



**DEBRECENI  
EGYETEM**

---

**Az orvos-, egészségtudományi- és gyógyszerészképzés tudományos műhelyeinek  
fejlesztése**

**EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009**

**Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola szimpóziuma  
2019. június 18.**

## **ABSZTRAKTOK**

**SZÉCHENYI 2020**

  
MAGYARORSZÁG  
KORMÁNYA

Európai Unió  
Európai Szociális  
Alap



**BEFEKTETÉS A JÖVŐBE**



## **Le Thai Son:**

Synthesis of antibacterial multivalent carbohydrate-antibiotic chimeras with potential affinity for bacterial lectins

*témavezető: Dr. Csávás Magdolna*  
*DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszék*

Lectin is a carbohydrate-binding protein which displays a high binding affinity and specificity for mono- and oligo-saccharides. It is not surprising that lectin plays an important role in many biological and pathological processes such as bacteria-host cell adhesion and biofilm formation. Therefore, by inhibiting the interaction of bacterial lectin with host cell glycoconjugates we can prevent the bacterial colonization and infection.

In our previous work we have synthesized a trivalent fucose-presenting glycocluster with moderate to good inhibitory activity against different fucose-specific bacterial lectins. Our ultimate goal is to synthesize a serie of carbohydrate-antibiotic chimeras with potential affinity for bacterial lectin and improved antibacterial effect.

The trivalent fucoclusters were coupled with various propargylated quinolone antibiotics by click reaction to yield four chimeras. Subsequently, the final products were sent for investigation of lectin-carbohydrate interactions and antibacterial effect. D-galactose containing trivalent glycocluster was also prepared and coupling with fluoroquinolone antibiotics is under progress.

A series of L-fucose-containing compound were also synthesized and the interaction with fuclectins from bacterial and fungal origin was examined.



## **Nguyen Thi Le Phuong:**

Investigation of biological activities of cyclodextrin-chrysin inclusion complexes

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*  
*témavezető: Dr. Váradi Judit*

Chrysin is a poorly soluble bioflavonoid with several biological effect and can be found in several plant extract including also propolis and honey. It has anti-inflammatory, antioxidant and anticancer activity. Our aim was to test the chrysin solubilisation capacity of different  $\beta$ -cyclodextrin derivatives and prepare complexes to examine their biological activity by NF-kappa B pathway, and antioxidant assays such as ORAC assay, SOD assay as well as GPx assay.

Phase-solubility experiments showed, that each cyclodextrin increased the solubility of chrysin, but there were significant differences among the derivatives. SBEB CD, RAMEB and HPBCD were able to effectively solubilize chrysin, while BCD showed limited capacity. MTT test revealed that up to 100  $\mu$ M concentration the examined complexes were not cytotoxic on Caco-2 cells. Investigating the NF- $\kappa$ B inflammatory pathway we found, that the pre-treatment of Caco-2 cells with chrysin-cyclodextrin complexes decreased the TNF- $\alpha$ -induced nuclear translocation of p65.



**Dr. Pham Le Khanh Ha:**

Cytotoxicity investigations of different PEG derivatives

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék  
témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó*

*Introduction and objective:* Polyethylene glycol (PEG) polymers are hydrophilic, water miscible and can solubilize many poorly water - soluble compounds. This compound has variety of applications from chemical manufacturing to medical field, depending on its molecular weight, especially in pharmaceutical industry as an excipient. PEGs are available commercially with wide molecular weight range from 200 to 10.000.000. The aim of this study was to investigate the cytotoxicity of PEG with different molecular weight. My experiments were performed on the Caco-2 human adenocarcinoma cell line by cytotoxicity assays included MTT and neutral red methods. They were implemented with different concentration of various PEG derivatives (based on molecular weight).

*Result:* All of the test compounds showed that they are safe because of their low toxicity results which is evaluated by MTT and NR method.

*Conclusions:* PEG is a good choice for new drug formulation because of its safety. Therefore, PEGylation has become a promising method for the delivery of biopharmaceutical due to its bioavailability improvement.



## Dr. Pető Ágota:

BGP-15 tartalmú gyógyszerhordozó rendszerek formulálása és vizsgálata

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*

*témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó*

A BGP-15 nevű molekula egy - a klinikai II. fázisban lévő- gyógyszerjelölt. A vegyület számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik: hasznos lehet az inzulin rezisztencia kezelésében és a megelőzésben, emellett a Duchenne féle izomdisztrófia terápiájának is hasznos kiegészítése lehet. Jótékony hatással bír a szívre, kemoterápiában adjuvánsként előnyösen alkalmazható, valamint az oxidatív stresszhez kötődő betegségek kezelésében is hatékonyak bizonyult az eddigi vizsgálatok során. Kísérletes munkánkban célul tűztük ki nátrium-alginát mikrogöngyök formulálását, o/v típusú emulziós kenőcsök készítését a hatóanyagból, valamint az ehhez kapcsolódó biokompatibilitási vizsgálatok elvégzését.

A mikrogöngyök formulálása nyitott polimerizációval történik. A göngyöskézés lényege, hogy a kontrollált, lamináris folyadéksugár azonos méretű göngyökre esik szét az optimális frekvenciának köszönhető vibrálástól. A kenőcsök készítése receptúrai méretben történt, a készítés során különböző felületaktív anyagokat adtunk az összetételhez. A kenőcsök formulálását követően a hatóanyag kioldódását Franz diffúziós cella segítségével vizsgáltuk. A Franz-cella egy vertikális, két kompartmentből álló készülék, amely donor és akceptor fázisból áll. A két kompartment között található egy szemipermeábilis membrán, ami a bőrt modellezi. A biokompatibilitási vizsgálatokat MTT teszt segítségével, humán keratinocita HaCaT sejtvonalon végeztük. Az MTT teszt lényege, hogy a tesztoldatokkal történő kezelés után életben maradt sejtek a vízben oldódó, sárga MTT festéket (tetrazolium-bromid) vízzeloldhatatlan, lila formázán kristályokká alakítják.

Az elmúlt tanév során a mikrogöngyök gyártási paramétereit sikeresen optimalizáltuk. A kenőcsökből a hatóanyag felszabadulása megfelelőnek bizonyult, a felhasznált felületaktív anyagok között jelentős különbséget nem tapasztaltunk. A biokompatibilitási kísérletsorozat alapján elmondható, hogy a felhasznált segédanyagok az alkalmazott koncentrációtartományban biztonságosan alkalmazhatóak.



## **Katona Melinda:**

### Új humán polyomavírusok vizsgálata

*DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Csoma Eszter*

A *Polyomaviridae* családon belül 2007 óta 12 új, humánpatogén polyomavírus genomszekvenciát írtak le. Magukat a vírusokat azóta sem izolálták, és bár a kutatások megindultak, az egyes vírusokkal kapcsolatban megjelent közlemények száma még alacsony. Gyakorlatilag alig vagy szinte semmit nem tudunk a legtöbb új polyomavírusról. A legalapvetőbb virológia kérdésekre kell keresnünk a válaszokat: milyen korú, milyen immunstátuszú személyek milyen klinikai mintáiban találjuk meg a vírust, mikor történik a primer fertőzés, mi a behatolási kapu, hol szaporodnak, látenciát alakítanak-e ki, terjednek-e és hogyan a szervezetben; okoznak-e, kikben és milyen klinikai tüneteket. Ezek megválaszolásához különféle klinikai mintákból vírusok jelenlétének vizsgálatát, DNS prevalencia vizsgálatokat kell elvégezni. Emellett a vírusok populációs elterjedését, a primer fertőzés lehetséges időpontját, bizonyos betegségek miatti megnövekedett fogékonyság vizsgálatát szeroprevalencia vizsgálatokkal végezhetjük.

