

13035	Odbor	Způsob
Univerzita Karlova	Přijato: 01.03.2019 v 15:37:54 Č.j.: UKF/F/72135/2019	Č.dop.: Listů: 1 Příloh: 0 Druh: písemné



Posudek oponenta na habilitační práci

PharmDr. Mgr. Martin Krátký Ph.D.: Vztahy mezi strukturou a aktivitou malých antimikrobně aktivních molekul a tufsinových nosičů.

Recenzent: doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.

PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D. předložil k posouzení svou habilitační práci ve formě kopií publikovaných prací, doplněných poměrně obsáhlým komentářem o 74 stranách. Po krátkém úvodu a vysvětlení potřeby výzkumu v oblasti antimikrobiálních látek práce shrnuje problematiku strukturních typů především antituberkuloticky, ale šířeji i obecně antibakteriálně a antimykoticky účinných molekul, které byly nebo stále jsou předmětem zájmu pracovní skupiny, jejímž je členem. Látky jsou systematicky rozčleněny podle chemické struktury testovaných sloučenin, resp. používaných léčiv. Pokud se týče „malých molekul“, největší pozornost je věnována salicylanilidům, dále jsou popsány analogy isoniazidu, sulfonamidy a několik dalších strukturních typů. Další část souhrnu je věnována využití peptidových molekul struktury tufsinu, jakožto nosičů potenciálních antimykobakteriálních látek. Kromě všeobecných informací o této skupině jsou popsány konjugáty, připravené v rámci výzkumných prací, jichž byl předkladatel účastníkem. Další částí práce je souhrn výsledků, resp. z předložených prací vyplývající závěry a jsou nastíněny možné a plánované směry dalšího výzkumu. Součástí textu je i 52 obrázků, zobrazující jednak struktury publikovaných látek zkoumaných typů, především ale vzorce připravených sloučenin a dále 2 tabulky.

Tato část práce svědčí o dobrém přehledu předkladatele o aktuálním stavu znalostí ve zkoumaných oblastech.

Souhrn doplňují seznam tabulek, seznam obrázků a použítá literatura. Hlavní částí práce jsou publikované práce předkladatele. Jsou přiloženy kopie 42 článků v impaktovaných časopisech, 2 patentů a 2 kapitol v monografiích, v nichž je předkladatel prvním autorem nebo spoluautorem.

Přes rozvoj metod využívajících různé způsoby molekulové modelování (*in silico* přístupy) zůstávají významnými i „klasické“ metody výzkumu nových léčiv, jako např. „me too“ z pohledu možnosti zlepšení farmakokinetických vlastností nebo náhodný screening pro nalezení zcela nové účinné struktury. Z těchto důvodů jdou dosažené a publikované, resp. patentované výsledky, shrnuté v předložené habilitační práci, významným přínosem pro rozvoj poznatků v oblasti farmaceutické chemie v dané oblasti.

Vzhledem k tomu, že výsledky experimentální práce dr. Krátkého a jeho spolupracovníků byly již publikovány v odborných impaktovaných časopisech a prošly tedy důkladným recenzním řízením, je můj úkol oponenta habilitační práce do značné míry usnadněn a není třeba se znovu vyjadřovat podrobně k jejich kvalitě. Formální náležitosti předložené práce, resp. komentáře k publikovaným článkům, jsou vesměs v pořádku. Ve svém posudku jsem se soustředil především na některé souvislosti, které z velkého množství typů publikovaných látek a provedených biologických testů vyplývají.

Z tohoto pohledu k práci mám několik dotazů, resp. podnětů do diskuse:

1. U některých antimykobakteriálně i obecně antibakteriálně účinných sloučenin, především mezi salicylanilidy typu organofosfátů, resp. thiofosfátů byla nalezena významná inhibiční aktivita vůči AChE, resp. BChE. Ta je jako taková nesporně zajímavá, na druhou stranu bude pravděpodobně problematická při případném testování/použití těchto látek *in vivo* a do


značné míry je pak z hlediska dalšího vývoje v tomto směru diskvalifikuje. Prosím předkladatele o vyjádření, jestli podle informací dostupných z odborné literatury, případně experimentálních zkušeností, může být tento typ biologické aktivity z hlediska toxicity *in vivo* významný.

2. Mimo jiné mezi salicylanilidy předkladatel připravil a publikoval řadu derivátů typu esterů, u některých byla zjištěna poměrně vysoká účinnost (str. 18 a dále). Při využití esterů salicylanilidů pro konjugaci s peptidy pak autor v jiné části komentáře (str. 61) uvádí, že aktivita byla stejná jako u výchozích látek a docházelo k jejich hydrolýze. Jaký byl rozdíl provedení testů? Hydrolýza je velmi pravděpodobná i *in vivo*, zaznamenali jste nějaké publikované práce popisující estery tohoto nebo podobného typu látek stabilní *in vivo*, resp. v krevní plasmě?
3. V návaznosti na předchozí dotaz: prováděl jste rešerši v oblasti vazeb spojujících aktivní subjednotky analogických kombinovaných molekul - „mutual prodrugs“ - ohledně jejich biologické stability a štěpení v cílovém kompartmentu, resp. jsou v literatuře dostupné takové informace?
4. Zkoumali jste, resp. existují údaje o tom, jaký loading (kolik molekul potenciálního léčiva) je možné navázat na molekulu tufsinu při zachování své funkce? Pokud navázaná molekula potenciálního léčiva limituje funkci tufsinu, má vliv pozice substituce, vzdálenost od C, resp. N konce peptidu?
5. V komentáři k pracím autor uvádí možnost použití tetrapetidového linkeru, štěpitelného lysosomálním kathepsinem B. Jsou známé, v praxi u používaných konjugovaných MAb klinicky ověřené a relativně spolehlivě fungující kratší dipeptidové linkery (nejčastěji valin-citrulin, ale i valin-alanin, valin-fenylalanin, fenylalanin-lysin). Vazba je štěpena na C-konci dipeptidového linkeru, u konjugované molekuly je pak uvolněna aminoskupina. Předpokládalo by to ovšem nejspíš konjugaci v roztoku, po odštěpení peptidu, nikoliv na pevné fázi. Zkoušeli jste nebo zvažovali takovou možnost? Resp. připadala by u některých z vašich látek v úvahu?

Závěr:

Předložená habilitační práce PharmDr. Mgr. Martina Krátkého, Ph.D., skládající se z kopií jeho již publikovaných odborných prací a opatřená podrobným komentářem, představuje vědecko-výzkumné dílo, které významně přispívá k rozšíření znalostí v oblasti antimykobakteriálně, ale i obecně antibakteriálně a antimykoticky účinných sloučenin. Práce splňuje kritéria pro zahájení habilitačního řízení. V případě úspěšného průběhu obhajoby doporučuji, aby PharmDr. Mgr. Martinu Krátkému, Ph.D., byl udělen vědecko-pedagogický titul docent.

V Hradci Králové, 12.2.2019



doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.