



Oponentský posudek diplomové práce

„Stanovení inhibičních aktivit vybraných Schiffových bazí vůči enzymům“

Autor diplomové práce: Bc. Renato Alejandro Lizaraburo Ancijima

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Vladimír Pejchal, Ph.D.

Diplomová práce studenta Bc. Renato Alejandro Lizaraburo Ancijima řešila aktuální tematiku testování potenciálních léčiv Alzheimerovy choroby na bázi Schiffových bazí benzthiazolu a jejich redukováných forem. Předložená práce má standardní členění na teoretickou, experimentální a výsledkovou část včetně seznamu literárních zdrojů. Diplomant čerpal z 88 literárních studií, převážně cizojazyčných publikací, což svědčí o jeho schopnosti pracovat s odbornou literaturou.

Teoretická část práce je zpracována na dobré odborné úrovni, diplomant zde popsal strukturu cholinesteráz, včetně její fyziologické funkce v lidském organismu. Rovněž popisy léčby Alzheimerovy choroby a Myasthenia gravis pomocí inhibitorů AChE jsou teoreticky správné. Zde ale postrádám podrobný popis biologických vlastností Schiffových bazí, diplomant se této tématice věnoval jen na 1 straně (str. 42 a 43) a údaje čerpal pouze ze 4 publikací (84 - 87).

Experimentální část obsahuje seznam chemikálií, postupy syntézy Schiffových bazí a postupy měření inhibičních koncentrací a rozdělovacích koeficientů. Zde jsem nenalezl ani jeden odkaz na literární zdroj a mám proto otázku: *Jak diplomant získal popsané syntetické, experimentální a vyhodnocovací postupy. Vyníjel a testoval je sám, nebo je měl z jiných zdrojů? V druhém případě by měl zdroj uvést v seznamu literatury.*

V diskuzi jsem se na str. 72 (kap. 6.1., 3 ř. a kap. 6.2., 2 ř.) teprve dověděl, že syntézy byly popsány v bakalářské práci (Kratochvíl) a z té byly zřejmě převzaty. Tento údaj diplomant v seznamu literatury neuvedl jako řádnou citaci a toto považuji za zásadní opomenutí. Diskuse je psána celkově neobratně, diplomant v ní směšuje experimentální postupy syntézy s postupy měření a s naměřenými hodnotami a na podporu svých výsledků neuvádí žádné literární údaje, mimo informace o zcela odlišné sloučenině 3-thiazolocoumarinyly [88], která nemá ke studovaným sloučeninám žádný vztah. Rovněž údaj o pravidle Lipinského na str. 75 (2. odstavec zdola) je bez citace a jeho aplikace na studované Schiffovy báze je nepřesvědčivá, v posledním odstavci diplomant dokonce uvádí větu: „Toto neodpovídá pravidlu, ale inhibitor č. 2, oproti ostatním testovaným inhibitorům, bude více schopný procházet přes biologickou membránu.“ To je ale zcela v rozporu s tvrzením o Lipinského pravidlu v minulém odstavci, kde je uvedeno, že látky s rozdělovacím koeficientem vyšším než 5 přes buněčnou membránu neprocházejí. Mám proto otázku: *Jak diplomant vysvětlí tento rozpor v aplikaci Lipinského pravidla a jak zdůvodní své tvrzení, že inhibitor č. 2 bude schopen procházet přes biologickou membránu.*

V závěru je možné souhlasit s tím, že sloučeniny benzthiazolu mají potenciální biologický účinek, protože se nacházejí alkaloidech, mají antivirální a antibakteriální účinky a proto je možné předpokládat i anticholinesterázový účinek. Výsledky ale prokázaly, že jejich účinnost je průměrná (IC_{50} cca 100 μM), přičemž porovnání s účinností rivastigminu není zcela vhodné, protože rivastigmin je nekompetitivní karbamátový inhibitor atakující aktivní centrum cholinesteráz, zatímco Schiffovy báze s hydroxylovou skupinou aktivního centra reagovat nemohou. To dokazuje i obdobná účinnost redukovaných derivátů a zcela nepodstatný vliv substituentů. U vzorku SF8 se jedná o experimentální chybu v měření inhibice AChA, která je velmi podobná BChE, proto rozdíl v inhibici o cca 2 řády není ničím vysvětlitelný a rovněž nekoreluje s ostatními výsledky.

Závěrem mého hodnocení konstatuji, že diplomant syntetizoval určený počet sloučenin, které řádně charakterizoval a změřil jejich inhibiční parametry k AChE a BChE, změřil a vypočetl jejich rozdělovací koeficienty. Konečná interpretace výsledků je přehledná, experimentální hodnoty jsou prezentovány pomocí 2 tabulek, ze kterých je zřejmé, že diplomant provedl dostatečný počet měření IC_{50} a K_{ow} s poměrně dobrou shodou. Tím splnil zadané experimentální cíle práce. Výše popsané problémy s diskusí a prezentací výsledků a s citací experimentálních postupů z bakalářské práce považuji za velmi závažné, ale vzhledem ke splnění cílů diplomové práce je zahrnuji do sníženého hodnocení diplomové práce.

Předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

D

V Pardubicích 23. května 2019



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
oponent