

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Növényi hatóanyagokat tartalmazó külsőleges
gyógyszerkészítmények formulálása és vizsgálata**

Dr. Józsa Liza

Témavezető: Dr. Siposné Dr. Fehér Pálma



DEBRECENI EGYETEM
Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2022

**Növényi hatóanyagokat tartalmazó külsőleges gyógyszerkészítmények
formulálása és vizsgálata**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Dr. Józsa Liza okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok doktori iskolája
(Farmakológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Siposné Dr. Fehér Pálma

Az értekezés bírálói:

Dr. Berkó Szilvia, PhD
Dr. Jekő József, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tósaki Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Berkó Szilvia, PhD
Dr. Jekő József, PhD
Dr. Kozma Mariann, PhD
Dr. Dér Péter, PhD

Az értekezés védésének időpontja: 2022.06.23. 13:00 óra.

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a jozsa.liza@euiapar.unideb.hu e-mail címre a vitát megelőző munkanap (2022.06.22.) 16 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

Tartalomjegyzék

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései	4
2. Anyagok és módszerek.....	7
3. Az értekezés új tudományos eredményei	12
4. Megbeszélés	18
5. Összefoglalás.....	22
6. A jelölt értekezés témájában született publikációi	23
7. Köszönetnyilvánítás	25

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

Napjainkban növekvő igény tapasztalható a természetes eredetű gyógymódok, ezen belül is a gyógynövények iránt. Ezt a tényt az is bizonyítja, hogy egyre több természetes eredetű étrend-kiegészítő és gyógyszer jelenik meg a gyógyszerpiacon, nem beszélve arról, hogy a fejlődő országok lakosságának 80 százaléka ma alkalmazza a tradicionális medicinát, gyógynövényeket különböző indikációkban. A természetes eredetű hatóanyagokat tartalmazó külsőleges készítmények preventív vagy terápiás céllal történő használatával elkerülhetővé válnak a szintetikus összetevők által okozott esetleges nem kívánt hatások. A gyógynövények és egyéb természetes eredetű hatóanyagok felhasználását azonban preformulációs vizsgálatoknak kell megelőzniük, emellett a belőlük készült kivonatokat (extraktum) különböző analitikai vizsgálatoknak kell alávetni, amely során a bennük található vegyületek kvalitatív és kvantitatív meghatározása történik. A formulálás során sokszor abba a problémába ütközünk, hogy az extraktumok hatóanyagai rossz vízdékonysággal rendelkeznek, valamint a biológiai membránokon keresztül történő penetrációs képességük is csekély a nagy molekulásúlyú aktív vegyületek miatt. Mindez csökkentheti a komponens biohasznosulását, így a terápiás hatás mértékét.

A topikális készítmények formulálása során a legnagyobb kihívást a hatóanyagok diffúziós készségének növelése, a penetráció elérése jelenti, ugyanis bőr legfelső rétegén, a stratum corneum-on keresztül igen nehéz a hatóanyagok átjutása, ezért számos módszer létezik a bőr barrier tulajdonságainak leküzdésére, beleértve fizikai és kémiai technikákat is. A legáltalánosabb és legmegfelelőbb eljárás a speciális segédanyagok, úgynevezett Chemical Enhancer-ek (CE) alkalmazása, amelyek képesek az adott molekulákat magukkal együtt szállítani a SC-ba vagy módosítják annak struktúráját, ezáltal lehetővé teszik a hatóanyag bejutását. A kenőcsök, krémek és gélek formulálásban kulcsfontosságú tehát a különböző segédanyagok, ezen belül is a felületaktív anyagok alkalmazása, melyek elősegíthetik a hatóanyag bőrön keresztül történő diffúzióját, így fokozhatják a hatás mértékét. Kutatómunkám fő tárgyát a külsőleges gyógyszerkészítmények formulálásához szükséges megfelelő segédanyagok kiválasztása képezte, különös tekintettel az oldékonyságot és a penetrációs készséget növelő felületaktív anyagok (tenzidek) alkalmazására.

Doktori értekezésem témájaként két különböző terápiás hatással rendelkező természetes eredetű hatóanyagot, a *Spirulina platensis* (*S. platensis*) algát, valamint a *Calendula officinalis* (*C. officinalis*) növény virágát választottam a külsőleges gyógyszerkészítmények formulálásához.

A *S. platensis* alga a cianobaktériumok egyik legjelentősebb képviselője, melyet évszázadok óta alkalmaznak a gyógyászatban belsőleg és külsőleg egyaránt. Terápiás hatását a benne található bioaktív komponensek széles skálájának köszönheti. A kékeszöld színét adó, jelentős antioxidáns hatással is rendelkező fikocianin nevű pigment ezen algafajban található meg a legnagyobb mennyiségben. Emellett a kiemelkedő mennyiségben tartalmazza az egyik alapvető antioxidáns enzimet, a fémtartalmú szuperoxid-dizmutázt (SOD), valamint béta-karotin, E-vitamin és gamma-linolénsav tartalma is kiemelkedő.

Cardozo és munkatársai leírták, hogy a *S. platensis*-ből kinyerhető telítetlen zsírsavak, esszenciális aminosavak, vitaminok, ásványi anyagok és antioxidánsok elősegítik a sebgyógyulást és gátolják a gyulladásos folyamatok kialakulását, szekunder metabolitjai pedig antibakteriális és antivirális hatással rendelkeznek. **Nihal és kutatócsoportja** igazolták, hogy a fikocianinban gazdag krém sikeresen alkalmazható az acne vulgaris lokális kezelésében, ugyanis *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) és *Staphylococcus epidermidis* ellen is baktericid hatást mutat.

A *C. officinalis* sárga virágát, valamint leveleit alkalmazzák alternatív gyógymódként vagy kiegészítő terápiaként főzet, forrázat, tinktúra vagy egyéb extraktum formájában, legtöbbször krémekben, kenőcsökben. Számos felhasználási területe ismert beleértve a bőr- és hajápolási termékeket. Indiában a virágok felhasználásával formulált kenőcsöket sebek, hegek, valamint herpesz kezelésére, míg a leveleket forrázat formájában használják visszer lokális terápiájára. A benne található karotinoidok gyulladáscsökkentő tulajdonsággal rendelkeznek, míg a flavonoidok antioxidáns és antimikrobiális aktivitással bírnak. Fő flavonoid komponense a kvercetin, amely jelentős antioxidáns aktivitását a reaktív oxigén- és nitrogéngyökök semlegesítése révén fejeti ki, de olyan gyulladásos jelátviteli utakat is megcéloz, mint a STAT1, NFκB és MAPK. A körömvirágból készült extraktumnak a proinflammatorikus citokinek, a COX-2 enzim és a prosztaglandin szintézis gátlása révén jelentős gyulladáscsökkentő hatása van. **Javadi és szerzőtársai** reumatoid artritiszben szenvedő betegekkel végzett klinikai vizsgálatuk során feltérképezték az orálisan adagolt kvercetin gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatását, melynek eredményeként megállapították, hogy a kvercetin szignifikáns mértékben csökkentette az ízületi fájdalom mértékét, ezáltal javította a betegek életminőségét. A kvercetin külsőleges alkalmazásának ízületi gyulladásra gyakorolt hatásáról limitált információ áll rendelkezésünkre a szakirodalomban. **Bodhankar és munkatársai** azonban leírták, hogy a körömvirágolaj javítja a diklofenak-nátrium *in vitro* perkután felszívódását Carbopol gélben való alkalmazás során.

