

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Tapinarof-tartalmú nanogél formulációk fejlesztése és
vizsgálata a pikkelysömör terápiájában**

Dr. Balogh Barbara Nóra

Témavezető: Dr. Kovácsné Prof. Dr. Bácskay Ildikó Katalin



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2026

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	5
2.	Irodalmi áttekintés.....	7
2.1.	Az epidermisz felépítése és barrierfunkciója	7
2.2.	A pikkelysömör általános jellemzői	8
2.3.	A pikkelysömör immunológiai és molekuláris patogenezise.....	10
2.4.	Pszoriázis terápiák és azok korlátai.....	12
2.5.	Új terápiás stratégiák a pikkelysömör kezelésére	16
2.6.	Tapinarof	18
2.6.1.	A tapinarof szerkezeti tulajdonságai és farmakológiai jelentősége	18
2.6.2.	A tapinarof mint új nem szteroid AhR modulátor.....	19
2.6.3.	A tapinarof biológiai eredete	19
2.6.4.	Az AhR aktiváció szerepe és a tapinarof terápiás potenciálja a gyulladásos bőrbetegségek kezelésében.....	20
2.6.5.	A tapinarof vizsgálati eredményei.....	23
2.6.5.1.	Preklinikai vizsgálatok	23
2.6.5.2.	Klinikai vizsgálatok.....	24
2.6.5.2.1	Hosszú távú biztonsági vizsgálatok.....	25
2.6.5.2.2	Farmakokinetika	26
2.6.5.2.3	Mellékhatások	26
2.7.	Nanotechnológia a bőrgyógyásban.....	27
2.7.1.	Nanohordozók	29
2.7.1.1.	Nanorészecskék	30
2.7.1.1.1	Vezikuláris hordozók	30
2.7.1.1.2	Lipid nanorészecskék	32
2.7.1.2.	Nanoszálak	33
2.7.1.3.	Fizikai hordozók.....	33
2.7.1.4.	Mátrix nanohordozók	34
2.8.	Tapinarof hordozórendszerek.....	37
2.8.1.	Szabadalmaztatott tapinarof-tartalmú készítmények.....	37
2.8.2.	Kihívások a tapinarof formulálása terén	37
3.	Célkitűzés	39
4.	Anyagok és módszerek.....	41
4.1.	Anyagok	41
4.1.1.	Sejtvonalak	41
4.1.2.	Kémiai anyagok és reagensek	41
4.1.3.	Laboratóriumi eszközök	41

4.2.	Módszerek	42
4.2.1.	Tapinarof-tartalmú nanogélek előállítása	42
4.2.2.	Sejtvonalak fenntartása	43
4.2.2.1.	Humán dermális fibroblaszt sejtvonal	43
4.2.2.2.	HaCaT keratinocita sejtvonal	43
4.2.2.3.	THP-1 monocita sejtvonal	44
4.2.2.4.	HaCaT és THP-1 ko-kultúra kialakítása	44
4.2.2.5.	Sejtek kezelése	44
4.2.3.	Fizikai-kémiai vizsgálatok	45
4.2.3.1.	Részecskeméret meghatározás	45
4.2.3.2.	Reológiai jellemzés	45
4.2.3.3.	Textúra analízis	46
4.2.3.4.	In vitro kioldódási vizsgálat	46
4.2.4.	In vitro sejtes vizsgálatok	47
4.2.4.1.	Monokultúras vizsgálatok	47
4.2.4.1.1	Sejtéletképességi vizsgálat HaCaT sejteken	47
4.2.4.1.2	Sebgyógyulási vizsgálat fibroblaszt sejteken	47
4.2.4.2.	Ko-kultúras vizsgálatok	48
4.2.4.2.1	Valós idejű sejtanalízis (RTCA)	48
4.2.4.2.2	Sebgyógyulási vizsgálat ko-kultúra modellen	48
4.2.4.2.3	Immunválasz és jelátviteli útvonalak elemzése	49
4.2.4.2.3.1	ELISA vizsgálatok	49
4.2.4.2.3.2	Génexpresszió mérése qPCR-rel	49
4.2.4.2.3.3	NF- κ B transzlokáció	50
4.2.5.	Statisztikai elemzés	51
5.	Eredmények	52
5.1.	Fizikai-kémiai vizsgálatok	52
5.1.1.	Részecskeméret meghatározás	52
5.1.2.	Reológiai vizsgálatok	54
5.1.3.	Textúra analízis	56
5.1.4.	In vitro kioldódási vizsgálat	56
5.2.	In vitro sejtes vizsgálatok	58
5.2.1.	Monokultúras vizsgálatok	58
5.2.1.1.	Sejtéletképességi vizsgálat HaCaT sejteken	58
5.2.1.2.	Sebgyógyulási vizsgálat fibroblaszt sejteken	61
5.2.2.	Ko-kultúras vizsgálatok	63
5.2.2.1.	Valós idejű sejtanalízis (RTCA)	63

5.2.2.2.	Sebgyógyulási vizsgálat ko-kultúra modellen.....	66
5.2.2.3.	Immunválasz és jelátviteli útvonalak elemzése	68
5.2.2.3.1	ELISA vizsgálatok	68
5.2.2.3.2	Génexpresszió mérése qPCR-rel	71
5.2.2.3.3	NF- κ B transzlokáció	72
6.	Megbeszélés	75
6.1.	A készítményfejlesztés és a gyógyszerforma vizsgálatok értékelése.....	75
6.2.	In vitro sejtes vizsgálatok eredményeinek értékelése	77
6.3.	Új tudományos eredmények összefoglalása.....	81
7.	Összefoglalás.....	82
8.	Summary	83
9.	Irodalomjegyzék.....	84
9.1.	Az értekezéshez felhasznált irodalmi hivatkozások.....	84
9.2.	Az értekezés alapjául szolgáló közlemények	105
10.	Rövidítésjegyzék	106
11.	Ábrajegyzék	109
12.	Táblázatok jegyzéke	111
13.	Tárgyszavak	112
14.	Keywords	112
15.	Köszönetnyilvánítás	113
16.	Függelék.....	115

1. Bevezetés

A pikkelysömör napjaink egyik legismertebb népbetegsége. A mai napig bár számos kutatás foglalkozott a pikkelysömör patofiziológiájával és kezelésével, ezek többsége elsősorban a szisztémás biológiai vagy a hagyományos helyi kezelésekre összpontosít. A betegek nagy része azonban igyekszik elkerülni a biológiai terápiák és a kortikoszteroidok használatát, így továbbra is nagy szükség van a jól tolerálható, hosszú távon is biztonságosan alkalmazható helyi kezelésekre. Ennek ellenére kevés kutatás foglalkozik az újabb helyi készítmények fejlesztésének kihívásaival és lehetőségeivel.

A páciensek többsége enyhe, lokalizált elváltozásokkal rendelkezik, amely nem igényel szisztémás kezelést. A helyi terápia döntő fontosságú ezeknek a betegeknek a kezelésében. Sajnos jelenleg nincs végleges gyógymód, azonban a tünetek enyhítésével javíthatjuk a betegek életminőségét. A jelenleg elérhető helyi terápiáknak viszont számos mellékhatása van, amelyek korlátozzák rövid és hosszú távú alkalmazásukat. Ez azt jelenti, hogy a pikkelysömör megfelelő helyi kezelése továbbra is megoldatlan kérdés.

A fokozott bőrpenetrációval rendelkező dermális gyógyszeradagolás fő akadály a stratum corneum barrier tulajdonságai, amely az emberi test egyik leginkább áthatolhatatlan hámrétegének számít az exogén anyagok esetében. Pszoriázis esetén a bőrbarrier károsodik, ezért a hatóanyagok penetrációja csökkent. Ezek a problémák kémiai penetrációfokozók alkalmazásával minimalizálhatók. Használatuk azonban káros lehet, különösen krónikus állapotokban, mivel sokuk irritáló hatású. Ráadásul az újabb hatóanyagok körülbelül 40%-a hidrofób jellegű, mint például a tapinarof. Ezeknek a rosszul oldódó anyagoknak a bejuttatása szintén kihívást jelent a gyógyszerbejuttatás szempontjából. Ezért szükséges egy olyan innovatív dermális bejuttatási rendszer kifejlesztése, amely kémiai permeációfokozók alkalmazása nélkül is javítja a hatóanyag bőrön belüli penetrációját.

Az elmúlt évtizedben a nanotechnológia fejlődése új távlatokat nyitott meg a helyi gyógyszeradagolásban. Számos tanulmány igazolta már a nanoemulziók helyi gyógyszeradagolási potenciálját, felismerve, hogy azok eltérően viselkednek, amikor biológiai barrierekkel lépnek kölcsönhatásba. A nanoemulziók széles körű lehetőségeket kínálnak a helyi gyógyszeradagolás terén, azonban alacsony viszkozitásuk korlátozzák a bőrön való alkalmazásukat. A viszkozitás növelése céljából alkalmazott különböző gélesítőszerrel lehetővé teszik a nanoemulziók gélmátrixba történő integrálását, amelynek eredményeként nanogélek jönnek létre, elősegítve a készítmények helyi alkalmazhatóságát. Egyedülálló fizikai-kémiai tulajdonságaiknak köszönhetően javítják a hatóanyagok oldhatóságát és dermális penetrációját,

valamint a bőrt is hidratálják. Továbbá szabályozott hatóanyag-felszabadulást is biztosítanak és csökkentik a szisztémás mellékhatásokat, melyek kedvezőek a pikkelysömörhöz hasonló krónikus gyulladásos bőrbetegségek esetén. Míg a nanotechnológián alapuló hatóanyag-beviteli rendszerek egyre inkább teret nyernek a dermatológiában, a tapinarof nanogél készítményekbe való beépítése még új és feltáratlan terület.

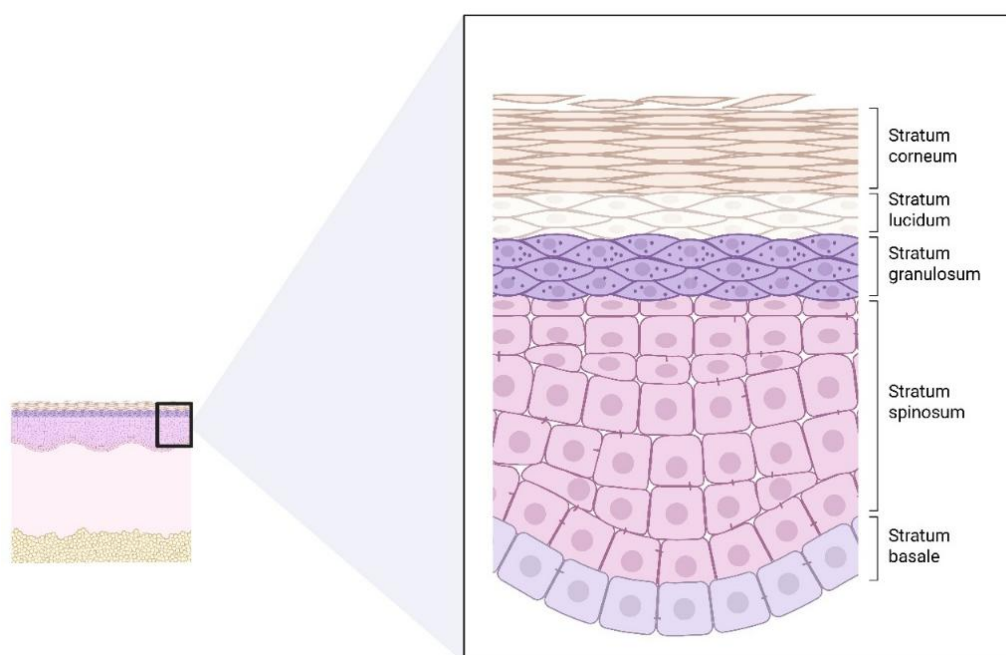
Kísérleti munkám hatóanyagaként a tapinarofot választottam, mivel ez az új, ígéretes lokális szer a pikkelysömör patofiziológiájában kulcsfontosságú útvonalakat céloz meg. A terápiás hatékonyság eléréséhez azonban nemcsak a hatóanyag gyulladáscsökkentő potenciálja szükséges, hanem annak a bőr mélyebb rétegeibe történő hatékony bejuttatása, valamint a megfelelő biológiai hozzáférhetőség biztosítása is. A hidrogélek és nanohordozók előnyös tulajdonságait ötvöző nanogélek lehetőséget kínálnak a stabil hatóanyag-hordozásra és a javított bőrpenetrációra. Továbbá, a mellékhatások minimalizálásával és a szükséges adagolási gyakoriság csökkentésével javíthatják a betegadherenciát.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az epidermisz felépítése és barrierfunkciója

A bőr az emberi test legnagyobb szerve, amely egy többfunkciós védelmi rendszerként működik és hozzájárul a szervezet homeosztázisának fenntartásához. Szerkezete rendkívül összetett, három fő rétegre osztható: epidermiszre, dermiszre és hipodermiszre. Mindegyiknek eltérő anatómiai és funkcionális jellemzői vannak [1–3].

Az epidermisz öt különböző rétegből áll: a legfelső réteg a stratum corneum, ezt követi a stratum lucidum, a stratum granulosum, a stratum spinosum, majd a legalsó réteg, a stratum basale, melyet az **1. ábra** szemléltet.



1. ábra: Az epidermisz rétegeinek sematikus felépítése. (Az ábra BioRenderrel készült.)

Mivel az epidermisz a bőr legkülső rétege, főleg elszarusodó hámsejtekből, úgynevezett keratinocitákból áll, amelyek folyamatosan megújulnak, biztosítva a külső védőréteg integritását. UV-sugárzás hatására az epidermisz keratinocitái D-vitamint szintetizálnak, amely nélkülözhetetlen a kalcium-anyagcseréhez és az immunrendszer megfelelő működéséhez. Az epidermiszben más speciális sejtípusok is megtalálhatóak, mint a melanociták, a Langerhans-sejtek és a Merkel-sejtek, amelyek a pigmentációért, az immunvédelemért és az érzékelésért felelnek. Ezenkívül a bőr faggyú- és verejtékmirigyei exokrin funkciókat látnak el, így elősegítik a bőr hidratáltságának fenntartását és a mérgeanyagok eltávolítását. A verejtékmirigyek működése a hőszabályozás szempontjából is fontosak, mivel a verejték

elpárologtatásával segítenek csökkenteni a testhőmérsékletet. A szaruréteg a hidrofób lipidrétteg jelenlétének köszönhetően gátolja a transzepidermális vízvesztést, valamint akadályozza a kórokozók penetrációját [1,2]. Összességében a bőr felső rétege nemcsak fizikai és kémiai védelmet nyújt, hanem aktív résztvevője a szervezet anyagcsere-folyamatainak is [2].

2.2. A pikkelysömör általános jellemzői

A pikkelysömör egy krónikus, immunmediált bőrbetegség, amely a világ népességének 1–3%-át érinti, vagyis több mint 100 millió embert világszerte [4–7]. Bármely életkorban előfordulhat, általában 15 és 25 éves kor között mutatkozik meg először, 50–69 éves korban pedig egy második, gyakoribb megjelenési időszak észlelhető [8,9].

Genetikai, környezeti és immunológiai tényezők egyaránt befolyásolják a betegség patogenezisét [6,9–11]. A családi halmozódás és bizonyos génvariánsok (pl.: az immunválasz és a keratinocita proliferáció szabályozásában szerepet játszó gének) szintén hozzájárulhatnak a betegség kialakulásához. A pikkelysömör első megjelenését és a későbbi fellángolásokat számos környezeti tényező, mint fertőzések, stressz, dohányzás, alkoholfogyasztás, hideg, száraz időjárás provokálhatja [1,6,9].

Az adaptív és a veleszületett immunrendszer egyaránt részt vesz a pikkelysömör patogenezisében, melyet autoimmun és autoinflammatorikus mechanizmusok keveréke jellemez, és amelyben kiemelt szerepet játszanak az antigénprezentáló sejtek (APC-k) és a gyulladásos citokinek (TNF- α , IL-17 és IL-23) [6,9,11–14]. Ezek a gyulladásos válaszok keratinocita hiperproliferációt eredményeznek, amely a bőr megvastagodásához és a jellegzetes plakkos elváltozások megjelenéséhez vezet [1,14,15].

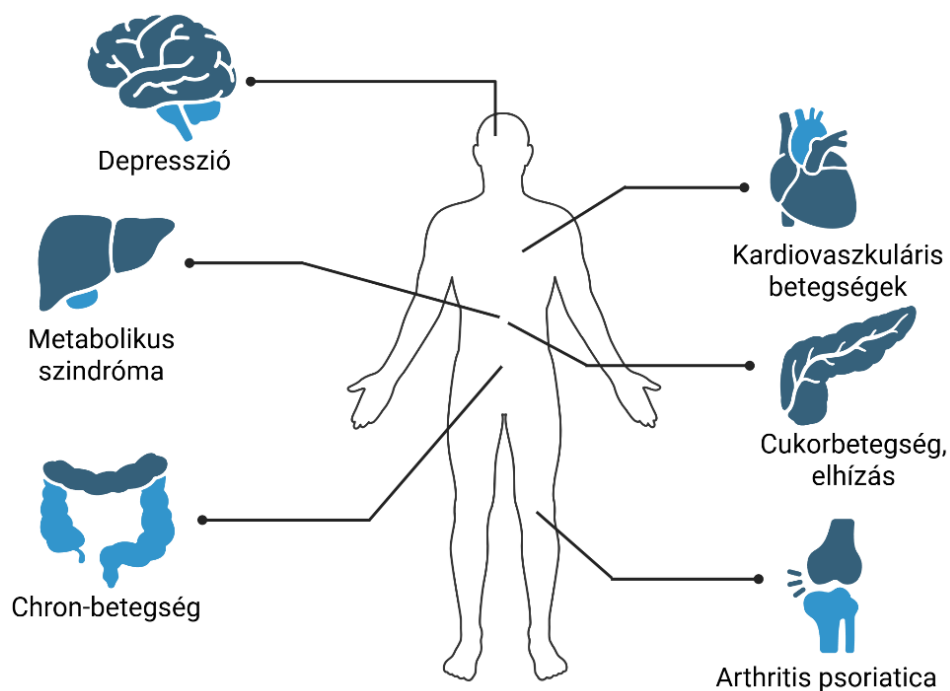
Ez nem egy fertőző betegség, azonban olyan gyulladással jár a szervezetben, amely fájdalmas, viszkető, pikkelyes plakkokban nyilvánul meg, amelyek időnkénti remissziót és exacerbációt mutatnak [16–19]. A bőrsejtek normális esetben körülbelül egy hónap alatt érnek meg és hámlanak le, míg a pikkelysömör esetén ez a folyamat csupán 3-5 nap, ami a sejtek felhalmozódásához vezet [20].

Jelenleg nincs végleges gyógy mód, de a megfelelő terápiával a tünetek kontrollálhatók és az életminőség javítható [8,19]. A Nemzeti Pszoriázis Alapítvány (National Psoriasis Foundation) a betegség kiterjedése és az érintett testfelület aránya alapján a pikkelysömört enyhe (<3%), közepesen súlyos (3-10%) és súlyos (>10%) kategóriákba sorolja. A betegség súlyosságát a PASI pontszám kiszámításával mérik, mely skála 0-tól 72-ig terjed, ahol a magasabb pontszám súlyosabb betegséget jelez [21,22].

A pikkelysömör többféle formában fordulhat elő, amelyeket az Amerikai Bőrgyógyászati Akadémia (American Academy of Dermatology) a következő típusokba sorol [18]:

- Plakkos pikkelysömör (psoriasis vulgaris): A leggyakoribb forma (az esetek >80%-a), amely eritémás, ezüstösen hámló plakkokkal jár [18,23,24]. A tünetek általában a könyök, a térd, a fejbőr, a köldök és a keresztcsont területén jelennek meg [19,25].
- Guttált pikkelysömör: Főleg gyermekeknél és fiatal felnőtteknél fordul elő. Csepp alakú eritémás elváltozásokkal jár. Gyakran fertőzések után alakul ki [8,25,26].
- Pusztulózus pikkelysömör: A legritkább, de az egyik súlyosabb forma. Steril, gennyes hólyagokkal jár, melyek lehetnek lokalizáltak (tenyeret, talpat érintő) vagy generalizáltak (az egész testfelületet érintő) [25–27].
- Eritrodermiás pikkelysömör: A legsúlyosabb forma. A bőr több mint 90%-át érinti, és súlyos gyulladással, hámlással, ödémával és akár életveszélyes szövődeményekkel járhat [25].
- Intertriginózus pikkelysömör (inverz pikkelysömör): A test hajlataiban (hónalj, lágyékhajlat) fordul elő. Vörös, hámló, fájdalmas plakkok formájában jelentkezik [8,25,27].

A pikkelysömör nemcsak a bőrt károsíthatja, hanem az egész szervezetben gyulladásos folyamatokat indíthat el, amelyek számos társbetegséggel járhatnak, melyek befolyásolják a betegek mindennapi életét [23,28]. Ez a krónikus gyulladás hozzájárulhat a szív- és érrendszeri betegségek, a metabolikus szindróma, az elhízás és a gyulladásos bélbetegségek kialakulásához [6,19,23]. Valamint az esetek 10-30%-ában az ízületek gyulladásával járó pszoriázisos artritisz is kialakulhat. Ez a betegség az ízületek porcszövetének eróziójához vezet, és hosszú távon visszafordíthatatlan ízületi károsodásokat okoz [12,18,19,23]. Továbbá, a pikkelysömör akár háromszorosára is növelheti a depresszió és a szorongás kockázatát, ami a bőrtünetekkel járó társadalmi megbélyegzés, illetve a krónikus fájdalom következménye [24,29]. Míg a betegség korai szakaszában a betegek mintegy 75%-ánál a súlyosabb típusú társbetegségek figyelhetők meg, addig azoknál a betegnél, akiknél a pszoriázis később alakul ki, a kevésbé súlyosak a jellemzők [19]. Bár a betegség lefolyása hullámzó és jelenleg nem gyógyítható, a célzott terápiák segítségével az életminőség jelentősen javítható [8]. A társbetegségek összefoglalását a **2. ábra** szemlélteti.

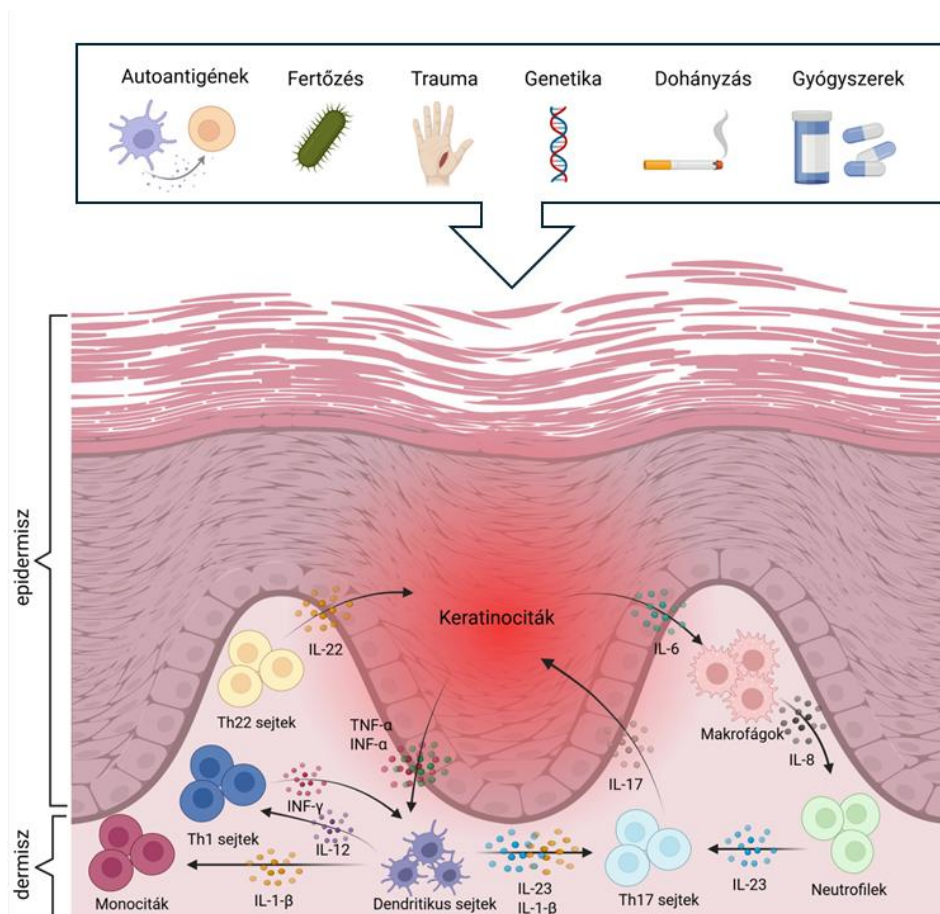


2. ábra: Társbetegségek. (Az ábra BioRenderrel készült.)

2.3. A pikkelysömör immunológiai és molekuláris patogenezeise

A keratinociták kontrollálatlan proliferációja és az immunrendszer diszregulációja a pikkelysömör patogenezisének legfontosabb tényezői, amelyek az abnormális bőrelváltozásokhoz vezetnek [16,29,30]. A betegség autoimmun jellegét adja, hogy a szervezet saját sejtjei aktiválják az immunrendszert [26].

A szervezetben a pikkelysömör kialakulásának két fő fázisa van: kezdeti és fenntartó. A kezdeti fázisban különböző környezeti tényezők, mint a stressz, trauma (pl.: tetoválás), bakteriális vagy vírusos fertőzések (pl.: Streptococcus baktérium okozta torokgyulladás guttált pszoriázis esetén), gyógyszerek (pl.: béta-blokkolók, lítium) és száraz, hideg időjárási körülmények vezethetnek a betegség aktiválódásához [10,19,23,29]. A fenntartó fázisban a betegség fennmaradását biztosítja az immunrendszer krónikus aktivációja, a gyulladásos mediátorok túltermelése és a rendellenes sejtproliferáció. Az immunrendszer több aktív komponense szintén részt vesz a betegség fenntartásában [23]. A dendritikus sejtek, a T-sejtek (különösen a Th17-sejtek) és számos más immunsejt, köztük a neutrofilek, a monociták, a makrofágok és a hízósejtek egyaránt szerepet játszanak a patogenezisben [10,23,26,27]. Ezeket a sejt-interakciókat és immunmechanizmusokat a **3. ábra** szemlélteti.



3. ábra: A pikkelysömör patomechanizmusa a bőrben. (Az ábra BioRenderrel készült.)

Az epidermisz dendritikus sejtjei külső vagy belső ingerek hatására különböző gyulladásos citokineket termelnek, többek között $\text{TNF-}\alpha$, IL-12 és IL-23 citokineket, amelyek elősegítik a naiv T-sejtek Th1 és Th17 sejtekké történő differenciálódását [2,14,19,31]. A Th17 sejtek által termelt IL-17, IL-22 és $\text{INF-}\gamma$ citokinek hozzájárulnak a gyulladásos folyamatokhoz, azáltal, hogy serkentik a keratinociták proliferációját és a neutrofilek bőrbe történő toborzását, így súlyosbítva a gyulladásos állapotot [2,8,29,31]. A Th1 sejtek által termelt $\text{INF-}\gamma$ szintén fenntartja a gyulladásos kaszkádot és a bőrbarrier diszfunkcióját [10,23,30]. A gyulladásos citokinek következtében fokozódik a keratinociták túlzott szaporodása, amely a hámláshoz vezet. Ez növeli a gyulladásos mediátorok ($\text{TNF-}\beta$, IL-1, IL-22 és IL-6) termelését, amelyek pozitív visszacsatolási hurkot hoznak létre, még több gyulladásos sejtet vonzva a bőrbe, így jobban fokozva a gyulladásos válasz intenzitását [10]. Ez a folyamat fokozza az angiogenezist és súlyosbítja a pikkelysömör tüneteit azáltal, hogy növeli a VEGF termelését, hogy kielégítse a gyorsan szaporodó bőrsejtek megnövekedett anyagcsere-igényét [8,26]. Általánosságban elmondható, hogy a veleszületett immunsejtek, különösen a neutrofilek, meghatározó szerepet

játszanak a pikkelysömör kialakulásának korai szakaszában, míg a T-sejtek által dominált adaptív gyulladás a stabil plakkok kialakulására jellemző későbbi szakaszban figyelhető meg.

A különböző jelátviteli útvonalak is kiemelkedő szerepet játszanak a pikkelysömör fenntartásában és súlyosbodásában. Az NF- κ B és a JAK-STAT jelátviteli útvonalak fontosak a gyulladásos környezet szabályozásában a keratinociták túlzott növekedése és az immunsejtek aktiválása révén [23]. Az IL-23/IL-17 tengelynek szintén lényeges szerepe van, mivel az IL-23 fenntartja az IL-17-et és IL-22-t termelő Th17 sejtek aktivitását, elősegítve ezzel a gyulladást és a keratinocita proliferációt [10]. Ezenkívül a szomszédos keratinociták, leukociták és fibroblasztok is kommunikálnak egymással a gyulladás fokozása és fenntartása érdekében [2]. Dióhéjban, az immunsejtek, a citokinek és a keratinociták közötti interakció önfenntartó krónikus gyulladásos ciklust hoz létre, amely a betegség tartós jellegéhez vezet [8].

A pikkelysömör patogenezisének mélyebb ismerete elengedhetetlen az új terápiás célpontok azonosításához, hogy hatékonyabb és célzottabb kezelési stratégiákat lehessen kifejleszteni [4,10]. A jövőbeli célok közé tartozik a pikkelysömör molekuláris mechanizmusainak további feltárása, a genetikai tényezők szerepének pontosabb megértése, valamint személyre szabott kezelések kidolgozása a betegek életminőségének javítása érdekében. Az innovatív terápiák, például a nanotechnológián alapuló terápiás rendszerek alkalmazása új lehetőségeket nyithat meg a kezelés terén. Ezek az új megközelítések hozzájárulhatnak a pikkelysömörben szenvedő betegek állapotának hosszú távú gyógyulásához, és lehetőséget nyújthatnak a betegség hatékonyabb és tartósabb kontrollálására [10,32–34].

2.4. Pszoriázis terápiák és azok korlátai

A pikkelysömör terápiája többféle megközelítést foglal magába, beleértve a lokális és fototerápiát, orális és biológiai terápiákat [1,25]. Mivel ez elsősorban egy bőrbetegség, enyhe és középsúlyos esetekben a helyi terápia az elsődleges választás [25]. A pikkelysömörben szenvedő betegek többsége (80%) hatékonyan kezelhető lokális terápiával [35]. Ezek a kezelések azonban számos kihívást rejtenek, többek között mellékhatásokat, kényelmetlenséget és alacsony beteg-együttműködést, amelyek lényegesen befolyásolják a terápia sikerét.

A jelenleg elérhető lokális terápiák közé tartoznak a kortikoszteroidok, D-vitamin-analógok (kalcipotrién, kalcitriol), retinoidok (tazarotén), valamint a kalcineurin-inhibitorok (pimekrolimusz, takrolimusz) [14,16,36]. Ezeknek a szereknek gyakran vannak mellékhatásaik, ami korlátozza hosszú távú alkalmazásukat. Az egyes készítményekkel kapcsolatos

problémákat az **1. táblázat** foglalja össze [5,36–38]. Ez a helyzet rávilágít arra, hogy nagy szükség van olyan jól tolerálható, minimális mellékhatásokkal járó lokális gyógyszerekre, amelyek hosszú távon is biztonságosan alkalmazhatóak [4,30].

Terápia	Mechanizmus	Mellékhatások	Példák
Kortikoszteroidok [9,12,24,25,35]	A citokinek termelődésének gátlása és a gyulladásos mediátorok csökkentése	Tachyphylaxia, bőratrófia, striák, eritéma	Klobetazol, betametazon, mometazon
D-vitamin-analógok [2,12,17,25,27]	A dendritikus sejtek érésének, a T-sejt-aktivációnak és a keratinocita-proliferációnak a gátlása	Bőrirritáció, égő érzés, eritéma	Kalcipotriol, kalcitriol
Retinoidok [1,9,17,25]	A keratinocita-proliferáció gátlása	Erythema, hámlás, bőrirritáció, égő érzés, viszketés	Tazarotén, tretinoin
Kalcineurin-gátlók [24,25,29,35,39]	A T-sejtek aktivációjának gátlása a kalcineurin enzim gátlásán keresztül	Bőrirritáció, égő érzés, viszketés	Takrolimusz, pimekrolimusz
Keratolítikumok [25,40]	A szaruréteg sejtjei közötti kapcsolat csökkentése az intercelluláris cement feloldásával	Frontális fejfájás, központi idegrendszeri tünetek, metabolikus acidózis	Szalicilsav

1. táblázat: A pikkelysömör topikális kezelése: hatásmechanizmus, mellékhatások és példák.

A kombinált terápia sok esetben eredményesebb lehet a monoterápiánál, mivel egyszerre több patomechanizmust céloz meg. A kortikoszteroidok és a D-vitamin-analógok együttes alkalmazása nemcsak növeli a terápiás hatást, hanem enyhíti a bőrirritáció mértékét is. Hasonlóképpen, a helyi retinoidok és a kalcineurin-gátlók kombinációja fokozhatja a kezelés

hatékonyságát, miközben csökkenti a mellékhatásokat [12,14,17]. Korábbi tanulmányok azt is kimutatták, hogy a szalicilsav javíthatja a kalcineurin-gátlók, a D-vitamin-analógok, illetve a kortikoszteroidok bőrön keresztüli penetrációját, így javítva azok terápiás profilját [41].

A középsúlyos és súlyos esetekben szisztémás terápia válhat szükségessé, amelyek közé tartozik a metotrexát, a ciklosporin és az acitretin [1,17,25]. Bár az újabb biológiai terápiák és a fototerápia terén nagy előrelépések történtek, ezek nem állnak rendelkezésre vagy nem alkalmasak minden beteg számára magas költségük és lehetséges immunológiai mellékhatásaik miatt [33]. A szisztémás gyógyszerek nagyon hatékonyak és átmenetileg enyhíthetik a beteg tüneteit, de a nem kívánt tünetek kockázata sokkal nagyobb, mint a helyi kezeléseknél. Ezt a **2. táblázat** mutatja be. Így a betegség közepesen súlyos és súlyos formáiban a szisztémás és helyi szerek kombinációja lehet szükséges a teljes tünetmentesség eléréséhez [24].

Terápia	Mechanizmus	Mellékhatás	Példák
Dihidrofolát-reduktáz-gátlók [1,2,9,17,25]	A keratinociták és immunsejtek proliferációjának gátlása	Száraz bőr, hajhullás, hepatotoxicitás, bőrrák kockázata, fertőzések	Metotrexát
Retinoidok [1,9,17,25]	A keratinocita-proliferáció gátlása	Hányinger, hepatotoxicitás, fertőzések, xerózis, teratogenitás	Acitretin
Kalcineurin-gátlók [1,2,6,17,39]	A T-sejtek aktivációjának gátlása a kalcineurin enzim gátlásán keresztül	Száraz bőr, szív- és emésztőrendszeri problémák, tremor, leukopénia, hepatotoxicitás, nefrotoxicitás	Ciklosporin
Biológiai terápiák [1,2,9,25]	Citokinek vagy citokinreceptorok gátlása (pl.: IL-12/23, TNF- α , IL-17)	Magas költség, rosszindulatú daganatok és arcbénulás fokozott kockázata	Etanercept, adalimumab, ustekinumab, infliximab
Fényterápia [1,2,6,25,39]	Apoptózison, nekrozison vagy autofágián keresztüli sejthalált idéz elő	Melanóma, fényöregedés, égő érzés, eritéma, bőrvizketés, xerózis	UVB fény, psoralen + UVA fény, fotodinámias terápia

2. táblázat. A pikkelysömör szisztémás kezelése: hatásmechanizmus, mellékhatások és példák.

A kezelés prioritásai közé tartozik a tünetek enyhítése, a bőr állapotának javítása és a betegek mindennapi életének megkönnyítése. Az optimális terápiát egyénileg választják ki, figyelembe véve a betegség súlyosságát, a plakkok elhelyezkedését, a társbetegségeket, a beteg preferenciáit, a korábbi kezelésekre adott válaszokat, valamint a szakértői véleményt [9,29,33]. A beteg adherencia fenntartása továbbra is nagy kihívást jelent. A terápia abbahagyásának okai főként az alacsony hatékonyság, a nem kielégítő kozmetikai eredmények, valamint az elégtelen

orvos-beteg kapcsolat [12,24]. Ezenkívül a hagyományos helyi készítmények gyakran kényelmetlenek, nehezen alkalmazhatók, vagy túl sok időbe telik, mire eléri a kívánt hatást [12,24,29]. A betegek több, mint 50%-a elégedetlen a jelenleg rendelkezésre álló kezelési lehetőségekkel, ami rossz beteg-együttműködéshez vezet [29,42].

Bár a jelenlegi terápiás lehetőségek terén már jelentős előrelépések történtek, a betegek magas elégedetlenségi aránya és az alacsony együttműködési arány arra utal, hogy nagy szükség van egy jól tolerálható, szteroidmentes helyi terápiára [12,35,43]. A nanohordozó rendszereken alapuló stratégiák ígéretes alternatívát kínálhatnak, mivel javítják a hatóanyagok bőrön keresztüli penetrációját, csökkentik a mellékhatásokat, és alacsonyabb dózisokban is hatékony terápiát biztosítanak, melyek mind növelik a betegek elégedettségét. A jövőbeli célok közé tartoznak az olyan terápiás megközelítések kidolgozása, amelyek nemcsak hatásosabbak és biztonságosabbak, hanem jobban alkalmazkodnak a betegek életmódjához és elvárásaihoz is [17].

Az új lokális terápiás lehetőségek között szerepelnek a tapinarof-tartalmú nanogélek, amelyek szteroidmentes szerként ígéretes alternatívát kínálhatnak a jelenlegi kezelésekkel szemben. A tapinarof egy aril-hidrokarbon-receptor (AhR) agonista, amely gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatásokkal rendelkezik, ezáltal segítve a plakkok kialakulásának csökkenését és a gyulladásos folyamatok mérséklését [35,44]. Klinikai vizsgálatok igazolták, hogy ez a hatóanyag hatékonyan javítja a bőrelváltozásokat, hosszú távon jól tolerálható, valamint kedvezőbb mellékhatásprofillal rendelkezik, mint a hagyományos kortikoszteroidok [35]. Ezek alapján potenciálisan új és ígéretes terápiás lehetőséget jelenthet a pikkelysömör kezelésében [44].

2.5. Új terápiás stratégiák a pikkelysömör kezelésére

Az elmúlt évtizedben számos új terápiát fejlesztettek ki a gyulladásos betegségek mögött álló fiziológiai mechanizmusok leküzdésére. Az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatal (Food and Drug Administration) több új hatóanyagot is engedélyezett pikkelysömör kezelésére, amely révén új terápiás lehetőségek váltak elérhetővé. Különösen az IL-17 és IL-23 antagonisták, az orális TYK2 inhibitorok és a helyileg alkalmazott hatóanyagok, mint a PDE4 inhibitorok és az AhR agonisták mutattak jelentős klinikai hatékonyságot. A **3. táblázat** összefoglalja a közelmúltban FDA által jóváhagyott hatóanyagokat, részletesen bemutatva azok alkalmazási területeit, gyógyszerosztályait és indikációit [45–48].

