

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Homoródalmás etnofarmakobotanikai értékelése;
az *Ononis arvensis* L. hisztológiai, fitokémiai és mikrobiológiai
jellemzése**



Dénes Tünde

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Pintér Erika

Biológiailag aktív anyagok izolálása és vizsgálata alprogram

Programvezető: Prof. Dr. Deli József

Témavezetők:

Dr. Papp Nóra PhD

Dr. Varga Erzsébet PhD

Pécsi Tudományegyetem

Gyógyszerésztudományi Kar

Farmakognóziái Intézet

Pécs, 2021

1. Bevezetés

Az etnobotanika mint a népi természetismeretet vizsgáló, interdiszciplináris tudomány elsősorban a néprajz és a botanika közös kutatási területeként a növények emberi kultúrában betöltött szerepével, alkalmazási módjával, a hozzájuk fűződő képzetekkel és szokásokkal foglalkozik (Gub 1994). Az eltűnőben lévő, értékes népgyógyászati tudáselemek feljegyzése napjainkban etnobotanikai, fitokémiai és fitoterápiás szempontból is kiemelkedő jelentőségű. Nagy kincs e tudás, e szellemi örökség, amit az idős generáció még birtokol és közreadhat. A még fellelhető helyi növényismeret és népi orvoslási adatok feljegyzése, megőrzése elengedhetetlenül fontos, hiszen felbecsülhetetlen értékek vannak veszendőben.

Az utóbbi évtizedekben Európában az etnofarmakobotanika tudományterületén megjelenő publikációk száma folyamatosan növekvő tendenciát mutat. Számos országban kutatócsoportok értékes eredményeiket közzölték. Ezt a tényt időszerűvé tette a még meglévő hagyományos ismeretek feltérképezésének szükségessége, a helyi hagyományokon, kulturális örökségen alapuló ökoturizmus és fenntartható vidékfejlesztés gazdasági fellendítésének igénye, illetve számos régió egyedülálló volta biológiai, kulturális és etnikai vonatkozásban.

Erdélyben a 16. században jelentek meg az első magyar nyelvű orvosi művek, füveskönyvek (Lencsés 1570; Melius 1578). Az 1960-as évektől Erdélyben is, Európa más térségeihez hasonlóan, fellendültek a népi gyógynövényismerettel kapcsolatos kutatások, így számos gyűjtőút etnobotanikai és népgyógyászati eredményeit közzölték a régi Bukovinából, Gyimes-völgyéből, Moldvából, Kalotaszegről, Kovászna megyéből, Gyergyóból, az Úz-völgyéből, Sóvidékről, valamint a Homoródok mentéről.

A Homoródok mente etnobotanikai feltárásának folytatásaként célul tűztük ki Homoródalmás (Merești, Románia) település még fellelhető helyi növényismeretének és népi orvoslási adatainak feltérképezését. Az etnofarmakobotanikai felmérés mellett a gyűjtött tudáselemek tudományos adatbázisokkal (pl. Scopus, PubMed, ScienceDirect) való összevetése során az *Ononis arvensis* L. (mezei iglice) került kiválasztásra szövetani, fitokémiai és mikrobiológiai vizsgálatok elvégzése céljából. A Homoródok völgyében végzett gyűjtések során a népi orvoslásban a növény föld feletti hajtásának főzetét hasmenés, máj- és emésztési problémák kezelésére a humán- és állatgyógyászatban egyaránt alkalmazzák.

2. Célkitűzések

1. Homoródalmás népi növényismeretének részletes feltérképezése, etnobotanikai értékelése (helyi elnevezés, drog, alkalmazás módja), a hagyományos humán- és állatgyógyászatban használt további állati és egyéb eredetű anyagok összesítése, valamint a hagyományos gyógyító eljárások feljegyzése
2. az általunk kiválasztott és a térségben tradicionálisan alkalmazott növényfaj, az *Ononis arvensis* egyes részeinek (gyökér, szár, lomblevél, levélgerinc, pálna, virág, pollen) szövettani jellemzése
3. a mezei iglice föld feletti virágos hajtás polifenol-komponenseinek minőségi és mennyiségi meghatározása UHPLC-MS segítségével
4. a mezei iglice összpolicenol-, összflovonoid- és cserzőanyag-tartalmának meghatározása és összehasonlítása (föld feletti virágos hajtás, gyökér, szár, levél, virág)
5. a mezei iglice föld feletti virágos hajtás antioxidáns kapacitásának vizsgálata ECL, DPPH és ORAC, valamint a föld feletti virágos hajtás, gyökér, szár, levél és virág antioxidáns hatásának vizsgálata ABTS módszerrel
6. a mezei iglice szár és lomblevél kivonatok antimikrobás hatásának vizsgálata négy baktériumtörzs és egy gombatörzs ellen

3. Vizsgálati módszerek

3.1. Etnobotanikai gyűjtés módszerei

Gyűjtőmunkánkat 2013-2016 között végeztük Homoródalmáson. Összesen 60 adatközlőt (11-95 évesek) kerestünk fel az idősebb generációból, akik népi gyógynövényismereti tudásukat szüleiktől, nagyszüleiktől örökölték. A gyűjtés során a humán- és állatgyógyászatban használt gyógynövényekről, valamint a főbb betegségcsoportok kezeléséről érdeklődtünk, kérdéseinkkel segítve a tudásanyag előhívását. A félig-strukturált interjúk során feljegyeztük az ismertett gyógynövényfajok népi/helyi elnevezését, élőhelyét, a droként gyűjtött és felhasznált részt, a tárolás és alkalmazás módját, illetve készítménytípusát. Feljegyeztük továbbá a háztáji kiskertek fűszer-, zöldség-, gyümölcs- és dísnövényeit is, valamint a termőföldeken termesztett növényfajokat. Csoportosítottuk az élelmiszer-, takarmány-, dísz- és festőnövényeket, valamint az

állati és egyéb eredetű gyógymódokat. Rögzítettük továbbá a gyógynövényekhez, alkalmazásukhoz és a népi gyógyításhoz kapcsolódó irracionális elemeket, hiedelmeket is.

Az adatközlők ismeretének eredetéről is érdeklődtünk, mivel napjainkban már előfordulhatnak a hagyományos, szájról-szájra terjedő tudáselemek mellett egyéb forrásokból származó adatok. A beszélgetéseket diktafonnal (Olympus VN-4100 PC) rögzítettük (kb. 29 óra), majd a hangfelvételek feldolgozása során szó szerint lejegyeztük az interjúk részleteit; az idézeteket idézőjelben és *dőlt* betűvel jelöltük. A kézi jegyzeteket a dokumentálás során a növényfajokról és termőhelyükről készült ~1200 fényképfelvétellel (Canon SX40HS) egészítettük ki. A fajokról herbárium készült a pontos botanikai azonosítás céljából. A növényfajok meghatározása és a tudományos terminológia alkalmazása növényhatározó forrásmunka segítségével történt (Király 2009).

