

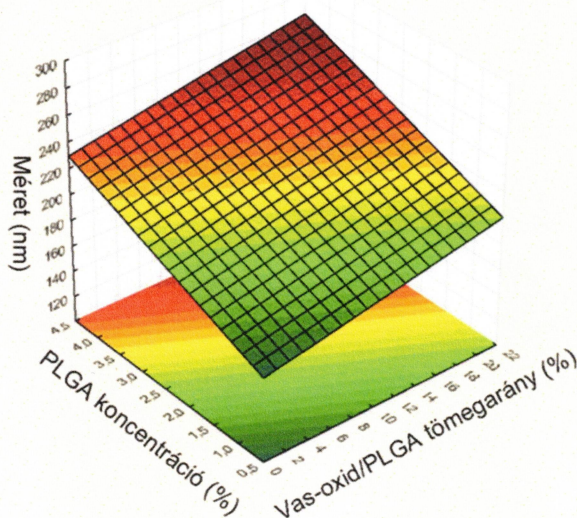
Válasz Dr. Deák András bírálatára

Először is megköszönöm Dr. Deák András támogató és konstruktív bírálatát. A megfogalmazott megjegyzésekre, kérdésekre, javaslatokra, kritikai észrevételekre az alábbi válaszokat adom.

Kérdés:

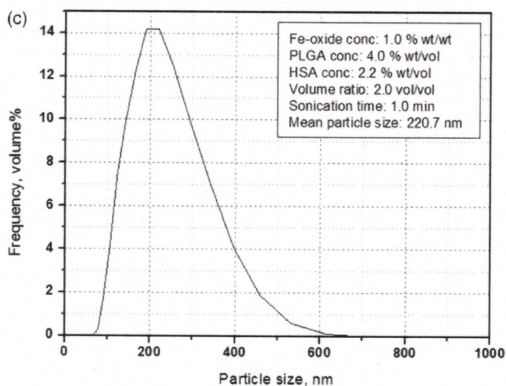
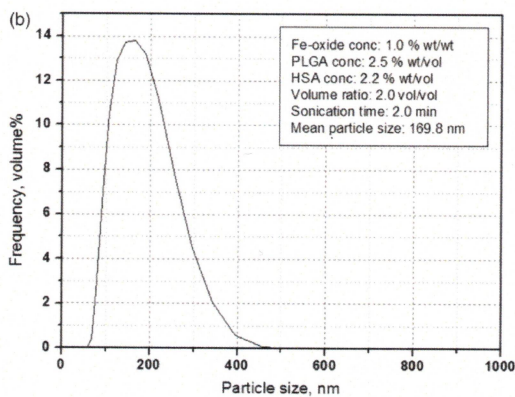
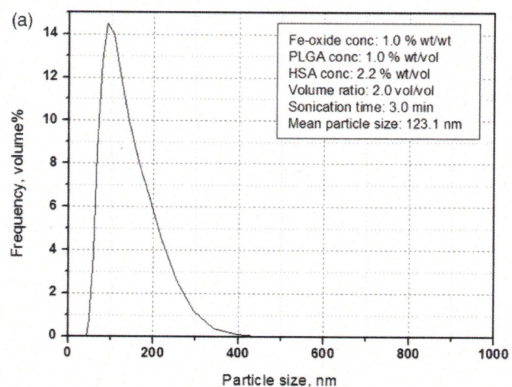
- 1. A dolgozatban kísérlettervezésen alapuló eredményeket látni több helyen. A magnetit/PLGA rendszerek esetében (9 és 10. ábrák) mennyire volt ez kísérlettervezéses megközelítés szükséges, hiszen a mind a részecskeméret, mind kapszulázási hatékonyság illetve PLGA koncentráció csak enyhe és monoton függést mutat a vizsgált paraméterek függvényében.*

Válasz: A PLGA koncentráció, az ultrahangozás ideje és a vas-oxid nanorészecskék koncentrációjának különböző kombinációk szerinti változtatása az átlagos szemcseméret szélső értékeit összehasonlítva hozzávetőleg maximálisan 60-80 %-kal módosította (1. ábra, dolgozatban 9. A).



