

Posudek školitele na diplomovou práci Bc. Terezy Schimperkové

Určování asociačních konstant komplexů enantiomerů dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů s 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinem kapilární elektroforézou

Bc. Tereza Schimperková začala pracovat na své diplomové práci v Laboratoři elektromigračních metod Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky od čtvrtého ročníku svého studia v magisterském studijním programu, Chemie životního prostředí. V tomto úvodním roce se věnovala převážně studiu teoretických základů kapilárních elektromigračních metod a postupně se seznamovala i s instrumentálním vybavením laboratoře a s metodikou jednotlivých kapilárních elektroseparačních technik a s jejich využitím nejen při analýze, ale i při fyzikálně-chemické charakterizaci široké škály látek. Již od počátku projevovala o tématiku diplomové práce velký zájem a snažila se seznámit se s danou problematikou co nejúplněji. Zpracovala podrobný literární přehled využití různých módů kapilární afinitní elektroforézy ke studiu interakcí biomolekul, zejména pro stanovení kvantitativní charakteristiky síly těchto interakcí, asociační konstanty.

Z pestré škály interakcí biomolekul studovaných kapilárními elektromigračními metodami hrají významnou roli interakce enantiomerů aminokyselin, peptidů a jejich derivátů s chirálními selektory cyklodextrinového typu, které jsou široce využívány pro chirální analýzu těchto biomolekul. Studium interakcí tohoto typu bylo i námětem předkládané diplomové práce. Zkoumanými analyty byly enantiomery dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů, N-Ac- β -Ala-D,L-Tyr, β -Ala-D,L-Tyr-NH₂ a β -D-fruktopyranosyl- β -Ala-D,L-Tyr, a komplexy těchto peptidů s chirálním selektorem, 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinem (2-HP- β -CD). Dipeptid β -Ala-Tyr byl na našem pracovišti izolován z hemolymfy larev masařky *Neobellieria bulata* jakožto složka podílející se na imunitní odpovědi proti mikrobiální infekci. Pomocí kapilární elektroforézy s výše uvedeným chirálním selektorem 2-HP- β -CD bylo prokázáno, že izolovaný dipeptid je enantiomer β -Ala-L-Tyr. Tento peptid a jeho deriváty jsou na našem pracovišti studovány jako potenciální antibiotika nového typu, která by měla nahradit dosavadní antibiotika, vůči kterým začínají být mikrobiální původci nemocí stále více resistantní. Je tedy zřejmé, že studium interakcí těchto peptidů s cyklodextriny, na jehož základě bude možné provádět analýzu a identifikaci jednotlivých enantiomerů těchto peptidů, je aktuální a vědecky i prakticky významné téma.

Vývoj nové kapilárně elektroforetické metody pro stanovení asociačních konstant komplexů enantiomerů dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů s 2-HP- β -CD byl náročný úkol, neboť tyto peptidy byly syntetizovány poprvé a jejich vlastnosti a charakteristiky nebyly známy. Diplomantka

se s obtížností tohoto úkolu výborně vyrovnala, postupovala podle racionálně vypracované strategie, kdy podmínky analýzy byly voleny na základě spočtené závislosti efektivního a specifického náboje peptidů na pH a chirální selektor byl zvolen na základě předchozích výsledků získaných v Laboratoři elektromigračních metod. Enantiomery peptidů s volnou aminoskupinou, β -Ala-D,L-Tyr, β -Ala-D,L-Tyr-NH₂ a β -D-Fru- β -Ala-D,L-Tyr a jejich komplexy s 2-HP- β -CD byly analyzovány jako kationty v kyselých základních elektrolytech, enantiomery peptidů s volnou karboxylovou skupinou, β -Ala-D,L-Tyr, N-Ac- β -Ala-D,L-Tyr a β -D-Fru- β -Ala-D,L-Tyr, a jejich komplexy s 2-HP- β -CD byly analyzovány jako anionty v alkalických základních elektrolytech, v obou případech při různých koncentracích chirálního selektoru 2-HP- β -CD v základním elektrolytu. Ze závislosti efektivní pohyblivosti enantiomerů peptidů na koncentraci 2-HP- β -CD v BGE byly pak stanoveny asociační konstanty komplexů enantiomerů těchto peptidů s 2-HP- β -CD. Přitom efektivní pohyblivosti peptidů byly korigovány s ohledem na různou aktuální teplotu a viskozitu základních elektrolytů při různých koncentracích chirálního selektoru a při různých příkonech (Jouleových teplech). Důležitou součástí diplomové práce bylo i hledání podmínek pro co nejlepší rozlišení enantiomerů výše uvedených peptidů, proto byly separace prováděny v kyselých i alkalických základních elektrolytech a při různé iontové síle.

Oceňuji, že při vývoji nových metod diplomantka postupovala racionálně a cílevědomě, s využitím svých velmi dobrých znalostí jak v oblasti elektroseparačních metod tak i v obecné, analytické a fyzikální chemii a ve výpočetní technice. Její experimentální práce se vyznačovala zručností, vysokou pečlivostí a precizností. Práci si dobře organizovala, aby v daném čase (o přístroj se musila dělit s dalšími členy pracovní skupiny) stihla co nejvíce experimentů. Experimentální data průběžně bezprostředně vyhodnocovala a výsledky přehledně třídila. Velkou pozornost věnovala i sepisování diplomové práce a to po věcné i formální stránce.

Rád konstatuji, že cíle diplomové práce byly úspěšně splněny, diplomová práce přináší nové cenné poznatky o síle interakcí enantiomerů antimikrobiálního dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů s chirálním selektorem 2-HP- β -CD v kyselém i alkalickém prostředí. Vyvinuté metody mohou být dále využity při chirálních separacích výše uvedených peptidů při studiu jejich antimikrobiálních aktivit. Diplomovou práci Bc. Terezy Schimperkové proto jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 16.5.2008



RNDr. Václav Kašička, CSc.

Školitel-konzultant
Laboratoř elektromigračních metod
ÚOCHB AV ČR