

OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Syntéza a charakterizace konjugátu isoniazidu s poly(ethylenglykol)-*b*-poly(L-lysinem)

Autor: **Bc. Ludmila GRUSOVÁ**

Diplomová práce Bc. Ludmily Grusové je věnována přípravě a charakterizaci konjugátu isoniazidu, který je lékem první volby v léčbě tuberkulózy, s blokovým kopolymerem α -methoxy-poly(ethylenglykol)-*b*-poly(L-lysinem). Navázání léčiva na polymerní nosič, v tomto případě kopolymer mPEG-*b*-PLL, pomocí *pH* senzitivní „CH spojky“ umožňuje jednak regulaci počtu molekul účinné látky, jednak ochranu látky během transportu v těle a její uvolnění až v místě s patologicky sníženou hodnotou *pH*. Toto téma je součástí řešení problematiky medicínálních aplikací polyethylenglykolů jako nosičů léčiv ve Skupině reakčních mechanismů na Ústavu organické chemie a technologie FCHT Univerzity Pardubice.

Diplomová práce je členěna do sedmi částí a je doplněna přehledem použité literatury a Přílohami. Úvod stručně seznamuje s hlavními aspekty řešené problematiky. Teoretická část na téměř čtyřiceti stranách podrobně a přehledně shrnuje současné nejnovější výzkumy v oblasti polymerních proléčiv. Samostatné kapitoly jsou věnovány PEGu a jeho funkcionalizaci, konjugaci nosiče s léčivem a současným trendům v léčbě TBC. Poslední kapitola přináší přehlednou rešerši syntetické cesty přípravy konjugátu [mPEG-*b*-PLL]-INH.

Experimentální část po přehledu reakcí a metodik analytických měření popisuje jednotlivé stupně přípravy studovaného konjugátu. Nejprve je uvedena třístupňová syntéza mPEG-NH₂ s výtěžkem 67 %. Druhá složka kopolymeru, Cbz chráněný L-lysin je reakcí s fosgenem modifikován a vzniklý *N*-karboxyanhydrid se použije k přípravě kopolymeru s různým počtem jednotek aminokyseliny. Po deprotekcí aminoskupin se v posledním kroku přes CH spojky připojí molekuly isoniazidu za vzniku požadovaného proléčiva. Připravené látky jsou charakterizovány ¹H a ¹³C NMR, IČ a EA.

Část Výsledky a diskuse nejprve podrobně hodnotí proces syntézy blokového kopolymeru. Charakterizace produktů byla prováděna s využitím ¹H NMR, postup je názorně popsán a doprovázen tabulkami a ukázkami spekter. Takto byly připraveny v deseti experimentech kopolymery s počtem lysinových jednotek 2, cca 10 a cca 20. Další část je věnována deprotekcí ϵ -NH₂ skupin, která je popsána pro kopolymer obsahující 9 lysinových jednotek. Kupodivu běžně používaná katalytická hydrogenolyza neposkytovala uspokojivé

výsledky. Jako vhodnější se ukázala acidolýza pomocí TFA. Proces je opět kontrolován ^1H NMR. Následuje diskuse k přípravě konjugátu; ta je popsána ve třech experimentech s třemi a šesti jednotkami lysinu a dvěma až pěti navázanými molekulami isoniazidu. Důležité je potvrzení vazby mezi léčivem a kopolymerem. K hodnocení produktu bylo opět využito ^1H NMR a také XRPD. Srovnávány jsou analýzy výchozích látek, produktu a fyzikální směsi obou komponent. Publikované výsledky jednoznačně dokazují, že isoniazid je připojen kovalentní vazbou. Stabilita konjugátu v oblasti neutrálního pH a uvolňování léčiva z polymerního proléčiva při pH 4 bylo studováno pomocí HPLC. Uvedená měření ilustrují citlivost konjugátu na pH prostředí. Za prvních 100 min se uvolní při nižším pH téměř dvojnásobné množství účinné látky.

Výsledky práce jsou shrnuty ve stručném Závěru. Diplomová práce je doplněna Seznamem použitých zkratk a 75 literárními odkazy. Závěrečné Přílohy obsahují reprezentativní ^1H a ^{13}C NMR spektra jednotlivých meziproduktů a konjugátu se šesti lysinovými jednotkami a pěti připojenými isoniazidy.

Práce je přehledně zpracována s velmi pěknou grafickou úpravou. V textu jsem našla jen drobné stylistické a gramatické nepřesnosti:

Str. 12 ...C-C vazby by **měli** být štěpeny... (měly –shoda podmětu s přísudkem)


Str. 16 ...deriváty **jsou** však možné připravit... (je možné – trpný rod)

Str. 31 Cytostatikum **doxorubicin** (správně je doxorubicin)

Str. 48 Schéma 6: mínus (-) mezi reakčními komponentami (má být +)

Str. 65 Tabulka 2, třetí sloupec, poměry Lys/PEG, pokud jsou výsledky uváděny s přesností na 0,1: Exp. 1 má být 19,1
Exp. 7 má být 20,4

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 29.5.2012