

## POSUDOK

### na dizertačnú prácu Mgr. Víta Kolečkára „Metoda stanovení antioxidačního/antiradikálového působení aplikovatelná ve vyhledávacím výzkumu přírodních látek.“

Predložená dizertačná práca Mgr. Víta Kolečkára sa zaoberá moderným trendom v štúdiu biologicky aktívnych látok, spočívajúcim v stanovení antioxidačnej aktivity v súvislosti s vyhľadávacím výskumom prírodných látok. Jej hlavným cieľom bolo zhromaždenie vzoriek rôznych morfológických častí rastlín z čeľadí Asteraceae a Cichoriaceae, uskutočnenie antioxidačného skríningu extraktov, izolácia antioxidačne účinných látok a ich identifikácia pomocou moderných fyzikálno-chemických metód a následne stanovenie antioxidačnej účinnosti izolátov.

Pomerne stručná teoretická časť je venovaná charakteristike antioxidantov a ich triedeniu s hlavným zameraním na prírodné antioxidanty (fenolové kyseliny, flavonoidy a proantokyanidíny). Časť Materiál a metódy obsahuje spôsoby prípravy nosičov pre kolónovú chromatografiu, meranie fyzikálno-chemických charakteristík, prípravu extraktov a metódy merania antioxidačnej aktivity.

V experimentálnej časti sú uvedené výsledky skríningu extraktov pripravených z vybraných druhov rastlín čeľade Asteraceae a Cichoriaceae. Druhá časť experimentálnej práce je zameraná na extrakciu listov parchy saflorovej (*Leuzea carthamoides*). Boli pripravené extrakty pre DPPH analýzu. Následne bol vodný extrakt podrobený kolónovej chromatografii na polyamide. Žltý pás fenolových látok bol eluovaný etanolom.

Odparená etanolová frakcia bola rozpustená vo vode a následne vytrepaná do etylacetátu. Etylacetátový odparok bol delený na silikagéli, pričom sa získalo 12 spojených frakcií, ktoré boli podrobené DPPH testu na zistenie antioxidačnej aktivity. Zo spojených frakcií boli získané čisté látky, ktoré sa identifikovali meraním niektorých fyzikálno-chemických charakteristík (teplota topenia, UV, NMR, MS spektrá). Z listov bolo takýmto spôsobom izolovaných 8 látok – 6 flavonoidov a 2 kyseliny, ktoré boli podrobené meraniu antioxidačnej aktivity (DPPH, FRAP a antiagregačnému testu) a kvantitatívnej analýze v sušine uvedenej drogy.

Možno konštatovať, že dizertačná práca svojimi cieľmi, zvolenými metódami štúdia, dosiahnutými výsledkami a úrovňou ich spracovania v plnom rozsahu zodpovedá všetkým požiadavkám kladeným na tento druh práce. Zapadá do kontextu výskumného programu katedry, je jej integrálnou súčasťou. Je napísaná na veľmi dobrej odbornej úrovni.

Dizertačná práca je napísaná prehľadne. Má 102 strán, obsahuje 10 tabuliek, 26 obrázkov. V časti literatúra je citovaných 106 prác.

K práci mám nasledujúce pripomienky:

1. V práci sa vyskytuje len málo chýb a preklepov
2. na s. 48 je nesprávny vzorec eriodiktyolu
3. s. 48 – flavonoid patuletín (3',4',5,7-pentahydroxy-6-metoxylavonol by som pomenoval skôr ako 3',4',3,5,7-petahydroxy-6-metoxylavón)

Otázky:

1. vysvetlite biogézu fenolových látok
2. vysvetlite Antioxidačná aktivita **čeľadí Asteroideae a Cichorioideae**
3. ako sa postupovalo pri výbere rastlinného materiálu pre skrínung DPPH testu
4. s. 32 – rastlinný materiál (5g) – 5g rozdrobenej drogy – vysvetlite

5. s. 42 – hmotnosť vodného extraktu – 967g – ako bol odparovaný?
6. s. 44 – ako ste postupovali pri výbere mobilnej fázy pre kolónovú chromatografiu etylacetátového odparku na silikagéli (chloroform:etanol = 95:5)?
7. s. 44 – detekcia po kontrolnej TLC – UV a zmes vanilín-kyselina sírová – ako sa javili škvrny látok po detekcii; aké iné detekčné sústavy by sa ešte dali na detekciu využiť?
8. ako by sa dala zistiť prítomnosť substituentov na flavonoidnom skelete meraním UV spektra?
9. využitie *Leuzea carthamoides* v terapeutickej praxi u nás

Záver: Dizertačnú prácu Mgr. Víta Kolčkářa hodnotím pozitívne. Doktorand preukázal schopnosť samostatne vedecky pracovať, tvorivo riešiť teoretické a praktické otázky študovanej problematiky, orientovať sa v odbornej literatúre a zverejňovať výsledky svojej práce. Predložená práca spĺňa všetky kritéria vedeckej práce tohto druhu. Preto odporúčam, aby bola hodnotená kladne a aby po úspešnej obhajobe bola doktorandovi udelená vedecko-akademická hodnosť philosophiae doctor (PhD.)

V Bratislave 03.08.2010

Prof. RNDr. Daniel Grančai, CSc.