



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
Farmaceutická fakulta
Katedra farmakognózie a botaniky
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika



Oponentský posudok

na dizertačnú prácu Mgr. Zuzany Krškovej

„Inhibiční aktivita extraktů z *Fontinalis antipyretica* a β -karbolínových alkaloidů na acetylcholinesterasu a butyrylcholinesterasu“

Predložená experimentálna práca je zameraná na extrakty a alkaloidy ako obsahové látky *Fontinalis antipyretica* získaného z rôznych lokalít v ČR a sledovanie ich inhibičnej aktivity na acetylcholinesterázu a butyrylcholinesterázu, ktoré boli hodnotené metódami *in vitro*. Látky s týmito vlastnosťami sa v terapeutickej praxi môžu využívať v liečbe niektorých neurodegeneratívnych ochorení.

Autorka podala prácu s veľmi aktuálnou tematikou, keďže Alzheimerova choroba aj vzhľadom na neustále sa zvyšujúcu priemernú dĺžku života postihuje stále viac obyvateľov. Ťažisko práce predstavuje stanovenie vybraných sekundárnych metabolitov (β -karbolínových alkaloidov) v extraktoch rastlín z rôznych lokalít a ich vplyv na aktivitu spomínaných enzýmov. K splneniu sledovaných cieľov dizertačnej práce si autorka vytýčila nasledovné ciele:

- zistiť lokality, kde sa skúmaný rastlinný druh vyskytuje
- vypracovať HPLC metódu vhodnú na analýzu β -karbolínových alkaloidov a stanoviť ich obsah vo vzorkách
- stanoviť inhibičnú aktivitu pripravených extraktov a β -karbolínových alkaloidov na aktivitu AChE a BuChE použitím vhodných kolorimetrických testov
- a zistiť vplyv DMSO na inhibičnú aktivitu β -karbolínových alkaloidov

Na základe získaných a predložených výsledkov je možné konštatovať, že autorka úspešne splnila všetky spomínané ciele dizertačnej práce.

V rámci stanovenia vybraných sekundárnych metabolitov a hodnotenia ich aktivity autorka zvolila štandardné, ale efektívne spôsoby a zaužívané postupy. Získané výsledky navzájom vhodne koreluje a patrične diskutuje aj vo vzťahu k podobným výsledkom dostupným v literatúre.

Práca prináša nové poznatky o obsahových látkach *Fontinalis antipyretica* a ich biologických aktivitách. Je dobrým vedeckým prínosom a základom pre ďalší rozvoj vednej disciplíny.

Otázky a pripomienky:

-na str.17 sa uvádza, že BuChE sa podieľa na patologickom procese tvorby amyloidných plakov v neskorých štádiách Alzheimerovej choroby. Je známa aj jej fyziologická funkcia v organizme?

-nerozmýšľali ste nad možnosťou stanovenia ťažkých kovov v droge vzhľadom na rozdiely zistené v tab.3 (strata sušením, stanovenie popola a stanovenie popla nerozpustného v HCl)?

-na str. 97 v obr.č.30 chýba graf harminu rozpusteného v zmesi DMSO:voda

-na str. 140 sa uvádza, že harman harmalín boli detegované pomocou DAD detektora pričom obr.č.8 na str. 47 (ukážka chromatogramov štandardov alkaloidov na DAD detektore) nemá odozvu pre spomínané alkaloidy.

-ako vysvetľujete obr.č.9-chromatogram metanolového extraktu s použitím DAD detektora, ktorý je bez odozvy alkaloidov (v porovnaní s fluorescenčným detektorom)?

-na str. 142 sa uvádza že: inhibíciu spôsobili látky s Rf 0,23 a 0,65 (neboli to alkaloidy). Neskúšali ste nejaký iný typ detekcie aby ste zistili o aké látky sa môže jednať (flavonoidy, terpény, kyseliny...)-aj vzhľadom na skutočnosť, že HPLC analýza nepotvrdila prítomnosť alkaloidov v acetónovom extrakte (str. 141)?

-V práci sa zaznamenal výrazný vplyv DMSO na aktivitu. Prečo sa použila taká vysoká koncentrácia tohto rozpúšťadla a neskúšali ste použitie iných, vhodnejších organických rozpúšťadiel?

Záverečné hodnotenie

Práca je napísaná prehľadne a jednotlivé kapitoly logicky na seba nadväzujú. Delená je na základe zvyklostí a požiadaviek určených pre tento druh prác. V teoretickej časti práce autorka postupne popisuje skúmaný rastlinný druh, obsahové látky a ich význam pre sledovanú aktivitu a možné terapeutické použitie ale aj prípadné a známe nežiaduce účinky a toxicitu. Táto časť dizertačnej práce je spracovaná na vysokej úrovni a svedčí o autorkinom prehľade a dobrej orientácii v problematike.

Experimentálna časť práce svedčí o skutočnosti, že autorka má bohaté skúsenosti z oblasti analýz zložitých matric akými liečivé rastliny a ich extrakty bezpochyby sú. Práca prináša nové poznatky v tejto oblasti ako aj možnosti ich ďalšieho využitia.

Predložená dizertačná práca potvrdzuje vysokú odbornú úroveň doktorandky aj keď zoznam uvedených publikovaných prác sa priamo netýkajú študovanej problematiky. K práci nemám pripomienky zásadného charakteru a odporúčam preto komisii pre obhajoby dizertačných prác aby ju akceptovala ako podklad pre ďalšie pokračovanie.

Na základe predloženej dizertačnej práce navrhujem udelenie vedecko-akademickej hodnosti PhD. pre Mgr. Zuzanu Krškovú vo vednom odbore Farmakognózia.

V Bratislave, 18. júla. 2011

doc. PharmDr. Pavel Mučaji, PhD.