

Oponentský posudek

Bakalářka: Petra Kolářová

Studijní obor: Chemie životního prostředí

Bakalářská práce: Preparativní diastereomerní dělení silybinu a jeho sulfátů pomocí RP-HPLC

Předkládaná bakalářská práce Petry Kolářové je zaměřena na vývoj preparativní HPLC metody pro dělení diastereomerů silybinu, který se získává z rostliny ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) ve formě ekvimolární směsi diastereomerů. Dále se tato práce zabývá optimalizací preparativní HPLC metody pro dělení směsi produktů vznikajících při sulfataci silybin-23-acetátu.

V rešeršní části bakalářské práce autorka popisuje sloučeniny získávané extrakcí z výše uvedené rostliny, a zmiňuje také pozitivní účinky silybinu na lidský organizmus. V této části je též uveden přehled chromatografických metod zabývajících se analýzou silybinu či dělením jeho diastereomerů. V experimentální části autorka testuje vliv složení mobilní fáze na separaci diastereomerů silybinu pomocí preparativní HPLC při použití kolony s reverzní fází C18 za účelem získání čistých frakcí diastereomerů silybinu A a silybinu B. Preparativní chromatografická metoda pro dělení reakční směsi po sulfataci silybin-23-acetátu byla též vyvíjena během řešení této práce.

Celkově je práce sepsána přehledně a srozumitelně, je vhodně členěna do kapitol a obsahuje minimum překlepů.

K práci bych měla následující připomínky a dotazy:

- 1) Na straně 13 uvádíte, že flavonoidy se nacházejí v plodech, listech a květech mnoha rostlin (zelený a černý čaj, červené víno, ginkgo biloba). Zelený a černý čaj a červené víno nejsou rostliny. Lepší by bylo psát čajovník čínský, réva vinná a jinan dvoulaločný. Též by bylo vhodné sjednotit latinské a české názvy.
- 2) Na straně 14 je znázorněna biosyntéza silybinu. Jaké další flavonolignany kromě silybinu vznikají při této reakci?
- 3) Na str. 14 je uvedeno, že struktura ani biologická aktivita sulfátů silybinu není dosud známá. Je tomu tak i u glukuronidů silybinu?
- 4) Popis jednotlivých separačních podmínek HPLC metod v kapitole 2.8 je často neúplný. Především změny složení mobilní fáze při gradientové eluci nejsou popsány.

- 5) V kapitole 2.8 uvádíte: „Martinelli a kolektiv v roce 1991 popsali HPLC metodu pro dělení silybinu ze silymarinu atd. Metoda však nedělí diastereomery silybinu a *n*-hexan je značně toxický.“ Tato publikace není zaměřena na dělení diastereomerů silybinu, ale na kvantitativní stanovení silybinu z krevní plazmy a moči.
- 6) Zkoušela jste též použít ACN místo MeOH jako organický modifikátor v mobilní fázi při vyvíjení preparativní chromatografické metody pro dělení diastereomerů silybinu?
- 7) Jakým způsobem jste identifikovala pík silybinu A a silybinu B v chromatogramech?
- 8) V kapitole 4.2 uvádíte, že 40 mg silybinu bylo rozpuštěno v 200 μ l DMSO a nadávkováno na kolonu. Rozpustnost silybinu v DMSO je ale pouze 10 mg/ml. Jedná se o překlep nebo existuje jiné vysvětlení?
- 9) Pro chromatografické dělení reakční směsi po sulfataci silybin-23-acetátu byla používána směs MeOH/voda 60/40 (v/v) s různými aditivy. Zkoušela jste i jiný poměr methanolu a vody v mobilní fázi?
- 10) Jaké koncentrace frakcí silybinu A a B byly použity pro zjištění jejich čistoty pomocí analytické HPLC?

Předkládaná bakalářská práce má všechny požadované náležitosti a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze dne 8.6.2010

Květa Kalíková