

## Posudek na diplomovou práci

Název práce: Návrh a syntéza proléčiv 6-diazo-5-oxo-L-norleucinu; potenciální léčba glioblastomu

Jméno autora(ky): Bc. Kateřina Novotná

Oponent: Dr. Lukáš Rýček, MSc.

V předložené diplomové práci Bc. Kateřiny Novotné o rozsahu 140 stran je popsána příprava nových proléčiv 6-diazo-5-oxo-L-norleucinu (DONu). Práce je členěna klasickým způsobem na abstrakt, úvod, cíle, teoretickou část, výsledky a diskusi, experimentální část a práce je uzavřena seznamem citované literatury a jednou přílohou. V teoretické části autorka seznamuje čtenáře s relevantními biologickými aspekty práce a poté s léčivem DON. Teoretická část je dobře stavěná, autorka zpočátku diskutuje velice obecné stránky spjaté s vývojem léčiv s aktivitou v CNS, seznamuje čtenáře se strukturou a funkcí hematoencefalitické bariéry (HEB) a s funkcí proteinů přítomných v HEB, zejména s těmi, které jsou k práci relevantní. Dále jsou diskutovány známé strategie využívané při vývoji CNS léčiv, jako lipofilizace, využití různých transmembránových transportérů a aplikaci proléčiva. V poslední fázi teoretické části je poté diskutováno rakovinné onemocnění glioblastoma multiforme (GBM) a představeno léčivo DON. Čtenář je seznámen se slibnou aktivitou DONu v léčbě GBM, ale také se systémovou toxicitou DONu. Diskuse doposud známých proléčiv DONu uzavírá teoretickou část práce.

V části výsledky a diskuse je diskutována syntéza mnoha proléčiv DONu, která jsou využívána v pěti rozdílných strategiích pro specifické doručení proléčiva a uvolnění aktivního léčiva. První strategie spočívala v přípravě lipofilních molekul pro pasivní přechod membrány. Bylo připraveno 14 nových proléčiv, z nichž některé vykazovaly požadované vlastnosti stran eliminace systémové toxicity, ale bohužel nebyly hydrolyzovány na DON v podmínkách simulujících prostředí mozku. Druhou strategií byla syntéza proléčiv DONu, jakožto substrátů GLUT1 transportérů. Bylo syntetizováno šest nových derivátů, u nichž však předběžné testy předpověděly systémovou toxicitu. Třetí strategie zahrnovala přípravu proléčiv obsahujících oxidovatelnou arecaidinovou jednotku ve své struktuře. Byly syntetizovány tři látky, vykazující zajímavé vlastnosti z pohledu systémové toxicity. Další biologické studie, které by odhalily farmakokinetické vlastnosti proléčiv v mozku doposud nebyly provedeny. Čtvrtá strategie spočívala v přípravě proléčiv jakožto substrátů LAT1 transportérů. Byla popsána syntéza jedné látky, která byla vhodná z hlediska systémové toxicity, nicméně nebyla hydrolyzována mozkovými enzymy, a navíc nevykazovala dostatečnou afinitu k LAT1. Poslední strategií byla syntéza proléčiv obsahujícího biotin jako antigen. Syntéza tří nových látek byla úspěšně dokončena, nicméně biologické výsledky zatím nejsou k dispozici.

### Obecné připomínky:

- Autorka odvedla kus práce při syntetických pracích a prokázala schopnost provádět různé chemické transformace.
- Biologické výsledky ne vždy naplnily očekávání a přání autorky, což je škoda, nicméně to v žádném ohledu nemůže být kladeno za vinu autorce. Vývoj léčiv je běh na dlouhou trať, a i případný neúspěch může být stavebním kamenem návrhů dalších, úspěšnějších kandidátů.
- V několika případech, prokázaly látky předběžně dobré výsledky a na další testování se čeká. Želízka jsou tedy stále v ohni a nezbyvá než autorce i jejímu týmu přát štěstí.
- Přestože se diplomová práce zabývá syntézou proléčiv 6-diazo-5-oxo-L-norleucinu (DONu), jež je poprvé zmíněn v abstraktu na straně 7 a zde je mu také přiděleno číslo 1

(poté je DON zmíněn například v úvodu na straně 17), je čtenář nucen prolistovat se prací až na stranu 38, kde poprvé vidí strukturní vzorec DONu.