3.2. Hisztológiai módszerek

A mezei iglice föld feletti részeit Homoródszentpéter melletti kaszálóréten gyűjtöttük 2013-ban, a gyökeret Homoródalmáson 2014-ben. A hisztológiai/növényanatómiai vizsgálatokat a PTE GYTK Farmakognóziai Intézetében és a TTK Biológiai Intézetében végeztük. A lomb-, szírom- és csészeleveleket a derítéshez előkészítve szobahőmérsékleten szárítottuk. A derítés során a mintákat (5-5 db) $0,5 \times 0,5$ cm méretre vágtuk, 15 ml desztillált vízben (10 perc), 10% etanol: KOH (7:3) keverékében (15 ml, 4 perc), majd 5% H_2O_2 -ban (4 ml, 1 perc) forraltuk. Ezt követően a minták szobahőmérsékleten álltak (10 perc). Végül 15 ml 96% etanolban forraltuk (10 perc), míg a minták elszíntelenedtek. Desztillált vízzel történő öblítés után a színtelen mintákat tárgylemezre helyeztük, 0,02% toluidinkékkel festettük, majd 2-3 csepp Neo-Mount[®] ragasztóanyaggal és fedőlemezzel rögzítettük.

A frissen gyűjtött mintákat (gyökér, hajtás, lomblevél, levélgerinc, pálha, virág) 96% etanol : glicerin : víz (1:1:1) elegyében fixáltuk. Az előzetesen fixált mintákat víztelenítettük, majd Technovit 7100 műgyantába ágyaztuk. A 10-15 μ m vastagságú keresztmetszeteket Anglia Scientific 0325 típusú rotációs mikrotómmal készítettük. A metszeteket 50 °C-on szárítottuk, majd 0,02% toluidinkékkel festettük (5 perc). Ezután desztillált vízzel öblítettük (5 másodperc), majd 96% etanollal (2 \times 3 perc), izopropanollal (2 perc) és xilollal (3 és 10 perc) kezeltük (Sárkány és Szalai 1957). A kész preparátumokat Neo-Mount[®] ragasztóanyaggal és fedőlemezzel fedtük.

A pollenpreparátumok készítése során lándzsatűvel 1-2 mm³ zseléköcköt vágunk és hozzáérintettük a pollent tartalmazó portokokhoz. A pollennel borított zseléköcköt tárgylemezre helyeztük, melegítettük, míg megolvadt; a pollenszemeket egyenletesen eloszlattuk, majd fedőlemezzel fedtük. A festés fukszinnal történt (Beattie 1971).

A kész preparátumok vizsgálata és dokumentálása Nikon Eclipse 80i mikroszkóppal, Olympus C01 sztereomikroszkóppal, Nikon Coolpix 4500 kamerával és SPOT BASIC 4.0 program segítségével történt a PTE TTK Biológiai Intézetben és az ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetében.

3.3. Fitokémiai módszerek

3.3.1. Vékonyréteg-kromatográfia (VRK) módszer

A föld feletti virágos hajtás porított 0,2 grammjához adtunk 5 ml etanol : víz elegyét (7:3), majd 30 percig szobahőmérsékleten rázattuk (150 fordulat/perc, Edmund Bühler KL-2 rázógéppel), és Whatman szűrőpapíron szűrtük. Flavonoid-glikozidként rutin, hiperozid, a fenolsavak közül klorogénsav és kávéssav 1 mg/ml arányú metanolos oldatát használtuk tesztként. A teszteket és a mintát mikrokapilláris segítségével vittük fel szilikagél-rétegre (DC-Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck, 20 × 20 cm); a tesztvegyületekből 3 µl-t, a növényi mintából 10 µl-t vittünk fel a startvonalra. Mozgófázisként etilacetát : hangyasav : ecetsav : víz (100:11:11:27) elegyét alkalmaztuk. CAMAG típusú kromatografáló kamrában az oldószerkelet gőzével 20 perces telítés és felszálló kifejlesztés történt. Kifejlesztés után 5 percig 105 °C-on szárítás és előhívás következett Naturstoff-reagenssel (= difenil-bórsav 2% metanolos oldata + polietilén-glikol, 8:10 arányban elegyítve). Ezt újabb szárítás követte. Az értékelést UV 365 nm-en (CAMAG UV-lámpa), a dokumentálást Canon SX40HS fényképezőgéppel végeztük.

3.3.2. Folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriás (LC-MS) módszer

A polifenolok extrahálása során 500 mg porított, föld feletti virágos hajtást 7,5 ml oldószerkeletben (metanol : víz = 3:2 (v/v)) 30 másodpercig homogenizáltunk. Az elegyet 20 percig ultrahanggal kezeltük és 15 percig centrifugáltuk (13,00 g). A kivonatot 0,45 µm pórusméretű szűrőn szűrtük (Mini-Uniprep, Whatman). A mintaelőkészítést háromszor ismételtük ($n = 3$). A mintákat 4 °C-on sötétben tároltuk az LC-MS vizsgálat elvégzéséig.

A vizsgált vegyület koncentrációit egy Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS (Agilent, USA) készülékhez kapcsolt, elektroporlasztásos (Jet stream ESI) ionforrással ellátott Agilent 1290 Infinity UHPLC-vel (Agilent, USA) végeztük. A kapott adatokat MassHunter szoftvert (Agilent, USA) segítségével elemeztük. A vegyületek elválasztásához Ascentis Express C18 oszlopot (50 mm × 2,1 mm, 2,7 µm, Supelco, USA) és Supelquard Ascentis C18 előtétoszlopot (20 mm × 2,1 mm, 3,0 µm, Supelco, USA) használtunk. Az elválasztásokhoz A mozgófázist (0,2% vizes hangyasavoldat) és B mozgófázist (0,2% metanos hangyasavoldat) alkalmaztunk az alábbi grádiens szerint: 0 perc 0% B, 15 perc 35% B, 30 perc 60% B, 40 perc 100% B, 45 perc 100% B, 45,1 perc 0% B és 50 perc 0% B. A mozgófázis áramlási sebessége 0,3 ml/perc, az oszlop hőmérséklete 50 °C, az injektált mintamennyiség 5 µl volt. A mozgófázis egy diódasoros detektoron áthaladva jutott a tömegspektrométerbe. A méréseket ESI(-) ionizációs eljárással végeztük, a spektrumokat m/z 50-1100 tartományban rögzítettük. Az optimális ESI-MS körülmények: kapillárisfeszültség +4,0 kV, nitrogén gáz hőmérséklete: 250 °C, szárító gáz áramlási sebessége: 8 l/perc (N₂), porlasztó gáz nyomása: 40 psig (N₂), köpenygáz hőmérséklete: 230 °C; köpenygáz térfogatárama: 11 l/perc és 1 Hz spektrumszint. A kimutatási határt (LOD) az alapvonalzaj háromszorosának megfelelő jelet adó koncentrációként határoztuk meg. A meghatározási határ (LOQ) az a legkisebb koncentráció, amely az alapvonalzaj minimum tízszeresének jelmagasságát adja, valamint megfelelő precizitással és helyességgel határozható meg. A vizsgálatok során az analitikai körülmények optimalizálását, a módszer validálását és a faj polifenolos komponenseinek meghatározását elvégeztük.

3.3.3. Összpolifenol-, összflavonoid- és cserzőanyag-tartalom meghatározása

A szárított növényi mintákból (föld feletti virágos hajtás, levél, gyökér, szár) 2,5-2,5 g-ot, a virágból 1,25 g-ot mértünk. A mintákat porítva 25 ml oldószerben (metanol, 50% etanol, desztillált víz) 20 percig, 40 °C-on ultrahangos vízfürdőben rázattuk (Nahita Digital Ultrasonic Bath). A kivonatokat 25 ml-re egészítettük ki a megfelelő oldószerrel.