A *S. platensis*-t felhasználva gyógyszerformaként krémeket terveztünk formulálni az acne vulgaris terápiájára, míg a *C. officinalis* kivonat esetében célunk a reumatoid arthritisz kiegészítő kezelésére alkalmas kenőcs, krém vagy gél formulálása volt diklofenák-nátrium és metil-szalicilát hozzáadásával.

A kívánt mértékű biohasznosulás elérése céljából a megfelelő kenőcs, krém és gél-alapanyagok, valamint penetrációt fokozó segédanyagok kiválasztása volt az elsődleges cél. Különböző típusú emulgensek segítségével kedvező hatóanyag-leadású lokális használatra szánt készítményeket szerettünk volna formulálni. A formulálás során a *S. platensis* tartalmú készítmények esetében nemionos felületaktív anyagokat (Tefose 63 (TFS), SP70 cukorészter (SP70), Polysorbate 60 (P60) és Cremophor A6:A25 (CR)) használtunk penetrációfokozóként és emulgensként. A hatóanyag (fikocianin) permeabilitásának és oldékonyságának fokozása érdekében Transcutol HP-t is alkalmaztunk az egyes összetételeknél. A *C. officinalis* esetében különböző típusú, anionos és nemionos felületaktív anyagokat (SP70 cukorészter és Empicol LZ/N) és Carbomer típusú gélképző vegyületeket (Synthalen K, Carbopol 974P és Pemulen TR-1) használtunk a kenőcsök, illetve gélek formulálásához.

Célkitűzéseink között szerepelt az összetételek egymással való összehasonlítása a kioldódott hatóanyag-mennyiség szempontjából Franz féle vertikális diffúziós cella és spektrofotométer segítségével. Az egyes készítmények antioxidáns aktivitásának mértékét terveztük feltérképezni, melyet lényegesnek tartottunk a terápiás hatás elérése miatt. Az esetleges nem kívánt hatások vizsgálatát is fontosnak tartottuk, ezért MTT citotoxicitási méréseket végeztünk HaCaT sejtvonalon.

A *S. platensis* tartalmú krémek antibakteriális hatását az acne vulgaris patogenezisében szerepet játszó *C. acnes* és *S. aureus* baktériumtörzseken terveztük vizsgálni, míg a *C. officinalis* tartalmú készítmények esetében humán klinikai vizsgálat elvégzése volt a végső cél reumás ízületi gyulladásban szenvedő betegeket bevonva.

2. Anyagok és módszerek

2.1. Anyagok

A krémek formulálásához használt Transcutol HP és Tefose 63 a Gattefossé, míg a cukorészter SP70 a Sisterna nagylelkű ajándéka volt. A Cremophor A6-ot és A25-öt a BASF cég bocsájtotta rendelkezésünkre. A cetil-sztearil-alkohol, a sztearinsav, a propilénglikol, az izopropil-mirisztát és a standard-ként használt AknemycinTM kenőcs a Hungaropharma Ltd.-től kerültek beszerzésre.

A körömvirág tartalmú kenőcs, krémek és gélek formulálásához szükséges Empicol LZ/N emulgenst az Innospec Performance Chemicals Italy SRL, CLW0025334 sorozatból vásároltuk. A Synthalen K gélképző polimert (1518F65A) az Elton Corporation SA (Románia), míg a Carbopol 974P és a Pemulen TR-1 polimereket a Lubrizol Corporation (Ohio, USA) biztosította számunkra. A diklofenák-nátriumot, metil-szalicilátot és trietanol-amint a Merck KgaA-tól szereztük be. Fehér vazelin és lanolin a Zhongbao Chemicals Co., Ltd. termékei voltak.

A sejtenyésztéshez szükséges nem esszenciális aminosav oldatot, a penicillin-sztreptomycin keveréket, a GlutaMaxTM kiegészítőt, a 96 lyukú plate-eket és a sejtenyésztő flasksakat a Thermo-Fisher bocsátotta rendelkezésünkre. A HaCaT sejtvonalat (humán keratinocita sejtek) a Cell Lines Service-től rendeltük.

A vizsgálatokban használt *S. platensis* a Botanikai Intézet Autotróf Szervezetek (CCALA) kultúra gyűjteményéből került beszerzésre Prof. Dr. Vasas Gábor, a DE Növényteni Tanszék vezetője által. A *C. officinalis* virágok begyűjtése 2019 júniusától augusztusig tartott Romániában a Nagyvárad Egyetem munkatársai által.

Minden egyéb segédanyag és reagens a Sigma-Aldrich (Budapest, Magyarország) terméke.

2.2. Kivonatok készítése

A *S. platensis* tenyésztése Zarrouk tápközegben batch-kultúrában történt 8,2-es pH értéken, 20 ± 1 °C-on, 12 órás világos/sötét fényperiódussal. Az alga-fonalakat 12 napos tenyésztés után centrifugálással összegyűjtöttük, majd liofilizáltuk a Növényteni Tanszéken.

A *C. officinalis* bioaktív vegyületeinek a növényből történő extrahálásához etil-alkohol és desztillált víz keverékét használtuk oldószerként. Száz gramm *C. officinalis* virágmintát helyeztünk egy lombikba, és 1000 ml 96%-os etanolos oldatot adtunk hozzá. Az elegyet

kétszer extraháltuk ultrahangos fürdőben 90 percig 45 °C-on, majd cellulózmembránon (0,45 µm pórusátmérő) szűrtük. A maradékot többször extraháltuk 60%-os etanol és víz 1:1 arányú elegyével, azonos körülmények között. Az extrakció után az alkoholos frakció eltávolítását centrifugálással végeztük, és rotációs bepárlóban szárazra pároltuk, majd liofilizáltuk.

2.3. Bőrfelületre szánt félszilárd gyógyszerformák formulálása

Az alga tartalmú krémek formulálása különféle nemionos felületaktív anyagok, Polisorbát 60 (P60), Cremophor A6:A25 (1:1) (CR), Tefose 63 (TFS) és cukorészter SP70 (SP70) felhasználásával történt. Az egyes felületaktív anyagok mennyisége az összetételekben 3-3% volt az összmennyiséghez viszonyítva, míg a hatóanyag (*S. platensis*) 5-5%-ban volt jelen. Kísérleti munkám során formuláltam olyan krémeket, melyekben a *S. platensis* szuszpendált formában volt jelen, valamint olyan összetételeket is létrehoztam, melyekben az algát Transcutol segítségével oldott formában oszlattam el a készítményalapban jobb penetrációs képességet remélve.

