

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Lucie Tichotové „Koincidence antifungální a cytostatické aktivity u derivátů koruskanonu A a analog přírodních laktonů.“

Disertační práce Mgr. Lucie Tichotové se věnuje syntéze nových látek, jejichž předlohou je přírodní látka koruskanon A. a navazujícímu studiu jejich potenciální biologické aktivity zaměřené především na studium antifungálních a cytostatických účinků. Tématika, která vychází z dlouhodobého zaměření pracoviště a jejíž cílem bylo hledání nových postupů v syntéze za účelem přípravy sloučenin se zajímavými biologickými účinky, je stále aktuální. Disertační práce obsahuje krátký úvod, následuje přehled problematiky v rozsahu 27 stran, zpracování, popis výsledků a diskuse v rozsahu 30 stran a závěr v rozsahu necelých 2 stran. Práci uzavírá experimentální část (18 stran) a seznam zkratk. Závěrem autorka cituje původní literární zdroje (celkem 171 citací) a uvádí vlastní práce vztahující se k tématice.

V úvodu a přehledu problematiky je podána informace o významu a současném stavu poznání v oblasti antimykotik. Přehled je uveden na dobré úrovni a zaměřuje se na ty oblasti, které byly v rámci disertace studovány.

K této části mám následující dotazy:

Uvádíte, že jsou v poslední době předmětem výzkumu v oblasti antimykotik komplexy kovů – můžete uvést které a s jakými výsledky?

U Ravukazolu píšete, že ve fázi II byla klinická studie přerušena. Je známo, z jakého důvodu došlo k přerušení studie?

Výsledková část je spojená přímo s diskusí jednotlivých dílčích úkolů. Přehledy organických syntéz a modifikací jednotlivých látek jsou doplněny testy antifungální aktivity a následně i cytostatickou aktivitou. Studie je doplněna experimenty se snahou objasnit možný mechanismus účinku (buněčná proliferace, inhibice kaspáz, průtoková cytometrie), což hodnotím velice pozitivně. K této části mám následující komentáře a otázky:

V práci je uvedeno mnoho tabulek s antifungální aktivitou, kdy u některých jsou uvedeny aktivity srovnávané látky koruskanonu A, resp. flukonazolu a amfotericinu, u řady jiných tabulek tyto látky chybí a je nutno jejich hodnoty dohledávat v předchozích tabulkách, což není příliš přehledné, někdy se výsledky v tabulkách zbytečně dublují (viz. Tab. 7 a 8). Je na škodu, když jsou látky srovnávány s koruskanonem A, že jeho antifungální aktivita nebyla testována na všech použitých kmenech, obzvláště když uvádíte, že byl připraven, aby mohl být testován. Pokud se týká popisu antifungálních aktivit, zavádějící je nejednotné uvádění parametru určeného k vyhodnocování (MIC x IC₈₀) a z tabulek není zřejmé, který parametr vyhodnocení byl použit pro studované látky.

Čím si vysvětlujete rozdílnou antifungální aktivitu derivátů uváděnou na str. 64?

Doporučuji také vyvarovat se hodnocení typu „solidní antifungální aktivita“ – co to znamená?

Pokud se týká hodnocení cytostatické aktivity – zde postrádám pro srovnání účinek na normální (nenádorové) buňky (např. fibroblasty) a srovnání se zavedenými cytostatiky.

V experimentálním popisu k testování cytostatické aktivity mám následující dotazy:

Proč byla pro vyhodnocení účinku volena doba 72 hod?

V jakých pasážích byly testované buněčné linie používány – to není v exp. části uvedeno a může to mít vliv na kvalitu buněčné kultury a následně i nehomogenost a interpretaci výsledků.

Vzhledem k tomu, že je diskuse přímo součástí jednotlivých dílčích výsledků, mohlo být zpracování závěru věnována větší pozornost, formulace jsou zde málo konkrétní, např. str. 93 – 3. odstavec – „účinek některých derivátů“ – nahradit přímo uvedením čísel těchto látek –

jedná se o 22n a 25f??. Nic neříkající (a tím úplně zbytečný) je poslední odstavec závěru – prosím doplnit a konkretizovat. Závěr by měl sloužit ke konkrétnímu shrnutí výsledků.

Pokud se týká celkového hodnocení práce - autorka se mohla vyhnout příliš obecným tvrzením a nepřesnostem, např. „obr. 8 ukazuje vliv známých látek s určitým mechanismem účinku“ (z této formulace, stejně jako z obrázku vůbec není zřejmé o jaké látce se jedná.), obr. 4 má zavádějící a nepřesný popis, u obr. 5-7 nejsou čitelné popisy os., objevuje se nejednotnosti ve vyjadřování jednotek ($M, mol.l^{-1}$), v impedančním testu (str. 69) není zřejmé, zda testovaná koncentrace $10 \mu M$ byla koncentrací finální.

To však nijak nesnižuje kvalitu a význam dosažených výsledků. Velmi zajímavé jsou výsledky týkající se látek selektivně účinných na linii HT-29, zde by mne zajímalo, zda je něco známo o jejich biodostupnosti a jejich další perspektivě. Je možno konstatovat, že práce vytváří velmi solidní základ a podněty pro další navazující studium.

Závěr

Mgr. Lucie Tichotová vytyčené cíle disertační práce uvedené na straně 28-29 splnila. a prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Osvojila si na vysoké úrovni jak teoretickou stránku dané problematiky, tak i metodické přístupy a postupy. Její práce se zabývala aktuální problematikou a přinesla nové vědecké informace. Výsledky jsou součástí vědeckých článků v recenzovaných časopisech. Předložená práce splňuje nároky disertační práce, a proto komisi **doporučuji**, aby práce byla předložena k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby byl uchazeči udělen v souladu s příslušným zákonem, titul Ph.D.

V Olomouci, dne 6.2. 2011

.....
Prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc.