

Posudek habilitační práce

Autor: PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.

Název habilitační práce: Návrh, příprava a hodnocení derivátů pyrazinamidu jako potenciálních antimykobakteriálních sloučenin

Oponent: Mgr. Radim Nencka, Ph.D.

Habilitační práce dr. Zitka je koncipována jako komentovaný přehled jeho dosavadních publikovaných výsledků zaměřených, jak již název práce napovídá, na deriváty pyrazinamidů jako látek s potenciálním využitím v terapii tuberkulózy.

V úvodní části práce se podrobně věnuje tuberkulóze (TB) jako onemocnění, které je v současné době neprávem upozaděno, a jejímu významnému podílu na morbiditě a mortalitě pacientů v lokálním i globálním měřítku. Je zde také zdůrazněn zvýšený výskyt rezistentních mykobakteriálních kmenů, které komplikují terapii zejména na území Ruska.

Je překvapivé, že přestože je pyrazinamid léčivem první linie proti TB a v aktivní praxi se používá již od 50. let minulého století, není přesně objasněn jeho mechanismus účinku. Tomuto tématu se autor věnuje v další rešeršní části, kde se snaží souhrnně představit jednotlivé potenciální mechanismy, kterými by mohlo toto léčivo antimykobakteriální účinek vykazovat. Mechanismus účinku může být v tomto případě jak nespecifický, způsobený narušením membránového potenciálu (což byla po dlouhá léta jedna z hlavních teorií), tak specifický, přičemž byla navržena celá řada možných molekulárních cílů, které by se na tomto účinku mohly podílet. Mezi nejpravděpodobnější molekulové cíle autor zařadil syntasů mastných kyselin (FAS I), trans-translaci, aspartát dekarboxylasu (PanD), chinolinát fosforybosyl transferasu (QAPRTasu), GpsI a ClpC1. Z mého pohledu je tato část úvodu klíčová, protože se domnívám, že pro následující racionální vývoj nových antituberkulotik, ať už založeném na derivátech pyrazinamidu nebo jejich funkčních analogiích získaných některou z forem „scaffold hoppingu“, je znalost a správná volba cílového proteinu nevyhnutelná.

Ve druhé části svého komentáře k přiloženým publikacím se autor zaobírá obecným přehledem syntetických přístupů k navrženým derivátům. Při syntéze cílových látek bylo v tomto případě většinou použito jednoduchých postupů (nejčastěji nukleofilních substitucí), které byly často již dříve popsány v použité literatuře na obdobných pyrazinových derivátech. Tyto reakce byly optimalizovány pro jednotlivé substráty a v předloženém textu je stručně diskutována také obtížnost těchto reakcí v různých polohách pyrazinového skeletu. Z chemického hlediska tedy nepřináší tato práce převratné inovace, ale vede k požadovaným výsledným látkám, což je pro medicínskou chemii v principu zásadní.

Autor také diskutuje použité antimykobakteriální testy a trnitou cestu, která vedla ke standardizaci *in vitro* biologického testu.

Podrobně pak také rozebírá vztah mezi strukturou a aktivitou jako kompilát informací získaných za svou bezmála desetiletou práci na tomto tématu. Z textu také vyplývá, že se autor rozhodl využívat moderních výpočetních přístupů, které by měly významným způsobem napomoci dalšímu vývoji nových látek odvozených od pyrazinamidu. Tento jeho záměr s povděkem oceňuji. Na

Univerzita Karlova	6451
Přijato: 22.08.2019 v 09:37:52	Odbor
Č.j.: UKFaF/245974/2019	Zprac.
Č.dop.:	
Listů: 1 Příloh: 0	
Druh: písemné	



druhé straně, jak sám uvádí, cituji: „...metody počítačového modelování nemohou samy o sobě vést k vývoji nových léčiv, *in silico* výsledky je třeba vždy potvrdit experimentálním měřením.“ Proto je zarážející, že své výpočty jen zřídka podkládá experimentálními daty. K tomuto tématu se váží některé mé dotazy (viz níže).

V závěru svého komentáře pak dr. Zitko shrnuje své představy o budoucím rozvoji tohoto tématu. Jak správně podotýká pyrazinamidové deriváty se v mnoha případech mohou chovat jako bioisostery purinového skeletu. To bylo již jednoznačně prokázáno u některých antivirotik, zejména u favipiraviru, 6-fluor-3-hydroxypyrazin-2-karboxamidu, klinicky používaného léčiva proti viru chřipky, které je *in vivo* aktivováno na nukleotidový derivát. Proto se domnívám, že i v případě dalších aplikací mohou tyto látky v tomto smyslu poskytnout zajímavé výsledky.

Přestože je práce poměrně rozsáhlá, obsahuje velice málo překlepů. Za všechny bych uvedl jen jeden příklad, který mi přišel spíše úsměvný. Schéma 3 obsahuje 2 chyby v celkových 5 chemických látkách.

K předkládané práci mám následující komentáře a dotazy:

1. Autor uvádí na straně 39, že aktivity u alkylderivátů jsou zřejmě podobné jako 5-alkylamino derivátů. K tomuto závěru dospěl, jak sám uvádí, „dlouhodobým pozorováním“. Mohl by tuto tezi nějakým jasnějším způsobem rozvést, případně uvést přehled látek, které byly testovány jak na Šulově půdě tak na Middlebrook bujónu?
2. Dr. Zitko věnoval ve své práci značnou pozornost dockingu látek do pyrazinamidázy jako stěžejního enzymu aktivujícího pyrazinamidové deriváty. Existuje nějaká studie, jak rychle se v reálu PZA hydrolyzuje? Jak významný je rozdíl rychlosti hydrolyzy PZA a jejich derivátů na POA a příslušné analogy? Je možné připravit nějaký jednoduchý test (např. HPLC-MS studii), která by byla schopna na tyto otázky odpovědět?
3. Látka 21 v příloze P7 a některé další deriváty vykazují aktivitu i proti jiným, většinou necitlivým kmenům mykobakterií, jak si tento fenomén vysvětlujete?

Po formální stránce práce splňuje všechny předpoklady pro habilitační řízení a dr. Zitko prokázal jednoznačně jak své pedagogické schopnosti, které pokládám za stěžejní, tak i odbornou znalost medicínální chemie a s tím spojenou publikační aktivitu. Předloženou práci proto doporučuji přijmout jako podklad pro habilitační řízení.

V Baltimoru 12. 5. 2019

Mgr. Radim Nencka, Ph.D.

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

Flemingovo nám. 2,

166 10 Praha 6

Telefon: +420 220 183 323

Email: nencka@uochb.cas.cz