

**Posudek oponenta k disertační práci Mgr. Jana Kučky „Drug delivery“ systémy pro nukleární medicínu.**

Vývoj cíleně směřovaných farmak kombinovaných s řízeným uvolňováním farmakologicky aktivních substancí či jiných zdrojů terapeutického či diagnostického efektu je v současné době slibně se rozvíjejícím oborem, který otevírá dosud nevídané možnosti v diagnostice i léčení závažných onemocnění. Aplikace těchto léčiv umožňuje použití i takových substancí, které dosud nebyly použitelné při systémovém podání, většinou z důvodu extrémního výskytu nežádoucích účinků či z důvodu celkové toxicity.

Téma disertační práce Mgr. Kučky sleduje tento atraktivní trend v aktuálních souvislostech a aplikuje ho na využití při terapii a diagnostice pomocí radionuklidů. Tím je zpracovávané téma vysoce aktuální a při splnění určitých nároků daných farmaceutickými předpisy má nejen vysokou vědeckou ale i, čehož si obzvláště cením, praktickou hodnotu.

Vlastní disertační práce je sepsána v rozsahu 71 stran a víceméně klasickým členění slučujícím poněkud odlišné zvyklosti chemických, farmakologických a lékařských publikací. Úvodní obecná část se věnuje popisu diagnostiky a terapie nádorových onemocnění zaměřené především na problematiku radiofarmak a následně na charakterizaci „drug delivery“ systémů. Popis je v některých aspektech sice poněkud zjednodušen, nicméně postačuje a dokumentuje návrh volby cílových látek. V oblasti radiofarmak je rozhodně psán se zřejmým porozuměním a pochopením, v oblasti drug delivery aplikací by se s některými tvrzeními dalo polemizovat, ale spíše se jedná o méně šťastné formulace než faktické chyby.

Ve vlastní experimentální práci se autor projektu rozhodl zpracovávat tři základní směry. Prvním jsou termoresponsivní polymery značené 125-I a 90-Y, druhým tématem je příprava a vlastnosti biokompatibilizovaných nanočástic stříbra značených 211-At a konečně třetím cílovým produktem jsou vodorozpustné polymery cílené hydroxybisfosfonátovými skupinami a značené 111-In. Poněkud stranou stojí neméně závažná cílová sloučenina s navázaným doxorubicinem (Adriamycin) jako cílený zdroj antracyklinového cytostatického antibiotika, které se sice používá i v současné terapii systémově v necílené formě, ale jeho nežádoucí účinky jsou dosti dramatické.

V prvním případě vodorozpustných polymerů spočívala role dizertanta především v přípravě výchozích materiálů a zavedení radionuklidové složky radiojodací nebo chelatací iontu 90-Y, následně potom v návrhu a provedení experimentů zásadních z hlediska farmakologického použití. Vlastní polymerace byly provedeny na ÚMCH AV ČR v.v.i. Vlastní značení bylo optimalizováno a autor se třeba v případě radiojodací poměrně dobře vyrovnal s tímto teoreticky zřejmým a na první pohled jednoduchým fenoménem, který ovšem v praxi působí značné obtíže především z hlediska reprodukovatelnosti (nestandardní kvalita dodávaného radiojodidu). Pro značené biokompatibilní nanočástice stříbra využívající efektu permeability a hromadění velkých molekul a nanočástic v nádorové tkáni byla zvládnuta technika přípravy a charakterizace především z hlediska interakce s krevními proteiny. Konečným aspektem potom bylo značení 211-At, které bylo optimalizováno do úrovně použitelné k reálné přípravě. Hydroxybisfosfonáty jako stěžejní skelet třetí části byly modifikovány ve formě polymerně vázaných struktur jednak doxorubicinem a dále značením 125-I a 111-In. Rovněž v tomto případě byly provedeny kromě optimalizací konjugčních či radiochemických syntéz i charakterizace nutné z hlediska možného užití a završeny testem vazby na hydroxyapatit jako základní chemickou strukturu kostní tkáně.