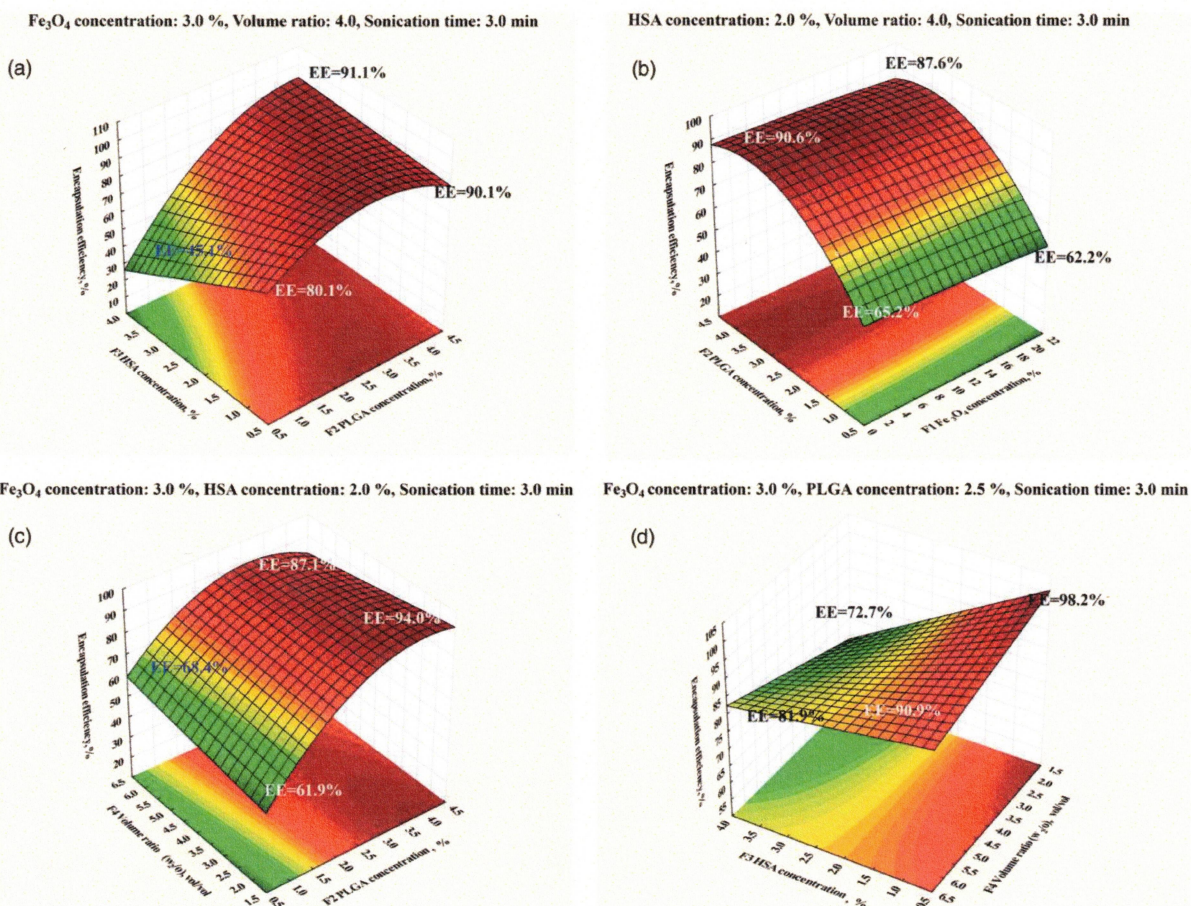
1. ábra: A PLGA-HSA-vas-oxid nanorészecskék méretének függése a vizsgált paramétereiktől.