Az összpolifenol-tartalom meghatározása során a kémcsövekbe 20 µl kivonatot, 1580 µl vizet és 100 µl Folin-Ciocalteu (FC) reagenst mértünk. 5 perc után 300 µl nátrium-karbonátot adtunk hozzá és összeráztuk. 2 órán át 20 °C-on állni hagytuk és az egyes oldatok abszorbanciáját JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 765 nm hullámhosszon mértük vakkal szemben. Az összpolifenol-koncentrációt galluszsavval készített kalibrációs egyenes egyenletéből számoltuk ki; az

eredményeket 100 g száraz anyagra vonatkoztatott galluszsav ekvivalensben (mg GAE/100 g) adtuk meg.

Az összflavonoid-tartalom meghatározást a X. Román Gyógyszerkönyv (F. R. X. 1993), *Cynarae folium* monográfiánál leírt flavonoid-meghatározás módosított módszerével végeztük. 500 µl kivonathoz adtunk 1000 µl 10% nátrium-acetátot (100 g/l) és 600 µl 25 g/l alumínium-kloridot, elegyítettük és hozzáadtunk 1400 µl metanolt és 1500 µl vizet. Az oldat abszorbanciáját 15 perc elteltével JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 430 nm hullámhosszon olvastuk le. Összehasonlító oldatként kivonatot nem tartalmazó reakcióelegyet használtunk. Az összflavonoid-koncentráció értékeket kvercetinrel készített kalibrációs egyenes egyenletéből számoltuk ki és kvercetin ekvivalens egységben (mg QE/100 g) határoztuk meg.

A cserzőanyag-tartalom meghatározás során 0,75 g földfeletti virágos hajtást porítva 150 ml desztillált vízben 30 percig melegítettük. A hűtött kivonatot 250 ml-re hígítottuk, majd szűrést követően a kivonat első 50 ml mennyiségét félretettük.

Az összpolidifenol meghatározása a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv (2003) módszere alapján készült. A szüredék 5 ml-ét desztillált vízzel 25 ml-re hígítottuk. A hígított oldat 2 ml-ét 1 ml foszfor-wolfrámsav reagenssel elegyítettük, ráztuk, majd nátrium-karbonát 290 g/l töménységű oldatával 25 ml-re hígítottuk. Az oldat abszorbanciáját 30 perc elteltével JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 760 nm-en mértük (A_1); összehasonlító oldatként vizet használtunk.

A bőrporra nem abszorbeálódó polifenolok vizsgálata során a szüredék 10 ml-ét 0,10 g bőrporral 1 órát erőteljesen ráztattuk és szűrtük. A szüredék 5 ml-ét vízzel 25 ml-re hígítottuk. A hígított oldat 2 ml-ét 1 ml foszfor-wolfrámsav reagenssel és 10 ml vízzel elegyítettük, majd nátrium-karbonát 290 g/l töménységű oldatával 25 ml-re hígítottuk. Az oldat abszorbanciáját 30 perc elteltével JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 760 nm-en mértük (A_2); összehasonlító oldatként vizet használtunk.

Összehasonlító oldatként pirogallolt alkalmaztunk: 50 mg pirogallolt 100 ml desztillált vízben oldottunk, majd az oldat 5 ml-ét desztillált vízzel 100 ml-re hígítottuk. A hígított oldat 2 ml-ét 1 ml foszfor-wolfrámsav reagenssel és 10 ml vízzel elegyítettük, majd nátrium-karbonát 290 g/l töménységű oldatával 25 ml-re hígítottuk. Az oldat abszorbanciáját 30 perc elteltével JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 760 nm-en mértük (A_3); összehasonlító oldatként vizet használtunk. Minden vizsgálatot háromszor végeztünk el. A százalékban kifejezett cserzőanyag-tartalmat pirogallolban kifejezve adtuk meg az alábbi képlet alapján:

$[62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2] / A_3 \cdot m_1$, ahol:

m_1 = vizsgálandó minta tömege grammban,

m_2 = pirogallol tömege grammban.

3.4. Az *O. arvensis* antioxidáns hatásának vizsgálata

Vizsgálatainkat a PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben és a Marosvásárhelyi “George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológia Egyetem, Gyógyszerészeti Kar, Farmakognózia és Fitoterápia Tanszékén végeztük. A növény föld feletti virágos hajtásának antioxidáns kapacitását három módszerrel határoztuk meg (ECL, DPPH, ORAC). A föld feletti virágos hajtás, levél, gyökér, szár és virág antioxidáns kapacitását ABTS módszerrel vizsgáltuk.

A vizsgálatok során 0,25 g növényi mintát porítottunk, amelyhez 5 ml 50% etanolt adtunk. Az oldatot 30 percig szobahőmérsékleten rázattuk (200 fordulat/perc). A kivonatot 0,45 μ m pórusméretű szűrőn (Mini-Uniprep, Whatman) szűrtük és a vizsgálatok megkezdéséig -20 °C-on tároltuk.

3.4.1. Kemilumineszcencián alapuló antioxidáns kapacitás mérése (ECL)

Peroxidáz és H₂O₂ oldatok: A vizsgálatokhoz 15 μ U/ml POD oldatot készítettünk 1mg/ml BSA-t tartalmazó foszfát pufferben (PBS, pH=7,4) hígítva, amelyet a mérésekig jégen tartottuk. 10 M H₂O₂-ot 0,1% citromsavval hígítottuk 1360 μ M koncentráció eléréséig és fénytől védve jégen tároltuk a stabilitás megőrzése céljából. A reagenseket mindig frissen készítettük a mérések előtt. A kemilumineszcenciás (ECL) reagenst luminol és *p*-iodofenol 0,2 M bórsav/NaOH pufferrel való hígításával állítottuk elő (pH=9,6) és hűtőszekrényben tároltuk. Standardként Troloxot használtuk, 1 mM Troloxot 50%-os etanolban oldottunk. A Trolox oldatot ugyanazzal az oldószerrel hígítottuk, amelyet a mintákhoz is használtunk.

ECL antioxidáns módszer: A kemilumineszcens reakciót 96 üregű fehér optikai lemez (Perkin-Elmer) segítségével végeztük. A használati enzim munkaoldatot/törzsoldatot és az ECL reagenst 200 μ l POD és 70 μ l ECL reagens arányában elegyítettük. Mindegyik üregbe 20 μ l Troloxot/vakot/mintát és 270 μ l POD-ECL reagenst pipettáztunk. A reakció automatikusan indult 20 μ l hideg H₂O₂ injektálásával. Az üregek végső koncentrációi a következők voltak: 0,97 μ U/ml POD, 101,6 μ M luminol, 406,4 μ M *p*-iodofenol, 88 μ M H₂O₂. A kemilumineszcencia jel intenzitását 20 percig követtük 64 másodperces időintervallumban.

3.4.2. DPPH[•] semlegesítésen alapuló antioxidáns kapacitás mérése

A vizsgálathoz 4 mg DPPH-t (Sigma-Aldrich) 100 ml metanollal (0,1 mmol/l, Sigma-Aldrich) elegyítettük, majd az oldatot hűtőben tároltuk. A Trolox standardokat (Sigma-Aldrich) 50% etanollal készítettük. A vizsgálatot egy lemezleolvasóhoz adaptáltuk, 96 üregű lemezeket (Sarstedt) alkalmazva. Mindegyik üregbe 20 µl Trolox standardot/vakot/mintát és 180 µl DPPH oldatot pipettáztunk, majd 30 perces 25 °C-on sötétben történő inkubálást követően az abszorbanciát 517 nm-en leolvastuk.