Experimentální část je zpracována přehledně, reprodukce experimentů by nečinila větších obtíží. Je samozřejmě otázkou do jaké míry měly být v disertaci uváděny experimenty prováděné dizertantovým spolupracovníkem z ÚMCH. V rámci homogenity textu a s uvedeným upozorněním v začátku experimentů má zvolený styl prezentace vnitřní logiku a umožňuje čitateli lepší orientaci. V této části postrádám podrobnější popis přístrojů použitých

při vyhodnocování radioaktivity, který bývá zvykem uvádět a který je dle mého názoru podstatnější než seznam zakoupených chemikálií. Diskuse je psána střízlivým způsobem, autor se nepouští do zbytečných teorií, které zvláště v případě radiochemických syntéz mají většinou jenom spekulativní charakter a z principu ani jinak vypadat nemohou. V tomto oddíle by se slušelo u jednotlivých látek přehledně shrnout alespoň základní získané hodnoty a výtěžky. Poněkud nechápu proč se dizertant dost vyhýbá pojmu radiochemický výtěžek, který by v uvedených souvislostech byl mnohdy na místě. Práce je doplněna přehledem literatury (131 odkazů), náhodným testem byla zjištěna shoda uvedených údajů s realitou.

*K předložené práci bych měl následující připomínky (uvádím jen příklady, kompletní seznam byl detailně prodiskutován s autorem)*

- prodloužení doby setrvání léčiva v krevním řečišti není charakteristické pro drug delivery, stejně tak jako polymerní nosiče asi nebudou samy o sobě perspektivní radiofarmaka (str. 4)
- souhrn práce bych pojal jako přehled výsledků a ne ze tří čtvrtin jako oslavu drug delivery systémů (str. 4)
- afinita tkání k některým sloučeninám a prvkům – podivná formulace (str. 8)
- v tabulce Cr-HSA (HSA nevysvětleno, i když je to zřejmé) (str. 9)
- drug delivery systémy umožňují změnit *působení* a biodistribuci – (str. 12)
- s obr. 1 na str. 18 bych si v některých aspektech dovolil nesouhlasit (náboje, vazby)
- dicyclohexylkarbodiimid by byl lepší s k, isopropanol se používat nemá (str. 22)
- místo b.t. je správnější t.t. (str. 24)
- na str. 40 je znenadání použit pojem molekulární váha

*K dizertační práci mám následující dotazy:*

- 1) Na str. 28 uvádíte, že relativní chyba měření, při detekci 125-I na NaI(Tl) krystalu byla nižší než 5 %. Jaké nastavení přístroje měřící časy jste použil? Jak jste dospěl k uvedené hodnotě relativní chyby ?
- 2) Na str. 40 uvádíte, že produkt II je směs stereoisomerů, které mohou být rozděleny na reversní fázi HPLC, je to vaše představa, nebo tvrzení opřené o nějaká literární data?
- 3) Na str 53 je tabulka vlivu redoxního aditiva na výtěžek značení biokompatibilních stříbrných nanočástic. Jaká je Vaše představa o příčinách tohoto vlivu? Jak se prakticky připravuje 211-At a jaká je výsledná speciace po izolaci?
- 4) V práci jste zvolil jako konjugovanou složku doxorubicin, z čeho pramenila tato volba a na jakém základě jste zvolil polohu pro připojení nosiče? (na obr. 4 a 5 ten připojovací bod u R2 není zřejmý).

Závěrem bych rád konstatoval, že řešení projektu předložené disertační práce nebylo jednoduché neboť vlastní jádro projektu je postaveno na radiochemických syntézách a tedy práci se zdroji ionizujícího záření, která zvláště v současném stavu legislativy vyžaduje řadu specifických a časově náročných úkonů. Dizertant zvládnul vytyčené úkoly, kromě chemických a radiochemických syntéz se seznámil i s farmakologickou problematikou a navíc prokázal schopnost plánovat experimenty i na úrovni mezioborové spolupráce. Mimořádně si cením možnosti praktické aplikace provedeného výzkumu v dohledné budoucnosti.

**Z výše uvedených důvodů konstatuji, že práce splňuje požadavky kladené na disertační práce a proto ji doporučuji k přijetí, k obhajobě a jako podklad pro udělení titulu PhD.**