

# OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Mgr. Jana Martina

"Ovlivnění produkce sekundárních metabolitů v *in vitro* kulturách *Scutellaria baicalensis* Georgii".

Školitel: Doc. RNDr. Jaroslav Dušek, CSc.

Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, katedra farmakognozie

---

Mgr. Jan Martin vypracoval disertační práci na aktuální téma, které v různých obměnách výchozího materiálu či metodik je předmětem studia již několik desetiletí. Snaha o získání biologicky aktivních látek přírodního původu prostřednictvím tkáňových kultur je lákavá jak pro svoje ekonomické, tak technologické výhody. I přes veškerou snahu řady pracovišť nemáme, až na nepatrné výjimky, „návod“, jak donutit nediferencované rostlinné pletivo nebo buňky a protoplasty k produkci kýžených sekundárních metabolitů.

Dovolím si hned na počátku svého posudku konstatovat, že pro mne bylo příjemné číst práci rozšiřující výše zmíněnou problematiku, zvláště když se jedná o rostlinný materiál, který je v posledních letech frekventovaný nejen jako léčivo, ale i jako součást nutraceutik a fortifikátorů. Zapadá do předpokládaného směřování našeho zdravotnictví „od terapie k prevenci“ civilizačních chorob a doplňuje informace o poživatinách, které lze v této oblasti využít.

Z dílčích cílů řešeného tématu vyplývá velká náročnost jak teoretická, tak experimentální. Z hlediska metodických přístupů lze práci formálně rozdělit na dvě části. Založení a kultivaci explantátových kultur *Scutellaria baicalensis* a sledování účinku fytohormonů, potenciálních prekurzorů, měďnatých iontů a délky osvětlení na růst a produkční schopnosti kultury. Zajímavou kapitolu představují experimenty zaměřené na elicitaci reaktivními formami kyslíku a kultivace suspenzní kultury v laboratorním bioreaktoru. Za ukazatele biosyntetické schopnosti autor zvolil glykosid baicalin a jeho aglykon baicalein.

Teoretická část je zpracována přehledně a racionálně, což ukazuje, že Mgr. Martin se v problematice dobře zorientoval a umí správně a kriticky zpracovat literární údaje. K dosažení vytčených cílů zvolil vhodné a správné techniky a postupy. U speciální biochemické metody využil, jak je dnes v moderní vědě pravidlem, spolupráci dalších odborníků.

Práce o celkovém rozsahu 100 stran má tradiční strukturu, autor cituje 157 literárních pramenů. Dosažené výsledky přinášejí řadu původních poznatků, ke kterým patří:

- založení kalusové kultury *Scutellaria baicalensis* Georgii a odvození kořenové a suspenzní kultury
- vypracování validované HPLC analytické metody pro stanovení baicalinu a baicaleinu
- zjištění, že kalusové kultury rostou nejlépe na MS médiu s NAA; trvalý osvit kultur iniciuje tvorbu anthocyaninů, trvalá tma zvyšuje tvorbu sledovaných látek
- skořican sodný se jeví jako nejvhodnější pro stimulaci tvorby sledovaných flavonoidů, stejně tak methylenová modř

- určení optimálních podmínek (aerace, rychlost míchání, potlačení střížných sil na buňky) při kultivaci suspenzní kultury v bioreaktoru
- baicalein i baicalin snižují aktivitu aspartát-aminotransferázy, čím inhibují konverzi aminokyselin na ketokyseliny.

Získané výsledky byly publikovány v 1 původní práci v impaktovaném časopise, v 1 práci v časopise abstrahovaném CA a další 3 v odborných časopisech. Byly prezentovány na 5 zahraničních nebo domácích vědeckých konferencích.

Během Ph.D. studia Mgr. Martin dále prezentoval z problematiky rostlinných explantátů dalších 7 příspěvků na konferencích.

Dovolím si několik otázek, které jsou míněné jako úvod do diskuse a nezpochybňují úroveň práce ani dosažených výsledků. Vyplynají spíše z mého vlastního zájmu o předloženou tematiku.

str. 13 – co je germander a jak se projevuje jeho hepatotoxická aktivita?

str. 24 – bylo vhodné uvést substituci baicalinu vzhledem k tomu, že patřil mezi dva sledované produkty metabolismu

str. 26 – co obsahuje americký přípravek PC-SPES, používaný proti rakovině

str. 28 – místo „kyselina fenylpyruová“ má být kyselina fenylpyrohroznová

str. 43 – bylo přidání 10 % kokosového mléka do živného média iniciováno literárním údajem?

str. 52 a 53 – proč se odebíraly vzorky v různých časových intervalech (8, 20, 24, 40 hodin?)

str. 66 – byl určen typ anthocyaninů?

Vysvětlíte mechanismus působení fytoancipinů.

Formulace a pravopisné chyby: str. 12, 19, 21,

**Po zhodnocení výsledků uvedených v disertační práci a publikační aktivity doporučuji, aby Mgr. Janu Martinovi byl po úspěšné obhajobě udělen podle § 47 zákona 111/1998 Sb. akademický titul „doktor“ (Ph.D.).**

Brno 6.6.2006.

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc.