



UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

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

---

## Posudek na disertační práci Mgr. Lukáše Hrocha

### Inhibitors of mitochondrial enzymes as potential therapeutics for Alzheimer's disease

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

Předložená práce Mgr. Lukáše Hrocha je psána v angličtině a jedná se o souhrn dvou publikovaných vědeckých prací doplněný o diskusi a experimentální údaje pro dalších několik sérií látek, jejichž výsledky dosud ještě nebyly uveřejněny a zřejmě čekají na finalizaci. Předkladatel práce v úvodní části velmi přehledně a čtivě uvádí čitatele do problematiky Alzheimerovy nemoci, její léčby a zejména se pak zaměřuje na předpokládané mechanismy jejího vzniku se zaměřením na tvorbu amyloidních plaků. Významná část úvodu je logicky věnována také enzymu ABAD (amyloid  $\beta$ -binding alcohol dehydrogenase), který byl předmětem studia. Na tomto místě musím velmi ocenit jak jazykovou nadanost, tak rešeršní schopnost autora, protože tuto úvodní část považuji za zcela excelentní. Student je navíc prvním autorem rozsáhlé rešeršní publikace na téma benzothiazolů (v *Curr. Med. Chem.*), což jen dokresluje jeho schopnosti v této oblasti.

V rámci své experimentální práce se předkladatel věnoval syntéze několika sérií látek, jejichž základem bylo zejména benzothiazolové a indolové jádro. Vhodnými obměnami hledal vztahy mezi strukturou a inhibicí enzymu ABAD, který hraje zřejmě významnou roli při vzniku Alzheimerovy demence. Identifikoval několik strukturních rysů, které vedly k významné inhibici tohoto enzymu, u některých látek byly stanoveny i jejich toxicity, případně inhibice dalších enzymů, např. MAO-A, MAO-B. Předložené výsledky jasně dokumentují autorovy kvality v oblasti chemické syntézy i *in vitro* hodnocení enzymatické aktivity a cytotoxicit (dle kapitoly 5.3. autor spolupracoval i na těchto experimentech).

Z hlediska publikačního je Mgr. Lukáš Hroch prvním autorem tří experimentálních prací (z toho dvě diskutovány v disertační práci) a jedné práce rešeršní, dále spoluautorem dalších čtyř publikací, všechny v časopisech s IF. Toto považuji za velmi dobrý publikační výstup na PGS studenta. Považuji to za plně dostačující důkaz vysoké odborné úrovně kandidáta a předloženou disertační práci proto mohu plně doporučit k obhajobě.

*K práci mám také pár následujících dotazů:*

- V rámci hodnocení inhibice enzymů MAO byl použit amfetamin jako referenční látka. Proč zrovna amfetamin, když inhibice enzymu MAO lze asi lépe hodnotit ve vztahu ke klinicky

používaným inhibitorům (selegilin, rasagilin, moklobemid), případně ve vztahu k ladostigilu, který byl použit jako základ pro návrh syntetizovaných látek (Obr. 15, str. 39)? Navíc manipulace s amfetaminem určitě představuje problém z hlediska zákona o návykových látkách.

- Jak vidíte potenciální použitelnost Vámi připravených látek s ohledem na jejich toxicitu, která se zdá být ve většině uvedených případů prakticky na stejné nebo velice podobné koncentrační úrovni jako inhibice enzymu ABAD?
- Jako ideální pro inhibici ABAD byla v mnoha případech zjištěna substituce připojeného benzenového jádra 3-Cl, 4-OH. Navíc z několika tabulek je zřejmé, že zavedením dalších/jiných elektron-odtahujících substituentů do *ortho* polohy k 4-OH vedlo k zachování nebo dokonce i zvýšení inhibice ABAD. Jeho methylace, přesun do jiné polohy nebo *ortho* substituce spíše donorovými substituenty v řadě případů příliš účinná nebyla. Může právě zvýšená kyselost toho hydroxyly být důvodem k silnější vazbě na ABAD a silnější inhibici? Lze najít nějakou důležitou interakci v rámci molekulového modelování mezi tímto hydroxylem (a potažmo jeho kyselostí) a aktivním místem enzymu ABAD?
- Z hlediska využitelnosti pro potenciální léčbu Alzheimerovy demence by zřejmě mělo větší význam sledovat inhibici interakce A $\beta$ -ABAD než samotnou inhibici enzymu ABAD, který má řadu i fyziologických rolí (viz kapitola 2.10.6, str. 34). Neuvažovali jste o zavedení spíše této metodiky na studium dalšího potenciálu Vámi připravených látek?

V Hradci Králové, dne 28.7.2017

Doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.