



UNIVERZITA KARLOVA
Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové

Posudek na disertační práci

Název práce: **Syntéza derivátů purinu s potenciální antimykobakteriální aktivitou**

Autor: **Ing. Vladimír Finger**, Katedra organické a bioorganické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Oponent: **prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.**, Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Ing. Vladimír Finger předložil disertační práci charakteru monografie v doktorském studijním programu Bioorganická chemie. Práce je členěná do kapitol (úvod, cíle, výsledky a diskuse, závěr, experimentální část, seznam publikací, seznam citací), má 107 stran, 3 přílohy (2x EJMC z r.2023, udělený český patent z r. 2023). Je opatřena seznamem zkratk. Rovněž obsáhly je seznam bibliografických citací (celkem 86 odkazů).

Předložená disertační práce v úvodní části poskytuje komplexní přehled o tuberkulóze (TB) jako infekčním onemocnění způsobeném bakterií *Mycobacterium tuberculosis*. Autor nejprve stručně shrnuje epidemiologická data o TB získaná z každoročních reportů Světové zdravotnické organizace a představuje struktury nejdůležitějších léčiv využívaných v současné terapii TB. Následně se zaměřuje na přehled antituberkulotik a uvádí sloučeniny, které jsou v současné době ve druhé/třetí fázi klinického testování. Uvádí sloučeniny, které cílí na enzym dekaprenylfosforyl- β -D-ribóza-2'-epimerasu (DprE1), který hraje významnou roli v syntéze mykobakteriální stěny.

Práce představuje výsledky výzkumu týkající se syntézy a antimykobakteriálního hodnocení potenciálních purinových a pyrrolo[3,2-d]pyrimidinových antituberkulotik. Autor identifikoval derivát **10** jako sloučeninu s průměrnou anti-TB účinností a studuje vztah mezi strukturou a účinkem (SAR) v této sérii sloučenin. Důkladně zkoumá antimykobakteriální aktivitu vybraných sloučenin proti různým kmenům Mtb, včetně multilékově rezistentních kmenů a extenzivně rezistentních kmenů. Dále hodnotí antibakteriální aktivitu, mikrosomální stabilitu, stabilitu v plazmě, cytotoxicitu a rozpustnost sloučenin ve vodě.

Za významný výstup práce lze považovat identifikaci tří neúčinnějších derivátů v purinové sérii s označením 53, 61 a 72, které vykazují podobnou anti-TB aktivitu. Tyto poznatky mají potenciál posílit současný výzkum v oblasti vývoje nových léčiv proti tuberkulóze a přispět k boji proti této závažné infekci. Celkově lze konstatovat, že disertační práce přináší důležité

poznatky v oboru farmakochemie antituberkulotik, a poskytuje základ pro další pokračování výzkumu v této oblasti.

Díky provedenému výzkumu byl identifikován mechanismus antimykobakteriálního účinku purinové série sloučenin, který spočívá v inhibici enzymu DprE1. Tento mechanismus byl důkladně analyzován pomocí genové sekvenace kmenů Mtb rezistentních k dané sloučenině 10. Následně byl tento výsledek potvrzen sledováním osudu radioaktivně značeného substrátu ([C14]acetát) v mykobakteriích za přítomnosti a nepřítomnosti látky 10.

Tato kombinace metod umožnila přesné určení, že antimykobakteriální účinek purinové série sloučenin spočívá v inhibici enzymu DprE1. Tento poznatek má zásadní význam pro porozumění mechanismu účinku těchto sloučenin a může být klíčovým při dalším návrhu a optimalizaci léčiv proti tuberkulóze. Tyto poznatky přispívají k rozvoji nových terapeutických přístupů v boji proti TB a posilují naše znalosti o cílových mechanismech účinku léčiv v této oblasti. Musím ocenit pokus o formulaci SAR na s. 42.

Připravené sloučeniny byly podrobeny i skríninku na antibakteriální aktivitu, u 8 sloučenin (s. 55) byla zjištěna zajímavá aktivita proti G+ bakteriím.

