Univerzita Karlova
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Akademika Heyrovského 1203, 500 03 Hradec Králové, Česká republika

V Hradci Králové 19. března 2024

Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Michaely Beranové „Studie v oblasti ftalocyaninů a tetrapyrazinoporfyrazinů – příprava, vlastnosti a potenciální biologické využití“

Disertační práce Mgr. Michaely Beranové byla vypracována pod vedením doc. PharmDr. Miroslava Miletína, Ph.D., a tematicky navazuje na předchozí výzkum školitele a Azaphthalocyanine Group. Disertace se zabývá primárně syntézou a studiem vlastností (aza)ftalocyaninů (Pc) a analogických tetrapyrazinoporfyrazinů (TPyzPz), jejich komplexů s kovy, dále pak přípravě jejich vhodných formulací a oligonukleotidovým konjugátům. Globálně se jedná vzhledem k zajímavým a „laditelným“ vlastnostem a potenciálnímu přínosu sloučenin tohoto typu v různých oblastech lidské činnosti o téma poměrně studované, přesto je zde co zkoumat, a práce je tak aktuální.

Práce vhodně kombinuje chemicko-syntetickou stránku (jak makrocykly, tak oligonukleotidové konjugáty) s (foto)fyzikálním hodnocením, studiem stability i přípravou formulací připravených sloučenin. Členění je klasické – úvod, současný stav poznání, cíl práce, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr, přehled výstupů (publikace, ústní sdělení, posterová sdělení), grantů, stáží, odborných kurzů, ocenění a reference (solidních 196 odkazů), celkem 113 číslovaných stran.

Úvod (1 strana) stručně a výstižně čtenáře uvádí do problematiky Pc a jejich analog. Současný stav poznání nejprve seznamuje s (aza)ftalocyaniny a jejich komplexy z hlediska struktury, přípravy i vlastností, zejména fotofyzikálních a vybraných fyzikálně-chemických, dále podává přehled možného využití ve fotodynamické terapii a jako diagnostických barviv; podkapitola 3.2.2. mi však přijde dost kusá. Také se stručně věnuje lipozomům, přípravě modifikovaných oligonukleotidů a click chemii. Pojetí kapitoly je přehledové, což ale (s uvedenou výjimkou) není na závadu. U některých informací mi chybí uvedení zdroje.

Cíl práce je partikulován do čtyř dílčích oblastí, které se věnují relevantním oblastem pro praktické využití Pc, resp. TPyrPz, za klad považuji jejich zdůvodnění, resp. vysvětlení důležitosti.

Experimentální část zahrnuje obecné chemické metody, syntézu a charakterizaci TPyzPz a jejich křemičitých komplexů, postup hodnocení stability, přípravu mikroemulzí, lipozomů a studium jejich vlastností a nakonec přípravu modifikovaných oligonukleotidů a jejich chromatografii.

Výsledky a diskuse srozumitelnou formou popisují syntézu křemičitých komplexů TPyzPz (a její problémy) templátovou i posléze úspěšnější inzerční metodou, kdy byla studována periferní i axiální substituce. Zde by mne zajímalo, zda bylo v úplnosti dosaženo vytčeného cíle. Dále reportují studium stability hořečnatých komplexů Pc a TPyzPz a demetalaci, opět včetně komplikací. Třetí část popisuje zatím nepublikované a mnohdy nečekané výsledky studia vlastností fotosenzitizérů při světlem indukovaném uvolňování biologicky aktivních látek z lipozomů. Poslední podkapitola se věnuje sterickým pnutím iniciované cykloadiční konjugaci oligonukleotidů s různými modifikátory včetně azaPc. Závěr pak shrnuje podstatná zjištění v těchto čtyřech dílčích oblastech, chybí mi zde však alespoň naznačení dalších perspektiv.