3.4.3. Oxigéngyök Abszorpciós Kapacitás módszer (ORAC)

A vizsgálathoz használt 4 µM Na-fluoresceint (FL) 75 mM K-foszfát pufferrel állítottuk elő (pH=7,5), amely egy hétig hűtőszekrényben tárolva stabil. Az FL oldatot közvetlenül a vizsgálat előtt készítettük el 1 : 99 arányú hígítással (40 nmol/l FL foszfát pufferben). Az AAPH előállítás is közvetlenül a vizsgálat előtt történt foszfát pufferrel (9,22 mM). Standardként Troloxot használtunk. A fekete optikai lemezek (Perkin Elmer) mindegyik üregébe 25 µl vak/standard/mintát és 150 µl hígított FL-t pipettáztunk, majd a lemezeket 20 percig 37 °C-ra előmelegítettük. A lemezek külső üregeibe 200 µl foszfát puffert adtunk és a vizsgálathoz csak a belső 6x10-es mátrixot használtuk a jobb hőmérséklet tartás érdekében. A vizsgálat automatikusan 25 µl AAPH injektálásával indult és a fluoreszcencia intenzitását 80 percig (490/520 nm) nyomon követtük 150 másodperces időintervallumokban. Az üregek végső koncentrációi a következők voltak: FL 30 nM, AAPH 1,15 mM.

3.4.4. ABTS^{•+} semlegesítésen alapuló antioxidáns kapacitás mérése

A szárított növényi mintákból (föld feletti virágos hajtás, levél, gyökér, szár, virág) készült kivonatok a 3.3.3. alfejezetben leírtak alapján készültek. A vizsgált növényi részek esetében vizes, etanolos és metanolos kivonatok antioxidáns kapacitását mértük. Az ABTS-nek káliumperszulfáttal történő oxidációja révén állítják elő a 2, 2'-azino-bisz- (3-etil-benzotiazolin-6-szulfonsav) (ABTS^{•+}) szabadgyököt, amelynek koncentrációja a protondonorként szolgáló antioxidáns vegyületek hatására csökken. Az ABTS törzsoldathoz (7 mM) 16,5 mg káliumperszulfátot (2,45 mM) desztillált vízben feloldottunk, az oldat 2,6 ml-ében feloldottunk egy 10 mg-os ABTS tablettát, majd szobahőmérsékleten és sötétben tároltuk 12-16 órán át. Ezt metanollal hígítottuk és JKI UV/VIS-752N spektrofotométeren 734 nm hullámhosszon detektáltuk etanollal szemben. A hígítást addig végeztük, míg az abszorbanciát 0,900±0,05 értékre sikerült beállítani; ez 50-100 ×-os hígításokat jelentett. A kapott hígítású törzsoldatból és a kivonatokból hígítási sort

készítettünk úgy, hogy a 2,6 ml ABTS oldathoz 25, 30, 35, 40, 50 µl kivonatot adtunk. A 2,6 ml törzsoldatból és a 100 µM-os C vitamin oldatból szintén hígítási sort készítettünk.

3.4.5. Műszeres háttér és az adatok értelmezése

Az ECL vizsgálatokhoz Biotek Synergy HT programozható injektorral ellátott lemezolvasó készüléket használtunk. A H₂O₂ injektálása után a fényintenzitást 20 percig figyeltük 64 másodperces mérési intervallumokban; az egyes mérések időtartama üregenként 0,2 másodperc. Az adatok számszerűsítéséhez egy hígítási sort végeztünk: 0-150 µM Trolox standardot 50% etanollal hígítottuk és a növényi kivonatok 32-szeres hígítását 50% etanollal készítettük el ($n = 12$ ismétlés/minta). A növényi kivonatok antioxidáns kapacitását a standardokra kapott regressziós egyenes egyenletéből számoltuk ki, megszorozva a hígítási tényezővel, és amelyet µM Trolox-egyenértékben (TE) kifejezve adtuk meg. A TE értéket 1 g száraz drogra vonatkoztattuk.

A DPPH vizsgálatokhoz Perkin-Elmer EnSpire Multimode olvasót használtunk. A Trolox standardot 50% etanollal használtuk; végleges koncentrációja üregenként 0-200 µM között mozgott. Az antioxidáns kapacitást a standardokra kapott kalibrációs egyenes egyenletével számoltuk ki, illetve meghatároztuk a minták antioxidáns kapacitását %-ban kifejezve a következő képlettel: $(A_{\text{vak}} - A_{\text{minta}}/A_{\text{vak}}) \times 100$ (Lu és mtsai 2014). A TE értékeket 1 g száraz drogra vonatkoztatva adtuk meg.

Az ORAC vizsgálatokhoz Biotek Synergy HT lemezolvasót használtunk. A fluoreszcencia intenzitását 80 percig 150 másodpercenkénti mintavétellel mértük. A TE számításakor a vakpróbák értékeinek fluoreszcens intenzitásait levontuk a Trolox standard értékéből, így a nettó görbe alatti területet (nAUC) használtuk az antioxidáns kapacitás számszerűsítéséhez. A vizsgált minták TE értékét a standardok regressziós egyenletéből számoltuk 1 g száraz drogra vonatkoztatva.

Az ABTS vizsgálatokhoz JKI UV/VIS-752N spektrofotométert használtunk. A hígítási sor abszorbancia értékét 6 perc után mértük, amely idő alatt a kivonatban levő antioxidánsok gátolták az ABTS szabadgyököt. A minták gátlási százalékát az alábbi képlet segítségével számoltuk ki:
Gátlási % = $A_{\text{vak}} - A_{\text{minta}} / A_{\text{vak}} \times 100$.

3.4.6. Statisztikai értékelés

Vizsgálatainkat háromszor ismételtük, az értékeket (átlag \pm SD) fejeztük ki, majd GraphPad Prism statisztikai program (páros t-teszt, Spearman-rangkorreláció) segítségével vizsgáltuk a kapott eredményeket. Szignifikancia határnak $p \leq 0,05$ értéket választottunk.

3.5. Mikrobiológiai vizsgálatok

Vizsgálatainkat a PTE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézetében végeztük. A szárított levelet és szárat porítottuk (3-3 g), a mintákhoz 27 ml metanolt adtunk, majd rázótermosztátba (New Brunswick) helyeztük (24 óra, 37 °C, 150 rpm). A szűrést és bepárlást követően (Buchi vákuumbepárló) 6 kivonatot kaptunk: metanolos, hexános, kloroformos, etil-acetátos, butanolos és vizes kivonatot. A bepárolt kivonatokot dimetil-szulfoxidban (DMSO) oldottuk fel. A szár és a levél különböző kivonatainak antimikrobás hatását *Staphylococcus aureus* (ATCC®25923), *Escherichia coli* (ATCC®25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC®27853), *Salmonella* Typhimurium (a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (Le Minor és Popoff) serovar. Typhimurium, rövidített tudományos neve ATCC®14028) baktériumtörzsekre és *Candida albicans* (ATCC® 90028) gombatörzsre vizsgáltuk.

