Oponentní posudek diplomové práce Bc. Jany Hejdové

„Inhibice cholinesteráz specifickými inhibitory“

Diplomová práce Bc. Jany Hejdové řešila tematiku testování potenciálních léčiv Alzheimerovy choroby na bázi substituovaných karbamátů. Testování bylo provedeno *in vitro* měřením hodnot inhibičních koncentrací IC_{50}, jejichž hodnoty jsou obvykle používány k odhadu jejich účinnosti *in vivo*. Dále byly pomocí HPLC a pH-statové metody změřeny hodnoty inhibiční rychlostní konstanty k_3.

Rozsáhlejší teoretická část je zpracována na současné odborné úrovni, zde diplomantka komplexně popsala prostorovou strukturu acetylcholinesterázy včetně její funkce v lidském organismu. Popis Alzheimerovy choroby a její léčby pomocí inhibice ACHE jsou teoreticky správné. Teorie enzymatické katalýzy a její inhibice jsou rovněž popsány dostatečně a tato část svědčí o schopnosti diplomantky samostatně pracovat s literaturou, vybírat a třídit informace.

Experimentální část je podrobná, je doplněna reakčními schématy a tabulkou strukturních vzorců studovaných karbamátů. Mám dotaz k jejich původu a čistotě.

V diskusi autorka uvádí, že ověřila shodnost získaných výsledků třemi metodami a potvrdila použitelnost rovnice Michaelis-Mentenové v modifikaci Briggs-Haldane pro neinhibované i inhibované hydrolýzy. Vše doložila grafy a tabulkami naměřených hodnot. Závěrem uvedla, že studované deriváty jsou nadějnými inhibitory cholinesteráz s příznivým průnikem hemato-encefalickou bariérou. Diskuse je ale poměrně krátká, 2 strany, a její forma není diskusní, ale jedná se o číslovaný výčet převážně inhibičních vlastností studovaných látek. Mám dotaz proč methyl-deriváty vykazují nejnižší inhibiční účinnost (str. 74, ad 10.) a proč butyl deriváty vykazují nejvyšší inhibiční účinnost (str. 74 ad 8.). Souvisí to s prostorovou kompatibilitou inhibitoru s aktivním místem enzymu, nebo s něčím jiným? U nitroskupiny je jistě významný –I efekt, nebo vliv meta substituentu atd.. Co ji ale preferuje jako vhodný inhibiční substituent jsem se nedozvěděl. Zde si měla diplomantka položit více otázek začínajících „proč“ a hledat odpovědi v literatuře. V diskuzi použila pouze 2 literární odkazy, přestože prostudovala celkem 65 převážně cizojazyčných literárních zdrojů.

K práci mám tyto připomínky:

1) str. 18 a str. 19, v rovnicích (5) (7) (8) (9) je nezvykle použito rozdílné písmo
2) str. 19, rovnice (7) je chybná – vysvětlete proč
3) str. 59, 2 ř. shora a str. 61, 11 ř. shora chybně uvedeno nepipetováno
4) str. 64, 1 ř. shora překlepy v první větě , 2. ř. Mentenové
5) str. 65, v kapitole 4.4 1 ř. neinhibovaných – chybí n
6) str. 64 – 69 grafy jsou nezřetelné
7) K části „Literatura“: citace 1 je kniha, nebo časopis? v citaci 2 není pohledna, ale pohled na, v citacích 4, 8, 9, 53 chybí název časopisu, v citaci 5 je nakladatelství Galén, citace 23 proč jsou velká písmena v názvu časopisu, citace 29 a 42 jsou stejné a neobsahují strany, citace 46 chyba v léčbš, citace 55, 63, 64 chybí ročník nebo strany, nebo obojí. Uvádění ročníku časopisu v kulatých závorkách je nesprávné. Diplomantka často nerespektovala citační normu ISO 690 ČSN 010197, a to celkovou úroveň její diplomové práce snižuje.

Diplomová práce splnila podmínky zadání a doporučuji ji k obhajobě se známkou

velmi dobře

V Pardubicích 19.05.2011

doc. Ing. Alexander Čegan, CSc.