

## OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

### ***Medikované polymerní systémy založené na větvených derivátech PLGA***

*Medicated polymer systems based on branched PLGA derivatives*

**Disertant:** Mgr. Juraj Martiška

**Vedoucí disertační práce:** doc. RNDr. Milan Dittich, CSc.

**Konzultant disertační práce:** PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

**Studijní obor:** Farmaceutická technologie

**Oponent:** doc. PharmDr. Kateřina Kubová, Ph.D.- Ústav farmaceutické technologie  
FaF MU

**Aktuálnost řešené problematiky:** Předložená disertační práce zpracovává aktuální téma biodegradovatelných nanočásticových systémů, které představují jedno ze základních nosných témat v oblasti současné farmaceutické technologie.

**Charakteristika disertační práce:** Předložená disertační práce byla sepsána jako klasická práce, a to konkrétně na 131 stranách, včetně literárních odkazů. Použitá literatura je relevantní, převážně aktuální, celkový počet odkazů je 235. Členění práce zahrnuje cíle práce, úvod, teoretickou část, experimentální část, výsledky a diskuzi, závěry, přehled publikační činnosti a literární zdroje.

**Teoretická část** práce (celkově 40 stran) sestává z dvanácti kratších kapitol, které jsou v přímé souvislosti s experimentální činností uchazeče. Teorie zahrnuje biodegradovatelné polymery se zaměřením na PLGA včetně jeho větvených derivátů. Dále je popisována problematika nanočástic se zaměřením na jejich základní charakteristiky jako je tvar, velikost, distribuce velikosti, zeta potenciál a jejich stabilizaci, včetně nejčastějších instrumentálních metod k jejich hodnocení. Detailněji jsou pak popisovány teoretické aspekty metod přímo využívaných v rámci výzkumné činnosti dizertanta, konkrétně termické analýzy a viskozimetrie. Teoretická část přináší také informace o liberaci léčiv z PLGA částicových systémů a možnostech testování jejich antimikrobiální účinnosti. Závěrečné kapitoly teoretické části jsou věnovány detailněji fyzikálně-chemickým vlastnostem léčiva terbinafinu použitým pro inkorporaci do PLGA nanočástic, kationtového tenzidu didodecyldimethylamónium bromidu (stabilizátoru nanosuspenze) a dimethylsulfoxidu jako rozpouštědla v rámci nanoprecipitační metody pro přípravu nanočástic. Teoretická část práce je rozsahově adekvátní a odráží potřeby v rámci experimentální činnosti. Teoretická část je psána čtivě, s logickou návazností, bez chyb a překlepů a potvrzuje erudovanost uchazeče v dané problematice.

Hlavním cílem **experimentální části** předložené disertační práce byla inkorporace léčiva terbinafinu do nanočástic na bázi čtyřech originálně syntetizované polyesterů PLGA s různou architekturou (jeden lineární a tři větvené) a vlastnostmi se zaměřením na sledování vlivu

formulačních parametrů na vlastnosti nanočástic, a to zejména na enkapsulační efektivitu, kapacitu polymeru pro léčivo, *in vitro* uvolňování léčiva z připravených nanočástic, výběr optimální kinetiky uvolňování léčiva a ověření antimikrobiální efektivity. V rámci výzkumné činnosti bylo nutné předem charakterizovat PLGA deriváty z hlediska termické stability, teploty skelného přechodu, zvolit vhodnou metodu přípravy a zajistit kladný náboj nanočástic.

*Metodika* experimentální části je psána na dostatečné úrovni s uvedením všech podstatných informací o průběhu experimentu. Kapitola *Výsledky a diskuze* uvádí dosažené výsledky na 24 stranách tzv. kombinovaně, kdy tyto jsou ihned interpretovány a konfrontovány s již publikovanou literaturou na dané téma. Působí velmi přehledně s logickou návazností. Zahrnuje 18 obrázků a 3 tabulky.

