TIROZIN KINÁZ INHIBITOROK: FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZÉSÜK, CIKLODEXTRIN-KOMPLEXKÉPZÉSÜK ÉS PROTONÁLÓDÁS FÜGGŐ RECEPTOR KÖTŐDÉSÜK

Doktori értekezés

Jánoska Ádám

Semmelweis Egyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Tóth Gergő, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Fejős Ida, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Rozmer Zsuzsanna, Ph.D., egyetemi docens

Komplex vizsgabizottság elnöke:
Dr. Benyó Zoltán, D.Sc., egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottsági tagok:
Dr. Béni Szabolcs, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Urai Ákos, Ph.D., Minőségbiztosítási igazgató Cyclolab Kft.

Budapest
2026

1 BEVEZETÉS

A rosszindulatú daganatos megbetegedések világszerte a vezető halálokok közé tartoznak, a halálesetek jelentős hányadáért felelősek. A tumorok kialakulása és progressziója többlépcsős folyamat, amely egyrészt kumulatív genetikai eltérések, másrészt az intercelluláris kommunikáció zavara következtében jön létre. A betegség patomechanizmusának mélyreható megértése, valamint a progressziómentes túlélés növelését célzó, biztonságos és hatékony terápiák fejlesztése az orvosi és gyógyszerészeti kutatás központi feladata.

A hagyományos citosztatikus kemoterápiás szerek alacsony terápiás indexszel és súlyos mellékhatásprofillal rendelkeznek, ezért a gyógyszerkutatás fókusza a molekulárisan célzott hatóanyagok felé tolódott. Kiemelt célpontot jelentenek a protein kinázok, különösen a tirozin-kinázok, amelyek a sejtek növekedésének és differenciálódásának szabályozásában alapvető szerepet töltenek be. A növekedési faktor receptor tirozin-kinázok (pl. EGFR, HER2) szerkezeti vagy szabályozási zavara gyakran vezet onkogén jelátvitelhez, ami megalapozta a receptorok és az ATP-kötő helyükhöz kötődő kis molekulatömegű tirozin-kináz gátlók (TKI-k) terápiás célpontként történő alkalmazását. Az elmúlt években az FDA által engedélyezett kis molekulájú daganatellenes szerek jelentős része TKI, ami jól jelzi e vegyületcsoport stratégiai jelentőségét.

Doktori munkám négy klinikailag releváns TKI – erlotinib, gefitinib, lapatinib és vandetanib – vizsgálatára fókuszál. Erlotinib, gefitinib és lapatinib elsődleges célpontjai az EGFR/HER2 receptorok, amelyek túlzottan expresszálódhatnak vagy mutálódhatnak nem kissejtes tüdőrákban, hasnyálmirigyrákban és emlődaganatban. A vandetanib ezzel szemben az EGFR mellett a VEGFR-t és a RET tirozin-kinázt is gátolja, ami medulláris pajzsmirigy karcinómában bír különös terápiás relevanciával. E négy TKI jól reprezentálja a molekulárisan célzott terápia fejlődési irányait és a jelátviteli folyamatok gyógyszeres modulációjának komplexitását.

A TKI-k klinikai alkalmazhatóságát ugyanakkor gyakran korlátozzák kedvezőtlen fizikai-kémiai és biofarmáciai tulajdonságaik. Legtöbbjük a biofarmáciai osztályozási rendszer (BCS) II. vagy IV. osztályába tartozik, azaz rossz vízoldhatósággal és gyakran magas lipofilitással rendelkeznek. Mivel a szervezet alapvető folyamatai vizes közegben zajlanak, a megfelelő vízoldhatóság az orális biohasznosulás előfeltétele. Az ionizálható

gyógyszermolekulák esetében a protonáltsági állapot különösen kritikus: a pH-függő sav–bázis egyensúly befolyásolja az oldhatóságot, a membránpermeabilitást, a fehérjekötődést és a receptor-affinitást. A membrántranszport általában a semleges forma számára kedvező, amely ugyanakkor többnyire a legalacsonyabb vízoldhatósággal rendelkezik; ez rávilágít a permeabilitás–oldhatóság közötti alapvető kompromisszumra. A TKI-k molekuláris szintű viselkedésének megértéséhez ezért elengedhetetlen a protonálódási állandók, az oldhatóság és a lipofilitás részletes feltárása.

