

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické botaniky

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Anežka Klátilová**

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

Rok obhajoby:

Konzultant/ka práce: -

2017/2018

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

Název práce:

Alkaloidy *Vinca minor* (Apocynaceae) a jejich biologická aktivita

Rozsah práce: počet stran: 66, počet obrázků: 21, počet tabulek: 4, počet citací: 82

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: dobrý
- e) Prezentace výsledků: velmi dobrá
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: velmi dobrý

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Dotazy a připomínky:

Připomínky k teoretické části:

- a) názvy rostliny – název autorů popisující rostlinu se nepíše kurzívou (str. 7, 23), druhové jméno se píše počátečním malým písmenem (str. 14);
- b) používat současný taxonomický systém podle APG IV – řád Gentiales, str. 10
- c) lokanty se píše kurzívou (např. N-metyl-D-aspartátových receptorů; str. 8);
- d) názvosloví sloučenin, enzymů má být psáno podle IUPAC nomenklatury (-áza vs –asa; superoxididismutasa vs superoxid dismutasa);
- e) sumárního vzorce – počet atomů daného prvku se vyjadřuje dolním indexem (str. 53);
- f) v českém textu by měly být názvy sloučenin psány česky, ne anglicky (např. str. 16)
- g) chybějící citace u odstavců (např. str. 22, 23, 28), nepřesné číslování citací – citace 8, 9, 10 na str. 14 vůbec nesouvisí s taxonomií *V. minor*, ale s AD chorobou;
- h) citace - vhodné je používat věrohodné literární zdroje (citace 4,34); psána nejednotně
- i) v DP chybí větší pozornost literární rešerše zaměřenou na fytochemické práce *Vinca* alkaloidů provedené v minulosti až do současnosti
- j) výskyt písařských chyb – používání spojovníku místo pomlčky (např. str. 27, v citacích), nejednotnost psaní řeckých písmen - beta-amyloid vs β-amyloid.
- k) tabulky - pokud tabulka pokračuje na další strany, má být uveden v popisku tabulky na další straně, že se jedná o pokračování.

Připomínky k experimentální části:

- a) v seznamu rozpouštědel chybí některá použitá rozpouštědla (pro MS, NMR analýzu)
- b) sken chromatogramu TLC (Obr. 4-1) – chybí popis složení použité vyvíjecí směsi, počet vyvíjení, adsorbent, detekce;
- c) popsany postup izolace alkaloidů z vybrané frakce VM 378-389 prep. TLC se jeví jako nepřehledný a s neúplnými informacemi – chybí uvedeny hmotnosti u všech získaných podfrakcí VM-1 až VM-4. Chybí i zdůvodnění proč některé podfrakce nebyly dále zpracovávány (VM-1, VM-4).

V prezentaci obhajoby této DP bych uvítal schématický a přehledný popis separace frakce VM 378-389.

Velice neobvyklé je použití jediné vyvíjecí směsi pro separaci frakce prep. TLC obsahující více alkaloidů s velice podobným R_f již při analytické TLC analýze. Použití kombinace více vyvíjecích směsí o rozdílném složení rozpouštědel nebo jiném poměru by mohlo vést k lepší separaci alkaloidů, která by dávala větší šanci získat více než 1 alkaloidu v čisté formě.

- d) v kapitole 4.4.1.7 se nejedná o přípravu pouzder erythrocytů, ale jejich hemolyzátu erythrocytů (zdroj AChE) a získání plasmy (zdroj BChE) pro stanovení cholinesterasové aktivity testovaných látek – pro měření AChE inhibiční aktivity sloučenin Ellmanovou metodou se erythrocytární pouzdra již delší dobu na KFB nepoužívají, ale hemolyzát erythrocytů. Měření cholinesterasové inhibiční aktivity probíhá na KFB při vlnových délkách 436 nm (AChE) a 412 nm (BChE) – v podmínkách měření je na str. 49 uváděna vlnová délka 453 nm.

Otázky:

1. Ze kterých rostlin se v současnosti izoluje galanthamin pro průmyslové účely?
2. Který terapeuticky používaný inhibitor cholinesteras, vyjma galanthaminu, má další mechanismus účinku proti AD?
3. Kolik vážily frakce VM-1 až VM-4 po prep. TLC? Proč nebyly frakce VM-1 a VM-4 dále izolačně zpracovávány?
4. Pro prep. TLC všech podfrakcí VM1 až VM-4 byla používána pořád stejná vyvíjecí soustava ??? Podle uvedeného popisu separace v této DP se to tak jeví.
5. Na základě jaké analýzy (MS, MNR) můžete potvrdit, že sloučenina ve frakci VM-2 není alkaloid, ale sloučenina „tukového“ charakteru? Podle TLC na obr. 4-3 (str. 46) se jeví tato sloučenina jako alkaloidní (pozitivní reakce s Dragendorffovým činidlem).
6. VM3b3 (45,6 mg) byla krystalizována z jakého rozpouštědla, případně směsi rozpouštědel?
7. Na str. 47 tvrdíte, že bylo GC-MS analýzou za daných podmínek získáno spektrum izolované sloučeniny venoterpinu (stejně tak v diskuzi a závěru DP), které bylo porovnáno s daty v literatuře a databázi NIST. Na další stráně je tvrzení, že tato sloučenina za daných podmínek neionizovala a musela být změřena na ESI. Literatura uvádí u venoterpinu nejen ESI, ale i EI spektra... Jak to v případě vašich měření s ionizací venoterpinu na EI bylo?
8. Erythrocyty jsou používány jako zdroj AChE pro měření inhibiční aktivity testovaných látek vůči tomuto enzymu. Kde se nachází AChE v erythrocytech? Byla AChE získána z jader erythrocytů (str. 49)?

Celkové hodnocení, práce je: velmi dobrá, k obhajobě: doporučuji

V Hradci králové dne 12.9.2018

.....
podpis oponentky / oponenta