

OPONENTSKÝ POSUDOK

na dizertačnú prácu Mgr. Evy Vavříkovú

Design of new antibacterial active molecules (94 s. + prílohy)

Školiteľ: doc. RNDr. Jarmila Vinšová, PhD.

Školiace pracovisko: Katedra anorganické a organickej chemie Farmaceutickej fakulty Univerzity Karlové

Posudzovaná dizertačná práca Mgr. Evy Vavříkovej má experimentálny charakter a rieši výsostne aktuálnu problematiku syntézy a vývoja nových bioaktívnych molekúl – liečiv s antibakteriálnym účinkom. Tematický je začlenená do výskumného programu Katedry anorganickej a organickej chémie FaF v Hradci Králove. Doktorandka využila pri štúdiu prezentovaných výsledkov niekoľko grantov, udelených grantovou agentúrou Karlovej Univerzity a Ministerstvom školstva ČR. Obrovskou výhodou pre doktorandku a zároveň uznaním vedeckých kvalít školiaceho pracoviska boli i jej 2 pobyty na Fakulte chémie a chemickej technológie v Ljubljane u prof. Dr. Slovenka Polanca (4 mesiace) v rámci EU a u prof. Szilvia Boszeho z Univerzity Eötvösa Lóránda v Budapešti (1 mesiac), ktorý absolvovala v rámci fondu mobility. Doktorandka si rozširovala teoretické a praktické vedomosti i pomocou vzdelávania v oblasti IR, NMR spektroskopie a hmotnostnej spektrometrie absolvovaním vhodných kurzov. Treba oceniť, že si zvolila náročnejší spôsob predloženia práce tým, že ju celú spísala v anglickom jazyku, čo jej umožňuje dobre prezentovať výsledky svojej práce v zahraničí.

Výber témy dizertačnej práce Design of new antibacterial active molecules je aktuálny, vedecky významný a tematicky vďačný.

Cieľom predloženej doktorskej práce je projekcia a syntéza nových antimykobakteriálnych aktívnych molekúl, ktorá je v súčasnej dobe aktuálna. Tuberkulóza vyvolaná bacilom *Mycobacterium tuberculosis* je najčastejšou príčinou umrtí zo všetkých infekčných chorôb. Problémom je narastajúci počet polyrezistentných kmeňov, ktoré vyžadujú vývoj a výskum nových liečiv v tejto oblasti. Práca je rozdelená na dve časti., v prvej sa doktorandka zaoberá aminopolysacharidom chitosanom, po celulóze najrozšírenejším polysacharidom, ktorý okrem iných oblastí je využívaný ako vhodný biodegradabilný nosič liečiv. Doktorandka pripravovala na jeho štruktúrálnej báze nové nosiče pre antimykobakteriálne aktívne liečivá. Za účelom zníženia hepatotoxicity syntetizovala chitosanové deriváty s karboxymetylovým a sukcinylovým reťazcom v spojení s antituberkulotikami prvej i druhej rady. Pripravené deriváty vykazovali MIC 125 µg/mL proti *M. tbs.*, *M. avium* a *M. kansasii* v zhode s percentom naviazaného liečiva. O-karboxymetyl chitosan bol účinnejší proti *M. tbs.*, *M. avium*. Zo získaných výsledkov je možné usudzovať že biologická aktivita je závislá na inhibičnom účinku použitých antituberkulotík a na stupni deacetylácie chitosanu. Bolo potvrdené, že chitosan má schopnosť znížiť cytotoxicitu antimykobakteriálnych liečiv, pretože u všetkých testovaných štruktúr sa neprejavil cytotoxický účinok na krvné mononukleárne bunky a ani na HepG₂ bunecnú líniu. Doktorandka urobila i experimenty s použitím chitosanu ako vhodného nosiča fotosenzitívnych farbív ale v tomto smere by bolo potrebné urobiť ďalšie sledovania. Získané výsledky zo štúdia chitosanu doktorandka publikuje v dvoch prehľadoch v impaktových časopisoch *Current Pharmaceutical Design* a v *Chemických Listoch*. Prvá práca podáva rozšírený pohľad na problematiku chitosanu, kým druhá práca z nej vychádzajúca pojednáva prevažne o biologickej aktivite chitosanu. V druhej práci by bolo vhodné, aby autorka citovala prácu v anglickej verzii, pretože podáva oveľa rozšírenejší pohľad na oblasť chitosanu a zohľadnila v nej odlišnejšie hľadisko biologickej aktivity chitosanu, ako v práci predchádzajúcej, čo je v súlade s inštrukciami pre autorov *Chemických Listov*. Vlastné

výsledky syntézy derivátov chitosanu i s biologickým hodnotením pripravených štruktúr sú v práci Carbohydrate polymers po recenzii pripravenej na vydanie.