HPyV10 és HPyV11 DNS prevalencia vizsgálatot légúti mintákban, manudla szövetekben végeztünk, aminek eredményeként nem kódoló, kontroll régiót és teljes genomokat is szekvenáltunk.

A szeroprevalencia vizsgálatokhoz a vírus kapszid fő fehérjéjét bakteriális fehérje expressziós rendszerben állítjuk elő. A tisztított, ellenőrzött VP1 fehérjét antigénként felhasználva az ezek ellen termelődött IgG ellenanyagok kimutatását egy újonnan létrehozott, indirekt ELISA módszerrel végezhetjük. A HPyV9, HPyV10 és HPyV11 VP1-et kódoló szekvenciáját kodon optimalizáltuk, 6xHis taggal és restriktációs endonukleáz hasító helyekkel láttuk el. Az inzerteket pTriEx™-4 Neo vektorba klónoztuk, a fehérje expresszióját indukált módon, Origami™ B(DE3) baktériumban végezzük. Az ELISA módszer optimalizálása folyamatban van.

A munka támogatói: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK18, FK128533). Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával készült (Csoma Eszter). Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-4 (Bolyai+) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült (Csoma Eszter).



## Dr. Sinka Dávid Zsolt:

Inzulinrezisztencia kezelésére szánt növényi hatóanyagtartalmú készítmény preformulációs vizsgálata

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*

*témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó*

Az inzulinrezisztencia során a vázizom, a máj és a zsírszövet glükózfelvétele csökken, melyre a szervezet az inzulinszekréció fokozásával reagál, ez pedig a  $\beta$ -sejtek kimerüléséhez vezethet. Ez az állapot a kettes típusú diabétesz és a metabolikus szindróma előszobájának is tekinthető. A WHO 2017-es adatai szerint világszerte minden 11 emberből 1 diabéteszben szenved, ez az arány a prevenció fontosságát hangsúlyozza.

Munkánk során célul tűztük ki az inzulinrezisztencia és a diabétesz kezelésére alkalmas növényi drogok, a görögszénamag és a paprika kivonatainak felszívódási vizsgálatait humán adenokarcinoma sejteken, továbbá különböző, a gyógyszertechnológiában használt penetrációfokozó anyagok abszorpcióra gyakorolt hatásának tanulmányozását. A kivonatok ártalmatlanságát MTT citotoxicitási tesztekkel vizsgáltuk. A kivonatokból önemulgeáló rendszert formuláltunk, melyekkel megismételtük a transzport kísérleteket, végül indirekt kioldódásvizsgálatot végeztünk az önemulgeáló rendszerrel megtöltött kapszulákból.

A sejtes vizsgálatokhoz Caco-2 humán adenokarcinoma sejtvonalat használtunk, amely egy nemzetközileg elfogadott in vitro modell mind a transzport, mind a citotoxicitási kísérletekhez. Az MTT tesztek bizonyították a kivonatok ártalmatlanságát, a transzport kísérletek alapján pedig kijelenthető, hogy a növényi hatóanyagok abszorpcióra kerülnek, ám a felszívódás penetrációfokozó segédanyagokkal tovább növelhető. Az indirekt kioldódásvizsgálat során DPPH reagens segítségével vizsgáltuk a kapszulákból kioldódott növényi hatóanyagok antioxidáns kapacitását, ebből következtetve koncentrációjukra. A kapszulatok anyagának megfelelő megválasztásával egyenletes, nyújtott hatóanyagleadású rendszert tudunk előállítani.



## Balázs Bence:

Törzsváltás *Acinetobacter baumannii* esetében: az egyoldalú antibiotikum használat hatása

DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Kardos Gábor

A Debreceni Egyetem Klinikai Központjában izolált multirezisztens *Acinetobacter baumannii* (MACI) törzsekben a *bla*<sub>OXA-23-like</sub> karbapenemáz volt a domináns gén 2010 és 2014 között. A gént hordozó izolátumok prevalenciája csökkent a 2015/2016-os évben és a *bla*<sub>OXA-40-like</sub> karbapenemáz kódoló izolátumok váltak dominánssá. A Debreceni Egyetem Klinikai Központjában a karbapenem fogyás a négyszeresére nőtt az elmúlt 10 évben, amit túlnyomórészt a meropenem felhasználás növekedése okozott. Hipotézisünk az volt, hogy a törzsváltás hátterében valószínűleg az antibiotikum fogyás mintázata, főképp az egyoldalú karbapenem felhasználás lehet. A törzsváltással egyidőben megjelentek *A. baumannii*-t székletükben tünetmentesen hordozók. A 2010-ben domináns *bla*<sub>OXA-23</sub> (ST2; ST45) hordozókkal szemben a meropenem, time-kill kísérletekben, baktericid hatást mutatott 256-1024 mg/L között ( $k=0,346-0,859$ ) míg a *bla*<sub>OXA-72</sub> (ST636, ST492) hordozóknál ez a hatás elmaradt 256 mg/L-nél ( $k=0,174-0,097$ ), csak 512-1024 mg/L-es koncentráció mutatott cid hatást ( $k=0,156-0,421$ ). Az imipenem ezzel szemben koncentráció független baktericid hatást mutatott 128-1024 mg/L között bármely karbapenemáz hordozása esetén ( $k=0,639-0,1062$ ). A colistin hatása izolátum dependens volt. A ST636 izolátumok biofilm termelése magasabb volt, mint más szekvenciatípusoké ( $p=0,012$ ). 2017 január és április között 24 *A. baumannii* izolátumot azonosítottunk 2042 székletmintából (1,18%). A székletből származó izolátumokban csak az *bla*<sub>OXA-40-like</sub> karbapenemáz géncsalád volt detektálható (70,8%; 17/24), *bla*<sub>OXA-23-like</sub> gént nem találtunk. Az ugyanebben az időszakban gyűjtött klinikai izolátumok esetén a *bla*<sub>OXA-40-like</sub> gén előfordulási aránya 92,3% (60/65) volt, míg a *bla*<sub>OXA-23-like</sub> géne 18,5% (12/65). A meropenem rezisztenciában tapasztalt különbség hozzájárulhatott a *bla*<sub>OXA-72</sub> termelő törzsek elterjedéséhez. Ezt segíthette a ST636 törzs nagyobb biofilm termelő képessége is. Ez a különbség imipenem esetében nem volt kimutatható, kiemelve ezzel az egyoldalú antibiotikum használat veszélyeit. A széklet izolátumokban detektált *bla*<sub>OXA-40-like</sub> gének előfordulása és a *bla*<sub>OXA-23-like</sub> gén hiánya felveti, hogy az új törzsek esetében a betegek mikrobiótája rezervoárként szerepelhet.





## Dr. Nemes Dániel:

### Szorbátok biokompatibilitási és antimikrobiális vizsgálata

DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék

témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó

Bevezető: Habár a tartósítószer az egyik leggyakrabban alkalmazott segédanyagcsoport az élelmiszer-, kozmetikai-, és gyógyszeriparban, ezen vegyületek körében az elmúlt évtizedekben minimális hatóanyagfejlesztés illetve kutatás történt, gyakorlatilag évtizedek óta azonos vegyületeket alkalmaznak a gyártók. Ugyanakkor, az egyre szigorodó szabályozások és a legújabb tudományos kutatások eredményei alapján az alkalmazott vegyületek több hátrányos tulajdonsága is napvilágra került. Lehetséges új tartósítószer csoportot jelentenek a szorbátok észterei, azonban ezekről csupán minimális információ áll rendelkezésre a szakirodalomban.

Célkitűzés: A kutatás célja volt a szorbinsav, a kálium-szorbát biokompatibilitási és antimikrobiális tulajdonságainak összehasonlítása az etil-szorbáttal és az izopropil-szorbáttal. Vizsgálatainkat Caco-2 humán adenocarcinóma sejtvonalon életképességi vizsgálatokkal és *Galleria mellonella* lárva befecskenedéssel, valamint referencia baktérium és gombatörzseken time-kill módszerrel végeztük.

Eredmények: Az összes vizsgált vegyület elfogadható vagy minimális toxicitást mutatott a kísérletek során, mind az *in vitro*, mind az *in vivo* tesztek során. A felhasznált mikrobák eltérő érzékenységet mutattak a vegyületekkel szemben, ugyanakkor az izopropil-szorbát kiemelkedő hatékonyságot mutatott a többi vegyülettel összehasonlítva.

Konklúzió: Az izopropil-szorbát kiemelkedő antimikrobiális tulajdonságot mutatott a többi szorbáttal összehasonlítva. Eredményeink azt mutatják, hogy az észter-származékok nem szenvednek hatásvesztést az észterkötés megléte miatt, így az ilyen irányú további kutatások további ígéretes vegyületek kifejlesztésével kecsegtetnek.



## Nagy Fruzsina:

Echinocandinok és a farnesol kombinációjának *in vitro* vizsgálata *Candida auris* biofilmek ellen

DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Kovács Renátó

Bevezetés: A *Candida auris*-t bár 2009-ben izolálták először, a prevalenciája rohamosan növekvő tendenciát mutat világszerte. A törzsek jelentős része multidrog rezisztens, mely igencsak komoly aggodalomra ad okot a *C. auris* infekciók terápiáját illetően. A farnesol egy gomba eredetű quorum-sensing molekula, mely kulcsfontosságú szerepet játszik a *Candida albicans* biofilmképződésének szabályozásában, továbbá biofilmellenes aktivitással bír számos *Candida* species esetében.

Célkitűzés: Tekintettel a farnesol jól dokumentált gátló hatására kísérleteink során célul tűztük ki az echinocandinok (micafungin, caspofungin, anidulafungin) aktivitásának fokozását exogén farnesol hozzáadásával, *C. auris* biofilmek ellen.

Eredmények: A vizsgált *C. auris* biofilmek esetében az önmagában mért micafungin, caspofungin és anidulafungin iránti medián MIC értékek 64-szeres; 64-128-szoros, és 64-128-szoros csökkenést mutattak a kombinációban mért medián MIC értékekhez képest. A farnesol és az echinocandinok kombinációja során a medián MIC értékek szintén jelentős csökkenést mutattak az önmagában mért farnesol iránti medián MIC értékekhez viszonyítva (4-8-szoros; 4-64-szeres; 2-8-szoros). A micafungin és a caspofungin farnesollal történő kombinációja során a vizsgált négy *C. auris* izolátum esetében szinergista kölcsönhatást tapasztaltunk. Az anidulafungin és a farnesol kombinációjakor a négy izolátumból három mutatott szinergizmust, egy törzs esetében pedig indifferens kölcsönhatást detektáltunk. A *C. auris* biofilmet alkotó élő és holt sejtek arányát fluoreszcens mikroszkóp segítségével demonstráltuk. A legmagasabb holt sejt arány az echinocandinok és a farnesol együttes alkalmazása során volt látható. A scanning elektronmikroszkópos vizsgálat esetén tapasztalt morfológiai változások összhangban voltak az életképességi festés eredményével.

Konklúzió: A későbbiekben a farnesol adjuvánsként való használata nagyban javíthatja az echinocandinokkal szemben csökkent érzékenységet mutató *C. auris* infekciók terápiájának kimenetelét.



## Dr. Arany Petra:

Politejsav alapú implantátumok 3D nyomtatóval történő előállítás, anyagszerkezeti és biokompatibilitási vizsgálatai

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék  
témavezető: Dr. Kovácsné Dr. Bácskay Ildikó*

A 3D nyomtatás egy modern gyártástechnológiai eljárás, komplex, egyedi termékek állíthatóak elő. Jelenleg számos kutatócsoport foglalkozik különböző gyógyszerleadó rendszerek formulálásával. Az általunk kitűzött cél implantátumok létrehozása szálhúzásos technológiával, melyhez többféle polimert így politejsavat is használunk. Az alapvázhoz kémiai reakcióval egy amidálási reakcióval kapcsolunk oldalláncokat annak feltérképezésére, hogy ez hogyan befolyásolja a különböző PLA alapvázú implantátumok tulajdonságait. A kísérletünk célja az előállított minták anyagszerkezeti és biokompatibilitás vizsgálata.

Az anyagszerkezet vizsgálatához pásztázó elektronmikroszkópiát, FTIR spektroszkópiát, pozitron annihilation élettartam spektroszkópiát és nedvesedési peremszög vizsgálatot alkalmaztunk. A biokompatibilitás vizsgálatához biofilm képzési vizsgálatot és *in vitro* citotoxicitás vizsgálatot.

Az implantátumok steril, parenterális készítmények, melyeken nem megengedett a mikroorganizmusok megtelepedése. A biofilm képzési vizsgálat során *Candida albicans* SC5314 referencia izolátummal megállapítható, hogy milyen mértékben keletkezik az implantátumokon biofilm. A vizsgálataink során mindegyik módosulatot megfelelőnek találtuk, bár a PLA antibakteriális mintáknál nagyobb mértékben keletkezett biofilm, mint a PLA módosulatok esetében.

Az *in vitro* citotoxicitási vizsgálat módosított MTT teszttel történt, amelyet Caco-2 sejtvonalon végeztünk el. A vizsgálat során meghatározott abszorbancia érték korrelál a még élő sejtek számával. A vizsgálataink eredményeképpen elmondható, hogy mindegyik minta nem citotoxikusnak tekinthető az ISO 10993-5:2009 irányelve alapján.

A vizsgálatok során kapott eredmények alapján meghatározható és leszűkíthető azon politejsav alapú implantátumok száma, melyek alkalmasak további vizsgálatok elvégzésére, így állatkísérletekkel történő és hatóanyaggal való vizsgálatokra.



## Nagy József Bálint:

Vetési varjak (*Corvus frugilegus*) által hordozott ESBL termelő *Escherichia coli* izolátumok jellemzése és összehasonlítása humán tünetmentes hordozókból és klinikai mintákból származó izolátumokkal

DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Kardos Gábor

A Debreceni Egyetem területén nagy számú vetési varjú (*Corvus frugilegus*) gyülekezik a téli időszakban, ürülékük a klinikák területét szennyezi. A varjak potenciális hordozó szerepének vizsgálatához ugyanabból a mintavételi időszakból varjú bélsárból, humán székletből és a klinika betegeiből izolált ESBL-termelő *Escherichia coli* izolátumokat hasonlítottunk össze.

