

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Michaely Beranové

Oponent:

Prof. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.

Oddělení technologie organických látek
Ústav organické chemie a technologie
Fakulta chemicko-technologická
Univerzita Pardubice

Studentská 573
532 10 Pardubice
Česká Republika

Mgr. Michaela Beranová vypracovala disertační práci s názvem „Studie v oblasti ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů – příprava, vlastnosti a potenciální biologické využití“ na Katedře farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy, Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové v oboru Farmaceutická chemie pod vedení doc. PharmDr. Miroslava Miletína, Ph.D.

Práce je klasicky členěna a je založena na čtyřech studiích, které vzájemně propojuje téma ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů. Práce je sepsána na sto třinácti stranách číslovaného textu a je rozdělena do jedenácti číslovaných kapitol.

Kapitoly Úvod a Současný stav poznání dané problematiky stručně, ale věcně popisují základní vlastnosti, výhody, nevýhody jejich strukturního uspořádání a dále pak rozdělení jednotlivých typů porfyrazinů a jejich dusíkatých analogů obecně. Jsou zde popsány syntetické strategie a jednotlivé přístupy k přípravě ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů. Část je také věnována vybraným vlastnostem a možným aplikacím zkoumaných molekul. Autorka se primárně zaměřila na oblasti, kterým se ve svém výzkumu věnovala.

Cíle práce jsou definovány v obecné rovině a následně konkrétně pro každou oblast zkoumání zvlášť.

Na začátku experimentální části je popsána metodika experimentů a autorka se zde věnuje jednotlivým oblastem zkoumání. První studie se týká syntézy symetrických křemičitých komplexů tetrapyrazinoporfyrazinů s různou periferní substitucí a vliv této substituce na další reaktivitu. K syntéze těchto molekul byla neúspěšně využívána templátová metoda, následně autorka využila pro syntézu cílových molekul inzerci křemičitých kationtů do bezkovových tetrapyrazinoporfyrazinů, který nebyl doposud v odborné literatuře popsán. Po optimalizaci reakčních podmínek byly křemičité komplexy izolovány a plně charakterizovány. Následně se autorka snažila využít axiální substituce těchto komplexů, která by umožnila další post-syntetickou modifikaci oligonukleotidů pomocí tzv. SPAAC reakce. Axiální substituce byla úspěšná pro trihexylchlorsilan, nicméně meziproducty pro výše uvedenou post syntetickou modifikaci se připravit nepodařilo.

Studium stability hořečnatých komplexů makrocyclů ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů v kyselém prostředí je další studie, na které autorka pracovala v rámci své disertační práce. Cílem v této oblasti bylo porozumění vlivu podmínek a mechanismů na demetalační proces se snahou o jeho omezení pro lipofilní a hydrofilní typ hořečnatých komplexů. Autorka hned na počátku vhodně zvolila konkrétní zástupce pro tuto studii, kterým se následně věnovala. Zde musím podotknout, že se jedná o rozsáhlou studii popisující demetalaci v organických rozpouštědlech, v polárním prostředí a nosičových systémech. Výsledkem byl návrh mechanismu pro organická rozpouštědla a pro polární prostředí. Byly porovnány dva ochranné systémy mikroemulzí a lipozomů, kde lipozomální systémy projevují vyšší stabilitu.

Třetí studie se věnovala asymetrickým amfifilním ftalocyaninům jako možným fotosyntetizérům pro světlem indukované uvolňování léčiv z jejich lipozomální formy. Zde bych vyzdvihl využití schváleného lipozomálního preparátu Myocet® jako standardu pro srovnání nově vyvíjené metody. Zde byl potvrzen předpoklad, že singletový kyslík je důležitou hnací silou rozpadu lipozomů, ne však jedinou.

Poslední studií uvedené v disertační práci je možnost postsyntetického značení oligonukleotidového vlákna na pevné fázi s využitím strukturním pnutí podporované azid-alkynové cykloadici. Což může být velmi efektivní nástroj pro značení oligonukleotidů, nicméně je zde celá řada faktorů ovlivňující tuto reakci. První z nich je značení oligonukleotidového vlákna na pevné fázi, kde významnou roli hraje vzdálenost značící skupiny od vazby k použité pevné fázi. Výsledkem je celá řada informací týkající se průběhu reakce a značení vybraného ON řetězce. Pilotní zkoušky na syntetizátoru potvrzují vysoký potenciál této metody pro budoucí značení ON.

