

Tisztelt Dr. Fenyvesi Ferenc!

Szeretném ismételtlen megköszönni, hogy elvállalta opponensi felkérésünket. Alapos bírálatával, szakmai meglátásai segítségével a doktori disszertációm nyilvános védését remélhetőleg sikeresen abszolválhatom, az esetleg felmerült félreérthető részeket tisztázhatom. A bírálatban megfogalmazott kérdéseire az alábbiakban válaszolok, illetve a nyilvános vitán külön kitérnék majd ezekre.

- 1. 14. oldal: „Nemcsak biológiailag lebonthatók, hanem biológiailag felszívódó anyagok, ami azt jelenti, hogy természetes úton eltávolíthatók a szervezetből szűrésen vagy anyagcsereutakon keresztül [33].” Pontosan mit ért a szűréssel történő eltávolításon?**

A lép és a vese szűri ki, a megfogalmazás valóban lehetett volna szerencsésebb.

- 2. Milyen hullámhosszon végezte az MTT teszt mérését? (50. oldalon a módszer leírásánál 540 nm szerepel, míg az 51. oldalon 590 nm)**

Sajnos elírás történt. A publikált cikkeknek megfelelően – protokoll alapján - eleinte 492 nm-es hullámhosszon mértem (G Babos, E Biró, M Meiczinger, T Feczkó: Dual drug delivery of sorafenib and doxorubicin from PLGA and PEG-PLGA polymeric nanoparticles; valamint T Feczkó, G Merza, G Babos, B Varga, E Gyetvai, L Trif, E Kovács, R Tuba: Preparation of cubic-shaped sorafenib-loaded nanocomposite using well-defined poly (vinyl alcohol alt-propenylene) copolymer) , később (egy új plate reader beszerzése után) a 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-yl)-2,5-difenil-tetrazólium-bromid abszorbanca spektruma maximumán, azaz 570 nm hullámhosszon (G Babos, J Rydz, M Kawalec, M Klim, A Fodor-Kardos, L Trif, T Feczkó: Poly (3-hydroxybutyrate)-based nanoparticles for sorafenib and doxorubicin anticancer drug delivery).

- 3. 64. oldal és 24. ábra: „A sorafenib felszabadulása 6 nap elteltével fejeződött be.” A 24. B. ábra csak 25 óráig mutatja az adatokat a sorafenib felszabadulásáról és a görbe kb. 5 óra elteltével eléri a 100%-ot, a felszabadulás nem változik. Pontosan hogyan értelmezhető a 6 napos hatóanyagfelszabadulás?**

A 6 nap elírás, az ábrának megfelelően 6 órának kellett volna a szövegben helyesen szerepelnie.

- 4. A Pluronic F-68-at felületaktív stabilizátorként alkalmazta. Ismert, hogy a Pluronic F-68 egy kopolimer, amely hidrofób és hidrophil részeket is tartalmaz, micellás szerkezet kialakítására is alkalmas. Részt vehet-e a Pluronic F-68 a PVA-val és PHB-val közösen a nanopartikulum kialakításában, vagy inkább, mint felületaktív anyagként van szerepe?**

Felületaktív tulajdonságai miatt alkalmaztam, és feltehetően a Pluronic F-68 a nanorészecskék felületére kötődik (irodalmi tapasztalatok alapján pl. PLGA nanorészecskékre). A Pluronic F-68 magas HLB értéke miatt a nanorészecskék mátrixába való beépülést kizárnám, viszont a nanorészecskék felületén történő adszorpció és annak vizsgálata mindenképp érdekes lenne.

- 5. Mivel magyarázható a szokatlan, köbös alakú, sorafenib tartalmú nanorészecskék kialakulása (14. A. ábra) PVA-5 kapszulázó polimer alkalmazásával? Elképzelhető valamiféle kristályképződés?**

A kialakult formát vizsgáltuk a polimert előállító kutatócsoporttal közösen is, illetve a kísérletet elvégeztem a sorafenibbel, azonos körülmények között, de a polimert kihagyva. A hatóanyag valóban képes köbös

formában kiválni, de sokkal nagyobb 1 μ m-nél jóval nagyobb méretű részecskék formájában. A SEM felvételek a keletkező polimer nanorészecskék nagy tömegénél mutatták a köbös alakot, mintha a polimer csökkentette volna a kristályok méretét és felvennie azok alakját.

6. Több formuláció esetén tapasztalható egy nagymértékű kezdeti hatóanyag felszabadulás („burst” hatás). Mivel akadályozható meg ez a fajta gyors kioldódás, hogyan lehetne javítani a hatóanyagleadás kinetikáján?

Egyes esetekben (savas környezetben bekövetkező lemosódás) véleményem szerint nem szükséges javítani, hiszen a vér kémhatása enyhén lúgos (pH 7,4 körüli), a tumor savas mikrokörnyezetében pedig már indulhat a hatóanyagleadás.

A bázikus környezetben történő hatóanyag-lemosódás csökkentése történhetne a nanorészecskék felületének pl. HSA-nal való kezelésével, eleve az ezekhez való magas affinitás lehet az oka a sorafenib lemosódásának, ehhez azonban további kísérletek lennének szükségesek.

7. Mi a véleménye a kétféle hatóanyag egyféle nanopartikulumba történő egyidejű formulálásának hatékonyságáról? Célszerűbb lehet-e a kétféle hatóanyag kétféle nanopartikulumba csomagolni és inkább keverékként egyidejűleg adagolni?

Technikailag mindenképp célszerűbb és könnyebben ellenőrizhető lenne, de kérdés, hogy időben egyszerre felveszi-e a tumorsejt a két külön nanorészecskéből származó hatóanyagot, illetve több nanorészecskét (iRGD célzás esetén aligha, itt egy ~ 200 nm-es vezikuláról van szó, egy nanorészecske is éppenhogy belefér). A kétféle hordozóanyag különböző citotoxicitási tulajdonságokkal bír, és így valószínűleg több tesztet is igényelne. Kétségtelen ugyanakkor, hogy a különböző karakterű hatóanyagokat könnyebb különböző hordozóanyagokkal mikrokapszulázni, azaz mind a két megközelítésnek vannak előnyei és hátrányai.

Remélem, hogy válaszaim tisztázták a felmerült kérdéseket.

Tisztelettel:

Babos György
Doktorjelölt
Pannon Egyetem, Mérnöki Kar
Veszprém, 2023.10.28.