2016 október és 2017 március között 112 varjaktól származó kloákatampon mintát, az összes rutin tenyésztésre küldött 2455 humán székletmintát, illetve 42 klinikai mintából izolált ESBL-termelő *E. coli* izolátumot vizsgáltunk.

A blaCTX-M volt a leggyakoribb ESBL géncsalád mind a varjú (37/37), humán széklet (43/44) és klinikai izolátumokban (40/42) egyaránt. A bla<sub>CTX-M-1</sub> (28/37, 37/43 és 22/40) volt a domináns CTX-M alcsoport, melyet a bla<sub>CTX-M-9</sub> követett. A humán széklet és klinikai minták esetében a bla<sub>CTX-M-15</sub> gén volt a leggyakoribb bla<sub>CTX-M-1</sub> csoportba tartozó gén, míg a varjú minták esetében a bla<sub>CTX-M-55</sub>, bla<sub>CTX-M-1</sub> és bla<sub>CTX-M-15</sub> közel egyenlő arányban fordult elő. Az aac(6')-Ib (16/42 illetve 8/44) és az aac(3')-IIa (6/42 illetve 6/42) gének voltak a leggyakoribb aminoglikozid rezisztencia gének mind a klinikai mind a humán széklet mintákban, a varjú mintákban egyetlen aac(6')-Ib és két aac(3')-IIa gént detektáltunk.

A vizsgált varjak jelentős rezervoárjai az ESBL-termelő *E. coli*-nak, ezek az izolátumok azonban jelentősen különböztek a humán eredetű izolátumoktól, a hasonlóságok sokkal szembetűnőbbek a humán széklet és klinikai minták között. A varjak szerepe tehát a humán infekciók közvetlen fertőzőforrásaként csekély, de fontos rezisztencia gén rezervoárként és hosszú távú vektorokként szolgálhatnak.



## Dr. Szőke Kitti:

ERJ-500 kardiovaszkuláris hatásainak vizsgálata H9c2 sejtvonalon és patkánymodellel

*DE GYTK Gyógyszerhatástani Tanszék  
témavezető: Dr. Lekli István*

Az iszkémiás szívbetegségek bázis terápiájában fontos szerepet tölt be az acetilszalicilsav, amely a trombocita aggregációt gátolja. Már a terápiás dózisban is jelentkezhetnek a mellékhatásai, mint például a gyomorvérzés és gyomorfekély. Az anginás roham oldására és megelőzésére a nitrogén-monoxidot (NO) felszabadító vegyületeket alkalmazhatjuk. Manapság előtérbe kerültek az acetilszalicilsav hibrid molekulák, amelyekkel csökkenthető az acetilszalicilsav mellékhatása is. Ilyen hibrid vegyület az általunk vizsgált ERJ-500 is.

Kísérleteink során célul tűztük ki az ERJ-500 vegyület kardiovaszkuláris hatásainak vizsgálatát. MTT assay segítségével H9c2 kardiomioblaszt sejtvonalon vizsgáltuk a NO kibocsátó molekula citotoxicitását, valamint a hemolitikus aktivitását mértük. Továbbá, nőstény Sprague Dawley patkányokból izolált szíveken ex vivo vizsgáltuk meg a molekula koronária erekre gyakorolt hatását Langendorff módszer szerint és izolált dolgozó-szívpreparátumon. Regisztráltuk a szívfunkciókat (koronária átáramlás, aorta átáramlás, aorta nyomás, szívfrekvencia, verőtérfogatóváltozás), továbbá meghatároztuk az infarktusz terület nagyságát TTC festési módszer segítségével iszkémia/reperfúziót követően.

Az általunk alkalmazott koncentrációban az ERJ-500 vegyület a sejtek életképességét nem befolyásolta jelentősen és nem okozott hemolízist. Langendorff módban a patkányszívek koronária ereit koncentráció függő módon tágította. A kimosási fázisban ez a vazodilatatív hatás eltűnt, majd ismételt alkalmazás mellett újra kiváltotta értágító hatását. Dolgozó módban szintén jelentősen növelte a koronária átáramlást, továbbá a verőtérfogatót is. Az infarktusz terület nagyságát szignifikánsan csökkentette.

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy az új anyag értágító hatással rendelkezik, amely alkalmas lehet az iszkémiás szívbetegségek kezelésére és terápiájában.



## Forgács Lajos:

*Candida auris* fertőzés letalitási vizsgálata és hisztomorfológiai elemzése egér modelleken

DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Majoros László

A *Candida auris* egy új, világszerte terjedő multirezisztens gombafaj. Ez az új fungális patogén még alig egy évtizede ismert a tudományos világ előtt, mégis világszerte jelentettek már a gombafaj által okozott, az egészségügyi ellátással összefüggő fertőzéseket. A *Candida auris* virulencia-faktorai nagyban elősegítik a bőr kolonizációját, valamint a környezeti hatásokkal szemben is nagyfokú ellenállást tanúsít. Egyes tanulmányok szerint az invazív fertőzések mortalitása 32-66%.

Kutatómunkánk célja az volt, hogy egér modelleken meghatározzuk a különböző *Candida auris* törzsek letalitását, valamint szövettani vizsgálatokkal meghatározzuk a szöveti perzisztencia jellegét a fertőzésben érintett szervekben. A fertőzés tíz *Candida auris* törzssel történt: öt aggregatív izolátum (dél-afrikai törzsek), öt non-aggregatív izolátum (dél-ázsiai/indiai törzsek), valamint kontrollként két *Candida albicans* törzs került alkalmazásra. Az *in vivo* vizsgálatokhoz cikofoszfamiddal immunszuppresszált BALB/c egereket használtunk. Az állatok fertőzése fark vénán keresztül történt és a fertőzést követően 21 napig folyt a megfigyelésük.

A letalitási vizsgálatok során a non-aggregatív izolátumokkal fertőzött csoportok többségénél (3/5) már a fertőzést követő 5. napon 50% vagy afölötti volt az elhullás, míg az aggregatív izolátumokkal fertőzött csoportok többsége (3/5) a fertőzést követő 21. napon sem érte el ezt az arányt.

Az elhullott állatok autopsziás vizsgálatából nyert szervi preparátumok szövettani elemzése során számos esetben egész szervre kiterjedő szöveti invázió volt megfigyelhető. A fertőzés által elsődlegesen érintett szervek a szív, a vese, a máj, illetve a lép volt, de sikeresen azonosítottuk a kórokozót a tüdőben és az agyban is, habár ezek érintettsége fokális mértékű volt. A szövettani vizsgálatok során az is kiderült, hogy a korai elhullások hátterében elsősorban a myocardium fertőzöttsége állt.



