

Opponensi vélemény

Balogh György Tibor

Új lehetőségek hatóanyagok fizikai-kémiai jellemzésére a gyógyszerkutatásban

MTA doktori értekezéséről

A Jelölt *”Új lehetőségek hatóanyagok fizikai-kémiai jellemzésére a gyógyszerkutatásban”* címmel nyújtotta be értekezését. Az alapvetően gyógyszeripari környezetben végzett kutatási tevékenysége a gyógyszerkutatás korai fázisában történő fizikai-kémiai paraméterekkel leírható hatóanyag jellemzésre (Lead profiling) összpontosult, melynek elsődleges célpontja a gyógyszerjelölt vegyületek ADME/T (Felszívódás, eloszlás, metabolizmus, kiválasztás, toxicitás) sajátosságainak előrejelzése, összhangban az ipari gyógyszerkutatás nemzetközi elvárásaival és eredeti gyógyszerkutatási stratégiájával, valamint infrastruktúrájával.

Eredményeit 3 fő fejezetben foglalta össze, amelyeknél jelölte a vonatkozó tézisek alapját képező közleményeket, azok IF értékeivel és a független hivatkozások számával.

Az *első fejezet* a hatóanyagok farmakokinetikai értelemben vett belépési kapukon történő átjutásának, illetve egyes szövetekbe történő eljutásának modellezésére irányul. Négy különböző szövetspecifikus – bőrön keresztüli, szájüregi vagy bukkális, a központi idegrendszeri hatás kifejeződésében fontos, vér-agy gáton történő, továbbá a szemszöveti készítmények felszívódása kapcsán elsődleges, szaruhártya permeabilitást előrejelző –, transzportfolyamatot leíró PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay) modellek finomhangolásával foglalkozott.

A *második fejezetben* a nagy kémiai diverzitású, komplex növényi kivonatok vizsgálatára olyan fizikai-kémiai szűrőrendszerek kifejlesztésének az eredményeit mutatja be, melyek nemcsak megfelelő szelektivitással és áteresztőképességgel rendelkeznek, hanem korszerű, jellemzően nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC), illetve ahhoz kapcsolt spektrofotometriás és szerkezeti információt szolgáltató spektroszkópiai módszerekhez is könnyen kapcsolhatóak. Így diverz kémiai teret lefedő, változatos flóragyűjteményen új központi idegrendszer-specifikus hatóanyagok izolálását és szerkezetazonosítását tudta megoldani.

A *harmadik fejezetben* vizsgálatai a hatóanyagok, illetve makromolekulák sav-bázis karakterének jellemzésére irányultak, melyek szelektív komplexképző sajátosságuk révén segíthetik a gyógyszeryszerű vegyületek enantioszelektív elválasztását, izolálását (koronaéterek), illetve javíthatják azok oldhatóságát, felszívódását és stabilitását (ciklodextrinek) a fiziológiásan fontos vízterekben vagy tárolásuk során.

A dolgozat a munkásság kiemelkedően jó összefoglalása, amelynek illusztrálására 43 ábrát és 20 táblázatot használ, valamint 301 releváns, irodalmi hivatkozást idéz, amelynek döntő többsége az elmúlt két évtizedben megjelent folyóirat közlemény.

Kritikai észrevételeim, amelyek a munka valódi értékét nem csökkentik.

1. Hasznos lett volna egy Rövidítések jegyzékét és egy Fogalommagyarázatot a dolgozat elején szerepeltetni. Ez megkönnyítené a dolgozatban szereplő utalások, különösen a modellfejlesztéshez használt adatbázisok (ld. SP1 Table 2-4, amely pl. az 1. idézett saját publikációban szereplő táblázatban foglalt hatóanyagokra utal), valamint az *in*

silico fizikai-kémiai paraméterek értelmezését (pl. TPSA= topológiai poláros felszín terület, ami topológiai poláris felszín terület).

2. A vegyülettulajdonságok jellemzésénél több helyen szerepel a poláros, vagy apoláros kifejezés, ami helyesen poláris vagy apoláris.
3. Az internetes hivatkozásoknál nem szerepel a letöltés időpontja.
4. A 17. oldalon szereplő permeabilitási koefficiens (K_p) meghatározására szolgáló összefüggés nem kapott számozást.
5. Az 56. oldalon szereplő *Solanum dulcamara* (ebszőlő), helyesen *Solanum dulcamara*.

