



**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA**

**A gyógyszeripari segédanyagok hatása
a hatóanyagok emberi és kutyabélrendszert modellező
mesterséges membránokon keresztüli diffúziójára**

TÉZISFÜZET

Szerző: Tózsér Petra

Témavezető: Jaksáné Dr. Borbás Enikő

Szerves Kémia és Technológia Tanszék
FirePharma kutatócsoport

Budapest
2025

BEVEZETÉS

A generikus gyógyszerfejlesztés sikerét alapvetően meghatározza, hogy a hatóanyagok gyomor-bélrendszeri kioldódását és permeációját befolyásoló tényezőket és mechanizmusokat, mennyire tudjuk *in vitro* mérésekkel előre jelezni, hiszen ezek a folyamatok döntően befolyásolják a készítmények klinikai teljesítményét és bioekvivalenciáját. Az oldhatóság és permeabilitás javítását célzó formulációs fejlesztések éppen ezért továbbra is a gyógyszerkutatás központi kérdései. Mindezek ellenére a bioekvivalencia előrejelzés a mai napig jelentős nehézségekbe ütközik a generikus fejlesztések során, ami magával hozza az igényt a prediktív, mechanisztikusan megalapozott és költséghatékony *in vitro* módszerek fejlesztésére.

Az elmúlt évtizedben számos nemzetközi kezdeményezés indult a gasztrointesztinális folyamatok mélyebb feltérképezésére és a gyógyszerek klinikai teljesítményét pontosabban előre jelző *in vitro* eszközök fejlesztésére. Ezek közé tartozik az Európai Unió által támogatott Understanding Gastrointestinal Absorption-related Processes¹ (UNGAP) és Oral Biopharmaceutics Tools² (ORBITO) projekt, valamint az FDA Formulation Predictive Dissolution³ (fPD) programja. A kutatások fókusza mára egyértelműen a meglévő *in vitro* platformokhoz (pl. diffúziós cellák, kombinált kioldódás-permeáció rendszerek) illeszkedő protokollok kialakítására és azok alkalmazhatósági korlátainak feltérképezésére helyeződött át.

A humán mellett egyre nagyobb figyelem irányul a kutya, mint állatmodell felé. Kevés fajjal alakult ki olyan mély evolúciós és kulturális kapcsolat, mint a kutyákkal, amelynek házasítása mintegy 12 000 évre nyúlik vissza.⁴ Ennek a hosszú együttélésnek köszönhetően emésztőrendszerük több szempontból hasonlóságot mutat az emberével, így a kutya az orális biohasznosulás kutatásának és a klinikai állatkísérleteknek az egyik legfontosabb állatmodellje.^{5,6} Emellett napjainkban a kutyák teljes jogú családtagok, jólétük központi szerepet tölt be a társadalomban. A világon több mint 500 millió kutya él, és az állatgyógyászati piac 2024-ben 49,96 milliárd USD volt, amely várhatóan 2030-ra eléri a 80,85 milliárd USD-t. A kutyákon végzett *in vivo* vizsgálatok ellen erős korlátozó szándék mutatkozik az elmúlt években, amelyet a 2010/63/EU irányelv⁷ meghatároz. Ezen 3R (Replacement, Reduction, Refinement) elv kimondja, hogy mind etikai mind költséghatékonysági szempontok alapján az állatkísérletek számát csökkenteni szükséges és törekedni kell az *in vitro* módszerekkel történő kiváltásukra.

1 CA16205 - European Network on Understanding Gastrointestinal Absorption-Related Processes (UNGAP).

2 Lennernäs, H. et al. Oral Biopharmaceutics Tools - Time for a New Initiative - An Introduction to the IMI Project OrBiTo. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2014, 57 (1), 292–299.

3 Hens, B. et al. Formulation Predictive Dissolution (FPD) Testing to Advance Oral Drug Product Development: An Introduction to the US FDA Funded '21st Century BA/BE' Project. *Int. J. Pharm.* 2018, 548 (1), 120–127.

4 Freedman, A. H. et al. Genome Sequencing Highlights the Dynamic Early History of Dogs. *PLoS Genet.* 2014, 10 (1).

5 Lui, C. Y. et al. Comparison of Gastrointestinal PH in Dogs and Humans: Implications on the Use of the Beagle Dog as a Model for Oral Absorption in Humans. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75 (3), 271–274.

6 Akimoto, M. et al. Gastric PH Profiles of Beagle Dogs and Their Use as an Alternative to Human Testing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 49 (2), 99–102.

7 DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes.

Mindez szükségessé teszi olyan *in vitro* rendszerek létrehozását, amelyek a kutya és az ember gyomor-bélrendszerének élettani és kémiai sajátosságait biohasonló módon modellezik. A kutyák gyomor-pH-ja éhgyomor esetén 1,5 és 6,8 között változhat, a vékonybélben pedig 6,2-től 7,5 felé emelkedik – ez jelentős eltéréseket okozhat a különböző sav-bázis karakterű hatóanyagok oldódásában és felszívódásában.^{8,9} A kutyák és az emberek közötti szoros kapcsolat ellenére vannak különbségek például a bélnedv összetételében, epesav- és foszfolipidtartalomban, valamint a gyomorürülési és béltranszit-időkben is, amely tényezők befolyásolják a hatóanyagok kioldódását és membránon való átjutását.^{9–11} Ezen eltérések miatt a formulációk biológiai viselkedés előrejelzéséhez szükség van fajspecifikus bioreleváns közegek és protokollok fejlesztésére.

Az orális biohasznosulást meghatározó legfontosabb fizikai-kémiai paraméterek az oldhatóság és a permeabilitás. A modern *in vitro* technikák – a side-by-side elrendezésű diffúziós cellák mint kombinált kioldódás–permeáció rendszer – lehetővé teszik e tényezők együttes vizsgálatát. Az utóbbi években a kutatás súlypontja egyre inkább arra helyeződött, hogy a meglévő berendezésekhez olyan membránokat és közegeket tartalmazó protokollok kerüljenek kifejlesztésre, amelyek kis térfogatban, gyorsan, diszkriminatív módon és bioreleváns környezetben képesek a formulációk összehasonlítására, valamint támogatják az IVIVC (*in vitro in vivo* korreláció) kialakítását.

