



Oponentský Posudek Doktorské disertační práce

Mgr. Ondřeje Zemka

S názvem: Design ligandů pro medicínální aplikace

DSP: Anorganická chemie na Přírodovědecké fakultě UK v Praze.

Doktorská disertační práce Mgr. Ondřeje Zemka je sepsána v českém jazyce a byla předložena formou psaného komentáře k již vydaným pěti publikacím v impaktovaných časopisech. Práce uvedená v seznamu a v Příloze C odpovídá však krátkému sdělení z konference. Další rukopis je patrně v přípravě, experimentální část je uvedena v Příloze F. Disertační práce má 57 stran a je přehledně členěna. Práce je zaměřena na syntézu a studium nových, asymetricky substituovaných azamakroclyklických ligandů, jejich chelátových komplexů s kovy, způsobu propojení k peptidům či fluorescenčním materiálům pomocí několika typů spojek a ověřením jejich vlastností pro využití v biomedicině. Téma předložené disertace patří k aktuálním tématům a velmi dobře pokrývá multioborovou snahu o vývoj pokročilých typů kontrastních látek pro molekulární zobrazování v lékařské diagnostice.

Úvod práce v rozsahu sedmnácti stran předkládá poměrně stručný (s ohledem na aktuální rozsah celé oblasti), ale velmi dobře uspořádaný a zpracovaný přehled o makroclyklických ligandech, možnostech jejich modifikací a kritériích jejich využití v zobrazovacích metodách v lékařské diagnostice. Přehled je založen na rozsáhlé literární rešerši, která čítá 139 prací. Tento přehled a jeho zpracování svědčí o velmi dobré orientaci autora v dané oblasti. Vzhledem k rozmanitosti jednotlivých dílčích cílů by mohlo být prospěšné vložit část textu z úvodu do diskuse s konkrétními komentáři k jednotlivým konkrétním typům látek a použitých syntetických postupů.

Cíle práce v rozsahu dvou stran textu jsou rozděleny do čtyř dílčích částí, které jsou zaměřeny na odlišné typy ligandů a jejich vlastnosti. Jednotlivé části jsou propojeny zájmem o využití látek při vývoji moderních zobrazovacích metod. Byť jsou cíle poměrně široce rozprostřeny, celkové zaměření jim poskytuje jednotný a plně adekvátní rámeček.

Diskuse má rozsah 17 stran textu, podobně jako Úvod, a zahrnuje velký objem zajímavých a kvalitních výsledků, od chemických modifikací tří typů makroclyklických ligandů typu 1,4,7-triazacyklononanu (TACN), 1,4,7,10-tetraazacykloheptanu (DOTA) a ligandů typu PIDAZTA pomocí fosfinátových a karboxylových pendátních ramen a dalších substituentů, po charakterizaci jejich komplexů s Ga^{3+} a Gd^{3+} a studium protonace, konstant stability, konstrukci propojek, navázání peptidů či polymerem pokrytých nanodiamantů a ověření vlastností těchto systémů v PET zobrazovacích metodách či pro fluorescenční značení. Vzhledem k množství dílčích cílů a rozsahu prezentovaných výsledků se jeví diskuse jako poměrně stručná (další komentář viz níže), poskytuje však poměrně dobrou představu o dosažené úrovni v jednotlivých podoblastech prezentovaných v práci. Byť těžiště přínosu autora práce spočívá především v návrhu ligandů, náročných syntéz a charakterizaci látek, velmi pozitivně lze hodnotit plné dokončení výsledků až po úroveň nadějných výstupů z biologických testů. Právě jejich provedení patří k časově nejvíce náročným úkolům, ale poskytuje největší reálnou podporu pro správně zvolený záměr.

Závěry poskytují dobře zpracovaný souhrn dosažených výsledků v jednotlivých oblastech. Je zřejmé, že zde prezentované výsledky adekvátně naplňují původní představy a cíle disertační práce.

K práci mám následující komentář, který se vesměs týká formální stránky práce a několik otázek, které by měly být zodpovězeny během její obhajoby:

Autoreferát disertační práce je napsán velmi přehledně, a z hlediska obsahu a stylu mu nelze prakticky nic vytknout. Ke stylu disertační práce mám určité výhrady, které souvisejí s její prezentací formou komentáře k souboru publikačních výstupů. Předpisy pro hodnocení doktorských prací na Př. F. UK tuto formu sice umožňují, je však otázkou, do jaké míry se pak autor dokáže vyrovnat s převedením textu z publikovaných článků do podoby disertační práce a případným doplněním výsledků o materiál přesahující původní rámec a o své vlastní zhodnocení. Text je sice zpracován přehledně a obsahuje minimum překlepů. Na druhou stranu, spíše převládla snaha o stručnost nad důkladností při zpracování odborného textu. Sepsání práce v mateřském jazyce považuji za dobrou volbu, ale převedení obsahu publikovaných článků do českého jazyka trochu skřípe, především s ohledem na (ne)použití ustálené terminologie. České ekvivalenty anglických pojmů je často třeba řešit opisem, ne jen automatizovaným překladem anglických termínů. Např.: Str. 12: Slovosled: na protilátky opatřené azidovou skupinou... Str. 16: Správně je spíše amidická vazba, ale označení by mělo být každopádně jednotné v celém textu. Na uhlíku karbonylu v amidické skupině. Str. 17: Namísto: dobrými odcházejícím skupinami spíše:...se snadno odštěpitelnými skupinami...Str. 20: dostupné přes reakci/ dostupné reakcí. Také velmi v práci frekventovaný termín „pnuté kruhy“ tahá poněkud za oči. I když to třeba není vyloženě špatně, jedná se jen o prostý překlad anglického termínu strained. Lepší by mohlo být: kruhy štěpitelné v důsledku vazebného napětí, či něco podobného. Podobně je to u pojmu cílicí skupina, který se také hojně vyskytuje v textu, často s rozdílným významem, či odchránění namísto odštěpení chránící skupiny. Str. 34: tetraalkylammoniovými, několikamolární HCl. Str. 38 a 42: ...se skeletem rigidizovaným šestičlenným kruhem.../...se skeletem, jehož konformační změny jsou zablokovány přítomností dalšího šestičlenného kruhu... Str. 39: doběhnutí do konce/ úspěšné ukončení reakce, str 40: koncentrovaná či zředěná, atd.