Práce je pak zakončena kapitolou Výsledky a diskuze a následně Závěrem. Následují pak kapitoly týkající se publikační aktivity autorky, řešených grantů, absolvovanými stážemi a seznamem použité literatury označené jako Reference.

Celá disertační práce na mě působí jako celek, kde není jediným společným rysem výzkum v oblasti ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů, tak jak bylo napsáno výše. Také výrazný přesah do využití těchto molekul v celé řadě oblastí, ať už je to lokální fototerapie, nebo například efektivní značení oligonukleotidů je pomyslnou nití, která jednotlivé studie spojuje, a to bez ohledu na jejich úspěšnost.

Disertační práce je pečlivě sepsána a vyskytuje s v ní v ní minimum překlepů spíše formálního charakteru (např. str. 17 uvedeno „hem“, str. 49 „spolupráci“, str. 56 „trichlorosilan“, str. 98 „kurz interaktivní“, str. 39 „CDCl3“)..

K práci mám několik dotazů:

- V rámci disertační práce se autorka věnuje dvěma podobným sloučeninám: ftalocyaninům a tetrapyrazinoporfyrazinům. Tyto sloučeniny jsou do určité míry strukturně

podobné, nicméně znalosti o jejich chování jsou z hlediska počtu publikací diametrálně odlišné. Bylo by možné v krátkosti charakterizovat základní rozdíly v chemickém, případně fyzikálně-chemickém chování jednotlivých sloučenin, dále pak výhod, nevýhody jednotlivých strukturních motivů? Autorka se tomuto věnuje v úvodu své práce, nicméně není zde patrná úplná výhoda tetrapyrazinoporfyrazinů proti ftalocyaninům. Mohla by se autorka v rámci diskuze tento detail pokusit napravit?

➤ U cílových molekul může být také problematická jejich charakterizace, případně stanovení čistoty připravených molekul. Jakou roli hraje čistota výchozích látek, případně meziproductů při prováděných experimentech? Byly některé meziproducty charakterizovány např. elementární analýzou? Je nebo není tato metoda vhodná pro zkoumané meziproducty a cílové molekuly? Bylo by možné shrnout používané separační a analytické metody využívané k potvrzení struktury, čistoty připravených molekul.

➤ Z uvedených výsledků mi nebyla úplně zřejmá odpověď na otázku z cílů práce a tím je vliv periferní substituce na reaktivitu za využití klasické templátové nebo inzerční metody.

Předloženou disertační práci považuji za velmi zdařilé autorské dílo, kde Mgr. Beranová popisuje několik oblastí, kterým se v rámci svého postgraduálního studia věnovala. V jednotlivých kapitolách pak prokazuje velmi dobrou znalost zkoumané problematiky a výbornou experimentální zručnost. Neméně důležitou je i schopnost interpretovat a zobecňovat získané výsledky.

Výsledky práce byly publikovány prozatím ve dvou prvoautorských publikacích a to v časopisech *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2023**, 27 (1), 444-451 a *Pharmaceuticals* **2022**, 15 (4). Zde bych měl jeden komentář, který je spjat s příjmením studentky. Bylo by vhodné, skutečnost změny příjmení, alespoň rámcově vysvětlit v rámci práce, aby nedocházelo k nedorozuměním. Další publikace jsou dle stavu jednotlivých studií, prezentované v této práci, tak i dle vyjádření autorky ve stádiu přípravy manuskriptu. V disertační práci je pak také konkrétně uveden příspěvek Mgr. Beranové k jednotlivým studiím, ze kterých je zřejmé její jednoznačný přínos k prezentovaným výsledkům. Průběžné výsledky studií byly prezentovány, na celé řadě odborných konferencí ať už formou ústní, případně plakátovým sdělením. Autorka práce byla také členkou výzkumného kolektivu v několika projektech (GAČR, UK) a sama byla řešitelkou projektu UK START.

Předkládaná práce splňuje požadované standardy a kritéria a doporučuji tuto práci k obhajobě. Po jejím úspěšném obhájení navrhuji, aby byla Mgr. Michaelae Beranové udělena vědecko-akademická hodnost „philosophiae doctor“ – Ph.D.

V Pardubicích dne 14. března 2024

prof. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.