



Univerzita Karlova

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Akademika Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika

V Hradci Králové 26. října 2022

## Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Radomíra Jůzy “Výzkum duálních ligandů ovlivňujících 5-HT<sub>3</sub> a D<sub>2</sub> receptory“

Disertační práce Mgr. Radomíra Jůzy byla vypracována pod vedením školitele prof. PharmDr. Kamila Musílk, Ph.D., a konzultantky RNDr. Evy Mezeiové, Ph.D., a organicky navazuje na předchozí výzkum školitele i pracoviště. Předložená disertace se zabývá designem, přípravou a hodnocením látek potenciálně využitelných v léčbě neuropsychiatrických chorob, zejména pak poruch schizofrenního spektra. I přes dílčí pokroky v oblasti nových antipsychotik v posledních letech je zde velký prostor pro inovaci, téma je kromě samotné farmakoterapie relevantní i socioekonomicky, a to mj. v kontextu reformy psychiatrické péče.

Práce zdařile kombinuje chemickou stránku (design, syntéza a charakterizace sloučenin) s biologickým hodnocením. Členění práce je klasické – úvod, který je významově teoretickou částí, cíl práce, výsledky a diskuse, závěr, experimentální část, seznam publikovaných prací a konferenčních příspěvků, literatura, celkem 95 číslovaných stran.

Úvod podává poměrně stručně, avšak výstižně přehled základních informací o schizofrenii, kdy se vhodně odvolává na dva disertantovy přehledové články, její terapii včetně limitací, antipsychotických, vybraných receptorech (D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>) a vývoji nových léčiv s důrazem na CADD. Cíl práce je definován komplexně, zahrnuje chemické i biologické aspekty, a znovu zmiňuje východiska přípravy cílových sloučenin.

Následují výsledky a diskuse, které vychází ze dvou experimentálních prací doktoranda i nepublikovaných výsledků. Práce zmiňuje mnoho experimentů a biologických dat, která byla získána na řadě pracovišť (str. 26). Zde by mne zajímalo, jaké experimenty a kde prováděl autor sám, příp. kdy šlo o ryze externí hodnocení. Čtenář se postupně dozvídá o jednotlivých syntetizovaných sériích, a to v osvědčené osnově: design – výpočet fyzikálně-chemických vlastností – syntéza – biologické hodnocení (pokud je hotovo). Stručnější závěr shrnuje východiska, záměr práce a připravené série sloučenin. Zde bych uvítal alespoň stručnou zmínku o dalších perspektivách vývoje nových molekul, a to na základě zjištěných výsledků. Následuje experimentální část zahrnující jak obecné chemické metody, tak postupy přípravy a charakterizaci nepublikovaných sloučenin. U biologického hodnocení se odkazuje na vyšlé manuskripty. V rámci seznamu publikovaných prací bych vzhledem k početným autorským kolektivům poprosil u experimentálních prací, aby disertant podrobně specifikoval svůj podíl (na pracovišti oponenta je toto povinnou součástí disertační práce). Literatura obsahuje úctyhodných 213 referencí, které jsou relevantní a většinou aktuální, vyskytují se v ní drobné formální chyby.

Práce je sepsána zjevně pečlivě, přesto se neubráníla některým chybám jazykového (interpunkce, nesoulad rodů typu „antagonisté 5-HT<sub>3</sub>, označovaná jako...“, skloňování slova analogo) a formálního charakteru (předložky osamoceně na konci řádků, latinské anatomické názvy typu „Nucleus accumbens“ se nepíše s velkým písmenem, zato je zvykem psát je kurzivou, N- a C-konec peptidu se naopak kurzivou nepíše, někde chybí mezery před závorkami, např. v tabulce 1, chybné číslování kapitol v úvodu, některé obrázky a tabulky nejsou na stejné stránce jako jejich záhlaví či poznámky k nim – např. tabulky 2 a 3, schéma 2, jednotka je na jiném řádku než hodnota

veličiny, desetinné tečky vs. čárky aj.) či občasné překlepy (7-alkoxyoxy-3,4-dihydro-2(1H)-chinolinovou, pyrrolidin, demethylsulfoxid atd.). Drobné připomínky lze mít i k českému názvosloví – např. místo 1,3-propan-diyl je správně propan-1,3-diyl, skupiny, které by měly být určeny příponou, jsou vyjádřeny předponou (např. 2-chlor-3-kyanopyridin, 5-karboxyamidotryptamin), D<sub>2</sub>O není česky „oxid deuterium“, objevují se i ojedinělé anglickanismy (např. quinpirol namísto chinpirol, 4-{{[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]methyl}benzonitril}, u názvů esterů někde chybí spojovník (např. str. 70), v experimentální části nejsou používány hranaté a složené závorky. Také bych doporučil používat v české odborné literatuře dobře zavedené anglické zkratky (TLC, rt, on apod.) namísto českých novotvarů. V experimentální části se také vyskytuje chemická hantýrka („za refluxu“, „správně čisté frakce“, „byla směs nalita na destilovanou vodu“ aj.). Nicméně tyto nedostatky v úhrnu neruší srozumitelnost sdělení.

