

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Téma rigorózní práce:

***Analýza extraktu z rostlinné drogy Orthosiphon
stamineus pomocí kapilární zónové elektroforézy***

Jméno studenta, studentky:

Mgr. Jan Hašek

Jméno oponenta rigorózní práce:

Doc. RNDr. Miroslav Polášek, CSc.

I. Posudek oponenta rigorózní práce

Předložená rigorózní práce (RP) Mgr. Jana Haška je sepsána na 87 stránkách a obsahuje 10 tabulek, 28 obrázků a 41 bibliografických citací. Autor se zabývá vypracováním kapilárních elektroforetických technik jak v klasickém provedení (CZE), tak náročnějších CZE technik s on-line elektroforetickou prekoncentrací, a to pro stanovení čtyř fenolkarboxylových kyselin a čtyř flavonoidů, které se obvykle vyskytují v rostlinných drogách jako sekundární metabolity s antioxidačními vlastnostmi.

V teoretické části jsou na 28 stránkách stručně ale fundovaně probrány principy CZE a nejdůležitějších v analytické praxi používaných elektromigračních technik, přičemž podrobněji jsou v souladu se zaměřením rigorózní práce pojednány techniky (i) on-line zakoncentrování analytů z velkého objemu vzorku se změnou polarity, (ii) ITP-CZE v jedné kapiláře, (iii) přechodná ITP-CE a (iv) kombinace ITP-CZE ve dvou samostatných kapilárách. Na dalších 5 stránkách jsou podány základní informace o studovaných fenolických látkách rostlinného původu, o obsahových látkách drogy *Orthosiphonus folium* a o dosud popsáných analytických metodách jejich stanovení. V Experimentální části jsou na 6 stránkách výstižně popsány použité pracovní postupy. Výsledky optimalizačních experimentů, jejich diskuse, návrh podmínek separace a stanovení vybraných fenolkarboxylových kyselin a flavonoidů (včetně výběru vhodného vnitřního standardu 4-chlorbenzoové kyseliny) a výsledky aplikace navržené metody při analýze reálného vzorku extraktu z drogy *Orthosiphonus folium* jsou prezentovány na 22 stránkách formou přehledných obrázků a tabulek.

Práce je sepsána vcelku přehledně a srozumitelně. V textu se však dosti často vyskytují některé nesrovnalosti či překlepy, z nichž některé uvádím:

- 1) Na str. 6, 7. řádku zdola je uvedeno, že „citlivost HPCE techniky je řádově 10^{-15} až 10^{-21} mol analytu v nL objemech“ (což by odpovídalo koncentracím až 10^{-12} mol/L); jaký způsob detekce by dosažení tak vynikající citlivosti umožnil?
- 2) Na str. 7 ve vzorci pro výpočet intenzity elektrického pole má být místo K specifická vodivost κ .
- 3) Na str. 9, 3. řádek zdola má být patrně místo „absorbované“ „adsorbované“ a místo „mobilizované“ „imobilizované“.
- 4) Str. 11, 12, 28 a 29: popis k obrázku by měl být umístěn na stejné stránce jako obrázek.
- 5) Str. 13, 3. řádek zdola: patrně má být cyklodextrin γ , nikoliv χ .
- 6) Str. 15, 8. řádek shora a dále: místo „smáčidlo“ by mělo být „smáčedlo“.

- 7) Str. 21, 6. řádek zdola: chybí jednotky u koncentrace, totéž na str. 22.
- 8) Str. 31, poslední odstavec: celá formulace je nesrozumitelná.
- 9) Str. 33, obr. 13 je málo zřetelný při tisku v odstínech šedi.
- 10) Str. 36, 2. odstavec: peroxidaci čeho způsobuje NADH a NADPH?
- 11) Str. 51, obr. 16, 17 a další: chybí číslování píků na záznamu a vlnová délka detekce.
- 12) Str. 56, obr. 22 a str. 61, obr. 25: v názvu obrázku je několik zbytečných překlepů.
- 13) Str. 70, Tabulka 9: proč není uveden migrační čas vnitřního standardu?

Přes výše uvedené formální nedostatky je výsledkem RP vypracování nové, velmi citlivé elektroforetické metody pro stanovení výše uvedených antioxidantů v rostlinných extraktech. RP tedy přináší nové, prakticky využitelné poznatky a tím splňuje požadavky na tento typ kvalifikačních prací kladené. Z toho důvodu RP předloženou Mgr. Haškem **doporučuji k obhajobě**.

Otázka do diskuse: U navržené metody analýzy rostlinného extraktu zřejmě nebyla v rámci validace hodnocena správnost výsledků. Jakými způsoby lze obecně vyhodnotit správnost analytické metody?

V Hradci Králové dne: 30. 11. 2009

Podpis oponenta rigorózní práce