

“ Studium inhibitorů cholinesteras “

Předložená diplomová práce se zabývá studiem kvantitativní analytické metodiky pro stanovení inhibiční aktivity nových karbamátů využitelných jako potenciální léčiva Alzheimerovy choroby. Karbamáty jsou silnými inhibitory cholinesteráz a Exelon[®] (rivastigmin) je prozatím jediným povoleným karbamátovým léčivem této choroby s celosvětovou aplikací. Syntéza a testování nových karbamátů je proto perspektivním směrem výzkumu a vývoje.

Diplomantka prostudovala celkem 70 literárních publikací, převážně zahraničních, nebo v cizím jazyce a navázala na dřívější studie prováděné na katedře biologických a biochemických věd FCHT. V teoretické části diplomantka popisuje mechanismus účinků karbamátů na cholinesterázy, fyziologii vzniku Alzheimerovy choroby i její současnou farmakoterapii. Podrobně popsala teoretický postup pro stanovení kinetických konstant inhibované enzymatické reakce, její konkrétní měření a výpočet pomocí statistického programu Gepasi. Dále popsala Ellmanovu a pH-statovou metodiku stanovení IC_{50} (koncentrace inhibitoru, která způsobí 50%-ní pokles aktivity enzymu) a stanovení rozdělovacího koeficientu v soustavě 1-oktanol/voda, který charakterizuje penetraci studovaných karbamátů přes biologické membrány.

Experimentální část je kvalitně zpracována, diplomantka použila dvě nezávislé analytické metodiky, kinetickou se spektrofotometrickým vyhodnocením a pH-statovou a jejich výsledky porovnávala u všech studovaných inhibitorů. Kladně hodnotím zejména detailní experimentální analýzy pomocí Ellmanovy metodiky s aplikací programu Gepasi, který umožnil stanovení všech důležitých konstant inhibice a kvantifikaci inhibitoru pomocí hodnoty IC_{50} , která je pro farmakologické hodnocení preparátu velmi významná.

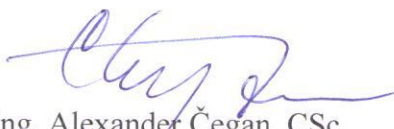
Výsledky měření kinetických konstant inhibovaných enzymatických reakcí a rozbor typu inhibice inhibitory dokazují, že diplomantka plně zvládla teorii i experimentální postup měření těchto veličin, ale její závěry uvedené v diskusi nevysvětlují znatelné rozdíly mezi inhibičními aktivitami studovaných karbamátů naměřenými oběmi metodami (dotazy 5. a 6.). K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Chemické rovnice na str. 46 jsou nejasné a obsahují chyby – 2. řádek 2. a 3. vzorec.
2. V obr od str. 68 je na ose x mnoho nul, přehlednější by bylo uvést koncentraci v mmol/l.
3. V bodu 4) Výraz inhibiční síla neznám, uveďte správnou definici naměřené veličiny.
4. V Anotaci ve druhé větě a v úvodu uvádíte, že: Cholinesterázy patří mezi specializované karboxylové hydrolázy Je to pravda? Jakou informaci zjistíte z obr 8 na str. 26?
5. Proč nejsou v tab. 12 uvedeny směrodatné odchylky jako v tab. 11.
6. Jak vysvětlíte rozdíly mezi inhibiční aktivitou zjištěnou pro studované inhibitory (tab. 11 a 12). Je možné nalézt trend a výsledky nějak korelovat? Jde zde o měření stejné veličiny.

Závěrem mého posudku konstatuji, že diplomantka splnila zadání diplomního úkolu ve všech bodech, předložila kvalitně zpracovanou zprávu, ale nevyhnula se výše uvedeným chybám a nepřesnostem. Doporučuji proto diplomovou práci Bc. Terezy Sejpkové k obhajobě a hodnotím ji známku:

velmi dobře

V Pardubicích 19.5.2014


prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
oponent