOK karakterizálására. A kidolgozott módszerekkel izomer tri-, tetra- és pentaszacharid HMOK megkülönböztetését, valamint anyatejből izolált hexa-, hepta- és oktaszacharid HMOK átfogó NMR vizsgálatát tűztük ki célul, különös tekintettel a Lewis X antigént tartalmazó építőelemekre. Terveztük továbbá az összes vizsgált HMO teljes ^1H , ^{13}C és ^{15}N NMR rezonancia hozzárendelését is, a szerkezeti motívumok pontos azonosítása és az izomerformák elkülönítése érdekében.

3. Módszerek

3.1. Anyagok

A tri-, tetra- és pentaszacharid HMOKat (lakto-*N*-tetraóz (LNT), lakto-*N*-neotetraóz (LNnT), szialillakto-*N*-tetraóz a (LSTa), szialillakto-*N*-tetraóz b (LSTb), lakto-*N*-fukopentaóz II (LNFP II), lakto-*N*-fukopentaóz III (LNFP III), 3'-szialillaktóz (3'-SL) és 6'-szialillaktóz (6'-SL)) a DSM-től (Hørsholm, Dánia) szereztük be. A hexa-, hepta- és oktaszacharid HMOK (lakto-*N*-hexaóz (LNH), lakto-*N*-neohexaóz (LNnH), monofukozillakto-*N*-neohexaóz I (MFLNnH I), monofukozillakto-*N*-neohexaóz II (MFLNnH II), monofukozillakto-*N*-hexaóz III (MFLNH III) és difukozillakto-*N*-neohexaóz (DFLNnH)) anyatejből kerültek izolálásra.



2. ábra A disszertációban vizsgált HMOK sematikus ábrázolása.

3.2. Műszerek

Az NMR spektrumokat két Bruker Avance III műszerrel (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Németország) vettük fel: egy 800 SA ^1H & $^{19}\text{F}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$

TCI krio-fejjel felszerelt HDX műszerrel (^1H : 799.68 MHz, ^{13}C : 201.10 MHz, ^{15}N : 81.04 MHz), valamint egy Prodigy krio-fejjel felszerelt HD műszerrel (^1H : 600.05 MHz, ^{13}C : 150.89 MHz, ^{15}N : 60.81 MHz). Mindkét rendszer szobahőmérsékleten működött, és TopSpin 3.5 pl.7 szoftverrel vezéreltük a Bruker szoftverkönyvtárból származó pulzusprogramok használatával.

3.3. Mintaelőkészítés

A tri-, tetra- és pentaszacharidokból 10 mM célkoncentrációjú oldatokat készítettünk az NMR vizsgálatokhoz. A hexa-, hepta- és oktaszacharidok esetében a teljes rendelkezésre álló mintát (kb. 1-2 mg) feloldva készítettünk vizsgálati oldatot. A HMOKat minimális térfogatú 9:1 arányú $\text{H}_2\text{O}:\text{D}_2\text{O}$ oldószerkeletben oldottuk, amely 5 mM nátrium-dihidrogén-foszfátot (NaH_2PO_4) tartalmazott, és a pH-t 0,1 M sósavval 3,0-ra állítottuk be. NMR kémiai eltolódás referenciaként DSS-t (0,5 mM) használtuk mind az ^1H és a ^{13}C atommagok esetében.

3.4. NMR módszerek

Az anyatej oligoszacharidok teljes NMR asszignációját a következő, Bruker könyvtárból elérhető pulzusszekvenciák használatával felvett spektrumok alapján végeztük el: ^1H (zgpr), ^{13}C (zgpg30), DEPTQ (deptqgsp), ^1H - ^1H COSY (cosygpmf), ^1H - ^{13}C HSQC (hsqcedetgpsisp2.2), ^1H - ^{13}C szelektív HSQC (shsqcetgpsisp2.2), ^1H - ^{13}C HMBC (hmbcgpplndqf), ^1H - ^1H ROESY (roesyphpr.2), ^1H - ^1H TOCSY (mlevphpr.2), ^1H - ^{15}N HSQC (hsqcedetgpsisp2), ^1H - ^{15}N HSQC-TOCSY (hsqcedetgpsisp2), szelektív gradiens TOCSY (seldigpzs), és szelektív gradiens ^1H - ^1H ROESY (selrogp).

