



Recenze doktorské disertační práce Ing. Rozálie Peřinové

„Amaryllidaceae alkaloidy haemanthaminového strukturního typu a jejich polosyntetické deriváty jako potenciální léčiva v terapii Alzheimerovy choroby“

Syntéza kyseliny acetylsalicylové před 127 lety zahájila éru modifikací přírodních látek za účelem získání nových derivátů s výhodnějšími farmakologickými vlastnostmi. Od té doby bylo připraveno nespočet nových látek odvozených od vytipovaných přírodních struktur. I když se v praxi nakonec uplatní pouze malý zlomek z nich, význam těch úspěšných motivuje k hledání dalších výchozích struktur a jejich modifikací.

Disertační práce Ing. Rozálie Peřinové je zaměřena na přípravu a charakterizaci rozsáhlé řady esterových a etherových derivátů alkaloidu haemanthaminu, který je relativně dobře dostupný z několika druhů čeledi Amaryllidaceae.

Text o rozsahu 74 stran uvádí a do širšího kontextu zasazuje soubor osmi původních prací. U každé publikace je specifikováno, v čem spočíval podíl disertantky na dané práci. Tím byla vždy příprava série derivátů a jejich řádná spektroskopická charakterizace (NMR, MS, optická otáčivost), případně i převedení do formy solí vhodných pro biologické testování. Vlastní biologické testy většinou prováděli spolupracovníci, disertantka se v jisté míře účastnila stanovení cytotoxicity a samozřejmě i zpracování dat.

V části práce věnované testování biologických aktivit se tým, jehož byla disertantka členkou, soustředil na stanovení inhibičních aktivit vůči enzymům, které jsou terapeutickými cíli ve vztahu k Alzheimerově chorobě, jmenovitě acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, inhibice GSK-3 β , stanovení cytotoxicity vůči panelu osmi nádorových a jedné nenádorové buněčné linie. Pro odhad schopnosti látek překonat hematoencefalickou bariéru disertantka použila test průchodu umělou membránou (PAMPA-BBB: Parallel artificial membrane permeation assay). Pro vybrané látky byly uskutečněny dockingové studie vůči aktivním centrům *hAChE* a *hBuChE*.

Samotný text disertace má klasické členění a rozsah 74 stran bez seznamu literatury. Text je psán vcelku příjemnou, kultivovanou češtinou, na několika místech ale autorka neuhlídala určité pravopisné jevy a překlipy. Několik formálních připomínek uvedu na zvláštním listu.

TEORETICKÁ ČÁST

(str. 12-32) podává stručný a přehledný úvod do problematiky, proporcionálně členěný na kapitoly, jejichž náplní jsou:

1. Čeleď Amaryllidaceae, taxonomické členění, charakterizace rodů, chemotaxonomie čeledi, etnofarmakologický význam.
2. Sekundární metabolity čeledi Amaryllidaceae. Strukturní typy Amaryllidaceae alkaloidů a jejich biosyntéza. Norbelladinová cesta. Biologická aktivita haemanthaminu.
3. Kapitola 3 je věnována úvodu do problematiky Alzheimerovy choroby. Příslušné podkapitoly se zabývají 1) cholinergní hypotézou AD, 2) hypotézou amyloidní kaskády 3) významem hyperfosforylovaného proteinu. Další podkapitoly 4) a 5) přináší stručný přehled aplikací Amaryllidaceae alkaloidů a jejich semisyntetických derivátů jak v terapii Alzheimerovy choroby, tak dalších chorob.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST,

(str. 33-40) popisuje použité materiály, isolační, separační i analytické metody snad až příliš stručně, využívajíc možnosti odkázat na podrobnější popisy v publikacích. Přesto se disertantka v popisu katalytické hydrogenace haemanthaminu (4.2.1., str 33) nevyhnula věcné chybě, která u chemika vzbudí spíš úsměv než aby jej zmátla, tím, že zaměnila v popisu reakce význam argonu a vodíku: „...balonek, který obsahoval vodík, pro zajištění inertního prostředí“.

VÝSLEDKY

Výsledková část (str. 41-63) přináší formou tabulek přehledný výčet celkem osmdesáti připravených derivátů. U látek již dříve popsanych je uveden příslušný literární odkaz. Nově připravené látky, kterých bylo celkem 26, jsou charakterizovány popisem vzhledu, bodu tání, optické otáčivosti, NMR spektroskopii a HR-MS.

Pro všechny látky jsou dále formou tabulek uvedeny výsledky biologických testů.

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

Do diskuse bych chtěl doktorandce položit následující dotazy:

1. Pro všechny nově popsané deriváty uvádíte, že jde o amorfnní látky. Je krystalizace haemanthaminu a jeho derivátů obecně obtížná, nebo jsou od jiných autorů známy i krystalické formy některých reprezentantů těchto látek? Zkusila jste kromě volných bazí krystalizovat i soli Vámi připravených derivátů?
2. Podstatná část připravených látek byly estery. Máte z literatury nebo experimentu představu, nakolik jsou stabilní vůči hydrolyze působením esteraz přítomných ve tkáních (zejména v játrech a ledvinách)?

Závěr:

Disertační práce Ing. Rozálie Peřinové je podle mého názoru na kvalitní 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 8. září 2023

Prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík
Ústav chemie přírodních látek
Fakulta potravinářské a biochemické technologie
VŠCHT, Technická 5
166 28 Praha 6

Recenze doktorské disertační práce Ing Rozálie Peřinové

Výtky formálního charakteru a překlepy

Str. 7 - seznam zkratk: duplicita zkratky pro hemetoencefalickou bariéru - : BBB a HEB
- NaH je vzorec, nikoli zkratka

Str 9 - stylistické neobratnosti: „*zdroj léčby proti různým nemocem*“
„*uplatnění našli tyto rostliny*“ – shoda podmětu s přísudkem

Str. 10 - stylistické neobratnosti: „*nazvána právě jako Alzheimerova choroba*“
„*nazývané jako amyloidní plaky*“

Str. 11 – *polysyntetických* – má být: *polosyntetických*

Str. 12 – jižní Africe – nejednotné psaní velké/malé písmeno

Str. 20 – *samotného pacienty* – má být: *samotného pacienta*

Str. 27 – *terciální* – má být: *terciární*