A legjelentősebb hatású PLGA koncentráció befolyása a dolgozatban ábrázolt diagramoknál jobban szemléltethető a kapcsolódó publikációban bemutatott szemcseméret eloszlások tanulmányozásával (2. ábra). A legalacsonyabb PLGA koncentrációhoz és leghosszabb homogenizálási időhöz 123 nm, a legmagasabb PLGA koncentrációhoz és legrövidebb ultrahangos kezeléshez 220 nm átlagos szemcseméret tartozik. Ez a különbség különösen akkor számottevő, ha figyelembe vesszük, hogy a célkitűzésünk a szemcsék méretére a <0,22 μm szűréssel sterilizálható tartomány elérése volt. A méreteloszlásokon szemléltethető igazán, hogy melyik esetben sikerült a célt elérni.



2. ábra: A PLGA koncentráció és a szonikálás idejének egyidejű változtatásának (szélsőértékek és középérték) hatása a szemcseméretre a többi előállítási paraméter állandó értéken tartása mellett.

A kapszulázási hatékonyság esetében valószínűleg szerencsésebb lett volna a dolgozatban a 3D diagramokat (3. ábra) is bemutatni, melyek szemléletesebben mutatják a változó paraméterek hatását. Ez esetben a PLGA és a HSA modell hatóanyag koncentráció változtatása eredményezte a legszámottevőbb hatást, hiszen ahogy a 3.a diagramon látható, a kapszulázási hatékonyság 25 %-ról 91,1 %-ra nő a paraméterek kombinációjának megfelelő változtatásával.



3. ábra: A vizsgált kísérleti paraméterek hatása a kapszulázási hatékonyságra.

A kísérlettervezéssel az elvégzendő kísérletek számát kb. 1/3-ára tudtuk csökkenteni. Az alkalmazott szoftver a méret és kapszulázási hatékonyság együttes optimalizálására is alkalmasnak bizonyult, így azt gondolom, hogy ebben a munkában is nagyon hasznos választásnak bizonyult.

Kérdés:

A hőtároló kapszulákkal kapcsolatos részben a kísérlettervezés eredményei alapján konkrét egyenleteket is megad (51. és 52. ábrák és vonatkozó részek). Mi ezen egyenletek tudományos „aprópénzre” váltható jelentéstartalma?

Válasz: A (10) regressziós egyenlet megadja, hogy a kapszulák átlagos átmérője hogyan függ a nátrium-alginát koncentrációjától (X_{NaAlg} %, m/m), a kalcium-klorid koncentrációjától (X_{CaCl2} %, m/m) és a maganyag és a nátrium-alginát közötti érintkeztetési időtől (t , min) a hidrogél héj képzése során. Az egyenlet használatával kiszámolható, hogy különböző alkalmazni kívánt előállítási paraméter értékek esetében mekkora átlagos szemcseátmérőre számíthatunk. Továbbá a gyakorlati megvalósítás során tervezhetővé válik az alkalmazandó technológiai paraméter rendszer a kívánt részecskeméret elérése érdekében. Ha az alkalmazás más méretű szemcse előállítását kívánná meg, akkor kevesebb kísérlettel célt érhetünk az összefüggés ismeretében.

$$D = 0,05287 \cdot X_{NaAlg} + 0,02875 \cdot X_{CaCl2} + 0,03817 \cdot t + 1,63597 \quad (10)$$

Kérdés:

2. A mérések alapján nagy hatékonysággal sikerült az interferonokat kapszulázni. A kioldódási kísérletek során milyen hatásra indul meg az interferonok kilépése a részecskékből?

Válasz: A felületen adszorbeált interferonok lemosódása/kezdeti kioldódása megfelelő sókoncentráció mellett 37 °C-on mind a két közegben (PBS és vérplazma) lejátszódik, ami saját és a szakirodalomban is széles körben bemutatott tapasztalat. Ezt követi a lassabb diffúziós és a polimer degradáció hatására bekövetkező kioldódás a mátrixból.

Kérdés:

Az α -interferon kioldódási vizsgálata során (13. ábra) „A diagramokon a 100% a kezdeti hatóanyag felszabadulás koncentráció szintjének felel meg”. Ezt hogyan kell pontosan érteni?