Jelen PhD kutatás szoros együttműködés keretében valósult meg a Pion Inc. (USA), a Semmelweis Egyetem, a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem és a Lavet Gyógyszeripari Kft. között. A Pion Inc. modern *in vitro* eszközöket biztosít az egyidejű kioldódás–permeáció vizsgálatokhoz; a két egyetem a mechanisztikus értelmezéshez szükséges tudományos háttérrel és az *in vitro–in vivo* összefüggések elemzését támogatja, míg a Lavet Kft. ipari tapasztalatot nyújt az állatgyógyászati formulációk fejlesztéséhez.

A dolgozat egyik fő célja a kulcsfontosságú fizikai-kémiai paraméterek mélyebb megértése, különös tekintettel arra, hogy a segédanyagok (ciklodextrinek, felületaktív anyagok, pH-módosítók) és a hidrodinamikai körülmények (pl. keverés, nemkevert vizes réteg) hogyan befolyásolják a látszólagos permeabilitást és a fluxust lipofil és méretkizárásos membránokon keresztül. A kutatás második fő célkitűzése olyan kis térfogatú, diszkriminatív, kutyák bélrendszerét modellező bioreleváns kioldódás–permeációs protokollok fejlesztése, amelyek alkalmasak formulációk rangsorolására, összehasonlítására és a bioekvivalencia előrejelzésére az állatgyógyászati gyógyszerfejlesztésben.

8 Kararli, T. T. Comparison of the Gastrointestinal Anatomy, Physiology, and Biochemistry of Humans and Commonly Used Laboratory Animals. *Biopharm. Drug Dispos.* 1995, 16 (5), 351–380. <https://doi.org/10.1002/bdd.2510160502>.

9 Dressman, J. B. Comparison of Canine and Human Gastrointestinal Physiology. *Pharmaceutical Research: An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists.* 1986, pp 123–131. <https://doi.org/10.1023/A:1016353705970>.

10 Sjögren, E. et al. *In Vivo Methods for Drug Absorption - Comparative Physiologies, Model Selection, Correlations with in Vitro Methods (IVIVC), and Applications for Formulation/API/Excipient Characterization Including Food Effects*; 2014; Vol. 57. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.02.010>.

11 USP. <1236> USP Solubility Measurements. *United States Pharmacopoeia 2021, USP 43–NF*, 1–13.

KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

Membránon keresztüli transzport sebesség meghatározó lépésének vizsgálata

Különböző pH-jú pufferek és különböző keverési sebességek alkalmazásával mértem a lipofil és méretkizárásos membránokon keresztüli transzportot kis térfogatú kioldódás-felszívódás vizsgálatok elvégzésére alkalmas MicroFLUX™ készülékkel (Pion Inc.), majd fizikai kémiai levezetések és számolások segítségével meghatároztam, hogy a transzport sebesség meghatározó lépése a hatóanyag membránon való átjutása vagy pedig az úgynevezett nemkevert vizes rétegen való átjutás.

Egyensúlyi oldhatóság/ fázis-oldhatóság vizsgálatok

A kiválasztott közegekhez a hatóanyagok feleslegben kerültek hozzáadásra, majd az így létrejött szuszpenziót 6 órán át kevertettem és 18 órát üleptettem. Ezt követően a folyadékfázisban lévő hatóanyag koncentrációt UV-szonda segítségével *in-situ* határoztam meg.

HP-β-CD membránon keresztüli transzportjának vizsgálata

A HP-β-CD lipofil (*n*-dodekánal impregnált PVDF lap) és méretkizárásos (1 kDa és 6 kDa vágási értékű) membránokon keresztüli transzportját kis térfogatú kioldódás-felszívódás vizsgálatok elvégzésére alkalmas MicroFLUX™ készülékkel végeztem, amely egy donor és akceptor cellából áll, melyeket mesterséges membrán választ el egymástól. A HP-β-CD akceptor oldalon való megjelenését a fenoltaleinnel történő komplexálását kihasználva UV-szonda segítségével detektáltam.

Kis térfogatú szimultán kioldódás-felszívódás vizsgálat

A kis térfogatú kioldódás-felszívódás vizsgálatokat MicroFLUX készülékkel (Pion Inc.) végeztem. A készülék 20-20 mL-es donor és akceptor cellából áll, melyeket *n*-dodekánal vagy GIT-lipid keverékkel impregnált mesterséges membrán (polivinilidén-fluorid (PVDF), 1,54 cm²) választ el egymástól.

Nagyáteresztőképességű permeabilitás vizsgálat (PAMPA)

A hatóanyagot és segédanyagokat megadott koncentrációban tartalmazó oldatokat pipettáztam a donor oldalra ami a gyomor-bélrendszert szimulálta, az akceptor oldalra pedig a vérkeringést modellező pH 7,4 foszfát puffert helyeztem. A két oldalt GIT-lipid keverékkel impregnált membrán választotta el egymástól.

