

Posudek oponenta habilitační práce

Univerzita Karlova

Fakulta	Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Habilitační obor	Farmakognosie a Nutraceutika
Uchazeč	PharmDr. Jakub Chlebek, Ph.D.
Pracoviště	Katedra farmaceutické botaniky
Habilitační práce	Isochinolinové alkaloidy jako potenciální léčiva

Oponent	Prof. Ing. Miroslav Strnad, DSc.
Pracoviště	Laboratoř růstových regulátorů Univerzita Palackého & Ústav experimentální botaniky AVČR Šlechtitelů 11 783 71 Olomouc

Předložená habilitační práce se zabývá „Isochinolinovými alkaloidy jako potenciálními léčivy“. Práce je předložena ve formě review, s tím, že kapitola 4 shrnuje výsledky, na kterých se autor podílel a shrnuje rovněž poznatky o isochinolinových alkaloidech a alkaloidech čeledi Amaryllidaceae a rovněž zhodnocení biologických výsledků účinnosti v různých testovacích modelech. Součástí je i shrnutí výsledků a závěry s výhledem do budoucnosti. Habilitace obsahuje i seznam publikací předkladatele práce ve vztahu k habilitační práci. Habilitant publikoval velmi slušnou řádku prací, na kterých je jasně vidět vydatný autorův. Celkem habilitant publikoval 23 (kumulativní IF = 51,06) prací, z toho u 5 prací je prvním autor (5 první autor, 3 korespondující). Dále publikoval 2 přehledy a souborné referáty v periodících s IF: (kumulativní IF = 1,02). Sympatické na celé habilitační práci a i přiložených publikacích je soustředěnost orientovaná na přirozené alkaloidy, což ale vyplývá jednoznačně ze zaměření výzkumné skupiny ADINACO na katedře farmaceutické botaniky, kterou založil pan prof. Opletal. Habilitace je napsána zvláštním stylem – ve formě review, kde jen místně zmíněno, že výsledky byly získány v rámci výzkumu skupiny ADINACO. Z habilitační práce není vůbec zřejmé, co jsou vlastně výsledky habilitanta. To mělo být sto procentně mnohem více zdůrazněno. Práce je sepsána tak, jako by ji za skupinu

ADINACO sepisoval sám pan profesor a prezentoval práci celé skupiny. Měl být tedy stoprocentně zvolen jiný styl práce, více se soustřeďující na výsledky, které vytvořil sám habilitant. Detailně se práce zaměřuje zejména na dvě základní oblasti: (1) problematiku zkoumání přírodních látek (zejména alkaloidů), které by mohly potenciálně terapeuticky ovlivnit neurodegenerativní procesy, zejména Alzheimerovu chorobu. Kromě toho bylo studium potenciálních terapeutických cílů souvisejících s Alzheimerovu chorobu zacíleno nejen na inhibici lidských cholinesteras, ale i na inhibice dalších enzymů, např. β -sekretasy (BACE1), prolyloligopeptidasy (POP), glykogensynthasy kinasy-3 β (GSK-3 β), apod. (2) Protinádorovou aktivita isochinolinových alkaloidů na první pohled s neurodegenerací vůbec nesouvisí. Je ale pravdou, že nedávno publikované výsledky naznačují, že klinicky používaná cytostatika ve velice nízkých koncentracích mohou mít neuroprotektivní účinek. Takže i tato část habilitace je z hlediska odborného adekvátní.

Mezi nejvýznamnější výsledky získané v rámci dlouhodobého výzkumu zaměřeného na studium protinádorové aktivity bych zařadil např. to, že isochinolinové alkaloidy vykazují velice slibnou cytotoxickou aktivitu. Zvláště perspektivní se jeví isochinolinové alkaloidy, izolované z rostlin čeledi Amaryllidaceae (tzv. Amaryllidaceae alkaloidy), které vykazují selektivní a silnou cytotoxicitu vůči nádorovým buněčným liniím. Z tohoto hlediska se jeví uvedené přírodní látky vhodné pro vývoj potenciálních protinádorových léčiv. Domnívám se, že se jedná o kvalitní výzkumnou aktivitu v této oblasti, neboť jen málokdo v ČR se může chlubit řadou kvalitních prací z oblasti přírodních látek publikovaných v kvalitních zahraničních časopisech. Z uvedeného seznamu rovněž jednoznačně vyplývá velmi výrazný podíl autora habilitace na publikovaných článcích. Vlastní habilitace je erudovaně zpracována a i pro příležitostného farmakologa či farmakognosa je velmi dobře srozumitelná a s minimálním množstvím překlepů. Jedná se o výrazně vylepšenou verzi habilitačního spisu. Práce je i graficky vkusně doplněna obrázky.

Poznámky:

- 1) Jsou-li však probírány přírodní látky, je nutné vzít v úvahu i další živé metabolizující subjekty jako jsou houby různého stupně fylogenetického vývoje, bakterie, izolované buňky nejen rostlinné, ale i živočišné nebo hmyzí, nebo rekombinantní enzymové systémy (které jsou do jisté míry také „živým“ subjektem). K této větě poznámka – mezi živé metabolizující subjekty nelze počítat rekombinantní enzymové systémy. Definice živých organismů je jednoznačná. Prosím, o upřesnění!
- 2) Mezi nejčastěji přijímaný názor z hlediska původu a patogeneze nádorů patří

poškození genetické výbavy buněk, po které dochází k mutacím, poruše genové exprese, aktivaci nádorového promotorového genu, inaktivaci genů tlumící nádor apod. Některé pojmy neznám. Můžete vysvětlit např. co je to nádorový promotorový gen, nebo gen tlumící nádor?

