POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Využití indoxylacetátu jako chromogenního a fluorogenního substrátu pro cholineserázy**

Autor diplomové práce: **Bc. Kateřina Škvorová**

Studentka Bc. Kateřina Škvorová se ve své diplomové práci zabývala možností zavedení metody stanovení aktivity a inhibice cholinesteráz pro multidestičkový reader Synergy H1M, na kterém je možné využít nejen měření absorbance v UV/VIS oblasti, ale také i měření intenzity fluorescence. Pro porovnání využila použití klasické Ellmanovy metody.

V teoretické části se diplomantka věnuje jednak obecné charakteristice enzymů, ale i strukturám a funkcím cholinesteráz a to v souvislosti s Alzheimerovou chorobou a možnostem její léčby. Dále zde diplomantka popisuje známé inhibitory cholinesteráz a jejich mechanismus inhibice. Závěrem autorka v této části popisuje popsané metody stanovení a inhibice cholinesteráz.

V rámci experimentální části diplomantka provedla stanovení reakčních rychlostí hydrolýz dvou různých substrátů katalyzovaných acetylcholinesterázou a butyrylcholinesterázou s cílem nalézt vhodnou kombinaci dávající dostatečnou odezvu pro následné stanovení inhibiční aktivity vybraných rhodaninových derivátů vůči acetylcholinesteráze. Pro neinhibované reakce stanovila hodnoty kinetických parametrů K_m a V_m. V další části diplomantka provedla s použitím obou výše zmiňovaných substrátů stanovení hodnot IC_{50} u vybraných vzorků rhodaninových derivátů vůči acetylcholinesteráze a u dvou klinicky využívaných standardů Rivastigminu a Galantaminu. Pro všechny studované inhibitory byl z důvodu ověření možnosti jejich přestupu přes hematoencefalickou bariéru stanoven rozdělovací koeficient a topologická polární povrchová plocha pomocí programu ChemDraw.

Text diplomové práce je srozumitelný a je logicky a systematicky členěn do jednotlivých kapitol. Přehled použité literatury svědčí o velmi dobré teoretické přípravě. Práce však obsahuje drobné nedostatky:

- V experimentální části je velmi podrobně popsán velký kus experimentální práce, kterou diplomantka odvedla. To se ovšem již nedá říct o diskuzi a závěru. V diskuzi výsledků mi chybí důkladnější zhodnocení dosažených výsledků u testovaných inhibitorů. Navíc seznam testovaných inhibitorů, jejich inhibiční

aktivita a stanovení lipofility je uvedeno ve třech různých tabulkách, což působí značně nepřehledně.

- Tabulka 8, str. 68 – u testovaných inhibitorů 2, 3 a Galantaminu jsou uvedeny hodnoty IC_{50}, které se liší o řád. Proč tyto rozdíly nejsou nikde diskutovány?
- Nikde v práci jsem nenalezl porovnání stanovených hodnot IC_{50} Rivastigminu a Galantaminu s publikovanými výsledky pro použití acetylthiocholinu i indoxylacetátu.

K práci mám tyto dotazy:

1. Proč byl zvolen právě indoxylacetát jako substrát pro stanovení inhibiční aktivity enzymů?
2. Proč nebyla testována inhibiční aktivita rhodaninových derivátů také na butyrylcholinesterázu?

Závěrem konstatuji, že práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a po stránce obsahové i formální a má i přes uvedené nedostatky velmi dobrou úroveň. Z uvedených důvodů **doporučuji** diplomovou práci k obhajobě a hodnotím

„**B**“.

V Pardubicích 16. 5. 2023

doc. Ing. Vladimír Pejchal, Ph.D.
Ústav organické chemie technologie
FCHT , Univerzita Pardubice