Kioldódás vizsgálat

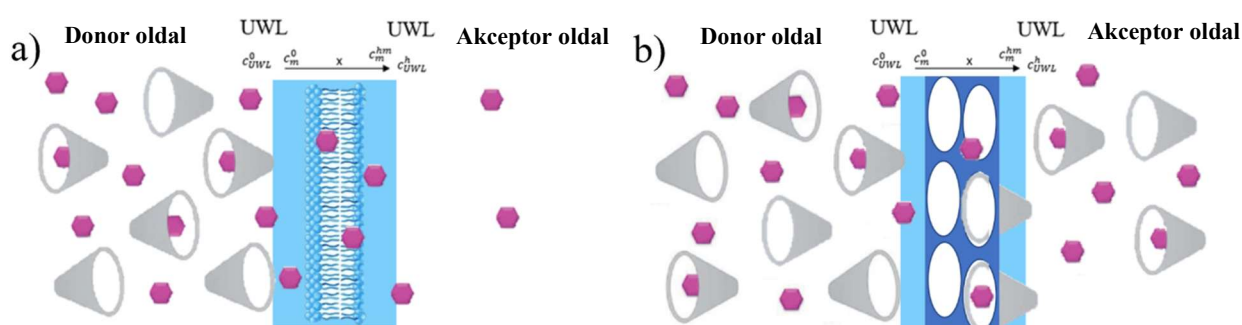
A kioldódás vizsgálat során USP II kioldó készülékben, 1000 mL kioldó közegben, 37 °C-on, 75 rpm keverési sebesség alkalmazásával mértem a tabletták kioldódását. A kioldó közegből 10, 20, 30 és 45 percnél mintát vettem és a koncentrációt HPLC segítségével határoztam meg.

EREDMÉNYEK

A disszertáció első része a HP- β -CD donoroldali jelenlétének hatását vizsgálja a carvedilol oldódás- és permeációs viselkedésére, lipofil és méretkizárásos membránokon, különös tekintettel a keverési sebesség szerepére, a transzport hajtóerejére, és a Fick I. törvényéből levezetett koncentráció-alapú matematikai modell alkalmazhatóságára. A dolgozat második része a „sink” kondíció membrántípustól függő érvényesülését térképezi fel. A dolgozat harmadik része az oldhatóság és permeabilitás együttes, korai vizsgálatának jelentőségét demonstrálja pimobendán példáján, rámutatva a szolubilizáló és pH-módosító segédanyagok hatására. Ezen túlmenően kistérfogató szimultán kioldódás-permeáció vizsgálatokhoz fejlesztett bioreleváns valamint diszkriminatív minőségellenőrzésre alkalmas protokollokat mutat be.

A disszertáció első részében a carvedilol lipofil és méretkizárásos membránokon történő kioldódás-permeáció viselkedését vizsgáltam pH=10-en UWL (Unstirred Water Layer = nemkevert vizes réteg) limitált körülmények között különböző keverési sebességek mellett, szolubilizáló anyag jelenlétében a donor oldalon és anélkül. A szolubilizáló modell segédanyagként a HP- β -CD -t választottuk. A fázis-oldhatósági vizsgálatok igazolták, hogy a carvedilol mindkét polimorf módosulata stabil 1:1 komplexet képez HP- β -CD-vel, amely háromszoros oldhatóságnövekedést eredményezett, és megalapozta a ciklodextrin további vizsgálatokban modell segédanyagként való alkalmazását.

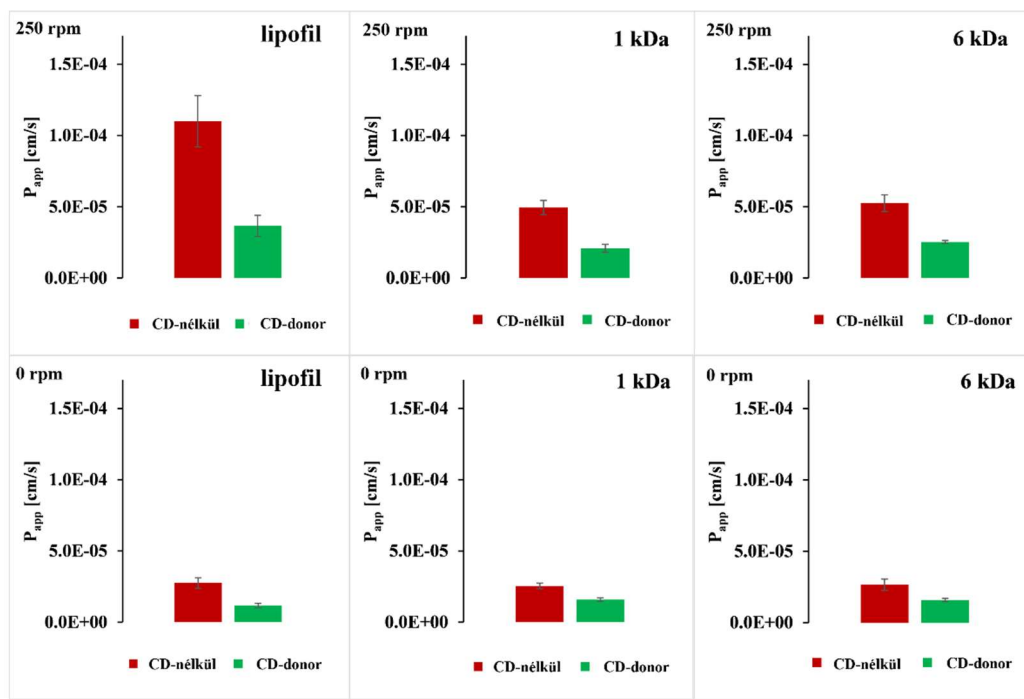
A hatóanyag és a ciklodextrin komplex transzportját három különböző membrántípuson vizsgáltam: lipofil, valamint 1 és 6 kDa-os méretkizárásos membránokon. Ezek a ciklodextrin transzportjának mérése alapján mechanisztikusan eltérően viselkedtek: míg a lipofil membrán csak a szabad hatóanyagot engedte át, a méretkizárásos membránokon a gyógyszermolekula, a HP- β -CD és azok komplexe is átjutott. (**1. ábra**).