- 3) Str. 25 – Mezi nejúčinnější protinádorová chemoterapeutika patří zajisté taxol. Dá se zařadit mezi alkaloidy?
- 4) Některé anglikanismy nejsou úplně vhodné – např. antitumorové účinky? Doporučoval bych příklon k češtině.
- 5) Biologické účiny obou typů alkaloidů mají určité odlišnosti, ale některé účinky jsou velmi blízké. Jen, že dobrý pisatel většinou nepoužívá stejná slova v jedné větě. Myslel jste určitě v obou případech účinky?
- 6) Oxostefanin vykazoval slibnou aktivitu vůči liniím BC ($IC_{50} = 0,24 \mu\text{g/ml}$) a MOLT-3 ($IC_{50} = 0,71 \mu\text{g/ml}$) a zároveň vykazoval velmi nízkou cytotoxicitu vůči MRC-5. Zkratky jsou zřejmě buněčné linie? Thailandin demonstroval slibnou cytotoxickou aktivitu vůči A549Nebylo by vhodné vždy uvádět o jaký typ nádoru se jedná? Místy máte uvedeno, ale není to příliš běžné. Jak má běžný čtenář vědět co je A549?
- 7) V tab. 6 máte uveden vinorelbin s velmi významnou protinádorovou aktivitou. V textu o něm není žádná zmínka. Určitě mělo být minimálně konstatováno, že se jedná o standard a jakého původu a účinku!
- 8) 24 hodinové bych psal zvlášť nebo s pomlčkou 24-hodinové.
- 9) Můžete objasnit, prosím. .. cytotoxický účinek této látky na p53 mutovanou nádorovou linii Caco-2 a HT-29. Takto to vypadá, jako že linie byla mutovaná pomocí p53! Vyskytuje se na více místech.
- 10) Str. 64 - ve kterých tyto alkaloidy zastavují buněčný cyklus v G1 a G2 fázi a zvyšují expresi P16 a fosforylaci Chk1 Ser 345. Co je P16? Je to inhibitor CDK? Ten se takhle jednoduše ale neoznačuje? Níže totiž máte správně p21^{WAF1/Cip1}.
- 11) Této větě nerozumím: Současně jsou s rozvojem nových farmakologických a biochemických modelů objevovány nové biologické účinky dříve izolovaných alkaloidů... Jak jsou pomocí farmakologických a biochemických modelů objevovány nové biologické účinky. Nemělo by to být tak, že pomocí například molekulárně-biologických metod jsou objevovány biologické účinky. Zdá se mně adekvátnější!

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

1. Používáte hojně pojem antineoplastika, neoplastický proces, atd. Je k tomu nějaký důvod? V medicíně se totiž používá opravdu výjimečně, dříve v medicíně veterinární. Někdy snad ve spojení neoplastická transformace? Vždyť stanovujete přece protinádorovou aktivitu? Jak byste v tomto kontextu pojmenoval nádor? Neoplázie? Proč se v HK používá tato terminologie. Je pro to nějaký důvod?
2. Závěr a výhled do budoucna. Byla by fajn, abyste jasně deklaroval svůj výhled do budoucna – konkrétní výhled. Jak jsem konstatoval výše, jsou příliš popisovány výstupy celé skupiny a ne konkrétně Vaše!
3. GSK3 má řadu homologních kinas. Plánujete testování na některých dalších?
4. Konstatoval jste v literárním, že prevence či léčení Alzheimerovy choroby pomocí alkaloidů by měla zahrnovat komplexní analýzu biologických účinků – vedle inhibice choliesteru a některých dalších enzymů asi i stanovení dalších biologických aktivit. Jaké účinky by podle Vás mělo mít ideální léčivo na Alzheimerovu chorobu? Jaké by mělo mít účinky?

Závěr

Závěrem bych chtěl konstatovat, že výsledky předložené habilitační práce jsou zajímavé a hojně publikované v zahraničních časopisech, což výrazně zvyšuje prestiž této habilitace. Jedná se o kvalitní habilitační práci, na které je jednoznačně pozorovatelný vysoký stupeň autorových schopností provádět cílený vědecký výzkum v oblasti farmakognosie. Habilitační práce PharmDr. Jakub Chlebka, Ph.D. „Isochinolinové alkaloidy jako potenciální léčiva“ **splňuje** všechny požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Farmakognosie a nutraceutik. Připojené připomínky nijak nesnižují hodnotu habilitační práce. Kvalita habilitanta je totiž podpořena kvalitními publikacemi v zahraničních časopisech. Z hlediska vědeckého splňuje habilitační práce všechna kritéria kladená na tento typ prací ve smyslu zákona 111/1998 Sb., a proto ji doporučuji k obhajobě.

Olomouc, dne 4.5.2021

prof. Ing. Miroslav Strnad, DSc.