

**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: **Zuzana Moravcová**

Vedoucí práce: doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Konzultant/ka: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Oponent/ka: doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.

Název práce: **Syntéza nových derivátů 7-aryl takrinů jako potenciálních multipotentních terapeutik pro léčbu Alzheimerovy nemoci**

Rozsah práce: 58 stran, 15 obrázků, 6 tabulek, 116 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: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| 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:

Studentka Zuzana Moravcová ve své diplomové práci zabývala přípravou a výsledky biologického hodnocení potenciálních léčiv neurodegenerativních chorob na bázi 7-aryl derivátů takrinu, a to za účelem rozšíření znalostí o vztazích mezi strukturou a biologickou aktivitou. S ohledem na nárůst prevalence neurodegenerativních chorob a jejich - i přes dílčí pokroky - neuspokojivou farmakoterapii jde o téma vysoce aktuální a velmi potřebné.

DP byla vypracována na externím pracovišti pod vedením doc. Roha a konzultantky dr. Svobodové, téma organicky zapadá do tamního výzkumu a navazuje na disertaci konzultantky. Členění odpovídá odbornému sdělení v oblasti medicíně organické chemie: seznamy, úvod, teoretická část zabývající se převážně Alzheimerovou chorobou (AD), hypotézami jejího vzniku a možnostmi farmakoterapie, design cílových sloučenin, výsledky a diskuse, závěr a seznam literatury. Ze syntetického pohledu studentka připravovala 16 me-too analog takrinu osvědčenou dvoukrokovou syntézou, což minimalizovalo riziko selhání jak syntetického, tak z hlediska očekávané biologické aktivity.

Úvod do značné míry kopíruje abstrakt, očekával bych větší "vtažení do děje". Teoretická část je sepsána poměrně stručně, ale výstižně a na dobré odborné úrovni, podobně pak

výsledky a diskuse, a to včetně externě získaných biologických dat. U připravených sloučenin byly změřeny teploty tání, NMR, HRMS spektra, čistota byla dále ověřena LC-UV. Práce vychází z řady zdrojů (většinou anglickojazyčných) včetně kvalifikačních prací, některé zdroje jsou však již postarší.

Dotazy a připomínky:

Práce je na dobré jazykové úrovni, občas se vyskytují chyby jazykové (shoda, interpunkce) a překlepy (např. "tetraziolium", "isoxazolové kyselina", "FdA"), dále pak chyby formálního charakteru – psaní násobků v textu, názvy čeledi se píšou v kursivě, do seznamu zkratk nepatří jednotky a veličiny (ppm, J, chemický posun), hodnota veličiny a jednotka by měly být na jednom řádku, psaní %, tabulky by měly být celé na jedné stránce. Nalezneme i chyby v názvosloví – nepoužívání spojovníků u esterů (ethyl-acetát, adenosin-trifosfát), anglikanismy typu halogeno- či aducanumab (správně halogen-, adukanumab). Některé tyto nedostatky jsou dány pochopitelnou nezkušeností s tvorbou odborného textu.

Další připomínky:

