



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Farmaceutická fakulta

Katedra farmakognózie a botaniky

Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika



Oponentský posudok
na dizertačnú prácu Mgr. Elišky Kohelovej

„Alkaloidy *Zephyranthes citrina* (Amaryllidaceae): izolace, strukturní identifikace,
biologická aktivita.“

Predložená dizertačná práca mala za cieľ izoláciu alkaloidov z čerstvých cibúľ druhu *Zephyranthes citrina* Baker z čeľade Amaryllidaceae za účelom ich štruktúrnej identifikácie a hodnotenia biologických aktivít v súvislosti s možnou terapiou Alzheimerovej choroby a nádorových ochorení.

V rámci sledovania a splnenia vytýčených cieľov autorka zvolila štandardné a dostupné spôsoby izolácie látok a zaužívané postupy pri sledovaní biologickej aktivity. Získané výsledky navzájom vhodne koreluje a patrične diskutuje aj vo vzťahu k podobným výsledkom dostupným v literatúre. Ciele práce boli jasne definované a rozdelené do niekoľkých čiastkových etáp. Na základe získaných, predložených a publikovaných výsledkov vo vedeckých časopisoch, je možné konštatovať, že boli bez výnimky splnené.

Práca je napísaná prehľadne a jednotlivé kapitoly na seba logicky nadväzujú. Ťažisko práce predstavujú štyri vedecké články publikované vo vedeckých časopisoch s IF v rozmedzí od 4,411 po 4,831, a ako také všetky už prešli náročným procesom oponentúr a pripomienkovania, pričom v dvoch z článkov je dizertantka prvým autorom. Okrem týchto autorka uvádza aj ďalšie práce a účasť na vedeckých konferenciách. Delená je na základe zvyklostí a požiadaviek určených pre tento druh prác. Teoretická časť dizertačnej práce detailne popisuje tvorbu a rôzne typy alkaloidov čeľade Amaryllidaceae a detailnejšie rozoberá rod *Zephyranthes* a fytochemicky bližšie študované druhy tohto rodu. Opisuje biologickú aktivitu alkaloidov čeľade Amaryllidaceae, popisuje vzťah medzi štruktúrou a účinkom pri jednotlivých alkaloidoch v súvislosti s inhibíciou AChE a BuChE a iných dôležitých enzýmov v procese etiopatogenézy tohto ochorenia. V ďalšom pokračovaní práce

popisuje protinádorovú aktivitu jednotlivých štruktúrnych typov alkaloidov čeľade Amaryllidaceae. Táto časť je spracovaná na vysokej úrovni a dokladuje autorkin prehľad a dobrú orientáciu v problematike.

Experimentálna časť obsahuje popis nosičov, elučných sústav, detekčných skúmadiel, prístrojov použitých pri izolácii a identifikácii alkaloidov a svedčí o skutočnosti, že autorka má bohaté skúsenosti z oblasti izolácie a identifikácie prírodných látok a hodnotenia aktivít, ako aj manažovania práce a rôznych tímov potrebných k dosiahnutiu požadovaného úspechu. Veľmi oceňujem presnosť protokolov a poznámok ku ktorým sa musela vrátiť doktorandka pri spisovnej práci.

Z množstva izolovaných alkaloidov (celkovo 27, z toho 7 doteraz nepopísaných, z čoho 3 predstavovali etoxy deriváty) doktorandka na základe štúdia aktivity vybrala jeden, ktorému sa detailnejšie venovala z hľadiska kinetiky inhibície AChE a BuChE, dokovacích štúdií a predikcie prestupu hematoencefalickou bariérov. Šťastím bola aj skutočnosť, že nový alkaloid bol účinkami zaujímavý a bol izolovaný v dostatočnom množstve. Práca prináša nové poznatky v tejto oblasti ako aj možnosti ich ďalšieho využitia a doložené publikácie predstavujú hodnotné vedecké výsledky pre ďalší rozvoj vednej disciplíny.

Otázky a pripomienky:

-Presnejšie je uvádzať UV žiarenie, nie svetlo (str.65, 66)

-zaujalo ma množstvo sústav na TLC. Ako ste postupovali pri ich výbere resp. tvorbe a či bolo nevyhnutné použiť naozaj všetky vymenované? Prečo sa používala trifluóroctová kyselina vo vyvíjacích sústavách?

-Na str.65 píšete, že: Preparativní TLC desky s litou vrstvou byly připravovány nalitím suspenze připravené rozmícháním 6,5 g komerčního silikagelu (Silikagel 60 GF254) v 20,5 ml destilované vody na skleněné desky o rozměru 15 x 15 cm (29 mg SiO₂/cm²). Před použitím byly takto připravené desky sušeny při pokojové teplotě po dobu nejméně 24 hodin. Používalo sa aj nejaké pojivo? napr. sadra, alebo škrob?

-str. 72: Čerstvé cibule (35 kg) *Z. citrina* byly pokrájeny a rozemlety v mlýnku. Takto rozdrobněný rostlinný materiál byl 2 × extrahován dvojnásobným množstvím 95% EtOH za varu pod zpětným chladičem po dobu 30 minut. - celé množstvo 35 kg bolo extrahované naraz?

-str. 74 obsahuje tabuľku s elučnými sústavami použitými pri stĺpcovej chromatografii. Prečo je polárnejšia zložka použitá vo väčšom objeme (bz: CHCl₃ 34:66; 25:75;

15:85)? Ako ste určovali pomer použitých rozpúšťadiel? Skratka Bz predstavuje benzén alebo benzín (uvedený pri TLC sústavách na str. 59?)

-Prvých 31 frakcií neobsahovalo nič? Bola požitá rovnaká elučná sústava? Aký objem jednotlivých frakcií sa zachytával?

-z nanesených 151g extraktu naneseného na kolónu ste získali 96g vo forme jednotlivých frakcií. Zbytok naneseného extraktu zostal na kolóne?

-Prečo pri postupoch (elúciách a extrakciách) nepoužívate miesto etanolu metanol? Vyhli by ste sa vzniku etylovaných artefaktov.

Záverečné hodnotenie

Predložená dizertačná práca potvrdzuje vysokú odbornú úroveň doktorandky a nemám k nej pripomienky zásadného charakteru. Odporúčam preto komisii pre obhajoby dizertačných prác aby ju akceptovala ako podklad pre ďalšie pokračovanie.

Na základe predloženej dizertačnej práce navrhujem pre Mgr. Elišku Kohelovú udelenie akademickej hodnosti PhD. v študijnom odbore Farmakognosie a nutraceutika.

V Bratislave, 30. 08. 2021

prof. PharmDr. Pavel Mučaji, PhD.