Kérdések:

1. A bőr-PAMPA modell kialakításánál a dodekán szilikon olajra történő cseréjét mi indokolta? Miért nem más, hidrofílebb C-tartalmú vegyületre esett a választás?
2. Mivel magyarázza, hogy a PVP-HPBCD öntött filmből történő risperidon permeabilitási eredménye jobb, mint az azonos összetételű szálas formulációból? A bukkális hatóanyag-hordozó rendszer oldódási sebessége és a hatóanyag felszívódás mértéke között milyen összefüggést tapasztalt? A bukkális permeabilitási modellnél a formuláció membránfelületen történő kontakt idejének meghatározásával javítható-e a modell előrejelző képessége?
3. Milyen gyógyszerforma paraméterek figyelembe vételével lehetne a hatóanyag-permeabilitási modelleket gyógyszerkészítményekre is kiterjeszteni?

Az alábbi tézispontokat újnak ismerem el:

1. A ceramidok, mint szintetikus ceramid analógok membránalkotóként történő alkalmazásával sikerült egy olyan robusztus, nagy áteresztőképességű bőr-PAMPA modellt kialakítani, ami az *ex vivo* humán bőr permeabilitási vizsgálatok eredményét jól visszaadja, így a gyógyszerkutatás számára alkalmas eszközként használható.
2. A vizsgálatok alapján sikerült kidolgozni egy robusztus, nagy áteresztőképességű, egykomponensű, n-dodekánt, mint mesterséges oldószermembránt tartalmazó PAMPA modellt, ami alkalmas *ex vivo* sertés bukkális mukózán keresztüli hatóanyag felszívódás modellezésére.
3. A PAMPA-BBB rendszer fejlesztése során optimalva az inkubációs időt és hőmérsékletet, a mesterséges membrán összetételét, továbbá a donor és fogadó oldali közegben segédoldószerként használt DMSO mennyiségét sikerült egy, a korábbi *in vitro* nem sejtes permeabilitási modellekhez viszonyítva előrejelző-képesség és mérési ciklusidő tekintetében is kedvezőbb modellt kialakítani CNS-specifikus gyógyszerjelölt vegyületek permeabilitásának jellemzésére.
4. A foszfolipidózis (PLD) kockázat előrejelzésére irányuló modellfejlesztése során sikerült bizonyítani, hogy a (pH 7,4 → pH 4,0) gradiens pH elrendezésű PAMPA modell alkalmas a PLD citoszol → lizoszóma irányú transzport mechanizmusának modellezésére. A PAMPA modellben álpozitív és álnegatív eredményt adó hatóanyagok esetében irodalmi adatokkal és saját mérési eredményekkel is sikerült igazolnia a metabolizmus szerepét a PLD kockázat változásában.
5. A PAMPA-BBB modell alkalmazhatóságát sikerült kiterjeszteni növényi eredetű hatóanyagok BBB penetrációjának jellemzésére is, továbbá igazolta szelektivitását fitokémiai értelemben is. Az eredmények alapján igazolta, hogy az általuk kialakított

- PAMPA-BBB – HPLC-MS – NMR kaszkád egy új, hatékony megoldást nyújthat a természetes anyagokból kiinduló központi idegrendszeri gyógyszerkutatásban.
6. A PAMPA-BBB - HPLC-MS/MS kapcsolt technika segítségével Ginkgo biloba standardizált kivonatokon azonosított olyan BBB+ biomarkereket, melyek megfeleltek az *in vivo* farmakokinetikai, illetve neurobiológiai hatásukra vonatkozó leírásoknak. Vizsgálatai alapján G. biloba kivonatokban elsőként írtak le négy tiramin származékot, melyek ismert adrenerg és MAO-gátló hatásai alapján sikerült rámutatni lehetséges szerepükre a ginkgo kivonatok vaszkuláris és antidepresszáns hatásában, illetve a kandicin példáján a neurotoxikológiai kockázatokra.
 7. A PAMPA-BBB modellben kapott permeabilitási adatok, *in silico* fizikai kémiai és clogBB paraméterek, illetve gyógyszer-szerűségekre vonatkozó szabály felhasználásával egy olyan összetett szűrési kritériumrendszert dolgozott ki, ami alkalmasnak bizonyult félszintetikus ekdiszteroid származékok agyi penetrációs készségének osztályozására.
 8. A korábban alkalmazott eljárásokhoz képest kisebb anyagmennyiséget igénylő, közepes áteresztőképességű, robusztus technikát dolgozott ki hatóanyag – CD komplex stabilitási állandójának meghatározására, amely jó eszközként szolgálhat lipofil, vízben rosszul oldódó hatóanyagok formulációjának fejlesztésénél.

A fentiek alapján kijelentem, hogy dr. Balogh György Tibor tudományos tevékenysége az MTA doktori követelményeknek minden szempontból megfelel, így a doktori eljárás lefolytatását ***fenntartás nélkül támogatom.***

Budapest, 2020. május 4.



Dr. Zelkó Romána
az MTA doktora, egyetemi tanár