Disertace je sepsána na poměrně dobré úrovni, přesto se neubránila chybám jazykového (zejm. interpunkce, velká písmena, překlepy typu Listead, verteprofin, ruthnatý, koplexu aj.) a formálního charakteru (jednopísmenná slova osamoceně na konci řádků, chyby v referencích a jejich formální

nejednotnost, mezery mezi slovy/znaky, desetinné tečky vs. čárky aj.). Připomínky mám i k českému chemickému názvosloví – občasné používání anglikanismů, namátkou 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen, chlorosilan, octyn; nepoužívání kurzivy (např. 1,12-didehydro-5,6-dihydrodibenz[b,f]azocin), dále 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-en, ethylacetát aj.

Další připomínky:

- některé zkratky nejsou definovány, jiné nejsou vysvětleny v textu práce,
- zdráhal bych se hovořit o křemičitých kationtech, neboť křemík tvoří kovalentní sloučeniny,
- obr. 1 – u komplexů má být ještě jedna z vazeb nakreslena jako koordinační, naopak na str. 52 mají být dvě vazby kovalentní,
- obr. 7 – opravdu je v uvedených strukturách na uhlíku v nitrilové skupině celý kladný náboj a na dusíku záporný?
- obr. 12 – nevhodně zapsaná esterová skupina u verteporfinu,
- str. 31 – nevhodná formulace „peroxidace dvojných vazeb v alkylových řetězcích fosfolipidů" – asi lépe v uhlovodíkových řetězcích,
- obr. 15 – chybně umístěný substituent na triazolu,
- experimentální část – postrádám někde detaily o výrobcích/dodavatelích; není uvedeno, jak byla ověřena čistota a identita již dříve připravených sloučenin, pokud byly opětovně připraveny autorkou,
- Které z metodik popsaných v kap. 5.3 byly originálně vyvinuty při řešení disertační práce?
- str. 43 – nesmyslná věta začínající „v případě Ps3 bylo…",
- obr. 17 (i dále) – uvedený způsob zápisu substituentů není jednoznačný, nemusí být jaké, přes který atom se napojují na základní skelet; prosím o vysvětlení, proč byly zvoleny právě tyto substituenty,
- str. 56 – jedná se opravdu o ethynylové skupiny, jak uvádíte?
- obr. 37 – u doxorubicinu by bylo vhodné uvést i správnou stereochemii.

Kromě těchto připomínek vznáším následující dotazy k diskusi v rámci obhajoby:

1) Na str. 19 uvádíte různé prekursory pro syntézu ftalocyaninů a rozdělujete je na přímé a nepřímé. Prosím, porovnejte výhody a nevýhody uvedených typů sloučenin, resp. syntéz z nich vycházejících.
2) Na str. 50 uvádíte, že prekurzor **1-N** byl termolabilní a docházelo k jeho významnému rozkladu. Na co se rozkládal? Na základě čeho pak byla zvolena reakční teplota 60 °C?
3) V první části jste se zabývala přípravou komplexů TPyzPz s křemíkem. K jakému účelu byly tyto komplexy zamýšleny a proč nebyly využity k dalším studiím reportovaným v disertační práci pro jiné deriváty Pc, resp. TPyzPz?

I přes tyto výtky je disertace Mgr. Michaely Beranové originálním, zajímavým a přínosným dílem. Přináší nová zjištění, která mají značný aplikační potenciál. Doktorandka prokázala erudici v oblasti tématu disertační práce a v kontextu vědního oboru, dovednost pracovat ve velkém vědeckém kolektivu, prezentovat své výsledky v experimentálních publikacích (dvě prvoautorské publikované v mezinárodních časopisech s kvartily Q2 a Q4), přičemž z textu práce lze usuzovat na dvě další ve stádiu přípravy, i formou přednášek a posterů na vědeckých konferencích, čímž dostatečně prokázala kompetence získané během doktorandského studia. Rád bych vyzdvihl srozumitelnou, a přitom fundovanou prezentaci svých zjištění v rámci disertační práce.

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na tento typ práce a podle § 47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ji d o p o r u č u j i k obhajobě a dalšímu řízení. Po jejím úspěšném obhájení pak souhlasím s udělením titulu Ph.D. v oblasti farmaceutické chemie.

doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.

Katedra organické a bioorganické chemie
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova
Akademika Heyrovského 1203
500 03 HRADEC KRÁLOVÉ
martin.kratky@faf.cuni.cz