UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Tereza Brtníková**

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

Konzultant/ka: -

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

Název práce: **Izolace alkaloidů druhu Geissospermum vellosii Allemão a studium jejich biologické aktivity IX.**

Isolation of alkaloids of the species Geissospermum vellosii Allemão and study of their biological activity IX.

Rozsah práce: 60 stran, 27 obrázků, 13 tabulek, 83 citací

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní ☐

Případné poznámky k hodnocení:

Studentka se zabývala v diplomové práci (DP) izolací alkaloidů z vybrané frakce GV-6 z alkaloidního extraktu rostliny Geissospermum vellosii Allemão. I přes veškeré úsilí a použití různých separačních metod (flash chromatografie, preparativní HPLC, prepravitní TLC) se studentce nepodařilo izolovat ani jeden čistý alkaloid. Z mého pohledu a zkušeností si dovolím tvrdit, že separace indolových alkaloidů není často vůbec snadná, vyžaduje už hlubší znalosti, zkušenosti z oblasti fytochemie. Navíc izolaci čistých sloučenin komplikuje, pokud se jedná o látky lehce podlehající degradaci. Ale i přes nezískání sloučenin v čisté formě tato práce přinesla cenné poznatky, zkušenosti a o to v rámci vypracování DP také jde.

Z hlediska vypracování tato DP na mne působí, že byla sepsána v časovém nedostatku na poslední chvíli - nacházejí se v ní občas gramatické chyby, překlepy, některé věty nedávají

smysl (např. str. 22 - první dvě věty ve druhém odstavci kapitoly 3.1.5.1), případně jsou uvedené nesprávné jednotky inhibičních aktivit (str. 27 - hodnoty IC50 nemají být uvedené v g/ml, ale mikrogramech/ml podle původního literárního zdroje) nebo tvrzení (např. str. 24 - poslední věta, ve které se tvrdí že GV by mohl být vhodným bylinným prostředkem na léčbu BHP - Geissospermum vellosii není bylina!). Kapitola 3.2.2.2 Flash chromatografie obsahuje neúplné, až zastaralé informace, protože mobilní fáze u flash chromatografie neproudí jen tlakem vzduchu nebo díky sníženému tlaku vzduchu, ale poslední desítky let se používají často moderní stroje obsahující pumpy, podobně jako u HPLC).

V DP se vyskytují drobné písařské chyby (pozor na psaní názvu enzymů, po lokantu nebo symbolech následuje na začátku věty nebo názvu kapitoly počáteční velké písmeno. Pozor na nepřesné psaní názvu chemických sloučenin - Dragendorffovo č. nemůžeme popsat jako jodidbismutitan dráselný, stejně tak použitý vzorec pro bazický dusičnan bismutitý je uveden nesprávně (obojí na str. 36).

Číslování stran mělo být nastaveno v DP až od kapitoly "Obsah", ne hned od titulní strany psané v AJ.

Z hlediska použitých separačních postupů bych pro izolaci alkaloidů z vybrané frakce použil méně polární adsorbent neboť separace polárních alkaloidů na aktivním silikagelu flash chromatografií a TLC se jeví jako nevhodná z hlediska vysoké retence daných sloučenin. Z hlediska odpařování rozpouštědel by se jevilo vhodnější vzorky odfoukávat dusíkem, než proudem vzduchu - snížení stupně degradace alkaloidů. V diskuzi nebyla věnována pozornost jestli za rozkladem alkaloidů nestálo i použití silikagelu pro separaci přítomných sloučenin.

Pro potvrzení degradačních procesů alkaloidů ve frakci GV-6 neumožňující izolaci čistých sloučenin bych uvítal v kapitole výsledky chromatogramy z GC-MS, ale hlavně LC-MS analýz.

Dotazy a připomínky:

1. Vysvětlete pojem "skleněný kolonový hardware" (str. 40).

2. Byly finální získané frakce analyzovány i LC-MS pro potvrzení čistoty získaných látek, případně pro potvrzení rozkladných procesů?

3. V kapitole "Diskuze a závěr" navrhujete, že bylo by vhodnější použít jiná rozpouštědla s nižší teplotou varu, aby se redukoval případný rozklad nestabilních sloučenin. Jaká rozpouštědla s nižší t.v. navrhujete pro preparativní HPLC s kolonou s reverzní fázi?

4. Byly během izolačních procesů a rozpouštění alkaloidů/frakcí používány vždy rozpouštědla destilovaná nebo alespoň HPLC kvality?

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

V Hradci Králové 17. září 2024 podpis oponenta/ky