Str. 12: Pro přehlednost by bylo dobré ukázat v Obr. 12 porovnání s chemismem původního reakční sekvence vyvinuté C. Bertozzi a spoluautory.

Str. 14: Z textu vypadla základní informace, který isomer vlastně vzniká při Huisgen-Sharplesově dipolární cykloadici katalyzované měďnými ionty. Tato reakce by měla v celém textu nést běžně používaný název, i když třeba zkrácený. Neměla by být označována neustáleným triviálním označením jako CuAAC, byť je zahrnut v seznamu zkratk.

Experimentální část syntézy je částečně pokryta v diskuzi, ale nejde nad rámec krátkého textu a schémat z publikací. Pro detailní popis použitých instrumentálních metod a data pro charakterizaci produktů je třeba hledat v přílohách. Detailnější rozbor způsobu charakterizace látek a provedení jejich biologické evaluace v textu diskuse by jistě bylo přínosem. To platí zvláště u poslední části věnované modifikaci ligandu PIDAZTA, kdy jsou experimentální data uvedena také v příloze, ale výsledky ještě publikovány nebyly.

Text v diskusi a popisy obrázků by měly jednoznačněji vymezovat, které výsledky jsou převzaté z literatury, a které jsou založeny na původních publikovaných pracích autora.

Otázky:

- A. Tvorba fosphinolaktonu jako vedlejšího produktu reakce na str. 26 byla elegantně vyřešena. Vznik jeho dvou zajímavých diastereisomerů je přičítán přítomnost HATU. Byl studován vliv jiných činidel či běžných reakčních podmínek pro tvorbu amidické vazby na vznik této látky? Jakým způsobem byla ověřena chiralita těchto sloučenin a tvorba obou enantiomeru při reakcích s L-aminokyselinami?

- B. Pro studium konjugace NOPO byl zvolen oktapeptid NOC s cyklickou strukturou přemostěnou dithiolovým můstkem (Příloha A), či hexapeptid E3 (str. 27/28). Patrně se jedná o chemicky navržené látky. Na základě jakých předpokladů byly tyto oligopeptidy pro studium vybrány?
- C. Bylo by možné dosáhnout u ligandů strukturního typu PIDATZA (str. 37) substituce jiným typem kruhu nebo objemnými substituenty, která by zamezila tvorbě diastereoisomerů? Byla přítomnost enantiomerů zjištěna jen na základě krystalových struktur, či ještě dalšími metodami?
- D. EA produktů v Příloze F se zdá indikovat nestechiometrický poměr TFA, zřejmě trifluoroctové kyseliny, v jednotlivých vzorcích. U některých látek se to může zdát, vzhledem ke způsobu přípravy, překvapivé. Souvisí tato přítomnost s protonací ligandu a může být přítomnost TFA prokázána také z ^{13}C nebo ^{19}F NMR spekter?
- E. Byla již studována komplexace Ga^{3+} modifikovaným ligandem typu PIDAZTA (IX, str. 38, 40), která by ověřila předpoklad zachování konstant stability komplexů pozorovaných u mateřského ligandu?
- F. Lze odhadnout a komentovat časový rámeček pro dokončení a publikaci posledních dosud nezveřejněných výsledků?

Shrnutí

Výsledky obsažené v disertační práci vykazují charakter základních poznatků pro chemii vybraných typů makrocyclických ligandů, pochopení jejich koordinačního chování a pro potenciální aplikace v zobrazovacích metodách. Navazují tak na velmi úspěchy v problematice vyvíjené Prof. Janem Kotkem a Prof. Petrem Hermanem, která se dlouhodobě zaměřuje na vývoj makrocyclických ligandů a jejich použití v biomedicíně. Nové ligandy mají nadějně vlastnosti pro využití v PET a dalších zobrazovacích metodách. To je u větší části nových látek doloženo jejich výbornými komplexačními vlastnostmi, dobrou selektivitou pro vazbu cílených kationtů kovů až po úspěšné *in vivo* zobrazovací studie demonstrovány na myším modelu. Téma je tak velmi aktuální a má mezioborový přesah. Podle v práci přiloženého vyjádření korespondenčních autorů publikovaných prací je příspěvek kandidáta na hodnotných výsledcích plně prokazatelný. Jeho hlavní podíl spočíval především v návrhu syntézy klíčových ligandů, volbě experimentálních metodik vhodných pro jejich charakterizaci a interpretaci výsledků, což považuji za plně adekvátní podklad pro úspěšnou obhajobu.

Podle mého názoru, předložená Doktorská disertační práce Mgr. Ondřeje Zemka splňuje odborné požadavky pro udělení titulu Ph.D., a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě.

V Praze 28. 11. 2022



RNDr. Bohumír Grúner, CSc.
Ústav anorganické chemie AV ČR, v.v.i.
250 68 Řež
E-mail: gruner@iic.cas.cz
Tel. 311236942