

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Téma rigorózní práce:

HPLC STANOVENÍ FLUBENDAZOLU A JEHO METABOLITŮ V BIOLOGICKÝCH VZORCÍCH

Jméno studenta, studentky:

Mgr. Marie Soukupová

Jméno oponenta rigorózní práce:

Doc.Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

I. Posudek oponenta rigorózní práce

Předložená rigorózní práce Mgr. Marie Soukupové je po formální stránce dobře zpracovaná. Práce je standardně koncipována a členěna.

Úvodní teoretická část seznamuje čtenáře s chromatografickými metodami a jejich validací, s extrakčními technikami a s použitými léčivy. V experimentální části jsou popsány použité metody, úprava biologických vzorků a HPLC stanovení. Flubendazol a jeho metabolity byly stanovovány pomocí HPLC na reverzních fázích po extrakci analytů z biologického materiálu. Byla prováděna analýza se spektrofotometrickou detekcí a analýza redukovaného flubendazolu také se spektrofluorimetrickou detekcí. Získané výsledky jsou uvedené v tabulkách a dokládány chromatografickými záznamy, bohužel ve výsledkové části nejsou komentované. Teprve v diskusi jsou dosažené výsledky komentovány a hodnoceny. Toto uspořádání poněkud komplikuje orientaci ve výsledcích.

Celkově předložená práce splňuje podmínky kladené na rigorózní práci a doporučuji ji k obhajobě.

Připomínky a dotazy:

Popisy obrázků – píší se pod obrázky.

Chybně uvedeno **terc-butylmethylether**, správně je **tert-butylmethylether**.

Str. 33, konec prvního odst. – odkaz na str.18, ale tam nic k uvedené problematice není.

Str. 33, LLE v praxi ...Prevenčí emulgace...a použití menších objemů extrakčního činidla. – Nepoužívají se spíš větší objemy?

Str. 36, VI.2. - proč není zmínka o flubendazolu, když je o něm celá práce?
- nadbytečné použití latinských názvů zvířat (má být první písmeno velké) a k tomu pak drůbež, lovná zvěř...

Str. 37 nahoře - jakým způsobem se benzimidazoly podávají nejčastěji?
- Albendazol - spektrum terapeutického použití – určitě tu chybí *Dicrocoelium dendriticum*, možná i další parazité...

Kap. VI.2.2 Flubendazol a jeho metabolity – na to, že se celá práce zabývá flubendazolem, je tu o tomto léčivu uvedeno překvapivě málo informací.

- ...**redukovaný FLU vzniká činností jaterních mikrosomálních enzymů** – určitě ho vzniká daleko víc činností cytosolických enzymů, u některých druhů (bažant, prase) se FLU v mikrosomech neredukuje vůbec

- poslední věta: **Oba metabolity si zachovávají účinnost proti helmintům.** – je to pravda? (ráda bych viděla ten článek)

„Eppendorfovy zkumavky“ – jsou mikrozkušavky dodávané firmou Eppendorf (ale dodává je i spousta dalších firem a s těmi jste asi pracovala vy)

Metodika i výsledková část je dělena do nadbytečného množství kapitol – ztěžuje to pak orientaci (např. 2.7.1, 2.7.2, nadpisy 3.3 a 3.3.1 jsou totožné...)

Smíšení × smísení – sjednotit psaní

Str. 50, tab.3, vz. HC5 a HC6 – je správně uvedena výsledná koncentrace?

Kap. 3.3.1 – uvedeno ...odstředěny při 5.0 rpm... nemá to být 5000 rpm?

Homogenizát je homogenát

Str. 55, kap. 3.4 – opravdu byly analyzovány vzorky homogenátu H.c.?

Výsledková část – úplně chybí popis dosažených výsledků, je tu uveden jen soubor tabulek a chromatografických záznamů (ty jsou téměř nečitelné a některé úplně nečitelné - obr.24)

Tab. 13 – odkaz na tab.11 – nemá to být na tab.12?

Kalibrační přímka FLU-R pro spektrofluorimetrickou detekci – jak je to s linearitou hodnot od 0 do 0,25?

Tab. 16 – pro je pro moč LOD a LOQ zhruba 10x vyšší než pro ostatní biologické materiály?

Tab. 18 – nelze z ní vyčíst, co kde bylo použito jako extrakční činidlo. Tabulky a obrázky mají být jasné samy o sobě (platí i pro další).

Diskuse – není to pouze diskuse, kdy dosažené výsledky konfrontujete s literárními údaji, ale i popis a slušný komentář výsledků (který patří do výsledkové části!). Navrhovala bych změnit název kapitoly na Výsledky a diskuse.

Str. 116, kap. 9. Limity detekce a kvantifikace chromatografických metod:

„Nobilis et al. stanovili limit kvantifikace chromatografie se spektrofotometrickou detekcí pro FLU i jeho metabolity FLU-H a FLU-R na **0,5 nmol/ml**, což po přepočtu ($M_r \text{ FLU-H} = 255,3 \text{ g.mol}^{-1}$ a $M_r \text{ FLU-R} = 315,3 \text{ g.mol}^{-1}$) **odpovídá** limitním koncentracím **0,5 pmol/l** analytů ve vzorcích. Uvedené limity však byly stanoveny v modelových vzorcích, které neobsahovaly biologický materiál. Nelze je tedy dost dobře porovnávat s výsledky dosaženými v rigorózní práci...”

V práci Nobilise et al. je uveden **limit kvantifikace pro FLU 0,5 nmol/ml**, což odpovídá **500 nmol/l** a limit pro **metabolity FLU je 0,25 nmol/ml** což je **250 nmol/l**. Oba tyto limity tedy odpovídají výsledkům uvedeným v rigorózní práci – **nutno opravit!**

V Hradci Králové dne: 8.6.2007



Podpis oponenta rigorózní práce