

HODNOCENÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autor: Bc. Veronika Lorencová
Název: Interakce biologicky aktivních látek s biomimetickými membránami
Vedoucí: RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.
Oponent: doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D.

Předložená diplomová práce je zpracována na 47 číslovaných stranách, obsahuje 29 obrázků (z toho 13 obrázků a 16 grafů), 6 tabulek a 35 odkazů na původní literaturu a další informační zdroje. Práce je členěna obvyklým způsobem. Obsahuje stručný úvod (1 strana), který základním způsobem vymezuje téma, okruh studovaných látek a použitých technik a popisuje motivaci, která vedla k sepsání diplomové práce. Teoretická část (19 stran) shrnuje základní poznatky o biologických a biomimetických membránách, jejich složkách, struktuře a vlastnostech a u umělých membrán i o způsobech jejich přípravy. Dále jsou zde stručně zmíněny principy používaných elektrochemických metod a podrobněji vlastnosti studovaných látek i stručná obecnější charakteristika skupiny nových psychoaktivních látek. Poslední kapitola v této části práce je věnována metodám stanovení rozdělovacích koeficientů a jejich kritickému porovnání. V experimentální části (9 stran) jsou uvedeny podrobnější specifikace použitých chemikálií, přístrojů a pomůcek, jsou zde podrobně popsány všechny operační postupy a provedené experimenty.

Výsledky a diskuse (14 stran) představují nejdůležitější část práce, kde jsou uvedeny veškeré dosažené výsledky, jejich interpretace a diskuse vyvozených závěrů. Jako cílové látky byly vybrány tři biologicky aktivní látky odvozené od strukturní jednotky 1,3-benzodioxolu (1,3-benzodioxol-5-yl-N-methylmethanamin, 3,4-methyldioxy-fenethylamin a 1-piperonylpiperazin). Nejprve byly studovány proudové odezvy a potenciály píků při diferenční pulsní voltametii v závislosti na pH. Na základě provedených měření byly zvoleny podmínky pro další elektrochemická měření a pro stanovení cílových látek. Jako výchozí materiál pro přípravu biomimetických membrán byl zvolen komerčně dostupný asolectin (sojový lecithin). Jelikož se fosfolipidy chovají jako povrchově aktivní látky a ovlivňují proudové odezvy elektroaktivních látek, byl v dalším kroku studován vliv přídavku asolectinu na proudové odezvy a možnost využití uhlíkových elektrod modifikovaných vrstvičkou asolectinu pro studium interakcí cílových látek s fosfolipidovou vrstvou. Tento přístup však dále nebyl využíván kvůli vysokým potenciálům oxidace, které zasahují do oblasti, kde už asolectinová vrstva není zcela stabilní. Místo toho byla pro určení rozdělovacích koeficientů využita metoda založená na měření rovnovážných koncentrací volných látek diferenční pulsní voltametii a UV-VIS spektrometrií. Metoda využívá dvoudílné cely obsahující v jedné části asolectinové liposomy oddělené nylonovou filtrační membránou od čisté vody nebo pufru a stanovení koncentrací v čistém roztoku (bez asolectinu) po ustálení rovnováhy. Touto technikou byly určeny rozdělovací koeficienty v systému liposom – voda pro dvě ze tří studovaných látek. Měření při různých koncentracích asolectinu umožnilo rovněž určení kritické liposomální koncentrace asolectinu. Jednoduché potenciometrické titrace bylo využito pro stanovení disociačních konstant studovaných látek a pro určení rozpustnosti 1-piperonylpiperazinu.

Při řešení diplomové práce bylo dosaženo celé řady zajímavých výsledků. Zvolené téma je zajímavé a aktuální, dosažené výsledky jsou důležité a přínosné pro další rozvoj analytických technik a navazující výzkum v této oblasti. Práce obsahuje minimum překlepů a formálních chyb (např. na str. 18 se jedná o několik chybějících nebo přebývajících mezer a o poněkud nestandardní popis syntézy apod.). Jako námět do případné diskuse si dovoluji připojit několik dotazů či komentářů:

- ❖ Na str. 16 je zmíněna metabolizace 1,3-benzodioxolu „V prvním kroku biodegradace těchto sloučenin obecně probíhá demethylace methyldioxolové skupiny přítomné v pětičlenném kruhu, což vede ke vzniku 2-hydroxy-1,3-benzodioxolu jako nestálého meziprojektu.“ Můžete v rámci obhajoby tento proces ještě jednou zmínit, případně doplnit reakčním schématem?
- ❖ Tvzení „Pokud nebyl na voltamogramu patrný žádný pík použité elektroaktivní značky, bylo pokrytí elektrody asolectinem považováno za dostatečně souvislé a kompaktní.“ na str. 36 a „Po snížení konečného potenciálu na hodnotu 1000 mV byl na CV zaznamenán pík - asolectinové pokrytí nebylo narušeno.“ na str. 37 je možné vnímat poněkud rozporuplně. Rovněž věta „Nejprve akumulace proběhla ve vodě bez N-BDO, aby se eliminoval možný vliv fosfátového pufru na porušení asolectinové vrstvy.“ (str. 37) není zcela jasná.
- ❖ Proč chybí kapitola „Rozdělovací koeficienty N-BDO“?
- ❖ Formulace „... během titrace bylo dosaženo 2 bodů ekvivalence, ze kterých byly vypočteny hodnoty disociačních konstant..., jako hodnoty odpovídající objemu HCl spotřebované na poloviční ztitrování do jednotlivých bodů ekvivalence...“ (str. 40-41) není příliš šťastná.
- ❖ Můžete podrobněji vysvětlit způsob výpočtu rozpustnosti 1-piperonylpiperazinu? (Například spotřeba odměrného roztoku při titraci do prvního a druhého stupně se významně liší. Jaká hodnota byla použita pro výpočet?)
- ❖ Uvažovala jste při acidobazických titracích s poměrně zředěnými roztoky vliv oxidu uhličitého, respektive uhličitánů přítomných v roztocích? Nemohl by se vliv oxidu uhličitého, respektive uhličitánů podílet na pozorovaném rozdílu ve spotřebách odměrného roztoku při titraci piperonylpiperazinu do prvního a druhého bodu ekvivalence? Je možné za těchto okolností využít pro určení disociační konstanty methyldioxyfenethylaminu úvahu uvedenou na str. 42?

Předložená diplomová práce se zabývá zajímavým a aktuálním tématem, přináší důležité výsledky a zajímavá zjištění. Svou koncepcí, rozsahem a způsobem zpracování splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a práci doporučuji k obhajobě.