Az NMR oldat magas H_2O tartalma kritikus volt az NH rezonanciák megfigyeléséhez, amelyek értékes szerkezeti információval szolgálnak. A H_2O rezonancia és bizonyos anomer protonjelek közötti átfedés azonban

szükségessé tette a jó minőségű vízelnyomás alkalmazását a pontos rezonancia hozzárendelések eléréséhez. Ehhez az előtelítési módszert alkalmaztuk azzal a módosítással, hogy egy különálló D2 késleltetést vezetünk be, amely az előtelítést elkülöníti a relaxációs késleltetéstől (D1), ezáltal hatékonyabb oldószerelnyomást biztosítva, ugyanakkor figyelembe véve, hogy a telítéstranszfer ne befolyásolja a megfigyelni kívánt NH jelet.

4. Eredmények és megbeszélés

Az ^1H - ^{15}N NMR mérések kísérleti körülményeinek optimalizálását a könnyen beszerezhető *N*-acetilglükózamin modellvegyületen végeztük, mely egyik építőegysége a HMOknak. Az eredmények alapján olyan mérési körülményeket állítottunk be, amelyek biztosítják az amid-NH rezonanciák megbízható detektálását az összes további HMO mintában.

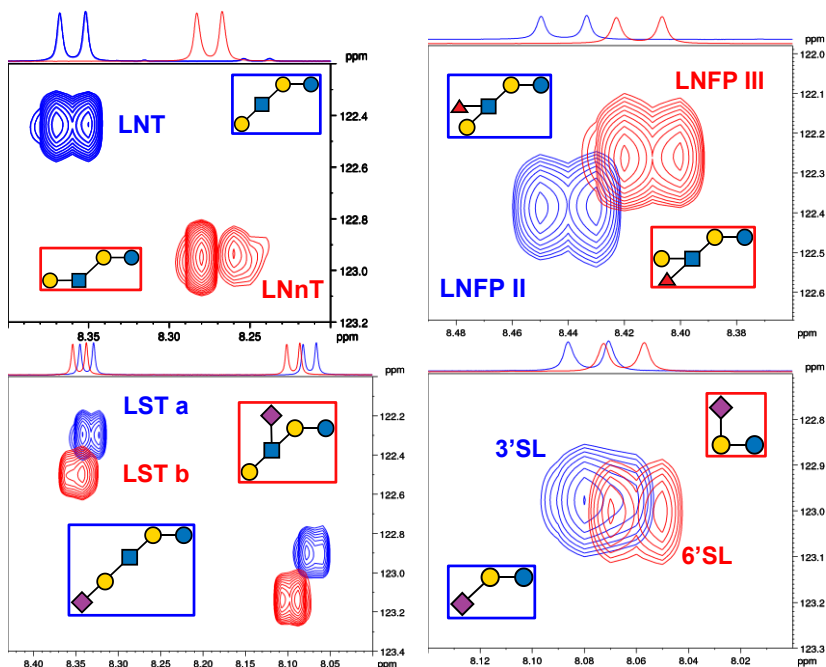
Bár a tri-, tetra- és pentaszacharidok viszonylag gyakrabban vizsgált vegyületek, ezek teljes ^1H , ^{13}C és ^{15}N rezonancia-hozzárendelése hiányoznak az irodalomból. A korábbi vizsgálatok elsősorban egyes szerkezeti vagy funkcionális aspektusokra fókuszáltak, nem pedig a teljes spektrális karakterizálásra.

A hexa-, hepta- és oktaszacharidok ennél is komplexebbek, NMR szerkezetjellemezésük még nagyobb kihívást jelent. Bár bizonyos ^1H rezonanciákat már az 1980-as években azonosítottak például az LNH és annak fukozilált származékai esetén, részletes karakterizálásuk eddig nem történt meg. Különösen hiányzott a pontos szerkezeti meghatározás a MFLNnH I és II esetében, ahol a fukóz kapcsolódási helye nem volt egyértelműen ismert. Munkánk során ezeknek az oligoszacharidoknak az első teljes NMR rezonancia-hozzárendelését valósítottuk meg, majd az NMR spektroszkópiás paraméterek összehasonlítását az asszignációs táblázat eredményei alapján végeztük el.