3.5.1. Minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározása csőhígítás módszerével

A vizsgált kivonatok antimikrobás hatását felező hígítással vizsgáltuk a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) előírásai alapján. 1900 μ L Müller-Hinton 0,3%-os Tween 20 táptalajt kimértünk 6 kémcsőbe és 100 μ L növényi kivonatot adtunk az első kémcsőhöz, majd felező hígítással elkészítettük a sorozatot. A vizes kivonatok hígításához csak Müller-Hinton táplevest használtunk. A beoltáshoz mindegyik baktériumszuspenziót spektrofotométerrel (Novospec™ Plus Amersham Biosciences) 0.5 McFarland sűrűségűre standardizáltunk ($\sim 1.5 \times 10^8$ csíraszám CFU/ml), majd mindegyik kémcsőbe 10 μ L baktériumszuspenziót pipettáztunk. Beoltás után a kémcsövek kb $5 \times 10^{5-6}$ CFU/ml csíraszámot tartalmaztak (CLSI 2012). Egy éjszakán át tartó 37 °C-on történő inkubációt követően vizsgáltuk a csövek átláthatóságát/zavarosságát; utóbbi a baktériumok növekedését jelezte. A kioltás a zavarosságot nem mutató csövekből történt, így ellenőrizhettük le a kivonatok baktericid és/vagy bakteriosztatikus hatásait Müller-Hinton táptalajon. 37 °C-on történő 24 órás inkubációt követően ellenőriztük a telepek növekedését. A kivonatok hatását *C. albicans* növekedésére Sabouraud táplevesben ugyanezzel a módszerrel vizsgáltuk. Az oldószerhígítások antimikrobiális hatását is

ellenőriztük és eredményeinket összehasonlítottuk a növényi kivonatok hígításaival. A levél- és szárkivonatok esetében meghatároztuk a minimális gátló koncentrációt (MIC értéket), azaz azt a legkisebb koncentrációt (mg/ml), amely még képes gátolni a baktériumok növekedését. A vizsgálatok eredményei három kísérletsorból származnak.

3.5.2. Minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározása mikrohígítás módszerével

A szárított kivonatokat 2% DMSO-ban oldottuk, az oldószerekkel megegyező koncentrációban, majd a felező hígítást Müller-Hinton táplevessel 96 lyukú szövettenyésztő lemezekon végeztük. 1% DMSO-t tartalmazó tápfolyadékot alkalmaztunk kontrollként, majd a hígításokat és a kontrollként szereplő táplevest is beoltottuk. Egy éjszakán át tartó 37 °C-on történő inkubálás után ellenőriztük a lemezen lévő lyukakban a baktériumok szaporodását (zavarosság). Az egyes kivonatok hígítását minden törzs esetében háromszor ismételtük. Meghatároztuk a DMSO minimális gátló koncentrációját a tesztelt mikroorganizmusok esetében. A MIC értéket a mikroorganizmusok szaporodását nem jelző hígítások koncentrációi mutatták.

4. Eredmények és következtetések

4.1. Etnofarmakobotanikai adatok Homoródalmáson

Etnobotanikai gyűjtésünk során a felkeresett 60 adatközlő (11-95 évesek) között a népi gyógyító tudás jelentős részét az asszonyok őrzik. Terepmunkánk során összesen 161 növény- és 2 gombafajt, 11 állati- és 20 egyéb eredetű gyógymódot jegyeztünk fel. A növények között 97 gyógynövényt (humán gyógyászat: 92 taxon, állatgyógyászat: 20 taxon), 45 élelmiszer-, 14 takarmány- és 7 festőnövényt említettek. A felhasznált 13 növényi rész között szerepeltek: gyökér, gyöktörzs, hagyma, gumó, föld feletti hajtás, ágvég/rügy, gyanta, levél, virág, termés, áltermés, mag, kéreg, amelyek közül leggyakrabban a föld feletti hajtás került említésre. A feljegyzett 12 betegségcsoport közül leggyakrabban emésztőrendszeri betegségek esetén alkalmaznak gyógynövényeket. Az ismertetett 6 készítménytípus között a teaőzetet említették leggyakrabban: egyes fajokat egykomponensű teaként, másokat keverékként alkalmaznak. Emellett feljegyzésre kerültek borogatók, szirupok, tinktúrák, kenőcsök és fürdők. A tudásanyag nagy része örökölt tudás, de keveredik ma már pl. médiaelemekkel is.

Irodalmi adatokkal összevetve 33 faj szerepel a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben (2003), 95 fajra vonatkozóan találtunk kutatási eredményeket és alkalmazási módokat elsősorban farmakológiai közleményekben, illetve 2 faj esetében nem találtunk adatot.

A dolgozatban szereplő növényfajok ismertetése az alábbiak szerint történt: tudományos és hivatalos magyar név után a tudományos és magyar családnév szerepel. A népi elnevezéseket és a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben hivatalos drogneveket dőlt betűvel szedtük. A *Népgyógyászati adatok* rovatban összegeztük az adott fajhoz kapcsolódó népi megfigyeléseket, tapasztalatokat; helyenként az adatközlők szó szerinti idézeteit is beemeltük, ezeket idézőjelben, *dőlt* betűvel és zárójelben magyarázattal jelöltük. Az *Alkalmazás* címszó alatt olyan releváns forrásmunkákból válogattunk a teljesség igénye nélkül az utóbbi 20 évből, amelyek a növények etnobotanikai adataihoz kapcsolódva alátámasztják a fajok biztonságos alkalmazását vagy napjainkban zajló farmakológiai vizsgálataikat. Mintacikkely a dolgozatból:

***Arnica montana* L. / hegyi árnika (Asteraceae/fészekvirágzatúak)**

Népi elnevezés: *árnyika*

Drog: *Arnicae flos* (Ph. Hg. VIII.)

Készítménytípus: tinktúra (hivatalos formában: *Arnicae tinctura*, Ph. Hg. VIII.)

Népgyógyászati adatok: virága szeszben vagy házi pálinkában gargarizálásra, torokgyulladásra

Alkalmazás: száj- és toroköblögetésre, főleg külsőleg, serkenti a hámképződést. Kenőcsök készülnek belőle (Szabó 2005). A növény kivonata antibakteriális, tumorgátló, antioxidáns, gyulladásgátló, gombaellenes és immunmoduláló aktivitást mutat (Kriplani et al 2017).

A helyi orvoslásban említett állati és egyéb eredetű gyógymódok a dolgozat Mellékletében szerepelnek.

4.2. A mezei iglice szövettani eredményei

A másodlagosan vastagodott gyökér bórszövege, a periderma alatt kéreg található, amely közel 10 sejtsoros parenchimarétegből áll. A bélszövetet centrálisan vastag falú, szklerenchimatikus sejtek alkotják. A sztéle oligarch, a szállítószöveti elemek között parenchimatikus szövet, fejlett és szabályos szerkezetű bélsugarak találhatóak.

A másodlagosan vastagodott szár egysejtsoros epidermiszsejtjei lapítottak, anizodiametrikusak. A 3-4 sejtsorban húzódo lemezes kollenchima lapított sejtjei kérget képeznek az epidermisz alatt. Az izodiametrikus parenchimasejtjek között félhold alakban elhelyezkedő szklerenchimasejtjek koncentrikus körbe rendeződnek, összefüggő gyűrűt képezve az edénynyalábok epidermisz felé néző részén. A szállítószövet elemei folytonos fa- és hánctestet alkotnak, amelyek között néhány sejtsorban kambium húzódik. Az edénynyalábok között bélsugarak, míg a szár központi részén bélparenchima található. A laza bélszövetet vékonyfalú izodiametrikus parenchimasejtjek alkotják, amely a növényi alapszövetek legkevésbé differenciált típusa. A hajtást ricinus típusú szárvastagodás jellemzi, magába foglalva a faszikuláris és interfaszikuláris kambiumot, amely koncentrikus köröket képez az edénynyalábokban és az edénynyalábok között.

