

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra organické a bioorganické chemie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Veronika Vlachová**

Vedoucí práce: Ing. Galina Karabanovich, Ph.D.

Konzultant/ka: RNDr. Eva Mezeiová, Ph.D.

Oponent/ka: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Název práce: **Příprava modulátorů cholinesteráz a N-metyl-D-aspartátových receptorů**

Rozsah práce: 65 stran, 25 obrázků, 3 tabulek, 68 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborná |
| b) Náročnost použitých metod: | velmi dobrá |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | výborná |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Veronika Vlachová sepsala svou diplomovou práci na základě výsledků, které získala během svého působení na Katedře Toxikologie a Vojenské Farmacie (Vojenská lékařská fakulta Univerzity Obrany) pod vedením školitelky Dr. Karabanovich a konzultantky Dr. Mezeiové. Práce navazuje na dříve publikované výsledky v rámci této pracovní skupiny a dále rozšiřuje téma syntézy látek potenciálně využitelných při léčbě Alzheimerovy choroby. Cílem této práce bylo vytvořit novou knihovnu látek odvozených od derivátů fluorenu, které v minulosti prokázaly svou aktivitu, a které by potenciálně působily zároveň na cholinesterázy i na N-methyl-D-aspartátový receptor.

Celá diplomová práce je psána přehledně a jasně, obsahuje velké množství schémat, na kterých jsou jednotlivé reakce dobře vysvětleny. V úvodu a teoretické části jsou vysvětleny různé aspekty Alzheimerovy choroby a shrnuta dosud používaná léčiva, která působí na cílové struktury, které mohou ovlivnit průběh onemocnění. Jedná se zejména o cholinesterázy a NMDA receptory. Zároveň je popsána strategie působení duálně účinkujících látek, což je poté v práci využito. Cíle práce jsou obecně definovány jako snaha o přípravu série látek a jejich následné biologické hodnocení, což se splnit podařilo. Kapitola

s výsledky v práci úplně chybí, nicméně jsem pochopil, že výsledky jsou součástí kapitoly diskuse. V této kapitole jsou přehledně shrnuty výsledky syntézy a okomentováno biologické hodnocení. Připravené látky byly potvrzeny spektrálními metodami a u některých z nich se prokázala potenciálně zajímavá aktivita, zejména na butyrylcholinesterázu. Tato aktivita v některých případech překonala referenční látku, kterou byl takrin.

Práce je originální, což potvrdily kontroly na plagiátorství, kde bylo nalezeno pouze minimum podobností, většinou v ustálených frázích.

Dotazy a připomínky:

K diplomové práci mám několik komentářů a následně i několik dotazů.

Komentáře:

- 1) Citace v textu se objevují nekonzistentně - někdy před a někdy za interpunkčním znaménkem. Vzhledem ke zvolenému formátu (číslo v závorce) by se měla citace objevovat před interpunkčním znaménkem.
- 2) Dvojitá šipka, která se objevuje ve schématech, se spíše používá při retrosyntetickém postupu.
- 3) Str. 20 - je zde uvedena IC₅₀ pro hybridní látky. Bylo by dobré tuto aktivitu porovnat i s aktivitami jednotlivých částí dané látky.
- 4) Str. 26 - struktura látek A není bifenylnmethylová, ale difenylnmethylová.
- 5) Str. 28 - v názvech látek 24-25 jsou chyby.
- 6) Tabulka 1 - pro přehlednost bych do tabulky připojil i nějaký standard pro porovnání (třeba takrin)
- 7) Str. 50 - vyhnul bych se výrazům, jako je "silný vodný roztok NaOH"
- 8) Schéma 12 neodpovídá reakčnímu postupu v textu

Dotazy:

- 1) Str. 17 - aducanumab a lacenemab by měly být podávány po potvrzení přítomnosti beta-amyloidu. Jak se přítomnost beta-amyloidu prokazuje?
- 2) Je možné posoudit, jak účinkují hybridní deriváty? Účinkují jako celá molekula nebo se nejprve metabolizují a poté účinkují obě části separátně?
- 3) Str. 22 - Memantin má IC₅₀ = 1,2 uM a Galantamin má IC₅₀ = 2,6 uM. Jaká je poté IC₅₀, pokud by se obě látky podaly současně? Myslím si, že by bylo lepší uvádět hybridní látky, sestávající z obou zmíněných léčiv, porovnávat s aktivitou obou látek najednou a nikoliv pouze s jednou z nich.
- 4) Tabulka 1 - u látky 28d uvádíte vysoký index selektivity, ale hodnota IC₅₀ pro acetylcholinesterázu není uvedena. Z čeho byl tento index vypočítán?
- 5) Tabulka 2 - proč se lišil počet měření?
- 6) Tabulka 3 - na základě čeho byly pro prostup přes hematoencefalickou bariéru zvoleny hodnoty >4 a <2?
- 7) Experimentální část - finální produkty byly biologicky testovány jako volné báze nebo jako hydrochloridy? Z výsledků toto nelze určit.
- 8) Experimentální část - u finálních produktů uvádíte jako skupenství olej, týká se toto volných bází nebo hydrochloridů?
- 9) Experimentální část - u HRMS uvádíte iont [M+H]⁺, ale látky popisujete jako dihydrochloridy, které by tedy měly mít 2 náboje. Výsledky ale skutečně odpovídají jedenkrát nabitě molekule. Jak toto funguje? Nebo byly pomocí HRMS měřeny volné báze?

10) Experimentální část - co bylo měřeno pomocí NMR? Volné báze nebo dihydrochloridy? Posuny CH₂ skupin vedle dusíků by spíše naznačovaly, že byly měřeny volné báze. Pokud máte výsledky NMR jak volných bází, tak hydrochloridů, mohla byste to porovnat?

11) Experimentální část - u některých látek uvádíte, že po převedení na dihydrochloridy neměly dostatečnou čistotu - čím to bylo způsobeno? Co látky kontaminovalo? Je možné spolehlivě určovat čistotu látek pomocí LC-UV?

12) Experimentální část - nikde v experimentální části nejsou uvedeny žádné navážky látek, pouze jejich molární ekvivalenty. V jakém měřítku byly reakce prováděny? Je rozdíl, jestli reakce probíhá v miligramovém nebo v kilogramovém měřítku.

I přes výše zmíněné nedostatky práci hodnotím kladně.

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

13. září 2024

podpis oponenta/ky