

OPONENTSKÝ POSUDEK DOKTORSKÉ DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce: Design, příprava a hodnocení malých molekul pro neurodegenerativní onemocnění

Autor práce: Mgr. Žofia Chrienová

Studijní program: P0512D130007 (Toxikologie)

Pracoviště: Katedra chemie, PřF, Univerzita Hradec Králové

Vedoucí práce: Prof. Ing. Kamil Kuča, Ph.D.

Autor posudku: Doc. Mgr. Zbyněk Heger, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá návrhem nových nízkomolekulárních terapeutik využitelných pro léčbu Alzheimerovy choroby (dále jen AD). V rámci práce byla využita strategie multi-target-directed ligandů, kterou byla navržena série derivátů takrinu s multiinhibiční aktivitou (inhibice cholinesteráz, glutamátové excitotoxicity, agregace amyloidů a monoaminoxidáz). Funkčnost připravených molekul pak byla testována širokým spektrem metod, a to jak na *in vitro*, tak *in vivo* úrovni.

Aktuálnost tématu

Práce směřuje do oblasti přípravy nových terapeutických látek s potenciálním senolytickým/senomorfním účinkem. S ohledem na stárnutí populace a zvyšující se průměrný věk dožití jsou přístupy pro zvyšování kvality života nejen seniorů velmi důležité. S rostoucí prevalencí AD roste také socio-ekonomická zátěž, kterou AD způsobuje. Terapeutika schopná léčit či inhibovat neurodegenerativní onemocnění jsou tak velmi aktuálním výzkumným tématem.

Vlastní práce

Disertační práce je sepsána v anglickém jazyce a je koncipována jako diskutovaný souhrn komentující publikace doktorandky [tři přehledové články (dva přijaté, jeden odeslaný), z toho dva prvoautorské a pět experimentálních publikací (všechny publikované), z toho tři prvoautorské] se souhrnným IF 52.01. Participace doktorandky na každé práci je

uvedena. Předložená práce je sepsána na 256 stranách včetně příloh, obsahuje sedm obrázků, sedm schémat a dvě tabulky (nejsou zahrnuty obrázky/tabulky v samotných přiložených publikacích) a má členění obvyklé pro tento typ závěrečné práce.

V kapitole Úvod (*Introduction*) popisuje autorka zaměření její práce a shrnuje logický postup práce na vývoji nízkomolekulárních látek, který byl zpočátku založený na cholinergní hypotéze vzniku AD a následně modulován směrem inhibice specifických molekulárních drah důležitých pro rozvoj AD, specificky pak signální kaskádu mTOR (mTOR-řízenou fosforylaci p70-S6K).

V navazující kapitole Teoretického přehledu (*Theoretical review*) se autorka dále věnuje teorii fyziologie stárnutí a různých molekulárním/biochemickým procesům (primární, antagonistické a integrativní), které lze považovat za hlavní znaky stárnutí. V další části se autorka zaměřuje již konkrétně na popis funkce AMPK, SIRT1 a mTOR kaskád. Přehled pak obsahuje souhrnný popis onemocnění spojených se stárnutím, přičemž detailní popis je logicky věnován AD, která je v textu popsána velmi přehledně a detailně. Následující část textu je již pak věnována terapeutickým přístupům využívaným v managementu AD s detailnějším popisem rapamycinu a následných derivátů pro inhibici mTOR signálování. Kapitola lze považovat za velmi zdařilou a erudovanou část práce, která se opírá výhradně o zahraniční zdroje, přičemž lze dodat, že značný počet literárních zdrojů svědčí o svědomitém přístupu autorky ke psaní práce. Kapitola poskytuje logický teoretický základ pro následující experimentální kapitoly.

Metodická/výsledková část

V další části práce (*Experimental part*) jsou na dvaceti stranách textu popsány výsledky získané při práci s deriváty takrinu (kapitoly 1-3) a alosterickými inhibitory mTOR (kapitoly 4-5). Kapitoly přehledně popisují hypotézu pro design testovaných molekul, jejich syntézu a výsledky z biologického testování (*in vitro*, v některých případech i *in vivo*). Hodnocení výsledkové části textu je výrazně usnadněno skutečností, že jako celek vychází z již publikovaných prací, které prošly recenzními řízeními v renomovaných časopisech.

Diskuse

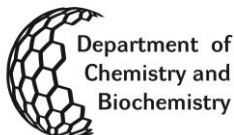
Kapitola Diskuse (*Discussion*) se v ucelené a logické formě zabývá shrnutím získaných dat a komparací prezentovaných výsledků s dostupnými literárními zdroji. Důležitou součástí diskuse je i zamyšlení nad získanými daty návrhy a doporučení pro budoucí follow-up studie, které by mohly připravené molekuly využít jako templáty pro další design pokročilých terapeutik. Celkově lze říct, že tato kapitola je velmi zdařile a čtivě sepsaná a prezentuje celou řadu zajímavých a unikátních výsledků přínosných pro obor.

Závěr a význam výsledků pro praxi a rozvoj vědy

V Závěru (*Conclusion*) autorka sumarizuje získaná data. Závěr také obsahuje výhled do budoucna, kdy autorka píše, že další kroky povedou k další práci s vybranými inhibitory mTOR a také k designu nových inhibitorů této signální kaskády. V obecné rovině je pak práce zakončena konstatováním, že výzkum v oblasti AD bude vyžadovat také hledání nových terapeutických cílů, s čímž nelze než souhlasit.

Připomínky a dotazy

- 1) Oceňuji, že práce obsahuje jen velmi malé množství překlepů a typografických chyb (např. **dendric tree** na str. 50 by měl být **dendritic tree, etc.**), což svědčí o značné pečlivosti doktorandky.
- 2) Častým problémem terapeutik pro onemocnění spojená s mozkiem je nízká biodostupnost a neschopnost transcytózy přes hematoencefalickou bariéru. Můžete shrnout přístupy, které lze využít pro zlepšení těchto vlastností?
- 3) Můžete jednoduše popsat metodiku PAMPA? Znáte i jiné in vitro metody pro studium prostupnosti látek přes hematoencefalickou bariéru?
- 4) V souvislosti s AD je v posledních letech hojně diskutována terapie využívající monoklonální protilátky. Můžete sumarizovat její výhody/nevýhody v porovnání s nízkomolekulárními látkami?



5) Jaký je Váš názor na využití připravených látek v kombinační terapii? Lze předpokládat, že by simultánní inhibice různých cílů mohla mít vyšší účinek při inhibici neurodegenerativních onemocnění?

Závěrem je mi potěšením konstatovat, že doktorská disertační práce Mgr. Žofie Chrienové s názvem „*Design, příprava a hodnocení malých molekul pro neurodegenerativní onemocnění*“ splnila definované cíle a celkově lze disertační práci hodnotit jako vědecké dílo, které je z formálního i věcného hlediska pečlivě zpracováno na vysoké vědecké úrovni.

Na základě celkového hodnocení disertační práce **mohu doporučit přijmout ji k obhajobě** a po její úspěšné obhajobě navrhuji udělit autorce titul „*philosophiae doctor*“ Ph.D.

V Brně dne 29. 12. 2023

Doc. Mgr. Zbyněk Heger, Ph.D.

Zbynek Heger, PhD
Associate Professor
Deputy Head of Department of Chemistry and Biochemistry
Mendel University in Brno
Phone: +420 545 133 350
Email: heger@mendelu.cz
<http://ucb.af.mendelu.cz/>

