

Oponentský posudek doktorské disertační práce PharmDr. Lenky Březinové,
Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně
„Izolace a analýza lignanů *Schisandra chinensis*“

Biologické účinky přírodních látek a jejich využití v prevenci a léčbě některých závažných onemocnění jsou předmětem studia mnoha výzkumných týmů po celém světě. Použití těchto látek je však často limitováno jejich nízkým obsahem v rostlinách, jejich plodech či semenech. Jednou z možností je vyvinutí syntetických postupů, které jsou však nákladné a ne vždy vedou k získání chemicky čistých látek. Další možností je využití moderních metod molekulární biologie.

Náplní předložené doktorské disertační práce Lenky Březinové „*Izolace a analýza lignanů Schisandra chinensis*“ bylo zjistit, zda polymerní pryskyřice Amberlite XAD-2 a XAD-7 mohou zvýšit syntézu sekundárních metabolitů, lignanů, produkovanými tkáňovými kulturami rostliny *Schisandra chinensis*.

Úvod disertační práce je věnován botanické charakteristice *S. chinensis*, jejich obsahovým složkám, struktuře lignanů a biologické aktivitě, ať už extraktů rostliny nebo čistých látek. Následuje experimentální část a výsledky, které jsou zpracovány velmi přehledně. Diskuze je psána věcně a získané výsledky jsou komentovány a shrnuty v závěru. Práce má 116 stran, 59 obrázků, 44 tabulek a je doplněna obrazovou přílohou NMR spekter. Autorka čerpala informace ze 129 odborných článků. V disertační práci je uveden seznam konferenčních příspěvků a publikací, které jsou v recenzním řízení.

Lenka Březinová splnila vytýčené cíle. Vyvinula metodiku izolace a stanovení lignanů v rostlinném materiálu. Semipermeabilní chromatografií vyizolovala a následně identifikovala nejen majoritní, ale také minoritní lignany. Strukturu těchto vyizolovaných látek ověřila NMR a látky charakterizovala zjištěním jejich bodů tání. Získaná data korelují již s dříve publikovanými hodnotami. Lignany - tigloylgomisin P, angeloylgomisin H, tigloylgomisin H se podařilo připravit v krystalické formě na rozdíl od jiných autorů, kteří vyizolovali pouze amorfni sloučeniny. Vypracované postupy využila k zjištění množství lignanů v kulturách *S. chinensis* a k sledování obsahu lignanů v kulturách kultivovaných v přítomnosti polyaminů, případně polymerních pryskyřic. Zaměřila se na i na sledování změn množství a distribuce lignanů v kulturách. Metody použité k řešení tématu disertační práce jsou adekvátní.

K předložené práci mám tyto připomínky a dotazy:

V práci mi chybí obecné schéma syntézy lignanů.

Biologické aktivitě *S. chinensis* a jejich obsahovým látkám je věnována značná část úvodu, na úkor informací o tkáňových kulturách, případně ovlivnění syntézy sekundárních látek v rostlinách různými efekty.

Na str. 105 je do části věnované semipermeabilní chromatografii a získávání čistých lignanů nelogicky vložen text o biologické aktivitě lignanů. To se opakuje v textu ještě několikrát.

Do výsledků je vložena část, která je zaměřena na ovlivnění rezistence nádorových buněk k cytostatikům lignany. Tato problematika není součástí doktorské práce. To, že

vyizolované látky byly a jsou dále studovány, je užitečné, ale nepatří do diskuze této práce, která má odlišnou náplň.

Cytochromy P450 jsou důležité pro metabolismus celé řady endogenních a exogenních látek v organismu. Uvádíte, že lignany ovlivňují aktivitu cytochromů P450. Je tato skutečnost pozitivní nebo negativní vzhledem k využití těchto látek v medicíně?

Uvádíte, že lignany ovlivňují aktivitu některých antioxidačních enzymů. Jakým mechanismem?

Mohla byste vysvětlit mechanismus působení lignanů na kůži ve vztahu k slunečnímu záření?

Co se rozumí pojmem pasážová kultura?

Mohla byste uvést konkrétní příklady využití metod elicitace k získávání přírodních látek v praxi?

Jak se lišil obsah lignanů v rostlinném materiálu z Vladivostoku od materiálu získaného ze Střediska léčivých rostlin, LF MU v Brně?

U linie LA4 kultivované v naředěném médiu nedošlo k tak výraznému poklesu produkce lignanů jako v linii LA58, jak je tento fakt možno vysvětlit?

Není snížení produkce lignanů v naředěném médiu spojeno se sníženou dostupností (množstvím) substrátů nutných k syntéze lignanů? Nedošlo za takových podmínek k ovlivnění růstu kultury?

Jak byl ovlivněn růst buněk v kultuře po přidavku vysokých koncentrací polyaminů (750 mg/l)?

Jak si vysvětlujete, že v různých liniích je vázáno odlišné procentuální množství lignanů na přidané pryskyřice z celkového vyprodukovaného množství?

Přídavek pryskyřic mění spektrum syntetizovaných lignanů. Je možné vysvětlit, proč dochází k této změně?

V doktorské disertační práci PharmDr. Lenka Březinová zavedla metody izolace a stanovení sekundárních metabolitů lignanů v rostlinném materiálu, které využila k získání čistých látek a k monitorování změn syntézy lignanů v tkáňových kulturách, které byly způsobeny efekty. Bohužel tyto efekty nezvýšily produkci lignanů tak, aby těchto metodických postupů mohlo být využito k získávání čistých látek.

Lenka Březinová prokázala schopnost vědecké práce, řešit experimentální problémy a získané výsledky interpretovat. Pokud Lenka Březinová splnila všechny požadavky kladené na studenty doktorského studia na LF MU v Brně a úspěšně obhájí svou doktorskou práci, doporučuji udělit akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle §47 VŠ zákona č. 111/98 Sb.

V Olomouci dne 29. ledna 2009

Doc. RNDr. Jitka Vostálová, Ph.D.