Válasz: A négy vizsgált nanorészecske rendszer két eltérő formájú és stabilitású hatóanyagot (interferon- α és pegilált interferon- α) tartalmazott, ráadásul az eltérő kapszulázási hatékonyságok eredményeképpen 4 különböző hatóanyag-koncentrációjú nanoanyag jött létre. Annak érdekében, hogy ennek a négyféle nanoanyag-nak a hatóanyag-felszabadítását látványosan egy diagramban össze tudjuk hasonlítani, minden egyes nanorészecske fajta kezdeti hatóanyag-felszabadulásának (angol kifejezéssel: initial burst) koncentráció értékét tekintettük 100 %-nak, és a további mért *in vitro* koncentráció értékeket ehhez viszonyítottuk. Ezt a szakirodalomban szokatlan ábrázolást az említett okon kívül azért találtuk még hasznosnak, mivel a szabályozott hatóanyagleadású nanorészecskéink esetében a fő cél az volt, hogy a gyógyszerhordozó anyag a vérben minél hosszabb ideig egyenletes koncentrációt biztosítson. Jelen tanulmány célja viszont nem volt az, hogy a szükséges terápiás koncentrációnak az abszolút értékét megállapítsa.

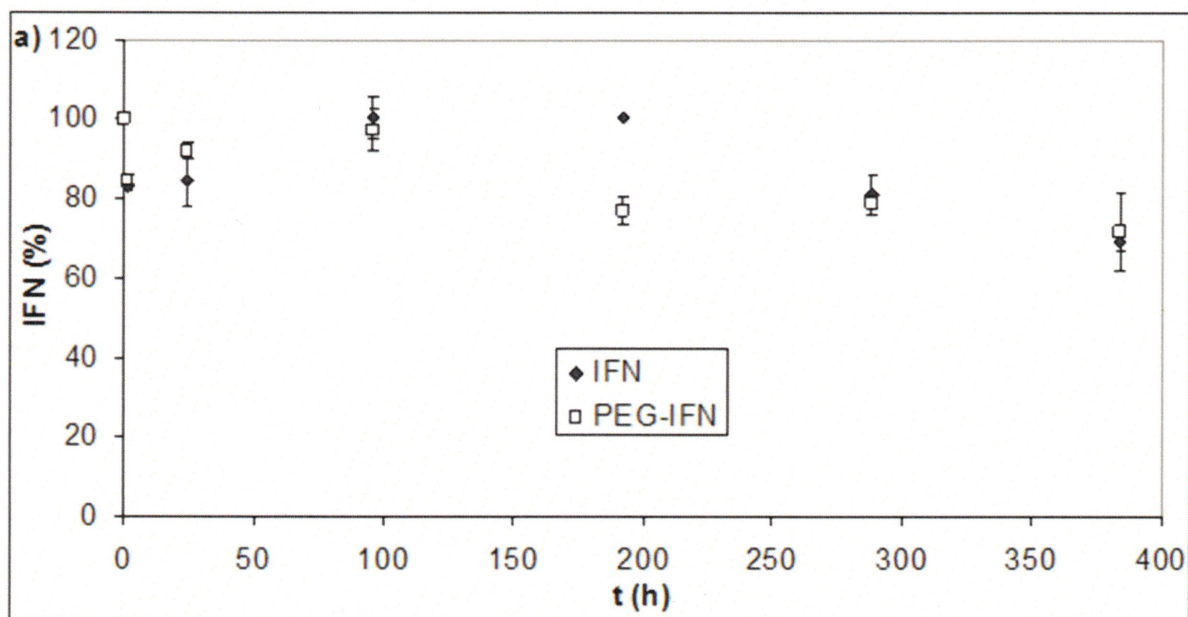
Kérdés:

A vonatkozó publikáció alapján a kísérlet során a kioldó közegben mérték a koncentrációt, tehát ha az interferon az adott közegben nem bomlik el (azaz időben stabil), akkor is 100% körüli értéket lehet mérni. Lehet-e tudni milyen rátával bomlik az adott közegekben az α -interferon?