4.1. Tri-, tetra- és pentaszacharid HMO izomerek összehasonlító ^1H - ^{15}N HSQC vizsgálata

A szerkezeti izomerek közötti különbségek feltérképezését az ^1H - ^{15}N HSQC spektrumok segítségével végeztük. Az alábbi négy izomerpár vizsgálata során a GlcNAc és Neu5Ac egységek *N*-acetyl NH csoportjai megbízhatóan különböztették meg a szerkezeteket:

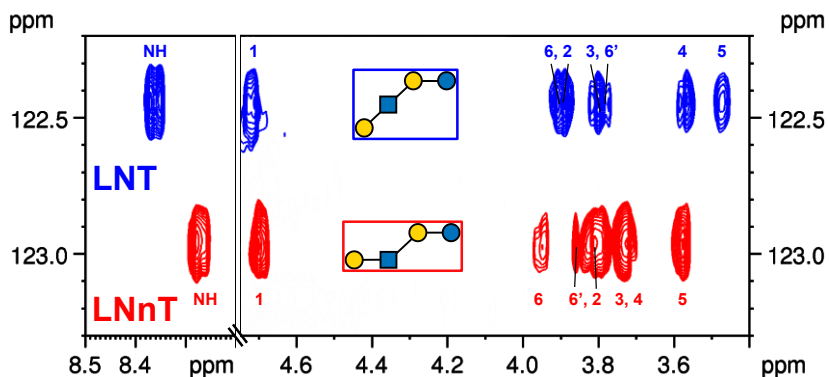
- LNT – LNnT: A Gal-GlcNAc eltérő kapcsolódása (β 1-3 vagy β 1-4) jelentős ^1H és ^{15}N eltolódáskülönbséget eredményezett.
- LNFP II – LNFP III: A GlcNAc egységhez közvetlenül, de eltérő pozícióban kapcsolódó Fuc és Gal egységek hatása jól tükröződött a GlcNAc ^1H - ^{15}N korrelációiban.
- LSTa – LSTb: A lineáris és az elágazó láncú szerkezeteknek köszönhetően mindkét riporteregység (GlcNAc és Neu5Ac) jól elkülöníthető spektrális ujjlenyomatot adott.
- 3'SL – 6'SL: A szializációs pozíció különbsége a Neu5Ac egység mérsékelten eltérő ^1H és ^{15}N rezonanciáiban mutatkozott meg.



3. ábra A vizsgált izomer párok ^1H - ^{15}N HSQC spektrumainak összehasonlítása, kiemelve a GlcNAc és/vagy Neu5Ac egységek különálló korrelációit.

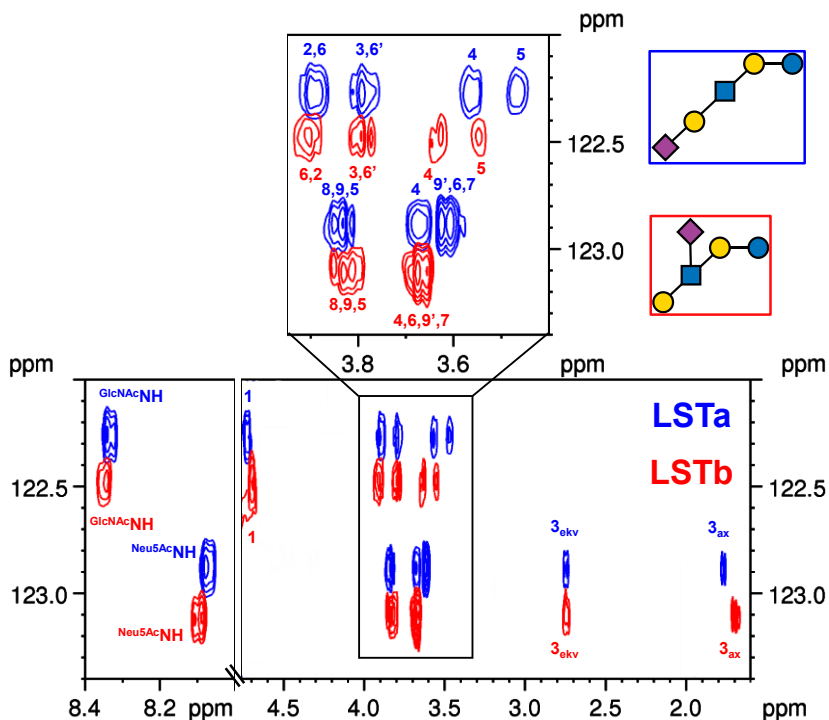
4.2. Az ^1H - ^{15}N HSQC-TOCSY technika bevezetése és alkalmazása