Hatóanyag (Kereskedelmi név)	Alkalmazás módja	Gyógyszer- osztály	Indikáció	FDA engedélyezés éve
Bimekizumab (Bimzelx) [49–51]	szubkután injekció	IL-17A, IL-17F antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2023
Deucravacitinib (Sotyktu) [45,52– 55]	orális alkalmazás	TYK2 gátló	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2022
Roflumilast (Zoryve) [56–59]	lokális alkalmazás	PDE4 gátló	enyhe–középsúlyos plakkos pszoriázis	2022
Tapinarof (Vtama) [29,40,60]	lokális alkalmazás	AhR agonista	enyhe–középsúlyos plakkos pszoriázis	2022
Risankizumab (Skyrizi) [45,46,61,62]	szubkután injekció	IL-23 antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2019
Certolizumab pegol (Cimizia) [63–66]	szubkután injekció	TNF- α blokkoló	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2018
Tildrakizumab (Ilumya) [67–70]	szubkután injekció	IL-23 antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2018
Guselkumab (Tremfya) [71–74]	szubkután injekció	IL-23 antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2017
Brodalumab (Siliq) [45,75–77]	szubkután injekció	IL-17A antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2017
Ixekizumab (Taltz) [45,78–80]	szubkután injekció	IL-17A antagonista	középsúlyos– súlyos plakkos pszoriázis	2016

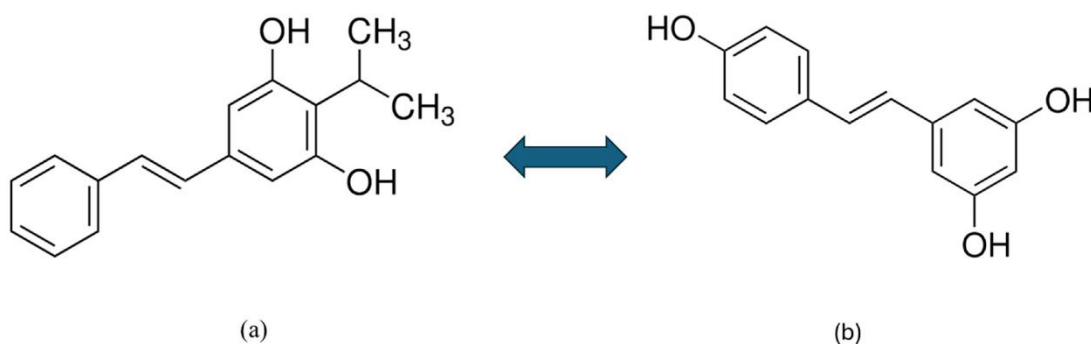
3. táblázat: Az FDA által nemrégiben jóváhagyott új hatóanyagok.

2.6. Tapinarof

2.6.1. A tapinarof szerkezeti tulajdonságai és farmakológiai jelentősége

A tapinarof kémiai tulajdonságai meghatározó jelentőséggel bírnak a farmakológiai alkalmazása szempontjából. Szilárd fehér por, kémiai képlete $C_{17}H_{18}O_2$, molekulatömege 254,32 g/mol [81,82]. Oldhatósága DMSO-ban 2 mg/ml, vízben oldhatatlan, ami kihívást jelent a gyógyszer technológiai fejlesztések során [83]. A stabilitási vizsgálatok kimutatták, hogy vizes közegben bomlik, a bomlási folyamat pedig fokozódik magas hőmérsékleten és UVA sugárzás hatására. Szobahőmérsékleten 48 óra elteltével pH 7,4-es vizes oldatban, molekuláris oxigén jelenlétében körülbelül 50%-os degradációt figyeltek meg [84].

A tapinarof a polifenolok csoportjába tartozik, azon belül is a fenolos transz-sztilbének közé, amelyeket baktériumok termelnek. Szerkezetileg és funkcionálisan is eltér a növényi eredetű polifenoloktól, például a rezveratroltól. A tapinarof azonban a rezveratrol izopropil-analógjának tekinthető, amint azt a **4. ábra** mutatja. A tapinarof és szerkezetileg rokon vegyületei – rezveratrol, pterosztilbén és pinocilvin – széles körben vizsgált anyagok [84,85]. A természetes sztilbéneket számos növény termeli különböző stresszhatásokkal szembeni védekezési mechanizmusként, mint a túlzott UV-sugárzás, a hőstressz, a rovarok általi támadás, valamint a gombás vagy bakteriális fertőzések [84].



4. ábra: A tapinarof (a) és a rezveratrol (b) kémiai szerkezete.

Bár a tapinarof és a rezveratrol szerkezetileg hasonló vegyületek, biológiai aktivitásuk jelentősen eltér [85]. A rezveratrol számos növény (szőlő, dió és bogyós gyümölcsök) által termelt természetes fenolos vegyület, amely részleges agonistaként hat az AhR-re. Kutatások kimutatták, hogy a rezveratrol képes enyhíteni az imikimod által egerekben kiváltott pikkelysömörszerű dermatitist az IL-17A és IL-19 csökkentésével [31]. A tapinarof közvetlenül aktiválja az AhR útvonalat, azonban a rezveratrol csak gyengén vagy alig képes

erre. E különbségekhez valószínűleg hozzájárul a vegyületek eltérő eredete is (bakteriális vs. növényi). Profilvizsgálatok rámutattak arra is, hogy a két vegyület eltérő módon lép kölcsönhatásba az AhR-ARNT komplexszel, ami meghatározó biológiai hatásuk szempontjából. Ez által feltételezhető, hogy a tapinarof specifikusabb és hatékonyabb mechanizmussal aktiválja az AhR-t, mint a rezveratrol [85].

2.6.2. A tapinarof mint új nem szteroid AhR modulátor

A tapinarof (WBI-1001), más néven benvitimod vagy GSK2894512, egy nem-szteroid gyulladáscsökkentő vegyület, mely jelentős hatással van az immunválasz szabályozására [4,10,16,86,87]. Ez egy új, lokálisan alkalmazható hatóanyag, amely az aril-hidrokarbon-receptorokat célozza meg, ezeken keresztül fejti ki antioxidáns hatását, szabályozza a bőrgátfehérjék expresszióját és a citokintermelést [11,12,88]. A tapinarof az AhR-hez kötődve módosítja a bőrbarrier fehérjék expresszióját, ezáltal csökkenti a bőr gyulladását és elősegíti a bőrbarrier funkciójának helyreállítását. Hatásmechanizmusa révén gátolja a Th17 sejtek differenciálódását és csökkenti az IL-17, IL-22 és IL-23 gyulladásos citokinek expresszióját. Ezenkívül antioxidáns hatása révén enyhíti az oxidatív stresszt is [11,88,89]. Az AhR szerepe döntő fontosságú ebben a betegségben. A tapinarof és más AhR-modulátorok új perspektívákat nyithatnak a pikkelysömör és más gyulladásos bőrbetegségek kezelésében [16,88,90].

Ezt a vegyületet eredetileg Kínában fejlesztették ki, hatékonyságát és biztonságosságát egy átfogó klinikai vizsgálati program keretein belül értékelték. A készítményt napi kétszeri alkalmazásra optimalizálták, és saját fejlesztésű segédanyagokat tartalmaz, amelyek fokozzák a helyi hatékonyságot [11,16,91,92]. Az FDA 2022 májusában jóváhagyta a tapinarof 1%-os krém felnőtt plakkos pikkelysömörének helyi kezelésére [91,93,94].

Egyedülálló mechanizmusának köszönhetően klinikai vizsgálatok során kiváló hatékonyságot és kedvező tolerálhatóságot mutatott [28,88,95]. Akár benvitimod, akár tapinarof néven kerül forgalomba, a készítménybeli különbségek ellenére ez az innovatív molekula ígéretes lehetőséggé válhat a plakkos pikkelysömör kezelésében [90].

2.6.3. A tapinarof biológiai eredete

A tapinarof egy természetes, nem növényi eredetű polifenol, amelyet a *Photorhabdus luminescens* nevű baktérium termel [13,86,96]. Ez egy biolumineszcens, Gram-negatív baktérium, mely szimbiózisban él a *Heterorhabditis* nemzetségbe tartozó fonálféreggel

[28,35,87]. A fonálféreg a bélrendszerükben hordozza ezt a baktériumot, amelyet a rovarokba ürítenek. Ez a baktérium olyan metabolitokat termel, amelyek elpusztítják a gazdaszervezetet, így optimális környezetet biztosítanak a fonálféreg fejlődéséhez. Megfigyelések alapján a fonálféreggel fertőzött rovarok haláluk után nem bomlottak le olyan gyorsan, mint azok, amelyeket nem ért fonálféreg-fertőzés [13,16].

A tapinarof felfedezése a *P. luminescens* másodlagos metabolitjainak véletlenszerű vizsgálata során történt. Az első megfigyelések 1959-re nyúlnak vissza, amikor Dutky és munkatársai [97] észrevették, hogy a fonálféreggel fertőzött rovarok nem bomlottak le gyorsan, ellentétben azokkal, amelyek nem voltak kitéve a parazitának [12,13]. Ez a jelenség arra utalt, hogy a *P. luminescens* olyan metabolitokat termelhet, amelyek antibiotikus és gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkeznek, ezáltal gátolják a fertőzött gazdaszervezet gyors lebomlását, és felelősek a megfigyelt jelenségért [28,93].

A kutatók izolálták és azonosították a *P. luminescens* által termelt bioaktív molekulát, amelyet 3,5-dihidrox-4-izopropil-sztilbénnek (más néven tapinarofnak) neveztek el [16,95]. A későbbi kutatások részletesen jellemezték a vegyületet, amelyről kimutatták, hogy az aril-hidrokarbon receptorhoz (AhR) kötődve immunmoduláló és gyulladáscsökkentő hatást fejt ki [16,86]. Ennek köszönhetően megindult a vegyület gyógyszerészeti fejlesztése, amelynek eredményeként végül a pikkelysömör és más bőrbetegségek helyi kezelésére szolgáló terápiává vált.

2.6.4. Az AhR aktiváció szerepe és a tapinarof terápiás potenciálja a gyulladásos bőrbetegségek kezelésében

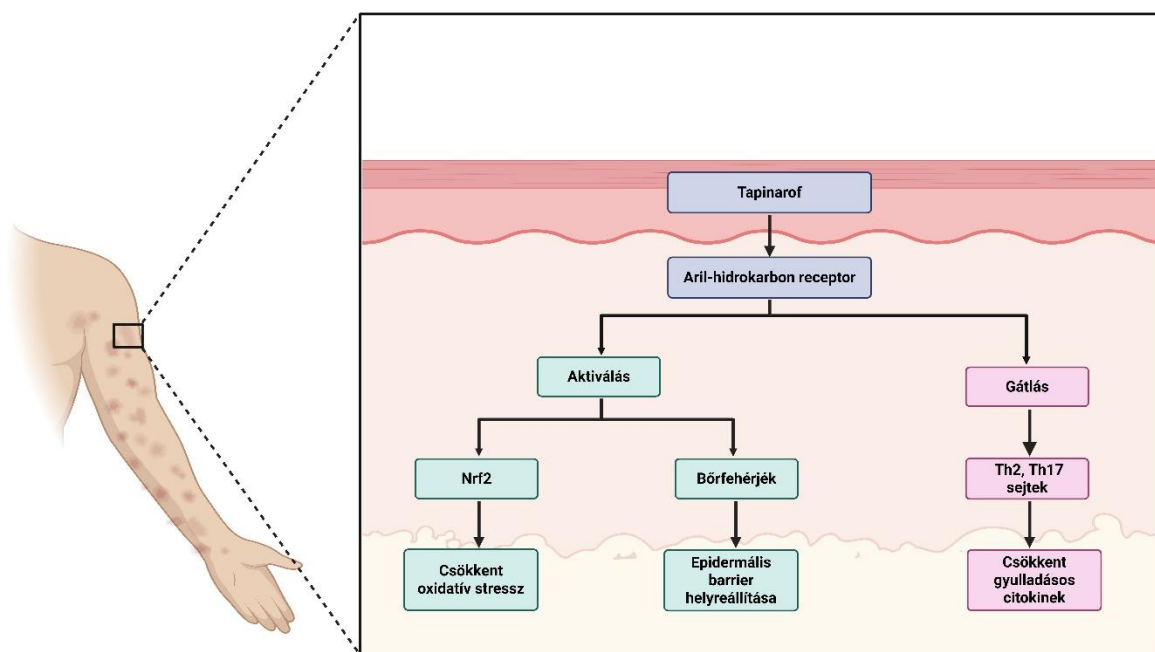
Az aril-hidrokarbon receptor egy citoplazmatikus, ligandumfüggő transzkripció faktor, amelyet számos exogén és endogén ligandum aktivál [38,89,96]. Széles körben expresszálódik a bőr különböző sejtjeiben, beleértve a keratinocitákat, fibroblasztokat, hízósejteket és melanocitákat, ahol kémiai szenzorként működik, a külső és belső ingereket biológiai válaszokká alakítva [14,38,94]. Egészséges bőrben az AhR jelátvitel elengedhetetlen a bőr homeosztázisának fenntartásában, az immunválasz szabályozásában, valamint a gyulladásos folyamatok modulálásában [38,89,96].

Pszoriázis esetén az AhR expressziója megváltozik, ami befolyásolja a betegség patogeneziséhez. Az AhR aktiválása szabályozza a T-helper sejtek (Th17 és Th22) terminális differenciálódását és az IL-17 és IL-22 citokinek termelődését, amelyek felelősek a krónikus gyulladás fenntartásáért [24,28,35,85].

Az AhR-t exogén ligandumok, például környezeti toxinok (pl.: 2,3,7,8-tetraklórdibenzo-p-dioxin) és endogén ligandumok, például triptofán-származékok aktiválhatják [26,28,89,91]. Miután az AhR megköti a ligandumot, az AhR–ligandum komplex a sejtmagba transzlokálódik, ahol dimerizálódik az AhR nukleáris transzlokátorral (ARNT). A létrejött AhR–ligandum–ARNT komplex specifikus DNS-szekvenciákhoz kötődik, ezáltal génexpressziót indít el, és befolyásolja a bőr barrierfunkcióját, a keratinociták differenciálódását, valamint az immunsejtek aktivitását [28,31,92,96].

Mivel az AhR aktivációja szorosan összefügg a bőr gyulladásos és immunológiai folyamatainak szabályozásával, az AhR agonisták ígéretes terápiás célpontot jelentenek a gyulladásos bőrbetegségek kezelésében [13,28,29,35,92]. In vitro és in vivo vizsgálatok kimutatták, hogy az AhR hiánya fokozott gyulladásos választ idéz elő, amely megnövelheti a proinflammatorikus citokinek termelését és érzékenyebbé teheti a bőrt a gyulladásos folyamatokra [16,31]. Továbbá, mivel a keratinociták proliferációja és differenciációja központi szerepet játszik a pikkelysömör kialakulásában, a keratinocita hiperproliferáció gátlása szintén hatékony terápiás megközelítésnek számít a betegség kezelésében [38].

Az AhR aktiválása révén a tapinarof gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatása érvényesül, mely elősegíti a bőr regenerációját és a bőr homeosztázisának fenntartását (**5. ábra és 4. táblázat**) [43,60,85,95]. Csökkenti az IL-17 és IL-22 gyulladásos citokinek termelődését [13,60,85]. Ezek a citokinek lényeges szerepet játszanak a keratinociták proliferációjában, így gátlásuk hozzájárul a túlzott sejtosztódás visszaszorításához és a normál bőrszerkezet helyreállításához. Ennek következtében nemcsak a gyulladásos tünetek enyhítésében játszanak szerepet, hanem a bőr hosszú távú egészségét is támogatják [31,35,95].



5. ábra: Az aril-hidrokarbon receptor szerepe a tapinarof hatásmechanizmusában. (Az ábra BioRenderrel készült.)

Ezenfelül a tapinarof fokozza a pikkelysömör esetén csökkent expressziójú bőrbarrier fehérjék, például a filaggrin és a lorikrin termelését, ezáltal segíti a bőr barrierfunkciójának normalizálását [60,89,93]. Emellett az immunsejtek és a bőrsejtek génexpressziójának szabályozása révén hozzájárul a bőrfunkció fenntartásához [28,31,35,85].

A tapinarof rendelkezik antioxidáns tulajdonságokkal is, részben saját kémiai szerkezetének, részben pedig a Nrf2 útvonal aktiválásának köszönhetően [37,86,93]. A 4'-OH csoport jelenléte szintén hozzájárul a sztilbenolok antioxidáns aktivitásához [86]. Továbbá a molekula két fenolos csoportot is tartalmaz, amelyek közvetlenül semlegesítik a reaktív oxigénfajokat (ROS): a szuperoxid-anionokat és a hidroxil-gyököket. Az AhR-Nrf2 transzkripció faktor útvonal aktiválásával elősegíti az antioxidáns enzimek, mint a NADPH-kinon-oxidoreduktáz 1 (NQO1) és a hem-oxigenáz-1 (HO-1) expresszióját, így csökkentve az oxidatív stresszt. Ez a kettős hatás hozzájárulhat a pszoriázishoz társuló sejtkárosodások mérsékléséhez [88,89,91,98].

A tapinarof antimikrobiális hatással is rendelkezik, különösen Gram-pozitív baktériumokkal és gombákkal szemben, ami elősegítheti a bőr mikrobiomjának egyensúlyát és a bőr állapotát [95].

Hatás	Mechanizmus
Gyulladáscsökkentő hatás	Csökkenti a pikkelysömör patogenezisében szerepet játszó Th2 citokinek (IL-4, IL-13) és Th17 citokinek (IL-17A, IL-17F) expresszióját.
A bőr barrier funkciójának javítása	Növeli a bőr barrier fehérjéinek (filaggrin, lorikrin, involucrin) és a ceramid bőr lipidek expresszióját, segítve a bőr barrier funkciójának normalizálódását.
Antioxidáns hatás	Aktiválja az Nrf2 útvonalat és csökkenti a reaktív oxigénszármazékok szintjét, hozzájárulva az oxidatív stressz csökkentéséhez és a bőr antioxidáns válaszához.

4. táblázat: A tapinarof molekuláris útvonalai [13,29,98].

2.6.5. A tapinarof vizsgálati eredményei

A tapinarof az első olyan AhR-agonista hatóanyag, amelyet az FDA a pikkelysömör kezelésére jóváhagyott, és jelenleg atópiás dermatitisz kezelésében is vizsgálják [93,98–100]. Jelenleg kizárólag krém formájában érhető el. Hatékonyságát és biztonságosságát az elmúlt években több preklinikai és klinikai vizsgálatban értékelték, különösen a pikkelysömör esetében [12,30,35,60].

2.6.5.1. Preklinikai vizsgálatok

Preklinikai vizsgálatok szerint a tapinarof hatásmechanizmusa erősen függ az AhR jelenlététől, és megerősítették gyulladáscsökkentő hatását is, amely kiváló alapot adott klinikai fejlesztéséhez [29,85].

Hatását imikimod által indukált pszoriázisos egérmodellben vizsgálták, ahol az 1%-os tapinarof krém helyi alkalmazása enyhítette a pszoriázisos tüneteket és csökkentette az IL-17A expressziót vad típusú egerekben [101]. Valamint csökkentette a pro-inflammatorikus citokinek szintjét és a gyulladás klinikai jeleit IMQ-indukált pikkelysömör és lipopoliszacharid által kiváltott fülödéma modellben is [29,31,85,91].

Biztonságossági profilját szintén megvizsgálták: a 8% tapinarof krémmel végzett irritációs teszt során tengerimalacokon nem mutatott jelentős bőrirritációt. Bár a szoptatás és a terhesség alatti alkalmazás kockázatairól jelenleg emberi adatok nem állnak rendelkezésre, az

állatkísérletek kimutatták a tapinarof jelenlétét az anyatejben, azonban teratogenitásra nincs bizonyíték [29].

Zhu és munkatársai két egérmodellen vizsgálták a tapinarof hatásait imikimod és interleukin-23 által kiváltott pikkelysömörben. Megfigyelték, hogy a tapinarof enyhítette az IMQ által kiváltott pikkelysömörszerű dermatitist, csökkentette a keratinocita proliferációt, az epidermális megvastagodást, valamint normalizálta a keratinociták differenciálódását. Ezzel szemben az IL-23-indukált modellben paradox módon fokozta a gyulladást. Az IL-23 modellben a tapinarof kezelés az epidermisz vastagságának növekedéséhez és differenciált epiteliális diszplázia kialakulásához vezetett [102].

Urashima és társai viszont ezzel ellentétes eredményeket közöltek. Kimutatták, hogy a tapinarof elnyomta az IL-23 által kiváltott pikkelysömörszerű dermatitist egerekben, csökkentve a fülvastagságot, a gyulladásos sejtek infiltrációját és a proinflammatorikus citokinek expresszióját [14]. A két tanulmány fő különbsége a tapinarof adagolásának időzítésében rejlett. Zhu és munkatársai a tapinarofot profilaktikus kezelésként alkalmazták (az IL-23 injekcióval egyidejűleg) [102], míg Urashima és munkatársai a gyulladás kialakulása után kezdték meg a kezelést [14]. Ez az időbeli eltérés magyarázhatja az eltérő eredményeket, ami arra utal, hogy a tapinarof immunmoduláló hatása kontextusfüggő és a betegség stádiumától függően változhat.

Végző soron az egérmodellekben a tapinarof-kezelés csökkentette a keratinociták proliferációját és a gyulladásos citokinek expresszióját, ami a pikkelysömörre jellemző elváltozások enyhüléséhez vezetett. Emellett antioxidáns tulajdonságai révén mérsékelte a keratinocitákban képződő reaktív oxigénfajok szintjét, ami tovább csökkentette a gyulladást [31].

2.6.5.2. Klinikai vizsgálatok

Egy II. fázisú klinikai vizsgálat során 227 felnőtt (18 és 65 év közötti) plakkos pikkelysömörben szenvedő beteget randomizáltak, akik naponta egyszer vagy kétszer 1% vagy 0,5% koncentrációjú tapinarof krémet kaptak, illetve a hatékonyság és biztonság értékelése érdekében összehasonlították őket a placebo csoporttal [12,29,35,88]. A kezelés sikerességét a PGA és PASI pontszámok alapján határozták meg [29,31]. A 12. hét végére azok aránya, akiknél a PGA értékelés szerint a bőr "tisztá" vagy "majdnem tisztá" volt, szignifikánsan magasabb volt a 1%-os tapinarofot alkalmazó csoportban (napi kétszeri alkalmazás esetén 65%, napi egyszerinél 56%) a kontrollcsoportéhoz képest (kétszeri alkalmazás: 11%, egyszeri

alkalmazás: 5%) [35,91,93]. A PASI-50 és PASI-75 válaszadási arányok szintén szignifikánsan magasabbak voltak a tapinarof csoportban (PASI-50: 71–92%, PASI-75: 46–65%) a placebo csoporthoz viszonyítva (PASI-50: 10–32%, PASI-75: 5–16%) [10,12,29,35].

A két nagy, 12 hetes III. fázisú klinikai vizsgálat (PSOARING 1 és PSOARING 2) összesen 1025 felnőtt beteget (18–75 év közötti) vizsgált, akik közepesen súlyos vagy súlyos pikkelysömörben szenvedtek [29,60,91]. Az eredmények megerősítették a korábbi megfigyeléseket, miszerint a tapinarofot alkalmazó betegek PGA- és PASI-pontszámai javultak a kontrollcsoporthoz képest [10,16,60,91]. Ezekben a vizsgálatokban a 1%-os tapinarof krém napi egyszeri alkalmazása jelentősen csökkentette a PASI-pontszámokat [10,16,35,95]. A 12. hét végére a PGA végpontot a tapinarof csoportban a betegek 35,4–40,2%-a érte el, míg a kontrollcsoportban ez csupán 6,0–6,3% volt [13,16,31]. A PASI-75 javulási arány a tapinarof csoportban 36,1–47,6% volt, míg a kontrollcsoportban csak 6,9–10,2% [29,60,93]. Összességében a résztvevők 85,8%-a nyilatkozott úgy, hogy a tapinarof megkönnyítette számukra a pikkelysömör kezelését, és 62,9% állította, hogy a gyógyszer nemcsak megtisztította a bőrüket, hanem a megelőzte kiújulást is [35,60].

2.6.5.2.1 Hosszú távú biztonsági vizsgálatok

A PSOARING 3 vizsgálatban 763 olyan beteg vett részt, akik korábban már részt vettek a PSOARING 1 vagy 2 vizsgálatban, és akik a vizsgálatok kezdetétől a PSOARING 3 vizsgálat végéig legfeljebb 52 héten át kaphattak tapinarofot [12,60,91,99]. A 40 hetes fázis célja a tapinarof hosszú távú hatékonyságának, biztonságosságának és a remisszió fenntartó képességének értékelése volt [12,29,35]. A vizsgálat során 1%-os tapinarof krémet hosszú távon, szakaszosan alkalmazták, a kezelés 12 hétig tartott, majd ezt 4 hetes szünet követte [29,91,99]. A betegek összesen 40,9%-a érte el legalább egyszer a teljes bőrtisztaságot (PGA pontszám = 0), és azok közül, akik a vizsgálat kezdetén aktív betegséggel rendelkeztek (PGA pontszám ≥ 2), 58,2% érte el egy vagy több alkalommal a PGA pontszám = 0 értékét [12,29,91,93]. A PSOARING 3 vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a tapinarof kezelés nemcsak tartós javulást eredményezett, hanem segített a betegeknek a tünetmentes állapot fenntartásában a terápia abbahagyása után akár négy hónapig is. A hosszú távú klinikai vizsgálatok alacsony visszaesési arányt mutattak a tapinarof esetében, ami arra utal, hogy a tapinarof nemcsak csökkenti a tüneteket, hanem ily módon hozzájárulhat a remisszió hosszabb fenntartásához is [12,29,93,99]. Ezenkívül hosszabb használat esetén nem figyeltek meg tachifilaxiát [13,29,99].

2.6.5.2.2 Farmakokinetika

Farmakokinetikai vizsgálatok alapján az 1%-os és 2%-os tapinarof krém is alacsony transzdermális felszívódással rendelkezett [35]. A vérben mért a legmagasabb koncentrációt a kezelés első napján figyelték meg, majd ez jelentősen csökkent, ami minimális szisztémás expozíciót eredményezett. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a kezelés megkezdésekor a pszoriázisos elváltozások miatt károsodott bőrbarrier megkönnyíti a felszívódást, ami elősegítheti a korai terápiás hatékonyságot. A tapinarof azonban a terápia során aktiválja az AhR-t, ami fokozza a bőrbarrier fehérjék, például a filaggrin, a lorikrin és az involukrin expresszióját. Ennek következtében a bőrbarrier idővel fokozatosan helyreáll, tovább csökkentve a szisztémás felszívódást anélkül, hogy csökkentené a helyi hatékonyságot [29,35,93,103].

Vagyis a szisztémás mellékhatások kockázata alacsony, és sem jelentős gyógyszer–gyógyszer interakcióról, sem kardiovaszkuláris hatásról nem számoltak be [13,35]. A gyógyszer főként a májban metabolizálódik a CYP1A2 és CYP3A4 enzimeken keresztül, míg az oxidáció, szulfatáció és glükuronidáció a hepatocitákban zajlik, valamint a gyógyszer erősen kötődik a plazmafehérjékhez (~99%) [29,35,91].

2.6.5.2.3 Mellékhatások

A kezelés során a leggyakrabban jelentett mellékhatás a follikulitisz volt [87,93,99]. Előfordult még kontakt dermatitisz [16,30,91], felső légúti fertőzés [10,12,60], fejfájás [10,16,93] és viszketés is [29,60,93]. Ritkábban orrgaratgyulladás, influenza, urtikária és gyógyszer okozta bőrkíütés jelentkezett [29]. A mellékhatások túlnyomó többsége enyhe vagy közepes súlyosságú volt, és csak kis mértékben vezetett a kezelés abbahagyásához [30,35,91,95].

Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a VTAMA (1%-os tapinarof krém) általában jól tolerálható a pikkelysömörös betegek körében. A legtöbb mellékhatás enyhe vagy közepes volt, és a krém hosszú távú alkalmazása sem mutatott újabb biztonsági kockázatokat [13,60,93].

Jelenleg is zajlanak klinikai vizsgálatok a gyermekpopulációban (2–17 év között), melyek során minden résztvevő naponta egyszer 1%-os tapinarof krémet kap [104]. Ez azért fontos, mert a pikkelysömörös esetek körülbelül 25%-a 18 éves kor előtt jelentkezik [29,95]. Vizsgálatokat végeztek atópiás dermatitiszben is, és az eredmények azt mutatják, hogy a tapinarof 2 év feletti gyermekek számára biztonságosnak tekinthető [105–108]. Azonban

további kutatásokra van szükség a termék biztonságosságának értékeléséhez terhes betegeknél [29,95].

Ghani és munkatársai a tapinarofot egy másik új helyi hatóanyaggal, a roflumilasztal hasonlították össze a biztonságosság és a hatékonyság szempontjából. Eredményeik alapján a tapinarof gyakrabban, de kevésbé súlyos mellékhatásokkal (follikulitisz és kontakt dermatitisz) járt, míg a roflumilaszt ritkábban, de súlyosabb mellékhatásokkal (hasmenés, fejfájás és álmatlanság) járt. További összehasonlító klinikai vizsgálatokra van szükség annak megállapításához, hogy melyik szer hatásosabb és költséghatékonyabb hosszú távon [109].

A további kombinált kezelési lehetőségek azonban továbbra is vizsgálatok tárgyát képezik. Folyamatban vannak a kutatások annak értékelésére, hogy a tapinarof más terápiás módszerekkel, például biológiai szerekkel vagy más helyi készítményekkel kombinálva javíthatja-e a kezelés hatékonyságát és tartósságát [12,35].

Ezzel párhuzamosan olyan vizsgálatok is zajlanak, amelyek a Teva Pharmaceuticals USA által fejlesztett 1%-os tapinarof krém terápiás egyenértékűségét értékeli a Dermavant Sciences által már jóváhagyott VTAMA tapinarof krémmel szemben felnőtt plakkos pikkelysömörben szenvedő betegeken [110]. Különálló tanulmányok is vizsgálták a VTAMA (tapinarof) krém 1%-os készítményének hatékonyságát és biztonságosságát intertriginózus pikkelysömörben szenvedő betegeknél [111].

Összefoglalva, a klinikai vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a 1%-os tapinarof krém napi egyszeri alkalmazása biztonságos és hatékony enyhe-közepes súlyosságú pikkelysömör kezelésére akár egy éven keresztül is [13,99]. Kedvező klinikai profilja miatt ideális terápiás lehetőséget jelenthet, különösen azok számára, akik nem reagálnak jól más kezelésekre, vagy akik hosszú távú, fenntartható, szteroidmentes terápiát keresnek [16,30,35].

2.7. Nanotechnológia a bőrgyógyászatban

A nanotechnológia egy olyan tudományterület, amely a nanoméretű (1–100 nm) anyagok fejlesztésére, szintézisére és jellemzésére összpontosít, ezzel új lehetőségeket teremtve a gyógyszeradagolás területén [8,17,112]. Az elmúlt évtizedekben egyre nagyobb érdeklődés mutatkozott a dermális terápiák nanotechnológiai megoldásai iránt, különösen a nanorészecskés gyógyszerhordozó rendszerek fejlesztésében, amelyek az 1990-es évek óta meghatározó szerepet töltenek be [33,113–115]. A nanorészecskék gyógyszerhordozásban történő alkalmazása értékes lehetőséget kínál a különböző gyógyszerek terápiás

hatékonyságának javítására, valamint innovatív megközelítést nyújt a pikkelysömör kezelésében [32,33].

A gyógyszerészeti nanotechnológia egyik legfontosabb célja a terápiás és biokompatibilis gyógyszerhordozók nanoformában történő alkalmazása [116]. A nanohordozók lehetővé teszik a hatóanyagok célzott szállítását, ami növeli biológiai hozzáférhetőségüket, így javítva a terápiás hatékonyságot [8,112,117].

A nanopartikulumok kiemelt szerepet töltenek be a topikális készítmények fejlesztésében, mivel nagy felületük elősegíti a bőrbe való behatolást, a hatóanyag bőrben való megtartását és az elnyújtott felszabadulását [41,112,116]. Hatékonyságuk nagyban függ a bőrbarrieren való áthatolásától, amelyet olyan paraméterek befolyásolnak, mint a részecskeméret, a molekulatömeg, a felületi töltés és a pH [33,112,116]. A hagyományos gyógyszerformák, mint a krémek és kenőcsök, gyakran korlátozott permeációval rendelkeznek, ami megnehezíti a gyógyszerek bőrön keresztüli bejutását [9]. Ezzel szemben a nanotechnológia megkerüli ezt az akadályt a részecskeméret csökkentésével, ami nagyban javítja a gyógyszerek penetrációját a szarurétegen keresztül, és lehetőséget nyújt a gyógyszerek célzott szállítására a bőr mélyebb rétegeibe [18,33,116].

A nanoméretű gyógyszerhordozók alkalmazásának egyik legfontosabb előnye, hogy elősegítik a fokozott bőrpenetrációval rendelkező dermális gyógyszeradagolást, amely során a hatóanyag hatékonyan eljut a bőr mélyebb rétegeibe anélkül, hogy szignifikáns szisztémás felszívódás következne be [18,118]. Ez kiemelt jelentőséggel bír krónikus gyulladásos bőrbetegségek esetén, ahol a terápiás célpontok nem kizárólag a bőrfelszínen helyezkednek el [18,119]. A nanohordozók ezen tulajdonsága lehetővé teszi a lokális biológiai hozzáférhetőség javítását, a hatóanyag bőrben történő akkumulációját és a terápiás hatékonyság fokozását [120].

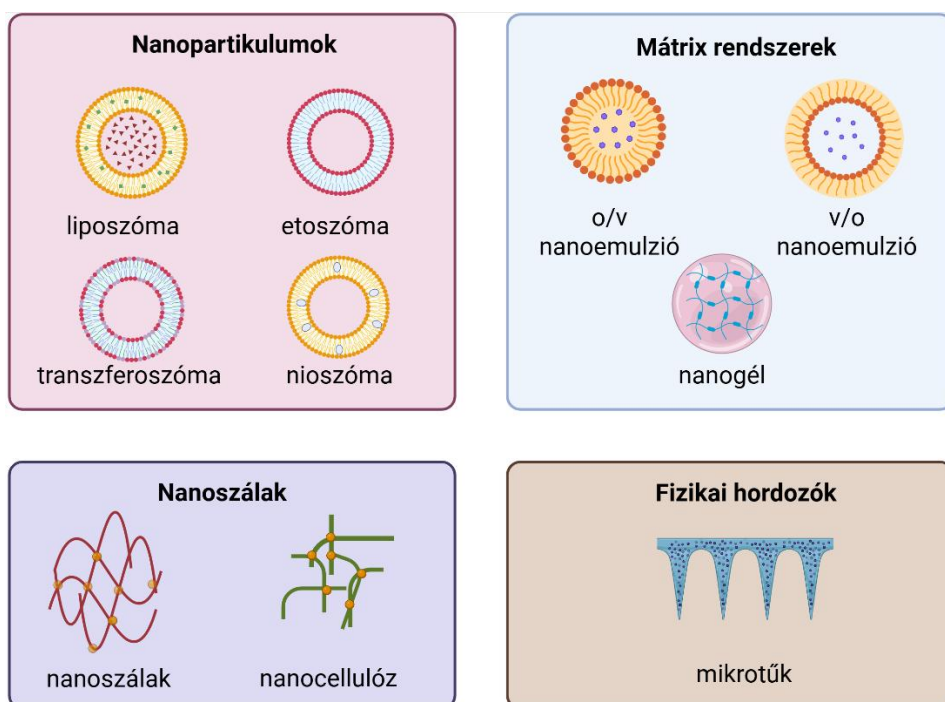
Ezenkívül a nanohordozókba zárt gyógyszerek védve vannak a lebomlástól, növelve a hatóanyag felezési idejét és minimalizálva a szisztémás toxicitást [18,27,39]. Továbbá nagy felületük elősegíti a hatóanyagok oldékonyságát is [33,117,121]. Ez kiemelten fontos a hidrofób gyógyszerek esetében, mivel a fejlesztés alatt álló új molekulák jelentős része lipofil jellegű és gyenge vízdékonysággal rendelkezik, ami korlátozza biológiai hozzáférhetőségüket és a gyógyszerbevitel hatékonyságát [113]. A piacon lévő gyógyszerek körülbelül 40%-a, a fejlesztés alatt álló molekulák közel 90%-a rosszul oldódik vízben, ami gyakran a terápiás sikertelenség egyik fő oka [113,122,123]. A nanotechnológia forradalmasította ezt a területet, mivel a nanorészecske-alapú gyógyszerkészítmények jelentősen fokozzák a gyógyszerek oldódási sebességét, permeációját és terápiás hatékonyságát [113,122]. Ez előnyös a helyi

gyógyszerbevitel esetén, ahol a stratum corneum a fő korlátozó tényező, mely elsődleges akadályt jelent a gyógyszer bejutása előtt [2,116,124]. A nanotechnológián alapuló készítmények kiváló lehetőséget adnak a korlátozott vízdékonyságú gyógyszerek célzott és hatékony fokozott bőrpenetrációval rendelkező dermális adagolására [113,117,122].

A pikkelysömör kezelésére használt hatóanyagok (kortikoszteroidok, retinoidok és immunmodulátorok) gyakran korlátozott bőrpenetrációval rendelkeznek és súlyos mellékhatásokat okozhatnak [8,116]. A nanoméretű gyógyszerhordozók esélyt kínálnak ezen a problémák megoldására [8,18].

2.7.1. Nanohordozók

Az elmúlt évtizedekben több új generációs nanorészecske-hordozó jelent meg, amelyek új opciót kínálnak a pikkelysömör helyi kezelésére. A nanorészecske-hordozók négy fő kategóriába sorolhatók: nanorészecskék, nanoszálak, fizikai hordozók és mátrix nanohordozók (6. ábra) [8,125]. Ebben a bekezdésben a kísérleti pikkelysömör-kezelésekben leggyakrabban használt nanorészecske-típusok előnyeit, korlátait és alkalmazhatóságát értékeljük.



6. ábra: Nanorészecske-hordozók típusai. (Az ábra BioRenderrel készült.)

2.7.1.1. Nanorészecskék

2.7.1.1.1 Vezikuláris hordozók

A liposzómák, nioszómák, transzferoszómák és etoszómák mind vezikuláris hordozórendszerek [125].

A liposzómák nanoméretű, foszfolipid alapú vezikuláris struktúrák, amelyek spontán módon alakulnak ki vizes közegben, és széles körben használják őket biokompatibilis, alacsony toxicitású nanohordozóként a gyógyszerek oldhatóságának, kontrollált felszabadulásának és célzott bőrbe juttatásának javítására [8].

Egy friss tanulmányban a Walunj és munkatársai által kifejlesztett ciklosporinnal töltött kationos liposzómák 93%-os befogási hatékonyságot értek el, ~111 nm részecskemérettel és +41 mV zéta-potenciállal. A liposzómális gél in vivo alkalmazása csökkentette a pikkelysömörrel kapcsolatos tüneteket egy IMQ-indukált egérmodellben. A kezelés az IL-22 3,40-szeres, az IL-17 1,47-szeres és a TNF- α 1,71-szeres csökkenését eredményezte. Jelentős javulás volt megfigyelhető a PASI-pontszámokban, a fül vastagságában és a lép/testsúly arányban is, ami megerősíti terápiás potenciáljukat. Ezen előnyök ellenére a nagy léptékű gyártással, a készítmény reprodukálhatóságával és a hosszú távú fizikai stabilitással kapcsolatos kihívások gátolják szélesebb körű klinikai alkalmazásukat. Emellett a magas gyógyszerterhelés kiválthat csapadékképződést vagy részecskeaggregációt, különösen vékony film hidratációs módszerek alkalmazásakor [126].

A nioszómák foszfolipid-mentes, nemionos felületaktív anyagokból és koleszterinből álló két rétegű vezikulák, amelyek jobb kémiai stabilitást és alacsonyabb gyártási költséget kínálnak a liposzómákhoz képest. Szerkezeti rugalmasságuk javítja a bőr penetrációját [17,125].

Abu Hashim és munkatársai egy acitretin-tartalmú nioszomális gélt vizsgáltak pikkelysömör helyi terápiájára. Az optimalizált formuláció magas gyógyszerbefogadóképességet ($90,32 \pm 3,80\%$), $369,73 \pm 45,45$ nm részecskeméretet és $-36,33 \pm 1,80$ mV zéta-potenciált ért el. Ex vivo bőrpermeációs vizsgálatok kimutatták, hogy a kumulatív permeáció 3,16-szorosára nőtt, és a gyógyszer lerakódása jelentősen megnőtt az életképes epidermiszben és dermiszben ($330,86 \pm 5,32$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), összehasonlítva a hagyományos acitretin géllal. In vivo, a készítmény pszoriázis elleni hatékonyságot mutatott egérfarok-modellben, elősegítve az ortokeratózist és csökkentve a bőr vastagságát, bőrirritáció jelei nélkül. Ezen eredmények ellenére klinikai relevanciája továbbra is bizonytalan, mivel hiányoznak az emberre vonatkozó adatok. Továbbá a hosszú távú stabilitást és

biztonságosságot sem vizsgálták teljeskörűen, a készítményt csak korlátozott tárolási körülmények és rövid távú alkalmazás mellett tesztelték [127].