A gyenge vízoldhatóság technológiai szinten többféle stratégiával javítható, ezek közül kiemelkedő jelentőségű a ciklodextrinekkel (CD-k) történő komplexképzés. A CD-k D-glükopiranóz egységekből, α-(1,4)-glikozidos kötéssel felépülő, ciklikus oligoszacharidok, amelyek apoláris belső ürege aromás és hidrofób csoportok befogadására alkalmas, poláris külső felszínük pedig jó vízoldhatóságot biztosít. Az α-, β- és γ-CD üregmérete és polaritása különböző vendégmolekulák zárványkomplexeinek kialakítását teszi lehetővé. A hidroxilcsoportok kémiai módosítása révén nagyszámú CD-származék állítható elő; a hidroxipropilált, metilezett és töltéssel rendelkező derivátumok széles körben alkalmazottak a gyógyszertechnológiában. A CD-k segítségével számos rosszul oldódó hatóanyag oldhatósága és biohasznosulása javítható, amit a CD-t tartalmazó, ma már több tucat engedélyezett gyógyszerkészítmény is igazol. Innovatív TKI-k (pl. larotrectinib, quizartinib) esetében hidroxipropil-CD-t alkalmaznak a formulálás során, demonstrálva e segédanyag-család jelentőségét a célzott onkológiai terápiákban.

2 CÉLKITŰZÉSEK

Doktori munkám átfogó célja volt, hogy a kiválasztott TKI-k fizikai-kémiai jellemzését elvégezzük, és feltárjuk, hogy az alapvető molekuláris tulajdonságaik hogyan befolyásolják az oldhatóságot, a komplexképződést és a protonálódás függő viselkedésüket biológiai rendszerekben.

Ennek elérése érdekében a következő célokat határoztuk meg:

1. A kiválasztott TKI-k sav-bázis tulajdonságainak (pK_a-értékek) meghatározása és vizes oldatban fennálló protonálódási egyensúlyuk leírása, a fiziológiai körülmények között releváns speciációs mintázatok megállapítása.
2. Az egyes vegyületek vízoldhatósági és lipofilitási profiljának jellemzése, valamint annak értékelése, hogy az ionizációs állapot hogyan befolyásolja ezeket a tulajdonságokat.
3. Annak vizsgálata, hogy a CD-komplexképzés javíthatja-e az alacsony vízoldhatóságú TKI-k oldhatóságát, valamint a megfelelő zárványkomplexek sztöchiometriájának és stabilitásának meghatározása.
4. A TKI–CD komplexek szerkezetének és kötési geometriájának jellemzése, hogy betekintést nyerjünk a gazda–vendég kölcsönhatásokba.
5. Annak értékelése, hogy a protonálódási állapot, a molekuláris konformáció és a zárványkomplexképződés hogyan befolyásolja a vizsgált TKI-k fizikai-kémiai viselkedését, a készítményfejlesztésre és a biofarmakológiai teljesítményre gyakorolt hatások figyelembevételével.

E célkitűzések együttesen hozzájárulnak ahhoz, hogy mélyebben megértsük, miként szabályozzák az alapvető molekuláris tulajdonságok a TKI-k oldhatóságát, komplexképződését és protonálódás függő viselkedését, ezáltal támogatva a továbbfejlesztett gyógyszerkészítmények racionális tervezését.

3 MÓDSZEREK

A vizsgált TKI-k protonálódási, oldhatósági, lipofilitási és komplexképződési tulajdonságainak feltárásához egymást kiegészítő kísérletes és számítógépes módszereket alkalmaztunk.

A protonálódási állandók (pK_a) meghatározására pH-potenciometriás és UV–pH titrálást alkalmaztunk. Erlotinib esetében kombinált Ag/AgCl üveg-elektródot és GLpKa analizátort használtunk, az elektródot metanol/víz közegben Four-PlusTM eljárással kalibrálva. A vegyület rossz vízoldhatósága miatt ko-szolvens módszerrel, különböző metanol/víz elegyekben mértük a látszólagos állandókat (logK'), 0,15 M KCl ionerősségen, 25 ± 0,5 °C-on, nitrogén atmoszférában, pH 2–10 tartományban. A három párhuzamos mérésből kapott logK' értékeket Yasuda–Shedlovsky módszerrel tisztán vizes közegre extrapoláltuk. UV–pH titrálásnál D-PAS spektrofotométert használtunk, a spektrumokat minden titrálási lépés után rögzítve.