1. ábra A különböző membránokon keresztüli transzport sematikus ábrája a) lipofil membrán b) méretkizárásos membrán esetén (a hatóanyag rózsaszín hatszögekkel, a ciklodextrin pedig szürke kúpokkal jelölve, UWL=nemkevert vizes réteg)

A 250 rpm és 0 rpm kevertetéssel, ciklodextrin segédanyaggal és anélkül végzett vizsgálatokból számolt látszólagos permeabilitás (P_{app}) értékek háromfaktoros ANOVA statisztikai elemzése

kimutatta, hogy mindhárom vizsgált tényező – a membrántípus, a keverési sebesség és a szolubilizáló segédanyag jelenléte – szignifikáns hatással van a látszólagos permeabilitásra (P_{app}). A keverés alkalmazása (250 rpm) minden esetben jelentős permeabilitás növekedést okozott, míg keverés hiányában a vastag nemkevert vizes réteg hatása miatt a három membránon mért látszólagos permeabilitás értékek közel azonosak voltak. (2. ábra)



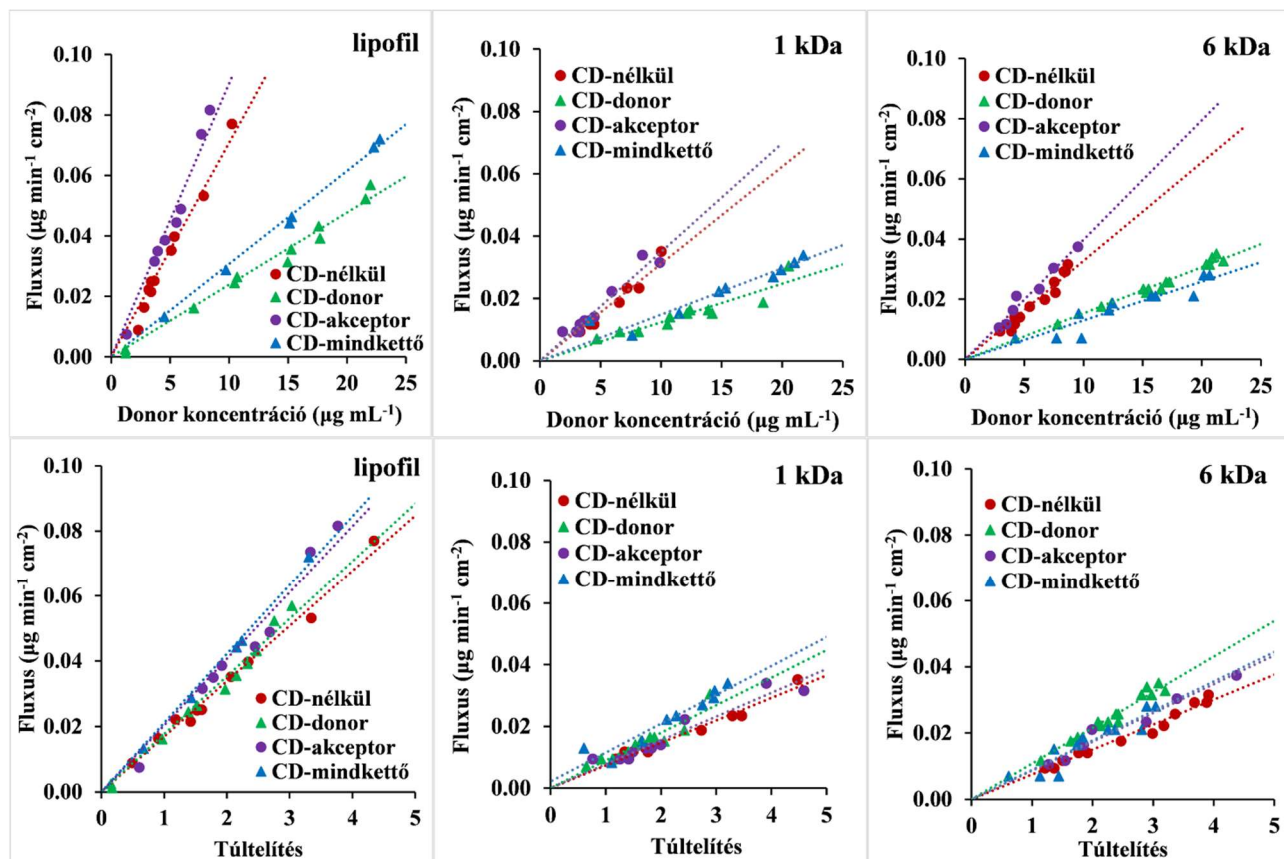
2. ábra Látszólagos permeabilitási értékek pH 10-es pufferben, 250 rpm és 0 rpm keverési sebességgel, lipofil membrán, 6 kDa és 1 kDa méretkizárásos membránok esetén. HP- β -CD nincs jelen a membrán egyik oldalán sem (CD-nélkül) piros színnel, HP- β -CD hozzáadása a donor oldalhoz (CD-donor) zöld színnel.

A kapott adatok alapján meghatároztam a lipofil membránra jellemző membrán-permeabilitást (P_m) és az UWL vastagságát (h_{UWL}), amely keverés hiányában több mint 2000 μm , intenzív keveréssel pedig 70–360 μm tartományba esett.

Ezen túlmenően látható, hogy megfelelő kevertetés alkalmazása mellett a donor oldalon jelen lévő HP- β -CD mind a lipofil, mind a méretkizárásos membránokon szignifikánsan csökkenti a permeabilitást, ami egyértelműen igazolja az oldhatóság és permeabilitás közötti fordított arányosságot, azonban ez a hatás csak megfelelő kevertetés (250 rpm) mellett értékelhető megbízhatóan. Ezen eredmények bizonyítják, hogy a solubility–permeability interplay mindkét membránfajtánál azonos módon megfigyelhető, és a keverés intenzitása kulcsszerepet játszik a formulációs segédanyagok permeabilitást befolyásoló hatásának kimutatásában.

