

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Rudolfa Vosátky

nazvanou

„Design a syntéza nových potenciálně antibakteriálně účinných sloučenin“

Předložená disertační práce byla vypracována Mgr. Rudolfem Vosátkou v rámci doktorského studijního programu Organická chemie, Studijní obor: Bioorganická chemie pod vedením školitelky prof. RNDr. Jarmily Vinšové, CSc. na Katedře organické a bioorganické chemie, Farmaceutické fakulty UK.

Předkládaná práce má charakter souboru tematicky podobných publikací doplněných o nepublikované výsledky, kterým v práci předchází Úvod, Cíle a Teoretická část práce. Práce je pak ukončena Závěrem, přehledem publikovaných prací a seznamem použité literatury. Přílohou práce jsou uveřejněné publikace v impaktovaných časopisech, ve kterých je Mgr. Vosátka spoluautorem.

Stěžejním tématem disertační práce a pomyslnou nití spojující jednotlivé kapitoly, je vývoj nových organických molekul odvozených od současných léčiv, případně od sloučenin, které byly v minulosti popsány jako sloučeniny schopné inhibovat patogenní mikroorganismy zejména původce tuberkulózy *Mycobacterium Tuberculosis*, případně jejich atypické nebo multilékově rezistentní kmeny. Konkrétně se jedná o modifikaci Triklosanu, substituovaných salicylanilidů, Isoniazidu a kyseliny *para*-aminosalicylové. Autor v úvodu popisuje globální situaci tohoto smrtelného onemocnění a stručně naznačuje současné trendy ve vývoji antituberkulotik.

Kapitola 2 Cíl práce je napsána velmi obecně a nesumarizuje konkrétní úkoly, které byly vymezeny pro řešení vědeckých úkolů uchazeče. Text kapitoly připomíná spíše stručný souhrn výsledků. Čtenář se konkrétní cíle dozví až v jednotlivých kapitolách, nebo v publikovaných pracích.

Teoretická část práce je zaměřena na zevrubný popis původce tuberkulózy, mykobakteriální stěny, patogenezi a epidemiologii tuberkulózy. Popis farmakoterapie tuberkulózy, který zahrnuje popis léčiv první i druhé linie a léčebných režimů hodnotím jako velmi zdařilou část schopnou zaujmout čtenáře. Stejně hodnocení je možno vyslovit i k části, která popisuje nové přístupy ve vývoji léčiv, i když v jejím začátku by se mohl autor více vymezit oproti obecnému názvu kapitoly. Následující text popisuje Peptidové nosiče na bázi tuftsínu, salicylanilidy včetně popisu jejich mechanismu účinku, vztahy mezi strukturou salicylanilidů jejich biologickou aktivitou. Popis triklosanu, jeho mechanismus účinku vzniku rezistence uzavírá teoretickou část práce.

Metodická část práce popisuje využití chemikálie a metodiky biologických hodnocení.

Stěžejní částí práce tvoří Komentáře k publikovaným pracím a dále nepublikované výsledky jednotlivých kapitol. Vzhledem k tomu, že publikace prošly již recenzním řízením a jsou uveřejněny v impaktovaných odborných časopisech s odpovídajícím zaměřením, nebudu se

k těmto již dále vyjadřovat. Jednou z oblastí, které se Mgr. Vosátka během svého studia věnoval, byl popis triklosanu jako přímého inhibitoru mykobakteriální enoyl-ACP reduktázy. V rámci nepublikovaných výsledků bylo připraveno 34 derivátů triklosanu (estery, karbamáty a thiokarbamáty), z nichž většina není v literatuře popsána, a které byly následně testovány a byla hodnocena jejich antimykobakteriální, antibakteriální a antifungální aktivita doplněna o hodnocení cytotoxicity. Všechny připravené sloučeniny byly odpovídajícím způsobem charakterizovány.

Při studii salicylanilidových derivátů navazuje autor na publikaci popisující syntézu a biologickou aktivitu nových substituovaných salicylanilidů. Tyto sloučeniny dále modifikoval s cílem připravit esterové deriváty. Tyto sloučeniny pak byly podrobeny testování antimykobakteriální aktivity a to včetně proti lékově rezistentním kmenům. Nepublikované výsledky *para*-aminosalicylových derivátů přináší poměrně rozsáhlou knihovnu dvou základních derivátů kyseliny *para*-aminosalicylové a jejich biologické hodnocení antimykobakteriální aktivity a to včetně lékově-rezistentním kmenů. Sloučeniny z této série byly testovány též proti bakteriálním kmenům a vybraným fungálním patogenům. Připravené sloučeniny jsou odpovídajícím způsobem charakterizovány.