## Dr. Kósa Dóra:

Orális bevételre szánt peptid tartalmú nátrium-alginát mikrogyöngyök formulálása és vizsgálatai

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék  
témavezető: Dr. Vecsernyés Miklós*

A terápiásan alkalmazott peptidok számos betegség kezelésében nélkülözhetetlenek. Jelenleg azonban ezek a készítmények még csak intravénásan alkalmazhatók, ezért számos törekvés indult az orális bevételi mód fejlesztésének irányába. Kísérletes munkánk során célul tűztük ki magasabb biohasznosulást biztosító gyógyszerhordozó rendszerek formulálását. A rossz enterális felszívódású, ezáltal rossz biohasznosulású peptid típusú hatóanyagunkat mikropartikuláris rendszerbe inkorporáltuk. A kialakításra kerülő hordozó rendszerek képzése a Büchi Encapsulator B-395 Pro berendezéssel történt, mely alkalmas különböző gyógyszerhatóanyagok kapszulázásához. A műszer segítségével modell peptid – alginát gyöngyöket állítottunk elő nyitott polimerizációval. A gyöngyképzés alapja, hogy a kontrollált, lamináris folyadéksugár azonos méretű gyöngyökre esik szét az optimális frekvenciának köszönhető vibrálástól. A reprodukálható gyöngy alak és méret biztosítása érdekében a berendezés részegységeit (fúvóka, elektród, vibráló rendszer, frekvencia generátor) előzetesen kalibráltuk, továbbá optimalizáltuk a gyártás paramétereit. A preformuláció során sikeresen rögzítettük a 200 µm-es fúvókával előállított, hatóanyagot még nem tartalmazó gyöngyök formulálásához tartozó paramétereket, amit a gyógyszeranyag inkorporálása követett. Vizsgáltuk a hatóanyag, a hordozó rendszer komponensek, valamint különböző penetráció fokozó segédanyagok citotoxicitását is humán adenocarcinoma Caco2 sejteken MTT teszt segítségével. A hatóanyag gyöngyökből történő felszabadulását in vitro kioldódás vizsgálattal határoztuk meg RIA módszer segítségével. Vizsgáltuk továbbá a formulált alginát gyöngyök duzzadási tulajdonságait, illetve lézerdiffrakciós analízissel megállapítottuk azok részecskeméret-eloszlását is.

Az elmúlt hónapok során sikeresen optimalizáltuk a hatóanyag tartalmú mikrogyöngyök kritikus gyártási paramétereit. A citotoxicitás vizsgálatok eredményei alátámasztották, hogy az általunk formulált rendszerek biztonságosak in vitro körülmények között. A kioldódás vizsgálat eredménye szerint a mikrogyöngyökbe inkorporált peptidünk csaknem teljes mennyisége detektálható volt 60 perc elteltével. A formulálás tehát eddig sikeresen zajlott.



## Nagy Zsófia:

HPV11 protein polimorfizmusok és azok funkcionális vizsgálata

*DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet*

*témavezető: Dr. Szarka Krisztina*

Munkacsoportunk a humán papillomavírus (HPV) 11 és a különböző súlyosságú rekurrens légúti papillomatosisok (recurrent respiratory papillomatosis, RRP) közötti összefüggéseket vizsgálja a klinikai mintákból kimutatott vírusgenomok szekvencia, filogenetikai és funkcionális analízisével. A szekvencia analízisek során az L1 kapszid fehérjében két aminosav-cserét eredményező egyedi nukleotid polimorfizmust azonosítottunk (A476V és S486F), melyek a fehérje C-terminális részén helyezkednek el; ez a régió a fehérje pentamerizációjában és a kapszid összeszerelődésében játszik szerepet. Az S486F aminosav-csere következtében a fenilalanin két új kölcsönhatást alakít ki a kapszomer szomszédos monomerjeivel, ami energetikailag kedvező lehet az L1 kapszid összeszerelődése során. Az L2 ORF-ben két aminosav cserét eredményező egyedi nukleotid polimorfizmust határoztunk meg. A cervicális atypiából származó HPV11 szekvenciában azonosított E35D aminosav-csere a fehérje N-terminális aktin-kötő doménjában helyezkedik el. Egy mérsékelt súlyosságú felnőttkori RRP-ből származó HPV11 genomban azonosított G5437T nukleotid-csere az L2 protein C-terminális régiója előtt korai stop kodon kialakulását eredményezi. Jelenlegi program során célul tűztük ki a HPV11 kapszid fehérjében azonosított aminosav cserét eredményező nukleotid polimorfizmusok funkcionális vizsgálatát. Ehhez 293TT sejtekben pszeudovirionokat termeltettünk, majd HaCat, HeLa, Hep-2 és C33a sejtvonalakon transzfektálás után luciferáz reporter rendszer segítségével meghatároztuk a pszeudovirionok fertőzőképességét. Úgy tűnik, hogy a korai stop kodont eredményező nukleotid polimorfizmust tartalmazó pszeudovirion esetében jelentősen csökken a pszeudovirion fertőzőképessége a referenciához képest, míg az L1 proteinben előforduló aminosav-cserék feltehetően fokozzák a pszeudovirionok infektivitására. Előzetes eredményeink alapján tehát a variáns HPV11 pszeudovirionok fertőzőési képessége eltér a referencia HPV11 pszeudovirionok infektivitásától és különbözik az eltérő tulajdonságú sejtvonalakon.

A munka (Nagy Zsófia) az Emberei Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.





## Dr. Lampé Nóra:

A hipoxantin-triciklánó adenozinerg aktivitásának karakterizálása ex vivo patkány pitvaron és artériákon

*DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Tanszék*  
témavezető: Dr. Juhász Béla

Kutatásunk során egy, a Debreceni Egyetem Gyógyszerészi Kémia Tanszékén újonnan fejlesztett vegyület, a hipoxantin-triciklánó adenozinerg profilját vizsgáltuk. A hipoxantin-triciklánó egy szintetikus adenozin analóg, melyben az adenint hipoxantin, a ribózt pedig egy morfolinóból kiinduló, kondenzált triciklikus molekuláris helyettesít. Kísérleteink során elsődleges célunk volt annak feltérképezése, hogy a hipoxantin-triciklánó rendelkezik-e  $A_1$  és/vagy  $A_{2A}$  adenozin receptorokra gyakorolt hatással, illetve hatás esetén szeretnénk volna megvizsgálni annak természetét, a receptorokat befolyásoló tulajdonságait. Fiziológiai körülmények között az adenozin a pitvari  $A_1$  adenozin receptor izgatása révén csökkenti a kontrakciós erőt, az ereken pedig az  $A_{2A}$  adenozin receptor mediációjával relaxációt okoz.

Vizsgálataink során hím Wistar patkányokból származó bal pitvar fülcsét, valamint aorta thoracicat és truncus pulmonalist izoláltunk. A preparátumokat  $36^\circ\text{C}$ -os, karbogénnel szellőztetett ( $95\% \text{ O}_2 + 5\% \text{ CO}_2$ ), Krebs oldattal feltöltött szervkádakban,  $10 \text{ mN}$  alapfeszülés mellett felfüggesztettük, a pitvarokat ingereltük ( $3 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ ms}$ ,  $1-1.5 \text{ V}$ ). A preparátumokon a kontrakciós erő mérésével koncentráció-hatás görbéket vettünk fel és meghatároztuk az adenozinra és a hipoxantin-triciklánóra adott kontraktilis választ 8-szulfofenil-teofillin (a sejtbe nem permeáló  $A_1$  és  $A_2$  adenozin receptor antagonistá) hiányában és jelenlétében. Az érgyűrűket előzetesen  $10 \text{ nM}$  noradrenalinral prekontrahtuk. Mivel a hipoxantin-triciklánó mennyisége korlátozott mértékben állt rendelkezésünkre, nem volt lehetőségünk nagyobb számú mérésre, így munkánk pilot study jellegű.