A dolgozat második felében azt az esetet tárgyaljuk, amikor az akceptor oldalra illetve a membrán mindkét oldalára helyezünk szolubilizáló segédanyagot jól kevertetett (250 rpm) rendszerben pH=10-es körülmények között. A fluxus–donor koncentráció görbék (3. ábra) azt mutatják, hogy a

legnagyobb fluxusértékek HP- β -CD-t az akceptor oldalra helyezve, ezáltal sink kondíciót létrehozva, lipofil membrán használata mellett voltak mérhetőek, míg a méretkizárásos membránokra való csere és a CD donor oldalon történő alkalmazása jelentős fluxus csökkenést eredményezett. Jól látható a fluxus-donor koncentráció diagrammokról, hogy a szolubilizáló segédanyag hozzáadása a rendszerhez (bármelyik vagy mindkét kompartmenthez) az egyenesek meredekségét befolyásolja, mely a permeabilitással arányos tényező.



3. **ábra** Fluxus – donor koncentráció és fluxus-túttelítés görbék, pH=10 puffer, keverési sebesség=250 rpm, lipofil membrán, 1 kDa, és 6 kDa méretkizárásos membrán. Ciklodextrin alkalmazása nélküli eset: **CD-nélkül**, ciklodextrin hozzáadása a donor oldalhoz: **CD-donor**, ciklodextrin hozzáadása az akceptor oldalhoz: **CD-akceptor**, ciklodextrin hozzáadása a donor és az akceptor cellához: **CD-mindkettő**

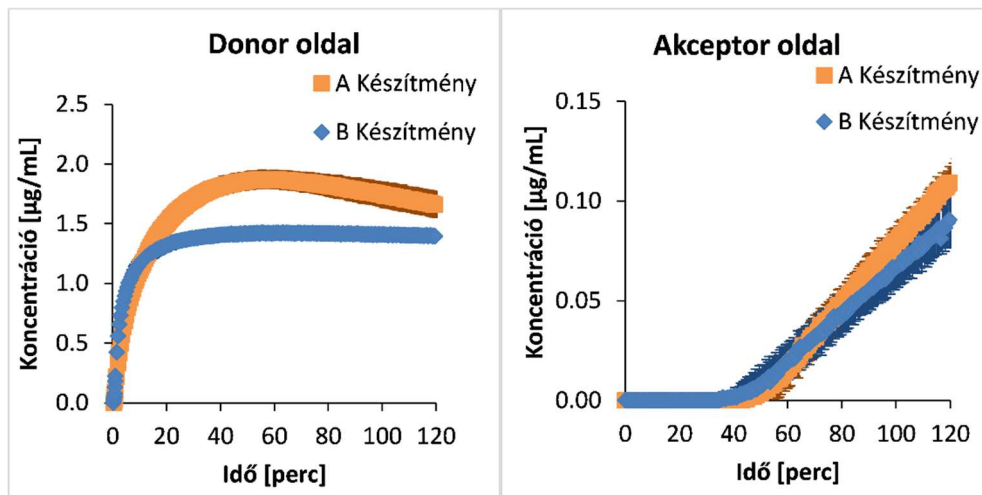
Annak érdekében, hogy a segédanyaghatást figyelembe vegyük fizikai-kémiai egyenletek segítségével levezettem egy UWL limitált esetben érvényes membránon keresztüli transzport leírására alkalmas koncentráció alapú matematikai modellt Fick I. törvényéből, amelyben a transzport hajtóereje a donor és akceptor oldali túttelítésbeli aránnyal (SSR) írható le:

$$J = B_e \left(\frac{c_D}{c_D^*} - \frac{c_A}{c_A^*} \right) \quad 1. \text{ egyenlet}$$

ahol J a fluxus, c_D és c_A a donor és akceptor oldali hatóanyag koncentráció és a* jelölt értékek az egyensúlyi oldhatóságot jelölik, B_e az effektív arányossági tényező, amely az UWL-en és a

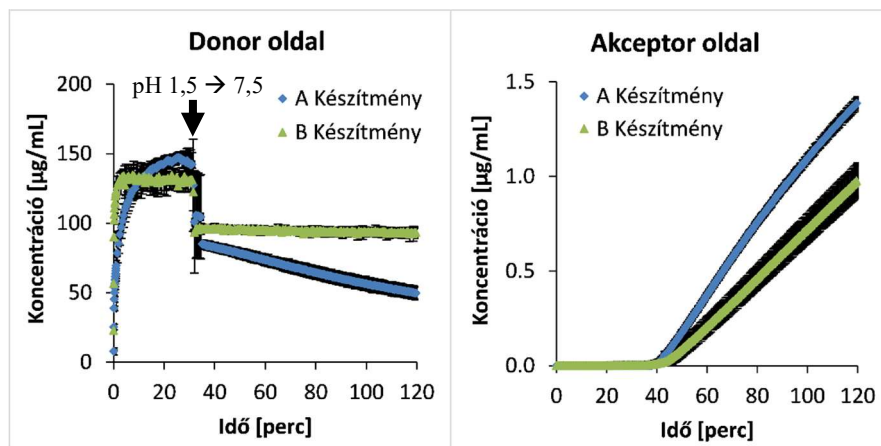
membránon keresztüli diffúzió együttes hatását írja le. Az egyenletből látható, hogy a szolubilizáló segédanyagtól függő tényező, az oldhatóság ezúttal a változó tagba került. A 250 rpm keverés mellett nyert fluxus-túltelítés görbék (**3. ábra**) azt mutatják, hogy a lipofil és 1kDa-os membránon mért adatok jól illeszkedtek a modellhez, hiszen párhuzamos egyeneseket kaptunk és a CD donor oldali jelenléte csak abban az esetben befolyásolja a transzportot, amennyiben a CD átjut a membránon (6 kDa méretkizárásos membrán). A CD akceptoroldali jelenléte ezzel szemben valódi sink hatást eredményezett lipofil membrán esetében, ami a meredekség – azaz az B_e érték – növekedésével járt. Ezzel szemben a méretkizárásos membránoknál a CD átjutása miatt a sinkhatás gyakorlatilag megszűnt, és a fluxus-meredekségek párhuzamosak maradtak.