A transzferoszómák ultra-deformálható lipid kettős rétegekből és legalább egy belső vizes kompartmentből álló vezikuláris részecskék. Rugalmasságuknak köszönhetően a vezikulák szerkezeti károsodás nélkül deformálódnak és hatékonyan áthatolnak a bőrbarrieren, ezáltal elősegítve a gyógyszer célzott eljuttatását a mélyebb rétegekbe. Hatékonyabb és kontrolláltabb gyógyszerbevitelt biztosítanak, mint a hagyományos liposzómák [8,17].

Vohra és munkatársai aloe vera és E-vitamin tartalmú nano-transzferoszómás gélt fejlesztettek ki, amely magas hatóanyag bezárási hatékonyságot (92,29%) és stabil zéta-potenciált ($-38,5$ mV) mutatott. A nanoformulációk jelentős gyulladáscsökkentő hatást és bőrtoleranciát mutattak helyi alkalmazás során, és jelentősen felülmúlták a kereskedelmi forgalomban kapható E-vitamin krémet. Ezt bizonyították az egérfül-ödéma modellben kapott eredmények. Ugyanakkor a vizsgálat nem tartalmazott in vivo pikkelysömör specifikus hatékonysági adatokat, így a betegségre vonatkozó relevanciája korlátozott. Így, bár a hordozó ígéretesnek tűnik gyógynövényalapú gyulladáscsökkentő alkalmazásokhoz, specifikus előnye a pszoriázis terápiában még nem bizonyított megfelelő modellekben [128].

Az etoszómák szintén ultra-deformálható foszfolipid-alapú nanopartikulumok, amelyek magas koncentrációban tartalmaznak etanolt (20–45%). Az etoszómák egyik fő előnye más lipid-alapú nanohordozókkal, például a liposzómákkal vagy a transzferoszómákkal szemben, hogy etanol-tartalmuknak köszönhetően hatékonyabban hatolnak át a szarurétegen [8,39,125].

Dadwal és munkatársai takrolimusz és hialuronsav tartalmú etoszómás gélt állítottak elő. Az optimalizált nanoszintű vezikulák magas bezárási hatékonyságot és kiváló fizikokémiai tulajdonságokat mutattak. Kecsebőrön végzett ex vivo bőrpermeációs vizsgálatok során az etoszomális gél esetében $90,22 \pm 0,52$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ fluxust mértek, míg a kereskedelmi forgalomban kapható takrolimusz készítmény esetén $72,15 \pm 0,31$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ fluxust, ami 1,33-szoros javulást jelent. Ezek az eredmények a transzdermális felszívódás javulását jelzik, és arra utalnak, hogy az etoszomális nanohordozók és a hialuronsav ígéretes kombinációt jelenthet a pikkelysömör helyi kezelésében. Azonban további összehasonlító preklinikai és klinikai vizsgálatokra van szükség a hosszú távú biztonságosság és hatékonyság megerősítéséhez, valamint az előnyök kvantitatív értékelésére más nanohordozókkal szemben [129].

2.7.1.1.2 Lipid nanorészecskék

A lipid nanorészecskék közé tartoznak a szilárd lipid nanorészecskék (SLN) és a nanostrukturált lipid hordozók (NLC).

A szilárd lipid nanorészecskék gömb alakú, lipid alapú nanorészecskék, amelyek szobahőmérsékleten és testhőmérsékleten szilárdak maradnak. A hagyományos liposzómákhoz képest egyik legfőbb előnyük a hatékonyabb gyógyszerbeviteli módszer, amely magában foglalja a nagyobb gyógyszerbeviteli kapacitást, a kontrollált felszabadulást és a hatóanyagok fokozott stabilitását [17,125].

Serini és kollégái tanulmányukban arról számoltak be, hogy kurkuminnal és α -linolénsavval töltött szilárd lipid nanopartikulumok képesek voltak csökkenteni az IMQ-indukált gyulladást egy in vitro pikkelysömör modellben, amit az IL-23 43%-os, az IL-6 73,7%-os, valamint az IL-8 26,5%-os expressziójának csökkenése igazolt makrofágokban. Ezenkívül a ferroptózis markerek szintje is jelentősen csökkent, ami antioxidáns hatást mutat. Bár ezek az eredmények arra utalnak, hogy a kurkumin és az α -linolénsavval töltött SLN-ek ígéretes nanohordozó-alapú stratégiát jelenthetnek, a hatások eddig csak in vitro bizonyítottak, és további preklinikai és klinikai vizsgálatokra van szükség az alkalmazhatóság megítéléséhez [130].

A nanostrukturált lipid hordozók fiziológiailag kompatibilis lipideket, felületaktív anyagokat és emulgeáló szereket tartalmaznak. Javítják a bőr hidratáltságát, erősítik a bőr barrierjét, növelik a biológiai hozzáférhetőséget és célzott gyógyszeradagolást biztosíthatnak. Az NLC-k különösen előnyösek a gyógyszeradagoló rendszerek területén, mivel könnyen előállíthatók, biokompatibilisek, nem toxikusak és méretezhetők [8].

A hiperproliferatív bőrbetegségek kezelésére Lorente és társai riluzolt tartalmazó nanostrukturált lipid hordozókat fejlesztettek ki. Az optimalizált készítmény átlagos részecskemérete 200 nm alatt volt, magas befogási kapacitással (~87%) és körülbelül -25 mV zéta-potenciállal rendelkezett. HaCaT sejteket felhasználó in vitro vizsgálatok kimutatták, hogy a készítmény dózisfüggő módon jelentősen gátolta a sejtek szaporodását ($p < 0,0001$), hatása pedig összehasonlítható volt a szabad riluzollal. Állatmodellekben a készítmény helyi alkalmazása a bőr vastagságának csökkenéséhez és a gyulladásos tünetek látható enyhüléséhez vezetett. Bár a tanulmány a riluzolt tartalmazó NLC-k ígéretes fizikai-kémiai tulajdonságait és terápiás hatásait mutatta be, nem tartalmazott átfogó in vivo toxicitási adatokat. Ezenkívül a készítmény előállítási folyamata viszonylag bonyolult a hatóanyag alacsony oldhatósága és

fényérzékenysége miatt, ezért stabilitás és hatékonyság szempontjából optimalizálást igényel [131].

2.7.1.2. Nanoszálak

A nanoszálak természetes vagy szintetikus polimerekből álló szálak vagy szálszerű struktúrák, amelyek folyadékabszorpciót, nedvességszabályozást és gázáteresztő képességet biztosítanak [125]. Kiváló felület-térfogat aránnyal rendelkeznek, ami lehetővé teszi mind a hidrofil, mind a hidrofób gyógyszerek hatékony szállítását [132]. Ígéretesek a pikkelysömör kezelésében, gyakran nanorészecskékkel kombinálva használják őket a szinergikus gyógyszerfelszabadulás és a bőr regenerálódásának elősegítésére [125].

Kang és munkatársai kurkumin-tartalmú nanoszálak filmeket vizsgáltak elektrosztatikus szálhúzással. Az optimalizált film $58,7 \pm 10,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ kurkumint tartalmazott, $56,5 \pm 9,7\%$ bezárási hatékonysággal és $4,86 \pm 0,14 \text{ MPa}$ szakítószilárdsággal rendelkezett. In vitro bőrlerakódási vizsgálatok pikkelysömör egérmódelben több mint kétszeres kurkumin lerakódást mutattak lipid-hibrid filmek esetén a lipidmentes kontrollhoz képest. In vivo körülmények között a hibrid filmmel végzett kezelés jelentősen csökkentette a bőr megvastagodását, hámlását és a proinflammatorikus citokinek (TNF- α és IL-6) szintjét, gyulladáscsökkentő hatékonysága pedig megközelítette a kereskedelmi forgalomban kapható kortikoszteroidokét. Ezek az előnyök erős potenciált jeleznek a pikkelysömör kezelésében. Azonban olyan kihívások, mint a kurkumin által okozott bőrfoltok és a korlátozott bőrbehatolás, rámutatnak a további optimalizálás szükségességére [133].

2.7.1.3. Fizikai hordozók

Ezek a rendszerek hipodermikus tűk és transzdermális tapaszok hibridjei. Több száz apró, mikroszkopikus méretű tűt tartalmaznak, amelyek mikroszkopikus csatornákat hoznak létre a stratum corneumban, növelve a gyógyszer behatolási hatékonyságát [125,134].

Du és munkatársai hialuronsavat és metotrexátot tartalmazó mikrotűs tapaszt terveztek a pikkelysömör helyi kezelésére. In vitro vizsgálatok kimutatták, hogy a készítmény megőrizte a hatóanyag antiproliferatív hatását a HaCaT keratinociták ellen, és 1 órán belül ~90%-os gyógyszerfelszabadulást ért el. In vivo körülmények között a mikrotűk sikeresen behatoltak mind a normál, mind a pikkelysömörös egérbőrbe (~150 μm), 10 percen belül feloldódtak, és jelentősen csökkentették a bőr vastagságát, a fül duzzanatát és a citokin expressziót (IL-17, IL-

23) egy IMQ által kiváltott pikkelysömörös modellben. Az azonos dózisu (13,8 µg) orális metotrexáthoz képest a mikrotűvel beadott metotrexát jobb terápiás eredményeket ért el, kevesebb szisztémás toxicitással. Hátrányai azonban a nagyobb gyógyszerterhelés mellett csökkent mechanikai szilárdság és a hosszú távú biztonságosság kiértékelésének hiánya [134].

2.7.1.4. Mátrix nanohordozók

A mátrixalapú nanohordozók, mint például a nanoemulziók és a nanogélek, kivételes előnyöket kínálnak a dermális gyógyszeradagolás terén. A nanoemulziók kinetikailag stabil, egymással keveredni nem képes folyadékok (általában olaj és víz) diszperziói, amelyek cseppmérete 10 és 200 nm között van, ami fokozza a gyógyszer oldhatóságát és biológiai hozzáférhetőségét [117,121,123,124]. Alacsony viszkozitásuk azonban problémát jelent alkalmazásuk során, amit nanogélek használatával lehet orvosolni [123,135]. A nanoemulziók gélmátrixba való beépítésével a nanogélek ötvözik a gélkészítmények és a nanotechnológia előnyeit, így hatékonyabb gyógyszeradagolási rendszert biztosítanak [123].

A nanogélek háromdimenziós, nanoméretű (20–250 nm) hidrophil polimerek hálózatai, amelyek viskoelasztikus tulajdonságokkal rendelkeznek [114,116,136]. Polimerekből vagy monomerek heterogén polimerizációjával állítják elő őket, szerkezetüket fizikai vagy kémiai keresztkötésekkel stabilizálják [3,8].

Összetételük befolyásolja biokompatibilitásukat és biológiai lebonthatóságukat, ami minimalizálja a toxicitást és az immunválaszt. Képesek biztosítani a különböző típusú gyógyszerek stabil szállítását és fokozott bőrbehatolását, védelmet nyújtanak a degradáció és a környezeti hatások ellen, valamint növelik a gyógyszerek stabilitását és biohasznosulását [27,114,125,137]. Magas vízmegkötő kapacitásuk révén hidratálják a bőr felszínét, miközben kontrollált és hosszan tartó gyógyszerleadást biztosítanak, így hosszabb ideig fenntartják a kívánt terápiás hatást [25,125,136].

Mivel a pikkelysömör kezelése hosszú távú elkötelezettséget igényel, a betegek együttműködése elengedhetetlen [3,8]. A nanogélek ezt támogatják azáltal, hogy lehetővé teszik a gyógyszer tartós felszabadulását, csökkentik az adagolás gyakoriságát, és javítják a kezelés kényelmét és az együttműködést [27,39,116].

Korábbi tanulmányok megerősítették, hogy ezek az új nanoformulák nemcsak a pikkelysömör, hanem más bőrbetegségek kezelésében is izgalmas potenciált rejthetnek.

Chandrashekar és kollégái egy randomizált, multicentrikus klinikai vizsgálatban értékelték a tretinoin nanogélt (0,025%) hagyományos géllal szemben 207 aknés beteg

bevonásával. A nanogél csoportban szignifikánsan nagyobb csökkenés volt megfigyelhető a teljes (72,9% vs. 65,0%; $p = 0,03$) és gyulladásos elváltozások (78,1% vs. 66,9%; $p = 0,02$) tekintetében, valamint kevesebb helyi mellékhatás (13,3% vs. 24,7%; $p = 0,04$) volt megfigyelhető a hagyományos készítményhez képest [138].

Avasatthi és munkatársai kifejlesztettek egy metotrexáttal töltött, nanostrukturált lipid hordozó nanogélt, amely 48 óra alatt 47,32%-os hatóanyag-felszabadulást ért el, szemben a hagyományos metotrexát gél 94,23%-os értékével, ami a tartós felszabadulásra utal. Egy pikkelysömörös egérmodellben a készítmény csökkentette a PASI pontszámokat és helyreállította a bőr szövettani állapotát, míg a hagyományos gél tartós parakeratózist okozott [139].

Kakade és társai nanostrukturált lipid hordozókra alapuló, takrolimusszal töltött nanogélt fejlesztettek ki, amely 24 óra alatt több, mint 90%-os tartós gyógyszerfelszabadulást mutatott, kiváló kenhetőséggel és magas ($99,73 \pm 1,4\%$) gyógyszer tartalommal. In vivo a nanogél javította a bőr rugalmasságát, megszüntette a pikkelysömörös elváltozásokat oxazonon és imikimod által indukált pikkelysömörös modellekben, és nem mutatott citotoxicitást vagy irritációt, ami alátámasztja hatékonyságát és biztonságosságát [140].

A figyelemre méltó előnyök ellenére gyártásuk számos technológiai kihívással jár, különösen a nagy volumenű gyártás esetében, ahol a reprodukálhatóság, a stabilitás és a költséghatékonyság a legfontosabb tényezők [115,137,141].

Stabilitásuk kritikus tényezőnek tekinthető, mivel érzékenyek a tárolási körülményekre, mint a hőmérséklet-ingadozásokra és a páratartalom változásaira [115,117,141]. Emellett a kívánt minőség nem mindig biztosítható nagy volumenű gyártás során [40,115,117].

Mivel ezek az anyagok a szervezetben fokozatosan lebomlanak, hosszú távú biokompatibilitási tesztek elengedhetetlenek, hogy ne okozzanak toxikus mellékhatásokat [39,141]. Ennek fényében a nanogéleknek lényegesen több előnyük van, mint hátrányuk, amint azt a **7. és 8. ábra** bemutatja [3].

Mindazonáltal a nanogélek az egyik legígéretesebb fejlesztést jelentik a gyógyszeradagoló rendszerek területén, és várhatóan a jövőben kiemelt szerepet fognak játszani a pikkelysömör és más bőrbetegségek kezelésében [142].



7. ábra: A nanogélek előnyei a dermális gyógyszerbevitelben. (Az ábra BioRenderrel készült.)



8. ábra: A nanogélek hátrányai a dermális gyógyszerbevitelben. (Az ábra BioRenderrel készült.)

2.8. Tapinarof hordozórendszerek

2.8.1. Szabadalmaztatott tapinarof-tartalmú készítmények

Jelenleg a tapinarof egyetlen engedélyezett és kereskedelmi forgalomban kapható készítménye a VTAMA (1% tapinarof krém), amelyet a Dermavant Sciences fejlesztett ki és szabadalmaztatott [13,60,93]. Ezt a készítmény számos szabadalom (pl.: US11590088B2, US11938099B2) védi, amelyek kiterjednek összetételére és krónikus bőrgyógyászati állapotok, például plakkos pikkelysömör [143] és atópiás dermatitis [144] kezelésére való alkalmazására. Más készítmények kutatási szinten vagy szabadalmi bejegyzésként léteznek, de nem klinikai használatra. Egy amerikai szabadalom (US20210000758A1) leírja a tapinarof nanorészecskébe (pl.: nanomicellák, nanogömbök) való beágyazását szemészeti alkalmazásokhoz, például uveitis vagy makula degeneráció kezeléséhez [145]. Egy másik szabadalom (US20220160650A1) különböző tapinarof-tartalmú gélek, kenőcsök és habok készítményeit írja le, amelyek célja a hatóanyag stabilitásának és bőrön keresztüli felszívódásának javítása [146].

2.8.2. Kihívások a tapinarof formulálása terén

A tapinarof dermatológiai alkalmazásának egyik fő kihívása annak hidrofób jellege és instabilitása, amelyek megnehezítik a hagyományos rendszerekben való formulálását [147]. A vegyület rendkívül érzékeny a hőmérsékletre és a páratartalomra, ami negatívan befolyásolhatja a hosszú távú stabilitást és csökkentheti a terápiás hatékonyságot tárolás során [83,115,117,141].

A nanogélek ígéretes megoldást nyújtanak ezen kihívások leküzdésére, mivel képesek az aktív hatóanyag védett hordozására, ezáltal csökkentve a környezeti bomlás mértékét és javítva a hosszú távú stabilitást [18,27,39]. A nemionos felületaktív anyagok és a természetes polimerek nemcsak elősegítik a gyógyszer oldhatóságát, hanem javítják a biokompatibilitást és a bőr tolerálhatóságát is [10,26].

Továbbá, tekintettel a pikkelysömör krónikus és kiújuló természetére, a formulációkat úgy kell megtervezni, hogy azok irritációt vagy érzékenységet ne okozzanak, valamint biztonságosan, hosszú ideig használhatók legyenek [10,20]. A betegek adherenciája tovább javítható a kedvező alkalmazási tulajdonságok (pl.: textúra, kenhetőség) biztosításával és az adagolás gyakoriságának csökkentésével. Összességében ezek a tényezők rávilágítanak a hatékony, szteroidmentes és jól tolerálható helyi terápiák szükségére, amelyek alkalmasak

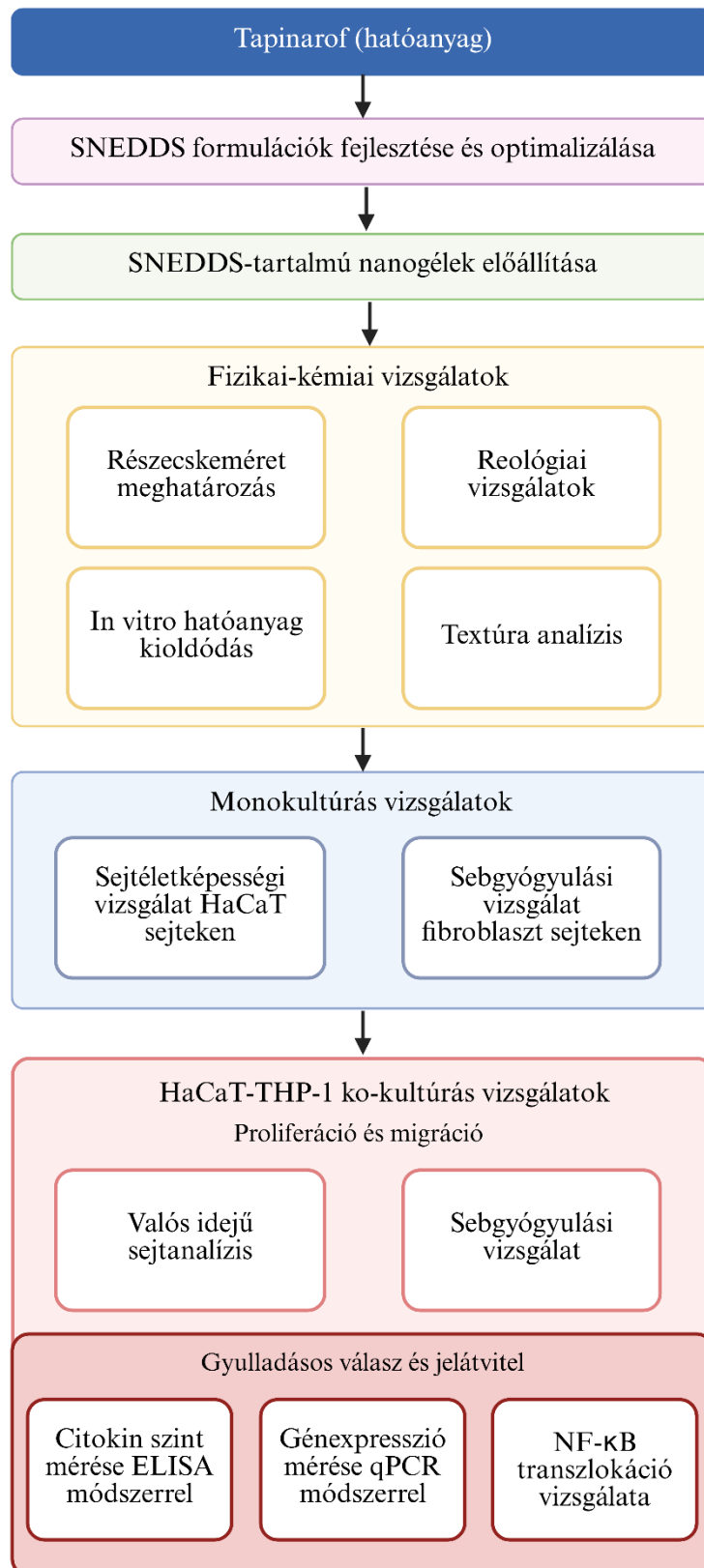
hosszú távú monoterápiára vagy kombinációs terápiára, anélkül, hogy gyógyszer-gyógyszer kölcsönhatások kockázatát hordoznák magukban [30,35,60].

3. Célkitűzés

Kutatásom célja innovatív nanogél formulációk kifejlesztése volt, amelyek javítják a tapinarof biohasznosulását, fokozzák a bőrön keresztüli penetrációját, ezáltal hatékonyabb terápiás választ biztosítva pikkelysömör kezelésében. Munkám során a készítmények részletes gyógyszer technológiai és biológiai jellemzésére fókuszáltam, különös tekintettel a fizikai-kémiai tulajdonságokra, a biokompatibilitásra és a pszoriázis modellrendszerben való terápiás potenciáljuk vizsgálatára. A kísérleti terv a **9. ábrán** látható összefoglalva.

A **kísérletek első szakaszában** a tapinarof-tartalmú nanogél formulációk fejlesztésére és gyógyszerforma vizsgálataira került sor. Az optimális összetételek kialakítása után textúra- és reológiai méréseket végeztem, mivel ezek fontos paraméterek a kenhetőség és a hatóanyag biológiai hozzáférhetősége szempontjából. A készítmények méreteloszlását dinamikus fényszórásos módszerrel (DLS) vizsgáltam. Továbbá a biokompatibilitást és a sejtekre gyakorolt hatást HaCaT sejtvonalon MTT assay és sebzáródási (wound healing) teszt segítségével értékeltem fibroblaszt sejteken. Ezzel párhuzamosan a tapinarof in vitro felszabadulását Franz-diffúziós módszerrel értékeltem.

A **kísérletek második szakaszában** a kifejlesztett nanogélek gyulladáscsökkentő hatását és molekuláris hatásmechanizmusát vizsgáltam egy IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúras pszoriázis modellen, amely megbízhatóan utánozza a betegség gyulladást mikrokörnyezetét in vitro. A kísérletek során ELISA vizsgálatokat végeztem a citokinprofil meghatározására, valamint qPCR-rel a gyulladásban szerepet játszó gének expresszióját mértem. Ezen kívül a nanoformulációk gyulladást sejt válaszokra gyakorolt hatását valós idejű sejtanalízissel (RTCA) és sebzáródást teszt segítségével vizsgáltam. Végül a THP-1 monociták NF- κ B útvonalának aktivációját a p65 transzlokáció mértékének meghatározásával végeztem.



9. ábra: Kísérleti terv. (Az ábra Biorenderrel készült.)

4. Anyagok és módszerek

4.1. Anyagok

4.1.1. Sejtvonalak

A HaCaT sejtvonalat a Cell Lines Service-től (CLS, Heidelberg, Németország), a THP-1 sejtvonalat (TIB-202™) az American Type Culture Collection-től (ATCC, Manassas, VA, USA) szereztük be [148,149]. A humán dermális fibroblasztokat a torinói „Città della Salute e della Scienza” Egyetemi Kórházban izoláltuk. A sejtkultúra flaskákat a Corning cégtől (Corning, NY, USA) vásároltuk [150].

4.1.2. Kémiai anyagok és reagensek

A tapinarof, a Triacetin, a Tween 80, a DMEM táptalaj, a PBS, az RPMI 1640 táptalaj, a DMSO, a Trypan Blue festék és a tripszin-EDTA a Sigma-Aldrich-től (St. Gallen, Svájc) származik [151]. A 96%-os etanolt, a 85%-os glicerint és az olajsavat a Molar Chemicals Kft.-től (Budapest, Magyarország) szereztük be [152]. A Kollisolv PEG 400-at és a Kolliphor EL-t a BASF cégtől (Ludwigshafen, Németország) vásároltuk. A Carbopol 940 és Carbopol 934 a B.F. Goodrich Chemical Company-től (Charlotte, NC, USA) származik, a Trietanolamin pedig a VWR Chemicals-től [153]. A Labrafil M és Transcutol HP-t a Gattefossé (Lyon, Franciaország) biztosította. Az imikimodot a MedChemExpress-től szereztük be a Bio-Kasztel Kft. (Budapest, Magyarország) közvetítésével [154,155].

4.1.3. Laboratóriumi eszközök

A valós idejű sejtproliferációs méréseket az xCELLigence Real-Time Cell Analyzer rendszer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) segítségével végeztük [156]. Ezekhez a kísérletekhez 16-lyukú E-lemezeket (Lot: 202220725) használtunk.

A citokinek elemzéséhez ELISA kiteket az Invitrogen-től vásároltunk (Waltham, MA, USA): humán TNF- α (Cat. No. KHC3011), IFN- γ (Cat. No. KHC4021), IL-17A (Cat. No. BMS2017) és IL-23 (Cat. No. BMS2023-3) [157].

A sebgyógyulási vizsgálatokhoz 24-lyukú plate-t (Cat. No. 80242) az Ibidi GmbH-től (Gräfelfing, Németország) szereztük be [158].

A qPCR kísérletekhez a humán TNF- α (Cat. No. qHsaCEP0040184), IFN- γ (Cat. No. qHsaCED0045843) kitjeit használtuk a Bio-Rad Kft.-től (Magyarország) [159].

4.2. Módszerek

4.2.1. Tapinarof-tartalmú nanogélek előállítása

Első sorban a tapinarof mennyiségét Transcutol HP-ban és etanolban oldottuk fel. Az olajos felületaktív anyagokat (Labrafil M, Triacetin, Tween 80, Kolliphor EL és olajsav) a vizes felületaktív anyagokkal (Transcutol HP, etanol és PEG 400) kombinálva alkalmaztuk a stabilitás és a textúra javítása, valamint a hatóanyag bőrön keresztüli behatolásának elősegítése érdekében. A segédanyagokat mágneses keverővel kevertettük az olajos fázis előállításához. A mágneses keverő fordulatszáma 400 fordulat/perc volt 15 percig. Ezt követően hozzáadtuk a vizes fázist a SNEDDS előállításához, majd 5 percig vortexeltük. Gélképző anyagként karbopol került hozzáadásra. A karbopol gélek előállításához a szükséges mennyiségű karbopol port kis mennyiségű tisztított vízben diszpergáltuk, és 24 órán át állni hagytuk, hogy egyenletesen megduzzadjon. A nanogél I.-hez nedvesítőként glicerint került hozzáadásra. Ezután a SNEDDS-eket cseppenként adagoltuk a gélmátrixhoz, miközben a mágneses keverőt 500 fordulat/perc sebességgel működtettük. A nanoméretű tartomány eléréséhez a gélesedés előtt UP200Ht (200 W, 26 kHz) kézi homogenizátort alkalmaztunk. A gélek pH-értékét a bőr pH-jához igazítottuk néhány csepp trietanolamin hozzáadásával, így homogén szerkezetű nanogélt hozva létre [3,123]. A SNEDDS I. és SNEDDS II. rendszerek részletes összetételét (olajfázis, felületaktív anyagok és ko-szolvensek aránya) az **5. táblázat** foglalja össze, míg a különböző nanogél formulációk összetételét a **6. táblázat** tartalmazza.

Összetevő	SNEDDS I.	SNEDDS II.
Labrafil M	6%	-
Triacetin	3%	-
Tween 80	5%	8.75%
Transcutol HP	15%	-
Etanol 96%	5%	26.25%
Kolliphor EL	5%	-
PEG 400	5%	-
Olajsav	-	10%
Tisztított víz	56%	55%

5. táblázat: A különböző SNEDDS-ek összetétele.

Összetevő	Nanogél I.	Nanogél I. + Tapinarof	Nanogél II.	Nanogél II. + Tapinarof
Tapinarof	-	1%	-	1%
SNEDDS	33.3%	33.3%	50%	50%
Glicerín 85%	5%	5%	-	-
Karbopol 940	0.5%	0.5%	-	-
Karbopol 934	-	-	0.5%	0.5%

6. táblázat: A különböző nanogélek összetétele.

4.2.2. Sejtvonalak fenntartása

4.2.2.1. Humán dermális fibroblaszt sejtvonal

A humán dermális fibroblasztokat egészséges humán bőrbioptóziákból izoláltuk. A mintákat aprítást követően DMEM (Gibco, Invitrogen, Waltham, MA, USA), 10% FBS és penicillin/streptomycin oldattal (100 U/mL penicillin és 100 µg/mL streptomycin) kiegészítve inkubáltuk, majd Dispase II. (Roche, Mannheim, Németország) kezeléssel eltávolítottuk az epidermiszt [157,160]. Az így nyert dermiszből a fibroblasztokat 37 °C-on, 5% CO₂-tartalmú légkörben tenyésztettük. A sejtek fenntartása DMEM tápközegben történt (10% FBS és antibiotikumok), 37 °C-on, 5% CO₂ mellett. A kísérletekhez a 4–6. passzázsban lévő sejteket használtuk fel.

4.2.2.2. HaCaT keratinocita sejtvonal

A HaCaT humán immortalizált keratinociták, amelyeket széles körben alkalmaznak in vitro epidermális modellként az emberi bőr fiziológiájának és gyulladásos folyamatainak vizsgálatára [161,162]. A sejteket kalciummentes DMEM tenyésztőközegben tenyésztettük, amelyet 10% FBS-t tartalmazott. A HaCaT sejteket 37 °C-on, 5% CO₂-tartalmú légkörben inkubáltuk. A sejtvonal fenntartása heti passzázással történt DMEM tenyésztőközegben. A kísérletek elvégzésére akkor került sor, amikor a sejtek teljesen benőtték a tesztekhez szükséges lyukak felszínét, illetve megközelítették a 100%-os konfluenciát, amelyet vizuálisan, mikroszkópos megfigyeléssel ellenőriztünk.

4.2.2.3. THP-1 monocita sejtvonal

A THP-1 egy humán leukémiás monocita sejtvonal, amelyet széles körben használnak a monocita/makrofág funkciók tanulmányozására [163]. A THP-1 sejteket T-75 tenyésztő flaskákban, 10% FBS-t és 1% penicillin/streptomycin-t tartalmazó RPMI 1640 tápközegben tenyésztettük. A THP-1 sejteket 37 °C-on, 95% páratartalmú légkörben és 5% CO₂-tartalom mellett inkubáltuk. Ezt a sejtvonalat heti passzálassal RPMI 1640 tápközegben tartottuk fenn.

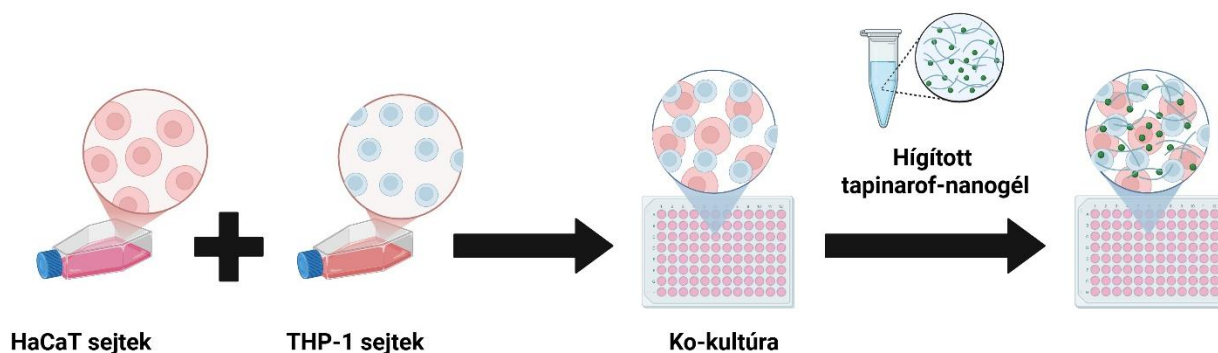
4.2.2.4. HaCaT és THP-1 ko-kultúra kialakítása

A kísérleti modell kialakításához HaCaT és THP-1 sejtekből ko-kultúrát hoztunk létre. A ko-kultúrát kalciummentes DMEM tápközegben, 10% FBS-sel kiegészítve, 37 °C-on, 95% páratartalmú légkörben és 5% CO₂-tartalom mellett tenyésztettük. Az első napon HaCaT sejteket vetettünk. Másnap, amikor a sejtek a felülethez tapadtak, THP-1 sejteket adtunk hozzájuk a ko-kultúra létrehozása érdekében legalább 24 órára [164].

A kísérletek során 10:1 HaCaT:THP-1 sejtarányt alkalmaztunk, hogy tükrözzék a keratinociták fiziológias túlsúlyát az epidermiszben, miközben biztosítottuk az immunsejtekből származó jelátviteli folyamatok megfelelő jelenlétét. Ezt az arányt korábban már leírták és validálták a bőrszenzitizációs és gyulladásos reakciók vizsgálatára kifejlesztett HaCaT–THP-1 ko-kultúra rendszerekben [165,166].

4.2.2.5. Sejtek kezelése

A HaCaT–THP-1 ko-kultúra létrehozását és a tapinarof-tartalmú nanogélekkel történő kezelést a **10. ábra** szemlélteti. A sejtkultúrák kísérletek során a nanogéleket közvetlenül a felhasználás előtt PBS-sel hígítottuk, hogy biztosítsuk a megfelelő ozmolaritást és a HaCaT és THP-1 sejtekkel való kompatibilitást. A szabad tapinarofot Transcutol HP-ben oldottuk fel, majd PBS-sel hígítottuk a megfelelő koncentrációra. Előzetesen valós idejű sejtanalízist végeztünk az aktív hatóanyag önmagában és az azzal töltött nanogélek 0,1, 1 és 10 µM koncentrációban történő tesztelésére. Az eredmények alapján a 10 µM koncentráció bizonyult a leghatékonyabbnak, így ezt alkalmaztuk valamennyi további vizsgálat során. Az imikimidot DMSO-ban oldottuk fel, majd PBS-sel hígítottuk 1 µM végső koncentrációra, amelyet egy korábban publikált, HaCaT–THP-1 ko-kultúrán alapuló pszoriázis modell protokollja alapján választottunk ki [164].



10. ábra: A HaCaT–THP-1 ko-kultúra létrehozása és tapinarof-nanogéllal történő kezelése.

4.2.3. Fizikai-kémiai vizsgálatok

4.2.3.1. Részecskeméret meghatározás

A részecskeméret elemzéshez Malvern Zetasizer Nano ZSP (Malvern Panalytical; Malvern, Egyesült Királyság) készüléket használtunk, hogy kimutassuk, hogy a tapinarof-tartalmú nanogélek gélképződés után sem veszítik el stabil részecskeméretüket [167]. Az elemzés előtt a készítményeket 1000-szeresére hígítottuk tisztított vízzel a többszörös fényszórás elkerülése és a DLS mérés pontosságának biztosítása érdekében. A mintákat 5 percre 25 °C-on egyensúlyba hoztuk, majd 3 mérést végeztünk, amelyek mindegyike 13 futtatásból állt [168].

4.2.3.2. Reológiai jellemzés

Reológiai méréseket is elvégeztünk a reológiai tulajdonságok meghatározása érdekében RheolabQC rotációs reométer (Anton Paar, Graz, Ausztria) segítségével [169]. A készítmények viszkozitás- és folyásgörbéit RheoPlus Rheometer szoftver (32 V3.10 21003407-33024) segítségével értékeltük ki. A készítmények viszkozitási görbéit kontrollált nyírási sebességgel végzett rotációs vizsgálatokkal értékeltük. 30 g készítményt töltöttünk a reométer koncentrikus hengeres mérőrendszerének csészéjébe. Mind a viszkozitást, mind az folyást minden gél esetben szobahőmérsékleten (24 °C) és testhőmérsékleten (35 °C) is megmértük. A nyírási sebességet először 0,01 s⁻¹-ről 50 s⁻¹-re emeltük, majd visszacsökkentettük 0,01 s⁻¹-re a hiszterézis jelenségének vizsgálata céljából [170,171].

4.2.3.3. Textúra analízis

A kompressziós vizsgálat során a nanogélek ellenállását CT3 Textúra Analizáló készülék (Brookfield, Middleboro, MA, USA) segítségével határoztuk meg [172]. Az elemzéshez a vizsgált készítménnyel töltött téglát kb. 5,50 cm-rel a textúra analizátor szondája alá helyeztük. A mérés előtt a szondát 1 mm/s sebességgel engedték le a minta felületére. A textúraelemző készülék a vizsgálat során TA5 hengeres típusú szondával (12,7 mm átmérőjű és 35 mm hosszú) volt felszerelve. A nyomásvizsgálatot a következő beállítási paraméterekkel végeztük el: sebesség (0,50 mm/s), trigger erő (4,0 g) és csúcspont (10,0 mm). A nyomásvizsgálatokat szobahőmérsékleten (25 °C) végeztük. Az érzékelőre ható erőt a Texture Pro CT szoftver 1.3 verziójával (Brookfield Engineering Laboratories, MA, USA) rögzítettük. Minden mérést háromszor ismételtünk meg. Végül meghatároztuk az átlagokat és a szórásokat [170,173–175].

4.2.3.4. In vitro kioldódási vizsgálat

A tapinarof in vitro felszabadulását a különböző összetételű gélekből Franz diffúziós cella (Teledyne Hanson Research, Chatsworth, CA, USA) segítségével határoztuk meg [176]. A cellulóz-acetát membránt az akceptor és a donor fázisok közé helyeztük. A vizsgált anyag koncentrációprofilját előre meghatározott időpontokban vett minták alapján határoztuk meg. 500 mg tömegű mintákat helyeztünk mesterséges cellulóz-acetát membránra (0,5 µm pórusméret) donor fázisként, és pH = 5 puffert választottam akceptor fázisként a bőr pH-jának imitálására. A receptor fázist 32 °C-on tartottuk. A membránt a vizsgálat előtt 15 percig izopropil-mirisztáttal előkezeltük a bőr lipofil tulajdonságának jellemzése érdekében. A mágneses keverő forgási sebessége 450 fordulat/perc volt. A mintákat 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240 és 300 perc elteltével vettem a receptor fázisból. Az analitikai elemzés spektrofotométerrel történt. A diffundált hatóanyag mennyiségét százalékban fejeztük ki és az idő függvényében ábrázoltuk [173,174,177,178].

A hatóanyag felszabadulási profiljának matematikai modelljét az alábbi egyenletek alapján határoztuk meg:

$$\text{Nulladrendű: } Q_t = Q_0 + k_0 t$$

ahol Q_t a kioldódott hatóanyag mennyisége t időben, Q_0 a hatóanyag kezdeti mennyisége, k_0 a sebességi állandó.

$$\text{Elsőrendű: } Q_t = Q_0 \cdot x \cdot e^{-k_1 t}$$

ahol Q_t a visszamaradt hatóanyag mennyisége t időben, Q_0 a hatóanyag kezdeti mennyisége, az Euler féle szám és k_1 a sebességi állandó.

A fluxust a következő egyenlettel számítottuk [178]:

$$Flux = \frac{Q}{t}$$

ahol Q az egységnyi területre kibocsátott gyógyszer mennyiség (mg/cm^2) és a diffúziós idő (t).

4.2.4. In vitro sejtes vizsgálatok

4.2.4.1. Monokultúrák vizsgálatok

4.2.4.1.1 Sejtéletképességi vizsgálat HaCaT sejteken

A SNEDDS-ekhez használt segédanyagok és hatóanyagok biztonságosságát MTT-teszttel vizsgáltuk meg. A citotoxicitás igazolására HaCaT sejtvonalakon végeztünk a sejt életképesség vizsgálatot. A sejteket 96-lyukú plate-re szélesztettünk 10.000 sejt/lyuk sűrűséggel a kísérlet elvégzéséhez. 7 napig növekedni hagytuk őket, hogy teljesen benépesítsék a lyuk membránját. Eltávolítottuk a médiumot a sejtek felszínéről, majd PBS-sel történő mosás után 200 μl /lyuk mintaoldatot vittünk fel a sejtekre. Ezt a rövid távú vizsgálatoknál 30 perces, míg hosszútávú vizsgálatok esetében 24 órás inkubáció követte. Ezt követően a mintákat eltávolítottuk, és 5 mg/ml koncentrációjú MTT festékoldatot (tetrazolium-bromid) adtunk a sejtekhez. Majd a sejteket 3 órán át inkubáltuk 37°C -on. Az életképes sejtek a sárga, vízdékes tetrazolium-bromidot lila formazán kristályokká alakítják. Az inkubálás végén a formazán csapadékot sósavas izopropanolban (25:1) oldottam fel. Ezután a minták abszorbanciáját spektrofotométerrel (Fluostar Optima) határoztuk meg. Az eredmény egyenesen arányos az életképes sejtek számával [173,174,177,178].

4.2.4.1.2 Sebgyógyulási vizsgálat fibroblaszt sejteken

A fibroblaszt sejteket 10.000 sejt/lyuk sűrűséggel szélesztettük 12 lyukú kamrába (Thermo SC NUNC, Roskilde, Dánia). A konfluens monorétegeket 0,5% FBS-t tartalmazó DMEM-ben 2 órán át szinkronizáltuk. Egy standard 200 μL -es pipettahegy segítségével 500–800 μm széles csíkot távolítottunk el a sejtekből a lyukban. A sebkultúrát PBS-sel mostuk, hogy eltávolítsuk a nem letapadó, felesleges sejteket. Majd a monorétegeket a szabad tapinaroffal, vagy az üres gélekkel, vagy a tapinarofot tartalmazó gélekkel (5, 10, 20, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) kezeltük. A

sebterületet 0 és 24 óra elteltével optikai mikroszkóppal (Axiovert, ZEISS, Jena, Németország) megfigyeltük és lefényképeztük [179,180].

4.2.4.2. Ko-kultúras vizsgálatok

4.2.4.2.1 Valós idejű sejtanalízis (RTCA)

A kísérlet során az imikimod leghatékonyabb koncentrációját alkalmaztuk, amelyet korábban Váradi és munkatársai határoztak meg [164]. A kísérlet célja az volt, hogy meghatározzuk a tapinarofot tartalmazó nanogélek optimális koncentrációját, amelyet további kísérletekhez használhatunk. A tesztminták sejtproliferációra gyakorolt hatását, imikimod jelenlétében és hiányában egyaránt, az xCELLigence Real-Time Cell Analysis (RTCA) segítségével követtük nyomon, amely lehetővé teszi a sejtek proliferációjának és életképességének valós idejű monitorozását. A teszt során az E-plate 16-lyukú lemezt alkalmaztunk, mely arany mikroelektrodákkal van bevonva az elektromos impedancia méréséhez. Az E-plate lemezbe 10.000 HaCaT sejtet vetettünk lyukanként. Hat óra elteltével, a sejtek megtapadását követően, 1000 THP-1 sejtet adtunk minden lyukhoz a ko-kultúra kialakítása érdekében. A sejteket 37 °C-on, 5% CO₂-t tartalmazó inkubátorban tenyésztettük. 24 óra elteltével a sejteket tapinarof, tapinarof-tartalmú nanogélek, illetve az üres nanogélek sorozatos hígításaival kezeltük (0,1 µM, 1 µM és 10 µM). Negatív kontrollként tenyésztőközeget alkalmaztunk, míg pozitív kontrollként imikimidot tartalmazó tenyésztőközeget használtunk. A sejtszaporodást 96 órán keresztül követtük nyomon, az adatok rögzítése 30 percenként történt. Az eredményeket a RTCA szoftver által számított normalizált sejtinдекс értékekként fejeztük ki [164].

4.2.4.2.2 Sebgyógyulási vizsgálat ko-kultúra modellen

In vitro sebgyógyulási vizsgálatot végeztünk a sejtek proliferációjának és migrációjának értékelésére a ko-kultúra modellben. A karcolás létrehozásához egy 24-lyukú lemezt alkalmaztunk, amely sebképző betétekkel (0,5 mm szélesség) volt ellátva. HaCaT sejteket vetettünk be az egyes betétek két rekeszébe 280.000 sejt/üreg sűrűséggel, így 140.000 sejt/rekesz sűrűséggel. A THP-1 sejteket 6 óra elteltével 28.000 sejt/üreg sűrűséggel adtuk hozzá. A kezelés teljes időtartama alatt DMEM táptalajt alkalmaztunk. A ko-kultúrát 37 °C-on inkubáltuk, 24 óra elteltével a betéteket óvatosan eltávolítottuk a karcolási terület kialakítása érdekében. A nem tapadó THP-1 sejtek megőrzése érdekében a kezelés előtt nem végeztünk

mosási lépést (pl. PBS-sel). Ezt követően a sejteket 10 μ M tapinaroffal imikimod jelenlétében vagy anélkül, 10 μ M tapinarofot tartalmazó nanogéllal imikimod jelenlétében vagy anélkül, valamint 10 μ M hatóanyagot nem tartalmazó nanogéllal kezeltük. A karcolási területet 0, 6, 12 és 24 óránál fénymikroszkóp segítségével vizsgáltuk és dokumentáltuk.

A kísérletet 24 óra elteltével lezártuk. A lyukakat PBS-sel mostuk, majd a sejteket fixáló oldattal 15 percig rögzítettük szobahőmérsékleten. Egy második PBS-es mosást követően a sejteket Trypan Blue festékkal festettük 15 percig szobahőmérsékleten. A képeket Zeiss Axioscope A1 mikroszkóppal (Carl Zeiss AG, Németország) készítettük [180].

A sejtek migrációs sebességét a felvett képek alapján, az idő függvényében mért részarádás mennyiségi meghatározásával állapítottuk meg. A végső ponton (24 óra) mért karcolási területet összehasonlítottuk a kezdeti karcolás területével (0 óra), és a migrációs sebességet a részarádás százalékos arányaként számítottuk ki [164].

4.2.4.2.3 Immunválasz és jelátviteli útvonalak elemzése

4.2.4.2.3.1 ELISA vizsgálatok

ELISA vizsgálatokat szintén végeztünk a HaCaT–THP-1 ko-kultúra modellen. A kísérlethez egy 12-lyukú Transwell rendszert használtunk, amely 0,4 μ m pórusméretű, permeábilis polikarbonát membránnal rendelkezett. A bazális kamrába 1500 μ L DMEM került, míg a HaCaT sejteket az apikális kamrába vetettük 300.000 sejt/lyuk sűrűségben.

6 óra elteltével THP-1 sejteket is hozzáadtunk az apikális kamrához 30.000 sejt/lyuk sűrűséggel, hogy létrehozzuk a ko-kultúrát. A sejteket 37 °C-on 3 napig inkubáltuk, hogy megközelítsék a 100%-os konfluenciát. Majd a következő formulációkkal kezeltük: 10 μ M tapinarof imikimod jelenlétében vagy anélkül, valamint 10 μ M tapinarofot tartalmazó nanogél imikimod jelenlétében vagy anélkül. Negatív kontrollként kezeletlen tenyésztőközeget alkalmaztunk, míg pozitív kontrollként 1 μ M imikimodot használtunk. 24 órás kezelés után mintákat gyűjtöttünk az apikális kamrából. A TNF- α , IFN- γ , IL-17A és IL-23 koncentrációját a felülszorból, ELISA kiték segítségével határoztuk meg a gyártó utasításai szerint [164].

4.2.4.2.3.2 Génexpresszió mérése qPCR-rel

A qPCR vizsgálatához lyukanként 500.000 HaCaT sejtet vetettünk 12-lyukú lemezekbe. Miután a sejtek 6 órán keresztül 37 °C-on megtapadtak, minden lyukhoz 50.000 THP-1 sejtet adtunk 5% CO₂-t tartalmazó inkubátorban történő inkubálás mellett. A ko-kultúrákat azonos

körülmények között 72 órán keresztül tartottuk fenn. Három nap elteltével a sejteket 1 μM imikimoddal, 10 μM tapinarofot tartalmazó nanogéllal, 10 μM tapinaroffal, illetve ezek kombinációjával kezeltük.

A 24 órás kezelés után összegyűjtöttük a nem adhezív THP-1 sejteket tartalmazó tenyésztőközeget. A sejtszuspenziót centrifugáltuk, majd a felülúszót eltávolítottuk, a sejtpelletet pedig PBS oldattal mostuk. Ezzel egy időben a lemezen maradt letapadt HaCaT sejteket is PBS-sel mostuk. Ezt követően 1 ml TRIzol reagenst (Invitrogen, Cat. No. 15596026) adtunk közvetlenül minden lyukhoz a letapadt sejtek líziséhez. A THP-1 sejtpelletet a TRIzol lízátumban reszuszpendáltuk, majd az egyesített mintákat 1,5 ml-es RNáz-mentes mikrocentrifuga csövekbe (Eppendorf, Invitrogen, Cat. No. F23488) helyeztük a teljes RNS izolálásához. A sejtlízist követően kloroformot adtunk a mintákhoz a fázisszétválasztás érdekében, majd intenzív vortexelés után a mintákat maximális fordulatszámon 4 °C-on 15 percig centrifugáltuk. A felső fázist óvatosan eltávolítottuk és izopropil-alkohollal kevertük össze. Ezt követően ismét centrifugáltuk a mintákat maximális fordulatszámon 4 °C-on 10 percig. Majd eltávolítottuk a felülúszót, és az RNS-pelletet 70%-os etanollal mostuk. Az ismételt centrifugálást követően (maximális fordulatszámon, 4 °C-on, 5 percig) a felülúszót eltávolítottuk, a pelletet megszárítottuk, végül RNáz-mentes vízben oldottuk fel. Az RNS-koncentrációkat NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific) határoztuk meg, valamint az RNS minőségét az ND-1000 Software V3.3.0 szoftver segítségével elemeztük.

A komplementer DNS (cDNS) szintéziséhez TaqMan Reverse Transcription Reagent Kit készletet (Applied Biosystems, USA) alkalmaztunk a gyártó utasításainak megfelelően.

A $\text{Tnf-}\alpha$, $\text{Ifn-}\gamma$, Il-17a és Il-23 génexpressziós szintjeit PrimePCR SYBR Green Assays alkalmazásával vizsgáltuk a gyártó utasításai szerint. Endogén kontrollként a humán GAPDH-t használtuk. A relatív génexpressziós szinteket kvantitatív valós idejű PCR-rel határoztuk meg a CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System készülék (Bio-Rad) segítségével [159]. A PCR program a következő lépésekből állt: 95 °C-on 2 perc, majd 40 ciklus 95 °C-on 5 másodpercig és 60 °C-on 30 másodpercig. Minden mérést háromszor végeztünk el. A normalizált génexpressziót a $\Delta\Delta\text{Ct}$ módszerrel számítottuk ki [181].

4.2.4.2.3.3 NF- κB transzlokáció

Az NF- κB jelátviteli út aktivációjának vizsgálatához a p65 alegység nukleáris transzlokációját immunfluoreszcens festéssel elemeztük a THP-1 sejtekben. A sejtek lemezzre

történő felvitele előtt steril üveg fedőlemezeket helyeztünk a 16-lyukú lemez üregeibe. A THP-1 sejteket RPMI 1640 tápközegben szuszpendáltuk, és 20 ml sejtsuszpenzióhoz 2 µl 100 ng/ml PMA oldatot adtunk a differenciálódás indukálása érdekében, mivel a PMA-kezelés elősegíti a THP-1 monociták makrofágszerű, adhezív sejtekké történő differenciálódását, ami megkönnyíti a sejtek rögzítését és a megbízható immunfluoreszcens analízist. Végül 50.000 sejt/lyuk sűrűségben vetettük a sejteket. Ezt követően 30 órán át 37 °C-on, 5% CO₂-tartalmú légkörben inkubáltuk őket. Az inkubálás után a PMA-tartalmú táptalajt eltávolítottuk, és PMA-mentes RPMI 1640 tenyésztőközegre cseréltük. A sejteket további 24 órán át azonos körülmények között inkubáltuk. Ezután a táptalajt eltávolítottuk és friss RPMI 1640 közeggel helyettesítettük, majd a sejteket 10 µM tapinarof-tartalmú nanogéllal, 10 µM tapinaroffal és 10 µM tapinaroffal kezeltük meg. 24 órás kezelés után 1 µM imikimodot adtunk a táptalajhoz a gyulladás indukálása érdekében, majd a sejteket további 1 órán keresztül inkubáltuk. Ezután a sejteket kétszer mostuk 500 µl PBS-sel. A sejtek rögzítését 4% PFA oldattal végeztük 15 percig szobahőmérsékleten. A permeabilizációt 0,1% Triton X-100 oldattal végeztük, hogy megkönnyítsük az antitestek hozzáférését a sejtmaghoz. A nem specifikus kötődések blokkolására 5%-os FBS oldatot alkalmaztunk. A sejteket ezután 1 órán át Alexa-Fluor 488 konjugált NF-κBp65 (F-6) antitesttel (Cat. No. sc-8008 AF488) (2 µg/ml) inkubáltuk, majd háromszor mostuk PBS-sel. A sejtmag festését 1:10.000 hígítású magfestéssel végeztük 10 percig, majd eltávolítottuk a festéket, végül még kétszer mostuk PBS-sel. Végezetül, az üveg fedőlemezeket tárgylemezekre rögzítettük.

A fluoreszcens képalkotást Zeiss AxioScope A1 fluoreszcens mikroszkóppal (Carl Zeiss AG, Jena, Németország) és Zeiss Immersol™ 518F immersziós olajjal (Cat. No. 201006) végeztük [180]. A képelemzést ZEN 2012 szoftverrel (v3.8.99.07000, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Göttingen, Németország) végeztük [164].

4.2.5. Statisztikai elemzés

Az adatokat GraphPad Prism 10 szoftverrel elemeztük, és az eredményeket átlag ± szórás (SD) formájában adtuk meg. A csoportok közötti különbségek vizsgálatát az MTT-teszt, az RTCA, az ELISA, a qPCR, a sebgyógyulási vizsgálat migrációs ráta, valamint az NF-κB p65 sejtmag/citoplazma intenzitásarány esetében egyirányú varianciaanalízissel (one-way ANOVA), majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. A textúraelemzési eredmények összehasonlításához kétmintás t-próbát alkalmaztunk. A statisztikailag

szignifikáns különbségeket csillaggal jelöltük, és azokat $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

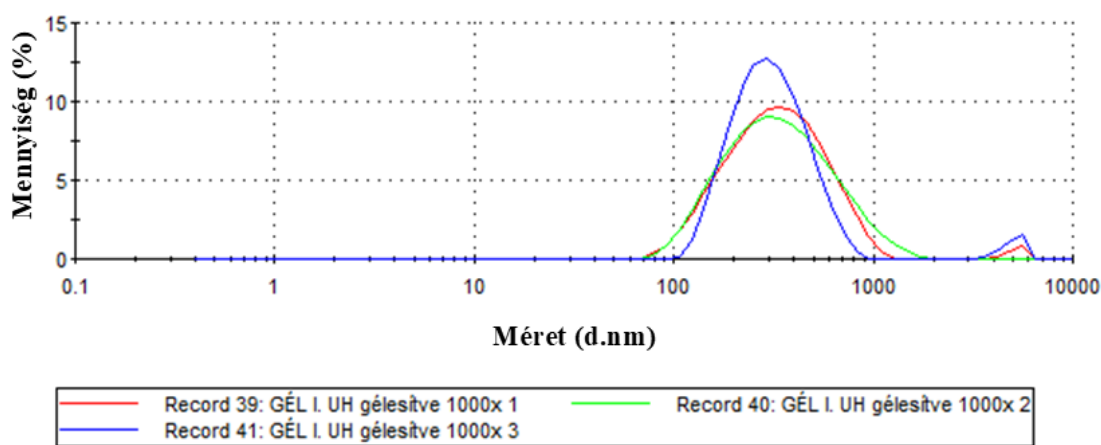
5. Eredmények

5.1. Fizikai-kémiai vizsgálatok

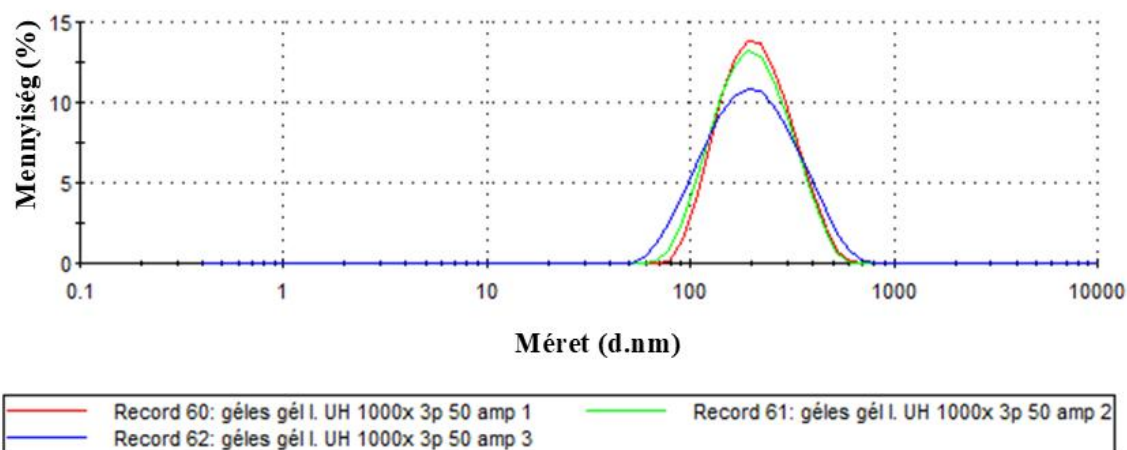
5.1.1. Részecskeméret meghatározás

Meghatároztuk mindkét összetétel részecskeméretének és polidiszperzitási indexének eloszlását, amelyet a **11. ábra** mutat be. A dinamikus fényszórásos (DLS) mérések alapján mindkét kompozíció a nanoméretű tartományban van. Ennek elérése érdekében a géleket gélesedés előtt manuális ultrahangos kezelésnek vetettük alá. A nanogél II. esetében 50%-os amplitúdó 2 percig történő alkalmazása volt elegendő a kívánt nanoméret eléréséhez, amely a gélesedés után is megmaradt. A nanogél I. esetében ez az idő nem volt elegendő. Emiatt az időt 3 percre növeltük, ami már nanoméretű géleket eredményezett. Ezenfelül minden formuláció polidiszperzitási indexe alacsony értékeket mutatott. Az adatokat a **7. és 8. táblázat** foglalja össze.

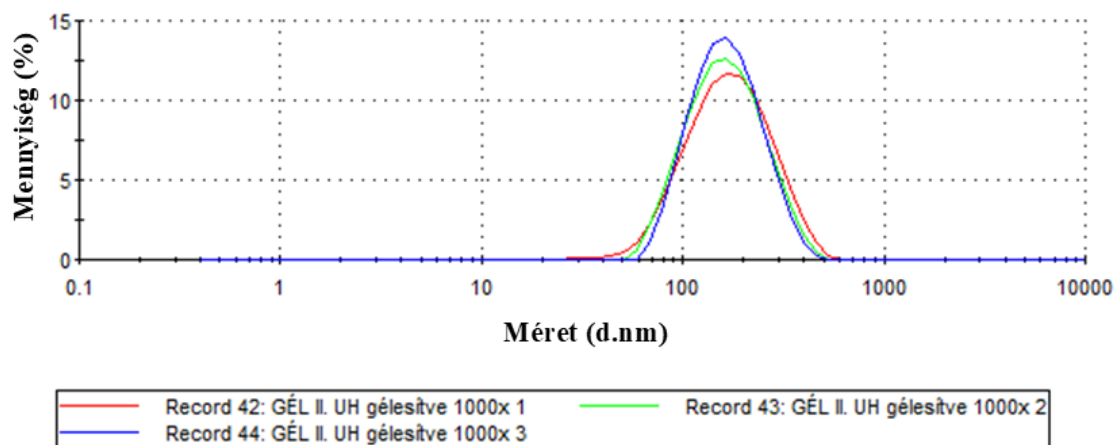
Nanogél I. gélesítés után (2 perc, 50 amp)



Nanogél I. gélesítés után (3 perc, 50 amp)



Nanogél II. gélesítés után (2 perc, 50 amp)



11. ábra: A készítmények cseppméret-eloszlása.

Idő (perc)	Amplitúdó (%)	Z-átlag (d/nm)	Polidiszperzitási index
2	50	275,6	0,282
3	50	172,8	0,210

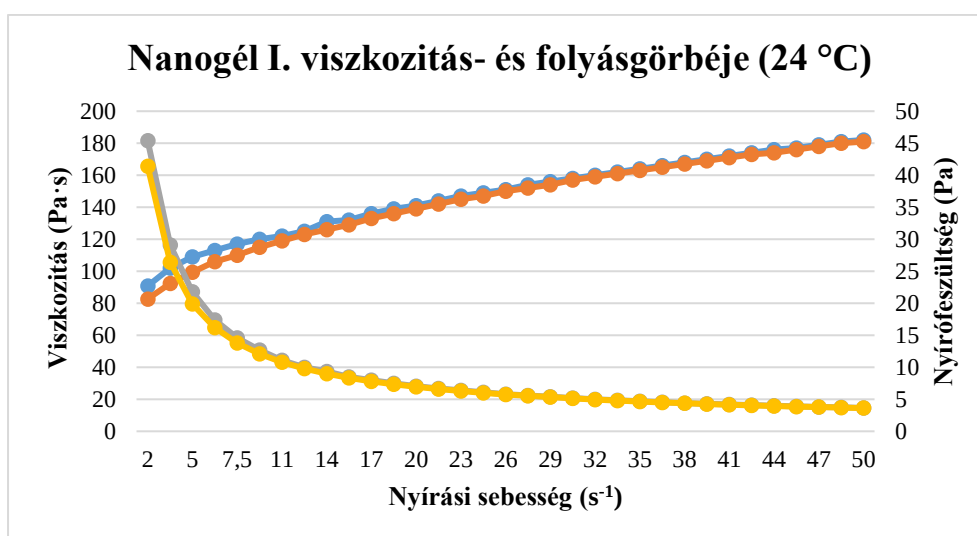
7. táblázat. Az I. nanoformuláció részecskeméret-eloszlása a gélképződést követően.

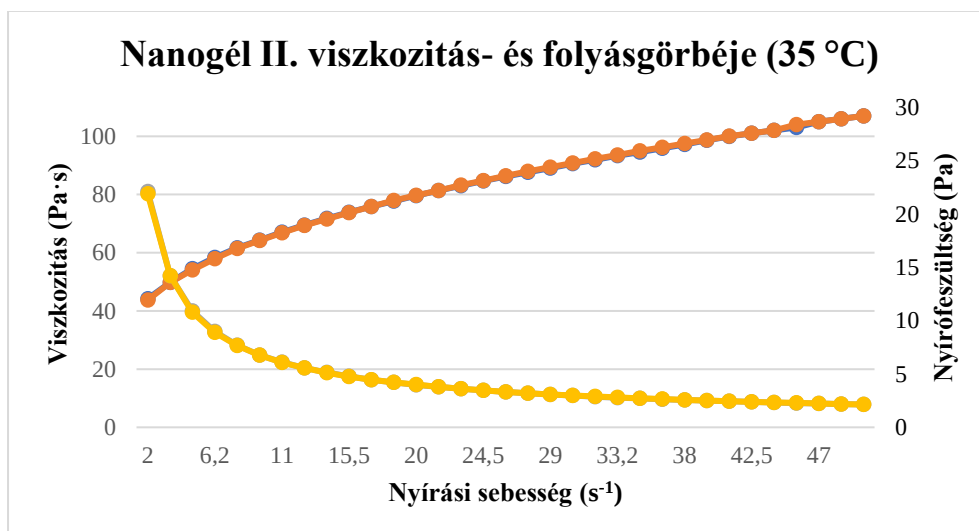
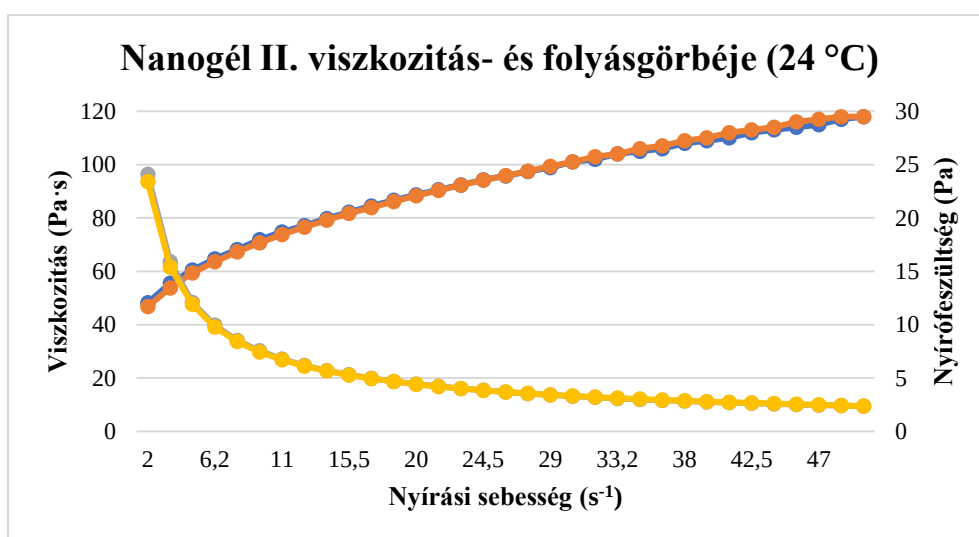
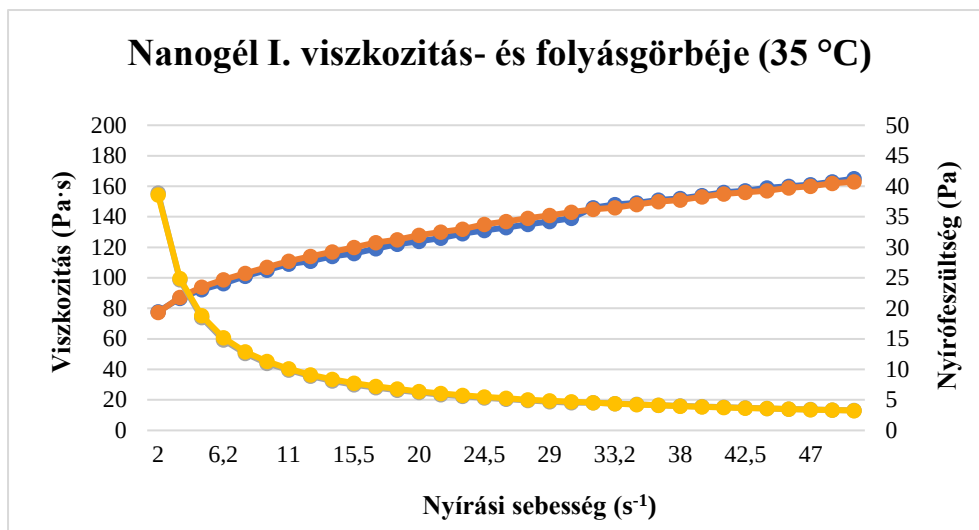
Idő (perc)	Amplitúdó (%)	Z-átlag (d/nm)	Polidiszperzitási index
2	50	151,1	0,169

8. táblázat. A II. nanoformuláció részecskeméret-eloszlása a gélképződést követően.

5.1.2. Reológiai vizsgálatok

A reológiai tulajdonságokat annak meghatározása céljából vizsgáltuk, hogy melyik készítmény a legalkalmasabb helyi alkalmazásra, mivel a viszkozitás jelentősen befolyásolja a félszilárd formulák kenhetőségét, valamint a beépített hatóanyagok biológiai hozzáférhetőségét is. A készítmények reológiai viselkedésének jellemzésére a viszkozitás és a folyás változását használtuk, amelyet a nyírási sebesség függvényében vizsgáltuk. Az eredmények szerint (12. ábra) a gélek viszkozitása a mechanikai hatás (nyírási sebesség) nagyságától és idejétől függ. Kezdetben a viszkozitás magas, majd a nyírási sebesség növekedésével fokozatosan csökken, ami pszeudoplasztikus viselkedésre utal. A nyírófeszültség növekedése minden esetben növekvő nyírási sebességet eredményezett, ami azt jelzi, hogy a nanogélek deformációjához nagyobb erő szükséges. Továbbá a görbék egyértelműen mutatják, hogy a nanogél I. nagyobb viszkozitással és meredekebb folyásgörbével rendelkezik, mint a nanogél II. A 24 °C-on végzett mérések valamivel magasabb viszkozitási értékeket mutattak, mint a 35 °C-on mért eredmények. Tehát készítmények viszkozitása a hőmérséklet növekedésével csökken. A kísérlet során a nyírási sebességet először növeltük, majd csökkentettük a hiszterézis jelenségének vizsgálata céljából. A felfelé és lefelé mutató görbék gyakorlatilag egybeesnek, tehát a kísérleti körülmények között nem volt jellemző hiszterézis. A vizsgált minták belső szerkezete nyírófeszültség hatására nem mutatott maradandó változást. Hiszterézis hiányában a gélek kevésbé tixotróp viselkedése azt tükrözte, hogy a nyíróerő eltávolítása után képesek voltak visszanyerni eredeti szerkezetüket.



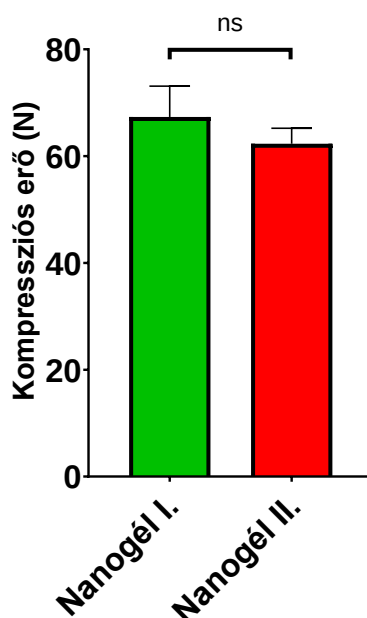


12. ábra: A nanogélek viszkozitásgörbéi (lefelé ívelő, citromsárga és szürke görbék) és folyásgörbéi (felfelé ívelő, narancssárga és kék görbék). A két készítmény reológiai

jellemzésének eredményeit szobahőmérsékleten (24 °C) és testhőmérsékleten (35 °C) vizsgáltuk. Kezdetben a nyírási sebességet 0,01 s⁻¹-ről 50 s⁻¹-re növeltük, majd 50 s⁻¹-ről 0,01 s⁻¹-re csökkentettük.

5.1.3. Textúra analízis

A vizsgált formulációkat textúraanalízisnek is alávetettük. A **13. ábra** a henger mintába való behatolásához szükséges nyomóerőt mutatja be. Az eredmények alapján a minták nem mutattak ellenállást. Mindkét gél konzisztenciája megfelelőnek bizonyult gyógyszerformulálási szempontból, mivel az alacsony konzisztencia elősegíti a hatóanyag felszabadulását. Az alacsony mechanikai ellenállás kedvező tulajdonság a bőrön történő alkalmazás szempontjából.

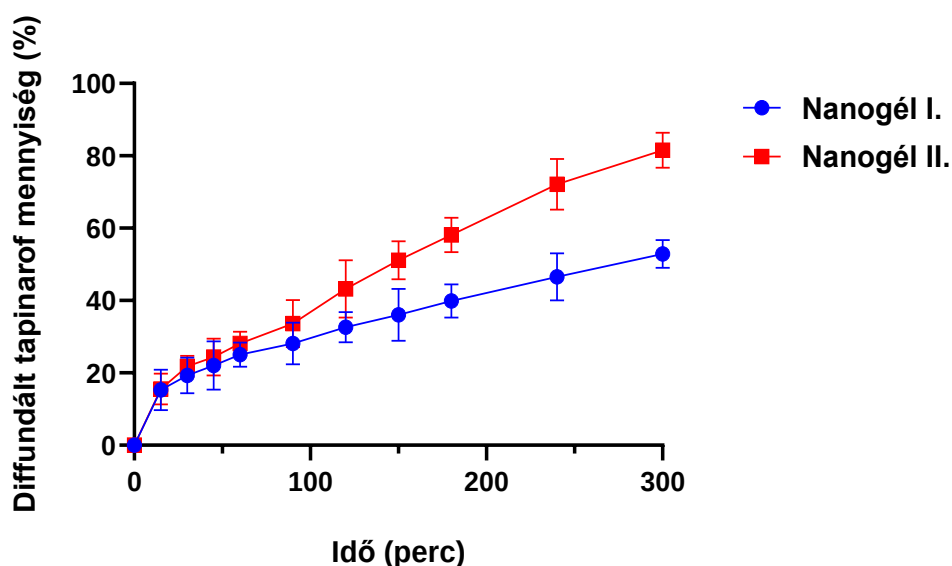


13. ábra: A hatóanyagot tartalmazó nanogél formulációk textúraanalízisével meghatározott kompressziós erő értékei. Az adatokat átlag ± szórás (SD) formájában adtuk meg (n = 6). A statisztikai analízist kétmintás t-próbával végeztük. A különbségeket p < 0,05; **p < 0,01, ***p < 0,001; ****p < 0,0001 értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

5.1.4. In vitro kioldódási vizsgálat

A **14. ábra** a formulációk diffúziós profilját mutatja egy izopropil-mirisztáttal impregnált cellulóz-acetát membránon keresztül. A grafikonokon a membránon átjutott tapinarof átlagos kumulatív százalékos arányát határoztuk meg az idő függvényében. A

permeációs vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a gyógyszer hatóanyag azonnal elkezdett felszabadulni, és az oldódási görbe folyamatos emelkedést mutatott. Az eredmények alapján elmondható, hogy a nanogél II. jobb teljesítményt mutatott a másik formulációhoz képest: 5 óra elteltével a tapinarof 81%-a jutott át a membránon, ami jelentősen magasabb, mint a nanogél I. esetében megfigyelt 52%. Ezen kívül a nanogél II. fluxusa $0,1935 \text{ mg/cm}^2 \times \text{h}^{-1}$ volt, míg a nanogél I. fluxusa alacsonyabb, $0,1255 \text{ mg/cm}^2 \times \text{h}^{-1}$ értéket mutatott. A **9. táblázat** a két különböző kinetikai modell (nulladrendű és elsőrendű) szerinti illeszkedéshez tartozó korrelációs együtthatókat tartalmazza. Az 1-hez közelebb eső korrelációs együtthatók (R^2 értékek) jobb illeszkedést jeleznek az adott kinetikai modellhez. Az eredmények alapján mindkét gél jól jellemezhető a null- és elsőrendű kinetikai modellekkel.



14. ábra: A tapinarof felszabadulási profilja a különböző készítményekből. Az adatokat átlag $\pm$ SD formában adtuk meg ($n = 3$).

Kinetikai modell		
Összetétel	Nulladrendű	Elsőrendű
Nanogél I.	0,9892	0,978
Nanogél II.	0,994	0,998

9. táblázat: A készítmények korrelációs koefficiens értékei.

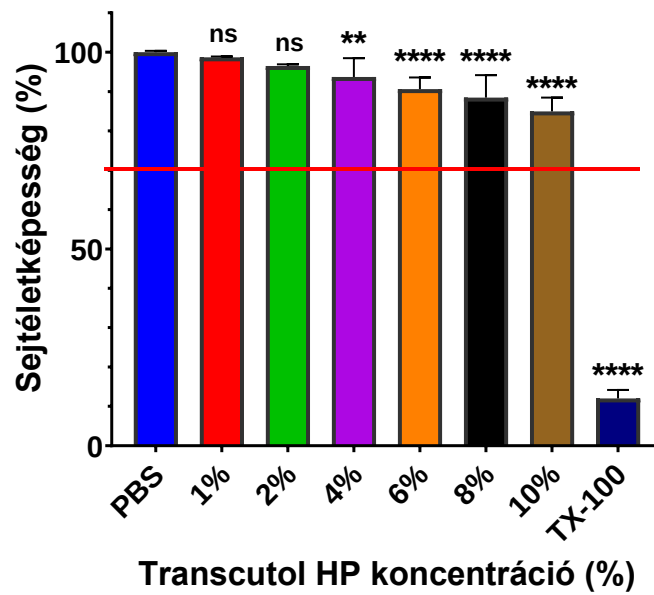
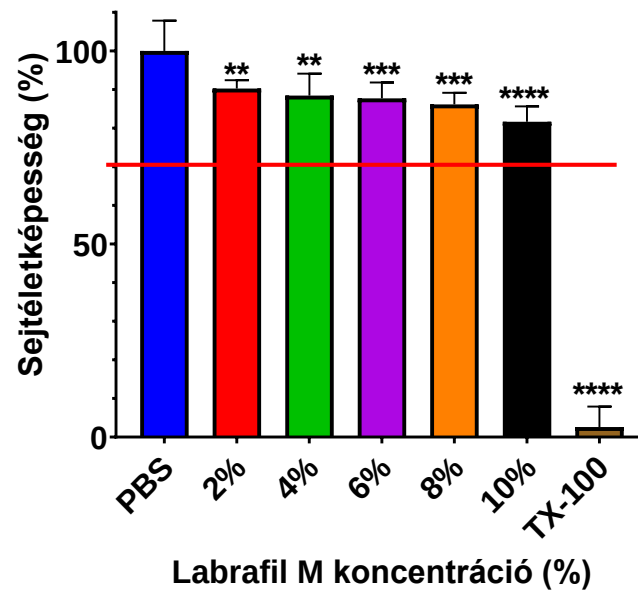
5.2. In vitro sejtes vizsgálatok

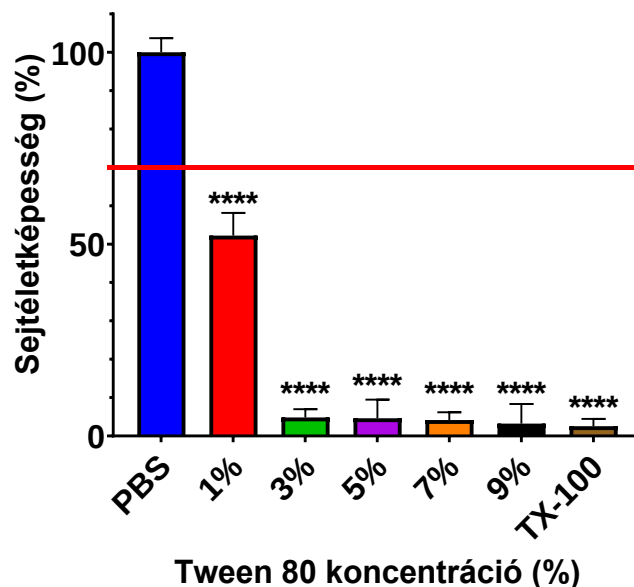
5.2.1. Monokultúrák vizsgálatok

5.2.1.1. Sejtéletképességi vizsgálat HaCaT sejteken

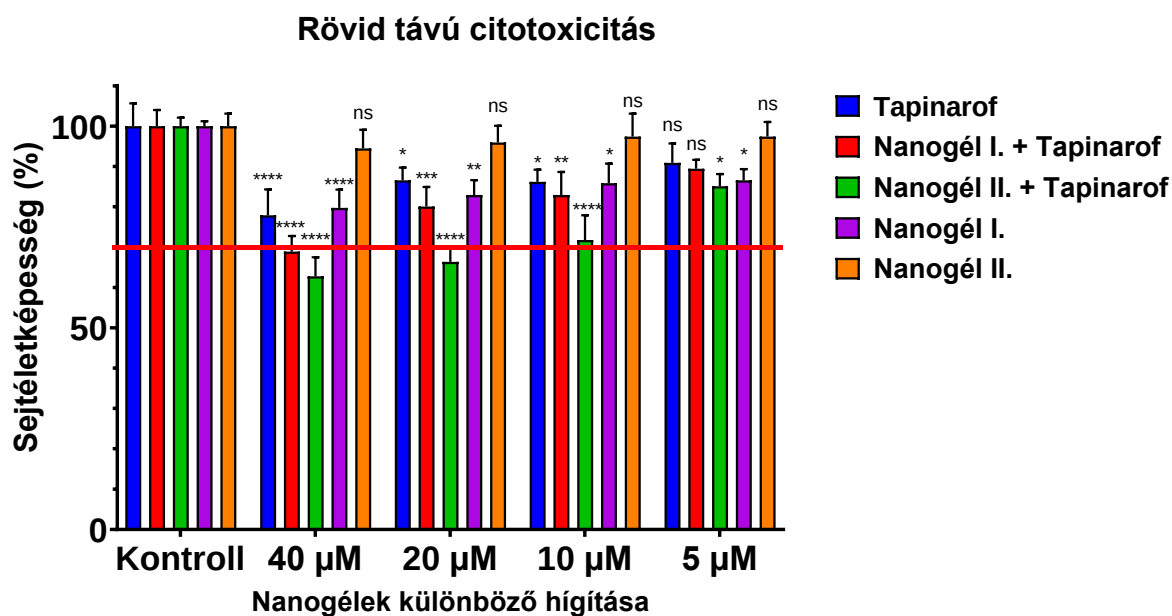
Az MTT teszt eredményeit a **15. és a 16. ábra** mutatja be. A citotoxicitási vizsgálatokat minden esetben HaCaT sejteken végeztük. A kísérletet a készítmény különböző segédanyagaival végeztük, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy azok nem toxikusak a sejtekre. A kísérletben a Labrafil M-et, a Transcutol HP-t és a Tween 80-at vizsgáltuk, amelyeket különböző koncentrációkban oldottunk PBS-ben. Ezen kívül a hatóanyagot és a nanogél formulációkat tapinaroffal és anélkül 9%-os NaCl oldatban oldottuk fel különböző koncentrációban. A vizsgálat során pozitív kontrollként a Triton-X 100-at, negatív kontrollként pedig a PBS-t választottuk. A sejtek életképességét a negatív kontrollhoz viszonyítva, százalékos formában fejeztük ki.

