

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra analytické chemie

Studijní program: Bioanalytická LDZ

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Bc. Karolína Moldrzyková**

Vedoucí práce: prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Konzultant/ka:

Oponent/ka: Ing. Hana Chmelařová, PhD.

Název práce: **Vývoj UHPLC-MS/MS metody pro analýzu vybrané skupiny neurotransmiterů**

Rozsah práce: 97 stran, 46 obrázků, 20 tabulek, 72 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | velmi dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | velmi dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předkládaná diplomová práce pojednává o vývoji analytické metody UHPLC-MS/MS pro stanovení vybraných neurotransmiterů. Práce je napsána srozumitelně a dodržuje klasickou strukturu a členění diplomových prací. Teoretická část popisuje aktuální trendy v UHPLC separaci a hmotnostní spektrometrii, s pozorností zaměřenou především na stacionární fáze využití v experimentální části této diplomové práce. Dále se teoretická část věnuje neurotransmiterům z hlediska jejich funkce a jsou zde také diskutovány používané analytické metody pro jejich stanovení v biologických matricích.

Experimentální část byla zaměřena na vývoj UHPLC-MS/MS metody pro analýzu deseti vybraných neurotransmiterů. Podle literární rešerše tyto analyty dosud nebyly analyzovány současně. V prvním kroku byly optimalizovány podmínky hmotnostní detekce, poté byla testována separace celkem na deseti analytických kolonách a optimalizováno složení mobilních fází. V neposlední řadě byla studována krátkodobá stabilita analytů v roztoku, což se ukázalo jako významný faktor pro následující experimenty.

Experimentální práce byla provedena systematicky, oceňuji velké množství provedených experimentů a jejich přehledné grafické zpracování v diplomové práci. Téma diplomové

práce je aktuální a výsledky této práce budou s vysokou pravděpodobností na výzkumném pracovišti dále využity.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

1. Celkově se v diplomové práci nacházelo množství gramatických a stylistických chyb, z nichž bych zde upozornila zejména na následující:
 - značka % se píše bez mezery, pokud se používá ve smyslu "procentní"
 - pro L- a D- isomery se používají kapitálky místo velkých písmen
2. V práci jsou vynechána čísla tabulek 6 a 7.
3. Glutamát se neoznačuje zkratkou GLUT, ale GLU
4. Str. 24: V Tabulce 3 jsou chybně uvedené správné molekulové hmotnosti pro dopamin a 3-methoxytyramin.
5. Str. 38: V názvu kapitoly 4.4.3 chybí specifikace RP.
6. Str. 54: Nepovažovala bych za kritický pár analyty 3-MT a DOPAC, jelikož uvedené blízké hmoty prekurzorů platí pro jiný mód ionizace.

Dotazy:

1. Jaké hladiny neurotransmiterů se nacházejí v biologických matricích? Jsou zjištěné detekční limity vyvinuté metody pro tyto hladiny dostatečné?
2. Byly použity dva odlišné módy separace - RP a HILIC, u obou přístupů byl vždy dva analyty s nulovou zádrží, z důvodu velmi nízkého respektive vysokého logP. Existuje alternativa stacionární fáze, která by byla vhodná pro retenci analytů s širokou škálou polarity? Eventuálně, existuje nějaká možnost modifikace mobilní fáze, která by podpořila π - π interakce na pentafluorofenylové koloně a zvýšila tak retenci nezadržovaných analytů?
3. Dokázala byste říct, vzhledem k fyzikálně-chemickým vlastnostem analytů, jaké výzvy bude představovat příprava reálných biologických vzorků před UHPLC-MS/MS analýzou?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

17. září 2024

podpis oponenta/ky