

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Studijní program: Zdravotnická bioanalýtika

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Bc. Ondřej Keresteš**

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

Rok obhajoby: 2020

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

Oponent/ka: PharmDr. Lukáš Lochman, Ph.D.

Název práce:  
**Biosenzory pro testování inhibitorů cholinesteras**

---

Rozsah práce:

počet stran: 60, počet obrázků: 7, počet tabulek: 6, počet grafů: 9, počet citací: 116

**Hodnocení práce:**

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: velmi dobrá
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): velmi dobré
- d) Kvalita získaných experimentálních dat: velmi dobrá
- e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): dobré
- f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: dobré
- g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: dobrá
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: dobrá
- i) Splnění cílů práce: výborné
- j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: výborné
- k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): dobrá
- l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): velmi dobrá

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená diplomová práce se věnuje přípravě nových biosenzorů pro testování inhibitorů cholinesteras. Vlastní přípravě biosenzorů předcházela optimalizace metodiky pro pH-metrické stanovení aktivity AChE. Nové biosenzory byly založeny na imobilizaci AChE na chitosanovou membránu (pH-metrické stanovení aktivity AChE) nebo navázány na modifikovaný povrch magnetických částic se stanovením aktivity AChE spektrofotometricky dle Ellmanovy metody. Autor během své zahraniční stáže připravil také tištěný papírový biosenzor umožňující chronoamperometrické stanovení aktivity AChE. Možná budoucí aplikace biosenzorů byla doložena stanovením vybraných inhibitorů AChE (fyzostigmin, takrin) a vypočtením jejich IC<sub>50</sub> a LOD. V závěru práce jsou parametry připravených biosenzorů srovnány.

Práce je přehledně členěna na Úvod, Cíle práce, Teoretickou část, Experimentální část, Výsledky a diskusi a Závěr. Cíle práce byly jasně definovány. Teoretická část je poměrně dobře sepsaná s minimem překlepů, avšak text je těžkopádný a některé části by měly být více rozepsány. V Experimentální části by měly být více rozepsány postupy. V části Výsledky a diskuze by měla být data lépe zpracována a komentována. Některé tabulky jsou spíše matoucí. V Závěru práce nejsou dostatečně shrnuty a vzájemně porovnány všechny dosažené výsledky. Pozitivně hodnotím odstavec s budoucími plány a vizemi. V práci nechybí Seznam zkratk a uvedení zdrojů Citované literatury. Práce byla již dříve konzultována, ale některé části nebyly přesto přepracovány! I tak byly cíle práce splněny a práci doporučuji k obhajobě.

#### Dotazy a připomínky:

Který z přístupů přípravy biosenzorů pro testování inhibitorů cholinesteras hodnotíte jako nejperspektivnější? Jaká by byla zamýšlená aplikace biosenzoru a případné analyty?

Jaké je rozdělení biosenzorů z hlediska biologické složky?

Jaký je rozdíl mezi LOD a LOQ? LOD není mez stanovitelnosti, jak je uvedeno v textu!

Rozdělení inhibitorů na reverzibilní a nereverzibilní dle délky působení není přesné, prosím vysvětlíte! Prosím také o objasnění pojmu nekompetitivní inhibitor. Uveďte příklady látek!

Úvod a Str. 19 nesrozumitelná definice biosenzoru. Prosím o objasnění! Jaké jsou

nejpoužívanější převodníky a jejich principy?

Str. 38. Každá elektroda byla použita k jednorázovému měření. Jaká byla variabilita výsledků v triplikátu? Liší se mezi sebou vyrobené elektrody?

Graf 2 a 3. Objasněte, co znamená použití 1 a 2?

Str. 42. Za jakých podmínek může být chitosanová membrána stabilní? Stabilita popisovaná autorem se mi jeví jako diskutabilní (nárůst aktivity během 4 dnů a následné snížení aktivity o 20%)! Text práce popisuje výsledky pracoviště a věnuje minimum popisu vlastních experimentálních výsledků! Zcela chybí závěrečné zhodnocení!

Str.45. Není důvodem rozdílných konstant KM úhoří a lidské AChE jejich rozdílný původ?

Nebo je to skutečně dáno rozdílnou viskozitou, kterou popisuje autor DP. Pokud je důvodem viskozita, proč se nepřipravil více naředěný roztok s nižší viskozitou?

#### Komentáře:

9 referencí pro Ellmanovu metodu v Úvodu je příliš mnoho, DP je experimentálního (ne řešeršního) charakteru.

Pro útoky NPL (str. 17) jsou použity nevhodné novinové reference 37, 40, 41, 42 – autor by se měl držet prohlášení oficiálních organizací (např. OPCW).

Kapitola 3.2.1 Testované inhibitory – testované autorem DP? Název nedává smysl!

2. odst. kapitoly 3.2.1.1. Fyzostigmin kompletně kopíruje informace ze str. 15 (3. odst.).

Str. 22. Poslední odstavec nepatří do teoretického úvodu, ale popisuje průběh práce!

Tab. 6. LOQ chybí, i když jsou uvedeny v názvu tabulky!

Grafy 2 a 3, dále 5 a 6 a také 8 a 9. Bylo by dobré křivky zakreslit do jednoho grafu. Bude poté možné výsledky lépe porovnat!

#### Formální nedostatky a nevhodné formulace:

Číslování kapitol (např. 3.2.1.1.) velmi snižuje přehlednost! „Syntetizován“ do českého textu nepatří - byl připraven! Čidlo = rozpoznávací část. "přemrštěná" imunitní odpověď;

"citlivějších" bílkovin; "způsobila nárůst absorbance v rozmezí 0,5-1 v rozmezí 2-5 min";

Obr. 4. Chybí překlad popisků, vysvětlení zkratk a veličin v popisu pod obrázkem. „Gate“ je opravdu překládáno jako hradlo? Provedení nutných změn bylo konzultováno již dříve, a nebylo upraveno!

#### Překlepy:

původním autorských dílem; Organisation for the Prohibition of Chemical weapons; 2-nitro-5-sulfanylbenzoová kyselina); byl při přípravě další přípravě; zároveň byl spuštěno; o 50 µl

ponížen objem; způsobeno i zkreslením programem; počítat s případnou nízkomolekulárních antioxidantů.; limity této u metody byly; sensor; ul; nebo použití sarinu a ve válce.

**Celkové hodnocení, práce je: dobrá, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 27. 5. 2020

.....  
podpis oponentky / oponenta