

## OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce Mgr. Jaroslava Peče  
„Studium metabolismu v *in vitro* kulturách *Cannabis sativa* L.

Konopí seté patří k významným kulturním rostlinám s bohatou tradicí. V dřívějších letech bylo používáno především jako zdroj vláken vhodných k dalšímu zpracování, později se rozšířilo zneužívání konopí pro psychotropní účinky, což vedlo k omezení až zákazu jeho pěstování. To mělo negativní dopad na studium obsahových látek, přesto se několik pracovních skupin zabývalo izolací a identifikací sekundárních metabolitů v konopí přítomných a jejich biologickou aktivitou. Díky tomu byly popsány receptory pro kanabinoidy a s tím i endogenní kanabinoidy, což významně posunulo naše poznání o možném terapeutickém využití látek této skupiny. Předložená práce je příspěvkem rozšiřujícím poznatky o pěstování suspenzních a kalusových kultur *Cannabis sativa in vitro* a o výskytu/nevýskytu kanabinoidů v nich, se snahou jejich biosyntézu ovlivnit. Jde o práci aktuální i zajímavou, protože kultivace orgánů, tkání i buněk *in vitro* umožňuje pracovat s uniformním materiálem, experimenty provádět cíleně a při použití vhodných analytických postupů s relativně malým množstvím.

Mgr. Jaroslav Peč předkládá k získání hodnosti Ph.D. v oboru farmakognosie práci o celkovém rozsahu 179 stran. Práce má tradiční strukturu, autor cituje 258 literárních pramenů. Teoretická část (58 stran) má rešeršní charakter a postupně se zaměřuje na botanické aspekty konopí, obsahové látky a jejich farmakologické vlastnosti. Následují kapitoly o rostlinných biotechnologiích, o metabolomice jakou součástí funkční genomiky a o použité statistické metodě umožňující analýzu hlavních komponent z velkého počtu dat s mnoha proměnnými. Teoretická část je zpracována přehledně a racionálně, čímž disertant dokázal, že se v problematice dobře zorientoval a umí správně, vyváženě a kriticky zpracovat literární údaje.

Mgr. Peč si stanovil několik cílů, které splnil. Vlastní experimenty jsou logicky řazeny a zaměřují se na:

- výběr vhodných kultur k pokusům pomocí kontaminačních testů
- identifikaci a kvantifikaci metabolitů přítomných v nativních suspenzních kulturách pomocí analytické NMR
- elicitaci suspenzních kultur s cílem zjistit, zda ovlivní tvorbu sekundárních metabolitů, především kanabinoidů
- iniciaci somatické embryogeneze a její vliv na produkci sekundárních metabolitů
- analýzu vybraných vzorků cílenou na kanabinoidy, metodou hmotnostní spektrometrie

Mgr. Peč zvolil k řešení uvedených problémů cíleně velmi účinné metody, které umožnily získat potřebné údaje se žádoucí spolehlivostí. Z dílčích cílů vyplývá náročnost teoretická i experimentální. Oceňuji použité izolační techniky, které ve spojení s detekčními metodami vedly k řadě poznatků. U některých speciálních metod využil spolupráci dalších odborníků, včetně zahraničních (Katedra farmakognosie Univerzity Leiden, Nizozemí, kde byla podstatná část práce realizována, na což soudím z poděkování na str. 179). Výsledky získané za takových okolností mají svou vysokou hodnotu a poskytují solidní základ k dalším studiím, zaměřeným na tvorbu sekundárních metabolitů v tkáňových kulturách *Cannabis sativa* L. Konstatuji proto, že Mgr. Peč zvolil správné metody a přístupy a prokázal schopnost jejich správné interpretace.

Dosažené výsledky (dokumentované přemírou  $^1\text{H}$  NMR, 2D NMR a MS záznamů a diagramů) jednak rozšiřují a prohlubují stávající znalosti o suspenzních kulturách *Cannabis sativa* L., jednak přinášejí nové poznatky o vlivu kyseliny jasmonové a pektinu na pokusný

materiál a tvorbu převážně primárních metabolitů. Za daných experimentálních podmínek nebyla přítomnost kanabinoidů v pokusném materiálu, včetně materiálu po somatické embryogenezi, dokázána.

Nepochybuji, že sepsání disertace byla věnována péče. Autor použil 'progresivní' češtinu. Nepřesnosti jsou na str. 1,4,9,10,14,20,24,29,34,39,44,45,46,65 a 72.

str. 29 škoda, že není uveden odkaz na objev kanabinoidních receptorů.

str. 72 interní standard TSP není mezi zkratkami, v NMR literatuře je pro Thermospray

str. 73 překvapuje podobnost mezi frakcemi chloroformu a média

K předložené práci mám následující dotazy:

str. 14 jaké pozitivní změny může mít mikrovlnné záření na konopný olej?

str. 18 které jednoduché fenolické látky patří mezi primární metabolity?

str. 18 Z jakých prekurzorů se tvoří hexanoyl-CoA?

str. 26 Celkovou vlastností oleje je jeho antioxidační aktivita. Prosím objasnit.

str. 62 Kultury GB, GC a Fiber pocházely z pracoviště, nebo jste je odvodil? Podle čeho byly vybrány regulátory růstu a jejich koncentrace?

str. 64 proč se k tvorbě kalusových kultur použila směs IAA, 2,4-D, kinetinu a NAA?

str. 69 prosím přiblížit NMR analýzu

str. 145 komentář ke geraniolu i s použitím slova „pravděpodobně“ je odvážný. Proč nebyla použita metoda SID (Selected Ion Detection)? Jaké izomery florogluciolu máte na mysli?

### Závěr:

Přiměřená prezentace výsledků formou publikací v odborné literatuře nebo přednáškami, rozhled autora v celé šíři problematiky, přístup k řešení konkrétních cílů s využitím plně adekvátních metodik na soudobé úrovni světové vědy charakterizují Mgr. Jaroslava Peče jako kvalitního vědeckého pracovníka. Přestože tvorba kanabinoidů v tkáňových kulturách nebyla prokázána, představuje práce přínos pro vědní disciplínu a zároveň je východiskem pro další experimenty zaměřené na tvorbu sekundárních metabolitů tkáňovými kulturami.

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc.