

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Student: Bc. Ondřej Keresteš

Vedoucí práce: PharmDr. Marta Kučerová, Ph.D.

Konzultant: pplk. prof. RNDr. Miroslav Pohanka, Ph.D., DSc.

Název diplomové práce: Biosenzory pro testování inhibitorů cholinesteras

Acetylcholinesterasa (AChE, EC 3.1.1.7) štěpí acetylcholin v nervovém systému. Vazba acetylcholinu na receptor a následné hydrolytické štěpení v centrálních synapsích nebo na nervosvalových ploténkách umožňuje opakovaný přenos nervového vzruchu. Tím je zabezpečen vědomý pohyb a optimální kognitivní schopnosti člověka. Při styku AChE s inhibitorem dojde k jejímu zablokování, tedy ke zhoršení kognitivních funkcí a zasaženého postihnou křeče, při delší expozici může nastat smrt.

Cílem práce bylo otestovat různé přístupy v měření aktivity AChE inhibované fyzostigminem a takrinem. Dalším cílem byla příprava biosenzorů pomocí vybraných imobilizačních technik. Vyzkoušeny byly tři postupy imobilizace – dva s použitím elektrochemických detektorů, kdy byla cílem optimalizace metody stanovení aktivity AChE měřením rozdílu pH (AChE kotvena v chitosanové membráně), nebo chronoamperometricky (AChE sorbována na tištěné elektrodě). Třetí zkoumanou cestu zahrnovala imobilizace AChE na magnetické částice, kdy analýza probíhala spektrofotometricky, a to optimalizovanou Ellmanovou metodou. Použita byla AChE z paúhoře elektrického, v případě tištěných zařízení byla použita i lidská rekombinantní forma AChE.

Byly stanoveny Michaelisovy konstanty AChE (K_M) a tzv. 50% inhibiční koncentrace, tj. koncentrace inhibitoru, při nichž je AChE zablokována z 50 % (IC_{50}).

V současné době probíhá výzkum analytických metod v oblasti biosenzoriky jak pro ochranu před zásahem nervově paralytickými látkami, tak pro zkoumání účinku inhibitorů užívaných k léčbě Alzheimerovy nemoci. Další možností použití biosenzorického stanovení inhibitorů je oblast analýzy životního prostředí (stanovení přítomnosti pesticidů). Biosenzory tak mají potenciálně velmi širokou uplatnitelnost.