A levél színi és fonáki epidermiszrétegét lapított sejtek alkotják, amelyeket vékony kutikula borít mindkét oldalon. A fonáki oldalon gázcsere nyílások helyezkednek el, ahol a babszem alakú zárósejt melléksejtjeinek száma 3. A sztómák mezomorf helyzetűek. A bőrszövet sejtjei a fonákon oldalirányban nagy felületen kapcsolódnak egymáshoz, az oldalfalak enyhén hullámosak. A lomblevelekre vastag, hosszú, elágazó szállítónyalábok jellemzőek. A derített levél szerkezetében jól megfigyelhető a tracheák spirális sejtfalvastagodása. A levél színi, adaxiális oldalát többsejtű, el nem ágazó fedőszőrök és fejes mirigyszőrök borítják. A lomblevél dorziventrális szerkezetű. A heterogén mezofillumban kétsejtsoros paliszád parenchima és 4-6 sejtsorban izodiametrikus szivacsos alapszöveti sejtek helyezkednek el, sejtközötti járatokkal. A kollaterális zárt edénynyalábokat szklerenchimasejtjek veszik körül, védőhüvelyt képezve.

A levélgerincet mindkét oldalon egysejtrétegű epidermisz borítja. A mezofillumban a kollaterális zárt edénynyalábokat izodiametrikus parenchimasejtjek és sejtközötti járatok veszik körül, ami a levélgerinc széleire is kiterjed. A levélgerinc merevítését szklerenchimasejtjek biztosítják.

A szárat körülölelő levelek alján a pillangósvirágúak családjára jellemző párhák figyelhetők meg. Az epidermisz mindkét oldalon egysejtrétegű. A mezofillum csak szivacsos parenchimasejtekből épül fel sejtközötti járatokkal. A lomblevélhez hasonlóan a mezomorf helyzetű sztómák az abaxiális oldalon találhatóak.

A virágtakaró leveleinek vizsgálata során a csészeleveleken el nem ágazó mirigyszőrök és a kolléterek láthatók, amelyek az epidermisz függelékei. A csészelevelek és a szíromlevelek tracheáit spirális sejtfalvastagodás jellemzi. A szíromlevelek anizodiametrikus epidermiszsejtjei

egy sejtsorban helyezkednek el. A sztómák mezomorf helyzetűek. A központi rész 4-5 sejtsorban elhelyezkedő izodiametrikus parenchimasejtekből és kollaterális edénnyalábból épül fel.

A pollenszemek átmérője 20-25 μm ; izopolárisak, azaz az exine proximális és disztális felszíne megegyezik. Alakjuk ekvatoriális nézetben prolát, a poláris tengely nagyobb az ekvatoriális átmérőnél, poláris nézetben pedig kör alakú. A száraz pollen alakja prolát, poláris nézetben lobát, és süllyedt apertúrák láthatók. A felnyílást tekintve trikolporát apertúra a jellemző: a felszínen ectocolpus és egy vagy több endoapertúra látható.

4.3. A mezei iglice fitokémiai vizsgálatának eredményei

Az *O. arvensis* kivonatokban VRK módszerrel sikerült azonosítani a kávéssav, klorogénsav, rutin és hiperozid jelenlétét.

Az LC-MS vizsgálatok során az analitikai körülmények optimalizálását, a módszer validálását és a faj polifenolos komponenseinek molekulatömeg alapján történő azonosítását és mennyiségi meghatározását végeztük el. Összesen 19 polifenolos vegyületet azonosítottunk és kvantifikáltunk a növény föld feletti hajtásában, amelyek között legnagyobb mennyiségben eriodiktiol fordult elő. Ezenkívül 5 fenolkarbonsav (galluszsav, kávéssav, klorogénsav, ferulasav, *p*-kumársav), 2 flavanon (eriodiktiol mellett naringenin), 4 flavonol (dihidro-kvercetin, rutin, kvercetin, kempferol), 2 flavon (luteolin, apigenin), két 3-flavanol (katechin, epikatechin), egy dilakton (ellágsav), egy dihidrokalkon (floridzin) és két stilbén származékot (piceid, *transz*-rezveratrol) azonosítottunk.

A növény vizsgált polifenoljai közül a domináns eriodiktiolt, valamint a naringenint, floridzint, piceidet és *transz*-rezveratrolt új vegyületként elsőként sikerült azonosítani a fajban.

Meghatároztuk és összehasonlítottuk a fajban továbbá a különböző növényi részek összpolicifonol-, összflavonoid- és cserzőanyag-tartalmát. A vizsgált részek közül a virág etanolos kivonata a legnagyobb polifenol-tartalmat, míg a virág etanolos kivonata és a föld feletti virágos hajtás a legnagyobb összflavonoid-tartalmat mutatta. A föld feletti virágos hajtás cserzőanyag-koncentrációja alacsony értéknek bizonyult.

4.4. A mezei iglice antioxidáns vizsgálatának eredményei

Irodalmi forráskutatás és ismereteink alapján először írtuk le a mezei iglice antioxidáns kapacitását különböző módszerekkel. A föld feletti virágos hajtás 50% etanolos kivonata hasonló gyökfogó hatást fejtett ki DPPH és ECL módszerrel, de jelentősen magasabb értékeket mértünk ORAC

módszerrel. ABTS módszerrel vizsgálva legnagyobb antioxidáns kapacitással mindhárom kivonat esetében (etanol, metanol, víz) a virág rendelkezett, míg alacsony értéket mértünk a gyökér vizes kivonata esetében. Az etanolos és metanolos kivonatok jelentősen nagyobb antioxidáns hatással rendelkeztek, mint a vizes kivonatok minden vizsgált növényi rész esetében. Az összflavonoid tartalom és az ABTS antioxidáns értékek között szignifikáns korrelációt találtunk. A jövőben szükségeszerű meghatározni és jellemezni azon aktív komponenseket, amelyek felelősek lehetnek az antioxidáns aktivitásért. Előzetes eredményeink alapján az *O. arvensis* új antioxidánsok potenciális forrása lehet, további vizsgálatokkal alátámasztva.

4.5. A mezei iglice mikrobiológiai vizsgálatának eredményei

A levél kloroformos kivonata erőteljes gátló hatást mutatott *Escherichia coli* és *Candida albicans* ellen (MIC = 51 µg/ml és 12,75 µg/ml). A levél hexános kivonata csak *C. albicans* ellen volt hatásos (MIC = 8 µg/ml), míg az etil-acetátos kivonat 74 µg/ml és 37 µg/ml koncentrációban gátolta a *Staphylococcus aureus* és *C. albicans* növekedését.

A szár etil-acetátos kivonata alacsony koncentrációban (MIC = 16 és 8 µg/ml) hatásos volt *S. aureus* és *C. albicans* ellen. A szár kloroformos kivonata csak *Pseudomonas aeruginosa* növekedésére volt gátló hatással 43,5 µg/ml koncentrációban. A majdnem azonos koncentrációjú (46,5 µg/ml) butanolos kivonat gátolta a *Salmonella Typhimurium* növekedését. Ezen kivonatok minimális gátló koncentrációja a vizsgált mikroorganizmusokkal szemben magasabb volt bármely más hatékony antibiotikum vagy gombaellenes szernél, amelyek MIC értéke 0,03 és 8 µg/ml között van. Nem sikerült antimikrobás hatást kimutatni a metanolos és vizes kivonatok vizsgálata során, továbbá a szár hexános és DMSO-val készült kivonatai esetében sem. A többi kivonat hasonló antimikrobás hatást mutatott, mint az azonos koncentrációjú hígított oldószer.