A semleges bázisok termodinamikai (intrinsic) oldhatóságát a Chasing Equilibrium Solubility (CheqSol) technikával határoztuk meg GLpKa titráló berendezéssel és optikai szálon csatlakoztatott D-PAS spektrofotométerrel, 25 ± 0,5 °C-on, 0,15 M KCl jelenlétében, nitrogén atmoszférában. A TKI-kat protonált formában oldottuk, majd 0,5 M KOH adagolásával a pH emelésekor kialakuló kicsapódást optikailag követtük. Kis mértékű sav/bázis adagolásával a semleges molekula koncentrációját az egyensúlyi telítettség körül változtattuk, és a pH-változásokból számítottuk a termodinamikai oldhatóságot.

A lipofilitást rázótölcséres módszerrel határoztuk meg. A víz- és n-oktanol-fázisok 24 órán át előre telítésre kerültek egymással, a vegyületek a vizes fázisban oldottuk. A koncentrációk Jasco V-550 spektrofotométerrel (250 nm) kerültek meghatározásra az egyensúly beállta előtt és után. Erlotinib, gefitinib és vandetanib esetében a mérések pH 11-en történtek, 12 órás rázatás után centrifugálással választva szét a fázisokat; a log$P$ értékek az abszorbancia-különbségből és a fázisarányból kerültek kiszámításra. Lapatinib magas lipofilitása miatt különböző pH-n mért log$D$-értékekből, a különböző töltésű lapatinib moláris frakcióit figyelembe véve számoltuk ki a bázis log$P$-jét.

A molekuláris szerkezet és protonálódási egyensúlyok vizsgálatára NMR spektroszkópiát alkalmaztunk Varian Unity Inova DDR (599,9 MHz, ^{1}H) készüléken. A

^{1}H NMR–pH titrálásokat erlotinib, gefitinib és vandetanib 1 mM oldatain végeztük, 0,2 mM DSS standarddal, 5% D2O/95% H2O oldószerben, 1,0 M KCl jelenlétében, 25 °C-on. Alacsony vízoldhatósága miatt a lapatinib NMR-pH titrálásban nem volt mérhető. A spektrumokat dpfgse oldószer-szuppressziós szekvenciával vettük fel. A pK_a-értékeket a kémiai eltolódás–pH görbék nemlineáris illesztésével (OriginPro 8) határoztuk meg. A TKI–CD zárványkomplexek térbeli elrendezésének vizsgálata 2D-ROESY mérésekkel történt 2 mM β-CD és 1 mM TKI oldatában (30% DMSO/70% D2O, pH 2).

A komplexek sztöchiometriájának meghatározása UV és NMR spektroszkópiával, Job módszerével történt. A TKI és β-CD moláris arányát 0–1 között változtattuk, miközben az összkoncentráció $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ M maradt, majd az abszorbancia- és kémiai eltolódás-változásokat elemeztük. A fázis-oldhatósági méréseket Higuchi–Connors módszer szerint, pH 2-re beállított közegben, 0,15 M KCl jelenlétében zajlottak natív és módosított CD-származékokkal. A 24 órás keverés és ülepedés után mért TKI-koncentrációkból felvett fázis-oldhatósági diagram lineáris szakaszának meredekségéből, az intrinsic oldhatóság (S_0) ismeretében számoltuk az 1:1 sztöchiometriájú komplexek stabilitási állandóit.

A molekulamodellezési vizsgálatokhoz Schrödinger csomagot használtunk. Az Epik Classic és Epik 7 modulokkal 1–13 pH-tartományban becsültük a protonálódási állapotokat, majd kiválasztottuk a legvalószínűbb konformereket dokkolási vizsgálatokhoz. A dokkolást az EGFR tirozin-kináz domén inaktív formáján (PDB: 4HJO) végeztük, a fehérjét Protein Preparation Wizarddal készítve elő, PROPKA alapján beállított protonálódással és OPLS3e erőtérrel minimalizálva. A legvalószínűbb protonálódási formák és β-CD-komplexeik kvázi-kvantumkémiai jellemzésére a Gaussian 16 programcsomag PM6 módszerét, CPCM vizes implicit oldószermodellel használtuk.

