

Posudek disertační práce

Autor: **Mgr. Martin Krátký**

Název práce: **Design a syntéza nových sloučenin působících zejména vůči multilékově resistantním kmenům mykobaktérií.**

Studijní program: Farmacie

Studijní obor: Bioorganická chemie

Oponent: **prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.**

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500 05

Předložená disertační práce je napsána v anglickém jazyce. Je členěna do 5 kapitol, celkem 104 stran textu. V úvodní autor obecně pojednává o významu infekčních chorob včetně tuberkulózy, o schopnosti původců těchto chorob reagovat na antibakteriální léčbu. V další kapitole je nastíněn cíl disertační práce – pokračování dlouhodobého projektu hledání nových struktur účinných zejména proti resistantním tuberkulózním kmenům. Autor si klade za cíl sestavit přehled nejnovějších trendů, které se uplatňují v boji s MDR-TB a XDR-TB, a dále vypracovat přehled biologicky aktivních salicylanilidů, přípravě jejich derivátů typu esterů a především postulovat základní vztahy mezi strukturou a účinkem studovaných sloučenin. Teoretická část pojednává o TBC a základních postupech při terapii této choroby se zaměřením na řešení resistantních forem TBC. Autor zmiňuje i koinfekci TBC s HIV. V dalším oddílu autor věnuje pozornost vývoji chemických léčiv aktivních proti resistantním formám TBC v souladu se zaměřením své disertační práce. To vše na přibližně 60 stranách.

Těžiště disertační práce tvoří experimentální část. Práce dokumentuje přípravu a výsledky biologického testování velkého množství nových sloučenin odvozených od zmíněných modelových látek. Práce je uzavřena diskusí nad výsledky studia SAR. Z tabulek 16 a 17 lze vyčíst přínosy jednotlivých strukturálních fragmentů pro antimykobakteriální a antituberkulotický účinek. Autor studoval doprovodně i antimykotické a antibakteriální vlastnosti připravených sloučenin. Práce je ukončena stručným závěrem, který má spíše charakter stručného komentáře publikovaných či připravovaných článků, které jsou připojeny k disertaci formou 12 příloh (minimálně dalších 220 stran).

Autor prokázal schopnost definovat vědecký cíl práce a následně díky systematické experimentální činnosti zadaný cíl splnil. Díky tomu, že své výsledky průběžně publikoval v kvalitních časopisech a jeho práce prošly mnohdy důkladnou vědeckou recenzí, byla moje pozice recenzenta usnadněna tím, že jsem nemusel v publikovaných výsledcích vyhledávat a kontrolovat jednotlivá data. K disertační práci mám jen několik připomínek a dotazů, většinou se nejedná o připomínky zásadní, rovněž dotazy jsou motivovány snahou objasnit další možnosti výzkumu v této oblasti v nejbližším období, tak jak to ze svého pohledu může posoudit doktorand.

Dotazy a připomínky:

- Autor v kapitolách 3.1.4 a 3.1.5 obšírně popisuje MDR-TB a XDR-TB, setkal se autor v literatuře i s problematikou TDR-TB?
- Na stranách 63-67 postrádám konkrétní údaje o designu/projektování nových sloučenin – viz název práce. Mohl by autor nyní při obhajobě zobecnit cílovou strukturu, ke které při designu dospěl? Čtenář se na zmíněných stránkách dozvídá pouze obecně platné informace a chybí mi zde právě návrh nějaké konkrétní struktury.
- Str. 87 proč byl vybrán jako standard POA a nikoli PZA, všechny sloučeniny v tabulce 12 jsou amidy pyrazinkarboxylové kyseliny, nikoli volné kyseliny?

- Str. 88 až 100 postrádám obecný vzorec u tabulek 13 až 17, u sloučenin nejsou uvedeny kódy či pořadová čísla (jsou uvedeny pouze u tab. 5-13), rovněž chybějí výsledky standardů pro jednotlivé změřené biologické aktivity (jsou uvedeny pouze u tab. 5-13) - během roku se konkrétní hodnoty MIC mohou významně lišit, dle aktuální „kondice“ testovaných kmenů
- Jaké standardy byly použity pro srovnání aktivit sloučenin v uvedených tab. 13-17?
- zamýšlel jste se nad možným mechanismem účinku nově připravených sloučenin?
- U proléčiv typu esterů by bylo nesmírně zajímavé porovnat aktivity s „mateřskými sloučeninami“, v případě proléčiv typu zdvojených molekul – při použití POA, pak aktivity všech komponent tak, aby bylo možno aktivitu jednoznačně „přidělit“ příslušnému finálnímu produktu.
- Zamýšlel se autor nad stabilitou připravených a testovaných prekurzorů typu esterů? Jak dlouho byly testované sloučeniny v roztoku během testování? Obecně měření minimálních inhibičních koncentrací probíhá po 14 - 21 dnech vzhledem k pomalému růstu *M. tbc.* lze předpokládat hydrolýzu a tedy i existenci původní sloučeniny v roztoku po tak dlouhé době, nebo se může jednat i o směs výchozích sloučenin.
- Lze na základě dosažených výsledků biologického hodnocení (anti-tbc, antibakt.) uvažovat o strukturně specifickém či o strukturně nespecifickém účinku?
- Lze při studiu vztahů mezi strukturou a účinkem, potažmo při designu/projektování nových léčiv využívat nějaké parametry popisující např. fyzikálně-chemické vlastnosti ($\log P$)? Pokud ano, proč jste se o to nepokusil? Co je to **Lipinského pravidlo pěti**, popř. podobné „**pravidlo tři**“ a v jakých případech je toto pravidlo při drug designu běžně využíváno?
- V disertaci zmiňujete pozitivní výsledky sledování inhibice několika specifických enzymů mykobakteriální stěny vašimi deriváty, neuvažoval jste o dockingu nejúčinnějších sloučenin? Jedná se o dnes velmi často využívaný prostředek při optimalizaci vůdčích struktur. Korelovaly tyto „enzymové“ výsledky s oněmi „vynikajícími“ MIC hodnotami, pokud ne, proč tomu tak bylo?
- Kolik sloučenin se doposud podařilo připravit, otestovat a opublikovat? Tento konkrétní údaj v disertaci není uveden, pouze se zmiňujete cca o 5 sériích.
- K seznamu literatury (pečlivě zpracovaný seznam 152 odkazů na původní literaturu) mám následující připomínku a zároveň dotaz: existuje nějaká závazná norma pro zpracování bibliografického záznamu určená pro tento typ kvalifikační práce? Pokud ano, proč se autor takovou normou neřídil?

Závěr:

Přes uvedené připomínky hodnotím disertační práci jako nadprůměrnou, což se odráží i ve velkém počtu publikovaných článků. Předložená disertační práce splňuje po formální i obsahové stránce všechny požadavky kladené na tento typ kvalifikační práce. Je velmi dobře dokumentována odkazy na původní a aktuální odbornou literaturu a svědčí o invenci autora i o jeho schopnosti vědecky analyzovat a rozvíjet zadanou problematiku. Z tohoto důvodu **doporučuji práci přijmout k obhajobě** a po její řádné obhajobě autorovi udělit příslušnou vědeckou hodnost.

V Hradci Králové, 12. ledna 2012

prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.