Tudomásunk szerint első alkalommal jegyeztük le ezen kivonatok antimikrobás hatásait *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* és *Candida albicans* ellen. A DMSO-ban oldott kivonatok nem mutattak antimikrobás hatást azon koncentrációkban, amelyek a baktériumok növekedését gátolták a kivonó oldószerrel. Az *O. arvensis* bizonyos kivonatai alacsony koncentrációban kiválthatják vagy fokozhatják az alacsony koncentrációjú oldószer antimikrobás hatását. Összegezve a kapott adatok az *O. arvensis* antimikrobás aktivitásának ígéretes jelentőségét hangsúlyozzák a vizsgált mikroorganizmusokkal

szemben. Előzetes eredményeinket a jövőben további átfogó tanulmányokkal szükséges alátámasztani.

5. Új megállapítások

- Erdélyben, a Hargita megyében fekvő Homoródalmáson elsőként végeztünk etnofarmakobotanikai gyűjtőmunkát, amely során összesen 97 gyógynövény / 161 növényfaj etnofarmakobotanikai adatait jegyeztük fel a helyi humán- és állatgyógyászatban.
- Irodalmi adatokkal összevetve 33 faj szerepel a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben, 95 fajra vonatkozóan találtunk kutatási eredményeket és alkalmazási módokat elsősorban farmakológiai közleményekben, illetve 2 faj esetében nem találtunk adatot.
- Az általunk lejegyzett etnobotanikai adatok és népgyógyászati tudás erdélyi és nemzetközi gyűjtések tekintetében is a térség gazdag tudáskincséről tanuskodik, amely alátámasztja a gyűjtések szükségszerű és értékmentő szerepét.
- A terepi gyűjtőutak adatainak dokumentálása, értékelése és hivatalos forrásmunkákkal való összevetése során fitokémiai és farmakológiai szempontból értékes fajok további vizsgálatára kerülhet sor, mint a dolgozatban kijelölt *Ononis arvensis* (mezei iglice) esetében.
- Elsőként készítettük el a mezei iglice gyökér, szár, lomblevél, levélgerinc, pálha, virág és pollen szövettani jellemzését.
- VRK módszerrel sikerült azonosítani a fajban kávésav, klorogénsav, rutin és hiperozid jelenlétét.
- Az LC-MS vizsgálatok során az analitikai körülmények optimalizálását, a módszer validálását és a faj polifenolos komponenseinek molekulatömeg alapján történő azonosítását és mennyiségi meghatározását végeztük el. Összesen 19 polifenolos vegyületet azonosítottunk és kvantifikáltunk a növény föld feletti hajtásában.
- A növény vizsgált polifenoljai közül a domináns eriodiktiolt, valamint a naringenint, floridzint, piceidet és *transz*-rezveratrolt új vegyületként elsőként sikerült azonosítani a növényben.

- Meghatároztuk és összehasonlítottuk a mezei iglice különböző növényi részeiben az összpolicfenol-, összflavonoid- és cserzőanyag-tartalmat.
- Irodalmi forráskutatás és ismereteink alapján elsőként írtuk le a mezei iglice antioxidáns kapacitását DPPH, ECL, ORAC és ABTS módszerekkel.
- Tudomásunk szerint első alkalommal jegyeztük le a szár- és levélkivonatok antimikrobiális hatásait *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* és *Candida albicans* törzsek ellen.
- A vizsgált faj eddigi eredményei hozzájárulnak jelen ismereteink bővítéséhez; előzetes eredményeinket a jövőben további átfogó tanulmányokkal szükséges alátámasztani.

6. Köszönet

Hálával tartozom témavezetőmnek, dr. Papp Nórának, aki az erdélyi etnofarmakobotanikai kutatás szenvedélyes irányítója; akitől elsajátítottam a gyűjtés módszertanát, mély tisztelettel fordulva az idős generáció felé. Köszönöm, hogy a kutatócsoport része lehettem és a PTE GYTK Farmakognóziai Intézetben végezhettem vizsgálataimat. Szakmai alázata, ösztönző támogatása, lelkesedése nagyban segítette munkámat. Ugyanakkor hálával tartozom társtémavezetőmnek, dr. Varga Erzsébetnek, aki szakmai igényességgel, pontossággal irányította munkámat. Köszönöm, hogy a Marosvásárhelyi “George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológiai Egyetem, Gyógyszerészeti Kar, Farmakognózia és Fitoterápia Tanszéke lehetővé tette a laboratóriumi vizsgálatok elvégzését.

Köszönettel tartozom Homoródalmás lakóinak, adatközlőinknek, akik növényteni ismereteik mellett olykor a múlt megközelíthetetlennek vélt valóságába engedtek betekintést nyernünk, feltárva kincseiket, értékeiket, emlékeiket. Köszönjük nyitottságukat, hogy bizalmukba fogadtak. Sokat gazdagodtunk általuk.

Köszönetet mondok a szövettani vizsgálatokban nyújtott segítségéért Balázs Viktória Lillának és dr. Farkas Ágnesnek (PTE GYTK Farmakognóziai Intézet), a fitokémiai vizsgálatokban dr. Boros Borbálának (PTE TTK Analitikai és Környezeti Kémia Intézet) és dr. Fogarasi Erzsébetnek (Marosvásárhelyi “George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológiai Egyetem, Gyógyszerészeti Kar, Toxikológia és Biofarmácia Tanszék) a statisztikai elemzésért és szakszerű meglátásaiért. Az antioxidáns vizsgálatokban és az adatok értékelésében nyújtott

segítségért hálával tartozom Prof. dr. Kószegi Tamásnak és dr. Sali Nikolettnek (PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézet).

Köszönet illeti dr. Bartha Sámuel Gergelyt (PTE GYTK Farmakognóziai Intézet) a mikrobiológiai vizsgálatokban nyújtott türelmes segítségért, és dr. Kerényi Mónikát az eredmények értékelésében, értelmezésében nyújtott hathatós szakmai segítségért (PTE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet).

Köszönöm szüleimnek, hogy biztosították a szellemi háttérrel és kitartó munkára ösztönöztek. Köszönöm Istennek, hogy gyarapította az erőt lelkemben, férjemnek, aki mindvégig hitt bennem, és gyermekeimnek: Gyopárnak, Csongornak és Gellértnek, akiből mindvégig erőt meríthettem a dolgozatírás hosszú, fáradtságos időszakában.

7. Saját közlemények listája

A PhD dolgozat alapjául szolgáló közlemények

Papp N, Czégényi D, Tóth M, **Dénes T**, Bartha SG, Csepregi R, Gyergyák K, Bukovics P, Stranczinger S, Varga E, Kindler-Matavovsky Á, Birkás-Frendl K, Filep R (2021): Ethnomedicinal survey on folk dermatology in Transylvania, Romania. *In Press: Clinics in Dermatology* [IF: 3,541; osztva saját pontszám: 3,00]

Dénes T, Papp N, Fogarasi E, Marton SE, Varga E (2021): Phytochemical investigation and antioxidant potential of *Ononis arvensis* L. *In Press: Farmacia* [IF: 1,433]

Papp N, Sali N, Csepregi R, Tóth M, Gyergyák K, **Dénes T**, Bartha SG, Varga E, Kaszás A, Kószegi T (2019): Antioxidant potential of some plants used in folk medicine in Romania. *Farmacia*, 67(2): 323-330. [IF: 1,27; osztva saját pontszám: 0,324]

Dénes T, Bartha SG, Kerényi M, Varga E, Balázs VL, Csepregi R, Papp N (2017): Histological and antimicrobial study of *Ononis arvensis* L. *Acta Biologica Hungarica* 68(3): 321-333. [IF: 0,506]

Papp N, Tóth M, **Dénes T**, Gyergyák K, Filep R, Bartha SG, Csepregi R, Balázs VL, Farkas Á (2017): Ethnomedicinal treatment of gastrointestinal disorders in Transylvania, Romania. *Acta Ethnographica Hungarica* 62(1): 207-220.

