

## Oponentský posudek

doktorské disertační práce Mgr. Veroniky Hrabcové

### Vývoj nových insekticidů založených na inhibici cholinesteras

Oponovaná doktorská disertace byla vypracována na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové, jako kvalifikační práce k získání titulu PhD. Deklarovaným cílem této práce je zpracovat rešeršně současné poznatky o malárii a vyvinout nové typy insekticidů vhodných pro boj s přenašečem malárie, vyvinout metodu pro získání hmyzí acetylcholinesterasy (AChE) a metodu rekombinační produkce AChE1 z komára *Anopheles gambiae*. Na takto získaných hmyzích enzimech pak otestovat inhibitory AChE z interní databáze sloučenin a výsledky porovnat s účinky na hmyzí AChE a vyhodnotit jejich selektivitu. To vše bylo splněno, ale jen málo z toho se lze dovědět z názvu práce. Domnívám se, že název diplomové práce měl být volen tak, aby lépe vystihoval její obsah. Nicméně, je to nedostatek pouze formální.

Samotná disertační práce je pojata jako kombinace experimentálních výsledků autorky s komentovanou diskusí čtyř prací, které již byly publikovány, a na nichž se Mgr. Hrabcová podílela jako spoluautorka. Práce má 123 stran textu a dalších 87 stran příloh, které obsahují 5 prací *in extenso*, kde je autorka disertační práce autorem či spoluautorem.

Úvodní část práce je zpracována jako literární rešerše o malárii a možných formách boje s touto infekční nemocí. Jednou z důležitých forem boje je boj s přenašeči Plasmodií, s komáry rodu *Anopheles*. Na modelu hmyzí (komáří a muší) AChE jsou testovány vhodné typy inhibitorů tohoto pro komára životně důležitého enzymu. Hmyzí AChE se od savčí AChE poněkud liší v uspořádání jejich aktivních center a nabízí se proto možnost najít inhibitory, které by selektivně inhibovaly hmyzí AChE a byly tak relativně bezpečné pro necílové organismy. Součástí disertační práce je proto příprava a pokus o přečištění AChE z komára *Anopheles gambiae* a mouchy domácí (*Musca domestica*). I když pokusy s přečištěním enzymu se nepodařilo uskutečnit v plném rozsahu, byly získány enzymové preparáty s dostatečnou aktivitou, na nichž bylo možné provést plánované experimenty. Ty spočívaly v měření inhibiční aktivity řady inhibitorů ( $IC_{50}$ ) na hmyzí (komáří či muší) a savčí (lidské) AChE *in vitro*, za využití Ellmanovy metody měření aktivity těchto enzymů. Selektivita inhibitorů byla hodnocena pomocí selektivního indexu (SI), který byl vypočítán jako poměr hodnoty  $IC_{50}$  lidské AChE k hodnotě  $IC_{50}$  hmyzího enzymu. Z testovaných sloučenin byly nejúčinnějšími inhibitory hmyzích AChE látky ze skupiny 7-methoxytakrin-takrinových heterodimerů (kódové označení K1323-K1336), nesoucích močoviny či thiomčoviny fragment ve spojovacím řetězci mezi oběma akridinovými jádry. Tyto látky inhibují obě hmyzí AChE v nanomolárních koncentracích. Nejslibnějším inhibitorem AChE mouchy domácí byla sloučenina K1324 s hodnotou  $IC_{50}$  13,6 nM a s IS 26,1. Nejslibnějším inhibitorem komáří AChE1 byla sloučenina K1328 s hodnotou  $IC_{50}$  6,61 nM a s IS 44,2. Není bez zajímavosti, že tyto bis-akridinové inhibitory AChE jsou v současné době intenzivně studovány jako

potenciální léčiva Alzheimerovy choroby či látky s možností uplatnění v protinádorové terapii.

Disertační práce Mgr. Hrabcové přináší řadu nových poznatků a je podnětná nejen pro další studium inhibitorů hmyzích AChE v souvislosti s hledáním nových typů insekticidních látek, ale také pro rozvoj oboru aplikované biologie a ekotoxikologie, toxikologie životního prostředí či medicíny. Práce je aktuální a užitečná, opírá se o nejnovější poznatky v oboru, používá moderní laboratorní metody, přináší nové poznatky a je psána jasně a srozumitelně. Některé části práce byly již publikovány v odborném tisku jako součást výstupů výzkumných projektů, na nichž se Mgr. Hrabcová podílela. Jsou to všechno impaktované časopisy s IF > 3.

Podle mého mínění se jedná o velmi zdařilou doktorskou práci, která svou úrovní jazykovou, gramatickou i formální, ale zejména svým rozsahem (testováno bylo 75 sloučenin) a hloubkou zpracování, plně odpovídá požadavkům na doktorskou disertaci a svým vědeckým potenciálem jednoznačně dokumentuje přínos studenta pro teorii vědního oboru i praxi.

Studentce bych rád položil dvě otázky:

1. Máte informace o tom, jakým směrem se ve světě ubírá boj s malárií a jaká nová léčiva jsou vyvíjena?
2. Myslíte si, že závěry z posledního zasedání konference konané v rámci Světového dne malárie, že by malárie měla být do roku 2030 eradikována, jsou reálné?

**Závěr:** *Oponovaná práce Mgr. Veroniky Hrabcové splňuje v plném rozsahu požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Předloženou prací prokázala schopnost tvůrčí práce v oblasti výzkumu a splňuje tak požadavky kladené na doktorskou disertační práci ve smyslu § 47 zákona č. 111/1998 Sb. o VŠ. Práce dokládá schopnost autorky řešit vědecké problémy, využívat k tomu nejmodernější metody a přístupy a výsledky vhodnou formou publikovat. Doporučuji proto práci přijmout jako podklad k dalšímu řízení k získání titulu PhD.*

Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.  
Ústav radiologie, toxikologie a ochrany obyvatelstva  
Zdravotně sociální fakulta  
Jihočeské univerzity  
v Českých Budějovicích

V Hradci Králové, 2. 6. 2020