

POSUDOK

na dizertačnú prácu Mgr. Františka Červenku „Bioassay guided separace metabolitů vybraného rostlinného druhu – *Evolvulus alsinoides*“

Predložená dizertačná práca Mgr.F. Červenku sa zaoberá moderným trendom v štúdiu biologicky aktívnych látok spočívajúcim v izolácii rastlinných metabolitov za využitia techniky „bioassay-guided“ separácie. Jej hlavným cieľom bolo vypracovať jednoduchú metódu spracovania rastlinného materiálu od extrakcie po získanie čistých látok sprevádzanú a cielene upravovanú podľa výsledkov vhodných biologických testov. Ako modelová rastlina bola vybratá *evolvulus kuříčkovitý* – *Evolvulus alsinoides* L. z čeľade Convolvulaceae, ktorá je z literatúry známa, avšak v stredoeurópskom teritóriu nebola doposiaľ podrobne študovaná.

Teoretická časť je venovaná charakteristike rastliny *Evolvulus alsinoides* L. a čeľadi Convolvulaceae. Stručne sú uvedené málo známe obsahové látky a ďalšie predpokladané málo preskúmané látky z čeľade Convolvulaceae, použitie tejto rastliny v indickej medicíne a prípravky s jej obsahom. Časť biologická aktivita je zameraná na účinky hľadaných látok v tejto čeľadi.

V experimentálnej časti sú uvedené použité laboratórne potreby, extrakčné metódy, separácie, štruktúrne analýzy a hodnotenie biologickej aktivity. Rastlinný materiál bol po extrakcii vytrepaný do rôznych organických rozpúšťadiel. Polárny podiel bol separovaný na rôznych nosičoch. Na získanie jednotlivých frakcií a čistých látok doktorand využil separačné metódy za použitia stĺpcovej chromatografie a preparatívnej tenkovrstvovej chromatografie. Podobným spôsobom boli separované éterové a petroléterové frakcie. Izolované čisté látky sa identifikovali meraním niektorých fyzikálno-chemických charakteristík (teplota topenia, optická otáčavosť, IČ, UV, NMR, GC/MS spektrá). Zvňate bolo takýmto spôsobom izolovaných 10 látok (3 kumaríny – umbeliferón, skopolín a skopoletín, 2-metyl-1,2,3,4-butántetrol, ester kyseliny ferulovej a masné kyseliny – 8-metyldekánová, heptadekánová, olejová, palmitová a stearová).

Druhá časť experimentálnej práce je venovaná stanoveniu izolovaných látok – kumarínov, 2-metyl-1,2,3,4-butántetrolu a fenolových látok, hodnoteniu biologickej aktivity (antioxidačná aktivita DPPH testom, FRAP testom a antiagregačná aktivita) a uskutočnili sa alternatívne testy akútnej toxicity a fototoxicity niektorých frakcií a izolovaných kumarínov. Antifungálna aktivita stanovená dilučnou metódou bola dokázaná u izolovaných kumarínov.

Možno konštatovať, že dizertačná práca svojimi cieľmi, zvolenými metódami štúdia, dosiahnutými výsledkami a úrovňou ich spracovania v plnom rozsahu zodpovedá všetkým požiadavkám kladeným na tento druh práce. Zapadá do kontextu výskumného programu katedry, je jej integrálnou súčasťou. Je napísaná na veľmi dobrej odbornej úrovni.

Dizertačná práca je napísaná prehľadne. Má 130 strán, obsahuje 50 tabuliek, 43 obrázkov, 37 vzorcov, záznamy spektier chromatogramov. V časti literatúra je citovaných 131 prác.

K práci mám nasledujúce pripomienky:

1. V práci sa vyskytuje len málo preklepov
2. Nejednosť v názve kvercetín/quercetín, quercitrín (s. 19/25)
3. s. 32 – štandardy flavonoidov: aeskulín?
4. V časti chemikálie a rozpúšťadlá by bolo vhodnejšie uvádzať zvlášť porovnávacie štandardy a zvlášť chemikálie

Otázky:

1. s. 14 – alkaloid evolvin doposiaľ neznámej štruktúry; ktorá literatúra ho uvádza, ako bol popísaný
2. s. 16 – čeľaď Convolvulaceae – prítomnosť tropánových alkaloidov – čím sa líšia od známych čeľade Solanaceae
3. s. 17 – prítomnosť námeľových alkaloidov v čeľadi Convolvulaceae – o aké alkaloidy ide u zástupcoch Convolvulus na ich produkcii sa môžu podieľať niektoré druhy húb (podobne ako u námeľových alkaloidov?)
4. s. 39 – suchá droga – vňať – zber vňate v ktorom roku?
123 litrov extraktu – odparovanie; po odparení ?g extraktu – aký bol pomer droga:extrakt
5. s. 45 resp. 68 – hodnoty UV spektra nie sú rovnaké (skopoletín 4 max., 2 min/5 max., 4 min); podobne u ostatných kumarínov
6. s. 46 – popíšte odsatie kryštálov na mikrofiltračnom zariadení
7. s. 55 – hydrolýza skopolínu alkalickým hydroxidom; akým iným spôsobom by sa dala ešte uskutočniť
8. s. 94 – prítomnosť fenolových látok – antioxidačná aktivita – ktoré z látok tohto typu môžu byť zodpovedné?

Záver: Dizertačnú prácu Mgr. Františka Červenku hodnotím pozitívne. Doktorand preukázal schopnosť samostatne vedecky pracovať, tvorivo riešiť teoretické a praktické otázky študovanej problematiky, orientovať sa v odbornej literatúre a zverejňovať výsledky svojej práce. Predložená práca spĺňa všetky kritéria vedeckej práce tohto druhu. Preto odporúčam, aby bola hodnotená kladne a aby po úspešnej obhajobe bola doktorandovi udelená vedecko-akademická hodnosť philosophiae doctor (PhD.)

V Bratislave 10.07.2009

Prof. RNDr. Daniel Grančai, CSc.