A dolgozat harmadik részében a pimobendan hatóanyag (PIMO) vizsgálata során feltártam, hogy az oldhatóság és a permeabilitás egyaránt erősen függ a pH-tól és a készítményben jelenlévő segédanyagoktól, ami alapvetően meghatározza a biohasznosulást. A pH-oldhatóság profil alapján a PIMO oldhatósága alacsony pH-n nagyságrendekkel nagyobb. Az egyensúlyi oldhatósági vizsgálatok és a PAMPA-mérések egyaránt kimutatták, hogy a különböző adalékanyagok (felületaktív anyagok és pH-módosítók) eltérő mértékben növelik az oldhatóságot, és ezzel egyidőben több esetben jelentősen csökkentik az effektív permeabilitást, jól demonstrálva a solubility–permeability interplay jelenségét. A pH 4,5 környezet – amely a kutyák proximális vékonybelének felel meg – megfelelően diszkriminatívnek bizonyult a különböző formulációk kioldódásának összehasonlítására. A kioldódás-felszívódás szimultán vizsgálatára alkalmas MicroFLUX készülékkel végzett diszkriminatív, pH 4,5-ös vizsgálatok eredményei (**4. ábra**) azt mutatják, hogy bár egyik készítmény sem érte el az 5 µg/mL célkoncentrációt a donor oldalon, az A készítmény magasabb koncentrációt és meredekebb akceptoroldali görbét adott. Ez összhangban áll a PAMPA-mérések eredményeivel, amelyben az almasav jelenlétében a PIMO csökkent permeabilitást mutatott, míg a Macrogol 6000 és Gelucire jelenléte nem csökkentette a permeabilitást. A módszer tehát alkalmas a készítmények közötti apró különbségek kimutatására is, így könnyen alkalmazható az ipari gyakorlatban a minőségellenőrzésben. Annak ellenére, hogy apró különbségek kimutatására alkalmas, a logaritmikus transzformáción alapuló bioekvivalencia-számítások alapján a fluxus mérések 90%-os konfidenciaintervalluma az elfogadási tartományon (80–125%) belül maradt, így a módszer alkalmasnak bizonyult a készítmények bioekvivalenciájának megállapítására.



4. **ábra** Koncentráció-idő görbék a donor és az akceptor oldalon az A készítmény és a B készítmény esetében, pH 4,5 diszkriminatív donor közegben mérve

Az egyszerű diszkriminatív minőségellenőrzésben is jól használható protokollon kívül bioreleváns, a donor oldalon szimulált kutya gyomor és bélnedvet tartalmazó, háromféle pH-váltáson alapuló protokollt is fejlesztettem. A különböző protokollokkal kapott fluxus adatok azt mutatják, hogy a pH-módosítók hatása túlbecsülheti a két formuláció közötti különbségeket. A különböző protokollokkal mért eredmények közül a két készítmény bioekvivalens voltát legjobban tükröző pH 1,5-ös gyomor közegről pH 7,5 vékonybél közegre váltás eredményeit mutatom be (5. **ábra**).



5. **ábra** Koncentráció-idő görbék a donor és az akceptor oldalon az A készítmény és a B készítmény esetében, bioreleváns pH 1,5-ről pH 7,5-re történő váltást alkalmazó donor közegben

A pH-módosító segédanyaggal rendelkező B készítmény ebben az esetben is kissé csökkent permeabilitást eredményezett, amely különbség nem bizonyult szignifikánsnak, ebben az esetben is a logaritmikus transzformáción alapuló bioekvivalencia-számítások alapján a fluxus eredmények 90%-os konfidenciaintervalluma az elfogadási tartományon (80–125%) belül maradt.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Összehasonlítva a gyógyszerhatóanyagok permeabilitásának modellezésére használt lipofil (*n*-dodekánnal impregnált PVDF lap) típusú membránt a méretkizárásos membránnal (regerált cellulóz) megállapítottam, hogy az oldhatóság és a permeabilitás között mindkét membránfajtánál fordított arányosság figyelhető meg: amennyiben a membrán donor oldalára szolubilizáló segédanyagot helyezünk az a hatóanyag oldhatóságát növeli, miközben a permeabilitása lecsökken. Azt is megállapítottam, hogy a kísérletek során hatékony keverés biztosítása elengedhetetlen a formulációs segédanyagok permeabilitást befolyásoló hatásainak értékeléséhez, mivel mindkét membrántípusnál megfigyelhető jelenség, hogy keverés nélkül szignifikánsan kisebb a szolubilizáló segédanyag hatása a permeabilitásra, mint keverést alkalmazva [I].
2. Megállapítottam, hogy a membrán és a felszínén kialakuló nemkevert vizes rétegekből álló háromrétegű rendszeren keresztül megvalósuló transzport hajtóereje nem egyszerűsíthető le a donor és az akceptor oldal közötti koncentráció különbségre amennyiben a hatóanyag mellett annak oldhatóságát befolyásoló segédanyag is található a rendszerben. Ez érvényes a membrán-limitált és a nemkevert folyadékréteg által limitált esetre is. A transzport hajtóereje a membrán két oldala közti túltelítés-különbséggel írható le. Fick I. törvényéből matematikailag vezettem le, hogy ez érvényes olyan membránok esetében, melyek csak a hatóanyagot engedik át a segédanyagot, illetve a hatóanyag-segédanyag komplexét nem. A hatóanyagkoncentráció-alapú matematikai modell helyességét kísérletileg bizonyítottam lipofil és 1 kDa vágási értékű méretkizárásos membránok felhasználásával karvedilol–HP- β -CD hatóanyag-segédanyag rendszerben, ahol a segédanyag a donor oldalon helyezkedett el. [I]
3. Kísérletileg igazoltam, hogy a koncentráció-alapú matematikai modell alkalmazható a membrán és a felszínén kialakuló nemkevert vizes rétegekből álló háromrétegű rendszeren keresztül megvalósuló transzport esetén, amikor az akceptor oldalon szolubilizáló segédanyag helyezkedik el („sink kondíció”). Lipofil membrán esetén igazoltam, hogy az akceptor oldalon jelen lévő ciklodextrin nemcsak a karvedilol oldhatóságának növelésén keresztül befolyásolta a transzport hajtóerejét, hanem a nemkevert vizes réteg látszólagos vastagságát is megváltoztatta. Ezzel szemben a méretkizárásos membránok esetében az akceptor oldalra helyezett ciklodextrinnek nem volt szignifikáns hatása a transzport sebességére. [II]
4. Kísérletileg igazoltam, hogy a membrán és a felszínén kialakuló nemkevert vizes rétegekből álló háromrétegű rendszeren keresztüli transzport koncentráció-alapú matematikai modellje a membrán mindkét oldalára helyezett ciklodextrin esetében is alkalmazható, amikor a szolubilizáló segédanyag hidrodinamikai mérete lehetővé teszi átjutását a membránon, amennyiben koncentrációgradiens hiányában a segédanyag transzportja elhanyagolható mértékű (a 6 kDa-os vágási értékű méretkizárásos membrán), csak a karvedilol hatóanyagé jelentős. [II]
5. Elsőként alkalmaztam kistérfogatú (20 mL) szimultán kioldódás- és permeáció-vizsgálatokat originális és generikus pimobendán tartalmú állatgyógyászati készítmények összehasonlítására. Az originátor készítmény felületaktív anyagokat, míg a generikus pH módosító ágenseket tartalmazott. Ezen segédanyagok hatását vizsgáltam a hatóanyag oldhatóságára és permeabilitására. A vizsgálati eredmények az oldhatóság és a permeabilitás közti fordított arányosságot igazolták pH 4,5 donor oldali közegben. A logaritmikus transzformáción alapuló bioekvivalencia-számítások alapján a fluxus mérések 90%-os konfidenciaintervalluma az elfogadási tartományon (80–125%) belül maradt, így a módszer alkalmasnak bizonyult ezen készítmények bioekvivalenciájának megállapítására. [III]

