

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické botaniky

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Pavla Šípková**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Anna Hošťálková, Ph.D

Konzultant/ka práce: -

Rok obhajoby:

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

2018/2019

Název práce:

Biologická aktivita sekundárních metabolitů rostlin X. Alkaloidy Vinca minor L.
Biological activity of secondary plants metabolites X. Alkaloids of Vinca minor
L.

Rozsah práce: počet stran: 66, počet obrázků: 26, počet tabulek: 12, počet citací: 126

Práce je: experimentální

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce (DP) je napsána velmi precizně a konzistentně, s minimem překlepů. O preciznosti vypracování studentky svědčí i použití velmi vysokého počtu citací.

Studentce se v průběhu vypracování DP změnil školitel, původní vedoucí DP byl ing. Ločárek. Nakonec se podařilo izolovat 2 čisté alkaloidy i přes nezvykle prováděnou flash chromatografii, která ale jde plně za minulým školitelem (zohledněno v celkovém hodnocení DP).

Dotazy a připomínky: Frakcionace alkaloidů z frakce 299 z Vinca minor pomocí flash chromatografie na Sepacore Flash systému X10 probíhala poněkud neobvykle - nastřík alkaloidů ve formě roztoku se jeví pro sloučeniny o blízkém R_f jako nevhodný, mnohem lépe separace probíhá elucí z pevného vzorku. Dále se mi jeví jako nevhodné pro úspěšnou separaci rozpustit vzorek v CHCl₃+EtOH (1:1), pokud separace probíhá úplně odlišnou mobilní fází, která je navíc mnohem lipofilnější. Rovněž objem nastříku rozpuštěného vzorku vzhledem k použité kartdridži (12 g silikagelu) se mi jeví jako příliš velký. Počet jímaných frakcí u takto malé kolony se mi jeví jako zbytečně velký (302 frakcí). Pro separaci alkaloidů ve frakci bych doporučil použití jiné než isokratické eluce (např. lineární gradient, skokovitou eluci). Celkově popis metody separace alkaloidů flash chromatografií není úplný, těžko se dá metoda reprodukovat. Rovněž mi chybí mi v DP obrázky záznamu z flash separace alkaloidů i TLC analýzy této separace.

Pro porovnání cholinesterasové inhibiční aktivity testovaných sloučenin bych doporučil použít referenční inhibitor BChE, který má hodnotu IC₅₀ menší než 10 uM. Galanthamin i huperzin A jsou z farmakologického pohledu selektivními inhibitory AChE - jejich inhibiční aktivita vůči BChE je nízká či naprosto zanedbatelná.

1. Jak byla vybrána mobilní soustava pro flash chromatografii, jaká byla hodnota R_f faktoru první sloučeniny na TLC po jednom vyvinutí?
2. Pomocí které vyvíjecí soustavy či soustav pro TLC byla separace z flash chromatografii monitorována?
3. Jaký je počet vyvinutí frakce s alkaloidy na TLC na obrázku 22 (str. 43)?
4. Bylo prováděno kondicionování kolony před nástřikem roztoku se vzorkem na kardtridž?
5. Jak velký byl objem sbíraných frakcí u flash separace?
6. Navrhněte referenční sloučeninu, která by se dala použít jako standard pro vyhodnocení inhibiční aktivity izolovaných sloučenin vůči BChE.

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

V Hradci Králové dne 31.5.2019

.....
podpis oponentky / oponenta