

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmakognozie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Lukáš Růžička**

Vedoucí práce: PharmDr. Marcela Šafratová, Ph.D.

Rok obhajoby: 2020

Garant práce:

Oponent/ka: PharmDr. Daniela Hulcová, Ph.D.

Název práce:

Izolace alkaloidů druhu *Geissospermum vellosii* Allemão a studium jejich biologické aktivity III.

Rozsah práce: počet stran: 51, počet obrázků: 15, počet tabulek: 4, počet citací: 71

Hodnocení práce:

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: velmi dobrá
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): dobré
- d) Kvalita získaných experimentálních dat: velmi dobrá
- e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): dobré
- f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: velmi dobré
- g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: dobrá
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: dobrá
- i) Splnění cílů práce: výborné
- j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: výborné
- k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): velmi dobrá
- l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): dobrá

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Práce byla sepsaná s minimem překlepů na zajímavé téma týkající se alkaloidů z *Geissospermum vellosii* Allemão. Jelikož na toto téma zatím není zpracováno příliš mnoho článků ani jiných dostupných zdrojů, chválím autora za více než dostatečné množství zdrojů a je pochopitelné, že některé části jsou velice stručné a informace neúplné. Přesto by však práce mohla být ucelenější a psána srozumitelněji. Práce se zdroji by měla být lepší, autor by měl vypíchnout důležité informace a závěry, a ne pouze slepě opisovat zdroj, což následně působí trochu chaoticky a kostrbatě. Autor si i dost často odporuje, což souvisí s výše zmíněným. Například píše, že věří, když se něco dlouho již užívá tradičně, tak že to má nějaké účinky, ale pak píše, že použití vodných roztoků je pochybné a následně uvádí článek, kde vodné roztoky jsou vysoce aktivní. Také píše, že články se týkají především působení látek na cholinesterasy, ale je to pouze jeden článek, kde nejsou ani použity lidské enzymy a ostatní články dost zpochybňuje. Například str. 25. nejsem si jistá, že titul s

názvem: Healing or Stealing? Medical charlatans in the new age, je vhodným zdrojem pro sepsování diplomové práce. Je to spíš populárně naučná kniha. Ale pokud se již pro ni autor rozhodne není dobré opsat vše jen opisat i když vlastními slovy. Psát, že výsledky nejsou relevantní kvůli tomu, že autor odmítl spolupracovat se zodpovědnými orgány není vhodné. Navíc když to tam autor diplomové práce napíše vyvstává otázka, proč tam tedy takovéto nevěrohodné výsledky dával? Je nejlepší dohledat originální článek.

Úplně se mi nelíbí zpracování jednotlivých onemocnění. V práci autor píše, že se zaměřili zejména na AD, proto bych čekala trochu více o AD zejména když proběhlo měření na inhibici cholinesteras. Mohla být rozebrána více úloha cholinesteras. Také by mohla být více popsána terapie. Více se o tom rozepisujete v diskusi a závěru, kam to podle mě takto nepatří. Kapitola závěr a diskuse mi spíš přijde jako úvod s rozebranou teoretickou částí a diskuse výsledků a závěry z toho vedoucí jsou tu jen okrajově.

Nesrozumitelnost se týká také části experimentální, kde postup zpracování extraktu není zcela pochopitelně popsán a čtenář se v něm zcela ztrácí, navíc některé údaje nejsou kompletní. Chybí zde uvedení množství zpracovávané podfrakce, výtěžky, popis získaných podfrakcí a čisté látky (vzhled, množství). V kapitolách chemikálie, rozpouštědla, pufrů atd. jsou špatně vypsané položky, a navíc použity zkratky, které nejsou vysvětleny případně až dále v textu. Naopak v textu se nachází zkratky chemikálií, které nejsou v seznámech uvedeny (HCl, Na₂CO₃, ...). Mělo by to opět být psáno jednotně. Nerozumím, proč činidla pro stanovení cholinesterasové aktivity a pufr jsou psány zvlášť a poté znovu o pár řádek níže v kapitole testování biologické aktivity a proč chemikálie jsou uvedeny v roztoku od Sigma- Aldrich, když výše je popsána jejich příprava v laboratoři před použitím. V kapitole pufrů je popsán jen jeden, ale dále v chemikáliích jsou napsány další dva atd. Autor by měl toto sjednotit, vybrat si, jakým stylem to bude psát a s rozlišovat tedy, co je chemikálie, činidlo a pufr a pak se toho držet. Přijde mi také zbytečné a trochu chaotické napsat nadpis „Experimentální část“ a pak zvlášť „Izolace“. Copak izolace není hlavní část autorovy experimentální práce?

Abstrakty nemají správnou formu, jak by se měly psát. Navíc citace nejsou psané jednotně se zbytkem práce. Pokud je abstrakt součástí práce, neuvádí se citace do samotného abstraktu, ale do seznamu literatury, kde jedna z nich není uvedena. Abstrakt předpokládám byl původně psán na konferenci, ale ten do diplomové práce má vypadat trochu jinak, a ani na konferenci by takto vypadat neměl.

Také grafická stránka práce by mohla být lepší. Není to hrubá chyba, ale na čtenáře dělá první dojem úprava práce, které v tomto případě mohlo být věnováno více pozornosti. Jedná se hlavně o zarovnání celého dokumentu nejlépe do bloku, což vypadá více upraveně.

Obsah – první stránka číslovaná není druhá ano, seznam zkratek opět číslován není a seznam obrázků a tabulek ano. Mělo by to být jednotné.

V obsahu nejednotné psaní GSK-3B.

Seznam zkratek je neúplný. V textu se nachází celá řada zkratek, které nejsou uvedeny v seznamu, některé nejsou ani zavedeny a rovnou používány. (např.: MIA, IC50, VCD, ...).

Str. 11 - obrázek není vhodné roztahovat. Je lepší, když jsou zachovány poměry stran, jinak se obrázek deformuje.

Obrázek 12. popis obrázku není jednotný se zbylými obrázky.

Nejednotné psaní popisků u obrázků: malá velká písmena, styl písma.

Nejednotnost v psaní čeledí uváděných u rostlin, jednou je to v závorce latinsky, jednou bez závorky pak zase uvedený i český název.

Str. 22 v nadpisu název rostliny není italika.

Str. 22. píšete, že za zmínku stojí vliv extraktu pao pereira na cholinesterasy. Žádný neuvádíte a hned skočíte na jiné látky z přírody. Bylo by lepší to uspořádat opačně a pokračovat pak výsledky z Geissospermum.

Str. 24 značení mikrogramů nejednotné.

Popis experimentů z článků – nepřehledné, zbytečně podrobné a neúplné závěry. Čtenář neví, jaké jsou výsledky.

Dotazy a připomínky:

Str. 11. Uvádíte, že alkaloid pereirin byl používán jako léčivo na malárii, a je dokonce účinnější než chinin. Proč už se nyní nepoužívá?

Str. 13. IC50 – ve zkratkách máte uvedeno pouze IC - co znamená tedy IC50? Dále uvádíte, že hodnota 0,23 mikrogramů/ml je zajímavá. S čím byla tato hodnota porovnávána? (standard)

V práci popisujete, že v terapii AD se používají inhibitory AChE. Proč se tedy látky testují i na BuChE? Jakou hraje BuChE roli v AD?

Při popisu výsledků článku o testování extraktu GV na cholinesterasy uvádíte, že byly použity enzymy koňské, úhoří a myší. Rozdíl výsledků zdůvodňujete vysokou interindividuální variabilitou citlivosti. Co si pod tím máme představit a z jakého důvodu je tato citlivost variabilní? Byly extrakty či látky testovány i na lidských enzimech (např. v jiných pracích) a jak relevantní jsou výsledky na živočišných enzimech, pokud nás zajímá léčba AD u lidí? Jaké byly v člancích použity standardy?

Str. 24. píšete, že geissolosimin má IC50 0,55 µg/ml a že jako referenční látka byl užit chlorochin. Jakou IC50 má chlorochin?

Str 24. Úplně nejlepších výsledků dosáhnul celkový surový extrakt IC50(K1)= 1,78 mikromol. Opravdu tam byly tyto jednotky? Lze u extraktu uvádět koncentraci v mikromolech? Jak se vypočítá tato koncentrace, co je k tomu potřeba? Opravdu je extrakt nejúčinnější? Převedte některé zkoumané látky z tabulky tohoto článku na stejné jednotky, aby se daly výsledky porovnat.

Čím si vysvětlujete, že alkoholové extrakty jsou účinnější než vodné? A opravdu, když in vitro byly vodné extrakty účinné a z důvodu nedostatečné dávky in vivo nebyly účinné, lze udělat závěr, že ethanolové extrakty jsou lepší?

Experimentální část:

Str. 28 chybně uvádíte chromatografické absorbenty. Jaký je rozdíl mezi adsorbentem a adsorbentem? Opravdu se na lité desky používá Oxid hlinitý Merck Silicagel...?

Str. 30 Opravdu je screening na AChE a BuChE prováněn při koncentraci 100mM?

Str. 39 V tabulce je uvedena hmotnost frakce GV-9 17,964 g. Při zpracování neuvádíte množství tak z toho lze usuzovat, že jste použil celé množství. Jaké byly hmotnosti získaných podfrakcí GC-9 A-D? 210 mg mi přijde na výtěžek málo se srovnáním k předpokládané výchozí hmotnosti. Vyskytli se snad nějaké potíže při práci? Dále uvádíte, že proběhla krystalizace. Jaká podfrakce byla krystalizována a byla z ní tedy získána čistá látka? Jaké byly výtěžky frakcí po zpracování podfrakce GV-9-C, jak byly přečištěny po eluci a z jaké podfrakce byl získán čistý alkaloid a v jakém množství a stavu?

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

V Hradci králové dne 09.09.2020

.....
podpis oponentky / oponenta