EREDMÉNYEK ALKALMAZÁSA

Jelen dolgozat eredményei világosan rámutatnak, hogy a rosszul oldódó hatóanyagok orális felszívódását meghatározó fizikai-kémiai folyamatok — a kioldódás, a túltelítés és kicsapódás, valamint a bélfalon történő permeáció — csak olyan *in vitro* módszerekkel írhatók le megbízhatóan, amelyek ezeket a lépéseket együttesen modellezik. A dolgozatban kidolgozott és mechanisztikusan értékelt kis térfogatú kioldódás–permeációs rendszerek ezt a célt szolgálják, különös tekintettel a kutyák gyomor-bélrendszeri szakaszára, amely mind a humán gyógyszerfejlesztés klinikai fázisában az állatkísérletek során, mind az állatgyógyászati készítmények fejlesztése szempontjából kiemelt modellállat. A lipofil és méretkizárásos membránok összehasonlítása révén mélyebb megérthetjük azt, hogyan módosítják a formulációs segédanyagok (ciklodextrin) a transzportfolyamatokat, és hogyan változik a hajtóerő sink körülmények között. A koncentrációalapú matematikai modell jelentősége abban áll, hogy alkalmas a segédanyagok jelenlétében zajló membrántranszport kvantitatív leírására, és így a formulációs tér racionális optimalizálásának eszközévé válik. A lipofil és méretkizárásos membránokon keresztüli transzportfolyamatok jelen dolgozatban szereplő matematikai leírása a jövőben lehetővé teszi olyan esetekben a mérési elrendezések megtervezését méretkizárásos membrán segítségével, ahol a lipofil membrán a mérési idő alatt nem stabil (pl. liposzómák esetén) és így alternatív mérési módra van szükség.

A pimobendannal végzett vizsgálatok rámutatnak arra, hogy a segédanyagok minősége és mennyisége alapvetően befolyásolja a kioldódást és a permeabilitást, ezért ezek korai, célzott vizsgálata kulcsfontosságú a biohasznosulás megfelelő tervezéséhez. A kifejlesztett egyszerű, akár minőségellenőrzésben is könnyen használható szimultán kioldódás–felszívódás protokoll, amely a formulációk közötti kis különbségek kimutatására is alkalmas, azóta az iparban is alkalmazásra került. A bioreleváns pH-váltással végzett protokollok jó *in vitro in vivo* korrelációjának bizonyításához a jövőben szükség van különböző sav-bázis karakterrel rendelkező hatóanyagok (gyenge savak, gyenge bázisok, semleges vagy akár ikerionos vegyületek) formulációinak tesztelésére, azonban jelen dolgozatban szereplő példa jól mutatja, hogy finoman hangolt kísérleti feltételek mellett a szimultán kioldódás–felszívódás mérések képesek lehetnek a bioekvivalencia *in vitro* predikciójára, ezáltal a jövőben csökkentve a költséges és etikai terhekkel járó *in vivo* vizsgálatok számát.

Összességében a dolgozat olyan módszertani keretrendszert hoz létre, amely jelentősen hozzájárul a generikus és innovatív gyógyszerfejlesztés hatékonyságához, különösen a rosszul oldódó hatóanyagok területén.

KÖZLEMÉNYEK

A tézisek alapjául szolgáló közlemények

- [I] **Tózsér, P.**; Kovács, L.L.; Kádár, Sz.; Csicsák, D.; Sóti, P.; Völgyi, G.; Sinkó B.; Borbás, E.; Nagy, Z. K.; The effect of surfactants and pH modifying agents on the dissolution and permeation of Pimobendan. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, **2023**. <https://doi.org/10.3311/PPch.20970> IF: 1.3 Q3
- [II] **Tózsér, P.**; Kádár, Sz.; Szabó, E.; Dobó, M.; Tóth, G.; Balogh, Gy.T.; Sóti P.; Sinkó, B.; Borbás, E.; Comparison of lipophilic and size-exclusion membranes: the effect of stirring and cyclodextrin in the donor compartment. *ADMET and DMPK*, **2025**. 13(4), 2753. <https://doi.org/10.5599/admet.2753> IF: 4.3 Q1
- [III] **Tózsér, P.**; Kádár, Sz.; Szabó, E.; Pataki, H.; Sóti, P.; Laczay, P.; Balogh, Gy.T.; Sinkó, B.; Borbás, E.; Comparison of lipophilic and size-exclusion membranes: creating sink condition with cyclodextrin. *ADMET and DMPK*, **2025**. 13(5), 2859. <https://doi.org/10.5599/admet.2859> IF: 4.3 Q1