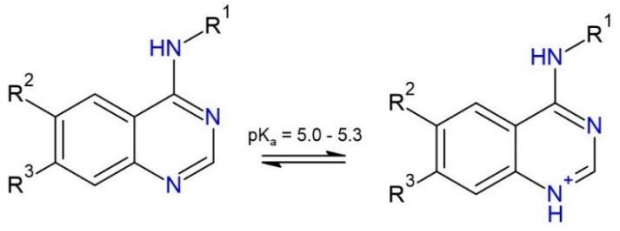
4 EREDMÉNYEK

Első lépésben a protonálódási egyensúlyok feltárása történt. Erlotinib esetében három, egymástól független módszerrel – pH-potenciometriás, UV–pH titrálási és ^{1}H NMR–pH titrálási eljárással – határoztuk meg a protonálódási állandót. A metanol/víz ko-szolvens módszer, Yasuda–Shedlovsky extrapolációval kombinálva, pK_a = 5,25 ± 0,02 értéket eredményezett, míg UV–pH titrálással 5,39 ± 0,03, ^{1}H NMR–pH titrálással 5,32 ± 0,06 adódott. A három módszer jó egyezése alátámasztja a mérési eljárások megbízhatóságát.

Lapatinib esetében a rendkívül alacsony vízoldhatóság miatt kizárólag UV–pH titrálás volt kivitelezhető metanol/víz elegyekben. A látszólagos protonálódási állandók (p$_s K_a$) 23–60 m/m% metanoltartományban adtak extrapolálható adatokat. Az extrapoláció alapján pK_{a1} = 5,08 ± 0,05 és pK_{a2} = 7,72 ± 0,07 értékeknek adódtak.

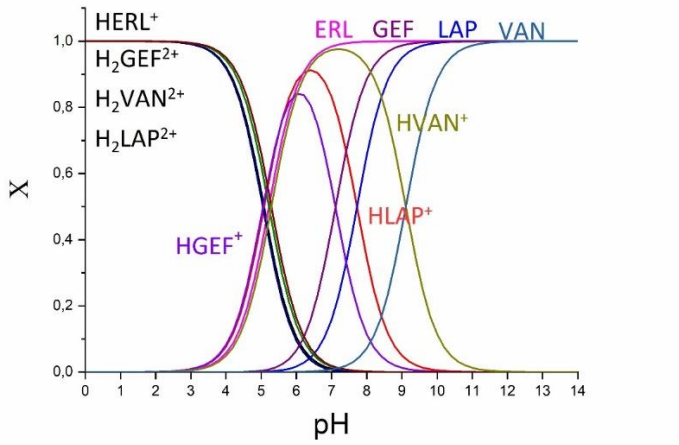
A ^{1}H NMR–pH titrálás kulcsszerepet játszott a kinazolin-váz protonálódási mechanizmusának tisztázásában. Erlotinib, gefitinib és vandetanib esetén a kinazolin gyűrű aromás protonjainak kémiai eltolódását elemeztük pH 0–12 tartományban. A pK_a értékek gefitinibre pK_{a1} = 5,05 ± 0,02 és pK_{a2} = 7,11 ± 0,02, vandetanibre pK_{a1} = 5,29 ± 0,08 és pK_{a2} = 9,11 ± 0,02 értékeknek adódtak. Ezek az adatok, az erlotinibre mért ~5,3 körüli értékkel együtt, azt mutatják, hogy a kinazolin mag első protonációs lépése mind a négy molekulánál 5,0–5,3 közötti tartományba esik.

A molekulamodellezés tovább finomította a protonálódási ismereteket. Epik Classic és Epik 7 predikciók alapján erlotinibre hat, lapatinibre kilenc, gefitinibre tíz, vandetanibre nyolc lehetséges protonáltságú forma került azonosításra, ezek közül a legrelevánsabb formák részletes kiértékelést kaptak. A state penalty értékek minden esetben azt mutatták, hogy a kinazolin vázon a para N1-pozíció protonálódása energetikailag kedvezőbb legalább 2,0 kcal/mol-lal az N3-pozícióhoz képest.



1. ábra - A 4-anilino-kinazolin mag preferált protonálódása

Az így kapott p*Ka* adatok alapján meghatározhatóak voltak a pH függő eloszlások biológiailag releváns pH-tartományokban. Savas közegben (gyomor, pH ~1–2) mind a négy TKI jellemzően (di)kationos formában van jelen; ez a teljes protonáltság korlátozza a passzív diffúziót a gyomorfalon keresztül. A vékonybél enyhén savas–semleges tartományában a molekulák döntően monokationos vagy semleges formában fordulnak elő, ami már kedvezőbb a passzív transzport szempontjából. Vérplazma pH-n (~7,4) erlotinib szinte teljesen semleges (~99%), gefitinib és lapatinib ~66–68%-ban semleges, ~32–34%-ban monokationos formában, míg vandetanib döntően monokationos (~97%). Ez a viselkedés meghatározza mind membránpermeációjukat, mind plazmafehérje-kötődésüket.



