

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta, vědecké oddělení
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Substituované poly(ethylen glykoly) jako nosiče léčiv

Disertant: Mgr. Martin Pravda

Školitel: Prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.
Konzultant: Prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

Vědní obor: Bioorganická chemie

Zpracoval: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,
Katedra farmaceutické technologie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

Úvod

Předložený spis má celkový rozsah 118 stran. Je zaměřen především na dokumentaci experimentálně zjištěných dat, jejich diskusi a na vyvození obecnějších závěrů z nich. Práce má rysy základního i aplikovaného výzkumu. Teoretická část je široce pojatá, slouží pro podporu argumentace vhodnosti řešeného tématu a zvolené metodiky. Dokumentace výsledků experimentů zahrnuje 9 tabulek, 7 grafů, 1 obrázek. Je připojen seznam 215 literárních zdrojů. Do práce jsou vloženy kopie tří původních sdělení publikovaných v renomovaných časopisech.

Seznam dalších autorem publikovaných vědeckých prací je součástí spisu, podle něho

disertant publikoval mimo jiné příspěvky prezentované na několika sympoziích v Chemických listech, Mgr. Martin Pravda je jedním z původců českého patentu, jehož podstata souvisí s tématem předložené práce.

Aktuálnost řešené problematiky

Autorem, konzultantem a školitelem zvolená problematika je vysoce aktuální. Je součástí obecných trendů vedoucích ke zvýšení účinnosti systémově aplikovaných léčiv formulací typu DDS nebo typu přípravků využívajících principu cílené distribuce (targeting). Důsledkem těchto snah může být úspěšná léčba onemocnění a stavů ohrožujících život.

Cíl disertační práce

Cílů práce je několik, jsou uvedeny na stranách 8 a 9. V této části práce je v obecných rysech vyjádřeno, čeho měl disertant v rámci svých experimentů dosáhnout. Cílem byla příprava modifikovaných PEG, blokových kopolymerů PEG s polyaminokyselinami a konjugátů blokových kopolymerů s amfotericinem B. Syntéza konjugátu amfotericinu B s triblokovým kopolymerem PEG s polylyzinem měla být doplněna orientačním testováním stálosti nové sloučeniny v hydrofilních médiích lišících se aktuální aciditou a stanovením toxikologického parametru LD₅₀. Dalším úkolem disertanta byla syntéza diblokového kopolymeru PEG s kyselinou polyglutamovou s následným vyzkoušením vlivu této substance na průběh krystalizace enantiomerů z roztoku racemického D,L-threonimu doplněná testováním vlivu kopolymeru na habitus a velikost částic vzniklých krystalů.

Tato disertační práce byla patrně podporována grantem FRVŠ z roku 2005, který je součástí výčtu aktivit disertanta uvedeného v jiné části předloženého spisu. Jiný výzkumný projekt související s řešeným tématem není v práci uveden.

Zvolené metody práce

Metody experimentálních prací jsou adekvátní zadaným nebo zvoleným cílům. Disertant využil svých zkušeností, zručnosti při práci v chemické laboratoři s možnostmi kolegů z

několika pracovišť a také informací získaných studiem literárních pramenů. Předložená práce se vyznačuje pestrostí metodik. Pro jejich zvládnutí si musel autor práce osvojit teoretické základy měření různých parametrů syntetizovaných sloučenin a v dostatečné šíři se seznámit s možnostmi přístrojové techniky.

Výsledky práce

Za hlavní výsledky považuje oponent získání autentických poznatků týkajících se syntézy makromolekulárních nosičů a jejich konjugátů s amfotericinem B, popisu jejich základních parametrů, včetně jejich stability v médiích lišících se aktuální aciditou a enzymatickou aktivitou. Byly získány prvotní údaje týkající se vlivu konformace molekul chirálně čistého diblokového kopolymeru PEG s polyglutamovou kyselinou na průběh krystalizace enantiomerů threoninu z jeho racemické směsi.

Přednosti disertační práce

Práce zahrnuje širokou škálu přístrojových metod a metodik laboratorní práce. Z hlediska provedení experimentů včetně zvládnutí přístrojové techniky nebyly nalezeny nedostatky. Výsledky jsou zpracovány na velmi dobré grafické úrovni a až na výjimky prezentovány jednoznačně, jasně a srozumitelně. Zvolené metodické přístupy mohou sloužit pro případné pokračování v řešení tématu nebo pro případné navazující studie.