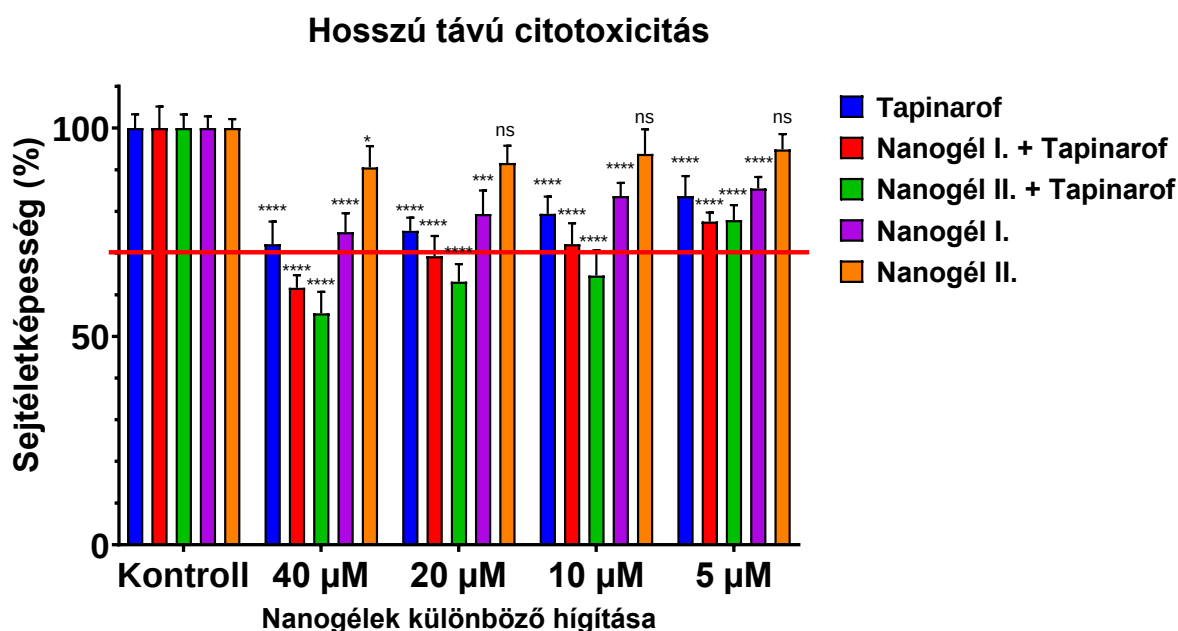
A vizsgálatok eredményei alapján csak a Tween 80 nem bizonyult biztonságosnak az alkalmazott koncentrációkban. Mivel azonban elősegítik a hatóanyag felszabadulását és jobb penetrációját, használatuk megfontolandó. A további vizsgálati minták biztonságosnak és nem toxikusnak bizonyult, mivel a sejtek életképességének értékei minden esetben 70% felett voltak. A tapinarof és a különböző nanogélek HaCaT sejtek életképességére gyakorolt hatását rövid távú (30 perces inkubációs idő) és hosszú távú (24 órás inkubációs idő) vizsgálatokkal is elemeztük. A rövid távú vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy az összes készítmény, beleértve a tapinarofot önmagában, nem volt toxikus a HaCaT sejtekre. A hosszú távú értékelések során hasonló értékeket kaptunk. Egyes kombinációk esetén azonban 24 órás inkubációt követően az életképesség enyhe csökkenése volt megfigyelhető. Összességében mindkét vizsgálat azt mutatja, hogy a tapinarof és a nanogél formulációk biztonságosan alkalmazhatók HaCaT sejteken.





15. ábra: Az egyes segédanyagok MTT-teszt eredményei HaCaT sejtvonalon. A sejtek életképességét a negatív kontrollhoz (PBS) viszonyítva százalékban fejeztük ki. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-t követően Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

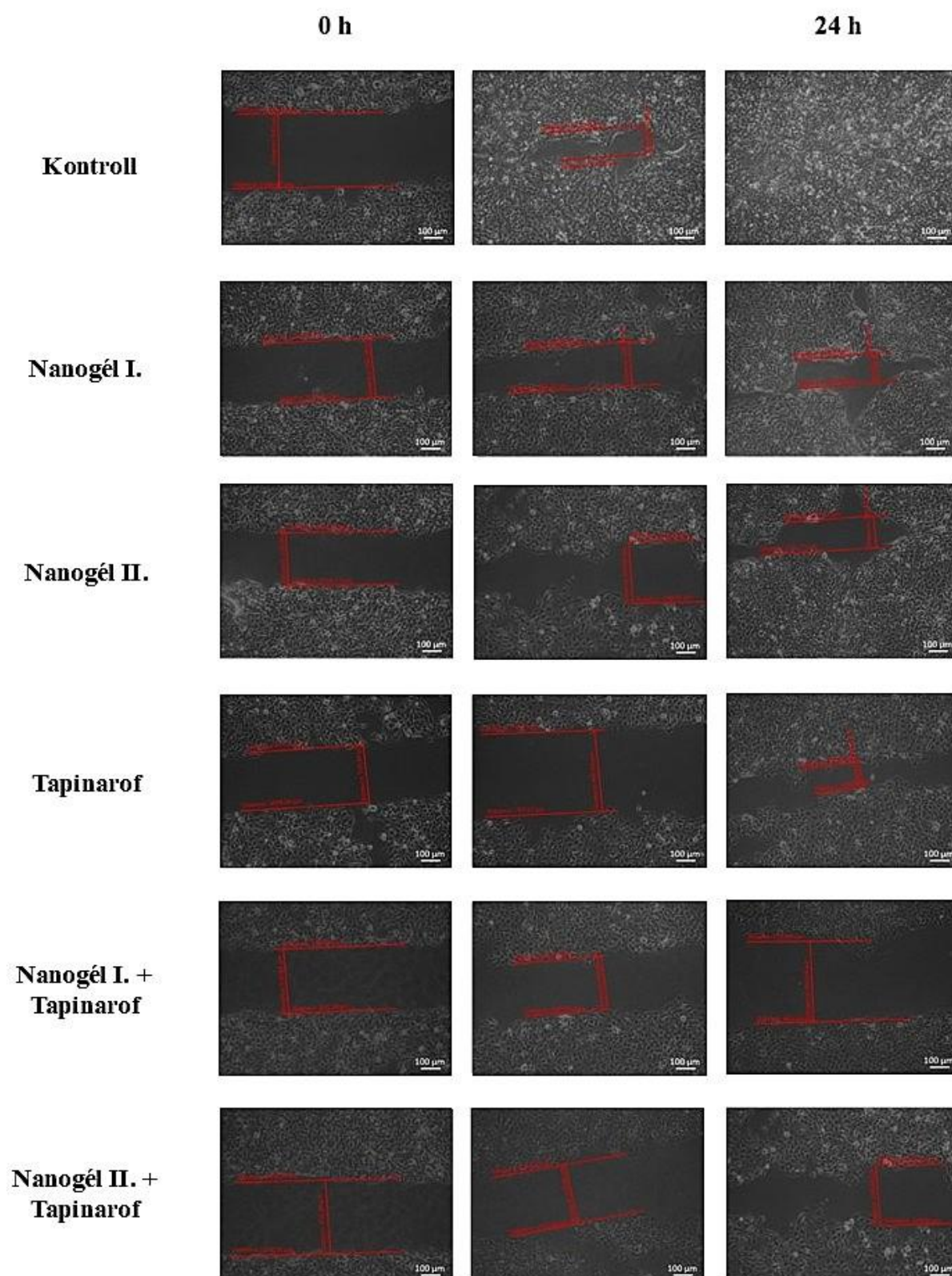




16. ábra: A nanogélek és hatóanyag hosszú és rövid távú MTT-teszt eredményei HaCaT sejtvonalon. A sejtek életképességi értékeit a negatív kontrollhoz (PBS) viszonyítva százalékban fejeztük ki. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-t követően Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

5.2.1.2. Sebgyógyulási vizsgálat fibroblaszt sejteken

A tapinarof-tartalmú nanogélek fibroblaszt sejtkultúrában történő migrációra gyakorolt hatását karcolásos sebgyógyulási teszttel vizsgáltuk. A **17. ábra** mikroszkópos képeket mutat be a kontroll körülmények között 24 órás kezelés után kapott záródás mértékéről 40 µg/ml koncentráció alkalmazása mellett. A vizsgált hatóanyagot tartalmazó és nem tartalmazó formulációk hatását a szabad tapinaroffal kapott záródási arányhoz viszonyítva értékeltük. A nanogél II.-vel kezelt sejteknél kevesebb fibroblaszt volt a karcolás területén belül, mint az üres nanogéllel kezelt sejteknél. Az üres készítmények esetében a karcolás területének teljes záródása volt megfigyelhető. A hatóanyaggal töltött nanogél I. hatására a fibroblaszt sejtkultúrában szintén megfigyelhető volt a sejtek záródása 24 órán belül. Röviden, az eredmények arra utalnak, hogy a tapinarof beépítése a nanogélbe II.-be növeli annak antiproliferatív és antimigrációs aktivitását.

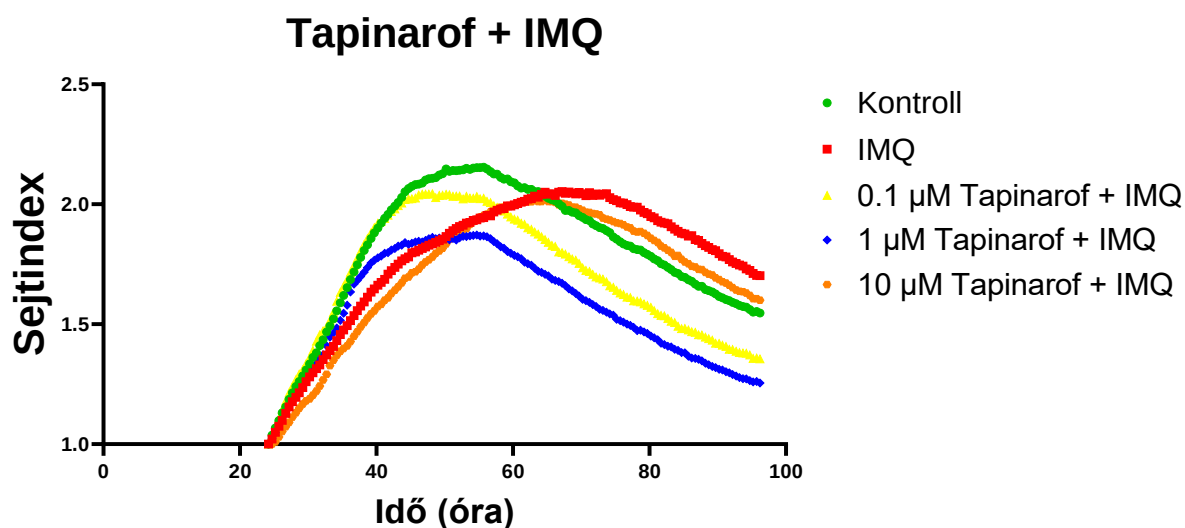


17. ábra: Reprezentatív mikroszkópos felvételek a sebzárodás mértékéről 24 órás kezelés után, 40 µg/ml koncentráció alkalmazása mellett, összehasonlítva a szabad tapinaroffal, az üres nanogélekkel és a hatóanyaggal töltött nanogélekkel.

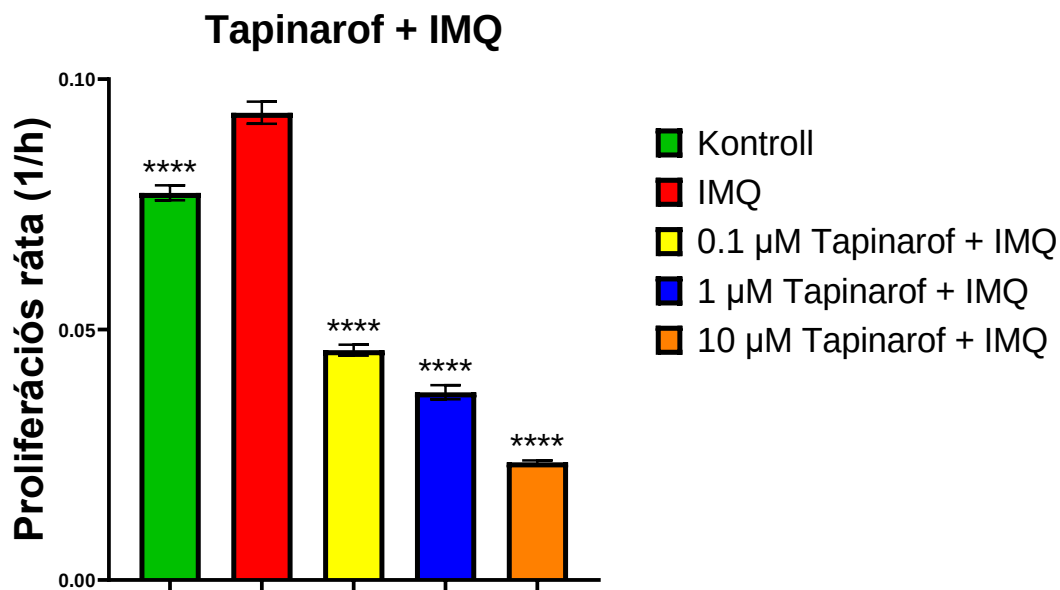
5.2.2. Ko-kultúrák vizsgálatok

5.2.2.1. Valós idejű sejtanalízis (RTCA)

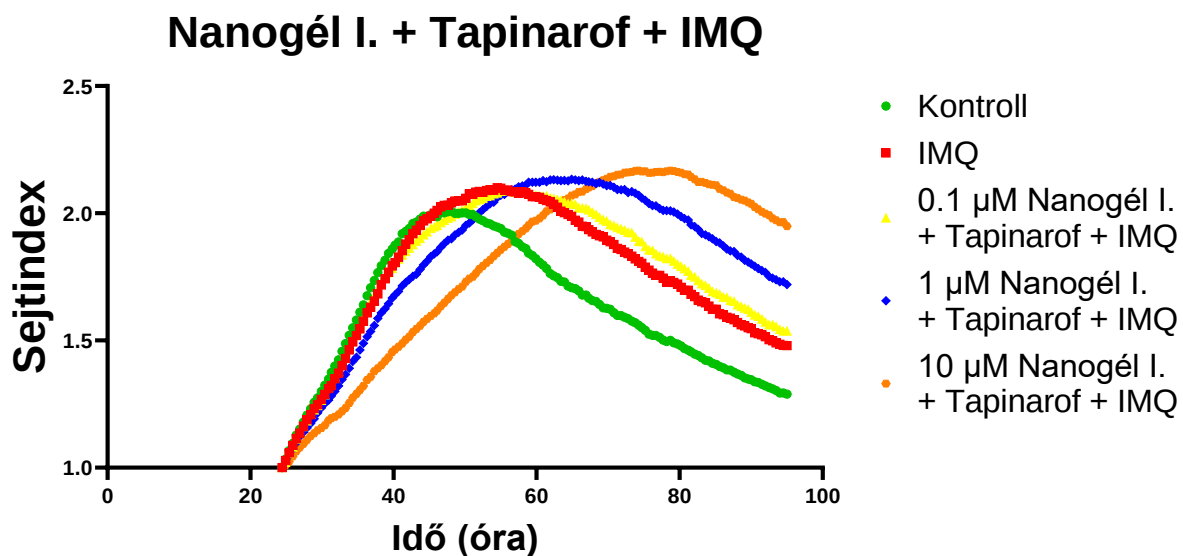
A tapinarof és a nanogél-alapú hordozórendszerek potenciális pikkelysömör elleni hatását valós idejű sejtelemezéssel értékeltem a ko-kultúra modellen. Az IMQ által indukált gyulladásos környezet fokozott sejtszaporodást eredményezett, összhangban a szakirodalomban korábban leírtakkal [164]. Maga a szabad tapinarof mérsékelten csökkentette az IMQ által kiváltott proliferációt, ami gyulladáscsökkentő hatására utal (**18. és 19. ábra**). Mindkét tapinarof-tartalmú nanogél-készítmény hatékonyabban csökkentette a sejtproliferációs indexet, mint a szabad hatóanyag, különösen IMQ jelenlétében. A tapinarof a nanogél formulációkkal kombinálva dóziszfüggő módon mérsékelte az IMQ által kiváltott sejtproliferációt. A kísérlet eredményei szerint nanogél I. is jelentősen csökkentette az IMQ által kiváltott proliferációt (**20. és 21. ábra**), de a II. számú nanogél készítmény erőteljesebb hatást mutatott (**22. és 23. ábra**). Az RTCA-eredmények alapján a 10 μM -es tapinarof és a tapinarofot tartalmazó nanogélek mutatták a legjelentősebb biológiai hatást, ezért ezt a koncentrációt alkalmaztam a későbbi vizsgálatokban.



18. ábra: A szabad tapinarof hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanalízissel. Az adatokat átlag $\pm$ SD formában adtuk meg ($n = 3$).

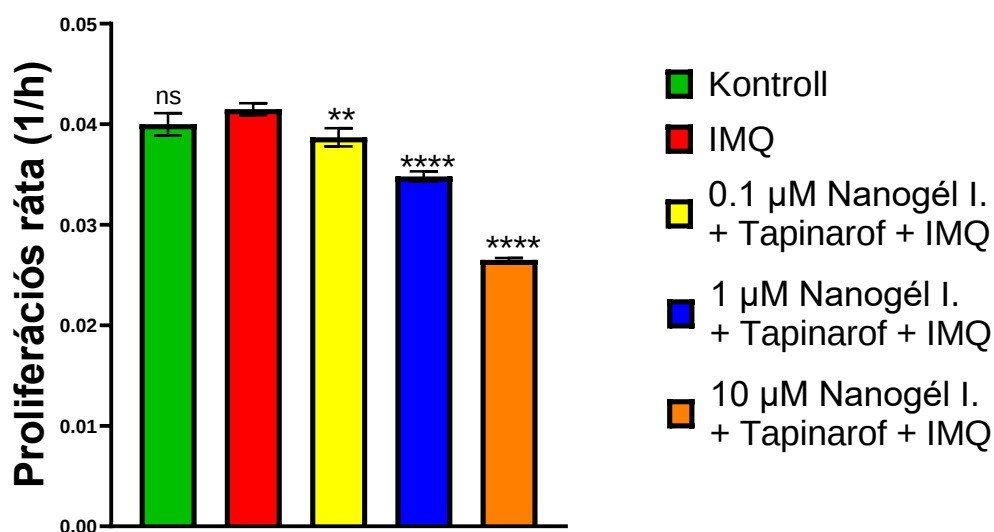


19. ábra: A szabad tapinarof koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 kultúra proliferációjára. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag ± szórás (SD), $n = 3$ formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.



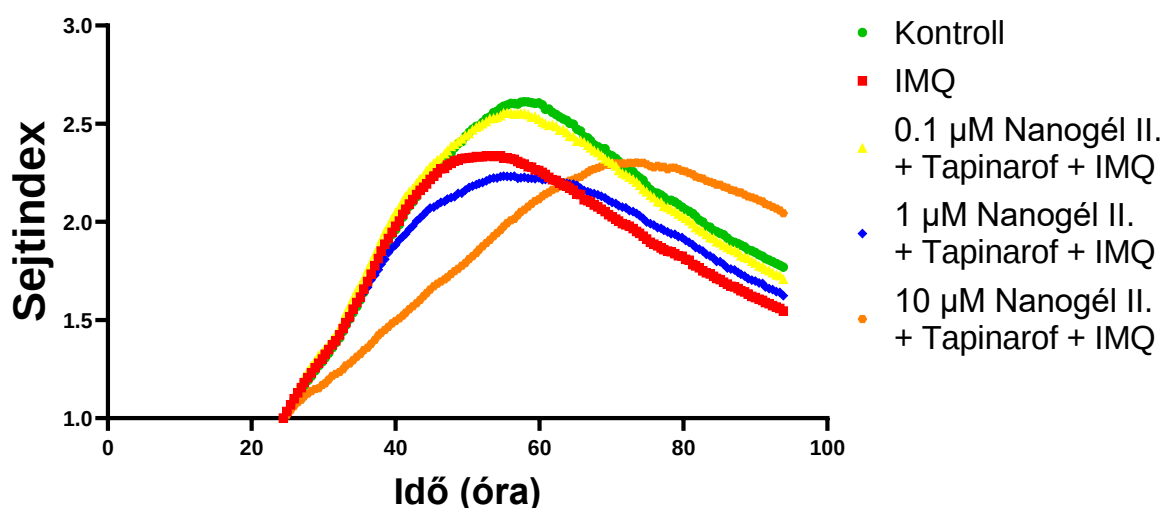
20. ábra: A tapinarofot tartalmazó nanogél I. hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanálízissel. Az adatokat átlag ± SD formában adtuk meg ($n = 3$).

Nanogél I. + Tapinarof + IMQ



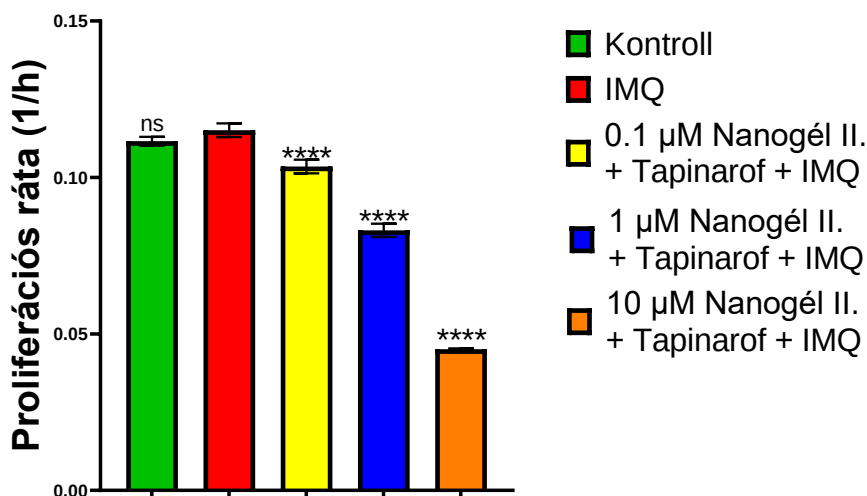
21. ábra: A tapinarofot tartalmazó I. nanogél koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúra proliferációjára. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag $\pm$ szórás (SD), $n = 3$ formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

Nanogél II. + Tapinarof + IMQ



22. ábra: A tapinarofot tartalmazó nanogél II. hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanálízissel. Az adatokat átlag $\pm$ SD formában adtuk meg ($n = 3$).

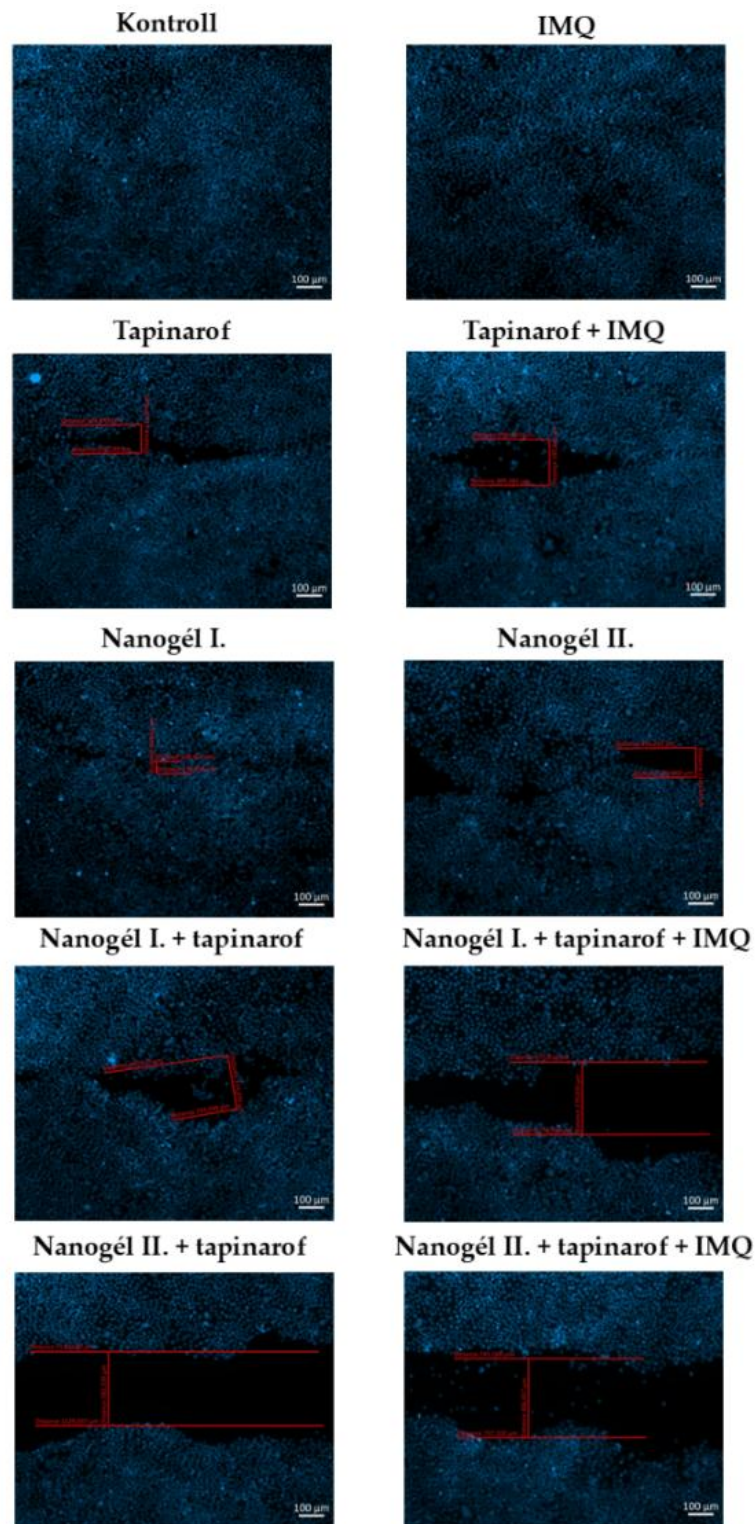
Nanogél II. + Tapinarof + IMQ



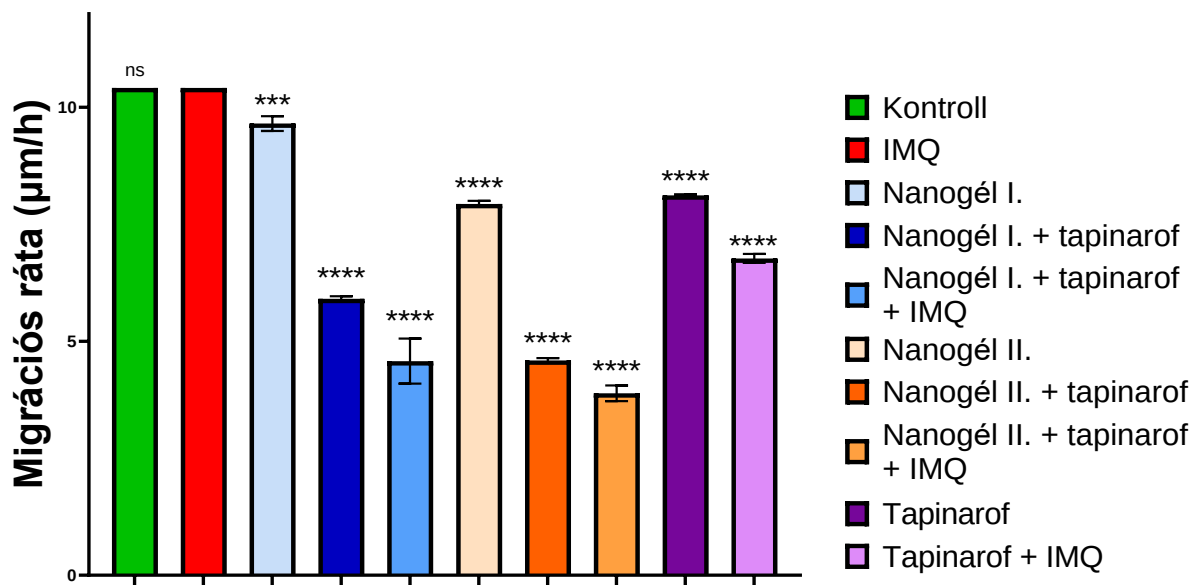
23. ábra: A tapinarofot tartalmazó II. nanogél koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúra proliferációjára. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag $\pm$ szórás (SD), $n = 3$ formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

5.2.2.2. Sebgyógyulási vizsgálat ko-kultúra modellen

A sejmigrációt in vitro sebgyógyulási vizsgálattal értékeltem a ko-kultúra modellben. A **24. és 25. ábra** alapján a kezeltlen (kontroll) mintákban a sejt vándorlás a vártan megfelelően zajlott. Teljes sebzáródás volt megfigyelhető az IMQ-val kezelt mintákban is, mivel az IMQ fokozza a keratinociták szaporodását. Az üres nanogélek kezelése nem befolyásolta a sebzáródást, ami tovább erősíti azok biokompatibilitását. A szabad tapinarof mérsékelten lassította a sejtek szaporodását, míg a hatóanyagot tartalmazó nanogél I. IMQ hiányában szintén csökkentette a sebzáródás sebességét. Ugyanakkor a legerőteljesebb antimigrációs hatást a tapinarofot tartalmazó nanogél II. formuláció esetében figyeltem meg. Érdekes módon a tapinarof mind szabad formájában, mind a nanogélekbe beépítve erőteljesebben gátolta a sejt vándorlást gyulladásos mikrokörnyezetben (IMQ jelenlétében), mint fiziológiai körülmények között. Összességében a hatóanyaggal töltött II. számú nanogél bizonyult a leghatékonyabbnak a rendellenes keratinocita-migráció csökkentésében, ezáltal ígéretesnek bizonyul a gyulladásos sejtválasz modulálásában.



24. ábra: Reprezentatív fluoreszcens mikroszkópos felvételek a sebzáródásról 24 órával a kezelés után, szabad tapinarof, illetve nanogél formulációk alkalmazása esetén, IMQ jelenlétében vagy hiányában. Kék: DAPI-val festett sejtmagok. A karcolt területet pirossal jelöltük.



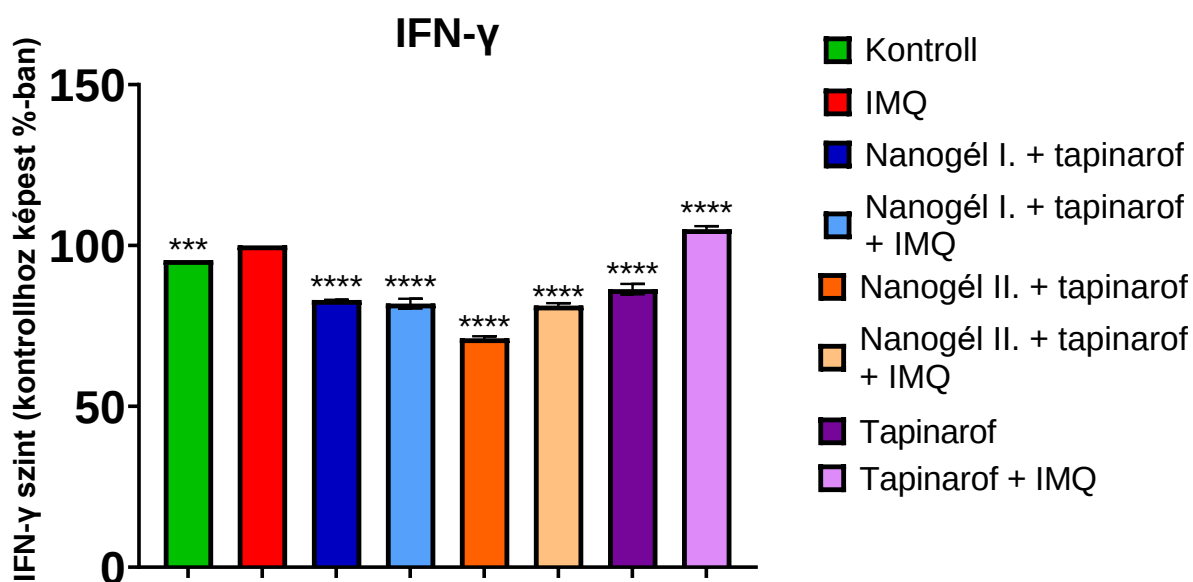
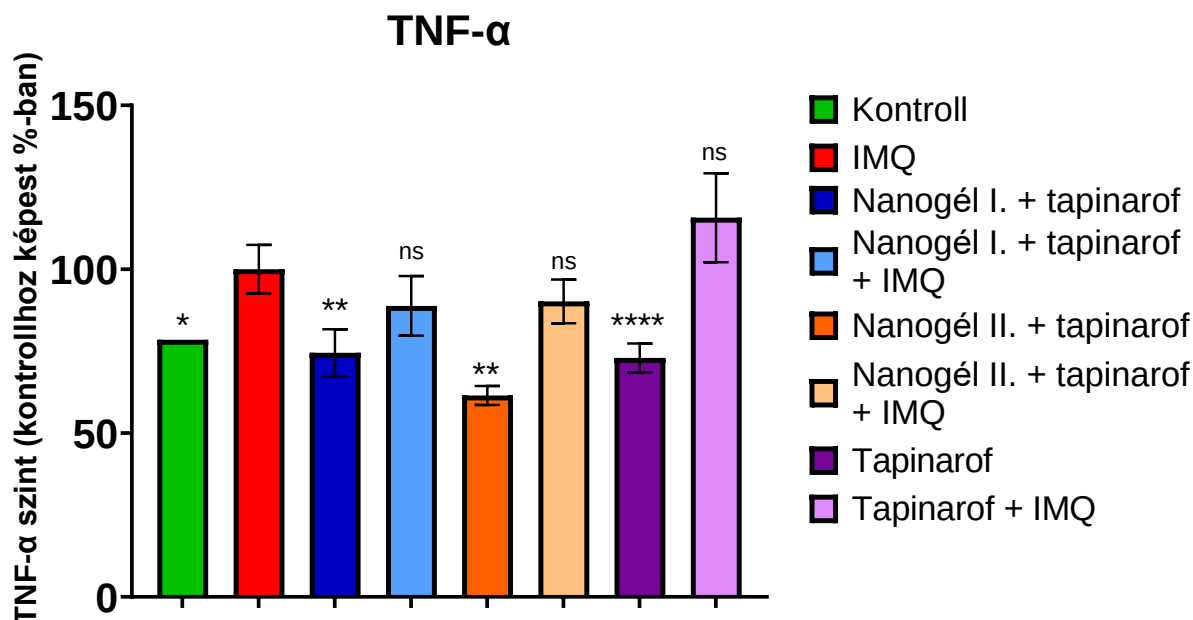
25. ábra: A HaCaT sejtek migrációs sebességének (µm/h) kvantitatív meghatározása a karcolásos területen 24 óra elteltével. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag ± szórás (SD), n = 3 formában adtuk meg. A különbségeket p < 0,05; **p < 0,01, ***p < 0,001; ****p < 0,0001 értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

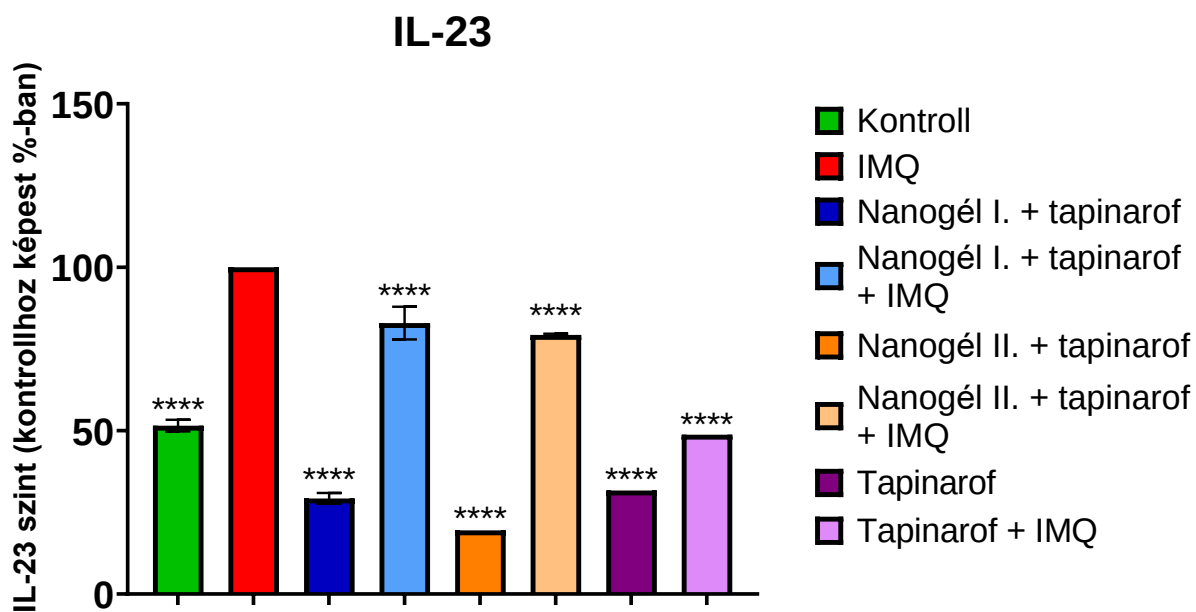
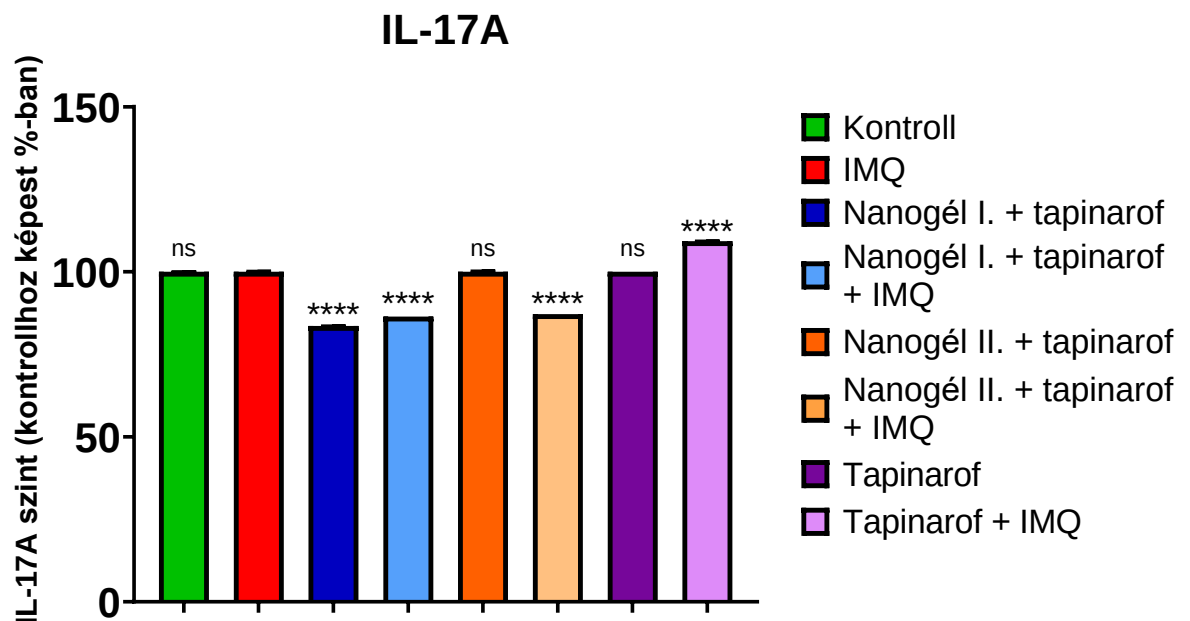
5.2.2.3. Immunválasz és jelátviteli útvonalak elemzése

5.2.2.3.1 ELISA vizsgálatok

A proinflammatorikus citokinek (TNF-α, IFN-γ, IL-17A és IL-23) szintjét ELISA módszerrel határoztam meg a HaCaT–THP-1 ko-kultúrák modellben, melynek eredményeit a **26. ábra** mutatja be. Az IMQ-kezelés a kontrollcsoportéhoz képest szignifikánsan növelte az összes vizsgált citokin szekrécióját, ami megerősítette a gyulladásos válasz sikeres kiváltását. A tapinarof önmagában és nanogél készítményekben is gyulladáscsökkentő hatást mutatott. A hatóanyagot tartalmazó nanogél készítmények viszont hatékonyabbnak bizonyultak, mint a szabad hatóanyag. A gyulladásos mikrokörnyezetben a szabad tapinarof mérsékelten csökkentette az IL-23 szekrécióját, és nem mutatott gátló hatást más citokinekre, sőt egyes esetekben magasabb citokinszinteket eredményezett, mint az IMQ-kezelés önmagában. IMQ jelenlétében a tapinarof-tartalmú nanogél I. csökkentette a TNF-α és az IL-23 szintjét, enyhén csökkentette az IL-17A szekrécióját, míg az IFN-γ szintjében nem volt megfigyelhető lényeges változás. A legerősebb gyulladáscsökkentő hatást a hatóanyag-tartalmú nanogél II. kezelés

mutatta, amely valamennyi vizsgált citokin szintjét csökkentette, beleértve az IL-23-at is. Bár az IL-17A és IL-23 génexpressziójában nem volt kimutatható változás qPCR-rel, az ELISA jelentős modulációt mutatott ki fehérjeszinten. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a tapinarof-tartalmú nanogélek hatékonyan csökkentik az IMQ által kiváltott gyulladásos citokintermelést ebben az in vitro ko-kultúra modellben.

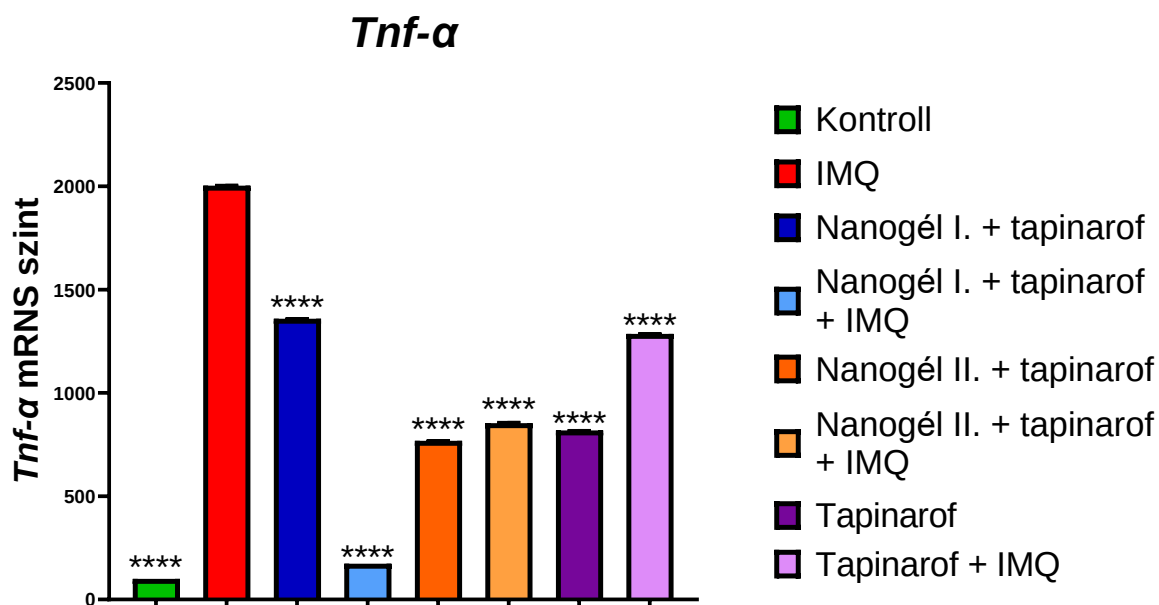


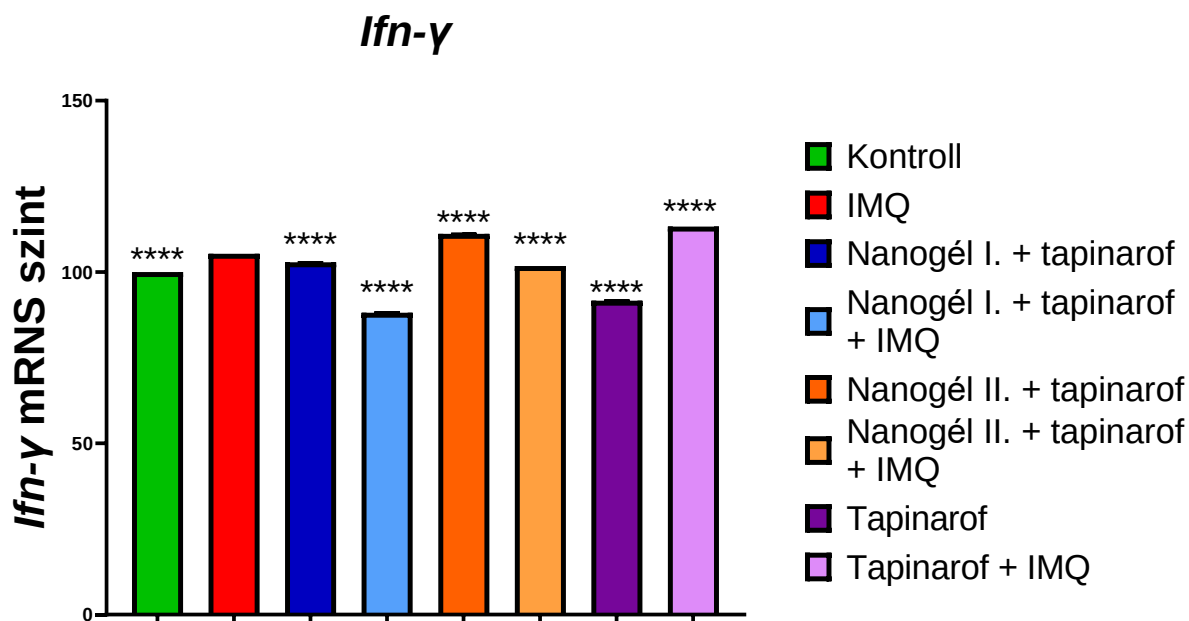


26. ábra: A gyulladásos citokinek szintje a HaCaT–THP-1 ko-kultúrában, ELISA módszerrel meghatározva 24 órás kezelés után. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) viszonyítva, százalékos formában fejeztük ki. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag $\pm$ szórás (SD), $n = 3$ formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

5.2.2.3.2 Génexpresszió mérése qPCR-rel

A *Tnf- α* , *Ifn- γ* , *Il-17a* és *Il-23* gének expresszióját qPCR módszerrel határoztam meg. A *Tnf- α* gén expressziója az IMQ-val kezelt mintákban a kontrollcsoporthoz képest megnövekedett, ami megerősítette a gyulladásos válasz sikeres kiváltását. A 27. ábrán látható, hogy a tapinarofot tartalmazó nanogél I. fejtette ki a leghatékonyabb gyulladáscsökkentő hatást IMQ jelenlétében, mivel jelentősen csökkentette az IMQ által kiváltott *Tnf- α* expressziót. A szabad tapinarof és tapinarofot tartalmazó nanogél II. szintén csökkentette a *Tnf- α* szintjét, bár a nanogél I. hatása bizonyult a leghatékonyabbnak. Az *Ifn- γ* génexpresszió enyhe növekedést mutatott IMQ hatására. A szabad tapinarof és a tapinarofot tartalmazó nanogélekkel végzett kezelés az IMQ jelenlétében az *Ifn- γ* expresszió enyhe csökkenését eredményezte. Összességében az *Ifn- γ* gén expressziója a kísérleti körülmények között stabil maradt. Az *Il-17a* és az *Il-23* mRNS-expressziója 24 órás kezelés után minden kísérleti csoportban a kimutatási határ alatt maradt. Sem az IMQ-stimuláció, sem a tapinarof, sem a tapinarofot tartalmazó nanogélek nem váltottak ki mérhető transzkripciós változásokat az *Il-17a* vagy az *Il-23* esetében a HaCaT–THP-1 ko-kultúra modellben. Ezek az eredmények eltérnek az ELISA-val mért citokinszint-változásoktól, ami arra utal, hogy a citokinszekréció és a génexpresszió nem állt közvetlen összefüggésben az alkalmazott kísérleti körülmények között.

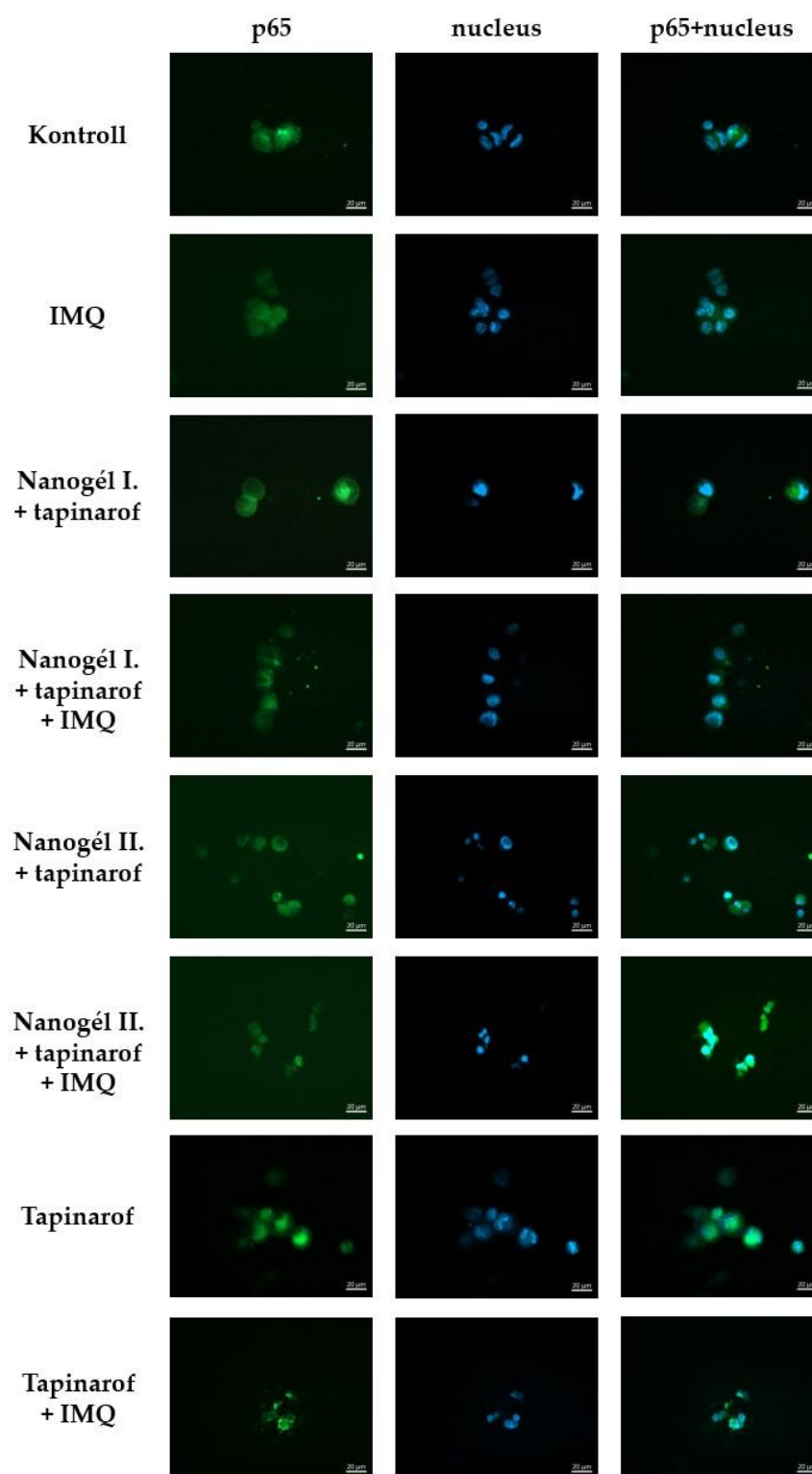




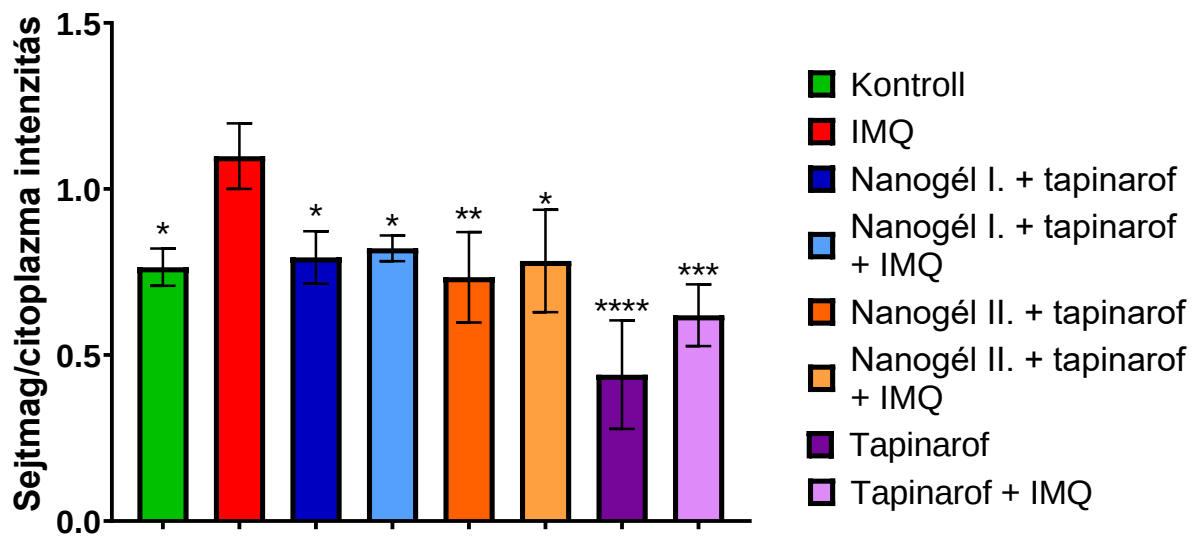
27. ábra: A *Tnf-α* és *Ifn-γ* citokinek mRNS-expressziós szintje a HaCaT–THP-1 kultúrában a különböző tapinarof formulációk (nanogél I. és II.) alkalmazása mellett, IMQ jelenlétében vagy anélkül. A génexpressziós szinteket a kezeletlen kontrollhoz (DMEM) normalizáltuk. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag ± szórás (SD), n = 3 formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

5.2.2.3.3 NF-κB transzlokáció

Az NF-κB jelátviteli útvonal aktivációját immunfluoreszcens festéssel vizsgáltam THP-1 monocita sejtvonalon, a p65 alegység sejtmagba történő transzlokációjának nyomon követésével. A **28. és 29. ábrán** látható, hogy az IMQ-kezelés a p65 alegység nukleáris lokalizációját eredményezte, ami az NF-κB útvonal aktivációját jelzi. A szabad tapinarof kezelés a p65 sejtmagba való transzlokációjának enyhe csökkenését eredményezte, míg a tapinarofot tartalmazó nanogél I. mérsékelt gátló hatást mutatott. A leghatékonyabb IMQ-indukált p65 sejtmagba való lokalizációt a hatóanyag-tartalmú nanogél II.-nél figyelték meg, ami a szabad tapinarofhoz és a tapinarofot tartalmazó nanogél I.-hez képest az NF-κB aktiváció erőteljesebb gátlását jelzi.



28 ábra: Az NF- κ B p65 alegység nukleáris transzlokációja THP-1 sejtekben tapinarofot tartalmazó nanogélekkel történő kezelés hatására. Reprezentatív immunfluoreszcens felvételek az NF- κ B p65 (zöld) és a DAPI-val festett sejtmagok (kék) megjelenítésével THP-1 sejtekben 24 órás kezelés után, szabad tapinarof, illetve nanogél formulációk alkalmazása esetén.



29. ábra: Az NF- κ B p65 sejtmag/citoplazma intenzitásarány kvantitatív meghatározása különböző kezelések mellett. Az eredményeket a pozitív kontrollhoz (IMQ) hasonlítottuk. A statisztikai analízist egyutas ANOVA-val, majd Dunnett-féle többszörös összehasonlító teszttel végeztük. Az adatokat átlag $\pm$ szórás (SD), $n = 5$ formában adtuk meg. A különbségeket $p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ értékeknél tekintettük szignifikánsnak, az ns nem szignifikáns eltérést jelöl.

6. Megbeszélés

6.1. A készítményfejlesztés és a gyógyszerforma vizsgálatok értékelése

Kísérletes munkám első szakaszában a géleket többféle szempontból vizsgáltuk, beleértve az sejtleletképeségi vizsgálatot és a részecskeméret meghatározást. A formulációk nanoméretét dinamikus fényszórásos módszerrel igazoltuk. A mérések alapján mindkét összetétel a géleképződést követően is a nanoméret-tartományban maradt.

A készítményeket reológia és textúra analízisnek is alávetettük, mivel ezek a paraméterek közvetlenül összefüggnek a készítmények összetételével, ezáltal a konzisztenciával és a stabilitással is. Különösen a viszkozitás és a nyírófeszültség hőmérséklet- és nyírási sebességfüggő változása befolyásolja a hatóanyag-leadást, ezáltal a bőrön keresztüli penetrációt is [182].

A reológiai mérések azt mutatták, hogy mindkét gél viszkozitása csökkent a hőmérséklet emelkedésével: 35 °C-on a viszkozitás kissé alacsonyabb volt, mint szobahőmérsékleten. Hasonló eredményekről számolt be Zeynep Ay Şenyigit és munkatársai, akik karbopol 934 alapú gélekben figyeltek meg pszeudoplasztikus viselkedést a mupirocin dermális alkalmazásához [183]. Rajinikanth és társai másik vizsgálatukban szintén nyírásra híguló viselkedést mutattak ki karbopol 934 alapú gélek esetén [184]. Giuseppe és társai munkája tovább erősíti ezeket az eredményeket, miszerint a karbopolt tartalmazó gélek viszkozitása a hőmérséklet emelkedésével csökken [185].

A viszkozitás csökkenésének következményeként testhőmérsékleten a gél könnyebben folyik, ami gyorsabb hatóanyag-leadáshoz vezethet. A nanogél II. viszkozitása kissé alacsonyabb volt, ami arra utal, hogy ez a formuláció gyorsabb hatóanyag-felszabadulásra képes. Az alacsonyabb viszkozitás azt is jelenti, hogy testhőmérsékleten a nanogél könnyebben kenhető, ami megkönnyíti a bőrre való felvitelt.

A textúraanalízis alapján a két formuláció között nem volt kimutatható szignifikáns eltérés a kompressziós erő tekintetében. A nanogél I. körülbelül 65 Nm átlagos kompressziós erőt mutatott, míg a nanogél II. kissé alacsonyabbat, körülbelül 60 Nm-t. A vizsgált minták nem mutattak ellenállást, így állaguk megfelelőnek bizonyult gélalapú gyógyszerformákhoz, ami hozzájárulhat a betegek jobb együttműködéséhez.

Az in vitro hatóanyag-leadási vizsgálatok során megfigyeltük, hogy a nanogél II. gyorsabb és magasabb mértékű tapinarof felszabadulást mutatott az idő előrehaladtával. 11 perc elteltével a felszabadult tapinarof mennyisége megközelítette a 14%-ot, míg a nanogél I. mérsékeltebb felszabadulást mutatott, körülbelül 8%-ot. Mindkét formuláció stabil maradt a

kísérlet során, azonban a két nanogél közötti különbség egyértelműen megmutatkozott a hatóanyag-leadás sebességében. Ez a különbség valószínűleg az alkalmazott összetevők eltéréseiből, illetve a reológiai tulajdonságokból ered, amelyek befolyásolják a bőrön való áthatolást. A két gél közül a nanogél II. jelentősen jobb felszabadulási profilt mutatott, ami összhangban áll a reológiai vizsgálatok eredményeivel. Az ilyen gyors felszabadulás különösen előnyös lehet, ha a célzott, gyors hatás elérése a cél, mint pikkelysömör esetén.

Munkánk során igyekeztünk olyan segédanyagokat választani, amelyek elősegítik a hatóanyag oldódását és felszabadulását. A szakirodalmi adatok alapján a nem-ionos felületaktív anyagok rendelkeznek a legkisebb irritációs potenciállal, ezért ezek használata mellett döntöttünk. A Labrafil M, a Tween 80 és a Transcutol HP egyaránt ismert oldószerek vagy ko-oldószerek, amelyeket gyakran alkalmaznak helyi gyógyszerformák penetrációjának fokozására [186].

Yue Zhang és munkatársai szerint a tapinarof nagy mértékben oldódik Tween 80-ban és etanolban [187]. Jasmine Musakhanian leírása alapján a Transcutol HP jelentős mennyiségű hidofil és lipofil anyagot képes oldani, így jól alkalmazható hidrogélekben is [188]. Ennek megfelelően a gélformulációban a tapinarofot ezekben az oldószerekben oldottuk fel.

A hatóanyagot tartalmazó készítmények és a kiválasztott segédanyagok biokompatibilitását HaCaT sejtvonalon teszteltük. A tapinarof és a különböző nanogélek sejttéteképességre gyakorolt hatását rövid és hosszú távú vizsgálatokkal egyaránt jellemeztük annak érdekében, hogy átfogóbb képet kapjunk a formulációk biokompatibilitási profiljáról. Az MTT teszt eredményei alapján a szabad tapinarof, a nanogél formulációk, valamint a Labrafil M és a Transcutol HP a vizsgált koncentrációtartományban megfelelő biokompatibilitást mutattak. Ezzel szemben a Tween 80 citotoxikus hatást mutatott, így ez bizonyult az egyetlen vizsgált komponensnek, amely a sejtek életképességének csökkenését eredményezte.

Ugyanakkor ezek az eredmények nem egyeznek Farzaneh Forouz és munkatársainak megfigyeléseivel, akik szintén MTT teszt segítségével vizsgálták a Labrafil M és Transcutol HP toxicitását. Eredményeik szerint ezek az anyagok ugyan kevésbé voltak toxikusak, mint a Triton X-100, de nem tekinthetők nem toxikus segédanyagoknak farmakológiai vagy toxikológiai értékelések alapján [186].

Kísérletünk során egyedül a Tween 80 bizonyult toxikusnak. Ezzel szemben a szakirodalomban számos tanulmány cáfolja ezt az eredményt. Caroline Maupas és munkatársai például lipid nanopartikulumokba épített Tween 80 és más felületaktív anyagok toxicitását vizsgálták, és erős felületaktív anyag-típusfüggő toxicitást figyeltek meg HaCaT sejtekben.

Azonban nem a Tween 80 bizonyult a legtoxikusabbnak. A felületaktív anyagok toxicitása főként amfipatikus szerkezetüknek tulajdonítható [189]. Ezzel szemben Maiulle T. Pacheco és munkatársai a sucupira olajat tartalmazó nanoemulziókat vizsgálták, ahol a toxicitást nem a felületaktív anyagoknak, hanem magának az olajnak tulajdonították [190]. Továbbá Katja Steine és társai a Tween 80-at az egyik legbőrbarátabb felületaktív anyagként értékelték [191].

A szakirodalmi adatok szerint a tapinarof rendelkezik antiproliferatív tulajdonságokkal [38,89]. Ezt in vitro sebgyógyulási vizsgálataink is alátámasztották, ahol a sebzáródás mértéke elsősorban a sejt migrációt tükrözi. Míg a klasszikus sebgyógyulási modellekben a gyorsabb sebzáródás kedvezőnek tekinthető, a pikkelysömör kontextusában a fokozott sejt migráció és proliferáció mérséklődése potenciálisan előnyös hatásnak tekinthető. A tapinarof önmagában is jobban akadályozta sebzáródást 24 óra elteltével, mint az üres gélek. Ezen felül a tapinarofot tartalmazó nanogél I. mérsékelten gátolta a sejt migrációt, míg a hatóanyagot tartalmazó nanogél II. hatására lassabb sebzáródás következett be, vagyis a fibroblasztok migrációja a karcolás területén belül 24 órán belül gátlásra került. Ez azért lehet kedvező a pikkelysömör kezelésében, mivel a betegségre a keratinociták fokozott proliferációja jellemző.

6.2. In vitro sejtes vizsgálatok eredményeinek értékelése

Kísérletes munkám második szakaszában a HaCaT–THP-1 ko-kultúra modell alkalmazásával különböző paraméterek alapján értékeltük a tapinarofot tartalmazó nanogéleket. A nanoformulációk sejtproliferáció-gátló hatását RTCA és in vitro sebgyógyulási tesztekkel vizsgáltuk. Mivel a tapinarof vizsgálatára RTCA módszer alkalmazásáról nincs rendelkezésre álló tudományos adat, kísérletünk egyedülállónak tekinthető. A méréseket a hatóanyaggal és anélkül, gyulladásos (IMQ-indukált) és nem gyulladásos környezetben végeztük. Az eredmények alapján mindkét nanogél jelentősen csökkentette az IMQ által kiváltott sejtproliferációt, míg a szabad tapinarof hatása mérsékeltebb volt. A hatóanyagot nem tartalmazó nanogélek nem fokozták a sejtszaporodást. Minden minta esetében a 10 μ M-es tapinarof-koncentráció bizonyult a leghatékonyabbnak, így a továbbiakban a kísérleteket ezzel a dózissal folytattuk.

Az in vitro sebgyógyulási vizsgálat során a 10 μ M-es tapinarof-koncentráció eltérő migrációs profilt eredményezett, mint a humán dermális fibroblasztokon végzett korábbi kísérletünkben, ahol a hatóanyagot 40 μ M-es dózisban, gyulladásos stimulus nélkül teszteltük. A gyulladásos keratinocita-makrofág modellben az IMQ fokozta a sejtek közötti rés bezáródását, de a tapinarofot tartalmazó kezelések jelentősen lassították ezt a folyamatot. A

kétféle nanogél közül a II. típusú nanogél kedvezőbb tendenciát mutatott, mint az I. típusú. Az IMQ jelenlétében azonban minden kezelés jelentősen lelassította a sejtek közötti rés bezáródását a szabad hatóanyaghoz képest. Ez a tulajdonság különösen előnyös lehet olyan kórképekben, mint a pikkelysömör, amelyek hiperproliferációval és gyulladással járnak, és ahol a terápia célja a rendellenes keratinocita-proliferáció csökkentése.

Az ELISA vizsgálatokat végeztük annak értékelésére, hogy a tapinarofot tartalmazó nanogél készítmények milyen hatást gyakorolnak a szabad tapinarofhoz képest a kulcsfontosságú proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IFN- γ , IL-17A és IL-23) szekréciójára a HaCaT–THP-1 ko-kultúra modellben. Eredményeink azt mutatták, hogy a tapinarofot tartalmazó nanogélek kifejezettebb citokinszint-csökkenést eredményeztek, mint a szabad hatóanyag. A nanogél I. gyulladásos körülmények között csökkentette a TNF- α és az IL-23 citokinek szintjét, és enyhén mérsékelte az IL-17A szekrécióját, míg a nanogél II. mutatta a leghatékonyabb gyulladáscsökkentő profilt, mivel számottevő mértékben csökkentette mind a négy vizsgált citokin szintjét. Ezzel szemben a szabad tapinarof csak mérsékelt IL-23 csökkenést eredményezett, és nem volt kimutatható gátló hatása a többi citokinre. Sőt, egyes esetekben az IMQ jelenlétében a citokinszintek emelkedése volt megfigyelhető.

Ezek az eredmények összhangban állnak a tapinarof gyulladáscsökkentő hatásait igazoló korábbi tanulmányokkal. Smith és munkatársai megfigyelték, hogy a hatóanyag csökkentette a gyulladásos citokinek expresszióját és javította a bőr barrierjét. Mind az ELISA, mind a qPCR vizsgálatok az IL-17A, IL-17F, IL-22 és IL-23 szintek csökkenését mutatták, mely alátámasztja a tapinarof gyulladáscsökkentő hatását. Hasonló eredményekről számolt be Zhao és munkatársai, akik ELISA-val mérték az IL-17 termelésének csökkenését a tapinaroffal kezelt dendritikus sejtekben, és megfigyelték az mRNS-expressziót is [101]. Bissonnette és munkatársai tanulmányukban egyértelműen kimutatta, hogy a tapinarof-kezelés csökkentette a gyulladásos citokinek (IL-17A, IL-22, IL-23 és IL-1) szintjét egy pikkelysömörös egérmodellben [28]. Meg kell azonban jegyezni, hogy ezeknek a tanulmányoknak a többségét különböző biológiai modelleken végezték, ami korlátozza a közvetlen összehasonlíthatóságot a jelen in vitro ko-kultúra modellel.

A qPCR analízis részleges eltérést mutatott az ELISA eredményekhez képest. A tapinarofot tartalmazó készítmények csökkentették a *Tnf- α* mRNS szintjét a szabad hatóanyaghoz képest, míg az *Ifn- γ* transzkripciója a kísérleti csoportokban nagyrészt változatlan maradt, így ebben a modellben nem volt kimutatható egyértelmű tapinarofhoz köthető hatás. Az *Il-17a* és az *Il-23* mRNS szintek minden mintában a kimutatási határ alatt voltak. Ezáltal a

kísérleti körülmények között nem lehet közvetlen következtetést levonni az ELISA-val mért citokin-szekréció és a qPCR-rel kimutatott mRNS-expresszió között. Ez az eltérés a transzkripció és poszttranszkripció szabályozás különbségeivel, valamint az mRNS és a fehérjeszekréció közötti időbeli eltéréssel magyarázható.

Számos tanulmány már rámutatott erre a jelenségre, hogy az mRNS- és a fehérjeszintek közötti eltérés nem ritka. A fehérjeszekréciót nem csupán a transzkripció, hanem az mRNS stabilitása, a transláció, a transláció utáni módosulások és a fehérje lebomlás is befolyásolja [192]. Egy másik tanulmány immunsejtekben hasonlította össze a mért mRNS-szinteket a fehérjeszintekkel (proteomika/FACS), és kimutatta, hogy a két mérés között nem mindig áll fenn szoros összefüggés, sőt bizonyos esetekben jelentős eltérések is megfigyelhetők [193]. Eichelbaum és munkatársai aktivált makrofágokon végzett időbeli kinetikai vizsgálatokkal igazolták, hogy a transzkripció válaszok gyakran korábban érik el csúcspontjukat, mint a megfelelő fehérjeszint-változások. Vagyis az mRNS-szint gyorsan (gyakran 2–6 órán belül) tetőzik, majd lecsökken, míg a szekretált fehérje késleltetve, fokozatosan halmozódik fel [194]. További tanulmányok szintén megerősítik, hogy az mRNS-csúcsok gyakran jóval a mérhető extracelluláris fehérjefelhalmozódás előtt jelentkeznek [195,196].

Összességében véve az ELISA és a qPCR eredményei között megfigyelt eltérés a leegyszerűsített in vitro ko-kultúra rendszerek ismert korlátját tükrözi. Bár a tapinarofot tartalmazó nanogélek egyértelműen modulálták a citokin szekréciót ebben a ko-kultúra modellben, kizárólag ezekre az adatokra alapozva nem vonhatók le végleges következtetések a transzkripció szabályozásról vagy specifikus jelátviteli útvonalak részvételéről. Mindazonáltal az ELISA-val megfigyelt, következetes citokin-felszabadulás gátlása alátámasztja a tapinarof-nanogél készítmények funkcionális gyulladáscsökkentő potenciálját ebben a pikkelysömör-szerű in vitro modellben.

Az immunfluoreszcens festéssel értékelt NF- κ B p65 alegység intracelluláris lokalizációja szintén megerősítette a gyulladáscsökkentő hatást. Az imikimod kezelés nukleáris p65 transzlokációt indukált a THP-1 monocitákban. A szabad tapinarof enyhén csökkentette ezt az aktivációt. Ezzel szemben a tapinarof-tartalmú nanogél I. mérsékelt gátló hatást mutatott, míg a leghatékonyabb blokkoló hatást a hatóanyag-tartalmú nanogél II. érte el. Bár a pontos mechanizmusok nem tisztázottak, az eredmények arra utalnak, hogy a nanogél alapú adagolás javíthatja a tapinarof sejten belüli hozzáférhetőségét.

A szakirodalomban kevés tanulmány vizsgálta közvetlenül a tapinarof NF- κ B p65 nukleáris transzlokációjára kifejtett gátló hatását gyulladásos állapotban lévő keratinocitákban.

A korábbi tanulmányok főként a tapinarof által kiváltott citokin-modulációra és az AhR aktivációra összpontosítottak, de nem állnak rendelkezésre adatok az NF- κ B jelátvitelre gyakorolt közvetlen hatásáról. Egy közelmúltbeli tanulmány kimutatta, hogy a tapinarof gátolta az NF- κ B p65 nukleáris transzlokációját a részecskeszennyezés által kiváltott oxidatív stressznek kitett HaCaT keratinocitákban, potenciálisan az AhR/Nrf2 aktivációján keresztül [197]. Ezenkívül Brito és munkatársai egérmodellben is kimutatták, hogy a tapinarof-kezelés csökkentti több jelátviteli út, köztük az NF- κ B, a JAK/STAT, az ERK/MAPK és az mTOR aktivitását, valamint modulálja az IFN- γ , az IL-17/23 és a TNF- α által közvetített jelátvitelt a bőrben [198]. Érdekes módon más AhR-ligandokról (pl. indigó) és szerkezetileg rokon polifenol-vegyületekről (pl. rezveratrol) is beszámoltak, hogy gátolják az NF- κ B transzkripció aktivitását. Ezek az eredmények alátámasztják az AhR-aktiváció és a gyulladásos jelátviteli útvonalak közötti kölcsönhatást [84,199,200].

Az eredmények alapján elmondható, hogy a nanogél-alapú gyógyszerhordozás javíthatja a tapinarof in vitro biológiai hatékonyságát imikimoddal stimulált HaCaT–THP-1 modellben. A vizsgált paraméterek alapján a tapinarofot tartalmazó nanogélek hatékonyabban csökkentették a gyulladásos válaszokat, mint a szabad hatóanyag. A formulációk közötti különbségek a kísérletek során jól megfigyelhetők voltak: a nanogél II. (magasabb SNEDDS-tartalommal) erősebb hatást mutatott a gyulladásos jelátviteli utak gátlásában, míg a nanogél I. kifejezettebb hatást mutatott a génexpressziós vizsgálatokban. Ezek a különbségek arra utalnak, hogy a nanogél-rendszerek összetétele és szerkezeti jellemzői jelentősen befolyásolhatják a tapinarofra adott sejtválaszokat.

Bár a megfigyelt hatások mögött meghúzódó pontos molekuláris mechanizmusok a jelenlegi eredmények alapján nem határozhatók meg egyértelműen, a nanogélek fizikai-kémiai és biológiai tulajdonságai alapján több lehetséges magyarázat is felvethető. Elsősorban a nanogélek tartós hatóanyag-felszabadulási viselkedése lehet az, ami biztosítja a sejtek hosszabb ideig tartó kitettségét a hatóanyag-koncentrációknak. Számos beszámoló jelent meg a nanogél-rendszerekhez kapcsolódó hosszabb felszabadulási profilokról, és ismert, hogy ezek fokozzák a farmakológiai hatásokat a szabad hatóanyagokhoz képest. Ezen felül a nanogél mátrixba való beépítés megvédheti a hatóanyagot a fizikai-kémiai lebomlástól és javíthatja oldhatóságát, különösen olyan lipofil molekulák esetében, mint a tapinarof [136,201]. A megnövekedett sejtfelvétel szintén hozzájárulhat a megfigyelt hatásokhoz. Nanoméretüknek és nagy fajlagos felületüknek köszönhetően a nanogélek elősegíthetik a sejtmembránokkal való szorosabb kölcsönhatást és megkönnyíthetik a terápiás szerek intracelluláris transzportját [90,202].

Ezenkívül a felületaktív anyagok és maguk a SNEDDS-ek is fokozhatják a bőrbe való behatolást, sőt modulálhatják a helyi gyulladásos válaszokat is, ami hozzájárulhat a nanoformulációk között megfigyelt különbségekhez [203].

6.3. Új tudományos eredmények összefoglalása

A kísérletes munkám során elért, új tudományos eredmények:

- Tapinarofot sikeresen beépítettem nanogél-alapú formulációkba, amelyek alkalmasak topikális alkalmazásra és megfelelő fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek.
- Dinamikus fényszórás segítségével igazoltam, hogy a nanoformulációk a gélesítést követően sem veszítik el nanoméret-tartományba eső részecskeméretüket.
- A különböző nanogél formulációk reológiai és textúraanalitikai vizsgálatával igazoltam azok megfelelő viszkozitását, szerkezetét és konzisztenciáját dermális készítményként.
- In vitro felszabadulási vizsgálatokkal kimutattam, hogy a nanogél formulációk biztosítják a tapinarof kontrollált hatóanyag-leadását.
- A formulációk során alkalmazott segédanyagok és készítmények citotoxicitását HaCaT sejtvonalon vizsgálva igazoltam azok biokompatibilitását és biztonságát.
- Valós idejű sejtanalízissel kimutattam, hogy a tapinarof és a tapinarofot tartalmazó nanogélek koncentrációfüggő módon befolyásolják a keratinociták proliferációját imikimoddal indukált gyulladásos környezetben.
- In vitro sebgyógyulási vizsgálatok során kimutattam, hogy a tapinarofot tartalmazó formulációk modulálják a sejt migrációt, mivel nem gyulladásos környezetben a fibroblasztok migrációját lassították, míg a HaCaT–THP-1 ko-kultúrák modellben a gyulladásos környezetben zajló sebzáródási folyamatokat is befolyásolták.
- HaCaT–THP-1 ko-kultúrák modellen ELISA módszerrel kimutattam, hogy a tapinarof és nanogél formulációi erőteljesebben csökkentik a proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IFN- γ , IL-17A, IL-23) szintjét, összehasonlítva a szabad hatóanyaggal.
- Génexpressziós vizsgálatokkal igazoltam, hogy a tapinarofot tartalmazó formulációk befolyásolják a gyulladásos citokinek (*Tnf- α* , *Ifn- γ*) mRNS-szintjét.
- Immunfluoreszcens vizsgálatokkal kimutattam, hogy szabad hatóanyaghoz képest, a tapinarof-tartalmú nanogélek eredményesebben gátolják az NF- κ B p65 alegység sejtmagba történő transzlokációját, ezáltal hozzájárulnak a gyulladásos jelátviteli utak modulálásához.

7. Összefoglalás

A pikkelysömör egy krónikus, immunmediált gyulladásos bőrbetegség, amely jelentős életminőség-romlással jár, azonban kezelése még mindig kihívást jelent. Bár számos terápiás lehetőség áll jelenleg rendelkezésre, a hatékony, jól tolerálható és hosszú távon is alkalmazható topikális készítményekre továbbra is erős igény mutatkozik. A közelmúltban engedélyezett tapinarof, mint AhR-agonista, egy új terápiás megközelítést kínál, mivel gyulladáscsökkentő, antioxidáns és bőrbarrier-helyreállító hatásokkal rendelkezik. Ugyanakkor a hagyományos formulációk korlátozzák a hatóanyag megfelelő bőrpenetrációját és biohasznosulását.

Doktori munkám célja olyan innovatív, topikális gyógyszerhordozó rendszerek fejlesztése volt, amelyek képesek fokozni a tapinarof terápiás hatékonyságát. Ennek érdekében különböző összetételű tapinarof-tartalmú nanoformulációkat állítottam elő. Vizsgálataim során igazoltam, hogy a létrehozott rendszerek megőrzik stabil, 200 nm alatti részecskeméretüket gélesedés után is, megfelelő reológiai és texturális tulajdonságokkal rendelkeznek, így alkalmasak dermális alkalmazásra. Valamint a citotoxicitási vizsgálatok alapján biztonságosnak bizonyultak HaCaT sejteken. In vitro kioldódási vizsgálat során a formulációk közül a nanogél II. előnyösebb hatóanyag-leadási profilt mutatott, amely összefüggésbe hozható kedvező viszkozitási és szerkezeti tulajdonságaival.

A biológiai hatások vizsgálata során sikeresen kimutattam, hogy a tapinarof nanogélbe történő beépítése fokozza annak antiproliferatív és antimigrációs hatását, amit in vitro karcólási tesztekkel igazoltam.

A kutatás következő fázisában egy imikimod-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúrás pszoriázis modell alkalmazásával vizsgáltam a formulációk hatását a sejtek működésére. Az eredmények azt mutatták, hogy a nanogél-alapú hatóanyagbevitel csökkentette a gyulladásos folyamatokban kulcsfontosságú szerepet játszó citokinek (TNF- α , IFN- γ , IL-17A, IL-23) szintjét, valamint hatékonyabban gátolta a sejtek proliferációját és migrációját, mint a szabad hatóanyag. Továbbá a NF- κ B jelátviteli útvonal gátlása is megfigyelhető volt, ami tovább erősíti a rendszer gyulladáscsökkentő potenciálját.

Összességében a fejlesztett tapinarof-tartalmú nanogél rendszerek képesek javítani a hatóanyag biohasznosulását és biológiai hatékonyságát, miközben kedvező biztonságossági profilt mutatnak. Eredményeim alátámasztják, hogy a nanogél formulációk ígéretes, nem-szteroid alternatívát jelenthetnek a pikkelysömör topikális kezelésében, és hozzájárulhatnak a jelenlegi terápiás lehetőségek továbbfejlesztéséhez.

8. Summary

Psoriasis is a chronic, immune-mediated inflammatory skin disease that significantly impairs quality of life, and the treatment still remains a challenge. Although several therapeutic options are currently available, there is still a strong need for effective, well-tolerated, and long-term applicable topical formulations. Recently approved tapinarof, as an aryl hydrocarbon receptor (AhR) agonist, represents a novel therapeutic approach due to its anti-inflammatory, antioxidant, and skin barrier-restoring properties. However, conventional formulations limit adequate skin penetration and the bioavailability of the active ingredient.

The aim of my doctoral work was to develop innovative topical drug delivery systems that enhance the therapeutic efficacy of tapinarof. For this purpose, nanoformulations containing tapinarof with different compositions were prepared. My results demonstrated that the developed systems maintained their stable particle size below 200 nm even after gelation, exhibited appropriate rheological and textural properties, so they were suitable for dermal application. Furthermore, cytotoxicity studies confirmed their safety on HaCaT cell lines. In vitro release studies revealed that nanogel II exhibited a more favorable drug release profile, which can be attributed to its advantageous viscosity and structural characteristics.

During the investigation of biological effects, I demonstrated that the incorporation of tapinarof into nanogels enhanced its antiproliferative and antimigratory effects using in vitro scratch assay.

In the next phase of the study, the effects of the formulations were evaluated using an imiquimod-induced HaCaT–THP-1 co-culture psoriasis model. The results showed that nanogel-based drug delivery reduced the levels of key pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IFN- γ , IL-17A, and IL-23) and more effectively inhibited cell proliferation and migration compared to the free drug. In addition, inhibition of the NF- κ B signaling pathway was observed, further supporting the anti-inflammatory potential of the system.

Overall, the developed tapinarof-loaded nanogel systems improve the bioavailability and biological efficacy of the active compound while maintaining a favorable safety profile. These findings suggest their potential as a promising non-steroidal alternative for the topical treatment of psoriasis and may contribute to the advancement of current therapeutic strategies.

9. Irodalomjegyzék

9.1. Az értekezéshez felhasznált irodalmi hivatkozások

1. Madawi, E.A.; Al Jayoush, A.R.; Rawas-Qalaji, M.; Thu, H.E.; Khan, S.; Sohail, M.; Mahmood, A.; Hussain, Z. Polymeric Nanoparticles as Tunable Nanocarriers for Targeted Delivery of Drugs to Skin Tissues for Treatment of Topical Skin Diseases. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 657, doi:10.3390/pharmaceutics15020657.
2. Singh, S.; Awasthi, R. Breakthroughs and Bottlenecks of Psoriasis Therapy: Emerging Trends and Advances in Lipid Based Nano-Drug Delivery Platforms for Dermal and Transdermal Drug Delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2023**, *84*, 104548, doi:10.1016/j.jddst.2023.104548.
3. Siafaka, P.I.; Özcan Bülbül, E.; Okur, M.E.; Karantas, I.D.; Üstündağ Okur, N. The Application of Nanogels as Efficient Drug Delivery Platforms for Dermal/Transdermal Delivery. *Gels* **2023**, *9*, 753, doi:10.3390/gels9090753.
4. Jurel, P.; Bahadur, S.; Bajpai, M. Treatment of Chronic Plaque Psoriasis: An Overview on Current Update. *Pharmacol. Res. - Rep.* **2024**, *2*, 100004, doi:10.1016/j.prerep.2024.100004.
5. Biswasroy, P.; Pradhan, D.; Kar, B.; Ghosh, G.; Rath, G. Recent Advancement in Topical Nanocarriers for the Treatment of Psoriasis. *AAPS PharmSciTech* **2021**, *22*, 164, doi:10.1208/s12249-021-02057-z.
6. Makuch, S.; Drózdź, M.; Makarec, A.; Ziółkowski, P.; Woźniak, M. An Update on Photodynamic Therapy of Psoriasis—Current Strategies and Nanotechnology as a Future Perspective. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 9845, doi:10.3390/ijms23179845.
7. Dai, P.; Ge, X.; Sun, C.; Jiang, H.; Zuo, W.; Wu, P.; Liu, C.; Deng, S.; Yang, J.; Dai, J.; et al. A Novel Methacryloyl Chitosan Hydrogel Microneedles Patch with Sustainable Drug Release Property for Effective Treatment of Psoriasis. *Macromol. Biosci.* **2023**, *23*, 2300194, doi:10.1002/mabi.202300194.
8. Bodnár, K.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Bácskay, I.; Józsa, L. Recent Approaches for the Topical Treatment of Psoriasis Using Nanoparticles. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 449, doi:10.3390/pharmaceutics16040449.
9. Zhu, B.; Jing, M.; Yu, Q.; Ge, X.; Yuan, F.; Shi, L. Treatments in Psoriasis: From Standard Pharmacotherapy to Nanotechnology Therapy. *Adv. Dermatol. Allergol.* **2022**, *39*, 460–471, doi:10.5114/ada.2021.108445.

10. Sugumaran, D.; Yong, A.C.H.; Stanslas, J. Advances in Psoriasis Research: From Pathogenesis to Therapeutics. *Life Sci.* **2024**, *355*, 122991, doi:10.1016/j.lfs.2024.122991.
11. Igarashi, A.; Tsuji, G.; Fukasawa, S.; Murata, R.; Yamane, S. Tapinarof Cream for the Treatment of Plaque Psoriasis: Efficacy and Safety Results from 2 Japanese Phase 3 Trials. *J. Dermatol.* **2024**, *51*, 1269–1278, doi:10.1111/1346-8138.17423.
12. Carmona-Rocha, E.; Rusiñol, L.; Puig, L. New and Emerging Oral/Topical Small-Molecule Treatments for Psoriasis. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 239, doi:10.3390/pharmaceutics16020239.
13. Silverberg, J.I.; Boguniewicz, M.; Quintana, F.J.; Clark, R.A.; Gross, L.; Hirano, I.; Tallman, A.M.; Brown, P.M.; Fredericks, D.; Rubenstein, D.S.; et al. Tapinarof Validates the Aryl Hydrocarbon Receptor as a Therapeutic Target: A Clinical Review. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2024**, *154*, 1–10, doi:10.1016/j.jaci.2023.12.013.
14. Urashima, T.; Katsuda, Y.; Yoshiuchi, H.; Ebihara, S.; Shinozaki, Y.; Kato, T.; Shimazaki, T.; Yasui, Y.; Mera, Y.; Konishi, N. Pharmacological Properties of Tapinarof in Mice as a Novel Topical Agent for Plaque Psoriasis. *BPB Rep.* **2024**, *7*, 116–122, doi:10.1248/bpbreports.7.4_116.
15. Saha, S. Transcutaneous Delivery of Disease Specific PI3K/Akt/mTOR Inhibitor Based Hybrid Nanoparticles in Hydrogel System for the Management of Psoriasis: Insights from in Vivo Studies.
16. Nogueira, S.; Rodrigues, M.A.; Vender, R.; Torres, T. Tapinarof for the Treatment of Psoriasis. *Dermatol. Ther.* **2022**, *35*, doi:10.1111/dth.15931.
17. Mascarenhas-Melo, F.; Carvalho, A.; Gonçalves, M.B.S.; Paiva-Santos, A.C.; Veiga, F. Nanocarriers for the Topical Treatment of Psoriasis - Pathophysiology, Conventional Treatments, Nanotechnology, Regulatory and Toxicology. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2022**, *176*, 95–107, doi:10.1016/j.ejpb.2022.05.012.
18. Ahmad, M.Z.; Mohammed, A.A.; Algahtani, M.S.; Mishra, A.; Ahmad, J. Nanoscale Topical Pharmacotherapy in Management of Psoriasis: Contemporary Research and Scope. *J. Funct. Biomater.* **2022**, *14*, 19, doi:10.3390/jfb14010019.
19. Yadav, T.; Yadav, H.; Raizaday, A.; Alam, M.S. The Treatment of Psoriasis via Herbal Formulation and Nanopolyherbal Formulation: A New Approach. *BioImpacts* **2024**, *15*, 30341, doi:10.34172/bi.30341 <https://bi.tbzmed.ac.ir/>.

20. Ortiz-Lopez, L.I.; Choudhary, V.; Bollag, W.B. Updated Perspectives on Keratinocytes and Psoriasis: Keratinocytes Are More Than Innocent Bystanders. *Psoriasis Targets Ther.* **2022**, Volume 12, 73–87, doi:10.2147/PTT.S327310.
21. Youn, S.W.; Jo, S.J.; Park, C.J.; Kim, D.H.; Shin, B.S.; Jeong, K.H.; Bang, C.H.; Cross, N.; Thirlwell, J.; Hoepken, B. Bimekizumab Efficacy and Safety in Korean Patients with Moderate to Severe Plaque Psoriasis: A Phase 3, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Study. *J. Dermatol.* **2024**, 51, 1392–1403, doi:10.1111/1346-8138.17446.
22. Matza, L.S.; Brazier, J.E.; Stewart, K.D.; Pinto, L.; Bender, R.H.; Kircik, L.; Jordan, J.; Kim, K.J.; Mutebi, A.; Viswanathan, H.N.; et al. Developing a Preference-Based Utility Scoring Algorithm for the Psoriasis Area Severity Index (PASI). *J. Med. Econ.* **2019**, 22, 936–944, doi:10.1080/13696998.2019.1627362.
23. Sieminska, I.; Pieniawska, M.; Grzywa, T.M. The Immunology of Psoriasis—Current Concepts in Pathogenesis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **2024**, 66, 164–191, doi:10.1007/s12016-024-08991-7.
24. Lé, A.M.; Torres, T. New Topical Therapies for Psoriasis. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2022**, 23, 13–24, doi:10.1007/s40257-021-00649-w.
25. Vasowala, T.; Gharat, S.; Mhase, M.; Momin, M. Advances in Hydrogels Based Cutaneous Drug Delivery System for Management of Psoriasis. *Eur. Polym. J.* **2024**, 202, 112630, doi:10.1016/j.eurpolymj.2023.112630.
26. Aziz Hazari, S.; Kaur, H.; Karwasra, R.; Abourehab, M.A.S.; Ali Khan, A.; Kesharwani, P. An Overview of Topical Lipid-Based and Polymer-Based Nanocarriers for Treatment of Psoriasis. *Int. J. Pharm.* **2023**, 638, 122938, doi:10.1016/j.ijpharm.2023.122938.
27. Gomes, G.S.; Frank, L.A.; Contri, R.V.; Longhi, M.S.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S. Nanotechnology-Based Alternatives for the Topical Delivery of Immunosuppressive Agents in Psoriasis. *Int. J. Pharm.* **2023**, 631, 122535, doi:10.1016/j.ijpharm.2022.122535.
28. Bissonnette, R.; Stein Gold, L.; Rubenstein, D.S.; Tallman, A.M.; Armstrong, A. Tapinarof in the Treatment of Psoriasis: A Review of the Unique Mechanism of Action of a Novel Therapeutic Aryl Hydrocarbon Receptor–Modulating Agent. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2021**, 84, 1059–1067, doi:10.1016/j.jaad.2020.10.085.

29. Prabath, I.; Subramanian, S.; Rani, J. Tapinarof: A Felicitous Discovery in Psoriasis Treatment. *J. Pharmacol. Pharmacother.* **2022**, *13*, 222–228, doi:10.1177/0976500X221130851.
30. Assaf, J.; Sarkis, J.; Tomb, R. Tapinarof and the Future of Topical Treatments in Plaque Psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2021**, *84*, e283–e284, doi:10.1016/j.jaad.2021.01.056.
31. Lin, X.; Meng, X.; Lin, J. The Role of Aryl Hydrocarbon Receptor in the Pathogenesis and Treatment of Psoriasis. *J. Cutan. Med. Surg.* **2024**, *28*, 276–286, doi:10.1177/12034754241239050.
32. Shen, Q.; Liu, R.; Tan, S.; Xu, X.; Fang, J.; Li, R. Advances in Pathogenesis and Nanoparticles (NPs)-Mediated Treatment of Psoriasis. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 1089262, doi:10.3389/fimmu.2022.1089262.
33. Lee, H.-J.; Kim, M. Challenges and Future Trends in the Treatment of Psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 13313, doi:10.3390/ijms241713313.
34. Sindrilaru, A.; Filip, A.; Scharffetter-Kochanek, K.; Crisan, D. How Can Nanoparticle-based Technologies Revolutionize the Topical Therapy in Psoriasis? *Exp. Dermatol.* **2020**, *29*, 1097–1103, doi:10.1111/exd.14149.
35. Grossmann, M.C.; Pixley, J.N.; Feldman, S.R. A Review of Topical Tapinarof for the Treatment of Plaque Psoriasis. *Ann. Pharmacother.* **2024**, *58*, 76–85, doi:10.1177/10600280231164775.
36. Chandy, R.J.; Dao, D.-P.D.; Rivis, C.C.; Shan, D.M.; Feldman, S.R. Noncorticosteroid Topical Therapies for the Treatment of Plaque Psoriasis: A Narrative Review. *J. Pharm. Technol.* **2023**, *39*, 247–255, doi:10.1177/87551225231193057.
37. Wazir, A.; O'Toole, E.A. Itching for Innovation: The Role of Aryl Hydrocarbon Receptor Agonists as a Future Therapy for Atopic Dermatitis. *Clin. Exp. Dermatol.* **2024**, llae502, doi:10.1093/ced/llae502.
38. Cai, Z.; Zeng, Y.; Shi, X.; Zhang, X.; Zhu, H.; Wang, W. Benvitimod Inhibits MCM6-Meditated Proliferation of Keratinocytes by Regulating the JAK/STAT3 Pathway. *J. Dermatol. Sci.* **2023**, *109*, 71–79, doi:10.1016/j.jdermsci.2023.01.010.
39. Murphy, E.C.; Schaffter, S.W.; Friedman, A.J. Nanotechnology for Psoriasis Therapy. *Curr. Dermatol. Rep.* **2019**, *8*, 14–25, doi:10.1007/s13671-019-0248-y.
40. Petit, R.G.; Cano, A.; Ortiz, A.; Espina, M.; Prat, J.; Muñoz, M.; Severino, P.; Souto, E.B.; García, M.L.; Pujol, M.; et al. Psoriasis: From Pathogenesis to Pharmacological and Nano-

- Technological-Based Therapeutics. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4983, doi:10.3390/ijms22094983.
41. Mohd Nordin, U.U.; Ahmad, N.; Salim, N.; Mohd Yusof, N.S. Lipid-Based Nanoparticles for Psoriasis Treatment: A Review on Conventional Treatments, Recent Works, and Future Prospects. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 29080–29101, doi:10.1039/D1RA06087B.
 42. Armstrong, A.W.; Siegel, M.P.; Bagel, J.; Boh, E.E.; Buell, M.; Cooper, K.D.; Callis Duffin, K.; Eichenfield, L.F.; Garg, A.; Gelfand, J.M.; et al. From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: Treatment Targets for Plaque Psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2017**, *76*, 290–298, doi:10.1016/j.jaad.2016.10.017.
 43. Peppers, J.; Paller, A.S.; Maeda-Chubachi, T.; Wu, S.; Robbins, K.; Gallagher, K.; Kraus, J.E. A Phase 2, Randomized Dose-Finding Study of Tapinarof (GSK2894512 Cream) for the Treatment of Atopic Dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2019**, *80*, 89–98.e3, doi:10.1016/j.jaad.2018.06.047.
 44. Pareek, A.; Kumari, L.; Pareek, A.; Chaudhary, S.; Ratan, Y.; Janmeda, P.; Chuturgoon, S.; Chuturgoon, A. Unraveling Atopic Dermatitis: Insights into Pathophysiology, Therapeutic Advances, and Future Perspectives. *Cells* **2024**, *13*, 425, doi:10.3390/cells13050425.
 45. Valenzuela, F.; Flores, R. Immunogenicity to Biological Drugs in Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Clinics* **2021**, *76*, e3015, doi:10.6061/clinics/2021/e3015.
 46. Fitzgerald, T.; Zhdanova, M.; Pilon, D.; Shah, A.; Hilts, A.; Lefebvre, P.; Feldman, S.R. Long-Term Psoriasis Control with Guselkumab, Adalimumab, Secukinumab, or Ixekizumab in the USA. *Dermatol. Ther.* **2023**, *13*, 1053–1068, doi:10.1007/s13555-023-00910-6.
 47. Elgaard, C.D.B.; Iversen, L.; Hjuler, K.F. Guselkumab, Tildrakizumab, and Risankizumab in a Real-World Setting: Drug Survival and Effectiveness in the Treatment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *J. Dermatol. Treat.* **2023**, *34*, 2133531, doi:10.1080/09546634.2022.2133531.
 48. Ruggiero, A.; Picone, V.; Martora, F.; Fabbrocini, G.; Megna, M. Guselkumab, Risankizumab, and Tildrakizumab in the Management of Psoriasis: A Review of the Real-World Evidence. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2022**, *Volume 15*, 1649–1658, doi:10.2147/CCID.S364640.

49. Greer, M.E.; Moran, S.K.; Feldman, S.R. Bimekizumab-Bkzx for the Treatment of Plaque Psoriasis: A Drug Review. *Ann. Pharmacother.* **2024**, 10600280241288553, doi:10.1177/10600280241288553.
50. Youn, S.W.; Jo, S.J.; Park, C.J.; Kim, D.H.; Shin, B.S.; Jeong, K.H.; Bang, C.H.; Cross, N.; Thirlwell, J.; Hoepken, B. Bimekizumab Efficacy and Safety in Korean Patients with Moderate to Severe Plaque Psoriasis: A Phase 3, Randomized, Placebo-controlled, Double-blinded Study. *J. Dermatol.* **2024**, *51*, 1392–1403, doi:10.1111/1346-8138.17446.
51. Nie, T.; Shirley, M. Bimekizumab: A Review in Psoriatic Arthritis. *Drugs* **2024**, *84*, 587–598, doi:10.1007/s40265-024-02026-3.
52. Roskoski, R. Deucravacitinib Is an Allosteric TYK2 Protein Kinase Inhibitor FDA-Approved for the Treatment of Psoriasis. *Pharmacol. Res.* **2023**, *189*, 106642, doi:10.1016/j.phrs.2022.106642.
53. Ahsan, S.; Degener, R.; Schlamp, M. Non-Invasive Treatments Invade the Psoriasis Pipeline.
54. Bang, C.-H.; Park, C.-J.; Kim, Y.-S. The Expanding Therapeutic Potential of Deucravacitinib Beyond Psoriasis: A Narrative Review. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 1745, doi:10.3390/jcm14051745.
55. Truong, T.M.; Pathak, G.N.; Singal, A.; Taranto, V.; Rao, B.K. Deucravacitinib: The First FDA-Approved Oral TYK2 Inhibitor for Moderate to Severe Plaque Psoriasis. *Ann. Pharmacother.* **2024**, *58*, 416–427, doi:10.1177/10600280231153863.
56. Gyldenløve, M.; Nissen, C.V.; Stave, S.D.W.; Thomsen, S.F.; Egeberg, A.; Loft, N. Oral Roflumilast in Patients with Psoriasis: A Real-World Cohort Study. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2025**, *26*, 147–150, doi:10.1007/s40257-024-00897-6.
57. Lé, A.M.; Yilmaz, O.; Luz, M.; Torres, T. Oral Roflumilast for Psoriasis: A Real-World 24-Week Prospective Cohort Study. *J. Dermatol. Treat.* **2025**, *36*, 2464107, doi:10.1080/09546634.2025.2464107.
58. Ravindran, R.; Muralidharan, P.; Govindarajan, A. Systematizing PDE4 Inhibition in Psoriasis Treatment: Roflumilast Leads the Way. *J. Young Pharm.* **2025**, *17*, 13–18, doi:10.5530/jyp.20251506.
59. De Moraes-Souza, R.; Chahine Chater, R.; Pera Calvi, I.; Mesquita, Y.; Sarto, R.; Lapenda, I.; Figueiredo Pereira, L.; Moury, L.; Herranz-Pinto, P. Efficacy and Safety of Topical Roflumilast for the Treatment of Psoriasis: A Systematic Review and Meta-

- Analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin. Drug Investig.* **2024**, *44*, 655–665, doi:10.1007/s40261-024-01368-w.
60. Armstrong, A.W.; McConaha, J.L. Tapinarof Cream 1% Once Daily for the Treatment of Adults with Mild to Severe Plaque Psoriasis: A Novel Topical Therapy Targeting the Aryl Hydrocarbon Receptor. **2023**.
 61. Orsini, D.; Assorgi, C.; Bonifati, C.; Cameli, N.; Graceffa, D.; Potestio, L.; Megna, M. Effectiveness and Safety of Risankizumab in VErY Severe Plaque Psoriasis: A Real-Life Retrospective Study (VESPA-Study). *J. Dermatol. Treat.* **2024**, *35*, 2358150, doi:10.1080/09546634.2024.2358150.
 62. Gordon, K.B.; Blauvelt, A.; Bachelez, H.; Coates, L.C.; Van Den Bosch, F.E.; Kaplan, B.; Koetse, W.; Ashley, D.G.; Lippe, R.; Sinval, R.; et al. Long-Term Safety of Risankizumab in Patients with Psoriatic Disease: A Comprehensive Analysis from Clinical Trials. *Dermatol. Ther.* **2024**, *14*, 2523–2538, doi:10.1007/s13555-024-01238-5.
 63. Vender, R.B.; Lynde, C.W. Certolizumab Pegol Use in the Treatment of Moderate-to-Severe Psoriasis: Real-World Data From Two Canadian Centers. *J. Cutan. Med. Surg.* **2022**, *26*, 267–273, doi:10.1177/12034754221078203.
 64. Lee, A.; Scott, L.J. Certolizumab Pegol: A Review in Moderate to Severe Plaque Psoriasis. *BioDrugs* **2020**, *34*, 235–244, doi:10.1007/s40259-020-00416-z.
 65. Coto-Segura, P.; Segú-Vergés, C.; Martorell, A.; Moreno-Ramírez, D.; Jorba, G.; Junet, V.; Guerri, F.; Daura, X.; Oliva, B.; Cara, C.; et al. A Quantitative Systems Pharmacology Model for Certolizumab Pegol Treatment in Moderate-to-Severe Psoriasis. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1212981, doi:10.3389/fimmu.2023.1212981.
 66. Turkmen, M.; Dogan, S. Certolizumab Pegol in the Treatment of Psoriasis: REAL-LIFE Data. *Dermatol. Ther.* **2021**, *34*, doi:10.1111/dth.14929.
 67. Bubna, A.K.; Patil, N. Tildrakizumab in Psoriasis and Beyond. *J. Dermatol. Dermatol. Surg.* **2024**, *28*, 1–10, doi:10.4103/jdds.jdds_66_23.
 68. Bagel, J. Get Familiar with the IL-23 Monoclonal Antibodies.
 69. Megna, M.; Ruggiero, A.; Tommasino, N.; Brescia, C.; Martora, F.; Cacciapuoti, S.; Potestio, L. Effectiveness and Safety of Tildrakizumab in Psoriasis Patients Who Failed Anti-IL17 Treatment: A 28-Week Real-Life Study. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2024**, *Volume 17*, 1037–1042, doi:10.2147/CCID.S464326.
 70. Gebauer, K.; Spelman, L.; Yamauchi, P.S.; Bagel, J.; Nishandar, T.; Crane, M.; Kopeloff, I.; Kothekar, M.; Yao, S.-L.; Sofen, H.L. Efficacy and Safety of Tildrakizumab for the

- Treatment of Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis of the Scalp: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3b Study. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2024**, *91*, 91–99, doi:10.1016/j.jaad.2024.03.025.
71. Lamb, Y.N. Guselkumab in Psoriatic Arthritis: A Profile of Its Use. *Drugs Ther. Perspect.* **2021**, *37*, 285–293, doi:10.1007/s40267-021-00840-3.
 72. Strober, B.; Coates, L.C.; Lebwohl, M.G.; Deodhar, A.; Leibowitz, E.; Rowland, K.; Kollmeier, A.P.; Miller, M.; Wang, Y.; Li, S.; et al. Long-Term Safety of Guselkumab in Patients with Psoriatic Disease: An Integrated Analysis of Eleven Phase II/III Clinical Studies in Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Drug Saf.* **2024**, *47*, 39–57, doi:10.1007/s40264-023-01361-w.
 73. Megna, M.; Ruggiero, A.; Martora, F.; Vallone, Y.; Guerrasio, G.; Potestio, L. Long-Term Efficacy and Safety of Guselkumab in Psoriasis Patients Who Failed Anti-IL17: A Two-Year Real-Life Study. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 2691, doi:10.3390/jcm13092691.
 74. Blauvelt, A.; Langley, R.G.; Branigan, P.J.; Liu, X.; Chen, Y.; DePrimo, S.; Ma, K.; Scott, B.; Campbell, K.; Muñoz-Elías, E.J.; et al. Guselkumab Reduces Disease- and Mechanism-Related Biomarkers More Than Adalimumab in Patients with Psoriasis: A VOYAGE 1 Substudy. *JID Innov.* **2024**, *4*, 100287, doi:10.1016/j.xjidi.2024.100287.
 75. Puig, L. Brodalumab: The First Anti-IL-17 Receptor Agent for Psoriasis. *Drugs Today* **2017**, *53*, 283, doi:10.1358/dot.2017.53.5.2613690.
 76. Lebwohl, M.G.; Armstrong, A.W.; Alexis, A.F.; Lain, E.L.; Jacobson, A.A. Efficacy of Brodalumab in Patients with Psoriasis and Risk Factors for Treatment Failure: A Review of Post Hoc Analyses. *Dermatol. Ther.* **2024**, *14*, 2709–2726, doi:10.1007/s13555-024-01264-3.
 77. Menter, A.; Bhutani, T.; Ehst, B.; Elewski, B.; Jacobson, A. Narrative Review of the Emerging Therapeutic Role of Brodalumab in Difficult-to-Treat Psoriasis. *Dermatol. Ther.* **2022**, *12*, 1289–1302, doi:10.1007/s13555-022-00746-6.
 78. Syed, Y.Y. Ixekizumab: A Review in Moderate to Severe Plaque Psoriasis. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2017**, *18*, 147–158, doi:10.1007/s40257-017-0254-4.
 79. Reich, A.; Reed, C.; Schuster, C.; Robert, C.; Treuer, T.; Lubrano, E. Real-World Evidence for Ixekizumab in the Treatment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis: Literature Review 2016–2021. *J. Dermatol. Treat.* **2023**, *34*, 2160196, doi:10.1080/09546634.2022.2160196.

80. Miller, J.; Puravath, A.P.; Orbai, A.-M. Ixekizumab for Psoriatic Arthritis: Safety, Efficacy, and Patient Selection. *J. Inflamm. Res.* **2021**, *Volume 14*, 6975–6991, doi:10.2147/JIR.S229752.
81. PubChem Tapinarof Elérhető online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6439522> (Letöltve: 2026. május 13.).
82. Benvitimod $\geq 98\%$ (HPLC) | Sigma-Aldrich Elérhető online: <https://www.sigmaaldrich.com/HU/en/product/sigma/sml3430> (Letöltve: 2026. május 13.).
83. Tapinarof | 99.98%(HPLC) | AhR Agonist Elérhető online: <https://www.selleckchem.com/products/tapinarof.html> (Letöltve: 2026. május 13.).
84. Pecyna, P.; Wargula, J.; Murias, M.; Kucinska, M. More Than Resveratrol: New Insights into Stilbene-Based Compounds. *Biomolecules* **2020**, *10*, 1111, doi:10.3390/biom10081111.
85. Smith, S.H.; Jayawickreme, C.; Rickard, D.J.; Nicodeme, E.; Bui, T.; Simmons, C.; Coquery, C.M.; Neil, J.; Pryor, W.M.; Mayhew, D.; et al. Tapinarof Is a Natural AhR Agonist That Resolves Skin Inflammation in Mice and Humans. *J. Invest. Dermatol.* **2017**, *137*, 2110–2119, doi:10.1016/j.jid.2017.05.004.
86. Zatloukalova, M.; Hanyk, J.; Papouskova, B.; Kabelac, M.; Vostalova, J.; Vacek, J. Tapinarof and Its Structure-Activity Relationship for Redox Chemistry and Phototoxicity on Human Skin Keratinocytes. *Free Radic. Biol. Med.* **2024**, *223*, 212–223, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2024.07.032.
87. Shah, D.K.; Yi, D.S.; Yangxin, D.C.; Ankit, D.S. Treatment Challenges in Atopic Dermatitis with Novel Topical Therapies. *Int. J. Sci. Invent. Today* **2018**, *7*, 143–167.
88. Robbins, K.; Bissonnette, R.; Maeda-Chubachi, T.; Ye, L.; Peppers, J.; Gallagher, K.; Kraus, J.E. Phase 2, Randomized Dose-Finding Study of Tapinarof (GSK2894512 Cream) for the Treatment of Plaque Psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2019**, *80*, 714–721, doi:10.1016/j.jaad.2018.10.037.
89. Hu, Y.-Q.; Liu, P.; Mu, Z.; Zhang, J.-Z. Anti-Inflammatory Effects of AhR Agonist Benvitimod in TNF α /IFN γ Stimulated HaCaT Cells and Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Atopic Dermatitis. *Res. Sq.* **2022**, doi:10.21203/rs.3.rs-1699070/v1.

90. Zhang, J.; Cai, L.; Zheng, M. A Novel Topical Treatment for Plaque Psoriasis: Benvitimod/Tapinarof. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2022**, *86*, e137–e138, doi:10.1016/j.jaad.2021.10.053.
91. Keam, S.J. Tapinarof Cream 1%: First Approval. *Drugs* **2022**, *82*, 1221–1228, doi:10.1007/s40265-022-01748-6.
92. Tian, C.; Zhang, G.; Xia, Z.; Chen, N.; Yang, S.; Li, L. Identification of Triazolopyridine Derivatives as a New Class of AhR Agonists and Evaluation of Anti-Psoriasis Effect in a Mouse Model. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *231*, 114122, doi:10.1016/j.ejmech.2022.114122.
93. Bissonnette, R.; Saint-Cyr Proulx, E.; Jack, C.; Maari, C. Tapinarof for Psoriasis and Atopic Dermatitis: 15 Years of Clinical Research. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2023**, *37*, 1168–1174, doi:10.1111/jdv.18925.
94. Ali, S.; Ion, A.; Orzan, O.A.; Bălăceanu-Gurău, B. Emerging Treatments and New Vehicle Formulations for Atopic Dermatitis. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 1425, doi:10.3390/pharmaceutics16111425.
95. Lu, S.T.; Kelly, K.A.; Feldman, S.R. An Overview of Benvitimod for the Treatment of Psoriasis: A Narrative Review. *Expert Opin. Pharmacother.* **2022**, *23*, 327–333, doi:10.1080/14656566.2021.2016699.
96. Santini, G.; Bonati, L.; Motta, S. From Tapinarof to Novel AhR Modulators: Computational Drug Discovery for Psoriasis Therapeutics. *Res. Sq.* **2025**, *15*, doi:10.21203/rs.3.rs-6063129/v1.
97. Dutky, S.R. Insect Microbiology. In *Advances in Applied Microbiology*; Umbreit, W.W., Ed.; Academic Press, 1959; Vol. 1, pp. 175–200 ISBN 0065-2164.
98. Paller, A.S.; Stein Gold, L.; Soung, J.; Tallman, A.M.; Rubenstein, D.S.; Gooderham, M. Efficacy and Patient-Reported Outcomes from a Phase 2b, Randomized Clinical Trial of Tapinarof Cream for the Treatment of Adolescents and Adults with Atopic Dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2021**, *84*, 632–638, doi:10.1016/j.jaad.2020.05.135.
99. Strober, B.; Stein Gold, L.; Bissonnette, R.; Armstrong, A.W.; Kircik, L.; Tying, S.K.; Piscitelli, S.C.; Brown, P.M.; Rubenstein, D.S.; Tallman, A.M.; et al. One-Year Safety and Efficacy of Tapinarof Cream for the Treatment of Plaque Psoriasis: Results from the PSOARING 3 Trial. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2022**, *87*, 800–806, doi:10.1016/j.jaad.2022.06.1171.

100. An Open-Label, Long-Term Extension Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Tapinarof Cream, 1% in Subjects With Atopic Dermatitis 2021. Elérhető online: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05142774> (Letöltve: 2026. május 13.)
101. Zhao, Y.; Wu, C.; Cai, L.; Mu, Z.; Liu, X.; Zhang, W.; Zhang, J. Tapinarof Inhibits Psoriatic Inflammation through Inducing Tolerogenic Dendritic Cells and Foxp3⁺ Tregs. *Chin. Med. J. (Engl.)* **2024**, *137*, 2877–2879, doi:10.1097/CM9.00000000000003260.
102. Zhu, X.; Han, R.; Tian, X.; Hochgerner, M.; Li, H.; Wang, J.; Xia, J. The Opposite Effect of Tapinarof between IMQ and IL-23 Induced Psoriasis Mouse Models. *Exp. Dermatol.* **2024**, *33*, e14862, doi:10.1111/exd.14862.
103. Jett, J.E.; McLaughlin, M.; Lee, M.S.; Parish, L.C.; DuBois, J.; Raoof, T.J.; Tabolt, G.; Wilson, T.; Somerville, M.C.; DellaMaestra, W.; et al. Tapinarof Cream 1% for Extensive Plaque Psoriasis: A Maximal Use Trial on Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2022**, *23*, 83–91, doi:10.1007/s40257-021-00641-4.
104. A Phase 3 Study of Tapinarof for the Treatment of Plaque Psoriasis in Pediatric Subjects **2021**. Elérhető online: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05172726> (Letöltve: 2026. május 13.)
105. Igarashi, A.; Tsuji, G.; Murata, R.; Fukasawa, S.; Yamane, S. A Phase 2, Randomized, Double-blind, Vehicle-controlled Trial of Tapinarof Cream in Japanese Pediatric Patients with Atopic Dermatitis. *J. Dermatol.* **2025**, *52*, 247–255, doi:10.1111/1346-8138.17587.
106. Simpson, E.L.; Hebert, A.A.; Browning, J.; Serrao, R.T.; Sofen, H.; Brown, P.M.; Piscitelli, S.C.; Rubenstein, D.S.; Tallman, A.M. Tapinarof Improved Outcomes and Sleep for Patients and Families in Two Phase 3 Atopic Dermatitis Trials in Adults and Children. *Dermatol. Ther.* **2025**, *15*, 111–124, doi:10.1007/s13555-024-01318-6.
107. A Phase 3 Efficacy and Safety Study of Tapinarof for the Treatment of Moderate to Severe Atopic Dermatitis in Children and Adults **2021**. Elérhető online: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05032859> (Letöltve: 2026. május 13.)
108. Silverberg, J.I.; Eichenfield, L.F.; Hebert, A.A.; Simpson, E.L.; Stein Gold, L.; Bissonnette, R.; Papp, K.A.; Browning, J.; Kwong, P.; Korman, N.J.; et al. Tapinarof Cream 1% Once Daily: Significant Efficacy in the Treatment of Moderate to Severe Atopic Dermatitis in Adults and Children down to 2 Years of Age in the Pivotal Phase 3 ADORING Trials. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2024**, *91*, 457–465, doi:10.1016/j.jaad.2024.05.023.

109. Ghani, H.; Podwojniak, A.; Tan, I.J.; Parikh, A.K.; Sanabria, B.; Rao, B. A Comparison of the Safety and Efficacy of Tapinarof and Roflumilast Topical Therapies in the Management of Mild-to-moderate Plaque Psoriasis. *Skin Res. Technol.* **2024**, *30*, e70041, doi:10.1111/srt.70041.
110. Teva Pharmaceuticals USA *A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multiple-Site, Clinical Study to Evaluate the Therapeutic Equivalence of Tapinarof Cream 1% (Teva Pharmaceuticals, Inc.) with VTAMA® Tapinarof (Tapinarof) Cream 1% (Dermavant Sciences, Inc.) in Adult Patients with Plaque Psoriasis*; clinicaltrials.gov, **2024**. Elérhető online: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06742957> (Letöltve: 2026. május 13.)
111. A Phase 4, Open-Label, Study to Investigate the Efficacy and Safety of VTAMA® (Tapinarof) Cream 1% in the Treatment of Plaque Psoriasis in Intertriginous Areas **2022**. Elérhető online: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05680740> (Letöltve: 2026. május 13.)
112. Gul, R.; Ahmed, N.; Ullah, N.; Khan, M.I.; Elaissari, A.; Rehman, Asim. ur. Biodegradable Ingredient-Based Emulgel Loaded with Ketoprofen Nanoparticles. *AAPS PharmSciTech* **2018**, *19*, 1869–1881, doi:10.1208/s12249-018-0997-0.
113. Abdellatif, A.A.H.; Alsowinea, A.F. Approved and Marketed Nanoparticles for Disease Targeting and Applications in COVID-19. *Nanotechnol. Rev.* **2021**, *10*, 1941–1977, doi:10.1515/ntrev-2021-0115.
114. Yin, Y.; Hu, B.; Yuan, X.; Cai, L.; Gao, H.; Yang, Q. Nanogel: A Versatile Nano-Delivery System for Biomedical Applications. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 290, doi:10.3390/pharmaceutics12030290.
115. Mastella, P.; Todaro, B.; Luin, S. Nanogels: Recent Advances in Synthesis and Biomedical Applications. *Nanomaterials* **2024**, *14*, 1300, doi:10.3390/nano14151300.
116. Botha, N.L.; Mushonga, P.; Onani, M.O. Review on Nanogels and Their Applications on Dermal Therapy. *Polym. Polym. Compos.* **2023**, *31*, 09673911231192816, doi:10.1177/09673911231192816.
117. Gupta, V.; Mohapatra, S.; Mishra, H.; Farooq, U.; Kumar, K.; Ansari, M.; Aldawsari, M.; Alalaiwe, A.; Mirza, M.; Iqbal, Z. Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals—A Review of Latest Advancements. *Gels* **2022**, *8*, 173, doi:10.3390/gels8030173.
118. Bhat, M.; Pukale, S.; Singh, S.; Mittal, A.; Chitkara, D. Nano-Enabled Topical Delivery of Anti-Psoriatic Small Molecules. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2021**, *62*, 102328, doi:10.1016/j.jddst.2021.102328.

119. Gungor, S.; Rezigue, M. Nanocarriers Mediated Topical Drug Delivery for Psoriasis Treatment. *Curr. Drug Metab.* **2017**, *18*, 454–468, doi:10.2174/1389200218666170222145240.
120. Shetty, K.; Sherje, A.P. Nano Intervention in Topical Delivery of Corticosteroid for Psoriasis and Atopic Dermatitis—a Systematic Review. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2021**, *32*, 88, doi:10.1007/s10856-021-06558-y.
121. Fytianos, G.; Rahdar, A.; Kyzas, G.Z. Nanomaterials in Cosmetics: Recent Updates. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 979, doi:10.3390/nano10050979.
122. Sainaga Jyothi, V.G.S.; Ghouse, S.M.; Khatri, D.K.; Nanduri, S.; Singh, S.B.; Madan, J. Lipid Nanoparticles in Topical Dermal Drug Delivery: Does Chemistry of Lipid Persuade Skin Penetration? *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2022**, *69*, 103176, doi:10.1016/j.jddst.2022.103176.
123. Aggarwal, G.; Dhawan, B.; Harikumar, S. Enhanced Transdermal Permeability of Piroxicam through Novel Nanoemulgel Formulation. *Int. J. Pharm. Investig.* **2014**, *4*, 65, doi:10.4103/2230-973X.133053.
124. Algahtani, M.S.; Ahmad, M.Z.; Nouredin, I.H.; Albarqi, H.A.; Alyami, H.S.; Alyami, M.H.; Alqahtani, A.A.; Alasiri, A.; Algahtani, T.S.; Mohammed, A.A.; et al. Preparation and Characterization of Curcumin Nanoemulgel Utilizing Ultrasonication Technique for Wound Healing: In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Evaluation. *Gels* **2021**, *7*, 213, doi:10.3390/gels7040213.
125. Li, N.; Qin, Y.; Dai, D.; Wang, P.; Shi, M.; Gao, J.; Yang, J.; Xiao, W.; Song, P.; Xu, R. Transdermal Delivery of Therapeutic Compounds With Nanotechnological Approaches in Psoriasis. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2022**, *9*, 804415, doi:10.3389/fbioe.2021.804415.
126. Walunj, M.; Doppalapudi, S.; Bulbake, U.; Khan, W. Preparation, Characterization, and *in Vivo* Evaluation of Cyclosporine Cationic Liposomes for the Treatment of Psoriasis. *J. Liposome Res.* **2020**, *30*, 68–79, doi:10.1080/08982104.2019.1593449.
127. Abu Hashim, I.; Abo El-Magd, N.; El-Sheakh, A.; Hamed, M.; Abd El-Gawad, A.E.-G. Pivotal Role of Acitretin Nanovesicular Gel for Effective Treatment of Psoriasis: Ex Vivo–in Vivo Evaluation Study. *Int. J. Nanomedicine* **2018**, *Volume 13*, 1059–1079, doi:10.2147/IJN.S156412.
128. Vohra, P.; Varekar, S.; Shah, V. Nano-Transferosomes of Aloe-Vera and Vitamin-E for Management of Psoriasis: An Archetype in Herbal Drug Technology. *Nternational J. Innov. Res. Technol.* **2023**, *9*, 2349–6002.

129. Dadwal, N.; Amisha; Singh, D.; Singh, A. Quality-by-Design Approach for Investigating the Efficacy of Tacrolimus and Hyaluronic Acid–Loaded Ethosomal Gel in Dermal Management of Psoriasis: In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech* **2023**, *24*, 220, doi:10.1208/s12249-023-02678-6.
130. Serini, S.; Trombino, S.; Cassano, R.; Marino, M.; Calviello, G. Anti-Inflammatory Effects of Curcumin-Based Nanoparticles Containing α -Linolenic Acid in a Model of Psoriasis In Vitro. *Nutrients* **2025**, *17*, 692, doi:10.3390/nu17040692.
131. Llorente, X.; Esteruelas, G.; Bonilla, L.; Agudelo, M.G.; Filgaira, I.; Lopez-Ramajo, D.; Gong, R.C.; Soler, C.; Espina, M.; García, M.L.; et al. Riluzole-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Hyperproliferative Skin Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 8053, doi:10.3390/ijms24098053.
132. Tomar, Y.; Pandit, N.; Priya, S.; Singhvi, G. Evolving Trends in Nanofibers for Topical Delivery of Therapeutics in Skin Disorders. *ACS Omega* **2023**, *8*, 18340–18357, doi:10.1021/acsomega.3c00924.
133. Kang, N.-W.; Kim, M.-H.; Sohn, S.-Y.; Kim, K.-T.; Park, J.-H.; Lee, S.-Y.; Lee, J.-Y.; Kim, D.-D. Curcumin-Loaded Lipid-Hybridized Cellulose Nanofiber Film Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis in Mice. *Biomaterials* **2018**, *182*, 245–258, doi:10.1016/j.biomaterials.2018.08.030.
134. Du, H.; Liu, P.; Zhu, J.; Lan, J.; Li, Y.; Zhang, L.; Zhu, J.; Tao, J. Hyaluronic Acid-Based Dissolving Microneedle Patch Loaded with Methotrexate for Improved Treatment of Psoriasis. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 43588–43598, doi:10.1021/acsomega.9b15668.
135. Nguyen, T.-T.-L.; Duong, V.-A. A Review on Nanosystem-Based Delivery of Tofacitinib for Enhanced Treatment of Autoimmune Diseases and Inflammation. *BioNanoScience* **2024**, *14*, 2048–2064, doi:10.1007/s12668-024-01373-5.
136. Manimaran, V.; Nivetha, R.P.; Tamilanban, T.; Narayanan, J.; Vetriselvan, S.; Fuloria, N.K.; Chinni, S.V.; Sekar, M.; Fuloria, S.; Wong, L.S.; et al. Nanogels as Novel Drug Nanocarriers for CNS Drug Delivery. *Front. Mol. Biosci.* **2023**, *10*, 1232109, doi:10.3389/fmolb.2023.1232109.
137. Suhail, M.; Rosenholm, J.M.; Minhas, M.U.; Badshah, S.F.; Naeem, A.; Khan, K.U.; Fahad, M. Nanogels As Drug-Delivery Systems: A Comprehensive Overview. *Ther. Deliv.* **2019**, *10*, 697–717, doi:10.4155/tde-2019-0010.

138. Chandrashekhar, B.S. Tretinoin Nanogel 0.025% Versus Conventional Gel 0.025% in Patients with Acne Vulgaris: A Randomized, Active Controlled, Multicentre, Parallel Group, Phase IV Clinical Trial. *J. Clin. Diagn. Res.* **2015**, doi:10.7860/JCDR/2015/10663.5469.
139. Avasatthi, V.; Pawar, H.; Dora, C.P.; Bansod, P.; Gill, M.S.; Suresh, S. A Novel Nanogel Formulation of Methotrexate for Topical Treatment of Psoriasis: Optimization, *in Vitro* and *in Vivo* Evaluation. *Pharm. Dev. Technol.* **2016**, *21*, 554–562, doi:10.3109/10837450.2015.1026605.
140. Kakade, P.; Patravale, V.; Patil, A.; Disouza, J. Formulation Development of Nanostructured Lipid Carrier-Based Nanogels Encapsulating Tacrolimus for Sustained Therapy of Psoriasis. *Int. J. Pharm.* **2024**, *660*, 124172, doi:10.1016/j.ijpharm.2024.124172.
141. Vashist, A.; Perez Alvarez, G.; Andion Camargo, V.; Raymond, A.D.; Arias, A.Y.; Kolishetti, N.; Vashist, A.; Manickam, P.; Aggarwal, S.; Nair, M. Recent Advances in Nanogels for Drug Delivery and Biomedical Applications. *Biomater. Sci.* **2024**, *12*, 6006–6018, doi:10.1039/D4BM00224E.
142. Tariq, L.; Arafah, A.; Ali, S.; Beigh, S.; Dar, M.A.; Dar, T.U.H.; Dar, A.I.; Alsaffar, R.M.; Masoodi, M.H.; Rehman, M.U. Nanogel-Based Transdermal Drug Delivery System: A Therapeutic Strategy with Under Discussed Potential. *Curr. Top. Med. Chem.* **2023**, *23*, 44–61, doi:10.2174/1568026622666220818112728.
143. KRAUS, J.E.; Lee, J. Use of Tapinarof for the Treatment of Chronic Plaque Psoriasis **2023**. Elérhető online: <https://patents.google.com/patent/US11590088B2/en?q=US11590088B2> (Letöltve: 2026. május 13.)
144. KRAUS, J.E.; Lee, J. Use of Tapinarof for the Treatment of Atopic Dermatitis **2024**. Elérhető online: <https://patents.google.com/patent/US11938099B2/en?q=US11938099B2> (Letöltve: 2026. május 13.)
145. Arkin, M.; Zighelboim, M. Treatment of Ocular Diseases with Ophthalmic Tapinarof Compositions **2021**. Elérhető online: <https://patents.google.com/patent/US20210000758A1/en?q=US20210000758A1> (Letöltve: 2026. május 13.)

146. Jain, P.; TABOLT, G.; Rubenstein, D.S.; Kalluri, H.; CATUBIG, R.; Roughan, B.; Buchta, R.; BONJOUR, F.M.G.; BRADY, B.P.; SUTCLIFFE, L.H. Gel, Ointment, and Foam Formulations of Tapinarof and Methods of Use **2022**. Elérhető online: <https://patents.google.com/patent/US20220160650A1/en?q=US20220160650A1> (Letöltve: 2026. május 13.)
147. Balogh, B.; Pető, Á.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Bácskay, I. Tapinarof Nanogels as a Promising Therapeutic Approach. *Pharmaceutics* **2025**, *17*, 731, doi:10.3390/pharmaceutics17060731.
148. CLS Cell Lines Service Clinisciences Elérhető online: <https://www.clinisciences.com/en/brand/Cls-cell-lines-service> (Letöltve: 2026. május 13.).
149. ATCC: The Global Bioresource Center Elérhető online: <https://www.atcc.org/> (Letöltve: 2026. május 13.).
150. Corning | Materials Science Technology and Innovation Elérhető online: <https://www.corning.com/worldwide/en.html> (Letöltve: 2026. május 13.).
151. Merck | Élettudományi termékek és szolgáltatások Elérhető online: <https://www.sigmaaldrich.com/HU/hu> (Letöltve: 2026. május 13.).
152. Kft S. Molar Chemicals - Főoldal Elérhető online: <http://molar.hu/hu> (Letöltve: 2026. május 13.).
153. Global Provider of Biopharma, Healthcare & Laboratory Solutions | VWR, part of Avantor Elérhető online: <https://www.vwr.com/hu/hu/> (Letöltve: 2026. május 13.).
154. MedChemExpress: Master of Bioactive Molecules | Inhibitors, Screening Libraries & Proteins Elérhető online: https://www.medchemexpress.com/?srsltid=AfmBOooHBuOw4xU_5zbPMQTh1XmjfSiO48WPXIHQBywZ6_lywi-pK0Dy (Letöltve: 2026. május 13.).
155. Bio-kasztel – Szerezze meg a legjobb felszerelést kutatási igényeihez. 2026.
156. Agilent Technologies | Agilent Elérhető online: <https://www.agilent.com/en/> (Letöltve: 2026. május 13.).
157. Invitrogen | Thermo Fisher Scientific - HU Elérhető online: <https://www.thermofisher.com/hu/en/home/brands/invitrogen.html> (Letöltve: 2026. május 13.).
158. Ibidi – Cells in Focus Elérhető online: <https://ibidi.com/> (Letöltve: 2026. május 13.).

159. Leading Life Science Research & Clinical Diagnostics | Bio-Rad Elérhető online: <https://www.bio-rad.com/en-hu> (Letöltve: 2026. május 13.).
160. Roche - Doing Now What Patients Need Next Elérhető online: <https://www.roche.com/home> (Letöltve: 2026. május 13.).
161. Boelsma, E.; Verhoeven, M.C.H.; Ponc, M. Reconstruction of a Human Skin Equivalent Using a Spontaneously Transformed Keratinocyte Cell Line (HaCaT). *J. Invest. Dermatol.* **1999**, *112*, 489–498, doi:10.1046/j.1523-1747.1999.00545.x.
162. Mini, C.A.; Dreossi, S.A.C.; Abe, F.R.; Maria-Engler, S.S.; Oliveira, D.P. Immortalized Keratinocytes Cells Generates an Effective Model of Epidermal Human Equivalent for Irritation and Corrosion Tests. *Toxicol. In Vitro* **2021**, *71*, 105069, doi:10.1016/j.tiv.2020.105069.
163. Chanput, W.; Mes, J.J.; Wichers, H.J. THP-1 Cell Line: An in Vitro Cell Model for Immune Modulation Approach. *Int. Immunopharmacol.* **2014**, *23*, 37–45, doi:10.1016/j.intimp.2014.08.002.
164. Váradi, J.; Oláh, B.; Hosszú, D.; Fenyvesi, F.; Remenyik, J.; Homoki, J.; Nagy, B.; Fejes, Z.; Bácskay, I.; Klusóczki, Á. Development of Imiquimod-Induced HaCaT-THP-1 Co-Culture for Modeling of Psoriasis. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2024**, *200*, 106846, doi:10.1016/j.ejps.2024.106846.
165. Eskes, C. The HaCaT/THP-1 Cocultured Activation Test (COCAT) for Skin Sensitization: A Study of Intra-Lab Reproducibility and Predictivity. *ALTEX* **2019**, doi:10.14573/altex.1905031.
166. Hennen, J. Keratinocytes Improve Prediction of Sensitization Potential and Potency of Chemicals with THP-1 Cells. *ALTEX* **2017**, 279–288, doi:10.14573/altex.1606171.
167. Malvern Panalytical | Analytical Instrumentation Elérhető online: <https://www.malvernpanalytical.com/en> (Letöltve: 2026. május 13.).
168. Sinka, D.; Doma, E.; Szendi, N.; Páll, J.; Kósa, D.; Pető, Á.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Fenyvesi, F.; Váradi, J.; et al. Formulation, Characterization and Permeability Studies of Fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) Containing Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS). *Molecules* **2022**, *27*, 2846, doi:10.3390/molecules27092846.
169. Anton Paar GmbH in Graz, Austria Elérhető online: <https://www.anton-paar.com/corp-en/about-us/anton-paar-companies/anton-paar-gmbh/> (Letöltve: 2026. május 13.).
170. Frei, G.; Haimhoffer, Á.; Csapó, E.; Bodnár, K.; Vasvári, G.; Nemes, D.; Lekli, I.; Gyöngyösi, A.; Bácskay, I.; Fehér, P.; et al. In Vitro and In Vivo Efficacy of Topical

- Dosage Forms Containing Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System Loaded with Curcumin. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 2054, doi:10.3390/pharmaceutics15082054.
171. Szliszka, E.; Czuba, Z.P.; Domino, M.; Mazur, B.; Zydowicz, G.; Krol, W. Ethanolic Extract of Propolis (EEP) Enhances the Apoptosis- Inducing Potential of TRAIL in Cancer Cells. *Molecules* **2009**, *14*, 738–754, doi:10.3390/molecules14020738.
172. AMETEK Brookfield Elérhető online: <https://www.brookfieldengineering.com/www.brookfieldengineering.com/> (Letöltve: 2026. május 13.).
173. Gavra, D.I.; Endres, L.; Pető, Á.; Józsa, L.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Pallag, A.; Marian, E.; Vicas, L.G.; Ghitea, T.C.; et al. In Vitro and Human Pilot Studies of Different Topical Formulations Containing Rosa Species for the Treatment of Psoriasis. *Molecules* **2022**, *27*, 5499, doi:10.3390/molecules27175499.
174. Pető, Á.; Kósa, D.; Haimhoffer, Á.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Sinka, D.; Fenyvesi, F.; Váradi, J.; Vecsernyés, M.; Gyöngyösi, A.; et al. Nicotinic Amidoxime Derivate BGP-15, Topical Dosage Formulation and Anti-Inflammatory Effect. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 2037, doi:10.3390/pharmaceutics13122037.
175. Józsa, L.; Ujhelyi, Z.; Vasvári, G.; Sinka, D.; Nemes, D.; Fenyvesi, F.; Váradi, J.; Vecsernyés, M.; Szabó, J.; Kalló, G.; et al. Formulation of Creams Containing Spirulina Platensis Powder with Different Nonionic Surfactants for the Treatment of Acne Vulgaris. *Molecules* **2020**, *25*, 4856, doi:10.3390/molecules25204856.
176. Teledyne Hanson Is Part of Teledyne LABS Elérhető online: <https://www.teledynelabs.com/brands/hanson> (Letöltve: 2026. május 13.).
177. Pető, Á.; Kósa, D.; Haimhoffer, Á.; Nemes, D.; Fehér, P.; Ujhelyi, Z.; Vecsernyés, M.; Váradi, J.; Fenyvesi, F.; Frum, A.; et al. Topical Dosage Formulation of Lyophilized *Philadelphus Coronarius* L. Leaf and Flower: Antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Assessment of the Plant. *Molecules* **2022**, *27*, 2652, doi:10.3390/molecules27092652.
178. Bácskay, I.; Hosszú, Z.; Budai, I.; Ujhelyi, Z.; Fehér, P.; Kósa, D.; Haimhoffer, Á.; Pető, Á. Formulation and Evaluation of Transdermal Patches Containing BGP-15. *Pharmaceutics* **2023**, *16*, 36, doi:10.3390/pharmaceutics16010036.
179. Argenziano, M.; Haimhoffer, A.; Bastiancich, C.; Jicsinszky, L.; Caldera, F.; Trotta, F.; Scutera, S.; Alotto, D.; Fumagalli, M.; Musso, T.; et al. In Vitro Enhanced Skin

- Permeation and Retention of Imiquimod Loaded in β -Cyclodextrin Nanosponge Hydrogel. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 138, doi:10.3390/pharmaceutics11030138.
180. ZEISS Surgical Microscopes Elérhető online: <https://www.zeiss.com/meditec/en/products/surgical-microscopes.html> (Letöltve: 2026. május 13.).
 181. Klusóczki, Á.; Veréb, Z.; Vámos, A.; Fischer-Posovszky, P.; Wabitsch, M.; Bacso, Z.; Fésüs, L.; Kristóf, E. Differentiating SGBS Adipocytes Respond to PPAR γ Stimulation, Irisin and BMP7 by Functional Browning and Beige Characteristics. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 5823, doi:10.1038/s41598-019-42256-0.
 182. Walicka, A.; Falicki, J.; Iwanowska-Chomiak, B. Rheology of Drugs For Topical and Transdermal Delivery. *Int. J. Appl. Mech. Eng.* **2019**, *24*, 179–198, doi:10.2478/ijame-2019-0012.
 183. Ay Şenyiğit, Z.; Coşkunmeriç, N.; Çağlar, E.Ş.; Öztürk, İ.; Atlıhan Gündoğdu, E.; Siafaka, P.I.; Üstündağ Okur, N. Chitosan-Bovine Serum Albumin-Carbopol 940 Nanogels for Mupirocin Dermal Delivery: Ex-Vivo Permeation and Evaluation of Cellular Binding Capacity via Radiolabeling. *Pharm. Dev. Technol.* **2021**, *26*, 852–866, doi:10.1080/10837450.2021.1948570.
 184. Rajinikanth, P.; Chellian, J. Development and Evaluation of Nanostructured Lipid Carrier-Based Hydrogel for Topical Delivery of 5-Fluorouracil. *Int. J. Nanomedicine* **2016**, *Volume 11*, 5067–5077, doi:10.2147/IJN.S117511.
 185. Di Giuseppe, E.; Corbi, F.; Funicello, F.; Massmeyer, A.; Santimano, T.N.; Rosenau, M.; Davaille, A. Characterization of Carbopol® Hydrogel Rheology for Experimental Tectonics and Geodynamics. *Tectonophysics* **2015**, *642*, 29–45, doi:10.1016/j.tecto.2014.12.005.
 186. Forouz, F.; Mohammed, Y.; Shobeiri Nejad, H.S.A.; Roberts, M.S.; Grice, J.E. In Vitro Screening of Topical Formulation Excipients for Epithelial Toxicity in Cancerous and Non-Cancerous Cell Lines. *EXCLI J.* *22Doc1173 ISSN 1611-2156* **2023**, doi:10.17179/EXCLI2023-6072.
 187. Zhang, Y.; Gao, J.; Zheng, H.; Zhang, R.; Han, Y. The Preparation of 3,5-Dihydroxy-4-Isopropylstilbene Nanoemulsion and in Vitro Release. *Int. J. Nanomedicine* **2011**, *649*, doi:10.2147/IJN.S17242.

188. Musakhanian, J.; Osborne, D.W.; Rodier, J.-D. Skin Penetration and Permeation Properties of Transcutol® in Complex Formulations. *AAPS PharmSciTech* **2024**, *25*, 201, doi:10.1208/s12249-024-02886-8.
189. Maupas, C.; Moulari, B.; Béduneau, A.; Lamprecht, A.; Pellequer, Y. Surfactant Dependent Toxicity of Lipid Nanocapsules in HaCaT Cells. *Int. J. Pharm.* **2011**, *411*, 136–141, doi:10.1016/j.ijpharm.2011.03.056.
190. Pacheco, M.T.; Silva, A.C.G.; Nascimento, T.L.; Diniz, D.G.A.; Valadares, M.C.; Lima, E.M. Protective Effect of Sucupira Oil Nanoemulsion against Oxidative Stress in UVA-Irradiated HaCaT Cells. *J. Pharm. Pharmacol.* **2019**, *71*, 1532–1543, doi:10.1111/jphp.13148.
191. Steiner, K.; Schmolz, J.J.; Hoang, F.; Wolf, H.; Seiser, S.; Elbe-Bürger, A.; Klang, V. Surfactants for Stabilization of Dermal Emulsions and Their Skin Compatibility under UVA Irradiation: Diacyl Phospholipids and Polysorbate 80 Result in High Viability Rates of Primary Human Skin Cells. *Int. J. Pharm.* **2024**, *653*, 123903, doi:10.1016/j.ijpharm.2024.123903.
192. Vogel, C.; Marcotte, E.M. Insights into the Regulation of Protein Abundance from Proteomic and Transcriptomic Analyses. *Nat. Rev. Genet.* **2012**, *13*, 227–232, doi:10.1038/nrg3185.
193. Li, J.; Zhang, Y.; Yang, C.; Rong, R. Discrepant mRNA and Protein Expression in Immune Cells. *Curr. Genomics* **2020**, *21*, 560–563, doi:10.2174/1389202921999200716103758.
194. Eichelbaum, K.; Krijgsveld, J. Rapid Temporal Dynamics of Transcription, Protein Synthesis, and Secretion during Macrophage Activation. *Mol. Cell. Proteomics* **2014**, *13*, 792–810, doi:10.1074/mcp.M113.030916.
195. Israelsson, P.; Dehlin, E.; Nagaev, I.; Lundin, E.; Ottander, U.; Mincheva-Nilsson, L. Cytokine mRNA and Protein Expression by Cell Cultures of Epithelial Ovarian Cancer—Methodological Considerations on the Choice of Analytical Method for Cytokine Analyses. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2020**, *84*, e13249, doi:10.1111/aji.13249.
196. Young, S.; Fenn, J.; Arriero, E.; Lowe, A.; Poulin, B.; MacColl, A.D.C.; Bradley, J.E. Relationships between Immune Gene Expression and Circulating Cytokine Levels in Wild House Mice. *Ecol. Evol.* **2020**, *10*, 13860–13871, doi:10.1002/ece3.6976.
197. Lin, C.-H.; Ko, H.-H.; Wu, J.-Y.; Chang, H.-S.; Yen, C.-H.; Chiu, C.-C.; Chen, Y.-F. Dual Activation of AhR and Nrf2 Pathways by the Natural Stilbenoid Tapinarof Protects against

- Particulate Matter-Induced Skin Barrier Dysfunction. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2025**, *505*, 117559, doi:10.1016/j.taap.2025.117559.
198. Brito, G.; Gehad, A.; Teague, J.; Chen, C.; Crisler, W.; Gray, L.; Kim, I.; Clark, R. 1065 The Topical AhR Agonist Tapinarof Has Broad in Vivo Immunosuppressive and Immunomodulatory Effects in Human Skin Grafted Mice. *J. Invest. Dermatol.* **2023**, *143*, S183, doi:10.1016/j.jid.2023.03.1077.
 199. Lin, Y.; Yang, L.; Wang, D.; Lei, H.; Zhang, Y.; Sun, W.; Liu, J. Indigo Alleviates Psoriasis through the AhR/NF- κ B Signaling Pathway: An *in Vitro* and *in Vivo* Study. *PeerJ* **2024**, *12*, e18326, doi:10.7717/peerj.18326.
 200. Rirong Yang, R.Y.; Zhenghua Ren, Z.R.; Lei Wang, L.W. Resveratrol Inhibits NF- κ B Signaling through Suppression of P65 and I B Kinase Activites. *Pharmazie* **2013**, 689–694, doi:10.1691/ph.2013.2916.
 201. Ferozekhan, F.; Umashankar, M.S.; Narayanasamy, D. A Comprehensive Review of Nanogel-Based Drug Delivery Systems. *Cureus* **2024**, doi:10.7759/cureus.68633.
 202. Espuche, B.; Moya, S.E.; Calderón, M. Nanogels: Smart Tools to Enlarge the Therapeutic Window of Gene Therapy. *Int. J. Pharm.* **2024**, *653*, 123864, doi:10.1016/j.ijpharm.2024.123864.
 203. Ponto, T.; Latter, G.; Luna, G.; Leite-Silva, V.R.; Wright, A.; Benson, H.A.E. Novel Self-Nano-Emulsifying Drug Delivery Systems Containing Astaxanthin for Topical Skin Delivery. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 649, doi:10.3390/pharmaceutics13050649.

9.2. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények



**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/260/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balogh Barbara Nóra
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10087184

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Balogh, B. N.**, Klusóczy, Á., Pető, Á., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Váradi, J., Bácskay, I.: In Vitro Investigation of Tapinarof-Loaded Nanogels in an Imiquimod-induced HaCaT-THP-1 Co-Culture Model.
Eur. J. Pharm. Sci. 221, 1-15, 2026.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2026.107510>
IF: 4.7 (2024)
2. **Balogh, B. N.**, Pető, Á., Haimhoffer, Á., Sinka, D. Z., Kósa, D., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Argenziano, M., Cavalli, R., Bácskay, I.: Formulation and Evaluation of Different Nanogels of Tapinarof for Treatment of Psoriasis.
Gels. 10 (11), 1-18, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/gels10110675>
IF: 5.3

További közlemények

3. **Balogh, B. N.**, Pető, Á., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Bácskay, I.: Tapinarof Nanogels as a Promising Therapeutic Approach.
Pharmaceutics. 17 (6), 1-28, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics17060731>
IF: 5.5 (2024)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,5

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
10

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

Debrecen, 2026.05.07.



10. Rövidítésjegyzék

AhR	Aril-hidrokarbon-receptor
ANOVA	Variancia analízis (Analysis of Variance)
APC	Antigénprezentáló sejtek
CO ₂	Szén-dioxid
CYP1A2	Citokróm P450 1A2
CYP3A4	Citokróm P450 3A4
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol (fluoreszcens DNS-kötő festék)
DLS	Dinamikus fényszórás
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium, sejtenyésztéshez használt tápfolyadék
DMSO	Dimetil-szulfoxid
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
ELISA	Enzimhez kapcsolt immunoszorbens próba (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
FBS	Magzati szarvasmarha szérum (Fetal Bovine Serum)
FDA	Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatal (Food and Drug Administration)
HaCaT	Humán keratinocita sejtvonal (Human adult skin keratinocytes)
IFN- γ	Interferon-gamma
<i>Ifn-γ</i>	Interferon-gamma gén
IL-1	Interleukin-1
IL-2	Interleukin-2
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-12	Interleukin-12
IL-13	Interleukin-13
IL-17	Interleukin-17
<i>Il-17</i>	Interleukin-17 gén
IL-19	Interleukin-19
IL-22	Interleukin-22
IL-23	Interleukin-23

<i>Il-23</i>	Interleukin-23 gén
IMQ	Imikimod (Imiquimod)
JAK	Janus Kináz
MTT	3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólium-bromid
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NF-κB	Nukleáris faktor-kappa B
NLC	Nanostrukturált lipid hordozók (Nanostructured lipid carriers)
NQO1	NADPH-kinon-oxidoreduktáz 1
Nrf2	Nukleáris faktor eritroid 2-hez kapcsolódó faktor 2
OH-csoport	Hidroxil-csoport
<i>P. luminescens</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i> , Gram-negatív baktérium
PASI	Pszoriázis Kiterjedési és Súlyossági Index (Psoriasis Area and Severity Index)
PBS	Foszfát pufferelt sóoldat (Phosphate buffered saline)
PDE4	4-es típusú foszfodiészteráz
PFA	Paraformaldehid
PGA	Orvosi globális értékelés (Physician Global Assessment for Psoriasis)
PMA	Phorbol-12-mirisztát-13-acetát
PSOARING	A tapinarof pikkelysömör klinikai programja
qPCR	Kvantitatív valós idejű polimeráz-láncreakció (quantitative real -time polymerase chain reaction)
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute 1640 tápfolyadék
RTCA	Valós idejű sejt analízis (Real-Time Cell Analysis)
SD	Szórás (Standard Deviation)
SLN	Szilárd lipid nanorészecskék (Solid lipid nanoparticles)
SNEDDS	Ön-nanonemulgeálódó gyógyszeradagoló rendszer (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System)
STAT	Jelátviteli és aktivátor transzkripció fehérjék
stratum basale	Az epidermisz alaprétege
stratum corneum	Az epidermisz szarurétege
stratum granulosum	Az epidermisz szemcsés rétege
stratum lucidum	Az epidermisz fénylő rétege

stratum spinosum	Az epidermisz tüskés rétege
Th-sejtek	Segítő (helper) T-sejtek
TNF- α	Tumor nekrosis faktor-alfa
<i>Tnf-α</i>	Tumor nekrosis faktor-alfa gén
TNF- β	Tumor nekrosis faktor-béta
TX-100	Triton-X-100, pozitív kontroll
TYK2	Tirozin protein kináz 2
UVA	Ultraibolya A sugarak
UVB	Ultraibolya B sugarak
VEGF	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor

11. Ábrajegyzék

1. ábra: Az epidermisz rétegeinek sematikus felépítése. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

2. ábra: Társbetegségek. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

3. ábra: A pikkelysömör patomechanizmusa a bőrben. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

4. ábra: A tapinarof és a rezveratrol kémiai szerkezete.

Forrás: <https://www.sigmaaldrich.com/HU/en> (Letöltés: 2025. 09. 06.)

5. ábra: Az aril-hidrokarbon receptor szerepe a tapinarof hatásmechanizmusában. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

6. ábra: Nanorészecske-hordozók típusai. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

7. ábra: A nanogélek előnyei a dermális gyógyszerbevitelben. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

8. ábra: A nanogélek hátrányai a dermális gyógyszerbevitelben. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

9. ábra: Kísérleti terv. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

10. ábra: A HaCaT–THP-1 ko-kultúra létrehozása és tapinarof-nanogéllal történő kezelése. (saját ábra, BioRenderrel készítve)

11. ábra: A készítmények cseppméret-eloszlása. (saját ábra)

12. ábra: A nanogélek viszkozitásgörbéi (lefelé ívelő, citromsárga és szürke görbék) és folyásgörbéi (felfelé ívelő, narancssárga és kék görbék). (saját ábra)

13. ábra: A hatóanyagot tartalmazó különböző nanogél készítmények textúraelemzésének eredményei. (saját ábra)

14. ábra: A tapinarof felszabadulási profilja a különböző készítményekből. (saját ábra)

15. ábra: Az egyes segédanyagok MTT-teszt eredményei HaCaT sejtvonalon. (saját ábra)

16. ábra: A nanogélek és hatóanyag hosszú és rövid távú MTT-teszt eredményei HaCaT sejtvonalon. (saját ábra)

17. ábra: Reprezentatív mikroszkópos felvételek a sebzáródás mértékéről 24 órás kezelés után, 40 µg/ml koncentráció alkalmazása mellett, összehasonlítva a szabad tapinaroffal, az üres nanogélekkel és a hatóanyaggal töltött nanogélekkel. (saját ábra)

18. ábra: A szabad tapinarof hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanálízissel. (saját ábra)

19. ábra: A szabad tapinarof koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúra proliferációjára. (saját ábra)

- 20. ábra:** A tapinarofot tartalmazó nanogél I. hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanalízissel. (saját ábra)
- 21. ábra:** A tapinarofot tartalmazó I. nanogél koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúra proliferációjára. (saját ábra)
- 22. ábra:** A tapinarofot tartalmazó nanogél II. hatása a sejtek proliferációjára valós idejű sejtanalízissel. (saját ábra)
- 23. ábra:** A tapinarofot tartalmazó II. nanogél koncentrációfüggő hatása IMQ-indukált HaCaT–THP-1 ko-kultúra proliferációjára. (saját ábra)
- 24. ábra:** Reprezentatív fluoreszcens mikroszkópos felvételek a sebzáródásról 24 órával a kezelés után, szabad tapinarof, illetve nanogél formulációk alkalmazása esetén, IMQ jelenlétében vagy hiányában. (saját ábra)
- 25. ábra:** A HaCaT sejtek migrációs sebességének ($\mu\text{m/h}$) kvantitatív meghatározása a karcolásos területen 24 óra elteltével. (saját ábra)
- 26. ábra:** A gyulladásos citokinek szintje a HaCaT–THP-1 ko-kultúrában, ELISA módszerrel meghatározva 24 órás kezelés után. (saját ábra)
- 27. ábra:** A $\text{Tnf-}\alpha$ és $\text{Ifn-}\gamma$ citokinek mRNS-expressziós szintje a HaCaT–THP-1 ko-kultúrában a különböző tapinarof formulációk (I. és II. nanogél) alkalmazása mellett, IMQ jelenlétében vagy hiányában. (saját ábra)
- 28. ábra:** Az NF- κ B p65 alegység nukleáris transzlokációja THP-1 sejtekben tapinarofot tartalmazó nanogélekkel történő kezelés hatására. (saját ábra)
- 29. ábra:** Az NF- κ B p65 sejtmag/citoplazma intenzitásarány kvantitatív meghatározása különböző kezelések mellett. (saját ábra)

12. Táblázatok jegyzéke

- 1. táblázat:** A pikkelysömör topikális kezelése: hatásmechanizmus, mellékhatások és példák. (saját táblázat)
- 2. táblázat:** A pikkelysömör szisztémás kezelése: hatásmechanizmus, mellékhatások és példák. (saját táblázat)
- 3. táblázat:** Az FDA által nemrégiben jóváhagyott új hatóanyagok. (saját táblázat)
- 4. táblázat:** A tapinarof molekuláris útvonalai. (saját táblázat)
- 5. táblázat:** A különböző SNEDDS-ek összetétele. (saját táblázat)
- 6. táblázat:** A különböző nanogélek összetétele. (saját táblázat)
- 7. táblázat:** Az I. nanoformuláció részecskeméret-eloszlása a gélképződést követően. (saját táblázat)
- 8. táblázat:** A II. nanoformuláció részecskeméret-eloszlása a gélképződést követően. (saját táblázat)
- 9. táblázat:** A készítmények korrelációs koefficiens értékei. (saját táblázat)

13. Tárgyszavak

Tapinarof, nanogélek, pikkelysömör, gyulladáscsökkentő, antioxidáns, külsőleges gyógyszerkészítmények, kokultúra, citotoxicitás, reológia, biokompatibilitás

14. Keywords

Tapinarof, nanogels, psoriasis, anti-inflammatory, antioxidant, topical preparations, co-culture, cytotoxicity, rheology, biocompatibility

15. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni legnagyobb hálámat és tiszteletemet témavezetőmnek, Prof. Dr. Bácskay Ildikónak, a Gyógyszerésztudományi Kar dékánasszonyának, aki szakmai útmutatásával, támogatásával és biztatásával végig kísérte a doktori munkámat.

Külön köszönettel tartozom konzulensemnek és mentoromnak, Dr. Pető Ágotának, aki folyamatos szakmai irányításával és önzetlen segítségével nagyban hozzájárult kutatásaim sikeréhez.

Hálás vagyok a Gyógyszertechnológiai Tanszék valamennyi munkatársának: Dr. Fehér Pálmának, Dr. Vasvári Gábornak, Dr. Arany Petrának, Dr. Sinka Dávidnak, Dr. Józsa Lizának, Horányiné Körei Máriának, Gulyás Évának, Szilágyi Erikának és Bátoriné Pataki Brigittának, akik munkájukkal, szakmai támogatásukkal és bátorításukkal hozzájárultak eredményeimhez.

Köszönettel tartozom a Gyógyszerfelügyeleti és Gyógyszergazdálkodási Tanszék munkatársainak, különösen Prof. Dr. Vecsernyés Miklósnak és Dr. Horváth Lászlónak, illetve a Gyógyszeripari Gyógyszertechnológiai Tanszék munkatársainak, Dr. Ujhelyi Zoltánnak, Dr. Nemes Dánielnek és Dr. Haimhoffer Ádámnak, valamint a Molekuláris és Nanogyógyszerészeti Tanszék kollégáinak, Dr. Fenyvesi Ferencnek, Dr. Váradi Juditnak és Dr. Rusznyák Ágnesnek, akik hozzájárultak kutatásaim előrehaladásához és szakmai tanácsaikkal segítették munkámat.

Külön hálával tartozom Dr. Klusóczki Ágnesnek, aki az elmúlt évben nyújtott szakmai támogatásával és együttműködésével nagyban hozzájárult kutatásom előrehaladásához.

Hálásan köszönöm PhD-hallgató társaimnak, Bodnár Krisztinának, Dr. Papp Boglárkának és Alsheikh Raghadnak a közös munkát, a folyamatos támogatást és azt, hogy a nehezebb időszakokban is mindig igyekeztünk egymásban tartani a lelket.

Köszönöm továbbá Lakatos Szilviának, Antalné Sipos Szilviának és Vaszily Máriának, hogy mindig készségesen segítettek, és bármikor bizalommal fordulhattam hozzájuk.

Köszönöm a tutoraimnak, Prof. Dr. Juhász Bélának és Dr. Lekli Istvánnak a PhD képzésem alatt nyújtott támogatásukat.

Hálával tartozom Dr. Csoma Eszternek, Prof. Dr. Tósaki Árpádnak és Prof. Dr. Gergely Lajosnak a Doktori Iskolánkért végzett fáradhatatlan munkájukért és elkötelezettségükért.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni a családomnak és barátaimnak az évek során nyújtott szeretetet, türelmet és kitartó támogatást. Rendkívül hálás vagyok a szüleimnek, a nagyszüleimnek, a nővéremnek és családjának, hogy mindig támogattak, és a

nehezebb napokat megkönnyítették azzal, hogy megteremtették azt a biztonságos és szeretetteljes környezetet, amely lehetővé tette számomra, hogy eljussak idáig.

16. Függelék

A PhD munka finanszírozása a TKP2021-EGA-18 azonosítószámú számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA-pályázati program finanszírozásában valósul meg.

A projektet a 2022-1.2.2-TÉTIPARI-UZ-2022-00006 „Természetes gyógynövénykivonatot tartalmazó különböző prototípusok közös kutatása és fejlesztése ipari felhasználásra” projekt támogatta.

A kutatás a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítvány (székhely: 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.) támogatásával, a Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj keretében készült.

A Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-25-3-II kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíjprogramjának, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.