



# UNIVERZITA KARLOVA

## Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

### Posudek disertační práce

Mgr. Rudolf Vosátka vypracoval disertační práci na téma Design a syntéza nových potenciálně antibakteriálně účinných sloučenin“. Jedná se o komentář publikovaných prací. Tyto práce prošly již náročným hodnocením v časopisech, ve kterých byly otištěny, což do jisté míry usnadňuje oponentovi, který nemá ambice publikace znova hodnotit, práci. Přesto se musím vyjádřit k tomuto celku, který mně byl jako disertační práce předložen.

Práce je členěna obvyklým způsobem, přičemž je nezvykle rozsáhlá. Přestože se jedná o komentář ke 4 publikovaným výstupům, bylo mě k recenzi předloženo 114 stran. Jednotlivé komentáře jsou, dle mého názoru, zbytečně rozsáhlé a je zde např. komentována i přehledová práce, která je přiložena a komentář k výsledkům je obsažen již v ní samotné. O komplikovanosti textu, který by mohl být vcelku jednoduchý, hovoří to, že hned v úvodu je seznam zkratk zabírající téměř 3,5 strany.

Druhou částí práce je kapitola „Cíl práce“. Je koncipována dost nešťastně, neboť v podstatě pouze v prvním odstavci je uveden skutečný cíl, další odstavec se zabývá tím, co bylo uděláno, jedná se o jakési zhodnocení přístupu k práci.

Na druhou stranu, za velmi užitečnou a zdařilou část práce považuji „Část teoretickou“, která se zabývá velmi precizně vlastním mykobakteriem, a kde jsou velmi přehledně shromážděny a rozebrány mechanismy účinku používaných antituberkulotik na molekulární úrovni.

Rovněž je zde velmi podrobně vysvětlen antibakteriální účinek triklosanu, se kterým se dále v práci disertant zabývá.

Přehlednosti neprospívá ani to, že disertant v práci spojil výsledky publikované v přiložených pracích a výsledky nepublikované, které získal ve snaze o strukturní, ale z biologického hlediska většinou neúspěšnými, strukturními obměnami předlohových látek.

Za co si ale disertant rovněž zaslouží pochvalu, je velmi dobrá úroveň češtiny a úroveň psaného textu, kde jsem prakticky nenalezl chyby a překlepy. V současné době to u podobných prací není úplně obvyklé.

Komentář k čl. 1 zabývající se triklosanem je vlastně komentářem právě k revuální práci, ve které samotné je již komentář obsažen. Tento článek, jak je u review obvyklé, nepřináší vlastní výsledky. Ty jsou, jak jsem již avizoval, uvedeny v závěru tohoto komentáře. Vlastními výsledky jsou právě syntetizované strukturní obměny triklosanu, které však svou biologickou aktivitou v žádném z případů předlohovou látku nepřekonaly. A to jak v oblasti antibakteriálního, tak také v oblasti antifungálního působení. Pozitivně hodnotím skutečnost, že pro stanovení biologických aktivit byla použita široká paleta standardů, což umožnilo nové látky zhodnotit skutečně objektivně.

Komentář k čl. č. 2 se zabývající salicylanilidy. Je zde opět potvrzena cytotoxicita salicylanilidů, která je již velmi dlouho známa. S cílem odstranit ji, byla chráněna fenolická skupina salicylanilidu. V některých případech esterifikací s kyselinou isonikotinovou s cílem vytvořit tzv. „mutual drug“. Je

tento předpoklad ale správný? Na str. 12 je uveden mechanismus účinku INH spočívající v tom, že při jeho metabolismu vzniká odštěpením molekuly dusíku isonikotinoylradikál. Aby se jednalo skutečně o „mutual drug“, musel by hydrolytický štěp tohoto „mutual drug“, a tím je kyselina isonikotinová, být metabolizován stejně. Je tomu tak? Je-li kyselina isonikotinová metabolizována jinak, pak je tento předpoklad asi chybný.

Komentář k čl. 3 zabývající se snížením toxicity salicylanilidů jejich navázáním na peptidový řetězec tuftsinu. Jedná se o moderní způsob přípravy proléčiv, avšak k prokázání netoxičnosti, a nebo nízké toxicity, by bylo nutné provést toxicitní testy *in vivo*. Je vysoce pravděpodobné, že za podmínek *in vitro* testů nemusí dojít k uvolnění mateřského léčiva a tudíž se může stát, že taková molekula se zásadně pozměněnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, může skutečně vystupovat jako netoxická. Pro vyloučení cytotoxicity v tomto případě *in vitro* hodnocení zcela jistě nestačí.

Komentář č. 4 zabývající se deriváty isoniazidu, v podstatě ale jeho cyklickými formami, kdy je hydrazidová část molekuly zapojena do oxadiazolového cyklu. Tato část práce se zdá být velmi perspektivní, neboť přinesla nový poznatek, a to sice ten, že syntetizované sloučeniny působí na mykobakteria pravděpodobně novým mechanismem účinku, a proto by rozhodně stálo za to v tomto výzkumu pokračovat, popř. spojit síly se skupinou doc. Roha, který má se sloučeninami typu pětičetných heterocyklů značné zkušenosti.

Jako poslední část, spíše však přívěsek práce, je uvedena část zabývající se p-aminosalicylovou kyselinou, resp. jejími deriváty. Výsledkem práce na tomto strukturálním typu látek bylo 52 nových sloučenin typu esterů testovaných na antimikrobiální aktivitu. Výsledky aktivit nejsou uvedeny, přesto, že disertant uvádí, že měly sloužit jako podklad pro získání vztahů mezi strukturou a účinkem.

I když předložená práce není chemicky příliš bohatá, neboť pro získání cílových sloučenin byla použita velmi omezená paleta syntéz, doktorand prokázal, že je schopen řešit předloženou tematiku. Zvládl laboratorní techniku potřebnou pro vypracování práce a velmi dobře si poradil s prací s literaturou a s ostatními informačními zdroji. Přesto mám k práci ještě několik dotazů.

1. Na str. 3 jsou uvedeny jako G+ bakterie, které se nebarví metodou dle Grama. Jak je to možné?
2. Pro obr. 2 máte uveden v článku popis mykobakteriální buněčné stěny a používáte označení „za membránou“. Domnívám se, že vhodnější je pro použití směrů v tomto smyslu použít označení „uvnitř“, či „vně“.
3. Str. 15 - ethambutol se používá jako chirálně čistá látka?
4. Na str. 85 uvádíte složité experimenty s mykologickými kyselinami. Prováděl jste je sám?

Závěrem mohu konstatovat, že doktorand splnil kritéria kladená na disertační práce tohoto typu, dokázal, že je schopen řešit problémy, před které byl postaven během řešení své disertace, a proto práci doporučuji k obhajobě. Rovněž doporučuji, bude-li práce řádně obhájena, udělit doktorandovi titul Ph.D.



prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.

V Hradci Králové 20. března 2019