V pyrrolo[3,2-d]pyrimidinové („deazapuriny“) sérii byly identifikovány dva vysoce účinné deriváty s označením **151** a **152**, které vykazují shodnou anti-TB aktivitu nejen proti lékově citlivému kmenu Mtb, ale také proti MDR/XDR-TB kmenům. Oba deriváty dosahují MIC₉₉ proti Mtb (0,06 μM), což naznačuje jejich potenciál proti tuberkulóze. Dále byla u těchto derivátů (slouč. 151 a 152) stanovena jejich cytotoxicita, solubilita a mikrosomální stabilita, což jsou klíčové faktory pro další vývoj léčiv. Tato hodnocení poskytují důležité informace o bezpečnosti a farmakokinetických vlastnostech těchto sloučenin. Současně byl studován mechanismus účinku těchto derivátů, což je klíčové pro optimalizaci designu. Vzhledem k významným výsledkům dosaženým s těmito deriváty, byl navržen nový pyrimidinový typ potenciálních antituberkulotik, který je v současné době na pracovišti studován. Tyto poznatky představují významný přínos v oblasti vývoje léčiv proti tuberkulóze a mohou vést k dalšímu rozvoji účinných terapeutických strategií pro léčbu této závažné infekční choroby.

Experimentální část (str. 60-97) přináší kompletní syntetické a analytické údaje o nově syntetizovaných sloučeninách. Tato kapitola je zpracována velice pečlivě, vzhledem k velkému počtu sloučenin jsem pouze namátkou kontroloval originalitu nově připravených sloučenin a některá data, nezjistil jsem žádné chyby. K disertační práci jsou připojeny již zmíněné 3 přílohy, publikační výstupy z r. 2023.

K předložené práci mám tyto dotazy a připomínky, které v žádném případě nesnižují vysokou kvalitu předložené práce:

1. Mám výtku ke členění kapitol, v minulosti bývalo dobrým zvykem uvést i perspektivy, výhledy, možnosti pokračování v této skupině sloučenin, to zde postrádám, ačkoli tuším velký potenciál.
2. autor v úvodu zmiňuje některé příčiny vzniku tuberkulózy, mezi ně patří ve vyspělých státech tzv. iatrogenní imunosuprese. Může autor uvést příklad konkrétních léčiv, jejichž používání může zvýšit riziko výskytu tuberkulózy?

3. na str. 13 uvádíte letopočty, kdy byla zavedena antituberkulotika první linie, situace je však trochu složitější, PZA byl objeven a patentován 1936, ale jako antituberkulotikum byl zaveden až v r. 1952, zatímco Vy uvádíte rok 1959 (což je údaj z FDA, tedy uvedení do praxe v USA), v Evropě byla tato léčiva často zaváděna do klinické praxe o několik let dříve. Další nepřesné, neúplné údaje uvádíte na obr. 3. Některá léčiva v USA totiž nebyla zavedena vůbec, nebo až po desítkách let od jejich zavedení v Evropě, popř. v jiných částech světa (cyklosporin 50. léta, terizidon 70. léta, ethionamid, protionamid 70. léta 20. století). Můj dotaz zní, jaké další informační zdroje týkající se chemických léčiv je třeba v tomto případě použít, když surfování na internetu selže?
4. mám dotaz, zda Vaše nejúčinnější sloučeniny odpovídají Lipinského pravidlu pěti, a zda jste tento parametr při projektování sloučenin brali v potaz
5. zdali jste se zabývali vztahem mezi bazicitou a antimykobakteriálním účinkem v sérii aminoderivátů (51-65, „deazapuriny“)
6. jak byste vysvětlil rozdíl v účinnosti, resp. ve ztrátě účinnosti u derivátů 10 a 83
7. moje otázka je spíše námět do diskuse, jaký má praktický význam podávat český patent v r. 2023.
8. práce obsahuje minimum překlepů a nepřesností (chybná transkripce klofaziminu z angličtiny, či na str. 25 chybí spojovník „naftalen 2-ylmethyl“)

Předložená práce **splňuje po formální i obsahové stránce všechny požadavky** na tento typ kvalifikační práce kladené. Zadané cíle byly splněny beze zbytku, **zvolené metody jsou v souladu se stavem poznání v oboru bioorganická chemie**. Publikované práce popisují **originální sloučeniny**, u některých z nich byla zjištěna vysoká antimikrobní aktivita srovnatelná s používanými léčivy. Autor prokázal schopnost samostatného vědeckého myšlení a publikování dosažených výsledků v renomovaných časopisech. Práce je **významným příspěvkem pro další rozvoj oboru**.

Disertační práci hodnotím výsledkem **„prospěl“**. Zároveň doporučuji předloženou disertační práci přijmout k obhajobě a po úspěšné obhajobě práce Ing. Vladimíru Fingerovi **udělit** vědeckou hodnost Ph.D.

V Hradci Králové 7. března 2024

prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.