Práce je sepsána bez gramatických chyb a nepřesností a svou strukturou vyhovuje formálním požadavkům na tento typ závěrečné práce. K práci mám však několik následujících připomínek a komentářů:

- Úvod práce je zaměřen výhradně na situaci týkající se tuberkulózy s minimálním komentářem k problematice onemocnění způsobených bakteriálními a fungálními patogeny, i když antibakteriální a antifungální vlastnosti připravovaných sloučenin, zejména ze skupin nepublikovaných výsledků autor celkem široce diskutuje. V úvodu by bylo též vhodné alespoň naznačit, že problematika rezistence se týká i mykobakteriálních kmenů.
- Cíle práce, jsou podle mého názoru nekonkrétní a bylo by vhodné, aby uchazeč při obhajobě cíle práce přesně specifikoval a pro jednotlivé studie zhodnotil jejich splnění.
- Z formálního hlediska by bylo vhodné, aby umístění jednotlivých kapitol týkající se modifikovaných sloučenin v Teoretické části práce a Komentářích k publikovaným pracím, bylo shodné tzn. pokud teoretická část končí triklosanovými deriváty neměla by triklosanovými deriváty začínat kapitola „Komentáře...“.
- Osobně bych v kapitole 3.3 uvítal rozšíření textu týkající se konkrétních obměn sloučenin, které autor prezentuje a komentuje v kapitole 5.
- Kapitola 5.2.2 Nepublikované salicylanilidové deriváty rozšiřuje a uvádí do širších souvislostí již jednou uveřejněné sloučeniny (konkrétně se jedná o sloučeniny **62**, **63**, **66**, **67**, **70**, **71**), které byly součástí diplomové práce uchazeče (Syntéza salicylanilidových esterů působících na MDR-TB, Vosátka, 2013). Ačkoliv se syntetický přístup v předložené disertační práci odlišuje od postupu uvedeného v práci diplomové, navíc je zde nově uvedena úplná charakterizace sloučenin, a zároveň je vhodně rozšířeno biologické hodnocení celé série sloučenin, měla by tato skutečnost být v disertační práci zmíněna minimálně formou literárního odkazu, případně dalšího rozšiřujícího komentáře.

Kromě výše uvedených komentářů, na které by měl uchazeč během obhajoby reagovat, mám k práci i následující otázky:

- Předpokládám, že syntéza derivátů triklosanu nebyla náhodná. Byly při návrhu triklosanových derivátů využity poznatky získané při studiu odborné literatury, které vyústilo v sepsání přehledového článku „Triclosan and its derivatives as antimycobacterial active agents“ nebo nějaké jiné studie?
- Jak ve skutečnosti byla prováděna syntéza derivátů kyseliny *para*-aminosalicylové s vybranými izokyanáty v dichlormethanu (viz odst. 5.4.1.1.2, Řádek 2reakční směs byla za stálého míchání přivedena k 60 °C.....)
- V práci se několikrát vyskytuje spojení, že modifikace vybraných sloučenin byla prováděna za účelem zvýšení aktivity, snížení toxicity a zlepšení biologické dostupnosti – nebo též biodostupnosti (viz Cíle práce, Závěr, kapitoly 3.3.1, 3.3.2.5, 5.1.1.1 ...). Pojem biodostupnosti je blíže specifikován a měření biodostupnosti je popisováno až v kapitole 5.1.1.3. Byly obdobné experimenty prováděny i pro konkrétní sloučeniny připravené v rámci disertační práce? Existují metody, na základě kterých by bylo možné odhadnout změnu biodostupnosti? Byla biodostupnost připravovaných sloučenin skutečně lepší než u výchozích sloučenin?

Přes výše uvedené komentáře, připomínky a otázky hodnotím předkládanou disertační práci Mgr. Rudolfa Vosátky jako velmi přínosnou. Autor prokázal jednak, že je schopen pracovat v autorském kolektivu a na základě jeho spoluautorství ve čtyřech odborných publikacích být i platným členem pracovní skupiny Prof. Vinšové. Výsledky své práce je schopen aktivně prezentovat v rámci odborných konferencí. Ve vlastní disertační práci autor prokázal, že je schopen danou problematiku pečlivě prostudovat a výsledky sumarizovat do obecnějších závěrů. To platí i pro sérii zatím nepublikovaných experimentálních derivátů vybraných současných látek využívaných v klinické praxi. Na základě výše uvedeného mohu konstatovat, že práce splňuje všechna požadovaná kritéria a doporučuji tuto k obhajobě. Po úspěšném obhájení práce navrhuji, aby byl jmenovanému udělen titul „philosophiae doctor“ – Ph.D.

V Pardubicích dne 8. 3. 2019

doc. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.
Ústav organické chemie a technologie
Fakulta chemicko-technologická
Univerzita Pardubice