**Rozsah DP a její dělení** je přiměřené, s malými výjimkami, kdy například podkapitola *Návrh a vývoj léčiv (kapitola 4.1.)*, diskutující z velké části obecné aspekty vývoje léčiv by měla patřit spíše do teoretické části práce, a ne do výsledků a diskuse. Stejně by se dalo říci i o několika dalších částech, zejména úvodů do podkapitol 4.3. - 4.7., kde jsou diskutovány teoretické základy, na nichž práce stavěla, a ne výsledky samotné.

**Odborná správnost práce** je velmi dobrá s ojedinělými závadami. Jako příklad uvádím:

- Číslování substituentů za účelem jejich rozlišení musí být znázorněno použitím horního indexu, nikoli dolního (např.  $R^1$ , nikoli  $R_1$ ). V případě použití dolního indexu uvádí číslo počet navázaných zbytků R (zřetelně jasné z následujícího příkladu:  $R_2O$  oproti  $R^2O$ -)
- strana 24: Citace z práce: „*Báze, které jsou kladně nabitě, projdou do mozku snáze než záporně nabitě kyseliny.*“ Kladně nabitě báze a záporně nabitě kyseliny jsou těžko představitelné entity. Autorka pravděpodobně měla na mysli kladně nabitě konjugované kyseliny bázi a záporně nabitě konjugované báze kyselin.
- strana 40: Citace z práce: „*Proléčivo 34 bylo využito v těchto počátečních studiích jako směs diastereomerů kvůli jejich obtížné separaci. Pro pokročilejší klinické experimenty bude nutné použít opticky čisté látky.*“ Optická čistota se vztahuje k enantiomernímu nadbytku (ee), nikoli diastereomernímu nadbytku (dr).
- Strana 59, Schéma 11: Mechanistické šipky nereflexují adičně-eliminací mechanismus znázorněné přeměny.
- U látek izolovaných v pevné formě nejsou uvedeny body tání.

**Uvedení literárních a jiných zdrojů** je uspokojivé, s občasnými neobratnostmi.

**Formální a grafická úroveň práce** je výborná, bez překlepů a zásadních chyb ve formátování.

- Straně 36, řádek 6: ...IV. Stupně... by mělo být ...IV. stupně...
- Strana 34: Strukturní vzorec glukózy obsahuje dva typy zobrazení stereodeskriptivních vazeb (klínové i tučné zobrazení).
- U některých referencí jsou mezery mezi iniciálami a u některých ne.

#### **Otázky:**

1. Na straně 28 je diskutována možnost využití nanočástic, například dendrimerů, jako nosičů aktivních částic. Jakým mechanismem tyto látky překonávají HEB?
2. Jsou známá vazebná místa GLUT1 a zejména LAT1 transportérů? Dalo by se při návrhu dalších proléčiv využít dokovacích studií?
3. Obrázek 11: Může být z naměřených dat vyloučena možnost štěpení části lipofilního řetězce z N-konce proléčiva, vedoucí ke vzniku nestabilního meziprojektu, který následně rapidně hydrolyzuje a tudíž ke štěpení C-N vazby dochází až po štěpení C-O vazby?
4. Jedním z cílů je získání finálních produktů v čistotě nad 95 %. Jakým způsobem byla čistota látek vyhodnocována?

I přes výše zmíněné drobné nedostatky shledávám diplomovou práci Bc. Novotné za kvalitní a její četbu jsem si užil. Práce byla celkově srozumitelně naspána a získané poznatky mohou být považovány za stavební kameny, na kterých můžou stát základy dalšího bádání v honbě za ideálním proléčivem DONu. Proto předloženou práci doporučuji k obhajobě.

Hodnocení: výborně

V Praze

dne 25. 6. 2020

.....

podpis oponenta