Dénes T, Papp N, Marton K, Kaszás A, Felinger A, Varga E, Boros B (2015): Polyphenol content of *Ononis arvensis* L. and *Rhinanthus serotinus* (Schönh. ex Halácsy & Heinr. Braun) Oborny

used in the Transylvanian ethnomedicine. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 30(1): 1301-1307.

Gyergyák K, **Dénes T**, Kondorosy F, Wirth T, Farkas Á, Papp N (2015): *Thymus, Mentha* és *Salvia* fajok népgyógyászati adatai a Homoród-völgyéből. *Kaleidoscope E-journal, Művelődés-, Tudomány- és Orvostörténeti Folyóirat, Journal of History of Culture, Science and Medicine* 10: 257-269.

Dénes T, Tóth M, Gyergyák K, Lőrincz P, Varga E, Papp N (2014): Szemelvények Homoródalmás (Erdély) népi gyógynövényismeretéből. *Botanikai Közlemények* 101(1-2): 227-241.

Papp N, **Dénes T**, Gyergyák K, Varga E (2014): Kertészeti vonatkozású etnobotanikai adatok a Homoród-völgyéből (Erdély). *Kertgazdaság* 46(2):60-69.

Dénes T, Varga E, Gyergyák K, Papp N (2014): Ethnobotanical studies in the villages of Homoród-valley, Romania. *Index Seminum. University of Medicine and Pharmacy of Târgu Mureș, Targu Mures, Romania*, pp. 37-43.

A dolgozat alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 5,263

A PhD dolgozat alapjául szolgáló előadások és posztterek

Dénes T, Varga E, Papp N (2021): Homoródalmás népi növényismerete; az *Ononis arvensis* L. fitokémiai jellemzése. Növények és egészség az ókori Egyiptomtól napjainkig konferencia, Budapest, 2021. október 14-16. (előadás)

Papp N, Balázs VL, Bartha SG, Bencsik T, **Dénes T**, Filep R, Gyergyák K, Patay ÉB, Joós-Békésiné Kallenberger H, Tóth M, Farkas Á (2017): Gyógynövények hisztológiai értékelése-oktatás és kutatás a pécsi Farmakognóziai Intézetben. XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium, Budapest, Magyarország, 2017. szeptember 7. ELTE TTK Biológiai Intézet, p. 12. (előadás)

Papp N, Csepregi R, **Dénes T**, Tóth M, Bartha SG, Gyergyák K, Czégényi D (2016): Relevance of Transylvanian plants in the European ethnomedicine. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries 9th CMAPSEEC, Plovdiv, Bulgaria, 2016. május 26-29. Abstract Book: SL 3. (előadás)

Dénes T, Kerényi M, Bartha SG, Varga E, Papp N (2016): Ethnobotanical and microbiological study of *Ononis arvensis* L. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries 9th CMAPSEEC, Plovdiv, Bulgaria, 2016. május 26-29. Abstract Book: PP 23. (poster)

Dénes A, Varga A, Bartha SG, Tóth M, **Dénes T**, Papp N (2015): Rózsa- és galagonyafajok a magyar népi táplálkozásban / Rose and hawthorn species in the traditional Hungarian foods. I. Rózsa- és galagonya-konferencia a Kárpát-medencében - nemzetközi konferencia. 2015. május 29–30. Gödöllő. Abstract Book: pp. 230-232. (poster)

Sali N, Csepregi R, Tóth M, **Dénes T**, Kaszás A, Bartha S, Kőszegi T, Papp N (2015): Antioxidant activity of plants used in the Transylvanian ethnomedicine. 7th International Student Medical Congress in Košice. 2015. június 24-26. Kassa, Szlovákia. Folia Medica Cassoviensia, Tomus 70, No. 1, Supl. 1, p. 244. (poster)

Papp N, Tóth M, **Dénes T**, Bartha S, Varga E, Gyergyák K (2015): Studii etnobotanice si fitochimice ale drogurilor recoltate din Transilvania. Simposium de Fitoterapia – Actualitati in fitoterapie, Cséfa, 2015. július 4. (előadás)

Dénes T, Varga E, Sali N, Kőszegi T, Papp N (2015): Az *Ononis arvensis* L. hisztológiai és fitokémiai vizsgálata etnobotanikai adatok alapján. Fiatal Gyógynövénykutatók Fóruma, Budakalász, 2015. június 24. (előadás)

Papp N, **Dénes T**, Kaszás A, Bartha SG, Varga E, Boros B (2014): Study of some medicinal plants used in the Transylvanian ethnobotany. 6th ICEB Congress, 2014. november 17-21. Cordoba, Spain. Abstract Book: p. 277-278. (előadás)

Dénes T, Varga E, Gyergyák K, Papp N (2014): Népi gyógynövényhasználat Homoródalmáson. Orvos- és Gyógyszerésztudományi Szakosztály XXIV. Tudományos Ülésszak, Marosvásárhely 2014. április 24-26. Abstract Book: p. 10. (előadás)

Gyergyák K, **Dénes T**, Farkas Á, Papp N (2014): Occurrence and ethnobotanical data of *Thymus* taxa along the Nagy-Homoród river (Romania). 6th ICEB Congress, 2014. november 17-21. Cordoba, Spain. Abstract Book: p. 309-310. (poster)

Dénes T, Varga E, Gyergyák K, Papp N (2014): Ethnobotanical inventory in Merești, Romania. 6th ICEB Congress, 2014. november 17-21. Cordoba, Spain. Abstract Book: p. 305-306. (poster)

Dénes T, Boros B, Felinger A, Varga E, Papp N (2014): *Phytochemical Analysis of Polyphenols from Ononis arvensis* L. (Analiza fitochimică a polifenolilor din *Ononis arvensis* L.). XVth Congresul Național de Farmacie din România, 24-27 septembrie 2014, Complex Palas, Iași, Romania. Abstract Book: p. 106. (poster)

Budán F, Bartha SG, Andreidesz K, Bufa S, **Dénes T**, Varga E, Papp N (2014): Légúti megbetegedések kezelése népgyógyászati és tudományos megközelítés. Fiatal Higiénikusok Fóruma X. Pécs, 2014. május 14-16. Egészségtudomány 58(2): 85. (poster)

Dénes T, Papp N, Varga E (2014): Az *Ononis arvensis* L. hisztológiai jellemzői. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XV. Budapest, 2014. április 10-12. *Gyógyszerészet Supplementum*: p. 84. (poster)

Gyergyák K, Wirth T, **Dénes T**, Farkas Á, Papp N (2014): *Thymus* taxonok előfordulása és etnobotanikai adatai a Nagy-Homoród mentén. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében X. Sopron, 2014. március 7-9. Abstract Book: p. 156. (poster)

Független hivatkozások száma: 8