Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

| | |
|---|---|
| Název rigorózní práce | **Vliv derivátů benzoxazindionu na vybrané mykobakteriální enzymy** |
| Uchazeč | **Mgr. Michaela Švidrnochová** |
| Oponent | **PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.,**<br>**Katedra organické a bioorganické chemie,**<br>**Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové** |

**Posudek oponenta rigorózní práce**

Rigorózní práce Mgr. Michaely Švidrnochové *Vliv derivátů benzoxazindionu na vybrané mykobakteriální enzymy* volně navazuje na její diplomovou práci. Vzhledem ke globálnímu problému s rezistentními formami tuberkulózy a atypickými mykobakteriózami se jedná o téma závažné a přínosné.

Experimentální práce (98 stran) je členěna klasicky – úvod, teoretická část (stručné pojednání o *M. tuberculosis* a problematice tuberkulózy, větší prostor je věnován novým léčivům a sloučeninám ve vývoji, následuje charakteristika vybraných mykobakteriálních enzymů a jejich inhibitorů), cíl práce, experimentální část (materiál a pomůcky, metodická část), výsledky (graficky velmi dobře prezentované pomocí tabulek a grafů), diskuse, závěr a použitá literatura, kde oceňuji velký počet dobře zvolených zdrojů vč. cizojazyčných, snad jen bych se u léčby tuberkulózy neodvolával na skoro 20 let starou publikaci (Pokorný et al.), ale lépe na aktuální dokumenty WHO, ze kterých by bylo výhodné vyzískat i čerstvá statistická data. Velice pěkně jsou sepsány zejména problematika mykobakteriálních enzymů, prakticky celá experimentální část a výsledky.

Rigorozantka studovala substituované benzoxazindiony, které byly již dříve publikovány konzultantkou dr. Novotnou (zejm. práce Petrlíková et al., Bioorg. Med. Chem. 2010, 18, 8178 a Waisser et al., Eur. J. Med. Chem. 2010, 45, 2719). Domnívám se, že tyto články by měly být rozhodně v rigorózní práci zmíněny a citovány, uvítal bych i stručnou zmínku o syntéze zkoumaných molekul a zejména pak konkrétní hodnoty MIC vůči jednotlivým kmenům mykobakterií – vše na základě těchto uvedených prací.

Práce byla sepsána již dříve, odevzdána až v letošním roce. Tímto časovým posunem došlo ke vzniku jistých nesrovnalostí – změna názvu univerzity (už bez "v Praze") i katedry, kde byly zkoumané deriváty připraveny, pretomanid (PA-824) je už ve III. fázi klinického hodnocení apod.

K práci mám tyto další připomínky a poznámky:

- práce obsahuje typografické chyby (předložky na konci řádku, chybějící mezera po tečce apod.), překlepy (zmíním zejména My**k**obakterium i to, že není vždy psáno kurzivou, podobně názvy genů; chyby typu "glukokortiokoidů" aj.), pravopisné chyby včetně interpunkce, které ale v důsledku (kromě části diskuse) příliš neruší, občas se vyskytují ne zcela přesné formulace (např. str. 12: "Primární tuberkulóza přestavuje první kontakt hostitele s mykobakteriální infekcí,...", str. 13 "TMC vykazuje silnou aktivitu jak proti rezistentním, tak i na antituberkulotika citlivá *M. tuberculosis*." aj.), nejednotnosti v literatuře apod.,
- mrzí mne chyby v chemickém názvosloví (benzyl místo fenyl, obecné názvy na str. 34 nekorelují s následujícími tabulkami, anglikanismy, chybný název substrátu pro InhA, „glyoxylátfenylhydrazon" apod.),
- nedostatky se vyskytují i v obrázcích (popis obr. 1 není zcela jasný a neodpovídá zcela originálu, na obr. 9 není thioridazin, ale jeho kation, obr. 10 není moxifloxacin – R by muselo být methoxy, u obr. 17 část chybí),
- v abstraktu se operuje s nezadefinovanými zkratkami, doporučoval bych ho u inhibičních aktivit doplnit i o vybrané konkrétní zjištěné hodnoty,
- ad nová antituberkulotika: bedaquiline se do češtiny transkribuje jako bedachilin; zajímalo by mne, podle jakého klíče byla volena potenciální antituberkulotika do úvodu – většinou se jedná o nové chemické entity, u chinolonů a fenothiazinů o repurposing; osobně bych benzoxazindiony vyčlenil do zvláštní kapitoly, neboť míra jejich „prozkoumání" je v porovnání s předešlými molekulami (zatím) menší,
- pojednání o syntéze mykolových kyselin by bylo logicky vhodnější předřadit před stať o InhA, kde bych uvítal i vzorce isoniazidu a triklosanu, zejména pokud jsou velmi správně zmíněny jeho deriváty (obr. 15),
- u dodavatelů je zvykem uvádět i místa a státy,
- reakce popisované u testování inhibice isocitrát lyasy by bylo vhodné doprovodit reakčním schématem (podobně jako je tomu u jiných enzymů),
- z práce nevyplývá, proč byl k testování aktivity vůči FtsZ pomocí rozptylu světla vybrán právě 3-(4-*terc*-butylfenyl)-7-methyl-4-thioxo-1,3-benzoxazin-2(3*H*)-on, podobně nebyly vůči InhA metodou DSF testovány všechny 3-benzyl deriváty či 3-fenyl deriváty vůči DHFR – proč?
- názvy kapitol v části Výsledky by byly výstižnější v podobě „Výsledky měření inhibice enzymu XY",

- str. 62 – methotrexát slouží jako pozitivní (nikoli negativní) kontrola.

K obhajobě vznáším tyto doplňující dotazy:
1) V práci se vyskytují pojmy MDR-TB a XDR-TB – mohla byste, prosím, jasně shrnout definice obou těchto forem tuberkulózy (a také TDR-TB)?
2) Zajímalo by mne, zda se opravdu smíšením kyseliny octové a vody v udaných poměrech (str. 39) připraví 10% (m/m) kyselina octová a podobně 0,25% roztok Coomassie Blue v 10% kyselině octové či na str. 52 substrát v požadované koncentraci (2 mM) pro měření inhibice isocitrát lyasy?
3) V práci reportujete hodnoty $T_m$. Lze jednoznačně říci, zda inhibitory enzymů vedou k jejímu snížení, nebo zvýšení?
4) Lze signifikantní antimykobakteriální aktivitu zkoumaných sloučenin přisoudit inhibici některého ze zkoumaných enzymů? Pokud ano, kterého?

Závěrem konstatuji, že se v rámci řešení práce podařilo zcela dosáhnout stanovených cílů, studentka odvedla odpovídající objem poctivé experimentální práce. I přes výše uvedené připomínky proto předloženou rigorózní práci hodnotím pozitivně a doporučuji k obhajobě, neboť odpovídá požadavkům kladeným na daný typ práce. Získané výsledky mají potenciál být využity v další vědecké práci.

V Hradci Králové dne 27. 1. 2017