

Oponentský posudek

Dizertant: Mgr. Eva Šťastná

Název dizertace: Synthesis of neurosteroids: modulators of NMDA receptor

Školitel: RNDr. Hana Chodounská, CSc.,

Studijní program a obor: organická chemie

Předmětem dizertační práce Mgr. Evy Šťastné je příprava steroidů jako potenciálních modulátorů receptorů N-methyl-D-aspartátu (NMDA-R) v nervové tkáni pomocí pěti syntetických přístupů. Biologická aktivita syntetizovaných látek byla následně testována jako vazba na NMDA receptory v kultuře krysích hipokampálních neuronů a na rekombinantní receptory, exprimované v kultuře lidských ledvinných embryonálních buněk (HEK293 cell line). Testování bylo prováděno ve spolupráci s dr. Vyklickým z Fyziologického ústavu AV v rámci dlouholeté vynikající spolupráce.

Těžištěm dizertace jsou cílené syntézy steroidů, které vycházejí ze získaných poznatků o vztahu struktury a biologické aktivity, formulované autorkou v kapitole 1.10. na str. 15. Oponent se nepovažuje za kompetentního posuzovat náročné syntetické postupy a jejich originalitu, pro niž nicméně svědčí skutečnost, že byly publikovány v předním časopisu pokrývajícím steroidní tematiku (*Steroids*, IF 2.14), jsou předmětem jednoho patentu a dalších dvou prací v impaktovaných časopisech, v současnosti v recenzním řízení.

Úvodní kapitola a formulace cílů je stručnou rešerší současných poznatků o úloze a významu glutamátových receptorů, které tvoří skoro polovinu receptorů pro neurotransmitery na nervových spojích v CNS a o jejich hlavních typech, mezi něž patří ionotropní receptory NMDA fungující (ve zjednodušení) jako kalciové kanály. Nadbytek agonistů těchto receptorů může vést ke zvýšení nitrobuněčného kalcia, což vede ke snížení hyperpolarizace neuronální membrány, zvýšení excitability neuronu a při prodloužení stimulace až k neurotoxicitě. Tyto události ovlivňuje řada látek, mezi něž patří i steroidy, ať už tvořené v nervové tkáni *de novo* nebo z cirkulujících prekurzorů (neurosteroidy) nebo dodaných zvenčí, souhrnně označované jako neuromodulační steroidy. Význam studium interakce steroidů s NMDA receptory spočívá v možnosti příznivého ovlivnění výše uvedených událostí vhodnými steroidními sloučeninami jako terapeutiky závažných onemocnění CNS.

K této části práce mám následující dotazy resp. náměty k diskusi:

1. Hned v prvním odstavci (1.1.) se píše „že za normálních podmínek se glutamát uvolňuje (is released) z presynaptického zakončení a jeho extracelulární koncentrace dosahuje až řádu mmol/l a během milisekund klesne o 5 řádů (na 0.01 $\mu\text{mol/l}$).

- Co se míní „extracelulární koncentrací“ – koncentrace v synaptické štěrbině?

- Co je hlavním mechanismem odstranění glutamátu (ze štěrbiny?): vazba na postsynaptické receptory, zpětné vychytávání (za účasti transportních proteinů?) nebo metabolismus ligandu? Pojem „transportní enzymy“ zde není vhodný.

2. Autorka syntetizovala řadu karboxyderivátů vybraných steroidů. Bylo, či je možno využít zkušeností s těmito syntézami pro přípravu derivátů steroidů jako haptenu při syntéze imunogenů k získání protilátek, použitelných jako činidel při imunoanalýze těchto a příbuzných látek?

Drobnější připomínky

- Str.14, 8. ř.: překlep v „alphaxalone“
- Str.16, ve vzorci 20 β -hydroxy-pregnenolon sulfátu je hydroxyl na C20 připojen přerušovanou čarou (=alfa?)
- Str. 17,5.ř. zdola: má být „emphasized“
- Str.35: První věta, týkající se výchozí látky pro syntézu 5 α -nasyčených steroidů je zavádějící: Uvedená sloučenina jako **1** není 5-nenasycený diol (ve slově chybí „l“), který byl použit pro syntézu látky **1** dle citace č.99 (autoři z ÚOCHB).

Souhrnně lze konstatovat že po formální stránce je práce napsána přehledně s minimem překlepů a nesrovnalostí, členění je logické, výběr citované literatury je přiměřený. Popsané syntetické postupy jsou reprodukovatelné, fyzikálně-chemická charakteristika získaných sloučenin splňuje požadavky na tento typ prací. Autorka prokázala schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce a přinesla nové poznatky což dokumentují publikované práce, přijatý patent a další sdělení na kongresech.

Závěr: Ve smyslu par. 47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb a platného Studijního a zkušebního řádu Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy doporučuji práci k obhajobě a k přijetí.

V Praze dne 4. března 2009

Prof. RNDr. Richard Hampl, DrSc.