Další připomínky:

- str. 17-18 – uvádíte, že současná léčba schizofrenie je schopná zmírňovat pouze pozitivní symptomy – to není zcela pravda, viz např. karpiprazin, následně sám uvádíte jako příklad takového léčiva klopazin,
- str. 21 – u údaje o ceně a délce vývoje nového léčiva bych se odkazoval na recentnější literaturu než z let 2003, 2009 či 2010,
- str. 25 – druhý odstavec považuji v kontextu práce za nadbytečný, dle mého názoru není třeba zdůvodňovat, proč byla u připravených sloučenin změřena NMR apod. spektra,
- str. 31 – reakce 2-chlorpyridin-3-karbonitrilu s piperazinem není nukleofilní adicí, ale substitucí, podobně jako u řady dalších reakcí zmiňovaných na této straně a dále i jinde v práci; u odstranění Boc skupiny pomocí TFA pravděpodobně chybí následně přídavek baze,
- str. 36 – je zde uvedená  $pK_B$  opravdu záporný dekadický logaritmus disociační konstanty pro baze, jak je uvedeno v seznamu zkratk? Jak tato veličina souvisí s afinitou sloučenin k 5-HT<sub>3</sub> receptorům?
- str. 39 – obrázek je nižší kvality, byl odněkud převzat?
- str. 48 – chybně převzatý kód lead structure z primární literatury,
- str. 69 (i jinde) – má být patrně MgSO<sub>4</sub> (či Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>?) namísto uvedeného Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- experimentální část – postrádám detaily o výrobcích/dodavatelích, u některých přístrojů nejsou ani uvedeni; u některých sloučenin chybí <sup>13</sup>C NMR spektrum, u všech teploty tání, vhodná by jistě byla i IR spektra; někde není uvedena čistota ani MS analýza (např. sloučeniny 88 či 95),
- str. 77 – u množství KI vneseného do reakce chybí jednotky (mmol?); jaká je role této soli v uvedené reakci?
- str. 78 – asi je lépe hovořit o chloridu kyseliny 106, než o jejím acylu.

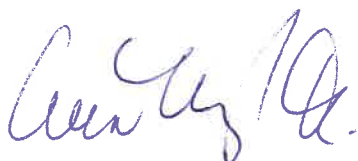
Kromě výše uvedených poznámek vznáším k samotné obhajobě následující dotazy k diskusi:

- 1) V úvodu zmiňujete koncept MTDL. Mohl byste, prosím, uvést příklady mimo neuropsychiatrická onemocnění, kde byl tento přístup úspěšně využit? Existuje nějaká molekula designovaná jako MTDL, která je už v klinické praxi či pokročilé fázi klinického hodnocení?
- 2) K predikci prostupu Vámi navržených sloučenin přes HEB pasivní difuzí jste využil přístup podle Gupty et al. (J. Med. Chem., 2019). Prosím, vysvětlíte důvody této volby – v čem je tato metoda unikátní, jaké jsou její výhody v porovnání s jinými používanými přístupy k predikci téhož. Dále – některé Vaše sloučeniny měly nižší hodnoty skóre, ale přesto byly připraveny a hodnoceny (např. 44, 47, 71, 74, 76-81). Jak tyto *in silico* výpočty ovlivnily design studií?
- 3) Při přípravě amidů 73-75 byl jako coupling činidlo používán EDC/HOBt, u derivátu 76 pak CDI. Proč byl zvolen místo karbodiimidu? U této reakce uvádíte výtěžek 55 %. Co bylo jeho příčinou? Nepozoroval jste vznik nějakého konkurenčního produktu?

4) Na str. 57 a dále popisujete přípravu fluoroforů. Zaujala mne Vámi uváděná stereochemie těchto sloučenin (deriváty 80, 81, 102) – jak si vysvětlujete atypickou konfiguraci na dvojných vazbách? Lze strukturu těchto sloučenin popsat i nějak alternativně?

I přes výše uvedené komentáře a připomínky je nezpochybnitelné, že předložená disertační práce Mgr. Radomíra Jůzy je zajímavou, aktuální a přínosnou interdisciplinární prací z oblasti chemických a biologických věd. Jednoznačně přináší nové a zajímavé poznatky v obou zmíněných oborech s aplikačním potenciálem. Disertant prokázal příslušnou erudici v oblasti tématu disertační práce i v kontextu vědního oboru, dovednost pracovat ve vědeckém kolektivu, prezentovat své výsledky jak na vědeckých setkáních, tak formou prvoautorských publikací ve vysoce kvalitních mezinárodních časopisech – rešeršních i experimentálních (oceňuji zejména experimentální práci v *European Journal of Medicinal Chemistry* a dvě review v *Medicinal Research Review*).

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práci a podle § 47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ji doporučuji k obhajobě a dalšímu řízení. Po jejím úspěšném obhájení pak souhlasím s udělením titulu Ph.D. v oblasti aplikované biologie a ekologie.



doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.  
Katedra organické a bioorganické chemie  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Univerzita Karlova  
Akademika Heyrovského 1203  
500 05 HRADEC KRÁLOVÉ  
martin.kratky@faf.cuni.cz