

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra Farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Anna Tláskalová**

Vedoucí/školitel/ka práce: Doc.PharmDr.Radim Kučera,Ph.D. Rok obhajoby: 2018

Konzultant/ka práce: Mgr.Martin Mžik

Oponent/ka práce: Doc.PharmDr. Petra Štěřbová, Ph.D.

Název práce:

**LC-HRMS analýza vybraných antihypertenziv v biologickém materiálu jako  
průkaz compliance**

---

Rozsah práce: počet stran: 72, počet obrázků: 10, počet tabulek: 18, počet citací: 46

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Předložená diplomová práce si klade za cíl: 1/ vyvinout metodu extrakce 13 antihypertenziv z lidského séra před LC-MS analýzou, 2/ kompletní LC-HRMS metodu validovat a 3/ použít ji pro analýzu vybraných klinických vzorků. Teoretická část je nejprve zaměřena na objasnění metod úpravy biologických vzorků, včetně stručné charakteristiky současných trendů v dané oblasti. Dále v ní autorka vysvětluje principy (ultra)vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Poslední kapitola teoretické části je věnována validaci bioanalytických metod. Obsah i rozsah teoretické části velmi dobře reflektují náplň části experimentální.

V experimentální části diplomantka nejprve testovala a porovnávala vybrané parametry metod extrakce kapalina-kapalina (LLE) a precipitace pro izolaci analyzovaných léčiv. Na základě získaných výsledků pak pro validaci vybrala LLE. Kompletní LC-MS metodu poté validovala podle doporučení EMA pro validaci bioanalytických metod a následně ji použila pro analýzu vzorků odebraných pacientům s hlavním cílem ověření jejich compliance. Práce má logickou strukturu a je sepsána srozumitelně, pouze s minimem chyb a nepřesností, případně nevhodných termínů (viz dotazy níže). Práce svědčí o velmi dobré orientaci autorky v daném tématu. Je potřeba ocenit, že diplomantka vykonala poměrně velké množství experimentální práce. Z několika nalezených formálních nedostatků bych zmínila např. m/z, které je vhodné uvádět kurzivou nebo spojení "hmotnostní spektrometr operoval...". Podmínky pro UHPLC-HRMS analýzu (kapitola 5.4) by měly být uvedeny již v experimentální části, vzhledem k tomu, že je diplomantka během práce nevyvíjela. Tabulku 14 by bylo vhodné nazvat přesněji např: Základní charakteristiky analytů.

Dotazy a připomínky:

Str. 34: Odkud byly objednány USP referenční standardy?

Str. 37: Proč byly IS testovány v různých koncentracích a podle čeho byly koncentrace vybírány? Jaká jsou specifika výběru IS pro LC-MS analýzy?

Str. 42: Proč bylo pro testování opakovatelnosti extrakce a výběru IS používáno 91 ul blankového séra, zatím co pro vývoj LLE to bylo 96 ul séra?

Str. 44: Pro výtěžnost a matricové efekty není uvedeno jak přesně byly vyhodnoceny a jakým konkrétním parametrem byly vyjádřeny.

Str. 48: Podle čeho byla vybrána koncentrace NaOH a konkrétní objem přidávaný do plasmy pro úpravu pH?

Str. 55: Jaký je správný termín pro ionty  $[M+H]^+$ ?

Str. 54: Jaký byl vliv metoprololu-d7 a diazepam-d5 jako testovaných IS na linearitu a opakovatelnost měření? V práci to není uvedeno. Výraz "příznivější výsledek" by bylo vhodné konkretizovat, např. hodnotami  $r$  nebo  $r^2$ , RSD nebo CV.

Str. 56: Profil gradientu se obvykle vyjadřuje pomocí % složky s vyšší eluční silou (složka B) a jeho zápis zahrnuje také % B a čas nutný pro promytí kolony a ekvilibraci na počáteční podmínky.

Uvedené připomínky nesnižují kvalitu diplomové práce.

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 22.5. 2018

.....  
podpis oponentky / oponenta