Az ^1H - ^{15}N HSQC-TOCSY spektrumok lehetővé tették a GlcNAc (illetve Neu5Ac) teljes spinrendszerének feltérképezését egy adott ^{15}N eltolódás mentén, érzékeny eszközt biztosítva az izomer HMOK minimális szerkezeti különbségeinek azonosítására. Ennek köszönhetően az izomerpárok megkülönböztetése még zsúfolt spektrális régiókban is egyértelművé vált. Az LNT és LNTnT spektrumának összehasonlítása esetén a GlcNAc spinrendszerében jól elkülöníthető mintázat figyelhető meg, amely összhangban van a glikozidos kötés különbségével.



4. ábra Az LNT és LNnT ^1H - ^{15}N HSQC-TOCSY spektrumának összehasonlítása a GlcNAc molekulaegység ^1H NMR asszignációjával.

A módszer különösen hasznosnak bizonyult olyan szerkezeteknél, amelyek két riporteregységet is tartalmaznak. Az LSTa és LSTb spektrumának összehasonlítása során a spektrumok két különálló régiót mutatnak, amelyek megfelelnek a GlcNAc és Neu5Ac részeknek, és még kisebb különbségek is megfigyelhetők, lehetővé téve ezzel az elágazás pozíciójának precíz meghatározását.

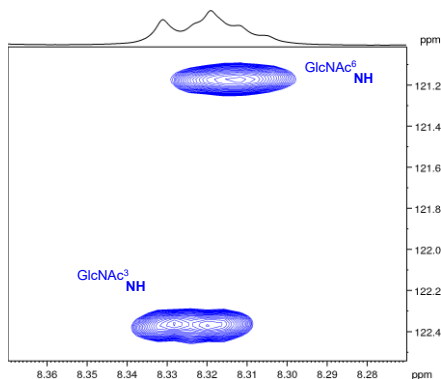


5. ábra Az LSTa és LSTb ^1H - ^{15}N HSQC-TOCSY spektrumának összehasonlítása a GlcNAc és Neu5Ac molekulaegységek ^1H NMR asszignációjával.

4.3. Hexa-, hepta- és oktaszacharid HMOK összehasonlító ^1H - ^{15}N HSQC vizsgálata

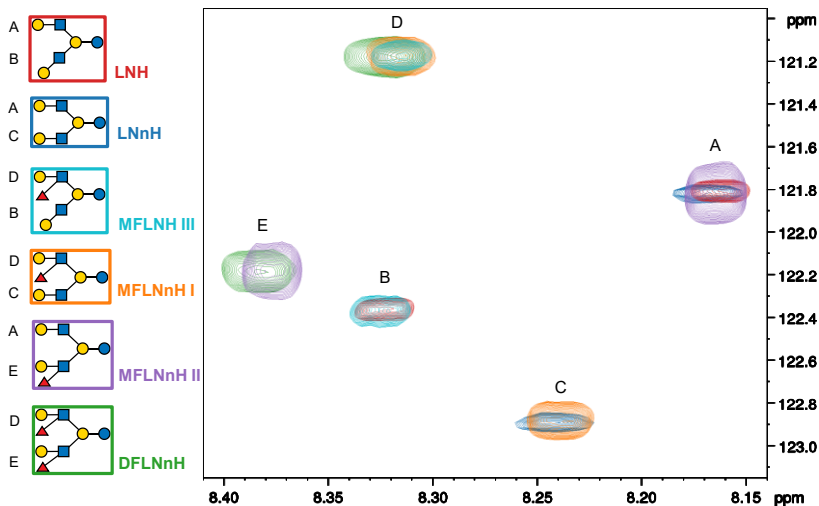
Korábbi eredményeinkre építve, ahol megállapítottuk a GlcNAc egység szerepét NMR-aktív riporter molekularészként az ^1H - ^{15}N HSQC spektrumban, ezt a megközelítést kiterjesztettük a hexa-, hepta- és oktaszacharid HMOKra (LNH, LNnH, és ezek $\alpha 1$ -3 mono- és difukozilált származékaira).

