

Oponentní posudek diplomové práce Bc. Veroniky Křemečkové

**“ Stanovení aktivity pankreatické lipázy a možnosti jejího ovlivnění “**

Předložená diplomová práce řeší stanovení aktivity prasečí pankreatické lipázy a její ovlivnění pomocí karbamátových inhibitorů, které mohou mít farmakoterapeutické a diagnostické využití.

Diplomantka prostudovala celkem 65 publikací a literárních studií v anglickém jazyce a získala teoretický základ pro aplikaci enzymatické katalýzy. V teoretické části se diplomantka věnovala popisu struktury, katalytické funkce, inhibice a fyziologické funkci lipázy. Zde se ale nevyhnula nejasnostem a chybám, např. název „karbonylový ester TAG“ (str. 18 10. ř. zdola) je chybný. Vysvětlení katalytické funkce lipázy v posledním odstavci na str. 18 je nesprávné. První uhlík glycerolu ( $-^1\text{CH}_2-$ ) je nereaktivní a nemůže proto hydroxylovou skupinu serinu atakovat. V Obr. 4 je chybně nakreslen první krok štěpení triacylglycerolu lipázou. Další popis reakčního mechanismu na str. 19 je rovněž nesprávný, a obr. 5 je také chybný. Věta „Vodíkový ion má velmi velký dipólový moment a působí jako nukleofil na prvním uhlíku“ (str. 19 6. ř. zdola) obsahuje nesprávná tvrzení. Kontrola původu těchto informací je nemožná, protože internetový odkaz na literaturu 6 je nefunkční, ani jsem ji nenalezl ve Web of science.

Dotaz 1: Jaké je správné reakční schéma katalytické funkce lipázy? Popište, nebo nakreslete jednotlivé reakční kroky.

Dotaz 2: Která nesprávná tvrzení jste uvedla ve větě o vodíkovém iontu?

Experimentální část je velmi kvalitně zpracována, nenalezl jsem v ní žádné chyby ani nepřesnosti. Volba reakčních podmínek pro měření inhibiční aktivity inhibitorů je optimální a všechny hodnoty  $\text{IC}_{50}$  byly změřeny velmi přesně s minimální směrodatnou odchylkou (Tab. 4, str.60).

V diskusi diplomantka velmi podrobně komentuje získané výsledky a v další části pak provádí analýzu struktury inhibitorů a jejich inhibiční účinnosti. Dochází ke zjištění, že neúčinnějším karbamátovým inhibitorem je inhibitor č. 3 (3-[(methoxykarbonyl)amino]fenyl (3-methylfenyl)karbamát), ( $\text{IC}_{50}$ :  $0,171 \pm 0,012$  mmol/l) a neúčinnějším salicylanilidovým inhibitorem je inhibitor č. 7 (2-(fenylkarbamoyl)fenyl dimethylkarbamát), ( $\text{IC}_{50}$ :  $0,127 \pm 0,001$  mmol/l). V závěru diplomantka uvádí, že všechny testované inhibitory vykazují: „ne příliš velkou inhibiční účinnost“ (str. 68 předposlední ř.). Zde postrádám údaj o dostatečné inhibiční účinnosti a porovnání  $\text{IC}_{50}$  známých a používaných inhibitorů s testovanými.


Dotaz 3: Jaká musí být hodnota  $\text{IC}_{50}$  aby byl inhibitor lipázy perspektivně využitelný? Porovnejte tento údaj s vašimi naměřenými hodnotami.

Diplomantka věnovala experimentálnímu vypracování diplomové práce velké úsilí a získala řadu hodnotných výsledků, které přehledně zpracovala a prezentovala. Výpočty inhibičních parametrů dokazují, že diplomantka plně zvládla experimentální postup měření enzymatické reakční kinetiky a její praktickou aplikaci.

Závěrem mého posudku konstatuji, že diplomantka splnila zadání diplomové práce ve všech bodech, předložila zprávu popisující teoretické a experimentální splnění zadaných úkolů, ke které jsem vyslovil výše uvedené připomínky. Doporučuji diplomovou práci Bc. Veroniky Křemečkové k obhajobě a hodnotím ji známkou:

**výborně – (m)**

V Pardubicích 19.5.2015

  
prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.  
oponent