

OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Příprava a charakterizace β -glukosidáza senzitivního konjugátu amfotericinu B

Autor: Bc. Eliška Bílková

Diplomová práce Elišky Bílkové se zabývá přípravou cíleného konjugátu amfotericinu B (AMB) – star poly(ethylenglykolu). Ve struktuře jsou přítomny dva typy karbamátové vazby – stabilní a labilní, které umožňují cílené uvolnění účinné látky v místě přítomnosti fungálních patogenů. Práce navazuje na předcházející výzkumy prováděné na KOCH FCHT Univerzity Pardubice, ale nově přináší zkušenosti se syntézou látek obsahujících glukopyranózy.

Publikace je členěna do pěti kapitol. Úvod čtenáře seznamuje jak s makrocyclickým antibiotikem Amfotericinem B, tak s poly(ethylenglykolem). Výstižně popisuje jejich vlastnosti a použití ve farmacii. Teoretická část nejprve stručně shrnuje problematiku polymerních proléčiv. Pokračuje částí Konjugáty protirakovinných léčiv, ta se zabývá především mechanismy vázání uvolňování účinných látek na nosiče a PEGylacemi, přináší zajímavé informace o vývoji a současných trendech v typech a použití těchto nosičů. Poslední část se věnuje přímo konjugátům amfotericinu B.

Experimentální část uvádí schéma provedených syntéz a návody na přípravu jednotlivých látek. Z publikovaných schémat není zřejmé, že poměr API k polymeru je 4:1. Autorka syntetizovala pětistupňovým procesem konjugát amfotericinu B s sPEGem. V prvním stupni připojila 4-hydroxymethyl-2-nitrofenol na acetylovaný glukopyranosid. Následně provedla katalytickou hydrogenaci nitroskupiny. Pro oba reakční stupně jsou uvedeny podrobné popisy včetně výtěžků a charakterizace body tání, optickou otáčivostí, ^1H a ^{13}C NMR spektry a elementární analýzou včetně obrázků NMR spekter v příloze. Charakterizace následně připraveného polymeru **3** je uvedena pouze EA a ^1H NMR. Obrázek NMR není přiložen a výpis chemických posunů neumožňuje udělat si reálnou představu o složité situaci v oblasti 3,0 – 4,0 ppm. Identifikaci jednoho vodíku při 3,69 ppm vedle pásu stovek vodíků $-\text{CH}_2-$ skupin PEGu v rozmezí 3,42 – 3,72 ppm považuji za velmi obtížnou. Poslední dva stupně popisují připojení amfotericinu B a deacetylaci glukopyranosidu. Produkty jsou charakterizovány elementární analýzou a poměrem M_w/M_n .

Kapitola Výsledky a diskuse je velmi stručná. V první části autorka diskutuje syntézu látek, pozornost věnuje především ověření β -konfigurace glukopyranosidů pomocí NMR. Možnosti této spektrální metody jednoznačně potvrdily požadovanou pozici. V této části jsou

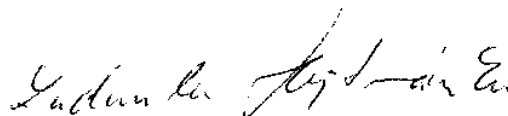
chybně očíslovány obrázky na str. 33 a 34. Dvakrát bylo použito číslo 11. Druhá část diskuse je věnována studiu uvolňování amfotericinu z konjugátu. Jedná se o předběžné testování *in vitro* pomocí UV-vis spektroskopie za použití β -glukosidázy *Aspergillus niger*. Měření kinetiky uvolňování je komplikováno překryvy v UV spektru. Sledovanou změna při použité vlnové délce 409 nm 0,009 A za 15 min považuji za velmi malou a tím celý výpočet za zatížený velkou chybou. Bylo měření prováděno opakovaně? Pokud, jak je uvedeno, uvolněný amfotericin B lze měřit pomocí HPLC, bylo by možné využít pro studium kinetiky HPLC kvantitativní stanovení na vnější standard? Bohužel žádné HPLC záznamy nejsou přiloženy.

Práce je doplněna seznamem literatury a publikovanými články.

Diplomová práce je velmi pečlivě zpracována s pěknou grafickou úpravou.

Náročnost experimentální práce a vysoká úroveň celkového zpracování dokumentovaná mimo jiné i dvěma publikacemi v prestižních časopisech mne vede k návrhu doporučit tuto diplomovou práci Bc. Elišky Bílkové k ocenění Rektorem UPa.

Vzhledem k tomu, že diplomantka splnila všechny body zadání a prokázala schopnost samostatné tvůrčí práce, hodnotím její diplomovou práci jak po stránce rozsahu a kvality provedených experimentů, tak po stránce zpracování jako *výbornou* a doporučuji ji k obhajobě.



MVDr. Ing. Ludmila Hejtmánková, Ph.D.
Zentiva a.s. Praha
Pobočka Pardubice-Doubravice

Pardubice 26.5.2009