

POSUDEK VEDOUcíHO DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Využití 2,6-dichlorindofenol acetátu jako substrátu pro acetylcholinesterázu**

Autor diplomové práce: **Bc. Barbora Šimková**

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**

Konzultant diplomové práce: **doc. Ing. Vladimír Pejchal, Ph.D.**

Cílem diplomová práce Bc. Barbory Šimkové bylo ověřit možnost použití 2,6-dichlorindofenol acetátu jako chromogenního substrátu pro acetylcholinesterázu.

Text diplomové práce je srozumitelný a je logicky členěn do jednotlivých kapitol. Úvodní kapitoly teoretické části jsou zaměřeny na strukturu a funkci cholinesteráz. Je popsána také role těchto enzymů v patogenezi Alzheimerovy choroby. V dalších kapitolách je uveden přehled inhibitorů cholinesteráz a možnosti jejich využití. V závěru teoretické části jsou představeny metody využívané ke stanovení aktivity a inhibice cholinesteráz.

Z důvodu nedostupnosti 2,6-dichlorindofenol acetátu u komerčního dodavatele, byl substrát pod vedením doc. Pejchala syntetizován a charakterizován na Ústavu organické chemie a technologie, FChT. Následně byly ověřovány vhodné podmínky pro stanovení aktivity acetylcholinesterázy s využitím 2,6-dichlorindofenol acetátu. Byly testovány různé koncentrace substrátu a množství dávkovaného enzymu. Za podmínek (koncentrace substrátu, množství enzymu), které byly vyhodnoceny jako nejvhodnější, byla dále testována inhibiční účinnost vybraných sulfonamidových derivátů a standardních látek (rivastigmin, galantamin a donepezil). Takto stanovené hodnoty IC_{50} byly porovnány s výsledky získanými Ellmanovou metodou. Dále byla sledována kinetika neinhibované a inhibované reakce a určeny hodnoty kinetických parametrů (K_M , V_m). U vybraného zástupce studovaných sulfonamidových derivátů byl určen typ inhibice. Z časových důvodů bylo toto provedeno pouze Ellmanovou metodou. Pro všechny studované inhibitory byl z důvodu ověření možnosti přestupu přes hematoencefalickou bariéru určen rozdělovací koeficient a topologická polární povrchová plocha pomocí programu ChemDraw. Získané výsledky byly diskutovány.

Přehled použité literatury svědčí o velmi dobré teoretické přípravě. Autorka pro zpracování diplomové práce využila celkem 87 literárních zdrojů. Po stránce stylistické a jazykové je práce na velmi dobré úrovni. Text je doplněn názornými obrázky a grafy.

Závěrem konstatuji, že i přesto, že z důvodu protiepidemických opatření bylo na zpracování diplomové práce méně času, než je obvyklé, je práce podle mého názoru zdařilá, splňuje zadání a obsahuje všechny náležitosti. Diplomovou práci **doporučuji** k obhajobě a hodnotím klasifikačním stupněm „A“.

V Pardubicích 23. 7. 2021

Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.