Az értekezéshez kapcsolódó egyéb közlemények

- Borbás, E.; **Tózsér, P.**; Tsinman, K.; Tsinman, O.; Takács-Novák, K.; Völgyi, G.; Sinkó, B.; Nagy, Z. K. Effect of Formulation Additives on Drug Transport through Size-Exclusion Membranes. *Mol. Pharm.* **2018**, 15, 3308-3317, IF: 4.396 Q1
- Csicsák, D.; Borbás, E.; Kádár, Sz.; **Tózsér, P.**; Bagi, P.; Pataki, H.; Sinkó, B.; Takács-Novák, K.; Völgyi, G. Towards more accurate solubility measurements with real time monitoring: a carvedilol case study. *New J. Chem.* **2021**, 45, 11618, IF: 3.591 Q2
- Kádár, Sz.; **Tózsér, P.**; Nagy, B.; Farkas, A.; Nagy, Z. K.; Tsinman, O.; Tsinman, K.; Csicsák, D.; Völgyi, G.; Takács-Novák, K.; Borbás, E.; Sinkó, B.; Flux-Based Formulation Development—A Proof of Concept Study. *AAPS J.* **2022**, 24:22, IF: 4.5 Q1
- Kádár, Sz.; Csicsák, D.; **Tózsér, P.**; Farkas, A.; Pála, T.; Mirzahosseini, A.; Tóth, B.; Tóth, G.; Fiser, B.; Horváth, P.; Madarász, J.; Avdeef, A.; Takács-Novák, K.; Sinkó, B.; Borbás, E.; Völgyi, G.; Understanding the pH Dependence of Supersaturation State—A Case Study of Telmisartan. *Pharmaceutics*. **2022**, 14, 1635, IF: 5.4 Q1
- Csicsák, D.; Szolláth, R.; Kádár, S.; Ambrus, R.; Bartos, C.; Balogh, E.; Antal, I.; Köteles, I.; **Tózsér, P.**; Bárdos, V.; Horváth, P.; Borbás, E.; Takács-Novák, K.; Sinkó, B.; Völgyi, G.; The Effect of the Particle Size Reduction on the Biorelevant Solubility and Dissolution of Poorly Soluble Drugs with Different Acid-Base Character. *Pharmaceutics*. **2023**, 15, 278. IF: 6.525 Q1

- Kádár, Sz.; Kennedy, A.; Lee, S.; Ruiz, R.; Farkas, A.; **Tózsér, P.**; Csicsák, D.; Tóth, G.; Sinkó, B.; Borbás, E.; Bioequivalence prediction with small-scale biphasic dissolution and simultaneous dissolution-permeation apparatus—An aripiprazole case study. *EUR J PHARM SCI.* 198 **2024**, 106782, IF: 4.3 Q1
- Bárdos, V.; Szolláth, R.; **Tózsér, P.**; Mirzahosseini, A.; Sinkó, B.; Angi, R.; Takács-Novák, K. Study of the Influence of Pharmaceutical Excipients on the Solubility and Permeability of BCS Class II Drugs. *Sci. Pharm.* **2025**, 93, 19. IF: 2.5 Q2

Az értekezéshez kapcsolódó előadások

- **Tózsér Petra**; Borbás Enikő; Sinkó Bálint; Takácsné Novák Krisztina; Völgyi Gergely; Konstantin Tsinmann; Marosi György; Nagy Zsombor Kristóf; *Méretkizárásos membrán, mint a lipid membránok alternatívája*, XII. Szent-Györgyi Albert Konferencia, **2018**, Budapest (Prezentáció)
- **Tózsér Petra**; Borbás Enikő; Sinkó Bálint; Takácsné Novák Krisztina; Völgyi Gergely; Konstantin Tsinmann; Marosi György; Nagy Zsombor Kristóf; *Méretkizárásos membrán mint a lipidmembránok alternatívája*, XLII. Kémiai Előadói Napok, **2019**, Szeged (Prezentáció)
- **Tózsér Petra**; Jaksáné Borbás Enikő; Sinkó Bálint; Takácsné Novák Krisztina; Völgyi Gergely; Konstantin Tsinmann; Marosi György; Nagy Zsombor Kristóf; *In situ kinetikai oldhatóság mérés UV-szonda segítségével*, XLIII. Kémiai Előadói Napok, **2020**, Szeged (Prezentáció)
- **Tózsér Petra**; Gyáfrás Lilla Vivien; Jaksáné Borbás Enikő; Sinkó Bálint; Nagy Zsombor Kristóf; *Karvedilol-ciklodextrin komplex kioldódás-felszívódás vizsgálata*, XLIV. Kémiai Előadói Napok, **2021**, Szeged (Prezentáció)
- **Tózsér Petra**; Kovács Luca Lili; Kádár Szabina; Csicsák Dóra; Sóti Péter; Völgyi Gergely; Nagy Zsombor K.; Borbás Enikő; Sinkó Bálint; *The effect of surfactants and pH modifying agents on the dissolution and permeation of Pimobendan*, AAPS PharmSci 360, **2022**, Boston, MA (Poszter)
- **Tózsér Petra**; Kovács Luca Lili; Kádár Szabina; Csicsák Dóra; Sóti Péter; Völgyi Gergely; Sinkó Bálint; Nagy Zsombor K.; Jaksáné Borbás Enikő; *Felületaktív anyagok és pH-módosító segédanyagok hatása a pimobendán kioldódására és felszívódására*, XLVI. Kémiai Előadói Napok, **2023**, Szeged (Prezentáció)