Ezen vizsgált HMOk mindegyike két GlcNAc molekulaegységet tartalmaz. Annak ellenére, hogy az ^1H dimenzióban előfordult rezonancia átfedés, ezt a problémát feloldotta a 2D spektrum ^{15}N dimenziója, lehetővé téve az egyértelmű hozzárendelést.



6. ábra Az MFLNH III ^1H - ^{15}N HSQC spektruma eredményesen felbontja az NH rezonancia átfedést az ^1H dimenzióban.

A hat vizsgált HMO összesen tizenkét ^1H - ^{15}N HSQC korrelációját összehasonlítva jelentős keresztcúcs-átfedéseket tapasztaltunk: ezeket öt különálló ^1H - ^{15}N ujjlenyomat-régióba soroltuk (A–E), amely a GlcNAc alstruktúrák szerinti osztályozását tette lehetővé.



7. ábra A vizsgált HMOK ^1H - ^{15}N HSQC spektrumainak összehasonlítása öt különböző GlcNAc egységet (A, B, C, D, E) tár fel az átfedő kémiai eltolódásokon keresztül.

Az átfedő NH-keresztcsúcsokat a hozzájuk rendelt GlcNAc részegységekkel összehasonlítva három kritikus szerkezeti információ nyerhető a riporter GlcNAc egységről:

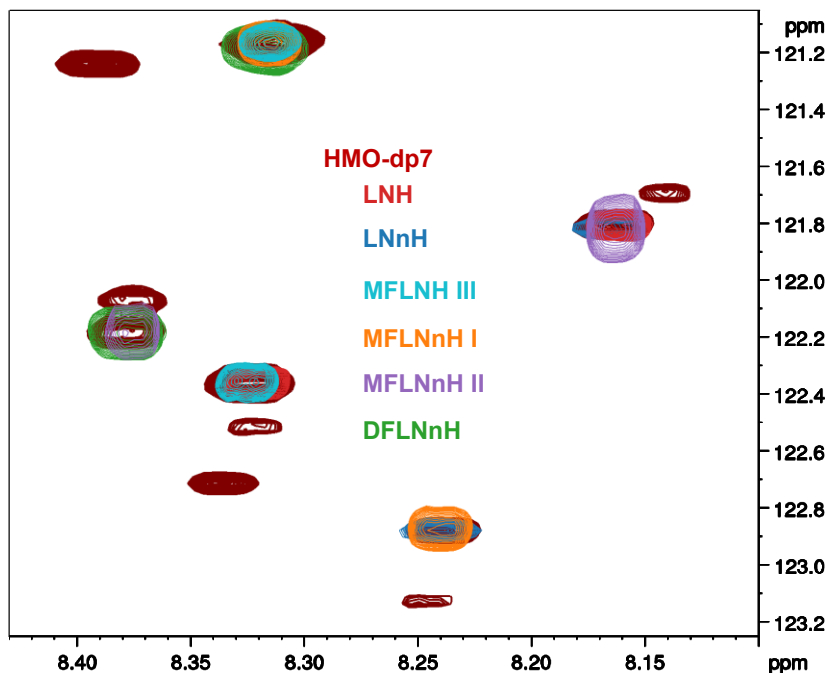
- hordoz-e α 1-3 kötéssel kapcsolódó Fuc szubsztituenst
- kapcsolata a láncközi Gal egységhez a redukáló végen (β 1-3 vagy β 1-6 kötés)
- kapcsolata a lánvcégi Gal egységhez (1-es vagy 2-es típusú lánca része).