2. ábra – A vizsgált TKI-k pH-függő eloszlása.
(ERL – erlotinib, GEF – gefitinib, LAP – lapatinib, VAN – vandetanib)

A lipofilitási mérések (n-oktanol/víz rendszerben mért log*P*) jelentős különbségeket tártak fel a TKI-k között: erlotinib 2,75 ± 0,02, gefitinib 3,65 ± 0,08, vandetanib 4,12 ± 0,13, lapatinib 5,65 ± 0,25 logP értékkel rendelkeznek. A fiziológiás pH-n mért eloszlási hányadosok (log$D_{7,4}$) szintén magas lipofilitást jeleznek (pl. lapatinib: 5,16; gefitinib: 3,47; vandetanib: 2,40; erlotinib: 2,75), ami egyrészt kedvező a membránon való átjutáshoz, másrészt fokozott központi idegrendszeri penetráció lehetőségére utal, ami terápiás szempontból agyi metasztázisok kezelésében előnyös, de toxikológiai megfontolásokat is felvet.

Az intrinsic (termodinamikai) oldhatóság CheqSol módszerrel kapott eredményei kiemelik a vizsgált TKI-k közötti szélsőséges különbségeket. Gefitinib bizonyult a legjobb vízoldhatóságúnak (86,0 μg/mL, 192,3 μM), ezt követte a vandetanib (44,3 μg/mL, 93,1 μM) és erlotinib (4,91 μg/mL, 12,5 μM), míg a lapatinib extrém alacsony vízoldhatósággal rendelkezik (0,48 ng/mL, 210 pM). A klinikai adatokkal összevetve ez jól magyarázza, hogy míg erlotinib és gefitinib abszolút biohasznosulása ~59%, addig lapatinib esetében <25%, amely a gyakorlatban a beteg számára napi 1250 mg-os dózist és jelentős mellékhatásokat okoz. Vandetanib biohasznosulására megbízható humán adat nem áll rendelkezésre, ami valószínűleg a mérsékelt oldhatóság, first-pass metabolizmus és transzporter-interakciók komplex hatását tükrözi.

1. táblázat - A TKI-k fizikai-kémiai tulajdonságainak összefoglalása és biohasznosulása. (N/A – nem elérhető)

	Protonálódási állandó			**Lipofilitás**	**Intrinsic oldhatóság**	**Biohasznosulás**
	pK_a			**log$P$**	**S_0**	
	Potenciometriás titrálás	UV-pH titrálás	NMR-pH titrálás			
Erlotinib	5,25±0,02	5,39±0,03	5,32±0,06	2,75 ± 0,02	4,91 ± 0,9 μg/ml = 12,5 μM	59%
Gefitinib	**N/A**	**N/A**	5,05±0,02 7,11±0,02	3,65 ± 0,08	86,0 ± 2,53 μg/ml = 192,3 μM	59%
Vandetanib	**N/A**	**N/A**	5,29±0,08 9,11±0,02	4,12 ± 0,13	44,3 ± 0,13 μg/ml = 93,1 μM	**N/A**
Lapatinib	N/A	5,08±0,05 7,72±0,07	N/A	5,65 ± 0,25	0,48 ± 0,12 ng/ml = 210.0 pM	Kevesebb, mint 25%

A ciklodextrin komplexképzés vizsgálata során első lépésként a TKI–CD zárványkomplexek sztöchiometriáját határoztuk meg Job módszerével UV- és NMR-mérések alapján. Minden esetben az eltérés maximuma $\chi = 0,5$ összkoncetnrációnl volt mérhető, ami 1:1 arányú sztöchiometriát mutat. Ezen eredményeket függetlenül alátámasztották az A_L-típusú fázis-oldhatósági izotermák, a 2D ROESY NMR során kapott keresztcsúcsok és a molekulamodellezés eredményei.

