

Oponentský posudek na habilitační práci RNDr. Lucie Brulíkové, PhD.

Autor: RNDr. Lucie Brulíková, PhD.

Název habilitační práce: *Development of novel antituberculosis agents*

Předložená habilitační práce je stručným shrnutím autorčiných prací v uvedené oblasti. Citované rukopisy se vztahují k období let 2018-2021. Soubor 7 prací má zcela jednoznačné hlavní zaměření na problematiku uvedenou v názvu habilitační práce, 5 z nich je výzkumně zaměřených.

V úvodní části předložené habilitační práce autorka podává stručný, ale výstižný přehled hlavních trendů a problémů týkajících se terapie TBC. Vzhledem k poměrně složité cestě antituberkulotik (zvláště těch podávaných orálně) z GIT do systémové cirkulace, dále proniknutí do oblasti plicních lézí a následně vniknutí do bakteriální buňky *Mycobacteria*, bych očekával alespoň stručný přehled prodrug přístupů dosud aplikovaných ve výzkumu antituberkulotik.

Druhá část je věnována inhibitorům mykobakteriální ATP synthasy, skupině léčiv která je po zavedení bedaquilinu do terapie ve středu pozornosti pracovišť zabývajících se touto problematikou. Tato část je do značné míry totožná s publikací v *Eur. J. Med. Chem.* (Appendix 1), kterou považuji za velice povedenou. Jedinou vadou, která unikla pozornosti recenzentů je chybný vzorec látky 9.

Třetí část se věnuje další oblasti výzkumu antituberkulotik, a to inhibitorům mykobakteriální metaloproteasy Zmp1. Experimentálně je popisována především skupina thiazolidindionů, která byla skupinou dr. Brulíkové detailně studována. Výsledkem byla syntéza a testování série derivátů, mezi nimiž bylo i několik látek s nadějnou aktivitou. Tady mám dotazy týkající se bezpečnosti těchto látek a také pravděpodobně chybného označení nejaktivnější látky první generace (viz Dotazy).

Čtvrtá část nazvaná „Phenotypic screening“ pokrývá v názvu vyjádřenou metodu testování léčiv v oblasti antituberkulotik. Skupina Dr. Brulíkové si pro screening vybrala několik knihoven, které pak byly testovány. Vybrané strukturní skupiny obvykle spojovaly struktury oblíbené v oblasti antimykobakteriální terapie, konkrétně pyrimidin, thiazolidindion a benzoxazol. Látky byly vesměs syntetizovány běžnými postupy kombinatoriální chemie, bez větších inovací.

V páté části „Conclusions and future perspectives“ je prezentován souhrn předkládané habilitační práce a jsou nastíněny možnosti budoucího směřování v této oblasti. S těmito závěry lze do značné míry souhlasit, i když jsou celkem pochopitelně pojaty poněkud optimisticky.

K následujícímu přehlednému Seznamu zkratk mám pouze poznámku, že u zkratky WHO by měl být World Health Organization s velkými počátečními písmeny a zkratka MIC je uvedena dvakrát.

Část 7 „References“ je výtečným zdrojem literatury a dle namátkové kontroly habilitantka vybrala vesměs nejrelevantnější dostupné zdroje.

Habilitační práce je psána anglicky, jejíž úroveň nejsem kompetentní hodnotit – kromě několika zjevných nedostatků a pochybností s použitím členů je dle mého názoru jazyková úroveň velmi dobrá. Přesto se občas vloudily do práce z češtiny pocházející překlepy jako je „fenyl“ (str. 32, 33) nebo „monochlor“ (str. 32). Práce je doprovázena řadou hezkých a výstižných obrázků, a to jak převzatých, tak originálních. Jen u obrázku krystalové struktury komplexu proteasy Zmp1 s jejím inhibitorem je díky volbě barvy obrázků značně nepřehledný. Formálně jsou na vysoké úrovni také chemické rovnice a schémata. Měl bych ale přece jen drobnou připomínku týkající se orientace jednotlivých vzorců analogických léčiv. Například na str. 14 na Obr. 1 jsou znázorněny struktury analogických látek sutezolidu, delpazolidu a TBI-223, přičemž každý vzorec má jinou orientaci. Podobně je to i u dvojic bedaquilin – TBAJ-876 a delamanid – pretomanid.

Ještě mám jednu poznámku týkající se používání výrazu „conjugate“ ve smyslu sloučeniny mající dvě strukturální podjednotky, typicky „thiazolidinedione-pyrimidine conjugate“. Vzhledem k tomu, že se daný termín v chemii nebo biochemii užívá v poněkud odlišných kontextech, bych raději volil termín jiný. Mne by se jevil lepší výraz „hybrid“, který habilitantka také několikrát použila.