A spektrumokat a munkánk első felében vizsgált szerkezetileg rokon, β -Gal6 elágazást nem tartalmazó tri-, tetra- és pentaszacharidok spektrumaival összehasonlítva megállapítható, hogy a β -Gal6 elágazás megléte vagy hiánya jelentősen befolyásolja a GlcNAc *N*-acetil-csoport ^1H és ^{15}N kémiai

eltolódásait. Az elágazás hiánya következetesen magasabb eltolódásokat eredményez, így ez a jellemző is megbízhatóan detektálható.

4.4. A módszer alkalmazása HMO-keverék vizsgálatára

A módszer hatékonyságának felmérésére egy szerkezetileg változatos, semleges oligoszacharidokat tartalmazó, laktózmentesített izolált HMO-keverék frakciót vizsgáltunk. A keverék ^1H - ^{15}N HSQC spektrumában megfigyelt korrelációk jó egyezést mutattak az egyes, külön-külön vizsgált HMO minták GlcNAc egységeinek korrelációival. Ez lehetővé tette a jellemző szubstruktúrák gyors azonosítását a keveréken belül.



8. ábra A HMO-dp7 keverék és az egyes HMOK ^1H - ^{15}N HSQC spektrumai átfedő korrelációkat mutatnak.

A nem átfedő spektrális régiókban további HMOk jelenlétére is következtethetünk, amelyek alternatív fukozilációs mintázatokat vagy elágazási különbségeket hordoznak. Ez a megfigyelés kiemeli a módszer azon képességét, hogy nemcsak az ismert struktúrák azonosítását teszi lehetővé, hanem a keverékekben jelenlévő szerkezeti heterogenitást is képes feltárni.

5. Összefoglalás

A disszertációban anyatej oligoszacharidok átfogó szerkezeti és izomer jellemzését végeztük el ^1H - ^{15}N NMR spektroszkópia alkalmazásával. Az ^1H - ^{15}N HSQC és HSQC-TOCSY technikák integrálásával elsőként igazoltuk ezen módszerek alkalmasságát HMO izomerek megkülönböztetésére.

Elsőként alkalmaztunk 2D heteronukleáris ^{15}N NMR technikákat HMO izomerek karakterizálására, különös figyelmet fordítva az *N*-acetilglükózamin és az *N*-acetilneuraminsav egységek ^1H és ^{15}N kémiai eltolódásainak vizsgálatára. Az ^1H - ^{15}N korrelációk megfigyelésével új megközelítést vezetünk be a tri-, tetra- és pentaszacharid szerkezeti izomer HMOk (3'SL, 6'SL, LNT, LNnT, LNFP II, LNFP III, LSTa, LSTb) megkülönböztetésére. Eredményeink azt mutatják, hogy a GlcNAc és Neu5Ac molekularészek érzékeny riporteregységként szolgálnak, tükrözve a különböző anyatej oligoszacharidokon belüli kémiai környezetet.

Az ^1H - ^{15}N HSQC módszer alkalmazását kiterjesztettük komplexebb, anyatejből izolált hexa-, hepta- és oktaszacharidokra (LNH, LNnH, MFLNH III, MFLNnH I, MFLNnH II, DFLNnH) is. Ezáltal betekintést nyertünk olyan finomszerkezeti jellemzőkre, mint a fukozilációs mintázatok, a glikozidos kötések típusa, valamint az elágazás jelenléte a redukáló láncvégen található galaktóz egység 6-os pozíciójában. Nagy hangsúlyt fektettünk a Lewis X (Le^X) motívum vizsgálatára, melyen keresztül bemutattuk, hogy a GlcNAc

egységek ^1H - ^{15}N kémiai eltolódásai információval szolgálnak az elágazási és fukozilációs mintázatok szerkezeti sajátosságairól. Az ^1H - ^{15}N HSQC spektrumokban megfigyelhető karakterisztikus mintázatok lehetővé tették a GlcNAc-alapú alegységek osztályozását is, elősegítve a HMOk gyors és pontos azonosítását.