Tapasztalataink alapján a hipoxantin-triciklánó eltérő módon hatott a két adenozin receptoron. A pitvari myocardiumon direkt negatív inotróp adenozinnal szemben a hipoxantin-triciklánó direkt pozitív inotróp szernek bizonyult, ami felveti, hogy az  $A_1$  adenozin receptoron inverz agonista. A hipoxantin-triciklánó jelenléte nem gátolta meg az adenozin direkt negatív inotróp hatását, ami reverzibilis kötődésre utal támadáspontján. Az ereken ugyanakkor a hipoxantin-triciklánó az adenozinhoz mindenben hasonlóan viselkedett, vagyis az  $A_{2A}$  adenozin receptoron pozitív parciális agonistának mutatkozott. Hatásai mindhárom preparátumon gátolhatóak voltak 8-szulfofenil-teofillinnel (az adenozinhoz hasonló mértékben), ami megerősíti azt a feltételezést, hogy a vizsgált hatások szempontjából a hipoxantin-triciklánó támadáspontjai az adenozin sejt felszíni receptorai.



## Tóth Zoltán:

A nagy dózisú caspofungin *in vivo* hatékonyságának vizsgálata *C. albicans* és *C. dubliniensis* klinikai izolátumok ellen neutropéniás egérmodellben

DE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet  
témavezető: Dr. Kovács Renátó

Az invazív *Candida* okozta infekciók kezelésére jelenleg az echinocandinok (caspofungin, micafungin, anidulafungin) az elsőként választandó antifungális szerek. A 2000-es évektől kezdődő elterjedésükkel úgy tűnt végre igazán hatékony és biztonságos gyógyszerek kerültek forgalomba a már említett fertőzések ellen. Sajnos azonban az invazív candidiasis mortalitása továbbra is magas, bizonyos betegcsoportokban több mint 30%, ezért szükségesnek tűnik a jelenlegitől eltérő, hatékonyabb adagolási séma kidolgozása, hogy az echinocandinok kiváló *in vitro* aktivitását a klinikumban is kiaknázhassuk.

Kísérleteink során összehasonlítottuk a napi normál humán dózissal megfelelő (2 mg/ttkg) caspofungin adagok hatékonyságát napi emelt (8 mg/ttkg), illetve egyszeri nagy (10 és 40 mg/ttkg) dózissal neutropéniás egérmodellben, echinocandin érzékeny és rezisztens *C. albicans*, illetve echinocandin érzékeny *C. dubliniensis* izolátumok ellen. Vizsgálataink az egyes adagolási sémák túlélésre, valamint szöveti perzisztenciára gyakorolt hatására terjedtek ki.

A letalitási kísérletekben az echinocandin érzékeny izolátumok ellen mindegyik adagolással szignifikánsan hosszabb túlélést sikerült elérnünk a kontroll csoporthoz képest, ugyanakkor az echinocandin rezisztens izolátumok ellen csak az egyszeri 40 mg/ttkg adagolás bizonyult hatékonynak. A szöveti perzisztencia szempontjából hasonló eredményt kaptunk, az echinocandin érzékeny izolátumok esetén minden kezelés csökkentette a vesékből kitenyészett gombasejtek számát a kontrollhoz képest, bár az egyszeri nagy dózisok gyakran csak nem szignifikáns mértékben. Az echinocandin rezisztens izolátumok ellen semelyik adagolással nem értünk el szignifikáns csíraszámcsökkenést.

Eredményeink alapján az egyszeri nagy dózisú echinocandin terápia jobb hatású lehet, mind az echinocandin érzékeny, mind pedig a rezisztens *Candida* izolátumok ellen, mint a jelenleg alkalmazott napi alacsony dózisok az invazív candidiasis terápiájában.



**Dr. Rusznyák Ágnes:**  
Béta-ciklodextrinek celluláris hatásainak vizsgálata

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*  
*témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc*

A ciklodextrinek széles körben alkalmazott segédanyagok a lipofil gyógyszerek vízoldhatóságának és biológiai hozzáférhetőségének növelésében. Ezen segédanyagokat a gyógyszeripar mellett az élelmiszeripar és a kozmetikai ipar is széles körben alkalmazza. Fluoreszcens ciklodextrin- származékok alkalmazásával munkacsoportunk már kimutatta, hogy a ciklodextrinek endocitózissal bejutnak a Caco-2 sejtekbe. Továbbá a fluoreszcenccel és rodaminnal jelölt HPBCD és RAMEB származékok sejtes internalizációját fluoreszcens mikroszkópos technikával már TDK munkám során összehasonlítottam.

PhD tanulmányaim első évében célul tűztük ki a különböző fluoreszcens festékekkel jelölt származékok endocitózisának vizsgálatát áramlási citometriai módszerrel, valamint az endocitózis pontosabb mechanizmusának felderítését gátlószerek alkalmazásával. Emellett célunk volt a ciklodextrinek intracelluláris hatásainak vizsgálata, így az NF- $\kappa$ B útvonalra és az autofágiára gyakorolt hatásuk vizsgálata.

Előzetes eredményeink alapján az endocitózis típusai közül főként a makropinocitózis gátolható, ez lehet az internalizáció fő mechanizmusa. Fluoreszcens mikroszkópiával vizsgáltuk az NF- $\kappa$ B útvonal lehetséges aktiválását, ami kulcsszereplője a sejtek szignálútjainak szabályozásában. A ciklodextrin előkezelés nem aktiválta a p65-ös alegység transzlokációját a sejtmagba, tehát ezen származékok nem indukálnak gyulladási folyamatokat a sejtekben. A ciklodextrinek autofágiára gyakorolt hatását kvalitatívan és kvantitatívan is vizsgáltuk. A ciklodextrinek a kontroll mintához képest nem indukálják az autofagoszómák képződését, csekély mértékben bekerülhetnek az autofagoszómákba. LysoTracker® fluoreszcens festékekkel detektáltuk a lizoszómákat, melyekben a ciklodextrinek kimutathatók az internalizációt követően.

Összességében elmondható, hogy a fluoreszcens jelölés nem befolyásolja a HPBCD és RAMEB származékok internalizációját Caco-2 sejteken. A ciklodextrinek endocitózisa nem aktiválja az NF- $\kappa$ B útvonalat, illetve nem indukálják az autofágiát, csekély mértékben bekerülhetnek az autofagoszómákba. A ciklodextrinek kimutathatók a lizoszómákban is.



## Dr. Kelemen Viktor:

Fotoiniciált tiol-én addíciós reakciók telítetlen szénhidrátokon

*DE GYTK Gyógyszerészi Kémia Tanszék*

*témavezető: Dr. Borbás Anikó*

### Célkitűzés:

Célunk 1,2- valamint 2,3-helyzetben telítetlen szénhidrátokon fotoiniciált tiol-én addíciós reakciók végrehajtása, ezáltal kéntartalmú szénhidrátszármazékok előállítása. Célunk továbbá a fotoiniciált tiol-én addíciós reakciók további vizsgálata, a reakciókörülmények optimalizálása, a vegyületek karakterizálása, illetve azok későbbi biológiai vizsgálata.

### Módszerek:

A 2,3-telítetlen vegyületek előállításához irodalmi módszerek alapján Ferrier-átrendeződést alkalmaztuk a kiindulási 1,2-telítetlen szénhidrát és adott nukleofil reakciójában. A fotoiniciált, gyökös mechanizmusú tiol-én addíciókat UV reaktorral végeztük, 365 nm hullámhosszú fényvel, iniciátorként 2,2-dimetoxi-2-fenil-acetofenont (DPAP) használva. A reakciók szobahőmérsékleten, valamint 0, -20, -40 és -80 Celsius fokon zajlottak. A reakciókat vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel követtük, a detektálás 5% kénsavat tartalmazó etanolos-ánizsaldehydes előhívószerral történt. A közti- és végtermékek tisztításához oszlopkromatográfiás módszert használtunk. A vegyületek karakterizálása szén- és proton NMR mérésekkel, MALDI-TOF-, olvadáspont- és optikaiforgatóképesség-mérésekkel történt.

