

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra Farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Lukáš Konečný**

Vedoucí práce: Prof. PharmDr. Přemysl Mladěnka, Ph.D.

Rok obhajoby: 2021

Garant práce: Oponent/ka: PharmDr. Pavel Jáč. Ph.D.

Název práce:

Příprava metodiky pro zjištění míry chelatace iontů vápníku a hořčíku

Rozsah práce: počet stran: 50, počet obrázků: 22, počet tabulek: 2, počet citací: 52

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce Lukáše Konečného popisuje vývoj spektrofotometrické metody pro stanovení chelatace Ca^{2+} a Mg^{2+} . Pro tento účel bylo využito činidlo o-kresolftalejn komplexon (CC), jež také vytváří barevné komplexy s výše jmenovanými ionty. Předložená diplomová práce má standardní členění a formálně splňuje všechny nároky na tento typ prací. V teoretické části je stručně a výstižně shrnuta problematika fyziologie Ca^{2+} a Mg^{2+} . Autor se dále věnuje problematice chelatační terapie a popisuje chelátory pro tyto dva kationty. Část věnující se metodice detekce Ca^{2+} a Mg^{2+} je poměrně stručná. V praktické části autor popisuje vývoj nové metodiky, při jejímž vypracování vychází ze zkušeností pracovní skupiny svého školitele prof. Mladěnky. V práci je popsán a diskutován výběr vhodné vlnové délky pro stanovení koncentrace Ca^{2+} a Mg^{2+} , citlivost nové metody, stabilita reagensů a je i demonstrována aplikace metodiky pro stanovení míry chelatace vybraných kationtů chelatačním činidlem EDTA.

Z formálního hlediska mám k práci jen drobné připomínky. V práci je minimum překlepů či neobratných formulací. Např. tato věta na straně 44 mi moc nedává smysl: „Protože se citlivost projevila u nejnižší koncentrace, byly koncentrace vápníku ještě sníženy“. Na straně

43 není dokončená druhá věta. Ačkoliv autor v práci píše o vápenatých a hořečnatých iontech, často používá i nepřesné výrazy „vápník“ a „hořčík“. Ve schématu rovnice (viz Obr. 4) chybí náboj!

Dotazy a připomínky:

1. Na str. 16-18 popisujete chelataci Ca^{2+} a Mg^{2+} pomocí různých chelatačních činidel. V případě EDTA nediskutujete vliv pH na stabilitu vzniklých chelátů. Může být chelát $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ s EDTA dostatečně stabilní při pH 7,5? Je tedy výsledek na straně 43 překvapivý či nikoliv? Jaký byste očekával výsledek při nižším pH (např 4,5) a jaký při pH 10? V práci chybí porovnání stabilitních konstant pro komplexy $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ s EDTA a s CC.
2. Na straně 24 píšete o přidavku 150 μl 3 mM CC. Jak bylo toto množství a koncentrace zvoleno? Bylo optimalizováno? Jaká je stechiometrie komplexu $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ s CC?
3. Sekce 5.7 a 6.3: U citlivosti metodiky nezmiňujete žádné údaje k t-testu. Jaký typ t-testu byl použit, jaká byla nulová hypotéza? V některých částech textu píšete, že se druhé měření opakovalo po 15 minutách (str 26), ale dále zmiňujete 20 minut (strana 38)? Předpokládám, že druhý údaj je správně. Toto je tedy třeba opravit. U obrázku 14 a 15 chybí absorbance negativního slepého vzorku.
4. Část 5.8 a 6.4: V části 5.8 chybí údaj o koncentraci přidávaného roztoku Ca^{2+} a Mg^{2+} . Byla finální koncentrace $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ opravdu 450 μM ? Pokud ano, proč byla výrazně vyšší než u předchozích měření při ověření linearity? V příslušných kapitolách chybí podrobný popis o typu statistického testu a jeho interpretaci pro tuto část práce. Co je zobrazeno na ose Y? Čím si vysvětlujete výrazný pokles absorbance ve 24. dni?
5. Část 5.10 je napsána poměrně nepřehledně. Jaký vzorec byl použit pro výpočet míry chelatace (řádek 3 vs 8)?
6. Čím si vysvětlujete velmi podobnou až shodnou absorbanci M^{2+} o koncentraci 20 a 39 μM (viz Obr 6A a 8A)?
7. V tabulce 2 chybí hodnoty r^2 .

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

V Hradci králové dne 20. 5. 2021

.....
podpis oponentky / oponenta