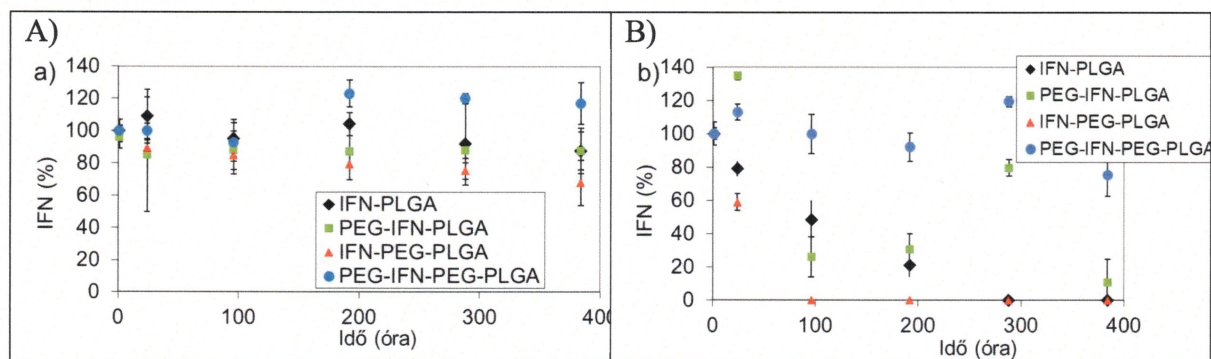
Válasz: A nem pegilált és a pegilált interferon- α bomlását PBS-ben nem, csak humán vérplazmában vizsgáltuk. Mind a két hatóanyag-módosulat koncentrációja vérplazmában a kezdeti 100 % szintről hozzávetőleg 70 %-ra (69 illetve 71 %-ra) csökkent 16 nap alatt (4. ábra), ami valóban lényegesen nagyobb stabilitásra utal, mint amire PBS-ben lehet számítani, azonban a bomlás tendenciája itt is látszik. Ezzel szemben a nanorészecskékből felszabadult interferon- α szint a 4-ből 2 készítményben 16 nap után 87 %-ra csökkent, egy esetben pedig 117 %-ra emelkedett a kiindulási 100 %-hoz képest, és egy készítménynél mutatott a szabad hatóanyaghoz hasonló (67 %) értéket (5. ábra, dolgozatban 13. ábra). Ez utóbbi esetben, mivel PLGA volt a hordozó polimer, az interferon- α bomlását feltételezésünk szerint az interferon- β esetében tapasztalt polimer bomlás savanyító hatása is fokozta, és így nemcsak a kezdeti hatóanyagfelszabadulás eredményét, és az interferon

hordozó nélküli bomlását kaptuk eredményül, hanem a polimer nyújtott hatóanyagleadása ellensúlyozta a savas közeg miatti fokozott bomlást.

A mikrokapszulázott készítmények kioldódási vizsgálata a két kioldó közegben egyértelműen arra utal, hogy PBS-ben mind a két hatóanyag lényegesen gyorsabban bomlik, mint vérplazmában (amit irodalmi adatok is alátámasztanak a szérumfehérjék stabilizáló hatása eredményeképpen).



4. ábra: Interferon- α és pegilált interferon- α bomlása vérplazmában.



5. ábra: Interferon- α hatóanyag-felszabadulás PLGA és PEG-PLGA nanorészecskékből emberi vérplazmában (A) és PBS pufferben (B).

Kérdés:

A β -interferon esetén (14. ábra) már inkább a várt viselkedést láthatjuk és itt világosan megmutatkozik a bomlás ténye. Végeztek referencia méréseket külön magának az α és β -interferonok bomlási együtthatójának meghatározására az adott közegekben? Ha lehet tudni értéküket, ezek hogyan viszonyulnak az irodalmi adatokhoz, illetve a konkrét mérési eredmények illesztéséből kapott értékekhez?

