

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Gyógyszerészeti segédanyagok és külsőleges
gyógyszerformák biokompatibilitási, *in vitro* és *in*
vivo vizsgálata**

Dr. Pető Ágota

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



DEBRECENI EGYETEM
Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2022

Gyógyszerészeti segédanyagok és külsőleges gyógyszerformák biokompatibilitási, *in vitro* és *in vivo* vizsgálata

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

Írta: Dr. Pető Ágota okleveles gyógyszerész

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

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

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Zelkó Romána, MTA doktora
Dr. Berta Eszter, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tószaki Árpád, MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Zelkó Romána, MTA doktora
Dr. Berta Eszter, PhD
Dr. Illyés Tünde Zita, PhD
Dr. Tábi Tamás, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem GYTK, Gyógyszerfelügyelet és
Gyógyszergazdálkodási Tanszék

2022. október 19. 14:30

A nyilvánosságot online módon is biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a peto.agota@pharm.unideb.hu e-mail címre a vitát a megelőző munkanap (2022.10.18.) 16:00 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	4
2. Célkitűzés.....	8
3. Anyagok és módszerek.....	9
4. Eredmények.....	16
5. Megbeszélés	21
6. Összefoglalás.....	26
7. Köszönetnyilvánítás	28
8. Támogatás	29

1. Bevezetés

Manapság a természetes eredetű, növényi hatóanyagok reneszánszukat élik, a betegek részéről egyre növekszik az igény a természetes összetevőket tartalmazó készítményekre. A gyógyszertárakban egyre növekvő kínálat található a gyógynövénytartalmú étrendkiegészítőkből és egyéb készítményekből. A növényi eredetű hatóanyagok azonban nem feltétlenül jobbak a szintetikusan előállított hatóanyagoknál. Alkalmazásuk esetében a biztonsággal kapcsolatban aggályok merülhetnek fel, ezért a növényi hatóanyagok felhasználását megelőzően preformulációs vizsgálatokat kell elvégezni. A gyógynövények termesztése kellő odafigyelést igényel, feldolgozásuk kihívásokkal teli feladat, ráadásul sok gyógynövény esetében csupán a népgyógyászat tapasztalati úton szerzett információi állnak rendelkezésünkre. A gyógynövényből történő hatóanyagkivonás mellett az aktív komponenseket azonosítani kell, továbbá a hatóanyag standardizálása is elengedhetetlen

A természetes eredetű hatóanyagok mellett az új farmakonok, gyógyszerjelöltek kutatása, tudományos ismerete is fontos és rohamosan fejlődő terület, hiszen számos olyan kórkép és indikáció létezik, melynek kezeléséhez nem áll rendelkezésünkre megfelelő gyógymód, vagy a jelenleg használatos terápia nem teljes mértékben kielégítő és hatékonyabb, kevesebb mellékhatást okozó, jól tolerálható gyógyszerre van szükség.

A gyógyszerek bőrön keresztül történő bejuttatása a gyógyszerészet egy vonzó és kihívásokkal teli területe. A modern technológiák gyors fejlődésének köszönhetően a gyógyszerek egyre nagyobb hányadát igyekeznek transzdermális úton bejuttatni, beleértve a konvencionális terápiás módszerekkel jól alkalmazható hatóanyagokat is. Ennek oka, hogy a transzdermális gyógyszerbevitel számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik, kikerüli a gasztrointesztinális traktust, ezáltal a máj first-pass effektjét is, lokális és szisztémás hatást egyaránt elérhetünk vele. Lehetővé teszi egyes kórképek helyi kezelését, ezáltal kevesebb mellékhatással kell számolnunk, valamint nem invazív, fájdalommentes kezelési mód, a páciensek saját maguk is képesek a gyógyszer adminisztrációjára, így a bőrön keresztüli gyógyszerbevitel a betegek által az egyik leginkább kedvelt beviteli kapu. Mindez a fokozott beteg compliance-ben nyilvánul meg, különösen hosszútávú kezelés esetén.

A bőrön keresztül történő gyógyszerbevitel során leggyakrabban alkalmazott gyógyszerformák a kenőcsök és a transzdermális terápiás rendszerek. A kenőcsökkel elsősorban helyi hatás elérése a célunk, a bőrfelület vagy mélyebb bőrrétegek kezelése, míg a transzdermális terápiás rendszerek esetében a cél a hatóanyag bejuttatása a szisztémás keringésbe. A hatásuk alapján

megkülönböztetünk fedő vagy védőkenőcsöket, sebkenőcsöket, penetrációs valamint reszorpciós kenőcsöket. Fedőkenőcsök esetén az elsődleges cél a bőr védelme. Sebkenőcsöket a károsodott bőr kezelésére alkalmaznak. Ezen két csoport esetében, továbbá a penetrációs kenőcsök esetében a cél, hogy a kenőcs a bőr felső szöveti rétegeibe behatoljon, penetrálódjon és ott fejtse ki hatását. A reszorpciós kenőcsök egy különleges csoportot képeznek, hiszen ezeknél a készítményeknél az a cél, hogy a hatóanyag felszívódjon a szisztémás keringésbe (pl. reumás kórképek, bronchitis kezelése esetében). Transzdermális gyógyszerbevitel során olyan terápiás rendszereket alkalmazunk, melyek lehetővé teszik, hogy különböző hatóanyagok a bőrön keresztül, előre meghatározott program szerint, folyamatosan felszabadulva a szisztémás keringésbe jussanak. A leggyakoribb transzdermális indikációs területek közé tartozik pl. a fájdalomcsillapítás, magas vérnyomás kezelése, hormonpótlás, hormonális fogamzásgátlás, dohányzásról való leszokás segítése. Ezen terápiás rendszerek legfőbb korlátozó tényezője, hogy a bejuttatható hatóanyagok a bőr barrier funkciója miatt limitáltak. A transzdermálisan bejuttatható hatóanyagnak a következő kritériumoknak kell megfelelnie: alacsony molekulatömeg (<400 Da), megfelelő lipofilitás ($\log P_{o/w} \sim 1-4$), felezési idő max. 10 óra, alacsony dózisban hatékony (kb. 20 mg/nap), alacsony olvadáspont, nem irritálja a bőrt. A korlátozó tényezők miatt a transzdermális gyógyszerbevitel egy intenzíven kutatott terület.

A bőr anatómiai felépítésének ismerete elengedhetetlen fontosságú, hiszen nagyban meghatározza a bőrön keresztül történő gyógyszerbevitel lehetőségeit. A bőr 3 rétegre osztható: epidermis (felhám), dermis (irha) és subcutis (bőralja). Az epidermis többretegű elszarusodó laphámból épül fel, legkülső rétege a stratum corneum (SC), melynek sejtei szorosan illeszkednek egymáshoz. A sejtek magas keratintartalma miatt az apoláris karakterű anyagok tudnak áthatolni a SC-on, viszont onnan továbbjutni csak azok a hatóanyagok képesek, melyek bizonyos hidrofíl tulajdonsággal is rendelkeznek, hiszen így képesek az epidermis mélyebb, víztartalmú rétegeibe továbbjutni. Ez a gyógyszerbevitel szempontjából kulcsfontosságú, hisz, a SC fent említett tulajdonságai miatt a dermális gyógyszerbevitel kihívásokkal teli feladat.

Az aktív komponensek bőrön keresztül történő felszívódását penetrációfokozó segédanyagok hozzáadásával segíthetjük elő. A hatóanyagok penetrációjának elősegítése szempontjából a másik fontos kulcs a megfelelő hordozórendszer kiválasztása.

BGP-15

A BGP-15 egy nikotinos amidoxim-származék (O-(3piperidino-2-hidroxi-1-propil)-nikotinsav-amidoxim), magyar fejlesztésű, kis molekulájú gyógyszerjelölt. Az 1970-es

években szintetizálták, eredetileg citosztatikus készítmények neuro-, nefro- és myelotoxikus hatásának enyhítésére szántak.

Az elmúlt években a hatóanyag számos egyéb jótékony hatását is feltárták, többek között hatékonynak bizonyult inzulin-rezisztencia megelőzésében és kezelésében, továbbá egyes tudományos publikációkban lehetséges gyulladáscsökkentő hatása is említésre került. Emellett kardioprotektív tulajdonságai is intenzív kutatás alatt állnak, szívelégtelenség kezelésében, pitvarfibrillációban és pitvari szívmegnagyobbodásban is ígéretes eredményeket produkált. A vázizom regenerációját elősegítő, valamint izomkárosodást megelőző hatását több területen vizsgálták, jelentős figyelmet kapott a diafragma funkciójának megtartottsága. A Duchenne-féle izomdisztrófia terápiájának hasznos és ígéretes kiegészítője lehet, hatásosságát állatkísérletben igazolták, melynek során izomdisztrófiában szenvedő egereken tesztelték a hatóanyagot.

A BGP-15 a II. klinikai fázisig jutott diabétesz indikációban, de a megfelelő indikáció meghatározása még folyamatban van, mivel még jelenleg is kevés ismeret áll rendelkezésünkre a molekulával kapcsolatban.

A hatóanyag helyi alkalmazása kevésbé vizsgált kutatási terület, csakúgy, mint a BGP-15 gyulladáscsökkentő hatása. Farkas és munkatársai BGP-15 krémeket formuláltak, bár az indikáció kissé eltérő volt. A kenőcsök fényvédő hatását úgy vizsgálták, hogy egereket előkezelték BGP-15 tartalmú készítményekkel, majd az állatokat közvetlen UV-sugárzásnak tették ki. Megállapították, hogy a krémek jelentősen csökkentették az égett sejtek számát, és megfigyelték az IL-10 és TNF- α epidermális citokinek expressziójának csökkenését. A fent említett tulajdonságokat figyelembe véve a BGP-15 lehetséges gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata külsőleges gyógyszerformában kiegészítheti jelenlegi ismereteinket, és további hasznos információkkal szolgálhat a hatóanyagról.

Philadelphus coronarius

A *Philadelphus coronarius* (*P. coronarius*), magyar nevén a közönséges jezsámen a hortenziafélék (Hydrangeaceae) családjába, a somvirágúak (Cornales) rendjébe tartozik.

A közönséges jezsáment a népgyógyászatban előszeretettel alkalmazzák különböző kórképek kezelésére, ám ennek ellenére a vonatkozó szakirodalomban mégis kevés tudományosan megalapozott információ lelhető fel a gyógynövényről, az eddigi tudásunk sokkal inkább tapasztalati úton szerzett információként él a köztudatban. Korábbi kémiai kutatások már

feltárták a gyógynövény virágának flavonoid-, triterpén-, kumarin- és fenolsavtartalmát, ám a levél efféle vizsgálatáról nincs információ.

A népgyógyászatban a jezsámen vizes kivonatát leggyakrabban különböző nőgyógyászati kórképek kezelésére alkalmazzák előszeretettel, emellett a növénynek antibakteriális és gyökfogó hatást is tulajdonítanak. A közönséges jezsámen külsőleges gyógyszerformában történő alkalmazásával kapcsolatban jelenleg nem áll rendelkezésünkre tanulmány, ám a fent említett tények és tapasztalatok alapján gyógyászati hasznosítása számos előnyt hordozhat magában és a jelenlegi terápiás megoldásoknak hasznos kiegészítése lehet.

Doktori értekezésem témájaként egy gyógyszerjelölt farmakont, a BGP-15-öt és egy gyógynövényt, a *Philadelphus coronariust* választottam. Ezek felhasználásával külsőleges gyógyszerformát fejlesztettem, a gyógyszerformulálás lépései során a különbségekre - melyek a hatóanyag eltérő természetéből fakadnak- rámutatva. A formulálás során fő szempontjaim a biohasznosulás és a biokompatibilitás növelése voltak. A választott hatóanyagok hatékonyságának vizsgálata is fontos részét képezte kutatásomnak.

2. Célkitűzés

Kísérleti munkám során célul tűztem ki egy szintetikus és gyógynövényből izolált hatóanyagok felhasználásával külsőleges gyógyszerforma kialakítását, valamint a formulálás lépésein keresztül a hatóanyagok eltérő természetéből fakadó hasonlóságok és különbségek bemutatását. További célom volt a hatóanyagok biohasznosulásának növelése és a készítmény megfelelő biokompatibilitásának elérése.

A kísérletek első szakaszában a BGP-15 gyógyszerjelölt felhasználásával külsőleges gyógyszerforma létrehozása és vizsgálata, valamint a hatóanyag hatásának vizsgálata volt a célom. Ehhez különböző kenőcsösszetételek meghatározása és a megfelelő segédanyagok kiválasztása, majd biokompatibilitási vizsgálata volt a célom. Az elkészült kenőcsöket több szempontból elemeztem, Franz diffúziós vizsgálatot és textúra analízist végeztem. A hatóanyag gyulladáscsökkentő hatását in vitro és in vivo teszteltem, valamint az antioxidáns tulajdonságait is vizsgáltam.

A kísérletek második szakaszában a *P. coronarius* gyógynövény leveléből és virágából kivonatot készítettem majd jellemeztem a bioaktív komponensek azonosításával, hatóanyagtartalom és az antioxidáns kapacitás meghatározásával. A kivonatból liofilizált extraktumot készítettem, melynek hatását több szempontból vizsgáltam, majd külsőleges gyógyszerformát fejlesztettem. A formulált kenőcsök textúra analízisét elvégeztem, valamint a hatóanyag in vitro felszabadulását vizsgáltam.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Anyagok

A BGP-15 ((O-(3piperidino-2-hidroxi-1-propil)-nikotinsav-amidoxim) hatóanyagot a SONEAS Chemicals Ltd.-től szereztük be. A *P. coronarius* friss leveleit és virágát (~500 g) a Nagyvárad Eötvös Loránd Tudományegyetem Orvos-és Gyógyszerésztudományi Karának kertjéből gyűjtöttük 2020 nyarán. A *Philadelphus coronarius* L. faj egy példányának szárát, leveleit és virágát a Nagyvárad Eötvös Loránd Tudományegyetem Orvos-és Gyógyszerésztudományi Karának Herbariumában őrzik, mely a NYBG Steere Herbarium-ban van regisztrálva UOP 05313 kóddal. Kísérleteimhez a cukorészterek (SP50, SP70, PS750) a Sisterna-tól (Roosendaal, Hollandia) kerültek beszerzésre. A munkám során használt Sedefos 75, Labrasol, Tefose 63 és Transcutol a Gattefossé (Lyon, Franciaország), míg a Cremophor A6 és A25 a BASF (Ludwigshafen, Németország) ajándéka volt. A szentjánosbogár luciferáz szubsztrát a Promega-tól származott (Madison, WI, USA). Minden egyéb anyagot a Sigma Aldrich-től (Budapest, Magyarország) rendeltünk.

3.2. Módszerek

3.2.1. Biokompatibilitás vizsgálatához kapcsolódó módszerek

MTT teszt

Az MTT-teszt a sejtek életképességének vizsgálatára alkalmas, *in vitro* citotoxicitási teszt. A munkát lamináris boxban végeztem. Előzetesen HaCaT sejteket szélesztettem 96 lyukú plate-re, 10.000 sejt/lyuk denzitással, majd 7 napig növekedni hagytam őket, hogy a konfluens sejtréteg kialakuljon. A vizsgálat során a használt médiumot eltávolítottam a sejtek felszínéről, majd PBS-sel történő mosást követően 200 µl/lyuk tesztoldatot felvittem a sejtekre és inkubálódni hagytam 30 percen át. Ezt követően a tesztoldatokat eltávolítottam, a sejteket PBS-sel mostam, majd 5 mg/ml-es MTT-PBS (1:9) oldatot mértem a sejtekre és 3 órán át, 37°C-on inkubáltam őket. A kialakult formazán precipitátumokat sósavas izopropanollal (1:25) szuszpendáltam, majd a minták abszorbanciáját spektrofotométer segítségével (Fluostar Optima) 570 és 690 nm-en mértem.

3.2.2. Kenőcsök formulálásához és vizsgálatához kapcsolódó módszerek

Kenőcsök formulálása

A kenőcsök készítése laboratóriumi körülmények között történt. A formulálásához különböző emulgenseket választottam, úgy, mint Labrasol, Cremophor A6: A25=1:1, cukorészterek (SP50, SP70, PS750) a BGP-15 esetében, Tefose 63, Sedefos 75 és SP70 a *P. coronarius*

esetében. Az előállítás során a cetil-sztearil-alkohol, izopropil-mirisztát és sztearinsav olvasztása (60 °C) alakította ki az olajos fázist. A cetil-sztearil-alkohol emulgens, amely attól függően, hogy magas vagy alacsony HLB értékű tenziddel párosítják, O/V vagy V/O emulziós kenőcsöt képes kialakítani. Mindemellett a sztearinsavval együtt a kenőcs alapját fogják képezni, az izopropil-mirisztát pedig jó penetrációfokozó segédanyag. A vizes fázis emulgenst, propilénlikolt és tisztított vizet tartalmazott, melyet az olajos fázissal megegyező hőmérsékletűre (60 °C) melegítettem, majd az olajos fázishoz kevertem. A készítményt szobahőmérsékletűre hűtöttem és a fázisokat emulgeáltam, pótoltam a melegítés során elpárolgott vizet, majd 1% Solutio conservans-sal, a FoNo VIII. kiadásában hivatalos tartósító oldattal tartósítottam és hozzáadtam a liofilizált növényi kivonatokat vagy a BGP-15-öt. A hatóanyagokat előzőleg Transcutolban és tisztított víz 1:1 arányú keverékében oldottam. A Transcutol jó oldószer és penetrációfokozó segédanyag.

Textúra analízis

A krémek ellenállását a CT3 Textúra Analizáló (Brookfield, Middleboro, U.S.A.) készülékkel mértem. A vizsgálat során a kenőcsbe egy próbatest hatol be és a műszer a kenőcs által kifejtett ellenállást méri. A mérés alatt a következő beállítási paramétereket alkalmaztam: trigger erő (4g), csúcspont (5 mm), sebesség (0,5 mm/s). Próbatestként a TA₁₀ cylinder típusú testet (12,7 mm átmérő, 35 mm hosszúság) választottam. A kenőcsök cylinderre kifejtett ellenállásának értékét mN-ban fejeztem ki.

In vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata Franz diffúziós cella segítségével

A mérések során a kioldóközeg pH=5,5 puffer volt (Ph.Hg. VIII. előirata szerint), mely a bőr pH-jával megegyező. A kioldóközeget 32°C-ra fűtöttem a berendezéshez tartozó termosztát segítségével, a bőr hőmérsékletének megfelelően. A félig áteresztő, szintetikus cellulóz-acetát membránt a vizsgálat előtt 15 percig izopropil-mirisztátban áztattam, hogy az a bőr lipofil karakterét modellezze. A BGP-15 tartalmú kenőcsök esetében az analitikai elemzés tömegspektrométer segítségével, míg a *P. coronarius* tartalmú készítmények esetében spektrofotométerrel történt. A diffundált hatóanyag mennyiségét százalékban fejeztem ki és az idő függvényében ábrázoltam. Az ábrázolt egyenes meredeksége jellemző a mért hatóanyag felszabadulási sebességére.

3.2.3.Hatékonyság vizsgálata

Luciferáz vizsgálat

A kísérletben használt Raw264.7 sejtek NF- κ B-Luciferáz riporter rendszerrel stabilan transzfektált makrofágok. A sejteket 60 000/lyuk denzitással szélesztettük lumineszcens plate-re. 1 nap elteltével a makrofágok 1, 10, 100 μ M BGP-15-tel voltak kezelve. A minták elkészítéséhez a BGP-15-öt PBS-ben oldottuk, majd penetrációfokozóként hozzáadtunk SP50, SP70 vagy PS750 cukorésztert. A sejtek egy részét LPS-sel indukáltuk (100 ng/l), míg másokat nem. 6 óra inkubációt követően a médiumot eltávolítottuk és mostuk 200 μ l/lyuk PBS-sel. Ezt követően a sejteket sejtkultúra lízis reagenssel lizáltuk (20 μ l/lyuk) 10 percig. A szentjánosbogár-luciferáz szubsztrát (20 μ l/lyuk; Promega) hozzáadása után Luminoscan Ascent Scanning Luminometer (Thermo Electron Corporation) segítségével mértük a luciferáz aktivitást. A vizsgálatok elvégzése a Szegedi Biológiai Központ munkatársainak segítségével, együttműködésben valósult meg.

BGP-15 tartalmú kenőcsök gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata in vivo fülödéma teszttel

A BGP-15 gyulladáscsökkentő hatását az előzőleg formulált kenőcsök, valamint 10 m/m %-os vizes oldat formájában, fülödéma teszt segítségével vizsgáltam. Etikai engedélyszám: HB/15-ÉLB/1921-6/2020. Fülödéma teszt során a kísérleti állatok fülét gyulladáskeltő anyaggal gyulladásba hoztam, majd a gyulladást kísérő ödéma mértékét kvantitatívan tudtam mérni a fül vastagság változásának követésével. A kísérlet során paraffinban oldott, 1%-os allil-izotiocianát oldattal (AITC) lokális gyulladást idéztem elő fiatal, felnőtt C57BL/6 egerek fülén. Az oldatot vattapálcika segítségével vittem fel a fül belső és külső felszínére egyaránt és azt vizsgáltam, hogy a BGP-15 tartalmú kenőcsök, valamint BGP-15 oldat ezt a gyulladást képesek-e csökkenteni. A kenőcsöket és az oldatot premedikációként, korábbi szakirodalomban közölt tapasztalatok alapján vittem fel, majd a beszívódást követően (30 perc) idéztem elő a gyulladást. A minták felvitelét megelőzően, valamint a gyulladás kiváltását követően 10 percenként egy mérnöki pontosságú, digitális tolómérővel mértem az egerek fülének vastagságát. A kísérlet során külön megvizsgáltam a fülvastagság változását csak AITC oldattal kezelt egereken, valamint hatóanyagot nem tartalmazó kenőcsökkel is. A kísérlet elvégzésében az Élettani Intézet munkatársai voltak a segítségemre.

SOD aktivitás meghatározása, antioxidáns vizsgálat

A SOD (szuperoxid-dizmutáz) egy antioxidáns enzim, melynek hatása fontos az immunrendszer működése szempontjából, a szervezetben a szuperoxid anion dizmutációját katalizálja molekuláris oxigénné és hidrogén-peroxiddá, mely a kataláz enzim segítségével

vízzé és oxigénné alakul. A BGP-15 antioxidáns aktivitását HaCaT sejtvonalon vizsgáltam különböző koncentrációban: 1; 5; 10; 50; 100 mg/ml. A kísérlet során a sejtek felszínéről eltávolítottam a használt médiumot, majd a BGP-15 tartalmú mintákkal előkezelésként inkubáltam 1 órán át. Ezt követően a mintákat eltávolítottam és mesterségesen generált UV-B sugárzásnak tettem ki a sejteket 10 percen át, abból a célból, hogy az oxidatív stressz hatására a szabadgyökök képződése fokozódjon. Ezt követően az egyes koncentrációkhoz tartozó sejteket külön-külön összegyűjtöttem a plate-ről és 10 percen át, 1000 rpm fordulatszámon, 4°C-on centrifugáltam. A sejtpelleteket ezután HEPES pufferben homogenizáltam és 15 percig újra centrifugáltam 1000 rpm fordulatszámon, 4°C-on. A felülúszók SOD aktivitását ezt követően a gyártó által biztosított leírás alapján vizsgáltam 96 lyukú plate-re helyezve a mintákat, majd az abszorbanciájukat spektrofotométer segítségével (Fluostar Optima) 235 nm hullámhosszon.

Totál antioxidáns kapacitás (TAC) vizsgálat

A kísérletet 20 hetes patkányokon végeztük BGP-15 tartalmú kenőcsökkel. Az állatok hátát szőrtelenítettük, majd két nappal később a kenőcsöket felvittük (24 órára). A harmadik napon egy másik bőrrészre vittük fel a mintákat, ezúttal 1 órára. Minden állattól bőrmintát vettünk, 3 régióból, a 24 órán át kezelt, az 1 órán át kezelt és kezeletlen részekről. A minták feldolgozása a kit-et biztosító gyártó utasításai szerint történtek. 100 mg mintát reagens pufferben homogenizáltunk, majd centrifugáltuk 12 000 rpm fordulatszámon, 15 percen át, 4°C-on. Ezt követően a felülúszót vizsgáltuk az utasításnak megfelelően, az oldatok abszorbanciáját 405 nm hullámhosszon (MultiscanGo microplate spectrophotometer). Az eredményeket a kezeletlen régió eredményeihez viszonyítva, százalékban fejeztük ki. A kísérlet kivitelezésében a Gyógyszerhatástani Tanszék munkatársai voltak a segítségemre.

3.2.4. Gyógynövényből történő kivonatkészítés és karakterizálás

Kivonat készítése és liofilizált termék előállítása a P. coronarius leveléből és virágából

Az összegyűjtött friss növényi részeket szobahőmérsékleten, napfénytől védett helyen eltartva szárítottuk, majd az egyes részeket feldaraboltuk és III-as számú szitán átszitáltuk. Az extrakcióhoz oldószerként 30 %_v-os etanol és desztillált víz elegyét választottuk 1:10 arányban. Az így készült extraktumból az etanolt rotációs bepárló készülék (Hei VAP Precision-Platinum 3) segítségével távolítottuk el 40°C hőmérsékleten, 8 rpm fordulatszámon, 200 mBar nyomáson. A visszamaradt vizes fázist -80°C-ra fagyasztottuk és liofileztük (ALPHA 2-4 LSC plus liofilező), így szilárd, vízzoldható terméket kaptunk. A kísérletek elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

Fizikai-kémiai karakterizálás HPLC módszerrel

A *P. coronarius* kivonatából származó bioaktív vegyületek azonosítását és mennyiségi meghatározását kromatográfias elválasztással (Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D plus) végeztük. Phenomenex C18 (2) 100 A, 150 mm × 4,6 mm × 5 µm méretű oszlopot használtunk, amelyet 30 °C hőmérsékleten tartottunk. Az eluáláshoz használt mozgófázisok metanolt (A) és 0,1%-os hangyasavat (B) tartalmaztak. Az alkalmazott gradiens program a következő volt: 5% A és 95% B 0-3. perc, 25% A és 75% B 3-6. perc, 37% A és 63% B 9-13. perc, 54% A és 46 % B 18-22. perc, 95% A és 5% B 26-29. perc és 5% A és 95% B 30-36. perc. Az áramlási sebesség 0,5 ml/perc, az injektált térfogat pedig 10 µl. A detektálást több hullámhosszon végeztük: 254, 270, 275, 326, 337 és 360 nm. A kivonatból származó polifenolokat a kivonat kromatogramján szereplő retenciós idők összehasonlításával azonosítottuk a standardoldat kromatogramokon. A kísérletek elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

A liofilizált kivonat fitokémiai vizsgálata

Vizsgálataink során a *P. coronarius* kivonatok bioaktív vegyület tartalmát (az összes polifenol és összes flavonoid tartalmat) meghatároztuk. A teljes polifenol tartalom kiszámításához a Folin–Ciocâlteu módszert választottuk. Ez elektrontranszfer reakción alapul, amely egy antioxidáns redukzív képességét méri. A teljes polifenol tartalmat a szárított növény galluszsav-ekvivalensként (GAE/100 g) számítottuk ki a galluszsav kalibrációs egyenese alapján (5-500 mg/l, $Y = 0,0027 \times -0,0055$, $R^2 = 0,9999$). Az összes flavonoid tartalom meghatározására az alumínium-klorid kolorimetriás módszert választottuk. A standard kalibrációs görbéhez kvercetint használtunk. A kvercetin törzsoldatot úgy állítottuk elő, hogy 5 mg kvercetint 1 ml metanolban oldottunk fel, majd ezt követően egy standard kvercetin hígítási sort készítettünk metanollal (5-200 µg/ml). A kísérletek elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

DPPH antioxidáns vizsgálat

A *P. coronarius* levelének és virágának antioxidáns képességét DPPH teszt segítségével vizsgáltuk. Az extraktumokat a 96%-os etanolban oldott DPPH szabad gyökkel reagáltattuk. A reakcióelegy 100 µl extraktumot, 900 µl etanolt és 2 ml DPPH oldatot (0,06 mM) tartalmazott. A reakcióelegyeket fél órán át inkubáltuk. A reakcióban a fennmaradó DPPH mennyiség mérését UV spektrofotométerrel (Shimadzu Spectrophotometer, Tokió, Japán) végeztük 517 nm hullámhosszon. Az antioxidáns vizsgálatok elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

Antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP módszerrel

A törzsoldatok a következőket tartalmazták: 300 mM acetát puffer; 270 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 50 ml desztillált vízben oldva; 150 mg TPTZ és 150 μl HCl, 50 ml desztillált vízben oldva. A FRAP oldatot 50 ml acetát puffer, 5 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ oldat és 5 ml TPTZ oldat összekeverésével állítottuk elő. A Troloxot mint standard oldatot és a minták abszorbanciáját 595 nm-es hullámhosszon detektáltuk. Az antioxidáns vizsgálatok elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

Antioxidáns kapacitás meghatározása CUPRAC módszerrel

A reakcióelegy 0,25 ml CuCl_2 oldatot (0,01 M), 0,25 ml etanolos neokuprint ($7,5 \cdot 10^{-3}$ M) és 0,25 ml $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ pufferoldatot (1 M) tartalmazott, melyet összekevertünk a mintákkal. Ezután a teljes térfogatot 2 ml-re egészítettük ki desztillált vízzel, és alaposan összekevertük, a csöveket lezártuk és szobahőmérsékleten állni hagytuk 30 percig. Ezt követően a minták abszorbanciáját 450 nm-en mértük spektrofotométer segítségével (Shimadzu Spectrophotometer, Tokió, Japán). Az antioxidáns vizsgálatok elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

Antioxidáns kapacitás meghatározása ABTS módszerrel

A minták antioxidáns aktivitását ABTS módszerrel is meghatároztuk. A kísérlet az antioxidánsok relatív képességét méri a vizes fázisban keletkező ABTS (2,20-azinobisz-(3-etil-benzotiazolin-6-szulfonsav) megkötésére, összehasonlítva Trolox standard-del. Az ABTS-t desztillált vízben feloldottuk (7 mM). Az ABTS gyök kation (ABTS^+) előállításához a törzsoldatot kálium-perszulfáttal reagáltattuk, majd egy éjszakán át állni hagytuk egy sötét szobában. ABTS^+ -t és a mintákat etanollal hígítottuk. A reakcióelegy 10 μl hígított mintát (vagy Trolox standard-et) és 1 ml ABTS^+ -t tartalmazott, a minták abszorbanciáját spektrofotométer (Fluostar Optima) segítségével mértük 734 nm hullámhosszon. Az antioxidáns vizsgálatok elvégzésében a Nagyváradi Egyetem munkatársai voltak segítségemre.

3.2.5. A gyógynövény hatásainak vizsgálata

Liofilizátum antimikrobiális hatásának vizsgálata mikrodilúcióval

A *P. coronarius* levelének és virágának antifungális és antibakteriális aktivitását mikrodilúcióval teszteltük *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* fajokon. 96 lyukú plate-re pipettáztam fungális vagy bakteriális inokolumot (100 μl), ehhez 100 μl tesztoldatot adtunk. A minták a liofilizált *P. coronarius* levélből vagy virágból készültek RPMI-1640 illetve Mueller-Hinton tápoldatban oldva, majd 0,2 μm -es szűrőn átszűrtük. A tesztoldatokkal 24 órán

át, 37°C-on inkubáltuk a sejteket, majd az oldatok abszorbanciáját spektrofotométerrel (Multiskan Go) 492 nm-en mértük fungális, 600 nm-en bakteriális sejtek esetén. A mikrobiológiai vizsgálatok kivitelezésében az Orvosi Mikrobiológiai Intézet munkatársai voltak segítségemre.

Liofilizátum antimikrobiális hatásának vizsgálata in vitro idő-ölés (time-kill) teszttel

A kísérlet során 5 ml-es tenyésztő csövekben gomba (10^5 sejt/ml) és bakteriális sejtek (10^6 - 10^7 sejt/ml) lettek szélesztve pH=7-es tápfolyadékban (RPMI-1640 ill. Mueller Hinton). *C. albicans* esetében eltávolítottunk 100 µl felülszót előre meghatározott időközönként, majd ezeket 10-szeresen meghígítottuk és 4×30 µl-t Sabouraud dextróz agar táptalajra pipettáztuk. Ezt követően 48 órán át inkubáltuk 35°C-on. *S. aureus* és *E. coli* baktériumok esetében ugyanezzel a módszerrel kerültek a minták szélesztésre Mueller-Hinton táptalajra, majd azonos körülmények között, azonos ideig inkubáltuk őket. Az inkubációt követően az oldatok abszorbanciáját Multiskan Go spektrofotométerrel mértük. A mikrobiológiai vizsgálatok kivitelezésében az Orvosi Mikrobiológiai Intézet munkatársai voltak segítségemre.

Liofilizátum gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata ELISA segítségével

A kísérlethez előzetesen HaCaT sejteket szélesztettem 96 lyukú plate-re és egy hétig növekedni hagytam őket. A fáradt médiumot eltávolítottam a sejtek felszínéről, majd a tesztoldatokkal 1 órán át inkubáltam őket. A tesztoldatokat 1 óra elteltével eltávolítottam, majd lyukanként 50-50 µl IL-1β-át és TNFα-át adtam a sejtekhez, melyekkel 24 órán át inkubáltam. Másnap a felülszót eltávolítottam és a gyártó utasításainak megfelelően elvégeztem a vizsgálatot. Az oldatok abszorbanciáját (Fluostar Optima) spektrofotométerrel mértem 235 nm hullámhosszon.

4. Eredmények

4.1. Segédanyagok biokompatibilitási vizsgálata

A segédanyagok citotoxicitását HaCaT sejtvonalon teszteltem. A sejtleletképesseget a negatív kontrollhoz (PBS) hasonlítottam. A vizsgálat során pozitív kontrollt, Triton-X 100-at is használtam, annak érdekében, hogy meggyőződjek arról, a teszt megfelelően működik-e.

A **cukorészterekből** 1% és 3% koncentrációjú oldatot készítettem PBS-sel. A vizsgált koncentráció tartományban a cukorészterek biztonságosan alkalmazhatónak bizonyultak, a legjobb sejtleletképessegi értéket az 1% SP50 cukorésztert tartalmazó minta produkálta, de az életképessege minden minta esetében 70% fölé van, mely az ISO (10993-5) szabvány előírásának megfelel.

A **Transcutol** citotoxicitásának vizsgálatához különböző koncentrációjú oldatokat készítettem PBS-sel. Az alkalmazott koncentrációban a vizsgált minták nem bizonyultak toxikusnak, az életképessege 70% fölé minden minta esetében. A koncentráció növekedésével a sejtleletképessegi értékek csökkenése figyelhető meg.

A **Labrasol** citotoxicitási vizsgálatában a sejtleletképessegi értékek 70% fölé vannak, 0,10%-os koncentrációban 72%. A kísérlethez hígítási sort készítettem a tenzidből PBS segítségével. A koncentráció növelésével az anyag citotoxicitása növekvő tendenciát mutat.

A **Cremophor A6:A25** MTT tesztjéhez a segédanyagot különböző koncentrációkban vizsgáltam, a kapott eredmények alapján a koncentráció növelésével a citotoxicitás növekszik. A kenőcs formulálásához alkalmazott 3% még a 70% feletti sejtleletképesseget eredményez, 5%-ban alkalmazva azonban már a 70% sejtleletképessegi határt nem éri el.

A **Tefose 63** felületaktív anyag esetében a sejtkárosító hatás kisebb mértékű, mint az előző esetben. A vizsgált koncentrációtartományban a segédanyag biztonságosan alkalmazható, hiszen a sejtleletképessege minden esetben 70% fölé van, még 5%-os koncentrációban is a sejteknek 85%-os volt a túlélési aránya.

A **Sedefos 75**-tel történő MTT teszt során a segédanyag biztonságosnak bizonyult az összes vizsgált koncentrációban, hiszen a sejtek túlélési aránya 70% fölé minden esetben.

4.2. Kenőcs formulálás

A kenőcsök formulálása során összesen 11 összetételt készítettem, melyből 5 BGP-15-öt, 3 liofilezett *P. coronarius* levél extraktumot, további 3 pedig liofilezett *P. coronarius* virág extraktumot tartalmazott. Az emulgensek változtatásával további összetételeket hoztam létre.

4.3. BGP-15 tartalmú kenőcsök textúra analízise

A formulált készítmények textúráját a Brookfield CT3 Textúra Analizáló készülék segítségével vizsgáltam meg. A textúra kvantitatív jellemzésére a maximális kompressziós erőt mértük, mely ahhoz volt szükséges, hogy a cylinder behatoljon a kenőcsbe. A vizsgálatban a Labrasolt tartalmazó összetétel (I. összetétel) mutatta a leglágyabb konzisztenciát, míg az SP50-et tartalmazó formuláció (III. összetétel) a volt legellenállóbb.

4.4. *In vitro* hatóanyag felszabadulás

A kenőcsökből történő hatóanyag felszabadulást Franz diffúziós cella segítségével vizsgáltuk. A BGP-15-öt tartalmazó formulációk esetében a cukorészterekkel formulált összetételek (III; IV; V.) érték el a legjobb hatóanyag felszabadulást, ezek közül is az SP50 tartalmú formuláció (III. összetétel). A *P. coronarius* tartalmú kenőcsök közül a legjobb hatóanyag felszabadulás a Tefose 63 és az SP70 tartalmú készítmények (VII; IX; X.) esetében volt megfigyelhető. A készítményekből történő hatóanyag felszabadulást különbözőség szempontjából is elemeztük. Két formuláció különböző, ha különbözőségi faktoruk (f_1) 0-15 között van. Ez alapján a III. és V. összetételek különbözőek.

4.5. Készítmény citotoxicitásának vizsgálata MTT teszttel

A kenőcsök citotoxicitásának vizsgálatához Franz diffúziós cellából, 6 órán át tartó inkubációt követően vettünk mintát, ahol a kioldóközeg pH=5,5 kémhatású puffer volt. Az eredmények alapján ebben az esetben is elmondható, hogy a kenőcsök biztonságosan alkalmazhatóak, a sejtelétkéesség 70% fölött van az összes tesztoldat esetében. A legjobb túlélési arányt az SP50 cukorésztert tartalmazó, III. összetétel produkálta.

4.6. Luciferáz vizsgálat

A BGP-15 gyulladáscsökkentő hatása, valamint annak útvonalát egér makrofágokból származó Raw264.7 sejteken került vizsgálatra. A kísérlet során azt teszteltem, hogy a BGP-15 az LPS-sel indukált sejtekben képes-e mérsékelni az NF- κ B útvonal aktiválódását és a gyulladás kialakulását. A hatóanyagot különböző koncentrációkban adtuk a sejtekhez, (1 μ M, 10 μ M, 100 μ M) önmagában, valamint a kenőcsösszetételekben alkalmazott emulgensekkel kombinálva. A mért lumineszcencia arányos volt az NF- κ B transzkripciós faktorának aktivitásával. Az

eredmények azt mutatják, hogy a BGP-15 bármelyik koncentrációjával történő kezelés nem volt képes a makrofágok LPS indukálta NF- κ B válaszát szignifikánsan mérsékelni vagy gátolni.

4.7. BGP-15 tartalmú kenőcsök gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata *in vivo*

A kísérlet során azokat a BGP-15 tartalmú összetételeket teszteltem állatokon, melyekben az emulgens cukorészter volt, mivel a diffúziós vizsgálat során ezek produkálták a legjobb eredményeket. A kísérletben emellett hatóanyag nélküli kenőcsöket, a gyulladáskeltő anyagot (AITC) önmagában, valamint a BGP-15 vizes oldatát (10 $\text{m}/\text{m}\%$) is vizsgáltam. A hatóanyagot tartalmazó készítmények esetében (III; IV; V. összetétel) a fülvastagság szignifikánsan kisebb összehasonlítva az alapkenőccsel, a BGP-15 oldattal, vagy magával a gyulladáskeltő anyaggal. A legjobb eredményt a IV. összetétellel, az SP70-et tartalmazó formulációval sikerült elérni.

4.8. BGP-15 antioxidáns hatásának vizsgálata

A BGP-15 esetleges antioxidáns hatását két módszerrel teszteltem, *in vitro* SOD aktivitást, valamint *in vivo* össz-antioxidáns kapacitást (TAC) elemeztem.

A SOD tesztet HaCaT sejtvonalon végeztem, a sejteket különböző koncentrációjú BGP-15 oldatokkal előkezelve. Az UV sugárzás hatására a sejtek SOD aktivitása szignifikánsan lecsökkent a PBS-sel kezelt csoportban, csakúgy, mint a BGP-15 bármelyik koncentrációjával előkezelt csoportoknál. A SOD enzim csökkent szintje az UV-B sugárzás okozta intenzív oxidatív stressz. A sejtek BGP-15-tel történő előkezelése nem tudta megelőzni vagy mérsékelni a SOD enzim csökkenését.

Az össz-antioxidáns kapacitás vizsgálatokor 20 hetes, előzőleg szőrtelenített patkányokat kezeltem BGP-15 tartalmú kenőcsökkel, valamint mindhárom készítmény hatóanyagmentes változatával. A kísérlet során egyik kenőcsösszetétel sem mutatott szignifikáns változást az hatóanyagmentes kenőcsökhöz hasonlítva, bár az V. összetételnél (PS750 tartalmú) kezdetben megfigyelhető volt a csökkenő tendencia, az eredmények ebben az esetben sem voltak szignifikánsan különbözőek.

4.9. A *P. coronarius* bioaktív komponensek meghatározásának eredménye

Az extraktumok bioaktív vegyülettartalmának meghatározása HPLC segítségével történt. A *P. coronarius* levél nagy mennyiségben tartalmaz delphinidin 3-rutinozid kloridot (0,3354 mg/100 mg), luteolin 7-glükozidot (0,2528 mg/100 mg) és 7-metoxikumarint (0,2061 mg/100 mg) a többi komponenshez viszonyítva. A *P. coronarius* virág nagy mennyiségben tartalmaz bergaptent (2,8370 mg/100 mg), valamint kávéssavat (1,8407 mg/100 mg), delphinidin-3-

rutinozid-kloridot (1,7928 mg/100 mg), 7-metoxikumarint (1,6725 mg/100 mg). A virág sokkal nagyobb mennyiségben tartalmazza a delfinidin-3-rutinozid-kloridot és 7-metoxi-kumarint, mint a levél.

4.10. A *P. coronarius* antioxidáns vizsgálata

A vizsgálatok során a növény virága szignifikánsan jobb antioxidáns kapacitást mutatott ABTS ($p \leq 0,0241$) és Cuprac módszerrel ($p \leq 0,0093$), azonban a DPPH és FRAP módszerekkel nem tapasztalható szignifikáns különbség. A kísérlet során három párhuzamos mérés lett elvégezve.

4.11. Liofilizátum antimikrobiális hatásának vizsgálata mikrodilúcióval és time-kill módszerrel

A *P. coronarius* levél és virág antimikrobiális potenciáljának vizsgálatára mikrodilúciós és time-kill módszerrel antimikrobiális vizsgálatokat végeztem.

A mikrodilúciós vizsgálatban a virág képes volt csökkenteni az *E. coli* életképességét 46,4%-ra. A levél esetében a *S. aureus* sejtéletképességét 68,6%-ra, az *E. coli* 41,5%-ra csökkentette. Ezekben a kísérletekben sem a *P. coronarius* virága, sem a levele nem gátolta a *C. albicans* vagy a *P. aeruginosa* életképességét.

A time-kill teszt során a *C. albicans* és *S. aureus* esetében a *P. coronarius* levél lassította a mikroorganizmusok szaporodását, *E. coli* esetében azonban mind a virág, mind a levél hatástalannak bizonyult. A mintáink ölü aktivitást nem mutattak, csupán korlátozott mértékben tudták lassítani a mikroorganizmusok szaporodását.

4.12. Liofilizátum gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata

A *P. coronarius* levelének és virágának IL-4-re kifejtett hatását ELISA segítségével vizsgáltam HaCaT sejtvonalon. A vizsgálat során negatív kontrollként PBS-t alkalmaztam, a kiértékelés során a PBS által produkált eredményeket vettem 100%-nak és ehhez hasonlítottam a többi értéket, százalékban kifejezve. A levéllel és virággal történő előkezelés nem csökkentette szignifikánsan a sejtek IL-4 termelését sem 1, sem 3, sem pedig 5% koncentrációban.

4.13. In vitro hatóanyag felszabadulás vizsgálata

A kenőcsökből történő hatóanyag felszabadulást Franz diffúziós cella segítségével vizsgáltam. A *P. coronarius* tartalmú kenőcsök közül a legjobb hatóanyag felszabadulás a Tefose 63 és az SP70 tartalmú készítmények (VII; IX; X.) esetében volt megfigyelhető. A készítményekből történő hatóanyag felszabadulást különbözőség szempontjából is elemeztük. Két formuláció különböző, ha különbözőségi faktoruk (f_1) 0-15 között van. Ez alapján a VI. és VII.; VI. és IX.; VI. és X.; VII. és IX.; VIII. és XI.; IX és X; X és XI. összetételek különbözőek.

4.14. *P. coronarius* tartalmú összetételek textúra analízise

A formulált készítmények textúráját a Brookfield CT3 Textúra Analizáló készülék segítségével vizsgáltam meg. A *P. coronarius*-t tartalmazó kenőcsök vizsgálata során a Tefose 63-at tartalmazókhöz (VII; X. összetétel) volt szükség a legnagyobb kompressziós erőre, míg a leglágyabb textúrája a Sedefos 75 tartalmú formulációknak volt (VIII; XI. összetétel).

4.15. A *P. coronarius* tartalmú kenőcsösszetételek citotoxicitása

A kenőcsök citotoxicitásának vizsgálatához Franz diffúziós cellából, 6 órán át tartó inkubációt követően vettem mintát, ahol a kioldóközeg pH=5,5 kémhatású puffer volt. Az eredmények alapján ebben az esetben is elmondható, hogy a kenőcsök biztonságosan alkalmazhatóak, a sejtleletkéesség 70% fölött van az összes tesztoldat esetében. A legjobb túlélési arányt az SP50 cukorésztert tartalmazó, III. összetétel produkálta.

5. Megbeszélés

5.1. A BGP-15-tel kapcsolatos kísérletek eredményeinek megbeszélése

Kísérletes munkám első szakaszában különböző O/V típusú emulziós kenőcsöket formuláltam BGP-15 felhasználásával, különböző emulgensek és penetrációfokozó segédanyagok inkorporálásával, majd ezeket a készítményeket gyógyszerforma vizsgálatoknak vetettem alá, mint például a textúra analízis és az *in vitro* hatóanyag felszabadulás. A textúra analízis során bebizonyosodott, hogy a készítmények megfelelő konzisztenciával rendelkeznek, a cukorésztereket tartalmazó készítmények keményebb állagúak. Az *in vitro* hatóanyag felszabadulást Franz diffúziós cella segítségével vizsgálatam, majd ennek eredménye alapján került kiválasztásra az a három összetétel (III;IV;V. összetétel) amelyek a legjobb hatóanyag felszabadulási profilt mutatták további kutatások elvégzése céljából.

A fent említett kísérletekkel párhuzamosan a kenőcsök és a kiválasztott segédanyagok biokompatibilitási vizsgálata zajlott. Az MTT teszt során az összetételekhez kiválasztott segédanyagok az alkalmazott koncentráció tartományban és a formulációk is biztonságosan alkalmazhatóak, jól tolerálhatók voltak.

A BGP-15 kenőcsök gyulladáscsökkentő hatását C57BL/6J egereken vizsgáltam fülödéma tesztel. Az egerek fülét a BGP-15 tartalmú kenőcsökkel, hatóanyagmentes kenőcsökkel, illetve BGP-15 vizes oldattal premedikáltam. A kísérlet során a hatóanyagot tartalmazó kenőcsök jelentősen csökkentették vagy megakadályozták a gyulladás kialakulását, míg azokban az esetekben, amikor az állatokat olyan készítményekkel kezeltem, amelyek nem tartalmaztak BGP-15-öt, a gyulladás szinte ugyanolyan mértékben indukálódott, mint amikor a fület csak a pozitív kontrollal (gyulladáskeltő szerrel (AITC)) kezeltem. A legjobb eredményt a IV. összetétel, az SP70-et tartalmazó formuláció érte el. Ebből arra következtethetünk, hogy a BGP-15 kenőcs formájában az előkezelés során penetrálni tudott az állat bőrébe, megakadályozva a lokális gyulladás kialakulását. Ezzel szemben vizes oldat formájában nem tudott a bőrbe penetrálni, így ott a gyulladás kialakult.

A BGP-15 antioxidáns tulajdonságait - mint a gyulladáscsökkentő hatás lehetséges magyarázatát - HaCaT sejtvonalon végzett SOD-tesztel vizsgáltam. Az eredmények azt mutatják, hogy a hatóanyag nem volt képes megvédeni a sejteket az UV-sugárzás okozta oxidatív stressztől, a SOD enzim szintje ugyanúgy csökkent, mint abban az esetben, amikor a sejtek csupán PBS-sel voltak kezelve. Az antioxidáns tulajdonság vizsgálatát a teljes antioxidáns kapacitás meghatározásával (TAC) is kiegészítettük, de szignifikáns változás nem

volt kimutatható egyik összetétel esetében sem. Eredményeink hasonlóak Sümegi és munkatársainak eredményeihez, akik más módszerekkel próbálták vizsgálni a hatóanyag esetleges antioxidáns hatását, de ők is arra a következtetésre jutottak, hogy a hatóanyag, bár gátolja a mitokondriális ROS-termelődést, antioxidáns hatással nem rendelkezik.

A BGP-15 gyulladáscsökkentő hatásának másik lehetséges magyarázataként luciferáz vizsgálatot végeztünk. A kísérletben a BGP-15 gyulladáscsökkentő hatását Raw 264.7 sejteken vizsgáltuk. A BGP-15 bármelyik koncentrációjával történő kezelés nem volt képes a makrofágok LPS indukálta NF- κ B választ szignifikánsan mérsékelni vagy gátolni, így feltehetően a hatóanyag a gyulladáscsökkentő hatását más útvonalon fejti ki.

Eredményeink megerősítik azokat a feltételezéseket, melyek szerint a BGP-15 lokálisan alkalmazva gyulladáscsökkentő hatással bír, azonban a hatás pontos mechanizmusa továbbra is tisztázatlan, viszont néhány lehetséges magyarázatot ki tudunk zárni. A szakirodalomban a BGP-15 potenciális gyulladáscsökkentő tulajdonságát a farmakon PARP-gátló hatásának tulajdonítják. A PARP-gátlók képesek megvédeni a sejteket a ROS által kiváltott sérülésektől. A sejtek ROS-termelése gyulladásos folyamatokat képes indukálni. Ezen túlmenően a BGP-15 képes megvédeni a mitokondriumokat a ROS által kiváltott károsodásoktól azáltal, hogy csökkenti a mitokondriális ROS-termelést.

A kenőcsök összetételének meghatározásakor igyekeztünk olyan készítményeket létrehozni, amelyek a legmegfelelőbb segédanyagokat tartalmazzák a BGP-15 lehető legjobb biohasznosulásának elérése érdekében. A szakirodalom alapján a cukorészterek (SP50, SP70, PS750) és a Transcutol jó penetrációfokozó tulajdonságuk révén képesek számos hatóanyag hatásának fokozására. A Cremophor és származékai azonban nem bizonyultak a legjobb választásnak, Malingré és munkatársai a paclitaxelt vizsgálták, és arra a következtetésre jutottak kísérleteik alapján, hogy a Cremophor használata korlátozta a hatóanyag felszívódását. A mi tapasztalataink hasonlóak voltak, a Franz diffúziós vizsgálatban a II. összetétel (amely Cremophort tartalmaz) produkálta a legrosszabb eredményeket. A Labrasol és az IPM előnyös kombináció lehet, mivel Okur és munkatársai azt találták, hogy növelheti a naproxen permeációs sebességét a bőrön keresztüli gyógyszerbevitelben. Azonban a Labrasol sem bizonyul mindig a megfelelő felületaktív anyagnak. Shafiq és munkatársai tanulmányukban a ramiprilt vizsgálták, és arra a következtetésre jutottak, hogy a Labrasol nem megfelelő felületaktív anyag a gyógyszerfelszívódás fokozására. Esetünkben a cukorészterek és a Transcutol kombinációja bizonyult a legjobb választásnak a Franz-diffúziós eredmények alapján, és ezek a készítmények az állatkísérletben is figyelemre méltó eredményeket értek el.

5.2. A közönséges jezsámmel kapcsolatos kísérletek eredményeinek megbeszélése

Kísérleti munkám második szakaszában a *Philadelphus coronarius* L., magyar nevén közönséges jezsáment, a tudományosan kevésbé tanulmányozott gyógynövényt vizsgáltam. Újdonságként a növény levelét és virágát is felhasználtam kutatásomban, melyekből kivonat készült, majd liofilizált extraktum, melynek lehetséges hatásait vizsgáltam. Mindemellett az antioxidáns kapacitás különböző módszerekkel került tanulmányozásra, és a gyógynövényből különböző kenőcsösszetételeket fejlesztettem.

A természetes eredetű készítmények esetében a meghatározott hatóanyagtartalom, a stabilitás és a könnyű feldolgozhatóság fontos szempont. E célból liofilizált terméket állítottunk elő a kivonatokból, hiszen ebben a formában a hatóanyagok stabilabbak és könnyen feldolgozhatók.

Vizsgálatunk részeként a *P. coronarius* levelének és virágának antioxidáns aktivitását, valamint a teljes polifenol- és flavonoid tartalmát is meghatároztuk. A polifenolok fontos metabolitok, erős antioxidánsok, amelyek képesek megvédeni az UV-sugárzástól, és gyulladáscsökkentő hatásuk is van. A flavonoidok antimikrobiális hatóanyagként, antioxidánsként ismertek és gyulladáscsökkentő hatással is bírnak. A vizsgálatainkban a *P. coronarius* virága szignifikánsan jobb antioxidáns kapacitást mutatott ABTS és CUPRAC vizsgálatokkal, azonban a DPPH és FRAP módszerekkel nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. Csak az ABTS és CUPRAC vizsgálat eredményei különböztek szignifikánsan a levél és a virág esetében, ennek fő oka feltehetően az, hogy a virágból több bioaktív komponens volt azonosítható, mint a levélből. A galluszsav és a kvercetin két jól ismert, kiváló és erős antioxidáns vegyület, védelmet nyújtanak az oxidatív stresszel szemben. Ez a két vegyület csak a virágban volt kimutatható, ami megmagyarázza a jobb antioxidáns kapacitást. A különböző antioxidáns aktivitást meghatározó módszerek különböző mechanizmusokon alapulnak és eltérő érzékenységgel rendelkeznek, ami megmagyarázza, hogy miért nem kaptunk szignifikánsan különböző eredményeket a levél és a virág antioxidáns kapacitása között minden módszerrel. Ezért ajánlott az antioxidáns kapacitást különböző módszerekkel vizsgálni.

A szakirodalomban fellelhető információk alapján a *P. coronarius* antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkezik. Kísérletsorozatunkban a liofilizált virág és levél kivonat antibakteriális tulajdonságait vizsgáltuk, kiegészítve antifungális hatásának vizsgálatával. A mikrodilúciós kísérletünkben a virág csökkentette az *E. coli* életképességét, a levél pedig a *S. aureus* és az *E. coli* sejtek életképességét. További, pontosabb információkért az antimikrobiális vizsgálatokat *in vitro* time kill teszttel egészítettük ki, ahol a levél és a virág

hatását monitoroztuk a mikrobák növekedésére az időben. A *S. aureus* és a *C. albicans* növekedését a levél késleltette, míg a virág nem eredményezett semmilyen változást. Ezek az eredmények azonban nincsenek összhangban a mikrodilúció során tapasztaltakkal. A két módszer közül a time kill tesztet pontosabbnak tartják, mivel az időt, mint fontos tényezőt is figyelembe veszi a kísérlet során.

A liofilizált kivonatok gyulladáscsökkentő hatását HaCaT sejteken vizsgáltuk. Az eredmények azt mutatják, hogy sem a virággal, sem a levéllel történő előkezelés nem csökkentette szignifikánsan az IL-4 szintjét, annak ellenére, hogy a Hydrangeaceae fajok gyulladáscsökkentő hatását már korábban is tesztelték. Dilshara és munkatársai azt vizsgálták, hogy a *H. macrophylla* levél kivonatának van-e gyulladáscsökkentő hatása. Megfigyelték, hogy a kivonat elnyomta néhány pro-inflammatorikus citokin pl. NO expresszióját. PGE₂, TNF α . Továbbá Nakamura és munkatársai megállapították, hogy a *H. macrophylla* csökkentette az IL-6 mRNS expresszióját.

A kenőcs összetételek meghatározásakor a segédanyagokat úgy választottuk ki, hogy a hatóanyagok legjobb potenciális biológiai hasznosulását érjük el. Csizmazia és munkatársai publikációja szerint a cukorészterek, mint például az SP70, képesek fokozni a hatóanyagok pl. az ibuprofén penetrációját és hatását.

Hasonló információk lelhetők fel a Tefose 63-mal kapcsolatban is, Abd-Elsalam és munkatársai vizsgálatában a Tefose 63 javította a vorikonazol biológiai hozzáférhetőségét és hatását. Ezt a mi *in vitro* hatóanyag felszabadulási vizsgálataink is megerősítették. A IX. összetétel (SP70) produkálta a legjobb eredményeket, amelyet szorosan követett a VII; X (Tefose 63) és VI. összetétel (SP70). A legalacsonyabb felszabadulási ráta a VIII. és XI. összetételhez (Sedefos 75) tartozik. Azok a készítmények, amelyek emulgensként Tefose 63-at vagy SP70-et tartalmaztak, végül jobb hatóanyag felszabadulási profillal rendelkeztek, ami a hatóanyagok jobb biohasznosulásához vezethet.

A felületaktív anyagok és penetrációfokozók alkalmazása befolyásolhatja a különböző topikális készítmények biokompatibilitását, ezért a készítmény biztonságosságát minden esetben ellenőrizni kell. A citotoxicitási vizsgálatokat MTT tesztel végeztem el. Az eredmények alapján a *P. coronarius* levele és virága, valamint a kenőcs összetételek biztonságosak voltak. A sejtek életképességének értéke minden esetben 70% feletti volt, ami megfelel az ISO 10993-5 ajánlásoknak.

A kenőcsök esetében a textúra fontos tényező a beteg együttműködés compliance szempontjából. Ezt figyelembe véve O/V emulziós típusú kenőcsöt választottunk gyógyszerformának, mivel ez népszerű és kedvelt a betegek körében a lágyabb konzisztenciája miatt, valamint azért mert felkenés után nem hagy zsíros foltot. A textúra analízis során a VII. és X. összetétel bizonyult a legkeményebb állagúnak (mindkettő Tefose 63-at tartalmazott), míg a VIII. és XI. összetétel volt a leglágyabb (mindkettő Sedefos 75-öt tartalmazott), de minden összetétel könnyen kenhető és alkalmazható volt.

5.3. Új tudományos eredmények összefoglalása

A kísérletes munkám során elért, új tudományos eredmények:

- A BGP-15-ből O/V típusú emulziós kenőcsöket formuláltam, az összetételek közül a cukorészter tartalmúak bizonyultak hatóanyag leadás szempontjából a legjobbnak, melyet a Franz diffúziós vizsgálat és az állatkísérlet is alátámaszt
- A formuláció során felhasznált segédanyagok citotoxicitásának vizsgálatával igazoltam azok biztonságosságát, mely az ISO 10993-5 ajánlásainak megfelel
- A BGP-15 kenőcsök gyulladáscsökkentő hatását *in vivo* állatkísérletben igazoltam
- A *Philadelphus coronarius* gyógynövény leveléből és virágából liofilezett extraktumot készítettünk, a jobb feldolgozhatóság és stabilitás érdekében, ez egyedülálló a növényrel kapcsolatos szakirodalomban
- A növény levelének és virágának komponenseit azonosítottuk, hatóanyagtartalmát meghatároztuk
- A gyógynövény antioxidáns kapacitását megvizsgáltuk, melynek során kiderült, hogy a virág jobb antioxidáns tulajdonságokkal bír, mint a levél, ezt a CUPRAC és az ABTS antioxidáns teszt is alátámasztja
- A liofilizált extraktumok antimikrobiális hatásának vizsgálata során a levél lassította a *C. albicans* és *S. aureus* szaporodását
- A liofilizált extraktumok felhasználásával O/V típusú emulziós kenőcsök formuláltam, melyek közül a legjobbnak a cukorészter SP70 és a Tefose 63 tartalmú bizonyult, ezt Franz diffúziós vizsgálat alátámasztja
- A formuláláshoz felhasznált segédanyagok és a készítmények citotoxicitásának vizsgálatával igazoltam azok biztonságosságát, mely megfelel az ISO 10993-5 ajánlásának

6. Összefoglalás

Kísérletes munkám során két, eltérő természetű hatóanyagot választottam kutatásom témájához, egy jelenleg klinikai vizsgálat alatt álló gyógyszerjelölt farmakont, a BGP-15-öt és a gyógynövényt, a tudományos körökben kevésbé vizsgált, ám a népgyógyászatban előszeretettel alkalmazott *Philadelphus coronariust*, a közönséges jezsáment. A kutatásom során mindkét hatóanyagból O/V típusú emulziós kenőcsöket formuláltam és a megfelelő biohasznosulás elérése érdekében különböző emulgenseket és penetrációfokozó segédanyagokat adtam az összetételekhez. A biokompatibilitást, a segédanyagok és a készítmények biztonságos alkalmazhatóságát -mely a megfelelő beteg compliance egyik fontos szempontja- vizsgálva kerültek az kenőcsösszetételek meghatározásra.

A hatóanyagok hatásainak vizsgálatára is nagy hangsúlyt fektettem, hiszen nagy újdonságértékkel bírnak. A BGP-15 hatásai jelenleg is intenzív kutatások tárgyát képezik. A jezsámmal kapcsolatban ugyan a népgyógyászat révén rendelkezésre állnak tapasztalati úton szerzett információk, ám ezek tudományos megalapozottsága sok esetben hiányos.

A BGP-15-tel kapcsolatos kutatásom során a farmakonból kenőcsöket formuláltam, majd ezeket a kenőcsöket különböző vizsgálatoknak vettem alá: textúra analízis, Franz diffúziós vizsgálat. A kenőcsökből több változatot formuláltam az emulgensek változtatásával. A textúra analízis során a legkeményebb konzisztenciát az SP70 tartalmú formuláció mutatta, míg a leglágyabbat a Labrasol tartalmú. A Franz diffúziós vizsgálat során a legjobb hatóanyag felszabadulási profilja a cukorészter tartalmú (SP50, SP70, PS750) készítményeknek volt, így a kutatást ezekkel az összetételekkel folytattam. A biokompatibilitási vizsgálatok a felhasznált segédanyagok és a kenőcsösszetételek biztonságosan alkalmazhatónak bizonyultak. A BGP-15 gyulladáscsökkentő hatását *in vivo* állatkísérletben igazoltam, melynek során egereken végeztem fülödéma tesztet. A vizsgálat során a BGP-15-öt tartalmazó kenőcsök szignifikánsan csökkentették a fülvastagságot, azaz gátolták lokális gyulladás kialakulását. A farmakon hatásmechanizmusára vonatkozóan luciferáz vizsgálatot végeztünk, melynek eredménye arra engedett következtetni, hogy a BGP-15 nem gátolja az NF- κ B útvonalat, más módon fejti ki hatását. Az antioxidáns vizsgálatok során a BGP-15 nem mutatott antioxidáns tulajdonságokat.

A *Philadelphus coronariussal* kapcsolatos kísérleteim során a növény leveléből és virágából kivonat, majd liofilezett termék került előállításra. A kivonatok komponenseit azonosítottuk, a hatóanyagtartalmat meghatároztuk. Az antioxidáns kapacitást több teszttel is vizsgáltuk, melynek során igazoltuk, hogy a gyógynövény virága jobb antioxidáns aktivitással bír, mint a

levele. Az antimikrobiális vizsgálatban bizonyítottuk, hogy a liofilizált levél extraktum a *C. albicans* és a *S. aureus* szaporodását lassította. Az ELISA teszt során sem a levél, sem a virág nem csökkentette a gyulladt sejtek IL-4 expresszióját, így a gyulladáscsökkentő hatást kizártuk. A liofilizált extraktumok felhasználásával különböző O/V típusú emulziós kenőcsöket formuláltam és gyógyszerforma vizsgálatokat végeztem. A textúra analízis során a legkeményebb konzisztenciája a Tefose 63-at, míg a leglágyabb textúrája a Sedefos 75 tartalmú formulációknak volt. A Franz diffúziós vizsgálat során a legjobb hatóanyag felszabadulási profilja az SP70 és Tefose 63 tartalmú készítményeknek volt. A biokompatibilitási vizsgálatok során a felhasznált segédanyagok és a kenőcsösszetételek biztonságosan alkalmazhatónak bizonyultak.

7. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék hálás köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Bácskay Ildikónak, önzetlen segítségéért, támogatásáért, áldozatos munkájáért, a szakmai iránymutatásáért és példamutatásáért az élet minden területén.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Vecsernyés Miklós Dékán Úrnak, hogy lehetőségét biztosította kutatásaim elvégzésére a Gyógyszertechnológiai Tanszéken.

Hálával tartozom Dr. Kósa Dórának a hosszú évek óta tartó hű barátságáért, szeretetéért és rendületlen támogatásáért. Köszönöm továbbá Dr. Haimhoffer Ádámnak baráti támogatását.

Hálásan köszönöm kollégáimnak, a Gyógyszertechnológiai Tanszék munkatársainak Dr. Fehér Pálmának, Dr. Ujhelyi Zoltánnak, Dr. Fenyvesi Ferencnek, Dr. Váradi Juditnak, Szászné Dr. Réti-Nagy Katalinnak, Dr. Vasvári Gábornak, Dr. Józsa Lizának, Dr. Nemes Dánielnek, Dr. Sinka Dávidnak, Dr. Rusznyák Ágnesnek, Dr. Arany Petrának, Pardi Sándornénak, Horányiné Körei Máriaának, Szilágyi Erikának, Gulyás Évának, hogy segítették munkámat. Köszönöm továbbá Vaszily Máriaának, Lakatos Szilviának, Antalné Sipos Szilviának és Bátoriné Pataki Brigittának a támogatást. Köszönöm Dr. Lekli Istvánnak és Dr. Gyöngyösi Alexandrának a kutatásban nyújtott segítségüket és támogatásukat.

Szeretném megköszönni kutatópartnereimnek és társszerzőimnek a közös munkát, mellyel hozzájárultak kutatásaim sikeréhez és a dolgozatom megírásához. Köszönöm Prof. Dr. Vigh Lászlónak, Dr. Gombos Imrének, Dr. Marton Annamáriaának és Dukic Barbarának a Szegedi Biológiai Központ munkatársainak, Dr. Jurca Tündének és Dr. Pallag Annamáriaának a Nagyvárad Eötvös József Egyetem munkatársainak, továbbá Dr. Szentesi Péternek az Élettani Intézet munkatársának és Dr. Tóth Zoltánnak, az Orvosi Mikrobiológiai Intézet kutatójának a segítséget.

Köszönöm a tutoraimnak, Prof. Dr. Vasas Gábornak és Prof. Dr. Kéki Sándornak a PhD képzésem alatt nyújtott támogatásukat.

Köszönöm Dr. Csoma Eszternek, Prof. Dr. Tósaki Árpádnak és Prof. Dr. Gergely Lajosnak a Doktori Iskoláért végzett fáradhatatlan munkájukat.

Hálával tartozom szerető családomnak a szüntelen támogatásukért. Köszönöm testvéremnek és sógoromnak, Lászlóné Pető Tímeának és László Tamásnak a szeretetet és a támogatást, keresztfiamnak és unokahúgomnak, László Boldizsárnak és László Emmának a feltétel nélküli,

önzetlen szeretetüket és vidámságukat, mellyel a nehéz pillanatokban is felvidítottak. Köszönöm nagymamámnak, Szűcs Józsefnének a szeretetét és féltő gondoskodását. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm drága szüleimnek, hogy egész életem során támogatnak, biztos és nyugodt, szeretetteljes háttérrel biztosítanak nekem és mindig számíthatok rájuk.

8. Támogatás

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

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

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

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

A kísérletes munkát a Richter Gedeon Talentum alapítvány támogatta.



**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/360/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Pető Ágota
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10068515

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Pető, Á.**, Kósa, D., Haimhoffer, Á., Nemes, D., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vecsernyés, M., Váradi, J., Fenyvesi, F., Frum, A., Gligor, F. G., Vicaș, L. G., Marian, E., Jurca, T., Pallag, A., Muresan, M., Tóth, Z., Bácskay, I.: Topical Dosage Formulation of Lyophilized *Philadelphus coronarius* L. Leaf and Flower: antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Assessment of the Plant. *Molecules*. 27 (9), 1-18, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27092652>
IF: 4.927 (2021)
2. **Pető, Á.**, Kósa, D., Haimhoffer, Á., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Sinka, D. Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Gyöngyösi, A., Lekli, I., Szentesi, P., Marton, A., Gombos, I., Dukic, B., Vigh, L., Bácskay, I.: Nicotinic Amidoxime Derivate BGP-15, Topical Dosage Formulation and Anti-Inflammatory Effect. *Pharmaceutics*. 13 (12), 2037, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics13122037>
IF: 6.525





További közlemények

3. Sinka, D. Z., Doma, E., Szendi, N., Páll, J., Kósa, D., **Pető, Á.**, Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Szűcs, Z., Gonda, S., Cziáky, Z., Kiss-Szikszai, A., Vasas, G., Bácskay, I.: Formulation, Characterization and Permeability Studies of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Containing Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS).
Molecules. 27 (9), 2846-, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27092846>
IF: 4.927 (2021)
4. Kósa, D., **Pető, Á.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Budai, I., Németh, J., Fehér, P., Bácskay, I., Ujhelyi, Z.: Oral Bioavailability Enhancement of Melanin Concentrating Hormone, Development and In Vitro Pharmaceutical Assessment of Novel Delivery Systems.
Pharmaceutics. 14 (1), 1-15, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14010009>
IF: 6.525 (2021)
5. Kósa, D., **Pető, Á.**, Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Gonda, S., Vasas, G., Fehér, P., Bácskay, I., Ujhelyi, Z.: Formulation of Novel Liquid Crystal (LC) Formulations with Skin-Permeation-Enhancing Abilities of *Plantago lanceolata* (PL) Extract and Their Assessment on HaCaT Cells.
Molecules. 26 (4), 1-15, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26041023>
IF: 4.927
6. **Pető, Á.**, Kósa, D., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Sinka, D. Z., Vecsernyés, M., Szilvássy, Z., Juhász, B., Csanádi, Z., Vígh, L., Bácskay, I.: Pharmacological Overview of the BGP-15 Chemical Agent as a New Drug Candidate for the Treatment of Symptoms of Metabolic Syndrome.
Molecules. 25 (2), 429-441, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25020429>
IF: 4.411
7. Nemes, D., Ujhelyi, Z., Arany, P., **Pető, Á.**, Fehér, P., Váradi, J., Fenyvesi, F., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: Biocompatibility investigation of different pharmaceutical excipients used in liquid dosage forms.
Pharmazie. 73 (1), 16-18, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1691/ph.2018.7098>
IF: 0.82





**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

8. Nemes, D., Kovács, R. L., Nagy, F., Mező, M., Poczkó, N., Ujhelyi, Z., **Pető, Á.**, Fehér, P.,
Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: Interaction between Different
Pharmaceutical Excipients in Liquid Dosage Forms: assessment of Cytotoxicity and
Antimicrobial Activity.
Molecules. 23 (7), 1-19, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23071827>
IF: 3.06

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 36,122

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
11,452**

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

Debrecen, 2022.07.07.