A *C. officinalis* esetében egy kenőcs, kettő krém valamint három hidrogél összetételt formuláltam, melyek hatóanyagai minden esetben diklofenák-nátrium, *C. officinalis* virágkivonat és metil-szalicilát voltak azonos mennyiségben, a vivőanyagban viszont jelentősen eltértek egymástól.

2.4. Gyógyszerforma vizsgálatok

A készítmények kémhatását közvetlenül a formulálás után, valamint 30 és 60 nap elteltével is meghatároztam (mindvégig 21 °C-on tárolva) az esetleges stabilitási problémák detektálása érdekében.

Textúra analízist végeztem a formulációk mechanikai jellemzőinek becslésére a formulálást követő napon. Kompressziós tesztet hajtottam végre, amely során a készítmények ellenállása Brookfield CT3 Textúra Analizáló berendezés és a hozzá tartozó szoftver segítségével került számszerűsítésre.

A formulált körömvirág tartalmú kenőcs, krémek és gélek fizikai-kémiai tulajdonságainak jellemzésére reológiai mérések kerültek elvégzésre. A folyási és viszkozitási tulajdonságokat RheolabQC rotációs reométerrel határoztam meg. Az adatokat RheoPlus Rheometer szoftver segítségével elemeztem. A készítmények folyási és viszkozitási görbéit

szabályozott nyírási sebességgel végzett rotációs tesztekkel határoztam meg a nyírási feszültség és a viszkozitás mértékének felhasználásával.

A hatóanyag *in vitro* felszabadulására, permeabilitására és diffúziós képességére irányuló vizsgálatokat Franz féle diffúziós cella segítségével végeztem. Az egyes diffúziós cellák receptor kamráit 30%-os etanollal töltöttem fel. A szintetikus cellulóz-acetát membránokat használat előtt 30 percig izopropil-mirisztáttal (IPM) impregnáltam. Egy gramm mintát juttattam minden membránra, majd a membránokat a receptor fázis tetejére helyeztem. A vizsgálat 32 ± 1 °C hőmérsékleten zajlott a receptor közeget folyamatosan (350 fordulat / perc) rázatva mágneses keverővel. Mintavétel a receptor közegből 15, 30, 60, 90 és 120 perc múlva történt.

A *S. platensis* tartalmú minták fikocianin tartalmát 620 nm-en mértem UV-VIS spektrofotométerrel, vak mintaként 30%-os etanolt használva. A *C. officinalis*-t tartalmazó kenőcs, krémek és gélek esetében a receptor közeg diklofenák-nátrium tartalmát 275 nm-en, míg a metil-szalicilátot 237 nm-en detektáltam. A *C. officinalis* kivonat fő összetevőjét, a kvercetin 370 nm-en mértem.

2.5. Sejtenyésztés módszertana

Sejtenyésztő tápoldatként steril DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) tenyésztő folyadékot használtam. A HaCaT sejteket műanyag sejtenyésztő flaskában növesztettem párásított CO₂ atmoszférában (5 v/v%), 37 °C-on. A sejtenyésztő médiumot hetente kétszer cseréltem lamináris áramlású steril fülke alatt. A konfluens sejtréteg kialakulásakor a sejteket aseptikus körülmények között passzáltam, mely során 1 millió sejtet új steril flaskába szélesztettem és kiegészítettem tápoldattal 10 ml-re. A citotoxicitási és az antioxidáns kísérleteket minimum 20, maximum 40 passzázsszámú HaCaT sejteken végeztem.

2.6. Citotoxicitás vizsgálata

Az *in vitro* citotoxicitási vizsgálatot HaCaT sejtvonalon végeztem. A sejteket 96 lyukú sejtenyésztő plate-be szélesztettem (10^4 sejt/lyuk) és CO₂ inkubátorban, 37 °C-on hagytam nőni 7 napon keresztül, amíg létrejött a konfluens sejtréteg. A vizsgálat során a sejtenyésztő médiumot eltávolítottam a sejtekről, majd a mintákat és a kontrolként használt PBS, valamint Triton-X 100 (10 v/v%) oldatokat rápipettázva a sejtekre (200 µl/lyuk) további 30 percig inkubáltam 37°C-on. Ezután leszívtam az oldatokat és a sejteket kétszer 1 ml PBS oldattal

mostam. Az MTT festékekkel további 3 órán keresztül inkubáltam a sejteket. Ezután eltávolítottam az oldatot a sejtekről és a keletkező lila színű formazán kristályokat sósavas izopropanolban oldottam fel (izopropanol - 1,0 N sósav = 25:1). Végül 570 nm-en, 690 nm háttér mellett mértem az abszorbanciát. Az így kapott értékek a még elő sejtek számával korreláltak. A sejtek életképességét a negatív kontrolhoz viszonyítva százalékban fejeztem ki.

2.7. Antioxidáns hatás vizsgálata

Az egyes készítmények antioxidáns aktivitásának értékelésére szuperoxid-dizmutáz enzim mennyiségének meghatározását, valamint 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) tesztet végeztem.

Az első kísérlet során UVB sugárzásnak tettem ki HaCaT sejteket az adott összetételekkel történő kezelés előtt vagy után 10 percen keresztül, ezzel oxidatív stresszt indukálva. Az előkezelés során a tápoldatot eltávolítottam a sejtekről, 200 µl vizsgálati oldatot vagy kontroll mintát adtam hozzá, és a sejteket további 20 percig inkubáltam a mintákkal. 20 perces UV-B besugárzás és a minták eltávolítása után a sejteket kétszer mostam PBS-sel. Az utókezelt csoport esetében a sejteket a kezelés előtt 20 percig besugároztam, 20 percig inkubáltam a vizsgálati oldatokkal, majd mostam PBS-sel. Ezután a sejteket felszedtem és centrifugáltam, majd a felülúszó SOD aktivitását Cayman kit segítségével határoztam meg a gyártó utasításai szerint, kolorimetriás méréssel.

A második vizsgálatban 2,0 ml mintához 1,0 ml 0,06 mM koncentrációjú DPPH gyökoldatot pipettáztam, majd a reakcióelegyet 30 percig sötétben inkubáltam. Amennyiben a DPPH antioxidáns vegyületekkel reagál, ezen vegyületek hidrogént adnak át a DPPH-nak. Amikor a DPPH donálta a hidrogéngyököt, a reakció színváltást eredményez sötét ibolyaszínűről világossárgára. Az abszorbancia mérését UV-spektrofotométerrel végeztem 517 nm-en, abszolút etanolt használva háttérként. A kapott abszorbancia értékek segítségével az antioxidáns aktivitás mértéke (gátolt reaktív oxigén gyök (ROS) %) meghatározható.

2.8. A *Spirulina platensis* tartalmú készítmények antibakteriális hatásának vizsgálata

A *Spirulina platensis* tartalmú készítmény antibakteriális hatását *Staphylococcus aureus* és *Cutibacterium acnes* baktériumtörzseken vizsgáltam standard mikrodilúciós módszerrel a Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet munkatársaival közreműködve.

A kísérlet során 100 µl bakteriális inokulumot pipettáztam 96-lyukú plate-re, majd 100 µl tesztoldatot adtam hozzá. A plate-eket 6 órán át 37 °C -on inkubáltuk aerob környezetben,

valamint Concept 400 anaerob kamrában. Az inkubálás során mintákat vettünk 2 és 6 óra elteltével, és abszorbanciájukat 600 nm-en mértük.

2.9. A *Calendula officinalis* tartalmú készítmények gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata

A *C. officinalis* terápiás hatásának értékelésére randomizált prospektív vizsgálatot végeztünk 115 abartikuláris reumás betegen, akiket a romániai Bihile Băile Felix rehabilitációs klinikai kórházban kezeltek. Az aktív csoportot a hatóanyagot tartalmazó készítménnyel, a placebo-csoportot aktív összetevőket nem tartalmazó formulával kezeltük naponta kétszer, 14 napon keresztül. A kezeléseket a Synthalen K gélképző anyaggal formulált összetételekkel (hatóanyagokkal/hatóanyagok nélkül) végeztük.

A vizsgálatban résztvevő valamennyi beteg kitöltötte a fájdalom értékelésére szolgáló kérdőívet, a vizuális analóg skálát (VAS), melyen a betegek a fájdalomintenzitásuk bárhová elhelyezhették egy 10 cm hosszú vonalon, „nincs fájdalom” (0. szint) és „elviselhetetlen fájdalom” (10. szint) verbális leírókkal a végpontokon.

A klinikai vizsgálat során a térd vagy a váll képalkotó vizsgálatát hosszanti és keresztirányban egyaránt elvégeztük nagyfrekvenciás ultrahanggal, melynek segítségével mértük a teljes szinoviális membrán vastagságát.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

3.1. A *Spirulina platensis* alga tartalmú krémek vizsgálatának eredményei

3.1.1. Makroszkópikus tulajdonságok és kémhatás

A formulált összetételek makroszkópikus jellemzőinek értékelését közvetlenül az elkészítést követően, illetve 30 és 60 nap elteltével végeztük el. A hatóanyagot oldott állapotban tartalmazó formulációk homogén, halvány kékeszöld megjelenésűek, a szuszpenziós összetételek pedig heterogének voltak. Az egyes készítmények pH-értéke 6,5 és 7,0 közöttinek adódott és 60 nap elteltével sem változott szignifikáns mértékben, mely a krémek stabilitására utal.

3.1.2. Textúra elemzés

A vizsgálatom szerint a különböző összetételekhez eltérő kompressziós erő kifejtésre volt szükség, tehát eltérő konzisztenciával rendelkeztek. A *S. platensis*-t szuszpendált és oldott formában tartalmazó készítményeket összehasonlítva megállapítható, hogy szignifikáns különbségek adódtak az egyes formulációk között. A liofilizált hatóanyagot Transcutolban oldva tartalmazó formulációk esetében a vártan megfelelően kisebb erő kifejtés volt detektálható a deformációval szemben, mint a szuszpenziós változatokat illetően. Összevettem a hatóanyag nélküli krémeket a *S. platensis* tartalmú, ugyanazon segédanyagokkal formulált készítményekkel. A vizsgálat szerint a *S. platensis* alkalmazása statisztikailag egyik esetben sem változtatta meg a kompressziós erő értékét.

3.1.3. *In vitro* hatóanyag felszabadulás és diffúziós vizsgálat

A kísérletei eredmények szerint azok a készítmények, amelyek esetében a *S. platensis*-t oldott formában tartalmazták, magasabb diffúziós értékeket mutattak, mint az azonos emulgenst tartalmazó szuszpenziós párjaik. Az eredmények azt mutatják, hogy emulgeálószerként a Tefose 63-mat (TFS) vagy az SP70 cukorészter (SP70) tartalmazó készítményekből még Transcutol használata nélkül is kedvezőbb volt a hatóanyag diffúziós profilja, mint a Cremophor (CR) és a Poliszorbát 60 (P60) emulgeálószeret tartalmazó összetételek esetében. A fikocianin maximális átdiffundált mennyisége elérte a $39,81 \pm 0,83\%$ -ot ($9,18 \pm 0,38$ mg) a Tefose-t tartalmazó készítmény esetében és a $39,80 \pm 1,15\%$ -ot ($9,18 \pm 0,41$ mg) a cukorészterrel formulált összetételt vizsgálva.

3.1.4. *In vitro* citotoxicitási vizsgálata HaCaT sejtvonalon

Vizsgáltam a nemionos felületaktív anyagok, a Transcutol és az alga 0,50 (m/m) %-os oldatának, valamint az egyes készítmények citotoxicitását HaCaT sejt monorétegen.

Az eredmények alapján elmondható, hogy az emulgeálószer típusa nagymértékben befolyásolta a sejtek életképességét. A legjelentősebb toxicitás a P60 és a CR emulgensek esetében volt detektálható, ezek esetében a sejtek életképessége kevesebb, mint 50% volt a negatív kontrollcsoporthoz (foszfáttal puffertelt sóoldat (PBS)) képest. Az SP70 cukorészterrel kezelt sejteknek volt a legmagasabb az életképessége ($93,05 \pm 2,20$ %), ezt követte a TFS kezelés $82,79 \pm 2,95$ százalékkal. A kísérlet eredményei szerint tehát az SP70 és a TFS emulgens is minimális toxikus hatást gyakorol a keratinocita sejtekre 0,50 (m/m) % koncentrációkat alkalmazva.

Az egyes készítményeket vizsgálva megállapítható, hogy a Transcutol-t nem tartalmazó krémek magasabb sejtleletképességi értékeket mutattak, mint az azonos emulgeálószer, valamint Transcutol-t is tartalmazó összetételek.

3.1.5. A *Spirulina platensis* tartalmú készítmények *in vitro* antioxidáns vizsgálatai

Az *in vitro* antioxidáns kísérlethez az emulgeálószerként TFS-t és SP70-et tartalmazó készítményeket választottam ki a diffúziós vizsgálatok és az MTT citotoxicitási tesztek eredményei alapján. Az antioxidáns aktivitás értékelésére kétféle vizsgálatot alkalmaztam.

Az első kísérletsorozatban az ultraibolya sugárzásnak kitett csoportban, ahol nem alkalmaztam elő- vagy utókezelést a vizsgálati oldatokkal, a SOD enzim szintje szignifikánsan lecsökkent az UV-val nem kezelt csoporthoz képest. Az előkezelés során kisebb mértékű csökkenést, azaz magasabb enzimaktivitást tapasztaltam az SOD értékét tekintve. A legkedvezőbb eredmény a *S. platensis*-t oldott formában tartalmazó, cukorészter emulgenssel formulált készítménnyel történő premedikálás hatására volt megfigyelhető, ebben az esetben a SOD aktivitás átlagos értéke UVB besugárzás után $26,45 \pm 0,85$ %-nak adódott. Az eredményeim alapján viszont elmondható, hogy az utókezelés sajnos nem tudta megakadályozni az UVB sugárzás okozta jelentős enzimszint-csökkenést.

