



Recenze doktorské disertační práce

Mgr. Elišky Kohelové

„Alkaloidy *Zephyrantes citrina* (Amaryllidaceae)“ izolace, identifikace, biologická aktivita.“

Produkty rostlinného původu se k léčení využívají od nepaměti. I po mnoha staletích bádání je ale zřejmé, že příroda stále skrývá dosud nepoznané zdroje látek s léčebným potenciálem (David B. et al, DOI 10.1007/s11101-014-9367-z).

Disertační práce Mgr. Elišky Kohelové je vedena snahou o detailní zmapování výskytu alkaloidů v *Zephyrantes citrina* Baker (1882), zástupci farmakologicky významné čeledi Amaryllidaceae, o zařazení zjištěných poznatků do kontextu chemotaxonomie čeledi a o charakterizaci biologických aktivit obsahových látek. V části práce věnované testování biologických aktivit se disertantka zaměřila zejména na inhibice enzymů, které jsou terapeutickými cíli ve vztahu k Alzheimerově chorobě, jmenovitě acetylcholinesterasy, butyrylcholinesterasy, prolyloligopeptidasy a glykogensynthasa kinasy. Pro odhad schopnosti látek překonat hematoencefalickou bariéru použila test průchodu umělou membránou (PAMPA-BBB: Parallel artificial membrane permeation assay). Vybrané látky, které se podařilo izolovat v dostatečném množství, poskytla rovněž pro testování cytotoxicity na řadě nádorových i nenádorových buněčných linií.

Samotný text disertace má klasické členění a rozsah 129 stran bez seznamu literatury. Text je psán příjemnou, kultivovanou češtinou, se zanedbatelným počtem překlepů a jazykových neobratností. Několik formálních připomínek uvedu na zvláštním listu.

TEORETICKÁ ČÁST

(str. 12-56) podává čtivý a přehledný úvod do problematiky, proporcionálně členěný na kapitoly, jejichž náplní jsou:

1. Čeleď Amaryllidaceae, taxonomické členění, charakterizace rodů, chemotaxonomie čeledi, strukturní typy Amaryllidaceae alkaloidů a jejich biosyntéza.
2. Rod *Zephyranthus* – botanická charakterizace a přehled fytochemicky studovaných druhů. Pozornost je věnována rovněž druhům, které byly k rodu *Zephyranthus* řazeny dříve a nyní se řadí k jiným rodům (*Habranthus robustus*, *H. tubispathus*, *Pyrylirion flavum*.)
3. Relativně stručná kapitola „Biologická aktivita Amaryllidaceae alkaloidů“ je členěna na podkapitoly věnované potenciálu AA při léčení Alzheimerovy choroby a nádorových chorob.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST,

(str. 57-81) popisuje použité materiály, isolační, separační i analytické metody v dostačující míře a bez nadbytečných detailů tam, kde bylo lze odkázat na podrobnější popisy v publikacích. Za zmínku stojí objem výchozího materiálu – 35 kg cibulí – a rovněž fakt, že disertantka neopomenula uvést, kdo ověřil jejich taxonomické zařazení a kde je uložen dokladový vzorek. Ocenění si zaslouží důraz na pečlivost provedení a čistotu použitých chemikálií, jak pro izolace alkaloidů, tak při přípravě enzymů pro testování inhibičních aktivit. Řada detailů izolačních metod je uvedena v oddílu 4.6.1. kdy popisy a výtěžky jednotlivých látek izolovaných z komplexní alkaloidové frakce mnohastupňovými postupy zahrnujícími extrakce kapalina-kapalina, chromatografie, krystalizace, zpětné využití matečných louhů atd., doprovází popis toho, jak se k dané frakci dospělo.

VÝSLEDKY

Těžiště výsledkové části (str. 83-119) spočívá ve výčtu a podrobné charakterizaci alkaloidů izolovaných z cibulí *Zephyranthes citrina*. Celkem se jedná o 27 látek, z toho 7 jsou nově popsane alkaloidy. Všechny látky byly strukturně charakterizovány příslušnými spektrálními technikami (MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, optická otáčivost). Látky, které byly dostupné v dostatečném množství, byly otestovány na inhibiční aktivity vůči cholinesterasám (hAChE, hBuChE), proliyloligopeptidase, glykogensythasa kinase a na cytotoxicitu vůči řadě nádorových i nenádorových buněčných linií. Alkaloid narcikachninového typu **narcieliin**, jenž se mezi nově izolovanými látkami jako jediný ukázal být účinným inhibitorem cholinesteras, byl se slibnými parametry otestován rovněž na schopnost průchodu biologickými bariérami PAMPA testem.

Výsledky studií doktorandka se spolupracovníky zpracovala do čtyř vědeckých publikací (z toho 2x první autor) a šesti přednášek na konferencích, což několikanásobně překračuje počet obvykle požadovaný pro připuštění k obhajobě.

Do diskuse bych chtěl doktorandce položit následující dotazy:

1. Opravdu jste přesvědčena, že látky přírodního původu v minulosti „*po velmi dlouhou dobu představovaly jediný prostředek pro léčbu zdravotních potíží*“ (str 9.)?
2. V kapitole 5.2.8. uvádíte dvě možné struktury Zephyjaninu, Vámi nově izolovaného alkaloidu. Mohla byste uvést, zda se od doby sepsání práce podařilo vyřešit, která z nich je správná, případně diskutovat postup?
3. S jakou skutečnou přesností je možné stanovit hodnoty IC₅₀, (Tab. 16, str. 115)?

4. Mohla byste přiblížit, jak vypadají (čím se liší) barvy petrkličově žlutá a zlatě žlutá (str. 33).
5. Při své práci jste použila *hAChE* izolovanou z čerstvých erytrocytů. Používá se při testování inhibiční aktivity i enzym z erytrocytů jiných savců?

Závěr:

Disertační práce Mgr. Elišky Kohelové je podle mého názoru na vysoké odborné úrovni a její autorka plně prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Toto hodnocení nijak nesnižují drobné výtky formálního charakteru. Doporučuji proto, aby její práce byla komisí pro obhajoby přijata k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování autorce udělena vědecká hodnost doktor.

V Praze 5. září 2021

Prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík
Ústav chemie přírodních látek
VŠCHT, Technická 5
166 28 Praha 6

Recenze doktorské disertační práce Mgr. Elišky Kohelové
Výtky formálního charakteru a překlepy

Str. 8 ř. 6 a 7 – duplicitní text: MCF-

Str. 8 ř. 20	je	má být
Str. 13 ř. 18	prolol	prolyl
	lysinu	tyrosinu