

## **Oponentský posudek disertační práce Mgr. Petra CHYTILA „Polymerní nosiče léčiv na bázi HPMA kopolymerů usnadňující směřování do pevných nádorů a pH-řízenou aktivaci léčiva“**

Disertační práce Mgr. Petra Chytila řeší závažnou a velmi zajímavou problematiku vývoje nosičů léčiv a přípravy léčiv, u kterých je prostřednictvím takových nosičů směřováno i místo jejich farmakologického účinku. Taková léčiva jsou důležitá právě z hlediska biologického účinku. Měla by umožnit nejenom prodlouženou cirkulaci léčiv v krevním řečišti, ale především i řízenou aktivaci a účinek specificky zaměřený na cílovou tkáň, buňku či buněčnou organelu. Měla by tedy vykazovat velmi nízkou biologickou aktivitu v průběhu svého transportu v organismu a být účinná optimálně až v poškozené tkáni. Jejich významnost roste především pro protinádorová terapeutika, neboť většina z nich vykazuje vedlejší toxické účinky. V případě regulace jejich transportu se takový účinek projeví minimálně a jejich toxicita (cytotoxicita) se využije pouze pro cílové místo účinku. V předkládané disertační práci byly nosiče, polymerní nosičové systémy, právě pro protinádorová léčiva připravovány. Jmenovitě polymerní nosiče na bázi N-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu (HPMA) kopolymerů. Záměrem práce bylo především zdokonalit efektivitu syntesy polymerního prekurzoru a připravit tak sloučeniny vhodné pro zavedení dalších látek nebo funkčních skupin do polymerní struktury. Tyto sloučeniny pak byly použity pro přípravu konjugátů s doxorubicinem. Součástí disertační práce bylo i studium podmínek uvolňování léčiva z připravených nosičových systémů, uvolňování založené především na hydrolyse řízené pH. Připravené deriváty polymerních léčiv pak byly testovány na modelech *in vitro* (nádorové buněčné linie) a *in vivo* na myším modelu. Zvolené téma disertační práce kolegy Chytila je tedy skutečně velice přínosné a aktuální.

Z disertační práce je patrné, že se autor seznámil se širokou škálou metodik, které při studiu polymerních nosičových systémů léčiv použil. Ať je to syntesa, purifikace a charakterizace vlastních kopolymerů, které byly syntetisovány, tak i vazba doxorubicinu na polymerní prekurzory obsahující hydrazidové skupiny vhodné pro kovaletní vazbu léčiva a studium kinetiky jejich uvolňování. Zvládnuta byla i celá řada fyzikálně-chemických metod separačních, spektrálních i metod hmotnostních analys. Autor se také seznámil s metodikou testování farmakologické účinnosti připravených léčiv.

Výsledky disertační práce Mgr. Petra Chytila plně odpovídají vytčeným cílům. V práci byla připravena řada polymerů vhodných k tvorbě nosiče kovaletně vázaného doxorubicinu a testována jejich vhodnost jako protinádorových léčiv. Charakterizováno bylo uvolňování doxorubicinu a nalezeny optimální deriváty kopolymerů pro řízené uvoňování, simulující

situaci v nádorech. Připravená polymerní léčiva pak byla testována z hlediska jejich farmakologických vlastností. V práci bylo prokázáno, že připravené konjugáty jsou vhodnými protinádorovými léčivy, účinnějšími než parentální doxorubicin.

Úspěšnost práce je dokumentována publikačními výstupy. Z publikací, které byly již publikovány nebo jsou k publikaci přijaty, je zcela zřejmé, že práce přináší původní vědecké výsledky. Práce byly přijaty do renomovaných vědeckých periodik (7 prací již bylo publikováno, 1 práce je k publikaci přijatá a 1 práce je k publikaci zaslána). Na dvou těchto pracích je Petr Chytil prvním autorem. To ukazuje i jeho podíl na uvedených publikacích. Výsledky disertační práce proto hodnotím velice vysoko.

Disertační práce Mgr. Petra Chytila je jak po stránce formální tak i obsahové velmi pěkně vypravena. I když již výsledky byly publikovány, je psána klasickým způsobem, používaným pro doktorské disertační práce. Je psána srozumitelně, používané metody a získané výsledky jsou detailně popsány a výsledky rovněž adekvátně diskutovány. Z práce je patrné, že kandidát je zdatným experimentátorem, který je dle mého názoru vědeckým talentem. Z celkového řešení zvolené problematiky je zcela evidentní, že nejen kandidát, Mgr. Petr Chytil, ale i školící pracoviště, kterého je členem, je třeba z hlediska kvality vědecké práce hodnotit velmi vysoko.

K práci mám následující dotazy:

- 1) V práci byl jako modelové protinádorové léčivo pro přípravu efektivních konjugátů s kopolymerem použit doxorubicin. Vysvětlete jakým mechanismem toto léčivo působí?
- 2) K testování uvolňování doxorubicinu z polymerních konjugátů bylo použito fosfátových pufrů o poměrně vysoké iontové síle (0,1 M). A navíc, tyto pufrы obsahovaly 0,15 M NaCl. Mohl by autor vysvětlit důvod použití takových pufrů?

### **Závěr:**

Disertační práce Mgr. Petra Chytila je velmi zdařilou vědeckou prací. Dle mého názoru práce rozhodně splňuje požadavky kladené na práce obdobného typu. Přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány. Proto ji plně doporučuji k přijetí k obhajobě. Doporučuji rovněž, aby po úspěšné obhajobě předložené práce byl Mgr. Petru Chytilovi přiznán vědecký titul **Ph.D.**

V Heidelbergu, 14. 8. 2007

Doc. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.  
katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK