

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Alice Dohnalová**

Vedoucí/školitel/ka práce: doc. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.,

Rok obhajoby: 2017

Konzultant/ka práce: vyplňte, pokud je

Oponent/ka práce: PharmDr. Anna Hošťálková, Ph.D.

Název práce:

**Alkaloidy čeledi Amaryllidaceae: izolace, strukturní identifikace, biologická aktivita. I**

---

Rozsah práce: počet stran: 64, počet obrázků: 28, počet tabulek: 11, počet citací: 63

Práce je: experimentální

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Doporučuji vypracování errat, kde bude specifikovaný přesný podíl odvedené experimentální práce autorky. Jejich nevypracování by mohlo mít právní dopady na případné posuzování dalších kvalifikačních prací.

Dotazy a připomínky:

- Práce obsahuje některé překlepy, odborné nepřesnosti či zavádějící informace např. na straně 11 v nesignovaném odkazu na Bibli na použití druhu narcisu proti rakovině, na str. 12 "tyrosin se mění na tyramin", str. 17 "jed v buňce" a "oxygenace", str. 17 a 22 "ethylové můstky", str. 26 atd.
- Není respektováno názvosloví enzymů podle IUPAC, kdy je nesprávně používána přípona enzymů -áza; rovněž vzorce alkaloidů a použití jednotek (např str. 21 versus str. 49) není konzistentní.
- Na straně 15 jsou nesprávně uvedeny apostrofy u pozic ortho a para.
- V práci (např. na str. 19, 20, 23, 24 a v tabulce 2) nejsou hodnoty IC50 přepočteny na molární koncentraci, i když je známa molekulová hmotnost testovaných alkaloidů, což obzvláště v tabulce 2 brání reálnému porovnání aktivity alkaloidů.
- Na str. 21 je uvedeno, že 1-O-acetylylkorin má 4% apoptický účinek, kdy tento účinek nutně nemusí být statisticky významný. Bez uvedení směrodatné odchylky nelze posoudit.
- V experimentální části jsou některé nepřesnosti. Některá rozpouštědla (cyklohexan, aceton a vodný amoniak použité ve vyvíjecích směsích, pro MS a NMR analýzy, pro stanovení

biologické aktivity) a chemikálií chybí (standarty, substráty pro biologické stanovení, chemikálie pro přípravu reagenčních činidel atd.), u některých je chybně uvedena čistota (např. benzín p. a.), chybí také jejich vzorce nebo piktogramy, které jsou mylně uvedeny v seznamu zkratk. Není uveden pomocný materiál jako filtrační papír, vata, vlnišelín. Silpearl není chemikálie ale adsorbent. U použitého oxidu hlinitého chybí velikost částic, která výrazně ovlivňuje separaci při sloupcové chromatografii. Chybí podkapitola o přístrojovém vybavení, které je jen zčásti uvedené v dalších kapitolách experimentální části. Do všeobecných postupů by měly být zahrnuty kapitoly o identifikaci alkaloidů a stanovení jejich biologické aktivity, protože je to obecný postup a je stejný pro všechny izolované alkaloidy.

- V kapitole 4.3.2 není popis přípravy ethanolického a alkaloidního extraktu zcela reálný ani reprodukovatelný.
- v kapitole 4.4.1 je rozpor v objemu jímaných frakcí (500 ml ve specifikaci kolony versus 250 ml níže v textu).
- Na straně 44 jsou asi omylem uvedeny i výsledky. Na základě retenčních časů a spekter hmotnostní analýzy frakce nelze určit strukturu, tyto informace patří do výsledků.
- Na straně 45 je uveden jiný čas pro syčení komor než ve všeobecných postupech.
- Na straně 53 je asi omylem uvedena hodnota 202(50) v MS studii epimaritidinu.
- Na str. 54 chybí koncentrace, při které byla měřena optická otáčivost.
- Některé zkratky použité v textu v seznamu zkratk chybí.
- V kapitolách 5.1.6 a 5.1.7 chybí jakékoliv konkrétní data k aktivitám alkaloidu či aktivitě pozitivních standardů; zhodnocení aktivity patří do diskuze, pokud je takto práce členěna.

Dotazy:

- Mám výhrady k cíli práce (bod 1 a 2), který přesahuje obvyklý rozsah diplomových prací. Autorka připravovala sumární a alkaloidní extrakt s provedením následné sloupcové chromatografie samostatně? Kolik času taková práce zabrala?
- Prosím o uvedení pozitivního standardu pro buněčnou linii HT-29 viz tabulka 4.
- Prosím o kterou eukaryotickou ribosomální bílkovinu jde při inhibici syntézy narciklasinem na str. 28. Šlo o proteiny, ze kterých je ribosom složen, nebo o ty, které ribosom syntetizuje?
- Prosím o vysvětlení obrácení vnitřního listu membrány nejspíše u mitochondrie na str. 30.
- Na stejné straně je porovnání účinku pankratistatinu a paklitaxelu, kdy není uvedena celková dávka, pouze koncentrace (ta je rozdílná), tudíž srovnání není možné. Je možné doplnit tento údaj?
- Na str. 35 jsou vzorce tří Amaryllidaceae alkaloidů, mohla byste uvést, ke kterému strukturnímu typu patří?
- Prosím o přiblížení krystalizace frakce 17/4, zda opravdu probíhala celých 5 dní za horka?
- V diskuzi je uvedeno, že na základě MS analýzy byla identifikována druhá látka z frakce jako hippeastrin homolykorinového strukturního typu. Pro tento strukturní typ je ve spektru typická přítomnost pouze fragmentu, přičemž pro různé látky může být hmota fragmentu stejná, proto by mne zajímalo, jak se podařilo na základě MS analýzy tuto látku identifikovat. Mohla by autorka dohledat typické hmoty fragmentů alkaloidů homolykorinového typu a jejich příklady (vyjímaje zmíněný hippeastrin)?

Závěrem konstatuji, že ačkoliv předložená diplomová práce obsahuje některé nepřesnosti běžné pro kvalifikační práce studentů, splňuje požadavky, které jsou kladeny na tento typ prací určených pro kvalifikační stupeň "magistr".

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 23.5.2017

.....  
podpis oponentky / oponenta