Nedostatky disertační práce

Nejasnosti, nedokonalosti a chyby, které jsou v předložené práci, jsou dílčího charakteru, některé z nich jsou diskutabilní s možností jejich obhajoby. V práci nebyl nalezen nedostatek, který by zásadním způsobem ovlivnil podstatu předložené disertační práce. Výtky, připomínky, poznámky a příspěvky do diskuse k předložené práci Mgr. Martina Pravdy je možno schématicky rozdělit na formální a odborné.

FORMÁLNÍ NEDOSTATKY

- Autor používá anglické názvy a skloňuje je podle pravidel české gramatiky, mnohé termíny mají české odborné dlouhodobě užívané výrazy. Týká se to například termínu “scaffold” místo ve tkáňovém inženýrství běžně používaného termínu lešení (s. 6, 18), polymorfismus místo polymorfie (s. 9), “ring-opening polymerace” místo polymerace za otevření kruhu (s. 9 aj.), adjektivum “helikální” místo šroubovicová (s. 22, 45 aj.), nebo na několika místech uvedeného hybridního termínu “drug delivery systém” místo běžně používané zkratky DDS, nesprávně je na několika místech uveden termín absorpce ve tvaru “absorbce” (s. 26 aj.), místo “tepelná sterilizace” se používá termín sterilizace teplem (s.10), místo “rozvětvený” větvený (s. 10).
- FV metodické části jsou uvedena kooperující pracoviště, oponent se domnívá, že by bylo vhodné uvést jména kooperujících pracovníků, kteří měli vliv na průběh prací.
- Celkově je možno zhodnotit předloženou práci po stránce formální za velmi zdařilou z hlediska čtivosti, srozumitelnosti, prezentace příloh a formální úpravy. Počet překlepů nepřesahuje běžný standard.

ODBORNÉ NEDOSTATKY

- Na s. 36 charakterizuje autor inhalační cestu aplikace jako novou s podporou citací č. 180. Citace není v uvedeném smyslu relevantní, inhalace léčiv má velmi dlouhodobou tradici.
- Přípravky, které obsahují triglyceridy k parenterální výživě nejsou mikroemulzemi (s. 36), ale nanoemulzemi, případně emulzemi s velikostí částic v submikronové oblasti.
- Na s. 43 je pojednáno o testování stability vazby léčiva v konjugátu. Je známo, že reakce zánětem na napadení tkáně mykózami má zpravidla subtilnější dopad na změnu pH. Tato úvaha vede oponenta k výtce pro volbu této extrémně dosažitelné hodnoty. Závěrům práce by velmi přispělo vyzkoušení vlivu alespoň dvou dalších hodnot aktuální acidity dělicích zvolený interval v rozmezí od pH 5,5 do pH 7,4.

PROBLÉMOVÉ OTÁZKY K DISKUSI

- Oponent by se chtěl Mgr. Pravdy zeptat, jaký má názor na hlavní kritérium vedoucí k rozlišení targeting pasivního od targeting aktivního v souvislosti s aplikací lipidového micelárního komplexu přípravku AmBisome® , o kterém je pojednáno na s. 35.
- Oponenta by zajímalo, jestli syntetizované konjugáty obsahovaly reziduální rozpouštědla v podlimitní maximální koncentraci.
- Je možno se vyjádřit k možnostem škálování provedených syntéz?
- Na s. 36 a 37 popisuje autor způsob desagregace molekul léčiva zahřátím roztoku a jeho následným ochlazením. Je tento termicky desagregovaný systém dostatečně fyzikálně stabilní?
- Na s. 63 je popsáno použití fosforečnanových pufrů v koncentraci 0,07mol/l. Byla jejich kapacita dostačující při použití přesycených, téměř 30% roztoků threoninu?

ZÁVĚR

Magistr Martin Pravda vypracoval přehlednou kvalifikační práci. Její podstata je v experimentu, který se vyznačuje značnou metodickou šíří. V práci je mnoho výsledků, které jistě budou sloužit jako podklad pro další pokračování v řešení zajímavého a z praktického hlediska významného tématu. Přípravek nového typu by mohl mít vyšší kvalitativní parametry než dosavadní komerčně dostupné preparáty amphotericinu B typu micelárních nebo vesikulárních útvarů, které mají podle recentních informací biodostupnost závislou na aktuální koncentraci lipidů v plazmě.

Disertant splnil cíl práce předložený školitelem a školícím pracovištěm. Prokázal schopnost práce s odbornou literaturou, schopnost využívat poznatky získané z literárních podkladů, experimentálně je ověřovat, výsledky experimentů věcně zhodnotit a vyvodit z nich závěry. Splnil tak podmínky kladené na disertační práci.

Na základě výše uvedeného doporučuji, aby byla předložená disertační práce Mgr. Martina Pravdy přijata k obhajobě.

.....
Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

V Hradci Králové, 15. září 2009