A fázis-oldhatósági vizsgálatok alapján mind a négy TKI termodinamikailag stabil zárványkomplexet képez α-, β-, γ-CD-vel, illetve három módosított β-CD-származékával (HP-β-CD, RAMEB, SBE-β-CD). A logK_{stab} értékek 1,3–4,3 tartományban mozognak, ami megfelel a formulálás szempontjából kedvező komplex stabilitási tartománynak. A natív CD-k közül a β-CD adta a legstabilabb komplexeket (pl. erlotinib/β-CD: logK_{stab} = 2,43, 4-szeres oldhatóságnövekedés 10 mM CD koncentráció mellett), ezért a részletes vizsgálatok β-CD és származékaira fókuszáltak. A szubsztituált β-CD származékok közül a szulfobutil-éter-β-CD (SBE-β-CD) bizonyult messze a leghatékonyabbnak: lapatinib esetében logK_{stab} = 4,33 és 183-szoros oldhatóságnövekedés volt kimutatható 10 mM CD koncentráció mellett, míg erlotinibnél 23-szoros, vandetanibnál 17-szeres, gefitinibnél 34-szeres javulás adódott. HP-β-CD és RAMEB szintén számottevő javulást eredményeztek (tipikusan 3–5-szörös oldhatóságnövekedés), különösen lapatinib és gefitinib esetében.

A 2D ROESY NMR spektrumok a komplexek geometriájáról is részletes információt szolgáltattak. Vandetanib-β-CD komplexben a bromo-fluorofenil csoport protonjai erős keresztcsúcsokat adtak a CD H3 és H5 protonjaival, miközben a belső H5 jeléhez kapcsolódó további keresztcsúcsok hiánya arra utalt, hogy az aromás egység elsősorban a szélesebb kónuszon keresztül hatol be az üregbe. Erlotinib és gefitinib esetében hasonló mintázat volt megfigyelhető: a 4-amino csoporthoz kapcsolódó szubsztituált fenilgyűrű kerül az üregbe. Lapatinib esetén a fluorofenil egység mutatott keresztcsúcsokat a CD H3 protonjaival, ami ugyancsak a szélesebb peremen keresztüli kompleképzést támogatja.

A β-CD-nel alkotott komplexek termodinamikai stabilitását PM6 szintű kvázi-kvantumkémiai számításokkal vizsgáltuk. Összesen 11 kiválasztott protonálódási állapot esetén történtek energiabecslések, a ROESY alapján feltételezett geometriák optimalizálásával. A relatív Gibbs-szabadenergia értékek (ΔG, ΔΔG) azt mutatták, hogy erlotinib, gefitinib és vandetanib esetében a semleges fajok komplexei a legstabilabbak a natív β-CD-nel, míg a mono- és dikationos formák stabilitása szisztematikusan romlik. Lapatinibre nem volt ilyen egyértelmű trend, ami a nagyobb, merevebb hidrofób egység és egy hiányzó stabilizáló hidrogénkötés kombinált hatásával magyarázható. Ez a hidrogénkötés a másik három TKI esetében hozzájárul a komplex stabilizálásához.

A tirozin-kináz receptorhoz való kötődést dokkolási számításokkal vizsgáltuk az EGFR tirozin-kináz domén inaktív formáján (PDB: 4HJO). A dokkolási pontszámok (DS) és a ligand–receptor interakciótérképek egyértelmű képet adtak a protonálódási állapot szerepéről az affinitás alakulásában. Minden esetben a semleges fajok rendelkeztek a legkedvezőbb dokkolási pontszámmal (pl. lapatinib: DS = −12,03 kcal/mol; erlotinib: −9,54 kcal/mol; gefitinib: −9,11 kcal/mol; vandetanib: −5,26 kcal/mol), míg a dikationos formák affinitása jelentősen romlott (DS értékek 0 és −2,5 kcal/mol között). A ligand–interakciós térképek alapján a kinazolin mag semleges formában kiválóan illeszkedett az ATP-kötőhelyen, és valamennyi TKI esetében kulcsfontosságú kölcsönhatások alakultak ki MET769 oldalláncával, ami jól egyezik a szakirodalmi adatokkal. A protonáltsági fok növekedésével a ligandumok kötődési módja eltolódott, új vagy megváltozott hidrogénkötések és elektrosztatikus kölcsönhatások jelentek meg, amelyek gyakran a konfiguráció stabilitásának romlásához vezettek. Különösen érdekes, hogy egyszeresen protonált gefitinib esetében a kinazolin mag kötődési pozíciója nagymértékben megmaradt, miközben a dokkolási pontszám csak mérsékelten romlott, ami a protonált forma sajátos kölcsönhatás mintázatára utal.

5 KÖVETKEZTETÉSEK

Doktori munkám elsődleges célja a négy kiemelt TKI (erlotinib, gefitinib, vandetanib és lapatinib) fiziko-kémiai tulajdonságainak meghatározása révén a TKI-k farmakokinetikai viselkedésének molekuláris szintű jellemzése volt. A racionális gyógyszertervezés eredményeként a modern TKI-k több protonálható csoportot tartalmaznak, ami kedvezően befolyásolhatja vízoldhatóságukat. Az eredmények alapján igazolhatóvá vált, hogy a kinazolin gyűrű protonálódása kritikus tényező a hatékony receptor-kötődés szempontjából, és a dokkolási vizsgálatok egyértelműen rávilágítottak a protonáltság függő kölcsönhatások kötődést befolyásoló szerepére. A fizikai-kémiai vizsgálatok összességében megerősítették a TKI-kra jellemző fő farmakokinetikai kihívásokat, különös tekintettel a magas lipofilitás és alacsony vízoldhatóság által okozott korlátozott biohasznosulást, amely a BCS II. osztályba sorolt gyógyszerek tipikus problémája.

A CD-k zárványkomplexek képzésén keresztül képesek növelni ezen hatóanyagok oldhatóságát, ami a biohasznosulás javulásához vezethet. Részletes vizsgálataink kimutatták, hogy a β-CD üregmérete különösen kedvező a vizsgált TKI-k befogadására. A TKI–β-CD zárványkomplexek esetében következetesen 1:1 sztöchiometria volt igazolható, amelyet Job-féle titrálás támasztott alá. A 2D ROESY NMR spektroszkópia és a molekulamodellezés molekuláris szintű szerkezeti információt szolgáltatott a komplexek felépítéséről, ezáltal mélyebb betekintést nyújtva a TKI-k farmakokinetikájába és receptor-kötődési sajátosságaiba. A vizsgált módosított β-CD-származékok (véletlenszerűen metilezett, hidroxi-propilált és szulfobutilált β-CD) közül a szulfobutilált β-CD bizonyult a leghatékonyabbnak, amely akár két nagyságrenddel is növelte a TKI-k oldhatóságát.

Eredményeim közvetlenül érintik a daganatellenes gyógyszerfejlesztés egyik legjelentősebb kihívását, a rossz vízoldhatóság problémáját. A CD-komplexek biokompatibilis jellege és kedvező toxikológiai profilja tovább erősíti ezen megközelítés gyakorlati jelentőségét. Összességében a disszertációban bemutatott adatok hozzájárulnak a TKI-k fejlesztéséhez, és kvantitatív, mechanisztikus alapot szolgáltatnak új gyógyszerformulálási stratégiák racionális tervezéséhez, ezáltal bővítve a daganatos betegek terápiás lehetőségeit és előmozdítva az onkológiai farmakoterápia fejlődését.

6 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Tézisek alapjául szolgáló közlemények

I. **Jánoska Á**, Szabó ZI, Szőcs L, Fiser B, Tóth G. Physicochemical characterization, cyclodextrin complexation, and protonation state-dependent receptor binding of selected tyrosine kinase inhibitors. J Mol Struct. 2026 Feb;1352:144518.

II. Tóth G*, **Jánoska Á***, Szabó ZI, Völgyi G, Orgován G, Szente L, Noszál B. Physicochemical characterisation and cyclodextrin complexation of erlotinib. Supramol Chem. 2016 Aug 2;28(7–8):656–64.

III. Tóth G*, **Jánoska Á***, Völgyi G, Szabó ZI, Orgován G, Mirzahosseini A, Noszál B. Physicochemical Characterization and Cyclodextrin Complexation of the Anticancer Drug Lapatinib. J Chem. 2017;2017:1–9.

*Megosztott elsőszerzőség

Egyéb közlemények

IV. Szabó Z, Szőcs L, Horváth P, Komjáti B, Nagy J, **Jánoska Á**, Muntean D, Noszál B, Tóth G. Liquid chromatography with mass spectrometry enantioseparation of pomalidomide on cyclodextrin-bonded chiral stationary phases and the elucidation of the chiral recognition mechanisms by NMR spectroscopy and molecular modeling. J Sep Sci. 2016 Aug 6;39(15):2941–9.