A DPPH teszt során kapott értékek alapján a hatóanyagot tartalmazó készítmények antioxidáns aktivitása szignifikánsan magasabbnak bizonyult, mint az azonos összetételű, de hatóanyag nélküli formulációké. Eredményeink szerint a hatóanyagot oldott állapotban tartalmazó készítmények szignifikáns mértékben képesek voltak redukálni a DPPH

szabadgyököt, azaz jelentős gyökfogó aktivitással rendelkeztek. Az SP70 cukorésztert és Transcutol-t tartalmazó készítmény mutatta a leghatékonyabb antioxidáns aktivitást a DPPH vizsgálat eredményei szerint is.

3.1.6. Antibakteriális hatás vizsgálata

A *S. platensis* tartalmú krémek acne vulgaris elleni hatásának tesztelésére a fentebb leírt vizsgálatok alapján legkedvezőbbnek bizonyult, TFS és SP70 emulgenssel formulált, a hatóanyagot Transcutol-ban oldva tartalmazó összetételeket választottuk ki.

A standard mikrodilúciós vizsgálat eredményei alapján megállapítható, hogy mindkét összetétel kisebb aktivitást mutatott a *S. aureus* baktériummal szemben két órás inkubáció után, összehasonlítva a *C. acnes* ellen mért aktivitással. Hat óra elteltével azonban nőtt a készítmények hatékonysága *S. aureus* ellen. Eredményeink szerint összességében a *C. acnes* érzékenyebbnek bizonyult a kezelésekre.

3.2. A *Calendula officinalis* tartalmú készítmények vizsgálatának eredményei

3.2.1. A *Calendula officinalis* tartalmú készítmények makroszkópikus tulajdonságai és kémhatásuk

Minden elkészített kenőcs és krém homogén, narancssárga megjelenésű, míg a gélek áttetszőek voltak és ezek a tulajdonságok 60 nap elteltével sem változtak. A készítményeink megfeleltek a vizuális, szaglási és tapintási jellemzőkre vonatkozó hivatalos követelményeknek. A pH mérésének eredményei alapján megállapítható, hogy sikerült a formulálás és a terápiás hatás szempontjából megfelelő kémhatást elérni. A készítmények stabilitására utal, hogy a pH értékek 60 nap elteltével sem csökkentek vagy nőttek szignifikáns mértékben.

3.2.2. Textúra elemzés

Méréseim szerint, és ahogy azt várni lehetett a különböző összetételekhez különböző nagyságú nyomóerőre volt szükség. A gélek rezisztenciája szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott a kenőcshöz és a krémekhez képest. A kompressziós teszt eredményei szerint a gélek megfelelőbb készítmények a könnyebb felkenhetőséget tekintve. A legnagyobb nyomóerő értéket a vazelint és lanolit tartalmazó összetétel esetében mértük ($140,33 \pm 5,13$ N a hatóanyagot tartalmazó összetétel esetén és $146,00 \pm 7,54$ N a hatóanyag nélkülinél). Ez a

kevésbé lágy konzisztenciájú formuláció akadályozhatja a hatóanyagok felszabadulását, valamint a nehezebb felkenhetőség miatt ronthatja a beteg compliance-t is.

3.2.3. Reológiai jellemzés

A reológiai elemzés információkat nyújtott a formulált félszilárd gyógyszerkészítmények folyási tulajdonságairól, valamint a tixotrópia mértékéről a reogramok és a viszkozitás meghatározásával. Ahogy azt a vizsgálat eredményei is tükrözik, az alkalmazott kenőcs -, krém - és gélalapanyagok (szénhidrogéngél, o/v emulziós készítményalapok vagy hidrogél) jellemző tulajdonságai hatással lehetnek a formulációk reológiai viselkedésére.

A vazelint és lanolint tartalmazó összetétel kivételével minden készítmény esetében jelentős tixotróp és pszeudoplasztikus viselkedést észleltem. Mindegyik készítmény szerkezeti viszkózus, azaz nyírásra vékonyodó anyag volt, mivel a viszkozitás a nyírási sebesség növekedésével minden esetben csökkent, a készítmények folyósabbá váltak. Amint az várható volt, a géleknél alacsonyabb viszkozitási értékeket figyeltem meg, mint a kenőcs és a krémek esetében. A legalacsonyabb értéket a Synthalen K gélképző anyaggal formulált gél esetében detektáltam.

3.2.4. *In vitro* hatóanyag felszabadulás és diffúziós vizsgálatok

Meghatározásra került a diklofenák-nátrium, a metil-szalicilát és a kvercetin *in vitro* diffúziós profilja izopropil-mirisztáttal (IPM) impregnált cellulóz-acetát membránon keresztül. A kenőcsből, krémekből és gélekből származó hatóanyag-diffúziós profilokat összehasonlítva arra lehet következtetni, hogy mindhárom hatóanyag nagyobb mennyiségben volt jelen a receptor fázisban gélek esetén. A vizsgálat szerint a Synthalen K gélképző polimert tartalmazó formuláció bizonyult a legmegfelelőbbnek. Ebben az esetben a diklofenák-nátrium kumulatív mennyisége 2 óra múlva $79,62 \pm 0,91\%$ -nak ($7,96 \pm 0,09$ mg), a metil-szaliciláté $53,37 \pm 1,86\%$ -nak, míg a kvercetin mennyisége $45,01 \pm 0,91\%$ -nak ($12,04 \pm 2,24$ mg) adódott.

3.2.5. A *Calendula officinalis* tartalmú készítmények sejtleletképessegre gyakorolt hatása

Az eredmények szerint a hatóanyagokat tartalmazó és a hatóanyagok nélkül formulált kontroll összetételek sejtleletképessegre gyakorolt hatása között szignifikáns különbség nem volt tapasztalható. A kenőcsöt és krémeket összehasonlítva azt találtuk, hogy a vazelin és lanolin alapú összetétel mutatta a legmagasabb sejtleletképessegi értéket ($88,92 \pm 5,97\%$), míg az Empicol LZ/N emulgenst tartalmazó formulációval történő kezelés a sejtek életképessegeének legnagyobb mértékű csökkenését eredményezte. Ebben az esetben az életképessege csak $68,43 \pm 5,62\%$ -nak adódott, amit valószínűleg az anionos emulgens jelenléte eredményezett. A készítmények közül a Synthalen K-val formulált gél bizonyult a legkevésbé toxikusnak, ezzel az összetétellel kezelt sejtek életképessege $93,61 \pm 1,49\%$ -ot eredményezett, tehát jól tolerálhatónak bizonyult.

3.2.6. A *Calendula officinalis* tartalmú gyógyszerkészítmények antioxidáns hatása

A DPPH vizsgálat szerint a *C. officinalis* kivonat szabadgyökfogó aktivitása $65,34 \pm 2,10\%$ -nak bizonyult. Szignifikáns különbségeket észleltünk a minden esetben a hatóanyagokat tartalmazó és a hatóanyagok nélküli formulációk között. Összességében megállapítható, hogy a *C. officinalis* kivonatot tartalmazó készítmények antioxidáns aktivitása lényegesen magasabb volt, mint ugyanazon készítmények aktivitása, de a kivonat nélkül. A készítmények közül csak a Synthalen K-t tartalmazó összetétel érte el az 50%-os szabadgyök semlegesítő aktivitást, így ez tekinthető a leghatékonyabb készítménynek. A legkisebb aktivitást a vazelin és lanolin tartalmú formuláció esetében mértük, ami a hatóanyag felszabadulása szempontjából kedvezőtlen kenőcsalapnak bizonyult.

3.2.7. A terápiás hatás vizsgálata – humán klinikai vizsgálat

A kiválasztott, Synthalen K gélképzővel formulált összetétel gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásának vizsgálata randomizált, placebo-kontroll tanulmányon alapult. Eredményeink szerint, a vizuális analóg skála (VAS) alapján szignifikánsan csökkent a fájdalom a kezelés első és 14. napja között. Azoknál a betegeknél, akiknek a térdét érintette a reumás megbetegedés, az átlagos érték a kiinduláskor $6,06 \pm 1,21$ volt az aktív csoportban és $6,18$ a placebo csoportban. A kezelés 14. napján a vizsgálati csoport esetében $2,36 \pm 0,89$ -re csökkent, míg a placebo csoportnál $5,48 \pm 0,54$ -re változott a VAS skálán megjelölt érték.

Az UH vizsgálat során kapott eredmények azt mutatták, hogy a szinoviális membrán vastagsága szignifikáns mértékben csökkent a térdet érintő ízületi gyulladásal kezelt betegeknél az aktív csoportban ($3,22 \pm 1,14$ -ről $1,32 \pm 0,91$ -re), míg a vállat érintő reumatoid artritiszben szenvedő betegeknél a kezdeti vastagság $3,41 \pm 1,39$ -ről $1,92 \pm 1,07$ -re csökkent a 14. nap végére.

4. Megbeszélés

A természetes eredetű hatóanyagokat tartalmazó készítmények formulálása esetén kiemelkedő figyelmet kell fordítanunk a megfelelő gyógyszerforma kialakítására, különös tekintettel a segédanyagok kiválasztására, melyek használata segítheti az aktív komponensek biohasznosulását.

Első kísérletsorozatunkban a különböző felületaktív anyagokat tartalmazó, liofilizált *S. platensis* alga felhasználásával formulált készítmények konzisztenciáját, diffúziós profilját és biokompatibilitását vizsgáltuk és hasonlítottuk össze, majd feltérképeztük a kiválasztott összetételek antibakteriális hatását. A formulálás során a *S. platensis* algát szuszpenziós formában tartalmazó összetételek mellett a Transcutol segítségével sikerült olyan krémeket is formulálni, melyek a port oldott állapotban tartalmazták. A krémek készítéséhez nemionos felületaktív anyagokat, Poliszorbát 60-at, Cremophor A6 és A25 egy-egy arányú keverékét, SP70 cukorésztert és Tefose 63-mat választottunk azok bőrre gyakorolt kíméletesebb hatása végett.

A textúra analízis és az *in vitro* diffúziós vizsgálat eredményeit tekintve megállapítottuk, hogy azok a készítmények, amelyek penetráció fokozóként Transcutol-t tartalmaztak SP70 cukor-észterrel vagy Tefose 63 emulgeálószerrel kombinálva, lágyabb konzisztenciát és ebből kifolyólag kedvezőbb hatóanyagleadást és membránon keresztüli diffúziót mutattak. A Transcutol kiváló szolubilizálószernek bizonyult, segítségével sikerült a hatóanyagot oldott állapotban inkorporálni a krémekbe, amely befolyásolhatta a hatóanyagok bőrbe jutását és biohasznosulását. Előnye továbbá, hogy nem toxikus és biokompatibilis a bőrrel a szakirodalom szerint.

Az *in vitro* citotoxicitási vizsgálatok elengedhetetlenek a gyógyszerkészítmények biztonsági profiljának meghatározásához. Kutatómunkám során HaCaT sejtvonalon MTT tesztet végezve térképeztem fel a különböző összetételek sejtleletképessegre gyakorolt hatását. Az említett HaCaT sejtvonalat *in vitro* modellként javasolják a keratinociták működésének tanulmányozására és a bőrfelületen alkalmazható készítmények biokompatibilitásának vizsgálatára. A vizsgálat eredményei alapján az SP70 és TFS felületaktív anyagokat tartalmazó összetételek sejtleletképessegre gyakorolt hatása kedvezőbb volt, mint a P60 és CR tenzideket tartalmazó készítményeké.

A helyi antibiotikum-kezelés általában az első választás az acne kezelésében. A növekvő bakteriális rezisztencia azonban a helyi antibiotikumok monoterápiaként történő alkalmazása elleni ajánlásokhoz vezet, és más helyi szerekkel kombinált terápiát kíván meg.

Az acne vulgarisban főként a *C. acnes* és a *S. aureus* baktériumok felelősek a bőrgyulladásért, melyek lokális gyulladást válthatnak ki azáltal, hogy kemotaktikus faktorokat termelnek, és az odavonzott neutrofilek gyulladáshoz vezető mediátorokat, például ROS-t szabadítanak fel a dermiszben. A ROS semlegesítése jelentősen csökkentheti az acne során fellépő gyulladással járó sejtkárosodást, ezért az antimikrobiális hatás mellett antioxidáns hatással is rendelkező készítmények hatékonyabbak lehetnek az acne vulgaris terápiájában. Az antioxidáns aktivitás meghatározására irányuló vizsgálataink során a *S. platensis* tartalmú krémekkel történő kezelés előtt vagy után UV sugárzásnak tettünk ki HaCaT sejteket, majd meghatároztuk a SOD aktivitását. A *S. platensis*-ben nagymennyiségben megtalálható SOD, az egyik fő antioxidáns enzim, semlegesíti az oxidatív stressz során keletkező szabad gyököket, így megelőzve a sejtkárosodást. Méréseink szerint a Transcutol-ban oldott hatóanyag TFS és SP70 felületaktív anyaggal kombinálva fokozottabb mértékű SOD aktivitást eredményezett a szuszpenziós összetételekkel összehasonlítva. Eredményeink azt mutatták, hogy az előkezelés hatékonysága szignifikánsan nagyobb mértékű volt az oldott *S. platensis*-t tartalmazó formulációk esetében, míg a szuszpenziós gyógyszerformáknál nem tapasztaltunk eltérést az elő- és utókezelések hatékonysága között.

A DPPH gyökfogó kapacitás mérésének segítségével sikerült igazolnunk, hogy a hatóanyag oldott formában történő inkorporálása az adott készítménybe növelheti annak penetrációs készségét és ez által a hatékonyságát.

Az antibakteriális vizsgálat során készítményeinket *S. aureus* és *C. acnes* baktériumokon is teszteltük. A *S. platensis* pontos hatásmechanizmusa nem ismert, de egyes feltételezések szerint antimikrobiális aktivitása zsírsav-komponenseinek és poliszacharid-tartalmának szinergikus hatásával hozható összefüggésbe. Vizsgálataink szerint a formulált krémek csökkentették a *C. acnes* és a *S. aureus* életképességét a kontrollcsoportokhoz képest. A SP70 cukorészter felületaktív anyagot tartalmazó összetételek nagyobb mértékben csökkentették a baktériumok életképességét, mint a TFS tenziddel készültek 6 órás inkubáció után. Ezek az eredmények azt is mutatták, hogy a felületaktív anyag típusa befolyásolta a hatóanyag biohasznosulását és az antimikrobiális aktivitást.

A második kísérletsorozat során hat különböző, diklofenak-nátrium, metil-szalicilát és *C. officinalis* virágát tartalmazó kivonat kombinációját tartalmazó gyulladáscsökkentő hatású topikális készítményt formuláltam. Az első kísérletsorozattól eltérően ezúttal különböző típusú készítményalapokat hoztunk létre, úgy, mint a vazelint és lanolint tartalmazó szénhidrogéngélt, valamint o/v emulziós rendszerű, nagyobb víztartalmú krémeket, melyek anionos (Empicol LZ/N) vagy nemionos (SP70 cukorészter) emulgenst tartalmaztak. Különböző segédanyagokkal (Carbopol 974P, Pemulen TR-1 és Synthalen K) makromolekulás hidrogéleket is formuláltunk, melyekből kedvezőbb hatóanyag-felszabadulást és diffúziót reméltünk.

Számos tanulmány leírta már a félszilárd gyógyszerformák viszkozitása és az azokban lévő hatóanyagok diffúziós képessége közötti fordított arányosságot. Kísérleteink szerint a Synthalen K gélkészítmény mutatta a legjobb diffúziós eredményeket és a legalacsonyabb viszkozitást, a leglágyabb konzisztenciát. A gélek *in vitro* diffúziós vizsgálatunkban tapasztalt nagyobb diffúziós sebessége tehát az alacsony viszkozitásuknak tudható be, ami fokozott gyógyszerfelszabadulást eredményezett. Emellett a gélek könnyebben kenhetők, így nagy felületek kezelésére alkalmasabbak lehetnek.

Az MTT vizsgálat szerint a különböző összetételek közül a Synthalen K gélképzővel formulált készítmény volt a legkevésbé toxikus, esetében a sejtek életképessége $93,61 \pm 1,49\%$ -nak bizonyult, illetve a DPPH teszt alapján ez a készítmény prezentálta a legnagyobb antioxidáns aktivitást is. A kenőcsöt és krémeket összevetve a vivőanyagként vazelint és lanolt tartalmazó összetétel mutatta a legmagasabb sejtéletképességet ($88,92 \pm 5,97\%$), míg az o/v emulziós típusú krémekkel történő kezelés az életképesség nagyobb mértékű csökkenését eredményezték.

Preformulációs vizsgálataink és az antioxidáns teszt alapján a Synthalen K gélképző segédanyagot tartalmazó összetételt találtuk alkalmasnak az *in vivo* vizsgálatra. A készítményünket prospektív, placebo kontrollált klinikai vizsgálatnak vetettük alá a gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásának értékelése céljából. A fájdalom egy tünet, aminek intenzitását az érintett beteg érzi leginkább, tehát önmaga képes pontosan értékelni. Ebből kifolyólag a fájdalom intenzitásának értékelésére VAS skálát alkalmaztunk. A módszer egyszerű, nem invazív és könnyen használható, lehetővé teszi a fájdalom osztályozását a páciens számára. Diklofenak-nátriumot, metil-szalicilátot és körömvirág extraktumot együttesen tartalmazó gyógyszerkészítmény klinikai vizsgálatáról jelenleg még nem állnak rendelkezésre információink, viszont diklofenak-gélek reumatoid artritiszben szenvedő betegeken történő humán klinikai vizsgálatairól számos tanulmány számolt már be. Egy

szakirodalomban leírt randomizált klinikai vizsgálatban a diklofenak gél a vártnak megfelelően jobbnak bizonyult a fájdalom csillapításában 3 napos kezelési periódust vizsgálva, mint a placebo készítmény. Az általunk formulált gél a klinikai vizsgálat szerint a VAS által értékelt fájdalmat szignifikánsan csökkentette 14 napos kezelési idő elteltével. Több tanulmányban beszámoltak arról, hogy a gyulladáscsökkentővel végzett külsőleges kezelésre adott rövid távú szinoviális válasz, azaz a szinovium vastagságbeli csökkenése ultrahanggal kimutatható, ezért ultrahangos képalkotó vizsgálatot végeztünk el a kezelések előtt és után. Az eredmények szerint a Synthalen K segédanyaggal formulált gélkészítménnyel végzett kezelés után a szinovium vastagságának szignifikáns mértékű csökkenése volt megfigyelhető a kontroll csoporthoz képest, tehát a kezelés jótékony hatással volt a lokális gyulladásra.

Munkám rámutatott a különböző segédanyagokkal, felületaktív anyagokkal és gélképző polimerekkel rendelkező kenőcs -, krém - és gél-készítmények közötti különbségekre. A segédanyagok befolyásolták a reológiai viselkedést, a készítmények citotoxicitását és a hatóanyagok felszabadulását, valamint az antioxidáns hatás mértékét.

5. Összefoglalás

Doktori tanulmányaim során növényi hatóanyagok felhasználásával különböző terápiás indikációkban külsőleges gyógyszerformákat formuláltam. Kutatómunkám elsődleges célját a segédanyagok - különös hangsúllyal a felületaktív anyagokra - közti különbségekre való rámutatás képezte.

Első kísérletsorozatunkban hatóanyagként *S. platensis* liofilizátumot tartalmazó emulziós krémeket formuláltunk különböző nemionos emulgensek, illetve Transcutol HP szolubilizálószerként való alkalmazásával. Vizsgálataink rávilágítottak, hogy az SP70 cukorésztert és Transcutol HP-t tartalmazó készítmény megfelelő konzisztenciával és diffúziós profillal rendelkezik, továbbá ez esetben detektálható a legmagasabb antioxidáns aktivitás UVB sugárzás indukálta oxidatív stressz esetében HaCaT sejteken. Kutatómunkánkkal sikerült igazolni, hogy az említett készítmény antimikrobiális hatással is bír az acne vulgaris két fő kórokozója, a *C. acnes* és a *S. aureus* ellen, illetve minimális a HaCaT sejtek életképességére gyakorolt negatív hatása. A *S. platensis* algával végzett kísérleteink egyik kiemelkedő eredményét egy természetes eredetű hatóanyagot tartalmazó topikális készítmény fejlesztése jelenti, amely alternatív lehetőséget nyújt az egyik leggyakoribb bőrbetegség, az acne vulgaris kezelésére, kevesebb mellékhatással és antibiotikum-rezisztencia nélkül.