- do abstraktu, který má být "samonosný", je vhodnější uvádět chemické názvy sloučenin než jejich kódy,
- v seznamu obrázků i tabulek stačí uvádět jejich názvy, nikoli reakční podmínky a zkratky,
- u hypotéz vzniku AD postrádám podrobnější komentář k hypotézám infekční, oxidačního stresu, těžkých kovů nebo (v současné době velmi populární) zánětlivé,
- str. 12 - Ginkgo biloba i vitamin E nějaké důkazy pro účinnost v léčbě AD mají,
- obr. 2 - je Vaším dílem?
- str. 22 - formulaci, že memantin: "Je tvořen třemi cyklohexanovými kruhy, ..." nepovažuji za vhodnou; zmatečná věta s mikroglie,
- str. 25 - "Naopak zavedení chloru do obou poloh šest, ..." - kolik poloh 6 má takrin?
- str. 31 - "První krok syntézy zahrnoval Friedländerovu kondenzaci 2-amino-5-brombenzonitrilu 1 v přítomnosti cyklohexanonu..." - jaká je úloha cyklohexanonu v této reakci? Jinak považuji za vhodné psát u reakcí nejen ekvivalenty, ale i konkrétní hodnoty (m, V či alespoň n) - je rozdíl vycházet z 10 mg a 10 kg.
- str. 32 - jak si mám, prosím, prakticky představit, co se dělo podle věty: "Po dokončení reakce byla reakční směs třikrát extrahována mezi 2M roztok hydroxidu sodného (NaOH) a dichlormethan (DCM; 3 × 100 ml)."; proč byl Suzukiho coupling realizován pod argonovou atmosférou?
- na str. 32 uvádíte: "U látek 5c, 5g a 5l byla i po uplynutí reakční doby pozorována přítomnost meziproduct 3, a proto bylo do těchto reakčních směsí přidáno další množství katalyzátoru (0,1 ekv.) a prodloužen čas reakce (48 hodin). Reakce derivátů 5r a 5s podle TLC nevykazovala žádnou změnu ani po navýšení množství katalyzátoru či doby reakce. Pravděpodobně z důvodu substituce THA alicyklickými uhlovodíky, které měli nedostatečnou objemnost a nenasycenost kruhů." - rozumím tomu správně, že reakční doba + přídavek katalyzátoru byly použity u pěti sloučenin, ale jen u tří to bylo úspěšné? Mohla byste více vysvětlit tezi z poslední věty, čím to bylo způsobeno?
- ad charakterizace sloučenin: výtěžky - jedná se o volné baze, nebo až hydrochloridy?; uvádíte, že u sloučenin byl stanoven bod tání, ale uvádíte interval - je tomu tak správně?; v ¹H spektru meziproductu 3 by neměl být signál v aromaticitě odpovídající dvěma ekvivalentním vodíkům; byly všechny připravené sloučeniny originální? Pokud ne, měla by k nim být uvedena příslušná citace.

K obhajobě pak vznáším následující obecnější dotazy k diskusi:

1. Výtěžky některých sloučenin, a to i těch, kde jste nemodifikovali reakční podmínky, jsou nízké (např. 5k, 5p). Máte nějaké vysvětlení? Nepokoušeli jste se i zde o úpravu podmínek?

2. Zaujala mne jistá diskrepance mezi in silico předpovědí BBB permeability a výsledky PAMPA eseje. Máte, prosím, nějaké vysvětlení? Jak to koreluje např. s hodnotami logP? Jaká je obecně spolehlivost těchto in silico predikcí?

3. Prosím o detailní vysvětlení postupu biologického testování sloučenin. Rozumím jeho "flow", ale např. proč byly připraveny sloučeniny, které podle in silico predikce nevykazují pravděpodobný vstup BBB? Neměla by tato (dle DP úvodní) studie právě předem vyloučit nevýhodné deriváty? Dále uvádíte, že u všech látek byla hodnocena antiproliferativní aktivita/cytotoxicita, ale tabulka 5 uvádí hodnoty jen některých z nich a ty nejúčinnější inhibitory chybí. Jakou relevanci mají nádorové HepG2 buňky pro potenciální léčiva CNS? Dále píšete, že pro testování na NMDAR byly selektovány čtyři nejúčinnější deriváty. Dva z nich ovšem nebyly mezi nejúčinnějšími inhibitory cholinesteráz, další dva nebyly hodnoceny na toxicitu a dva z nich měly podle PAMPA eseje problematický vstup do CNS. Prosím tedy o vysvětlení, podle čeho tedy byly zvoleny.

Při kontrole podobnosti vyšla shoda 39, resp. 34 %, přičemž shoda je zejména s předchozí diplomovou prací D. Tošnerové. Ve většině částí je tato shoda pochopitelná (prohlášení, identifikační údaje, reference, seznam zkratk, obecná experimentální část), v dalších částech se jedná o shodu maximálně v délce dvou vět. Na druhou stranu práce přináší řadu originální poznatků.

I přes uvedené připomínky a všetečné dotazy hodnotím předloženou diplomovou práci Zuzany Moravcové velmi pozitivně, a to obsahově, kdy přináší řadu zajímavých poznatků, přispěla k identifikaci derivátů se zajímavou bioaktivitou, ale i z hlediska zpracování. Konstatuji, že plně odpovídá požadavkům kladeným na daný typ práce i práce rigorózní, a rád ji doporučuji k obhajobě.

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

16. září 2024

podpis oponenta/ky