Druhá časť práce je orientovaná na obmeny štruktúr už známych antituberkulotík. Boli syntetizované fluórované hydrazóny kyseliny benzoovej v kombinácii s rôznymi antituberkulotikami. Sledovaná antimykobakteriálna aktivita proti multirezistentným kmeňom tuberkulózy bola vyššia ($MIC = 0,5\mu\text{g/mL}$) než isoniazid. Ďalšie štruktúrne obmeny sa týkali prípravy hydrazónov na isoniazide s anilínmi s elektróno-akceptornými substituentami cez metínový mostík. Deriváty vykazovali aktivitu podobnú isoniazidu s vyššou lipofilitou než tento štandard. Túto časť dizertačnej práce doktorandka popisuje v dvoch publikovaných prácach vo vedeckom časopise Bioorganic and Medicinal Chemistry.

Výsledky vedeckej práce doktorandka prezentovala na 15 vedeckých konferenciách, z ktorých 10 bolo v zahraničí a pri riešení problematiky využila i poznatky z absolvovaných kurzov týkajúcich sa spektrálnych metód (IR, NMR spektroskopia a hmotnostná spektrometria).

Zvolené metódy spracovania vychádzajú z teoretických poznatkov študovanej problematiky. Riešená problematika antibakteriálnych štruktúr má za sebou verejnú oponentúru, pretože dosiahnuté výsledky boli väčšinou publikované vo forme piatich karentovaných vedeckých časopisoch. Dizertačná práca Mgr. Evy Vavříkovej prináša nové poznatky pre ďalší rozvoj vedy a techniky a konkrétne pre farmaceutickú prax. Posudzovaná práca predstavuje ucelené vedecké dielo s vhodným členením a logickou argumentáciou v diskusii. K práci mám tieto pripomienky a otázky:

Navrhovala by som pri podobných prácach príliš všeobecný názov Design of new antibacterial active molecules rozšíriť i o konkretizáciu pripravovaných štruktúr napr. na báze chitosanu a chemických obmien používaných antituberkulotík atď.

V súbore skratiek by bolo potrebné uviesť všetky používané skratky napr. PBMC, HeG₂

Na vašom pracovisku problematika antituberkulózne účinných zlúčenín, je vysoko prepracovaná. Nebolo možné pri štúdiu a výbere nových účinných štruktúr využiť molekulové modelovanie?

Pri sledovaní čistoty pripravených nových zlúčenín pomocou TLC neboli počítané R_f hodnoty?

Pri určovaní štruktúry pomocou IČ spektier u zlúčenín 15a až 15o, 17a až 17n nesledovali ste podrobnejšie identifikovanie jednotlivých absorpčných pásov napr. ich priradenie funkčným skupinám, prítomným v danej štruktúre alebo určenie pásu danej vibrácie?

Akým spôsobom ste určili správny reakčný čas pri syntéze zlúčenín 17a – 17n?

V chemických názvoch pri používaní hydrochloridu by som navrhovala používať názov ako amónium chlorid alebo soľ kyseliny chlorovodíkovej.

Bolo by možné využiť chitosan ako štruktúru s množstvom stereogénnych centier pri príprave chirálnych stationárnych fáz napr. pri TLC alebo HPLC?

Dizertačnú prácu Mgr. Evy Vavříkovej hodnotím vysoko pozitívne. Dosiahnuté výsledky sú zvlášť zaujímavé a vo viacerých smeroch originálne. Tieto skutočnosti svedčia o schopnostiach doktorandky samostatne vykonávať vedecké bádanie. Konštatujem, že práca prináša nové vedecké poznatky a spĺňa požiadavky kladené platnou legislatívou na doktorandské dizertačné práce. Preto navrhujem, aby bola po úspešnej obhajobe dizertantke udelená vedecko-akademická hodnosť „philosophiae doctor“ (PhD.) v študijnom odbore Farmaceutická chémia.

V Bratislave 27. augusta 2010

Ružena Čižmáriková, doc. RNDr. CSc.
Katedra chemickej teórie liečiv FaF UK

vyhodene

V prvej časti sa doktorandka venuje modifikáciám chitosanu ako proléčiva s antibakteriálnou, protinádorovou a antioxidačnou aktivitou

Pretože práca tým, že podáva konkrétne výsledky vo forme publikácií a sú z dvoch oblastí bolo by vhodné v diskusii alebo v závere zhrnúť celkove dosiahnuté výsledky napr. mohlo by to odznieť napr. koľko štruktúr bolo celkovo pripravených a s akým výsledkom., aké fyzikálno-chemické metódy sa využili pri ich štúdiu atď.