Válasz: Az interferon- β bomlási együtthatójának meghatározását csak PBS közegben végeztük, melyre $0,00529 \text{ h}^{-1}$ értéket kaptunk, amiből 131 h felezési idő számítható. Irodalmi adatot tisztított rekombináns IFN- β -ra találtunk (Voigt EA, Yin J. Kinetic

Differences and Synergistic Antiviral Effects Between Type I and Type III Interferon Signaling Indicate Pathway Independence. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2015;35(9):734-747.), melynek felezési idejére 131 h-t kaptak sejtkultúrákban vizsgálva. A nagymértékben eltérő körülmények miatt ez az összehasonlítás mindenképpen sántít.

Utólag látszik, hogy fontos hiányossága mind a két interferonnal végzett munkának, hogy a nem mikrokapszulázott hatóanyag bomlását nem vizsgáltuk mind a két közegben.

Kérdés:

4. *Vizsgálták a PVA-5 jelenlétében létrejövő köbös morfológiájú, szorafenibet is tartalmazó részecskék (22.B ábra) összetételét pl. EDS-el (szervetlen anyag jelenlétének kizárására), vagy valamilyen optikai spektroszkópai módszerrel a PVA tartalmat?*

Válasz: Nem vizsgáltuk a részecskéket energiadiszipatív röntgenspektroszkópia vagy egyéb módszerrel. Ennek az oka az volt, hogy mivel a nanorészecskék létrehozása során azok hatóanyagtartalma maximum 12 %-nak bizonyult a teljes nanorészecskék tömegéhez viszonyítva, és a szemcsék túlnyomó része a SEM felvételeken egyértelműen a köbös alakot mutatta, továbbá gömb alakú polimer részecskéket elvéve sem találtunk, így indirekt módon kizárható, hogy a köbös kristályok a polimer hordozón kívül jöttek volna létre. Másik közvetett bizonyíték az volt, hogy a polimert nem, de emulgeátort tartalmazó oldatból hasonló emulgeálási módszerrel kb. egy nagyságrenddel nagyobb köbös szorafenib kristályok keletkeztek. Viszont önkritikusan megjegyzem, hogy utólag én is azt gondolom, hogy legalább a SEM-en látható néhány nagyobb köbös szemcsét érdemes lett volna EDX módszerrel is megvizsgálni, hogy azok vajon nem tiszta kristályok-e. Ugyanis a detektált, nem kapszulázott hatóanyag az emulgeátor miatt oldatban maradhat. Viszont összehasonlításképpen a hordozó polimert nem tartalmazó emulgeátor oldatból kristályosított szorafenib kristályokhoz hasonló, néhány nagyobb méretű szemcsék esetében minden kétséget kizáróan nem bizonyítottuk, hogy azok is polimerrel kapszulázott hatóanyagok.

Kérdés:

Mekkora a különbség a PVA-5 és a szorafenib vízoldhatósága között?

Válasz: Mind a PVA-5, mind a szorafenib nagyon rossz vízoldhatóságú, gyakorlatilag vízben oldhatatlanok, viszont az alkalmazott emulgeátor mind a két anyag oldhatóságát megnöveli, és az 5 % emulgeátor koncentráció esetében tapasztalt nagyobb mértékű kapszulázási hatékonyság-csökkenés a hasonló mértékű szemcsehozam csökkenéssel arra utal (1. táblázat, a dolgozatban 6. táblázat), hogy a szorafenibet az emulgeátor jelentősebb mértékben szolubilizálta, mint a hordozó polimert.

1. táblázat: PVA-5-szorafenib nanorészecskék kapszulázási hatékonysága, hozama és hatóanyagtartalma a poloxamer (Pluronic F68) emulgeátor koncentrációjának függvényében.

Emulgeátor koncentráció (%)	Kapszulázási hatékonyság (%)	Hozam (%)	Hatóanyagtartalom (%)
0,5	52,2	70,4	6,8
1	82,1	69,4	10,7
2	93,6	71,1	12,0
5	74,7	68,9	9,9

Kérdés:

A 23. ábrán látható DSC görbén a PVA/Szorafenib rendszer esetén nagymértékű (több mint 100 °C) a szorafenibhez képest a csúcseltolódás. Ez nem mond ellent a SEM-ben megfigyelt részecskemorfológiának, ami továbbra is kristályos anyag jelenlétére utal?

