



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

500 05 Hradec Králové, Heyrovského 1203, Česká republika, <http://www.faf.cuni.cz>
tel. +420495067111, fax +420495518002

Posudek na disertační práci Mgr. Ondřeje Holase

Vztah mezi strukturou a účinností potenciálních modulátorů acetylcholinesterasy

Oponent: **Doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.**, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,
Univerzita Karlova v Praze

Práce Mgr. Ondřeje Holase je prezentována jako komentovaný soubor publikovaných prací (přiloženy na konci dis. práce) na téma modulace účinnosti acetylcholinesterasy. Práce obsahuje přehled současného stavu poznání v oblasti acetylcholinu, acetylcholinesterasy a jejích inhibitorů včetně nervově paralytických látek. Vzhledem k náplni práce doktoranda pak logicky následuje popis metod stanovení aktivity cholinesteras. Po cíli práce, jež definuje dvě základní oblasti, jimž se autor ve svém výzkumu věnoval, následuje komentář k jednotlivým pracím. Zde bych uvítal možná poněkud jinou formu zápisu spíše sumarizující všechny výsledky dohromady s vyústěním k celkovým závěrům než pouze strohý několikařádkový popis každé jednotlivé práce zvlášť. Výsledky vědecké práce dávají tušit systematické sledování závislostí mezi strukturou nově syntetizovaných látek a jejich aktivitou buď na reaktivaci OFI-inhibovanou acetylcholinesterasou nebo jako inhibitorů acetylcholinesterasy. Díky rozsáhlé sérii látek bylo možno vyvodit závěry, které do budoucna jistě napomohou racionálnějšímu návrhu nových látek s potřebnými vlastnostmi. Jako taková je proto práce významným přínosem k výzkumu reaktivátorů a inhibitorů AChE.

Doktorand je autorem nebo spoluautorem celkem 24 vědeckých článků a dvou kapitol v knize. Z toho 5 prací vzniklo ještě v rámci diplomové práce. Dle cíle práce a úvodu „komentáře k dosaženým výsledkům“ vyplývá, že autor se zabýval zejména stanovováním aktivity acetylcholinesteras. Vzhledem k tomu, že doktorand je prvním autorem celkem u tří prací (z toho dvě s IF okolo 0,9) splňuje podmínky pro obhajobu disertační práce. Očekával bych ale v komentáři rozsáhlejší diskusi zaměřenou právě na tyto práce, kde je doktorand prvním autorem (např. příloha 7 je diskutována na pouhých šesti, příloha 10 na devíti a příloha 1 na desíti řádcích), a tím pádem má na nich zřejmě výraznější podíl.

K práci mám pár následujících poznámek a komentářů:

- s. 8 – cholin není bazický alkohol.
- V úvodní části práce mi výrazně chybí alespoň schématický náčrt acetylcholinesterasy s popisem jednotlivých aktivních míst, která jsou v textu diskutována. Není tak moc jasné, kde se nachází a jak spolu případně souvisí např. periferní anionické místo a α -anionické

místo a zda se náhodou nejedná o to samé. Výrazně by to usnadnilo orientaci čtenáře v textu.

- Chybí vysvětlení, co to jsou pseudokatalytické scavangery OFI (s. 34).
- Pyridostigmin, i přestože je „pouze“ monokvarterní, nepřechází přes HEB (s. 25), ale biskvarterní reaktivátory zřejmě ano. Lze nějakým způsobem objasnit tuto nesrovnalost v tvrzeních?
- Z dat reaktivace v příloze 5 pro tabun je zřejmé, že všechny účinné látky měly v poloze 4 v blízkosti jádra skupinu C=O nebo podobnou, která je schopná tvořit vodíkové můstky. Neprováděli jste dockovací studie i s těmito látkami, zda tam není nějaká důležitá interakce s AChE? Zřejmě bych v této práci nepoužíval hromadný termín „hydrofilní substituenty“ u účinných látek pro tabun, protože např. COOEt rozhodně hydrofilní substituent není.
- V komentáři k příloze 18 uvádíte, že zavedení *t*Bu mělo za následek nárůst inhibiční aktivity. Všechny látky v této studii měly ale *t*Bu substituent a mají IC₅₀ v rozsahu 4-5 řádů! Oproti čemu je teda uvažován ten nárůst a u kterých látek?

Náměty do diskuse

- Existují nějaké podobné strukturní rysy, podle kterých se NPL dělí na tzv. G a V látky? Existují i další NPL s písmenným označením a podobnými strukturními rysy?
- V práci mě zarazil jeden fakt. Asoxim se v ČR používá jako reaktivátor volby. Lze zjistit, z jakého racionálního důvodu našel u nás toto uplatnění, když podle tabulky 2 (s. 23) se evidentně jedná o nejméně účinnou látku jak pro tabun, tak pro OF pesticidy? Existují i další země, které mají tolik odvahy (nebo tolik vojáků) a doporučují ji jako lék volby?
- Z dockovacích studií (např. obr. 5 v příloze 9) je vidět, že aktivní místo, které je inhibované tabunem je zanořené hluboko do AChE a o reaktivaci se proto bude „starat“ pouze ta pyridiniová část reaktivátoru, která nese oximovou skupinu. Zbytek molekuly pak bude spíše „upevňovat“ reaktivátor v enzymu. Rozdíly mezi AChE inhibovanou tabunem nebo pesticidy se proto projeví pouze v aktivním místě na Ser203 (a nejbližším okolí) a zbytek enzymu bude stále stejný, tím pádem lze očekávat i podobné interakce. Nedá se proto očekávat, že vztahy mezi schopností reaktivovat AChE inhibovanou pesticidy budou snadno přenositelné i na tabun (případně jiné NPL) pouze s určitým „koeficientem snížení aktivity“ díky silnější vazbě NPL?

Tato práce vyhovuje podmínkám kladeným na disertační práce, a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě a autorovi udělena vědecká hodnost Ph.D.