Po obsahové stránce je habilitační práce sice stručná, ale splňuje dle mého názoru kritérium přínosu práce v daném oboru. Až na drobné jednotlivosti nemám výhrady ani k formálnímu zpracování ani k úrovni slovního vyjadřování (např. tvrzení na str. 10 „The development of resistance to *M. tuberculosis* ...“). Na str. 39 by mělo být „ α -bromoketones“ a ne „ α -bromoacetophenones“ - ty poskytují pouze látky **72**, kde $n = 0$. V rozsáhlejší práci se samozřejmě objeví i překlepy typu „pentilidene“ (str. 52),

Celkem má práce řadu kladů, mezi než řadím prohloubení znalostí v oblasti SAR antituberkulotik, hlavně ze skupiny squaramidů, ale také objasnění přesného mechanismu působení těchto látek (podjednotka α ATP synthasy). A pro budoucí výzkum je bezesporu důležité navázání spolupráce se skupinou na univerzitě v Antverpách.

I když jsem neměl k dispozici CV Dr. Brulíkové, z údajů na internetu je možné zjistit údaje o jejím pedagogickém působení, včetně spoluautorství skript (*Kapitoly z bioorganické chemie*). Z údajů v této habilitační práci pak je také zřejmé její vedení diplomových a disertačních prací. Habilitantka také působila jako recenzentka skript Radima Nencky *Základní principy vývoje nových léčiv* a zřejmě vyvíjela řadu dalších odborných aktivit.

Odborná úroveň a terminologie habilitační práce ukazuje autorčinu znalost dané problematiky. Na druhou stranu doložení pouhých pěti původních prací týkajících se tematiky habilitace pokládám i přes jejich kvalitu za hraniční k získání titulu docent, možná stálo za zvážení počkat na zveřejnění dalších dvou prací, podle autorky „prepared for publication“.

Vzhledem k tomu, že docent je titulem vědecko-pedagogickým, je logické, že je habilitantka také hlavní spoluautorkou zásadních přehledných článků v prestižních časopisech. To je důležité jednak kvůli prokázání širšího přehledu o studované problematice, ale je to také základem k osvědčení potenciálu dalšího pedagogického růstu. Podle mého názoru to splňuje především souhrnná práce *Small organic molecules targeting the energy metabolism of Mycobacterium tuberculosis* (Appendix 1).

Oponent si není vědom žádné skutečnosti, jež by bránila přijmout předloženou práci jako podklad habilitačního řízení. Vzhledem k výše uvedeným faktům považuji habilitační práci RNDr. Lucie Brulíkové, PhD. „*Development of novel antituberculosis agents*“ za odpovídající a doporučuji ji postoupit jako habilitační práci ve vědním oboru organická chemie k dalšímu řízení.

V Praze dne 1. července 2022

Doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.

Dotazy:

1. Na str. 13 zmiňujete mezi léčivy zkoumanými jako potenciální léčiva TBC pravastatin. Proč právě pravastatin, když je tento efekt v literatuře (viz například review: Tahir F, et al. (March 25, 2020) *Anti-tuberculous Effects of Statin Therapy: A Review of Literature*. *Cureus* 12(3): e7404) popisován u statinů obecně a pravastatin je z nich v léčbě hyperlipidemie užíván zřejmě nejméně?
2. Při výběru syntetických cílů využíváte počítačové vyhodnocování „druglikeness“ a konstatujete, že látky vyhovují Lipinskiho pravidlu 5. Je známo, že v poslední době je vyvíjena řada léčiv, která mu nevyhovují a přesto vhodnou formulací jsou jako léčiva vyvíjena či dokonce schválena. Zvláště u antituberkulotik jsem se domníval, že pro proniknutí do mykobakteriální buňky by byla spíše vhodná vyšší lipofilita. Nevyřazovali jste předem možné nadějně látky? Jaký je Váš názor?
3. Vaše deriváty thiazolidindionů jsou strukturně dost podobné antidiabetikům ze skupiny glitazonů fungujících přes PPAR γ receptory. Dosud zavedená léčiva pioglitazon, rosiglitazon a triglitazon ale mají poměrně problematické spektrum nežádoucích účinků, včetně závažných vlivů na CVS. V řadě zemí byly glitazony staženy z používání nebo bylo jejich užívání zásadně omezeno a celá skupina těchto léčiv je považována za „mrtvou“. Neobáváte se podobných vedlejších účinků i u vašich látek?
4. Na str. 47 označujete jako neaktivnější látku série „first generation of thiazolidinedione-hydroxamates“ látku **87a** s IC₅₀ 18 μ M. Podle struktury na str. 42 ale látky **87** jsou intermediáty bez hydroxamové skupiny a ani v citované práci (Appendix 3) není aktivita žádné takové látky uvedena (dle aktivity by se mohlo jednat o látku **2g**). Jak to tedy je?
5. Na str. 52 je u syntézy látek **107** adicí azidů na propargylderivát **106** uváděn nízký výtěžek (13-58 %). Co byl zbytek? Nebyl pozorován přesmyk na příslušný allenylderivát?