



UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Posudek na disertační práci

Název: Hybridizace jako přístup při objevování nových antiinvasivních léčiv
Autor: PharmDr. Petr Šlechta
Oponent: doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá přípravou a biologickým hodnocením hybridních sloučenin odvozených spojením dvou malých molekul amidovou vazbou. Vzhledem k zaměření výzkumné skupiny se většinou jedná o substituované pyrazinamidy či jejich analoga. Ve dvou projektech se student zaměřil na deriváty obsahující navíc boronovou skupinu, resp. benzoxaborol, kde předpokládal, že by mohlo docházet k tvorbě kovalentních vazeb s receptorem. Připravené sloučeniny byly široce studovány z hlediska svých biologických vlastností. Na základě těchto výsledků se autor snažil vyvodit závislosti mezi strukturou a jejich účinkem, a pomocí počítačového modelování pak diskutovat možné mechanismy účinku. Jedná se tak o poměrně komplexní pohled na studovanou problematiku, který přinesl mnoho zajímavých poznatků v dané oblasti.

Práce obsahuje abstrakt v českém a anglickém jazyce, seznam zkratk, stručné vymezení cílů práce ve třech bodech. V teoretickém úvodu student definuje pojem hybridní léčivo, popisuje detailně jednotlivé typy hybridních léčiv a uvádí příklady takovýchto molekul publikovaných v literatuře s možným využitím v oblasti antiinvasivních léčiv. Dále se detailně věnuje i sloučeninám obsahujícím atom boru ve své molekule a důsledkům jeho přítomnosti pro vlastnosti a účinek takovýchto sloučenin. Další kapitola nazvaná „Metody syntéz cílových sloučenin“ je už vlastní diskuzí nad reakcemi prováděnými studentem. Osobně bych tuto kapitolu zahrnula do kapitoly Komentář k publikovaným pracím, neboť obsahuje především experimentální detaily a popis chování reaktantů a produktů, méně už pak komentuje vlastní mechanismy prováděných reakcí. V kapitole „Metody použitého molekulárního dockingu“ student vysvětluje a popisuje jím použité metody v publikacích P2 a P4. V kapitole „Biologický screening“ je přehledně zmíněno, v jakých oblastech byly připravené sloučeniny studovány z hlediska biologické aktivity, vždy včetně zmínky, kdo dané experimenty prováděl. Stěžejní kapitola „Komentář k publikovaným pracím“ popisuje postupně pro každou ze studentových publikací vyvozené vztahy mezi strukturou a účinkem, a zdůrazňuje hlavní závěry, kterých bylo dosaženo. U kapitol k článkům P1 a P2 mi chybí přehled sloučenin připravených v rámci daného projektu, a to alespoň formou obecné struktury (tak jak je to uvedeno u práce P3, respektive přehled všech sloučenin jako u práce P4). Čtenář musí struktury dohledávat ve vlastní publikaci, aby pochopil popisované vztahy mezi strukturou a účinkem. Jinak je ale Komentář k publikovaným pracím napsán velice zdařile a srozumitelně a je, podle mého názoru, přínosem pro další rozvoj v oblasti derivátů pyrazinamidů a příbuzných sloučenin. Následuje kapitola „Závěr“, kde student stručně shrnuje nejdůležitější poznatky získané během své experimentální práce a zdařile vyvozuje vztahy mezi strukturou a účinkem napříč všemi svými projekty. Disertační práce je zakončena seznamem publikovaných prací, seznamem příspěvků na konferencích, účastí na grantu, seznamem literatury a seznamem příloh.

Z formálního hlediska je předložená práce na vynikající úrovni, je psaná čtivě, přehledně a srozumitelně, vyskytuje se v ní pouze minimum překlepů. Práce tvoří jasný celek, kde spojovacím můstkem je snaha o tvorbu hybridních molekul. Drobnou výtkou je pouze chybějící vysvětlení substituentů R, popř. X v některých obrázcích (např. Obr. 7, 8, 26, 27, 30, ...).

K výsledkům, které autor popsal v disertační práci, mám několik následujících dotazů:

- 1) Jaké výhody přináší hybridní léčivo, pokud má každá ze složek jiné místo účinku? Jaký přínos mají *in vivo* štěpitelné hybridní molekuly oproti „co-formulacím“?
- 2) V práci nebyly příliš diskutovány mechanismy prováděných reakcí. Uvádíte, že DMF urychluje aktivaci při syntéze amidů z karboxylových kyselin (str. 34). Můžete nám to, prosím, blíže vysvětlit? Jaký je mechanismus vzniku amidové vazby při použití CDI (str. 35)?
- 3) Neblokujeme spojením pyrazinamidu a *p*-aminosalicylové kyseliny i funkční skupiny potřebné pro jejich účinek (práce P1)? Kyselina *p*-aminosalicylová i vámi připravený hybrid s pyrazinamidem mají shodnou aktivitu, zlepšení přinesla až tvorba laktonu. Zkoušeli jste připravit a porovnat lakton pouze z *p*-aminosalicylové kyseliny, respektive pouze ochránit NH₂ jednoduchým acylem? Jsou případně takové sloučeniny známy z literatury?
- 4) V práci P1 lze z výsledků usoudit, že pyrazinamid nemá na aktivitu hybridní molekuly vliv. Obdobně tvorba hybridní molekuly z benzoxaborolu ve většině případů neovlivňuje aktivitu oproti nesubstituovanému benzoxaborolu. Lze stále hovořit o hybridním léčivu, pokud jedna polovina molekuly nijak neovlivňuje účinek?
- 5) Jaká je stabilita derivátů boronových kyselin popsaných v P4?

Závěr:

Disertační práci PharmDr. Petra Šlechty hodnotím jako velice zdařilou. Obsahuje velké množství původních vědeckých poznatků, což je dokumentováno dvěma prvoautorskými publikacemi (Q2) a dvěma publikacemi, kde je spoluautorem na druhém místě (Q1 a Q2). Předložená disertační práce jednoznačně dokumentuje, že autor dané problematice plně rozumí, je schopen nejen připravit požadované sloučeniny a využívat počítačové modelování ke zhodnocení možných interakcí s receptorem, ale umí zhodnotit i naměřené biologické účinky. Taková všestrannost je velkou výhodou a svědčí o pracovním nadšení studenta pro vědeckou práci. Stanovené cíle disertační práce byly jednoznačně splněny v plném rozsahu. Disertační práce PharmDr. Petra Šlechty, podle mého názoru, po stránce formální i obsahové plně splňuje požadavky kladené na disertační práce, a proto **navrhují udělit studentovi akademický titul „philosophiae doctor“ („Ph.D.“).**

V Hradci Králové

doc. PharmDr. Veronika Nováková, PhD.