Továbbá demonstráltuk, hogy az ^1H - ^{15}N HSQC technika alkalmazható HMO-keverék szerkezetvizsgálatára is, ami új lehetőséget nyújt a komplex oligoszacharid minták gyors és megbízható elemzésére.

Eredményeink hozzájárulnak a glikokémiai kutatásokhoz azáltal, hogy új, roncsolásmentes és nagy felbontású analitikai megközelítést kínálnak a bioaktív oligoszacharidok szerkezetvizsgálatához és izomerjeinek megkülönböztetéséhez.

6. Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

Garádi Z, Tóth A, Gáti T, Dancsó A, Béni S. Utilizing the ^1H - ^{15}N NMR Methods for the Characterization of Isomeric Human Milk Oligosaccharides. Int J Mol Sci 2023;24:2180.

<https://doi.org/10.3390/IJMS24032180>.

Garádi Z, Dancsó A, Piskarev V, Béni S. From mother's milk to structural insights: ^1H - ^{15}N NMR analysis of Lewis X antigen-bearing oligosaccharides isolated from human milk. Carbohydr Polym 2025;347:122534.

<https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2024.122534>.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó egyéb közlemények:

Garádi Z, Dékány M, Móricz ÁM, Gaál A, Papp V, Béni S, Ványolós A. Antimicrobial, Antioxidant and Antiproliferative Secondary Metabolites from Inonotus nidus-pici. Molecules 2021, Vol 26, Page 5453 2021;26:5453.

<https://doi.org/10.3390/MOLECULES26185453>.

Gyűjtő I, Porcs-Makkay M, Lukács G, Pusztai G, **Garádi Z**, Tóth G, Nyulasi B, Simig G, Volk B. Synthesis of 4-methyl-2H-1,2,3-benzothiadiazine 1,1-dioxides and their further transformation via alkylation and reduction steps.

Synth Commun 2019;49:3475–85.

<https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1673777>.

Nagy S, Fehér Z, Dargó G, Barabás J, **Garádi Z**, Mátravölgyi B, Kisszékelyi P, Dargó G, Huszthy P, Höltzl T, Balogh GT, Kupai J. Comparison of Cinchona Catalysts Containing Ethyl or Vinyl or Ethynyl Group at Their Quinuclidine Ring. *Materials* 2019, Vol 12, Page 3034 2019;12:3034. <https://doi.org/10.3390/MA12183034>.

Porcs-Makkay M, Gyűjtő I, Lukács G, Komáromi A, Tóth G, **Garádi Z**, Simig G, Volk B. Synthesis, Alkylation and Reduction of 4-Aryl-2H-1,2,3-benzothiadiazine 1,1-dioxides. *ChemistrySelect* 2019;4:8295–300. <https://doi.org/10.1002/SLCT.201901212>.

Ayanlowo AG, **Garádi Z**, Boldizsár I, Darcsi A, Nedves AN, Varjas B, Simon A, Alberti Á, Riethmüller E. UHPLC-DPPH method reveals antioxidant tyramine and octopamine derivatives in *Celtis occidentalis*. *J Pharm Biomed Anal* 2020;191:113612. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2020.113612>.

Nemes A, Csóka T, Béni S, **Garádi Z**, Szabó D, Rábai J. Chiral α -Amino Acid-Based NMR Solvating Agents. *Helv Chim Acta* 2020;103:e2000081. <https://doi.org/10.1002/HLCA.202000081>.

Móricz ÁM, Krüzselyi D, Ott PG, **Garádi Z**, Béni S, Morlock GE, Bakonyi J. Bioactive clerodane diterpenes of giant goldenrod (*Solidago gigantea* Ait.) root extract. *J Chromatogr A* 2021;1635:461727. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2020.461727>.

Kisszékelyi P, Fehér Z, Nagy S, Bagi P, Kozma P, **Garádi Z**, Dékány M, Huszthy P, Mátravölgyi B, Kupai J. Synthesis of C3-Symmetric Cinchona-

Based Organocatalysts and Their Applications in Asymmetric Michael and Friedel–Crafts Reactions. *Symmetry* 2021, Vol 13, Page 521 2021;13:521. <https://doi.org/10.3390/SYM13030521>.