V závěru uchazeč deklaruje úspěšnou přípravu stabilních medikovaných nanočástic s terbinafinem. Byla potvrzena možnost přípravy větvených forem PLGA i bez použití katalyzátoru a bez nutnosti přečišťování. Nanočástice pravděpodobně s polymery v amorfní formě vykazovaly termickou stabilitu přibližně do hodnoty 200 °C. Byla stanovena teplota jejich skelného přechodu. Větvené polyestery v použitém rozpouštědle vykazovaly v koncentracích do 7 % mírně nižší dynamickou viskozitu než lineární PLGA. Vliv inkorporovaného léčiva na tuto vlastnost nebyl pozorován. Jako nejvhodnější rozpouštědlo byl na základě stability nanosuspenze a stupně disperzity vybrán dimethylsulfoxid. Nejvyšší stability nanosuspenze bylo dosaženo při použití tenzidu didodecyldimethylamonium bromidu (0,05 %). V rámci sledování vlivu formulačních proměnných se pro finální velikost nanočástic ukázal jako klíčový typ PLGA (snižování jeho hydrofobního charakteru vedlo k formování větších částic), jeho koncentrace (rostoucí koncentrace PLGA vedla lineárně k formování větších částic) a množství léčiva (rostoucí množství léčiva vedlo k formování větších nanočástic v intervalu 5–15 mg ve vnitřní fázi). Důležitým parametrem se ukázala také rychlost mísení. Připravené částice s léčivem vykazovaly sférický tvar, velikost v rozsahu 100 až 600 nm a nízký index polydisperzity. Nárůst enkapsulační efektivity nanočástic byl pozorován při rostoucím poměru polymer:léčivo, a při použití polyesteru PLGA/A, který současně vykazoval nejvyšší kapacitu polymeru pro terbinafin. V rámci disoluční studie byla zjištěno, že připravené formulace uvolňovaly léčivo prodlouženě, lineární PLGA třífázovým disolučním profilem, PLGA/A kinetikou blízkou 0. řádu s mírných *burst efektem*, PLGA/T kinetikou blízkou 0. řádu, a PLGA/D dvoufázově s výrazným „*burst efektem*“. Na základě difúzní jamkové metody byla prokázána výrazná antimikrobiální efektivitu nanočástic s terbinafinem.

V rámci výzkumné činnosti Mgr. Martiška využil a osvojil si řadu experimentálních technik, jako např. přípravu PLGA nanočástic nanoprecipitační metodou, metody termické analýzy, měření dynamické viskozity, skenovací elektronovou mikroskopii, metodu dynamického rozptylu světla, HPLC stanovení, *in vitro* disoluční techniky, difúzní jamkovou metodu aj.

K práci mám následující připomínky:

- Oceňuji kvalitní obrázky v rámci celé práce.
- K disolučním profilům vzorků by bylo vhodné uvést determinační koeficienty shody s jednotlivými matematickými modely a potvrdit tak tvrzení o lineárním uvolňování léčiva.
- V práci se vyskytuje velmi málo formálních chyb, ale přeci jen se mi podařilo nějaké najít:
  - Přístroje – všechny státy celým názvem, potom i USA jako Spojení státy americké
  - Str. 69 - *Candida albicans* – píše se kurzívou
  - Str. 88 a 91 – v tabulkách Terbinafinu – malým počátečním písmenem

- Str. 91 – „zbobtnalým polymerem“ – lépe nabobtnalým

K práci mám následující dotazy:

- Str. 50 – píšete: „Mnohdy však lze nežádoucí „burst“ efekt redukovat, případně kontrolovat“ – Můžete upřesnit jak?
- Str. 68 - Na základě čeho byly zvoleny podmínky zkoušky disoluce nanočástic – množství, pH atd?
- Pro hodnocení některých formulačních proměnných byl použit pouze PLGA/A (vliv množství polyesteru, výběr stabilizátoru atd.). Proč nebylo testováno také u jiných? Neočekávali jste změny?
- Jaké další experimenty jsou plánovány v rámci nanočástic s danou účinnou látkou? Má naději dostat se k pacientům? Můžete uvést příklady nanočásticových přípravků již používaných v klinické praxi?

Publikační činnost uchazeče:

- Články (*plné znění není součástí práce, myslím, že by to bylo vhodné*)
  - První autor: **počet 1**
    - Pharmaceutical Development and Technology (IF<sub>2019</sub> – 2.169)
  - Spoluautor: **počet 2** (*jeden se nevztahuje k tématu disertační práce*)
    - Acta pharmaceutica - (IF<sub>2019</sub> – 1.375)
    - Pharmaceutical Development and Technology (IF<sub>2019</sub> – 2.169)
- Abstrakta: počet 4
- Přednášky: počet 8

## ZÁVĚR

Mgr. Juraj Martiška vypracoval disertační práci založenou na přehledné, důkladně propracované teoretické části a výsledcích své vědecké činnosti v rámci DSP. Mgr. Juraj Martiška podložil svoji disertační práci publikačními výstupy s IF - u jedné jako první autor, u dvou jako spoluautor. Disertant splnil vytýčené cíle a prokázal schopnost práce s odbornou literaturou, schopnost využít informací pro vlastní samostatnou vědeckou činnost, schopnost dosažené výsledky vyhodnotit a formulovat závěry. **Z uvedeného se domnívám, že uchazeč prokázal tvůrčí schopnosti a předložený spis splňuje z hlediska požadovaných kritérií nároky kladené na práci tohoto typu.** Na základě výše uvedeného **doporučuji**, aby byla předložená disertační práce Mgr. Juraje Martišky přijata k obhajobě a byl mu po úspěšné obhajobě přidělen titul Ph. D. ve vědním oboru farmaceutická technologie.

V Brně, 6. 8. 2020

doc. PharmDr. Kateřina Kubová, Ph.D.