

OPONENTSKÝ POSUDEK

na habilitační práci

Autor práce: **RNDr. Lucie Brulíková, Ph.D.**

Název práce: **Development of novel antituberculosis agents**

Oponent: **Prof. Mgr. Marek Petřivalský, Dr.**

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

RNDr. Lucie Brulíková, Ph.D., předložila habilitační práci, která je komentovaným souborem tří přehledných a čtyř původních článků publikovaných v letech 2018 - 2021, které tvoří přílohu práce. Soubor prací společně s úvodním komentářem přesvědčivě dokumentují příslušnou úroveň a rozsah vědecké práce RNDr. Lucie Brulíkové, Ph.D.

Předložená habilitační práce je významným příspěvkem k vědeckému pokroku v oblasti vývoje a syntézy nových účinných sloučenin s antimikrobiálními účinky. Habilitační práce je celkově psána srozumitelně a přehledně. V první části habilitační práce jsou shrnuty základní informace o hlavním předmětu zájmu habilitantky, tj. tuberkulóze, jejím původci a aktuálně používaných terapeutických přístupech v klinické praxi. V práci je věnována pozornost aktuálním směrům ve vývoji nových léčiv a vakcín pro léčbu tuberkulózy. Jednotlivá výzkumná témata jsou poté podrobněji zpracována v samostatných kapitolách, provázaných odkazy na příložené publikace, případně na bakalářské, diplomové a disertační práce studentů z výzkumné skupiny vedené habilitantkou. První ucelená část se týká využití látek s inhibičním účinkem vůči mykobakteriální ATP syntase. Autorka se věnovala zejména sloučeninám odvozeným od skvaramidu připravených v její skupině a ve spolupráci se skupinou dr. Capoeny v Antverpách testování jejich vlastností a biologické aktivity. V rámci tohoto projektu se podařilo získat cenné poznatky o mechanismu inhibičního účinku skvaramidů a lokalizovat vazebné místo na struktuře mykobakteriální ATP syntasy. V další části práce se autorka zabývá designem a syntézou látek s možným inhibičním účinkem na faktor virulence mykobaktérií, protein Zmp1. V této oblasti skupina autorky úspěšně připravila a testovala několik řad derivátů thiazolidinedionu. V následující části práce jsou shrnuty výsledky autorky získané přístupem fenotypového skríníngu připravených knihoven nových sloučenin.

V závěru úvodní části práce je připojeno stručné shrnutí dosavadní práce autorky v rámci popsání projektů k pokroku výzkumu antimykobakteriálních léčiv. Zde jsem postrádal stručný výhled na budoucí směřování studované problematiky v kontextu aktuálních vědeckých projektů autorky.

Experimentální činnost RNDr. Lucie Brulíkové, Ph.D., prezentovaná v předložené habilitační práci a příložených publikacích, zahrnuje po metodické stránce širokou škálu metod organické syntézy, purifikace produktů a stanovení jejich parametrů. Jako velmi cennou součást projektů bych vyzdvihl multidisciplinární spolupráci při vývoji nových metod sledování

inhibice proteasy Zmp1, *in silico* predikce vazebných míst na cílových proteinech a rozsáhlého biologického testování ve spolupráci se skupinou dr. Capoeny v Antverpách. Kvalitu výsledků v příložených publikacích autorky potvrzuje fakt, že byly publikovány v renomovaných časopisech daného oboru.

K habilitační práci bych si dovolil vznést několik připomínek:

- ✓ Schéma „oxidativní fosforylace“ ve Fig. 3 na str. 19 (stejně jako na obrázcích Fig. 1 a Fig.3 v článku přiloženém jako Appendix 1) nesprávně naznačuje, že oxidovaná i redukovaná forma nízkomolekulárního přenašeč elektronů menachinonu (označené jako MK a MKH₂) se vyskytují v kompartmentech na obou stranách bakteriální membrány. Menachinon je lipofilní látka lokalizovaná v hydrofóbním prostředí membrány, tak jak je ostatně správně nakresleno ve zdrojovém schématu v citovaném článku Baldt et al. (ref. 15).
- ✓ V textu se objevuje formulace „... compound **38a** showed sensitivity against a bedaquiline resistant mutant, ...“ (str. 24, podobně i na str. 59) – správná formulace by měla znít „bedaquiline resistant mutant showed sensitivity to compound **38a** ...“
- ✓ Nepovažuji za vhodný způsob, kterým jsou v textu na různých místech srovnávány bez patřičných komentářů kvantitativní parametry inhibičních účinků testovaných látek (inhibiční konstanty K_i vs. parametry IC_{50} , resp. CC_{50}). Srovnání těchto hodnot je zavádějící zejména v případě testování inhibice na rekombinantních proteinech – zatímco K_i je konstantou, jejíž hodnota je dána afinitou pro daný pár inhibitor-protein, hodnota IC_{50} je zejména v případě kompetitivních inhibitorů závislá na koncentraci substrátu i koncentraci enzymu. Obdobně jsou ve většině případů v práci používány pro koncentrace testovaných látek molární koncentrace, v některých případech jsou však použity jednotky $\mu\text{g/ml}$ (deriváty pyrimidinu – str. 57).

K předložené práci si dovolím vznést několik dotazů:

- 1) Na str. 13 je mezi aktuálně testovanými antimykobakteriálními látkami zmíněn auranofin, v praxi dosud používaný mj. pro léčbu reumatoidní artritidy. U této látky jsou známy její inhibiční účinky na živočišné formy thioredoxinreduktas – jsou pro auranofin známy farmakologické cíle v mykobakteriálních buňkách?
- 2) Autorka uvádí využití tzv. Vitotox testu (modifikace Amesova testu, str. 30) pro testování možných mutagenních a genotoxických účinků látek. Na kolik je v aktuální době možno považovat použití genotoxických testů na bakteriálních kulturách za relevantní
- 3) Z popisu experimentů testování přeměny připravených látek enzymy transformace xenobiotik (str. 30) mi není zcela jasné uspořádání a interpretace výsledků. Autorka uvádí: „... when repeating the assay with human CP450 and UGT enzymes, the overall stability improved, with a remainder of 85 and 95 % of the parental compound after enzymatic exposure.“. Očekával bych, že stupeň přeměny substrátu (tj. v tomto případě testované sloučeniny) bude závislý na době působení enzymu jako katalyzátoru reakce.

- 4) Při zdůvodnění nižší účinnosti preparátů oproti očekávání autorka na str. 51 uvádí: „The nitro group is often considered a toxic moiety leading to mutagenicity and genotoxicity. However, it was proved that mycobacteria have an ability to deal with this problem, as is demonstrated by two FDA approved drugs (Delamanid and Pretomanid) comprising the nitro group in their structures.“. Je v případě mykobaktérií známo, jakým způsobem je nitroskupina xenobiotik deaktivována?

Závěrem lze konstatovat, že předložená habilitační práce odpovídá požadavkům § 72 odst. 2, písm. b), zákona č. 111, 1998 Sb. Autorka jednoznačně prokázala schopnost vědecké práce na úrovni docenta, z hlediska aktuálnosti studované problematiky, zvládnuté metodiky vědecké práce i interpretace získaných poznatků rozšiřujících poznání v oblasti vývoje a syntézy nových látek vykazujících antimikrobiální účinky. Habilitantka je erudovanou vědeckou pracovnící a její práce zapadá do širokého kontextu oboru organické chemie, ve kterém se uskutečňuje habilitační řízení.

Habilitační práci RNDr. Lucie Brulíkové, Ph.D. proto **doporučuji** k přijetí jako podkladu k udělení titulu docentky v oboru organická chemie.

V Olomouci dne 1. 8. 2022

Marek Petřivalský