Válasz: A DSC vizsgálatok nem mondanak ellent a mikrokapszulázásnak, ugyanis a hatóanyag kristályos állapota a nanorészecskékben is megmaradhat, ezt a jelenséget még gömb alakú szemcsékben is tapasztaltuk, lásd pl. a dolgozatban bemutatott PLGA-val vagy PEG-PLGA-val kapszulázott szorafenibet, vagy akár a mikrorészecskékbe porlasztva szárítással mikrokapszulázott metronidazolt. A PVA-5 kapszulázó polimernél is a DSC vizsgálatok megerősítették, hogy a polimer hatására lecsökkent a kristályméret, de a polimernek is ott kell lennie, hiszen az alkotja a (SEM-mel is) vizsgált anyag hozzávetőleg 90 %-át.

Kérdés:

5. *MRI alkalmazások során a gadolínium általában molekulás ligandum-komplex formában kerül felhasználásra (pl. Magnevist). A gadolínium nanorészecskékbe zárása vagy részecskefelületen történő adszorpciója mennyiben befolyásolhatja a szervezetben a gadolínium disztribúcióját?*

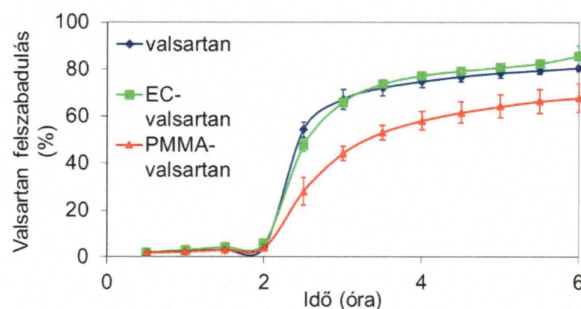
Válasz: A Magnevist a Gd dietilén-triamin-pentaecetsavval képzett komplexe (Gd-DTPA), mely a meglumin cukoralkohol adalékkal ionos kölcsönhatásban áll. Mivel a Gd egy rendkívül toxikus elem, ezért csak olyan formában használható a szervezetben, ami stabil gyorsan és hatékonyan ürülő komplexet alkot. Éppen ezért rendkívül fontos kérdés, hogy a nanorészecskékhez kötése a szervezetből történő kiürülést nem gátolja-e. Ez a vizsgálat nem volt tárgya a mi munkánknak. Az általunk fejlesztett eljárással más olyan MRI kontrasztanyag (pl. gadotérsav, gadobutrol) is hatékonyan PLGA nanorészecskékhez köthető, melyek hidroxil vagy karboxil csoportot tartalmaznak. Ahhoz, hogy az egyes nanoteranosztikumok toxicitását értékelni lehessen, a biodisztribúciójuk, és kifejezetten a kiürülésük vizsgálata minden egyes nanorészecske esetében kiemelt jelentőségű.

Kérdés:

6. *A vérnyomáscsökkentő tartalmú részecskék hatóanyag felszabadulását kétfázisúként jellemzi (45. ábra, 2 óra utáni szakasz) miután a külső közeg pH-ja 6,8-re változik; a kezdeti gyors emelkedést a hordozó részecskék felületéről való lemosódással magyarázza. Mivel a kapszulázatlan hatóanyag időfüggő koncentrációja mind jellegében, mind nagyságrendjében rendkívül hasonlít a kapszulázott rendszerekre, nem lehet, hogy az időfüggő koncentrációgörbét elsősorban a hatóagnak a dialízismembránon keresztül történő, pH függő transzportja határozza meg? Bár a vonatkozó cikkből tudható, hogy savas körülmények között a hatóanyag oldódása kismértékű, a kioldódási mérések során monitorozták-e párhuzamosan a membrán másik oldalán is a szabad hatóanyag koncentráció és a pH időbeli változását?*