### Eredmények, konklúzió:

Különböző konfigurációjú (glükál, galaktál, és ezek 2-acetoxi származékai, valamint Ferrier-átrendezéssel előállított 2,3-telítetlen származékok) szénhidráttal végeztem addíciókat különféle tiolokra (többek között, de nem kizárólag 1-tioglukóz-, 1-tiomaltóz, 1-tiomannóz és 1-tiogalaktóz-peracetát, n-propil-merkaptán, tioecetsav, tioglikolsav, N-acetilcisztein). A konverzió mértéke és az izolált hozam nagymértékben függött mind a telítetlen szénhidrát konfigurációjától, mind az egyes tiolok reaktivitásától. A hőmérséklet módosítása úgyszintén befolyásolta a konverziót, és ezáltal a hozamot, alacsonyabb hőmérsékleten az esetek jelentős részében nagyobb konverziót figyeltünk meg, a hőmérséklet emelése pedig a konverzió csökkenésével járt. Összegzésként elmondhatjuk, hogy a fotoiniciált tiol-én addíció kiválóan alkalmas bioreleváns oligoszacharidok és glikokonjugátumok tiomimetikumainak előállítására. A reakciók hozamát több körülmény is befolyásolhatja, melyeket sikerült optimalizálni. Számos új, kéntartalmú szénhidrát került előállításra, melyek a későbbiekben számos biológiai vizsgálat (többek között enzimgátlási és antibakteriális) tárgyát fogják képezni.



## **Dr. Vasvári Gábor:**

Ömlesztéssel előállított habosított, szilárd gyógyszerforma előállítása és jellemzése

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*

*témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc*

**Bevezető és célkitűzés:** A doktori képzés ezen szakaszának célja az előző években fejlesztett és tanulmányozott kutatás folytatásaként az ömlesztéssel előállított habosított, szilárd gyógyszerforma kioldódási mechanizmusának tanulmányozása és a habszerkezet egészének felderítése volt mikro-CT módszer segítségével. Ezen felül tudományos folyóiratba történő közlemény kéziratát készítettem el a kutatási eredmények rendszerezésével és összefoglalásával.

**Eredmények:** A kioldódási vizsgálatok kiértékelésekor megállapítottuk, hogy a sztearinsav lassítja a minták erózióját és a mátrix által felvehető víz mennyiségét. A modell illesztések során kimutattuk, hogy a hatóanyag felszabadulását legjobban a Korsmeyer-Peppas modellel írhatjuk le. Ennek során kiderítettük, hogy a Labrasol képes a mátrixon belül a feloldódott hatóanyag mikropórusokon belüli koncentrációjának növelésére is, valamint növeli a víz beáramlásának és a mátrix szétesésének sebességét is.

**Konklúzió:** Összegezve a fenti eredményeket egy újszerű technológiát sikerült kidolgozni, amely képes habosított olvadék diszperziók előállítására atmoszférikus nyomáson. Az így létrehozott formulációk potenciálisan alkalmasak gasztroretentív készítmények létrehozására. SEM és mikro-CT felvételekkel sikerült igazolni, hogy a levegő gömbszerű üregek formájában van random eloszlva a megszilárdult olvadékban. Az üregek azonban rövid szakaszon egymásba nyílhatnak. A kéziratot AAPSPT-D-19-00412 azonosító számmal az AAPS PharmSciTech című folyóiratba töltöttem fel, a kézirat bírálata jelenleg is folyik.



## **Dr. Haimhoffer Ádám:**

Porózus gyógyszerhordozók vizsgálata

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*

*témavezető: Dr. Fenyvesi Ferenc*

A tudományos munkám a porózus rendszerek gyógyszerészeti alkalmazására összpontosít, azon belül két fő nyomvonalon folynak a munkáim.

Szilárd, vízdoldhatatlan cyclodextrin polimerek hatóanyagfelvételét és módosított hatóanyag leadó tulajdonságait vizsgáljuk. A keresztkötött cyclodextrin molekulák nanoméretű apoláris nyitott üregekkel rendelkeznek, melyek alkalmasak hatóanyagok komplexálására. Vizsgálataink során kurkuminnal és estradiol hatóanyagokkal végeztünk extrakciós kísérleteket, majd bizonyítottuk a porózus rendszer elnyújtott hatóanyagleadó képességét membránon keresztül. Extrakciós méréseink során megközelítőleg 90% hatékonysággal vontuk ki alkoholos oldatból a fentebb említett hatóanyagokat. A kioldódás során, mindkét esetben több órás elnyújtott hatóanyag leadást tapasztaltunk. Az eredményeinket összehasonlítottuk a forgalomban kapható oldhatatlan cyclodextrin gyöngyökkel.

A nanoméretű porózus rendszerek mellett egy mikrométer méretű pórusokat tartalmazó gyógyszerhordozórendszert is létrehoztunk, mely alacsony sűrűségének köszönhetően a szabályozott hatóanyag leadás mellett gasztroretencióra is képes. A kezdetleges szakaszos üzemben működő gyártóberendezésünket tovább fejlesztettük egy folyamatos gyártásra alkalmas készüléké. Hatóanyagként verapamilt választottunk, melynek biohasznosulása fokozható gasztroretencióval. A legyártott készítményről micro-CT felvételeket készítettünk, mely homogén nagy porozitású gyógyszerhordozó mátrixot igazolta. A készítmény 10 órás retard hatóanyag leadását kioldódás vizsgálattal bizonyítottuk. A gasztroretenciós képességét a készítménynek állatmodellen vizsgáltuk, mely igazolta a gyomorban való elnyújtott tartózkodást.

Összegezve elmondhatom, hogy két porózus rendszer vizsgálatát végeztük el, melyek alkalmasak szabályozott hatóanyag leadásra.



## Gulyás Hajnalka:

Vazoreguláció vizsgálata in vivo módszerekkel

*DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Tanszék*  
témavezető: Dr. Pórszász Róbert

### Célkitűzés:

Régóta vitatott és feltáratlan, hogy a szenzoros neuronokon régóta ismert TRPV1 receptor más területeken milyen mértékben fordul elő és milyen élettani-farmakológiai hatások létrejöttéért lehetnek felelősek. Jelen vizsgálatainkban az ereken elhelyezkedő TRPV1 receptorok funkciójának jobb megértése és esetleges farmakológiai kihasználhatóságának feltérképezése volt célunk, így PhD munkám során vizsgáltuk a TRPV1 receptorok vazoregulációban betöltött szerepét, valamint TRPV1 antagonisták, ú.m. BCTC és AMG-517 erekre kifejtett hatását.

### Metodikák:

1. Wistar patkányokat (200-300 g) 50 mg/kg thiopenthallal.p. altattuk. Az artériás vérnyomásmérés kivitelezéséhez a jobb a. carotist kanuláltuk és nyomásmérőhöz kötöttük. A légzés regisztrálása érdekében tracheotómiát végeztünk és a tracheába kanült helyeztünk, majd ezt ipszilon elágazáson keresztül transzducerhez kötöttük. Az anyagok intravénás beadása érdekében a bal v. jugularist kanuláltuk. Anyagbeadásra maximum 80 µl térfogatban került sor, így ezt a kanül holtterébe töltöttük, majd onnan bólus szerűen adtuk be az állat keringésébe. Az antagonistákat felszálló dózisban (0,01; 0,03; 0,1; 0,3 és 1 mg/kg) alkalmaztuk annak eldöntésére, hogy önmagukban képesek-e dózisfüggő agonista hatást létrehozni. A n. vagusefferens hatásának blokkolására 1 mg/kg atropint adtunk i.v. A capsaicin hatását több dózisban vizsgáltuk.
2. Újszülött hím Wistar patkányokat 5 napon keresztül emelkedő dózisban (10; 20; 50; 100; 120 mg/kg) capsacinnel kezeltük. Ezzel újszülöttkori deszenzibilizációt hoztunk létre capsacinnel szemben. A kezelés eredményességét capsaicin 1%-os oldatának szembe cseppentésével ellenőriztük.

### Eredmények:

A capsaicint patkánynak intravénásan adva hármas választ (Bezold-Jarisch reflex), azaz bradikardiát, hipotóniát és apnoét vált ki. A reflex szívhatását (bradikardia, hipotónia) atropin adásával védeni tudtuk, azonban a capsaicin magas koncentrációira adott hipertenzív választ atropinnal gátolni nem tudtuk. A TRPV1 antagonisták mindegyike képes volt azonban a capsaicin okozta vazokonstriktiót gátolni. Ez a gátló hatás capsaicin igen nagy dózisával (1 mg/kg) áttörhető volt. BCTC esetén az egyszer alkalmazott 1 mg/kg dózis capsaicinhez hasonló választ képes létrehozni. A capsaicinre deszenzitized patkányok esetében a Bezold –Jarisch reflex elmaradt azonban a capsaicin i.v. adása után a vérnyomás emelkedés megmaradt. Ezt csak BCTC adásával tudtuk védeni.



## Dr. Harda Kristóf:

Szomatosztatin receptorok vizsgálata gyermekkori rosszindulatú daganatokban

*DE GYTK Biofarmácia Tanszék*

*témavezető: Dr. Halmos Gábor Miklós*

A humán tumorsejtek jelentős hányada expresszál peptidhormon receptorokat (LH-RH, GH-RH, szomatosztatin, bombesin/GRP, VIP stb). A szomatosztatin analógok újonnan felismert antiproliferatív hatásukat specifikus G- proteinhez kapcsolt membránreceptorokon keresztül (SSTR) fejtik ki, melyekből humán szövetekben eddig 5 altípust izoláltak (SSTR1-5). A szomatosztatin, illetve annak cytotoxikus vagy radioaktív analógjai új perspektívákat nyitnak a tumornövekedés gátlásában; a receptor-specifikus analógok közvetlenül, vagy az ún. "magic bullet" elv alapján, carrier molekulákként használhatók fel a modern, célzott daganatterápiában.

A DE Gyermekgyógyászati Intézet, Gyermekhematológiai-Onkológiai Tanszékéről gyűjtött 15 daganatos beteg (átlagéletkor: 8,03 év) mintáján vizsgáltuk az SSTR 1-5 expresszióját, a betegek közül 7 solid tumoros és 8 haematológiai (malignus ill. benignus) betegségben szenvedett. A mintákat  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. Solid tumorok esetében homogenizálást követően, a csontvelői aspirátumok és perifériás vérminta feldolgozásakor szeparálás után totál RNS-t izoláltunk. A reverz transzkripciót 50-250 ng RNS-ből végeztük. Belső standard génként  $\beta$ -actint (ACTB) használtuk. A PCR termékeket 1,5 % -os, GelRed-et tartalmazó agaróz gélen futtattuk.

A 15 vizsgált mintából 9 SSTR-1 és SSTR-4, 15 SSTR-2, 4 SSTR-3, és 2 pedig SSTR-5 receptor altípusokra mutatott pozitivitást. Az SSTR-2 génexpresszió, az összes vizsgált mintában kimutatható volt. Az SSTR-3 receptor altípus expresszióját ugyanannyinak mértük a solid tumoros, mint a csontvelői mintákban (2/7). Az SSTR-1 és az SSTR-4 receptorokat a csontvelői és a solid tumoros sejtek azonos hányadán (5/7) detektáltuk. SSTR-5 receptorokat csontvelői mintákban nem találtunk. A vizsgált perifériás vérmintából SSTR-2 és SSTR-4 receptorok jelenlétét mutattunk ki.

A vizsgált szövetminták jelentős hányada expresszálja a különböző szomatosztatin receptorok altípusait mRNS szinten. Eredményeink hozzájárulhatnak gyermekkori daganatos betegségekben a szomatosztatin szintetikus analógjainak, azok radionuklid vagy citotoxikus származékaiknak diagnosztikai és/vagy célzott daganatterápiában történő alkalmazásához.





## Sara Mirani:

### The Pharmacovigilance and the Potential for Risk Minimization Measures for Dietary-food Supplements and Herbal extracts

*DE GYTK Gyógyszertechnológiai Tanszék*  
*témavezető: Dr. Vecsernyés Miklós*

Osteoporosis is one of the most common preventable pandemic disease. The current use of dietary food supplements, vitamins, minerals among the pharmacological strategies applied for treatment or prevention has been investigated by the management of osteoporosis in elderly population based on clinical data and a survey on public profile on voluntary responders.

The specific aims:

- (i) To identify the characteristics related to OP and fractures in hospitalized elderly patients and assessment of the „unmet medical needs” in prevention.
- (ii) Options for prevention based on the identification the most commonly used vitamins and dietary-food supplements, compliance, lifestyle factors and nutritional profile
- (iii) Evaluate the safety and Benefits/Risk profile of the applied components of vitamins and dietary-food supplements and
- (iv) Identify a need for risk minimization information and patient education

Material and Methods: A combined approach utilizing: (1) data of an observational study on hospitalized elderly people. The specific data collected on: OP therapies, BMI, demographics, age, gender 25(OH)D; Barthel-index, Fractures; Adherence to given therapy.

(2) Population based survey, anonymously was used to answer selected questions on demographic, nutrition profile of supplements and vitamins, lifestyle including sun exposure, and physical activity questionnaires were circulated among students and colleagues, others are in pharmacies, in a dental clinic and in a GP's office.

Results: Seasonality of fractures detected. Odd Ratio „OR” very low level (<10 ng/ml) of 25OHD and fractures: 2.83; 95% (CI:1.51-5.31); p=0.00076. The 25OHD level among patient with or without fractures differs significantly. Prior the event fracture only 23.4% of patients received vitamin D supplementation. As a Post-fracture therapy 51% vitamin D and only 38.3% a combination of vitamin D+Ca. It was estimated that approx. 25% of subjects were non-adherent to at least a part of the given OP therapies - mainly due to lack of persistency that may have critical impact on their health. Barthel index (ADL) in general correlates with vitamin D levels. The physical activities are limited to <26% of population and even in younger (<25y) age categories are <40%. Dietary Calcium intake is insufficient in most of population (over 70%) even with supplementation applied.

Conclusions: Prevention of OP presents unique challenge that involve effective therapies applied and sustained adherence over years. Although effective pharmacologic agents are available for the prevention and treatment of osteoporosis, but due to low adherence to therapies, more attention in public to be given for vitamin D and calcium supplementations - mainly due to lack of persistency may have critical for incidence of fractures. Higher figures in Barthel-index supports positive correlation with vitamin D levels in elderly population. The low calcium intake and the lack of physical activities in most population, presents a critical factor in prevention of OP that requires attention and patient education.