Felegyi-Tóth CA, **Garádi Z**, Darcsi A, Csernák O, Boldizsár I, Béni S, Alberti Á. Isolation and quantification of diarylheptanoids from European hornbeam (*Carpinus betulus* L.) and HPLC-ESI-MS/MS characterization of its antioxidative phenolics. *J Pharm Biomed Anal* 2022;210:114554. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2021.114554>.

Baglyas M, Ott PG, **Garádi Z**, Glavnik V, Béni S, Vovk I, Móricz ÁM. High-performance thin-layer chromatography – antibacterial assay first reveals bioactive clerodane diterpenes in giant goldenrod (*Solidago gigantea* Ait.). *J Chromatogr A* 2022;1677:463308. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2022.463308>.

Pósa SP, Dargó G, Nagy S, Kisszékelyi P, **Garádi Z**, Hámori L, Szakács G, Kupai J, Tóth S. Cytotoxicity of cinchona alkaloid organocatalysts against MES-SA and MES-SA/Dx5 multidrug-resistant uterine sarcoma cell lines. *Bioorg Med Chem* 2022;67:116855. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2022.116855>.

Várnai B, Zsila F, Szakács Z, **Garádi Z**, Malanga M, Béni S. Sulfobutylation of Beta-Cyclodextrin Enhances the Complex Formation with Mitragynine: An NMR and Chiroptical Study. *Int J Mol Sci* 2022;23:3844. <https://doi.org/10.3390/IJMS23073844>.

Felegyi-Tóth CA, Tóth Z, **Garádi Z**, Boldizsár I, Nedves AN, Simon A, Felegyi K, Alberti Á, Riethmüller E. Membrane Permeability and Aqueous Stability Study of Linear and Cyclic Diarylheptanoids from *Corylus maxima*. *Pharmaceutics* 2022;14:1250. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14061250>.

Koványi-Lax G, Hargitai C, Ábrányi-Balogh P, Nagy T, Tóth G, **Garádi Z**, Németh G, Pandur A, Horváth S, Dancsó A, Simig G, Volk B. Experimental and computational study of BF₃-catalyzed transformations of ortho-(pivaloylaminomethyl)benzaldehydes: an unexpected difference from TFA catalysis. *Org Biomol Chem* 2022;20:1933–44. <https://doi.org/10.1039/D1OB02308J>.

Felegyi K, **Garádi Z**, Rácz B, Tóth G, Papp V, Boldizsár I, Dancsó A, Spengler G, Béni S, Ványolós A. Polyporenic Acids from the Mushroom *Buglossoporus quercinus* Possess Chemosensitizing and Efflux Pump Inhibitory Activities on Colo 320 Adenocarcinoma Cells. *Journal of Fungi* 2023;9:923. <https://doi.org/10.3390/JOF9090923>.

Felegyi K, **Garádi Z**, Studzińska-Sroka E, Papp V, Boldizsár I, Dancsó A, Béni S, Zalewski P, Ványolós A. Anticholinesterase and Antityrosinase Secondary Metabolites from the Fungus *Xylobolus subpileatus*. *Molecules* 2024;29:213. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29010213>.

Dargó G, Erdélyi D, Molnár B, Kisszékelyi P, **Garádi Z**, Kupai J. A novel recyclable organocatalyst for the gram-scale enantioselective synthesis of (S)-baclofen. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 19:133 2023;19:1811–24. <https://doi.org/10.3762/BJOC.19.133>.

Pollák P, **Garádi Z**, Volk B, Dancsó A, Simig G, Milen M. Studies on the total syntheses of β -carboline alkaloids orthoscuteicellines A and B. Nat Prod Res 2024. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2306600>.

Nagy S, Richter D, Dargó G, Orbán B, Gémes G, Hölzl T, **Garádi Z**, Fehér Z, Kupai J. Cinchona-Based Hydrogen-Bond Donor Organocatalyst Metal Complexes: Asymmetric Catalysis and Structure Determination. ChemistryOpen 2024;13:e202300180. <https://doi.org/10.1002/OPEN.202300180>.

Σ IF: 86.431