Második kísérletsorozatunkban olyan kenőcsöt, krémeket és géleket formuláltunk, melyek a *C. officinalis* extraktumot, diklofenák-nátriummal és metil-szaliciláttal kombinálva tartalmazzák az optimális terápiás hatás elérése érdekében. A reológiai és a diffúziós vizsgálatok alapján elmondható, hogy a hatóanyagok gélkészítménybe történő inkorporálása - a kenőccsel és a krémekkel összehasonlítva - kedvezőbb tulajdonságokat eredményez, amelyek következtetni engednek a magas szöveti koncentráció biztosítására, ami nagyobb mértékű és hosszabb idejű fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő hatást von maga után. Legjobb tudomásunk szerint a jelen értekezésben tárgyalt humán klinikai vizsgálat volt az első *C. officinalis*-t, diklofenák-nátriumot és metil-szalicilátot együttesen tartalmazó készítményre irányuló tanulmány reumatoid arthritisz terápiájában. Kísérletünkben sikerült igazolni, hogy a Synthalen K gélképző polimerrel formulált készítmény szignifikáns mértékben képes csökkenteni a betegek fájdalmát, valamint az érintett ízület gyulladásának mértékét. Az általunk formulált *C. officinalis* tartalmú gél tehát kitűnő, szisztémás mellékhatásoktól mentes, alternatív terápiás lehetőséget nyújthat az ízületi gyulladásban szenvedő betegek részére.

6. A jelölt értekezés témájában született publikációi



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/75/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Józsa Liza

Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

MTMT azonosító: 10069255

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Józsa, L.**, Ujhelyi, Z., Vasvári, G., Sinka, D. Z., Nemes, D., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Szabó, J., Kalló, G., Vasas, G., Bácskay, I., Fehér, P.: Formulation of Creams Containing Spirulina Platensis Powder with Different Nonionic Surfactants for the Treatment of Acne Vulgaris.
Molecules. 25 (20), 1-23, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25204856>
IF: 4.411
2. Jurca, T., **Józsa, L.**, Suciu, R. N., Pallag, A., Marian, E., Bácskay, I., Muresan, M., Stan, R. L., Cevei, M., Cioară, F., Vicas, L., Fehér, P.: Formulation of Topical Dosage Forms Containing Synthetic and Natural Anti-Inflammatory Agents for the Treatment of Rheumatoid Arthritis.
Molecules. 26 (1), 1-26, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26010024>
IF: 4.411





További közlemények

3. Bácskay, I., Sinka, D. Z., **Józsa, L.**, Vasas, G., Ujhelyi, Z., Fehér, P., Juhász, B., Szilvássy, Z.:
Formulation and investigation of turmeric extract and sodium benzoate loaded capsules.
Acta Pharm Hung. 91 (1), 11-20, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.33892/aph.2021.91.11-20>
4. **Józsa, L.**, Fehér, P.: Amit a Spirulina algáról tudni érdemes.
Gyógyszerészet. 2020 (3), 160-164, 2020.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,822

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
8,822**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.07.



7. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Fehér Pálmának, akitől már TDK hallgatóként rengeteg segítséget és támogatást kaptam, melyek hatására diplomám megszerzése után a tudományos élet felé vettem az irányt. Őszintén hálás vagyok áldozatos munkájáért, folyamatos szakmai iránymutatásáért, illetve az élet minden területére kiterjedő baráti tanácsaiért, biztatásáért.

Hálás köszönettel tartozok Prof. Dr. Bácskay Ildikó dékánhelyettes és tanszékvezető asszonynak, hogy segítségével bekapcsolódhattam a Gyógyszertechnológiai Tanszéken zajló kutatásokba, valamint, hogy szakmai felkészültségével és a Gyógyszerésztudományi Karért végzett áldozatos munkájával mindannyiunk számára példát állít.

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Vecsernyés Miklós Dékán Úrnak a lehetőséget a tudományos munka végzésére a Gyógyszertechnológiai Tanszéken.

Köszönettel tartozom Dr. Lekli Istvánnak az elmúlt három évben nyújtott szakmai segítségéért, példamutatásáért és folyamatos támogatásáért. Külön köszönöm Dr. Nemes Dánielnek a citotoxicitási vizsgálatokkal és a statisztikai elemzéssel kapcsolatos tanácsait, valamint Dr. Vasvári Gábornak a kinetikai számolások során nyújtott nagylelkű segítségét. Mindkettőjüknek köszönöm a baráti támogatást, melyet az elmúlt évek során kaptam.

Köszönetet mondok a Gyógyszertechnológiai Tanszék további munkatársainak, hogy támogatták munkámat és bármikor fordulhattam hozzájuk segítségért, illetve szeretném megköszönni az értekezésem alapjául szolgáló közlemények társszerzőinek a közös munka során nyújtott önzetlen segítségüket és támogatásukat.

Óriási hálával tartozok páromnak, Dr. Árvai Péternek önzetlen támogatásáért és szeretetéért, mely segített átvészelni a nehezebb pillanatokat.

Hálásan köszönöm testvéremnek és egyben legjobb barátnőmnek, Józsa Kamillának, hogy mindvégig mellettem állt és odaadóan támogatott.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Szüleimnek, hogy nyugodt és kiegyensúlyozott háttérrel biztosítottak a kutatómunkám elvégzéséhez és értekezésem megírásához, mindamelllett, hogy kitartóan támogatnak és segítenek egész életemben.

A kutatás támogatói:

A kutatás az EFOP-3.6.1-16-2016-00022 „Debrecen Venture Catapult Program” és EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 pályázat keretében valósult meg.

A disszertáció alapjául szolgáló kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program (NKFIH-1150-6/2019) támogatta.

Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

Az értekezés alapjául szolgáló kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Tématerületi Kiválósági Program (TKP2020-IKA-04 Big Data, Biotechnológia, Energetika, Terápiás célú fejlesztés, Vízrel kapcsolatos kutatások és a négy Lendület kutatócsoport továbbfinanszírozása és TKP2021-EGA-18) támogatta. A TKP2020-IKA-04 számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a 2020-4.1.1-TKP2020 pályázati program finanszírozásában valósult meg. A TKP2021-EGA-18 számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

A disszertáció elkészítését a GINOP-2.3.4-15-2020-00008 Komplex Egészségipari Multidiszciplináris Kompetencia Központ kialakítása a Debreceni Egyetemen új innovatív termékek és technológiák fejlesztése érdekében és a GINOP-2.3.3-15-2016-00021 „Gyógyszertechnológiai K+F fejlesztése a Debreceni Egyetemen” című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.

A kutatás egy része a „Domus Hungarica Scientiarum et Artium” kutatási pályázattal és a Nagyvárad Egyetem Kutatási szerződésének (nr. 6/2016) támogatásával valósult meg.