

Téma diplomové práce	Preparation of New Acetylcholinesterase Reactivators with an Amidoxime Functional Group and their <i>In Vitro</i> Testing (Příprava nových reaktivátorů acetylcholinesterázy s amidoximovou funkční skupinou a jejich <i>in vitro</i> testování)
Jméno studenta, studentky	Filip Zemek
Jméno oponenta	PharmDr. Daniel Jun, Ph.D., Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

II. Posudek oponenta

Tématem diplomové práce (DP) Filipa Zemka byla příprava homologické řady nových reaktivátorů enzymu acetylcholinesterázy s amidoximovou funkční skupinou, které by byly vhodné jako potenciální antidota otrav organofosforovými pesticidy a bojovými chemickými látkami s nervově paralytickým účinkem. Autor práce provedl zároveň základní *in vitro* hodnocení aktivity připravených látek s využitím jednoduchého reaktivačního testu na modelu reaktivace lidské acetylcholinesterázy inhibované organofosforovým pesticidem paraoxon a dále látkou VX s nervově paralytickým účinkem. Na základě získaných výsledků pak provedl hodnocení vztahu mezi strukturou připravených látek a jejich *in vitro* aktivitou. Předložená práce je psána v anglickém jazyce (což mimo jiné umožňuje snadné publikování vybraných částí), má celkový rozsah 110 stran a obsahuje 34 citací použitých informačních zdrojů.

V úvodu práce autor pojednává obecně o enzymech ze skupiny cholinesteráz, jejich funkci v těle a podrobněji rozebírá strukturu aktivního místa acetylcholinesterázy. Dále je zpracován přehled nejvýznamnějších nervově paralytických látek na bázi organofosfátů, u kterých hrozí v současnosti stále riziko zneužití. V další části zpracoval problematiku otrav organofosfáty, jejich antidotní terapie a podal přehled základních vztahů mezi strukturou a reaktivační účinností reaktivátorů acetylcholinesterázy s aldoximovou funkční skupinou.

V experimentální práci je popsána příprava a charakterizace dvou desítek potenciálních reaktivátorů acetylcholinesterázy s amidoximovou funkční skupinou a jejich *in vitro* testování ve dvou terapeuticky relevantních koncentracích, následuje přehled výsledků, diskuze a závěrečné zhodnocení výsledků.

Téma předložené DP patří mezi aktuální, riziko zneužití vysoce toxických organofosfátů, např. pro účely terorismu, je bohužel považováno za reálné a tak probíhá stále vývoj nových, účinnějších antidot.

Členění DP je obvyklé pro tento typ prací a nemám k němu výhrady, v práci lze občas najít drobné pravopisné chyby, které nijak nesnižují její informační hodnotu, někdy se vyskytuje dvojitě označení látek (např. K074 vs. K-74) a nepoužívání definovaných zkratk v textu (např. AChE, ACh apod.). Dle mého názoru měl autor v části popisující cíle své práce více rozepsat a odůvodnit výchozí předpoklady, které vedly k přípravě právě tohoto typu nových reaktivátorů s amidoximovou funkční skupinou, což z dalšího textu už nelze vyčíst.

Syntetickou část práce hodnotím kladně a nemám k ní připomínky. V části zabývající se *in vitro* testováním látek by bylo vhodné přidat zdůvodnění zvolených parametrů testu (koncentrace inhibitorů, čas inhibice enzymu apod.), tato část obsahuje různé nepřesnosti či chyby (např. u Fig. 1 a Fig. 2 – grafy mají chyby v popisu obou os, v textu je tvrzení, že acetylthiocholin je analogem přirozeně se vyskytujícího enzymu apod.) Dále by bylo vhodné některé výsledky, které by mohly u čtenáře práce vyvolávat otázky, více okomentovat (např. naměřenou hodnotu IC_{50} látky 1-FZ-16, která je 104.81 M, nebo reaktivační účinnost látky 1-FZ-5,

kteřá byla $-10.00 \pm 1.6 \%$, tedy záporná).

Použitě informační prameny jsou aktuální, prakticky všechny tvořt práce zabývající se zpracovávanou problematikou a publikované v odborných časopisech, což oceňuji.

K DP mám následující otázky:

- 1) Proč byla zvolena při přípravě nových reaktivátorů jako funkční skupina právě amidoximová skupina?
- 2) Jak si vysvětlujete naměřené záporné hodnoty reaktivační účinnosti látek?

Předložená práce Filipa Zemka splňuje požadavky kladené na DP a proto ji doporučuji k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **Velmi dobře**

V Hradci Králové dne 1. 6. 2009


Podpis oponenta diplomové práce