Válasz: A dialízismembrán szerepe ebben a kioldódási vizsgálatban a nanorészecskék elkülönítése a kioldó közegtől, éppen ezért sokkal nagyobb vágási átmérőjű membránt (100 kDa) választottunk a kísérlethez, mint a valsartan molekulatömege (435,5 Da), hogy a

hatóanyag transzportját a membrán ne befolyásolja. Sajnos ez az információ nem jelent meg még az eredeti publikációban sem, és e nélkül Bírálóban joggal merült fel a kérdés. Megjegyzem még, hogy a PMMA-valsartan szemcsék esetében jelentős mértékben eltért a detektált hatóanyag kioldódás a szabad hatóanyaghoz képest (6. ábra).



6. ábra: Porlasztva szárított PMMA-valsartan és etil-cellulóz-valsartan illetve valsartan hatóanyag-felszabadulása 2 óra 0,1 M HCl-oldatban és utána 4 óra pH=6,8 foszfát pufferben történő inkubálás során (B).

A retentát hatóanyagkoncentrációját nem monitoroztuk a fent említett okokból, hiszen feltételeztük, hogy a 30 percnkénti mintavételezés az alkalmazott rendszerben elegendő a membrán két oldalán a koncentráció-kiegyenlítődéshez. A 2 h és 2 h 30 min között két készítmény esetében tapasztalt hozzávetőleg 50 % (m/m) hatóanyagfelszabadulás detektálása ezt úgy gondolom, hogy bizonyítja is.

Kérdés:

Vizsgálták-e a folyamat végén a hordozó részecskék integritását?

Válasz: Nem vizsgáltuk, ugyanis a vizsgált polimer nanorészecskék ennyi idő alatt nem szenvednek el bomlást, a hatóanyag kezdeti lemosódása és a diffúziós kioldódás okozza a hatóanyagfelszabadulást.

Kérdés:

7. *Hogyan viszonyulnak egymáshoz az alkalmazott tiszta fázisváltó anyagok valamint a panelek készítéséhez használt, kikötött gipszpor/homok elegy hővezetési együtthatói?*

Válasz: Bár a hővezetési együtthatókat nem mértük, irodalmi adatok alapján hasonló értékekre lehet számítani a PCM és a gipszvakolat vonatkozásában. A gipsz és a homok hővezetési együtthatója 0,2-0,4 W/mK nagyságrendű (Campanale, M., Moro, L. & Siligardi, C. Thermal properties of sands and their dependence on physical and environmental factors. Sci Rep 2025, 15, 8352), a belőlük készült kompozit ennél némileg magasabb lehet 0,48 W/mK (Omari, S., Laaroussi, N. and Ettahir, A., Influence of natural additives on the heat transfer properties of clay-plaster building materials. Materials Research Proceedings, 58 (2026) 99-107), bár ezt az értéket a víztartalom nyilvánvalóan nagymértékben befolyásolja. A paraffin PCM hővezetési együtthatója 0,2-0,32 W/mK (Paul, A., Baumhögger, E., Dewerth, M.O. et al. Thermal conductivity of solid paraffins and several n-docosane compounds with graphite. J Therm Anal Calorim 2023, 148, 5687–5694; Wang, L.; Liu, Z.; Guo, Q.; Wang, H.; Wang, X.; Dong, X.; Tian, X.; Guo, X. Preparation and Thermal Characterization of Hollow Graphite Fibers/Paraffin Composite Phase Change Material. Coatings 2022, 12, 160).

Az általunk vizsgált modellházak építészeti szempögből gyenge hőszigetelésű konténer épületek, melyekben a fázisváltó anyagok termikus viselkedésre gyakorolt hatása ennek megfelelően jól érvényesült, továbbá azok a falazat hővezetését számottevően nem befolyásolták.

Végül elismerve a kritika jogosságát egyes tudományos részletek nem elég részletes feltárásáról, még egyszer megköszönöm Dr. Deák Andrásnak az alapos munkáját, segítő és gondolkodtató észrevételeit. Bízom benne, hogy a válaszaimat elfogadhatónak tartja.

Veszprém, 2026.03.31.



Dr. Feczko Tivadar