

Téma diplomové práce	Využití HPLC v analýze léčiv (Stanovení kurkuminoidů)
Jméno studenta, studentky	Peter Kalafut
Jméno oponenta	PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.

II. Posudek oponenta

Předkládaná diplomová práce má charakter experimentální práce a zabývá se analýzou kurkuminových barviv pomocí HPLC s UV i fluorescenční detekcí. Diplomová práce má rozsah 89 stran a je rozčleněna do 7 kapitol. Práce obsahuje 122 odkazů na literaturu. Teoretická část se nejprve podrobně věnuje popisu fyzikálně-chemických vlastností kurkuminu a jeho derivátů (včetně farmakologických účinků i toxikologickému působení) potom uvádí přehled dostupných metodik vhodných pro stanovení kurkuminových barviv. Dále je v této části práce věnována pozornost chromatografickým metodám a moderní HPLC instrumentaci a v neposlední řadě také validaci analytických metod.

V experimentální části se autor nejprve zabýval hodnocením stability kurkuminu při extrakci a v přítomnosti antioxidantní látky kyseliny L-askorbové za pomoci UV –VIS spektrofotometrie. Poté byly upraveny chromatografické podmínky tak, aby umožňovaly analýzu třech hlavních složek kurkuminových barviv. Metodika byla validována, přičemž byly porovnány validační parametry dosažené s využitím UV a RF detekce. Nakonec byla metoda užita k analýze obsahu kurkuminoidů v několika vzorcích z různých zdrojů.

Předložená práce je poměrně rozsáhlá a přináší velké množství teoretických informací o dané problematice. Její vypracování vyžadovalo také poměrně velké množství experimentální práce. Práce je zpracována přehledně a svědčí o velmi dobré orientaci autora v dané problematice i o jeho zájmu o daný obor. Nicméně v některých částech např. cíl práce bych pro větší přehlednost doporučila jasnější a stručnější formulace (např. užití bodů). Kromě toho by bylo vhodnější zařadit cíl práce až těsně před experimentální část. Výhradu bych také měla k používání osobního stylu v některých částech práce.

Kromě těchto formálních připomínek mám k práci následující dotazy:

- Str.19. Je uvedeno výraz „protiinvazivní účinek“. Můžete tento výraz objasnit?
- Str. 27. Výtěžnost extrakce kurkuminu z plasy a moči je zde uvedena ve vztahu k vnitřnímu standardu. Avšak účinnost extrakce se stanovuje zvlášť pro analyt a vnitřní standard. Jaká je funkce vnitřního standardu?
- Str. 52. V textu uvádíte, že jsem testovali stabilitu kurkuminu ve 50mM fosfátovém pufru (připravený z NaH_2PO_4), avšak není uvedeno na jakou hodnotu bylo pH pufru upraveno. Vzhledem k tomu, jak uvádíte je rozklad látky pH dependentní bylo by vhodné pH uvést.
- Str. 53. Stabilita kurkuminu v NaOH přítomnosti kyseliny L-askorbové. V methanolicém roztoku NaOH paradoxně dochází ke zvyšování absorbance. Máte pro tento jev nějaké vysvětlení?
- Str. 56 je uvedeno, že hodnoty emisní a exitačních vlnových délek byly zvoleny podle dostupné literatury. Avšak v další větě uvádíte, že tento způsob detekce nebyl v případě kurkuminu dosud publikovaný.

- Str. 65. tabulka 15. Ověření přesnosti metody. V tabulce by měla být při hodnocení přesnosti zohledněna také navážka vzorku. Pro jasnější pochopení by bylo vhodné lépe popsat způsob určení přesnosti metody.


Všechny uvedené připomínky nesnižují kvalitu diplomové práce a proto ji doporučuji k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace

výborně

V Hradci Králové dne

29.5 2007



Podpis oponenta diplomové práce