

Oponentský posudek

**Doktorská disertační práce, autor Mgr. Kateřina Purchartová:
“Enzymatic and Metabolic Transformation of Silybin and its Congeners“**

Oponent: Prof. Ing. Tomáš Macek, CSc.

Mgr. Purchartová se ve své disertační práci věnuje studiu flavonolignanů. Tato skupina přírodních látek má velmi významné účinky využitelné v medicíně. Je známo, že jsou metabolizovány zejména pomocí sulfatace, ovšem většina vznikajících metabolitů nebyla dosud známa, natožpak charakterizována, a ani ji nelze zakoupit. Autorka se proto věnovala přípravě a charakterizaci velmi širokého spektra sulfatovaných derivátů silymarinu. Jedná se o velmi zdařilou práci s vysoce aktuálním tématem. Pro práci byly použity rekombinantní savčí a mikrobiální aryl sulfotransferasy. Byla získána řada zcela unikátních sulfatovaných produktů mnoha kongenerů silybinu a získané produkty byly plně charakterizovány pomocí HRMS a NMR. Domnívám se, že výsledky získané v rámci předložené práce budou mít mnohem širší význam i pro pochopení procesů, jimiž flavonolignany přispívají k ochraně jaterních buněk, i chemoprotektivním a antioxidačním účinkům.

Disertace byla vypracována v Laboratoři biotransformací Mikrobiologického ústavu Akademie věd České Republiky. Některé experimenty byly díky rozsáhlé grantové spolupráci školícího pracoviště prováděny disertantkou i v zahraničí (Dánská Technická Universita a CNR v Itálii). Kromě toho se podílela na spolupráci s výzkumnými institucemi v ČR i v zahraničí. Předložená disertační práce měla za cíl nalézt enzymy vhodné pro sulfataci vybraných flavonolignanů a flavonolů, exprimovat tyto aryl sulfotransferasy v *E. coli* a využít je pro přípravu metabolitů silybinu, isosilybinu, dehydrosilybinu, silychristinu, silydianinu, kvercetin, taxifolinu, isokvercitrinu a rutinu, dále izolovat, vyčistit a plně tyto metabolity charakterizovat.

Předložená práce představuje rozsáhlý soubor úkolů a byla pojata vysoce komplexně. Disertantce se zdařilo velmi dobře skloubit znalosti enzymologie a molekulární genetiky s metodikou studia přírodních látek a analytickými přístupy. Výsledkem práce jsou unikátní a velmi zajímavé poznatky shrnuté v sedmi vybraných publikacích, které tvoří přílohy předkládané práce.

Disertaci hodnotím jako zcela přiměřenou a dobře vyváženou. Do strany 24 je tvořena pečlivě připraveným souhrnem znalostí o jednotlivých testovaných sloučeninách a jejich derivátech, následuje 15 stran souhrnu výsledků a diskuse. Většinu disertační práce zahrnují přílohy, 7 článků v renomovaných časopisech, kde jsou podrobně uvedeny metodické detaily i experimentální výsledky s diskusí. Použitý seznam literatury zahrnuje přes 150 článků.

Autorka prezentuje výsledky různých metodických přístupů, je zřejmé, že zvládla široké spektrum metod mikrobiologie, biochemie, molekulární biologie i organické chemie, v míře potřebné pro splnění nároků zadání. Práce shrnuje unikátní experimentální výsledky. Předložená práce je nesporným přínosem ke studiu a pochopení biologické aktivity flavonolignanů a jejich derivátů. Publikační aktivita disertantky je velmi kvalitní, je autorkou

či spoluautorkou deseti publikací (3 x první autor), tří přednášek a první autorkou deseti posterů na mezinárodních konferencích v zahraničí.

Práce je sepsána dobrou angličtinou, čtivě, práce působí čistým a přehledným dojmem. Obsahová i grafická úroveň práce je vysoká.

Nemám připomínky, které by snižovaly odbornou úroveň předložené práce.

Mám pouze následující dotazy, zda je již možná syntéza uvedených metabolitů ve větším měřítku, zda byl proveden scale-up? Další dotaz se týká využití získaných látek, jaká je představa, že budou využívány v praxi?

Závěr hodnocení:

Disertace Mgr. Purchartové přinesla řadu nových zajímavých výsledků, jakož i podnětů pro další práci. Výsledky potvrzují její schopnost zvolit vhodnou strategii k řešení zadané problematiky, zvládnout a zdokonalit potřebné metody a kriticky zhodnotit a publikovat dosažené výsledky v kontextu současného vědeckého poznání, a splnila cíle zadání.

Předložená práce dle mého názoru splňuje dle Studijního a zkušebního řádu PřFUK požadavky kladené na disertační práci, disertantka prokázala odbornost a způsobilost k vědecké práci a proto doporučuji přijmout práci k obhajobě.

V Praze dne 4. 6. 2016

Tomáš Macek

Prof. Ing. Tomáš Macek, CSc.

Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Technická 3, 16628 Praha 6, ČR

tel. 220 445 139, mobil 732 826 353

tomas.macek@vscht.cz