

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **PharmDr. Jakub Chlebek, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2016

Autor/ka práce: Aneta Vítovcová

Název práce:

Biologická aktivita sekundárních metabolitů rostlin IV. Alkaloidy Vinca minor L.

Rozsah práce: počet stran: 54, počet grafů: 0, počet obrázků: 23,

počet tabulek: 7, počet citací: 63, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: velmi dobrá
- f) Diskuse, závěry: dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce (DP) Anety Vítovcové je napsána konzistentně s minimem překlepů. Teoretická část je složena ze 2 hlavních oblastí. První část se věnuje popisu Alzheimerovy choroby (AD) z hlediska klinického obrazu, etiologie a farmakologie; druhá část je zaměřena na Vinca minor L. V této kapitole nechybí stručná botanická charakteristika, včetně taxonomického zařazení a hlavní důraz je kladen na obsahové látky a jejich biologickou aktivitu, neboť cíl DP byl zaměřen na izolaci alkaloidů z vybraných frakcí a jejich potenciální biol. aktivitu využitelnou u AD. V rámci experimentální DP se studentce podařilo izolovat 2 látky v čisté formě (vinkaminorin a vinkorin). Tyto alkaloidy byly podrobeny in vitro studii na jejich inhibiční aktivitu vůči lidským cholinesterasám. Vinkoramin nevykazoval významnou inhibiční aktivitu vůči cholinesterasám, zatímco vinkorin byl shledán silným inhibitorem butyrylcholinesterasy.

Dotazy a připomínky: V DP bych doporučil psát názvy enzymů a sloučenin podle pravidel IUPAC (např. správně psát cholinesterasa vs. v DP použitý termín cholinesteráza, správně psát galanthamin - v práci psáno galantamin). Latinské názvy rostlin se píšou kurzívou (Ginkgo biloba - str. 19). Citace literatury se píše ve větě nebo odstavci, ke které se citace vztahuje. V rámci kapitoly "Alkaloidy Vinca minor" bych uvítal, aby u jednotlivých strukturních typů byl vyobrazen chem. vzorcem alespoň jeden alkaloid - čtenáři neznalým znalosti strukturních typů alkaloidů z V. minor to poskytne lepší představu v rozlišnosti struktur jednotlivých typů Vinca minor alkaloidů.

Sepsaná experimentální částí DP silně kvalitou pokulhává za velmi dobře sepsanou teoretickou částí. Extrakce drogy a zpracování celkového sumárního i čištění získaného alkaloidního extraktu studentka neprováděla – v experimentální části DP i abstraktech má být uvedeno, že tuto část zpracovával v rámci své doktorské práce ing. M. Ločárek (možnost zabránění případného sporu o autorství této části v rámci obhajoby jeho disertační práce). Při pokusu o zjednodušený popis extrakce a zpracování alkaloidního extraktu došlo k sepsání postupu, který je dost matoucí, nepřesný a neproveditelný pro opakování - odstavec na str. 36. Další 2 následující odstavce na straně 36 by v DP neuváděl, protože alkaloidy pro následnou separaci nebyly převedeny na fenoláty bazí - v mikroměřítku se tento separační postup neosvědčil. Přečištění chloroformového (CHCl₃) výtřepku A je rovněž popsáno velice stručně a matoucími zúsobem - chybí uvedení množství adsorbentu potřebného pro tento proces, jeho zrnitost, množství čištěného alkaloidního extraktu, objem použitého CHCl₃ pro eluci alkaloidů z adsorbentu. Použití 20 ml směsi CHCl₃+EtOH na závěrečnou eluci alkaloidů z kolony při získání 201 g tmavě hnědého, velmi viskozního odparku a 94 g hnědého pěnovitého odparku ze směsi CHCl₃+EtOH, je objemově naprosto nedostačující pro provedení.

V kapitole 4.2.4 Separace alkaloidů z vybraných frakcí je postup separace alkaloidů z vybraných frakcí č. 2 a 5 velice stručný. Uvítal bych u daných frakcí TLC nebo GC chromatogramy pro představu, jak jednotlivé frakce byly kvalitativně a kvantitativně alkaloidy zastoupeny. U jednotlivých získaných podfrakcí z prep. TLC obou frakcí bych uvítal uvedení jejich R_f faktorů. Frakce č. 5 byla separována flash chromatografií - popsaným způsobem nelze separaci alkaloidů zopakovat - chybí popsání gradientu mobilní fáze. Kapitola 4.4.3 bych nenazval "Příprava erytocytních pouzder", neboť k přípravě čistých erytocytních pouzder nedošlo - e. pouzdra se pro stanovení inhibiční aktivity vůči AChE skupina ADINACO již několik let nepoužívá. V kapitole 5, Výsledky 5.1. Strukturní analýza chybí NMR spektra, jejich interpretace i hodnoty optické otáčivosti. Diskuze této DP je opravdu chabá, nebylo ji věnováno dostatek pozornosti. Závěrem - škoda, že sepsávání experimentální části a diskuzi DP nebyla věnována náležitá pozornost, protože teoretická část DP naznačuje, že potenciál autorky pro lepší sepsání experimentální části práce tu je.

Otázky:

1. Je huperzin A aktivní jako inhibitor AChE jen v levotočivé formě ? - str. 17
2. Lze jednoznačně určit strukturu látku jen na základě GC-MS?
3. Je možné pomocí GC-MS určit i optickou otáčivost sloučeniny?
4. Můžete popsat průběh separace frakce č. 5 flash chromatografií?
5. V diskuzi je uvedeno, že galanthamin i huperzin A mají podobnou inhibiční aktivitu vůči AChE, je tomu opravdu tak?

Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 20.5. 2016

.....
podpis oponentky / oponenta