

Oponentní posudek diplomové práce Bc. Ivety Špačkové
“Stanovení kinetických parametrů enzymatických hydrolýz
acetylcholinu a acetylthiocholinu“

Předložená diplomová práce se zabývá aktuální výzkumnou tematikou spočívající v testování nových preparátů využitelných jako modelová potenciální léčiva Alzheimerovy choroby. Inhibice cholinesterázy je důležitým parametrem při hodnocení farmakologického účinku léčiva. Výsledky měření in vitro jsou ale často velmi odlišné od účinnosti in vivo. Je proto nutné doplnit inhibiční parametry i dalšími hodnotami modelujícími chování léčiv v biologickém systému. Tato práce řeší i otázku použití rozdělovacích koeficientů jako modelových hodnot pro popis penetrace léčiva přes biologické membrány.

Ze zadání diplomního úkolu je zřejmé, že se jedná o komplexní výzkumnou studii postihující jak metodiku stanovení inhibičního parametru pI_{50} , tak i měření rozdělovacího koeficientu v soustavě 1-oktanol/voda. Diplomantka prostudovala novější publikované poznatky z této problematiky a použila celkem 79 literárních studií z toho 54 zahraničních, nebo v cizím jazyce. Dostatečně dokumentovala svoji schopnost aktivně pracovat s vědeckou cizojazyčnou literaturou a teoretickou část diplomové práce zpracovala na velmi dobré odborné úrovni. Zde kladně hodnotím zejména detailní matematický popis teorie enzymatické katalýzy a všech typů enzymové inhibice. K této části mám následující připomínky:

str. 24 Obr. 8 – vzorec cholinu má o jednu $-CH_2-$ skupinu méně, str. 28 4.ř. zd. – správně kyseliny karbamové ne karbamidové, str. 45 rovnice 2.8 je nesprávná.

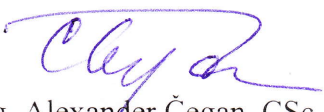
K seznamu literatury mám dotaz zda diplomantka prostudovala primární publikace uváděné ze zdroje „Koukolík, Jiráček: Alzheimerova nemoc a další demence“. Četla-li pouze tuto knihu, pak je nutno uvádět pouze stranu z této knihy a ne primární zdroj. V opačném případě ale postupovala celkem správně, přestože uvádění sekundárního zdroje je nadbytečné. Wikipedii jako relevantní zdroj nepoužíváme – viz lit. 10.

Experimentální část je zpracována s odborným přehledem a erudicí na přístrojích s požadovanými parametry. Důležitým výsledkem je i úspěšná aplikace pH-statové metodiky, která potvrdila správnost spektrofotometrických měření. Naměřené hodnoty byly použity k výpočtu kinetických konstant a jejich vzájemné porovnání umožnilo kontrolu přesnosti jednotlivých analytických metod. Rovněž měření rozdělovacího koeficientu bylo provedeno metodicky správně, ale jejich hodnoty jsou určitě zklamáním pro případné další testování těchto velmi dobrých inhibitorů in vitro. Výsledky měření inhibičních parametrů pI_{50} a matematický rozbor typu inhibice sledovaných skupin inhibitorů dokazují, že diplomantka plně zvládla teorii i experimentální postup měření těchto veličin a její závěry jsou na velmi dobré odborné úrovni.

Závěrem mého posudku konstatuji, že diplomantka splnila zadání diplomního úkolu ve všech bodech, předložila kvalitně zpracovanou zprávu s požadovanou odbornou úrovní ke které nemám závažné připomínky. Doporučuji proto diplomovou práci Bc. Ivety Špačkové k obhajobě a hodnotím ji známkou:

v ý b o r n ě

V Pardubicích 21.5.2010


doc. Ing. Alexander Čegan, CSc.
oponent