

Posudek na disertační práci

Biologické a biochemické účinky inhibitorů proliferace

Mgr. Iva Dolečková

Předložená disertační práce je zaměřena na hledání potenciálních inhibitorů CDK, a to jak ze skupiny 2,9-disubstituovaných 6-guanidinopurinů strukturálně příbuzných známým inhibitorům CDK olomoucínu a roskovitinu, tak i testováním látky nové. Jako potenciální CDK inhibitor byl testován eupatorin, flavon izolovaný z *Orthosiphon stamineus* Benth. (*Lamiaceae*).

V první kapitole teoretické části se autorka zabývá protinádorovými léčivy, strategiemi hledání nových protinádorových léčiv a mechanismy jejich účinku. Tato část logicky přechází do kapitoly věnované CDK a inhibitorům CDK. Následuje kapitola věnovaná široké skupině sekundárních metabolitů - flavonoidům, která je zakončena shrnutím poznatků o eupatorinu, flavonu, který byl vybrán pro vlastní experimentální práci s cílem zkoumat jeho antiproliferační aktivitu. Kapitoly *Materiál a metody* a *Komentované výsledky a diskuze* představují shrnutí publikovaných výsledků ve formě komentářů k publikovaným pracím. Zde je práce oponenta disertační práce výrazně usnadněna, neboť tyto práce prošly velmi náročným oponentním řízením. Pro řešení problematiky byla použita řada velmi moderních metod. Disertační práce přináší velmi komplexní pohled na problematiku hledání a testování nových potenciálních inhibitorů CDK a možnosti strukturální modifikace již známých CDK inhibitorů.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. V kapitole 2.1, která je věnována protinádorovým léčivům, mechanismům účinku a strategiím při hledání nových protinádorových léčiv, by bylo vhodné, a to vzhledem k zaměření celé práce, uvádět příklady sekundárních metabolitů, které jsou v současnosti předmětem výzkumu ve vztahu k nádorovým onemocněním (inhibitory angiogeneze, VEGF, MMP, atd.). Mohla by autorka některé takové slibné látky představit?
2. V kapitole 2.3 by bylo vhodné uvést jednotlivé CDK a jejich roli v regulaci buněčného cyklu ve formě přehledné přehledové tabulky, která by usnadnila orientaci v textu. Autorka v textu kapitoly použila termín *vyšší eukaryotická buňka*. Mohla by tento termín blíže specifikovat?
3. V kapitole 2.2 je uvedena tabulka (*Tabulka 2*), která uvádí přehled nejběžnějších skupin flavonoidů a jejich zástupců. Zde zcela chybí citace. V tabulce je uváděn příklad silybinu jako flavanonu, což není, dle mého názoru, úplně nejšťastnější příklad. Jedná se o flavolignan, směs dvou diastereoizomerů silybinu A a B. Navíc jsou jako zdroj uvedeny citrusy.
4. V kapitole 2.2.4 (str. 19) je uveden rohitukin jako flavonoid, resp. flavon, v kapitole 2.3.4 (str. 13) jako alkaloid. Navíc je zde zřejmé, že neodpovídá číslování jednotlivých kapitol. Mohla by autorka představit rohitukin, jeho strukturu a biosyntézu, a tedy také klasifikaci (flavon versus alkaloid)?
5. Ve stejné kapitole autorka uvádí flavonoidy obsažené v červeném víně jako příklad sekundárních metabolitů, které jsou schopny inhibovat některé klíčové procesy angiogeneze. Zde bych se rád zeptal, jakou roli zde hraje resveratrol jako potenciální inhibitor exprese *VEGF*.

6. V kapitole 2.2.5, která je věnována eupatorinu, postrádám citace některých recentních prací (Androutsopoulos et al., 2012; Laavoila et al., 2012). Zde by bylo vhodné uvést, že nejen eupatorin, ale také triperpeny přítomné v *Orthosiphon stamineus*, zejména kyselina betulínová, mají poměrně výrazné protinádorové a antiangiogenní účinky.
7. Kapitola 3. – zde mám dotaz, kdo identifikoval rostlinnou drogu? S tímto dotazem se pojí použití synonymického pojmenování rostliny (*O. aristatus* (Blume) Miq.). Vzala autorka v potaz i práce, které používají i synonymická pojmenování rostliny?
8. Jak působí DMSO na buněčné kultury? Byl použit DMSO v experimentech jako další kontrola?
9. V kapitole 3. postrádám některé kapitoly, které jsou uvedeny v přiložených publikacích, a to zejména kapitolu věnovanou statistickému zpracování dat, která by měla být standardně uváděna v rámci kapitoly *Materiál a metody*.
10. Z přiložených publikací je zřejmé, že pro řešení problematiky byla použita velmi široká škála různých metod. Které z použitých metod jsou autorce nejbližší?

Výše uvedené připomínky nesnižují kvalitu předložené práce. Disertační práce Mgr. Dolečkové je na vysoké úrovni a splňuje všechny požadavky kladené na tento typ práce. Přináší originální vědecké výsledky, které byly publikovány v prestižních impaktovaných časopisech. Tím doktorandka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Disertační práci **doporučuji** k obhajobě.

V Brně 6.6.2013

Doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

