

Téma diplomové práce	Optimalizace a validace LC/MS metody pro kvantitativní stanovení vybraných diuretik v lidském krevním séru
Jméno studenta, studentky	Zuzana Světlíková
Jméno oponenta	PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.

II. Posudek oponenta

Předložená diplomová práce má experimentální charakter a zabývá se optimalizací a validací metodiky LC-MS/MS metody pro současnou kvantitativní analýzu diuretik (hydrochlorthiazidu a chlorthalidonu) v krevním séru. Diplomová práce má rozsah 89 stran a je členěna do 9 kapitol. Obsahuje 33 odkazů na literaturu.

V teoretické části jsou nejprve charakterizována analyzovaná diuretika včetně jejich terapeutických indikací. Poté se autorka věnuje popisu základních principů metody L-L extrakce a HPLC analýzy léčiv. V neposlední řadě je věnována pozornost problematice MS detekce jakož i validaci analytických metod. V experimentální části byla nejprve provedena optimalizace podmínek pro MS detekci analyzovaných látek, optimalizace složení mobilní fáze a výběr typu eluce. Dále se autorka zabývala úpravou metody izolace diuretik z plasmy a také výběrem vnitřního standardu. Nakonec byla provedena kompletní validace uvedené metodiky.

Diplomová práce využívala novou moderní analytickou techniku, která vyžaduje od diplomanta pokročilejší teoretické znalosti i praktické dovednosti. Je také zřejmé, že splnění vytčených cílů vyžadovalo poměrně značné množství experimentální práce. Práce je zpracována standardní formou a je jasně čitelná. Nicméně k práci Zuzany Světlíkové mám následující připomínky. Dle mého názoru by bylo vhodnější zařadit cíl práce až za teoretickou část, což by umožnilo čtenáři lepší orientaci v problému. Jisté výhrady bych také měla k užívání osobního stylu v některých částech práce. Dále pak autorka užívá nesprávného a nejednotného formátu citací (plné názvy časopisů, nejednotnost ve zkracování jmen autorů atd.).

Kromě uvedených připomínek měla k práci následující dotazy:

- Proč bylo potřebné současně stanovit více diuretik jednou analytickou metodou, když není v případě hydrochlorthiazidu a chlorthalidonu běžné tyto léčiva v terapii kombinovat? Bude tato metoda používána pro rutinní analýzu vzorků od pacientů a pokud ano je reálné toto provádět s ohledem na „cost-benefit“ ?
- Str. 15. Uvádíte, že v případě slabě bazických nebo téměř neutrálních látek se efektivita extrakce zvýší přidávkem slabě bazického pufru a obdobně je tomu u kyselých léčiv v případě přidávku pufru kyselého. Proč tomu tak je a podle čeho volíme hodnotu na kterou upravujeme pH v případě potřeby ovlivnění efektivnosti extrakce?
- Str. 19. Uvádíte, že při MS detekci mají uplatnění téměř výhradně kapilární kolony? Je tomu opravdu tak?
- Jaká látka bývá v případě užití MS detekce označována jako „ideální vnitřní standard“?

- Jaký je třetí způsob nejběžněji užívané ionizace za atmosférického tlaku, který se využívá ve spojení LC-MS?
- Str. 34. Chybí popis proměnných ve vzorci pro výpočet LLOQ a selektivity. Můžete ho doplnit?
- Str. 48. V tabulce uvádíte poněkud netypický profil gradientu. Můžete to objasnit?

Uvedené připomínky nikterak nesnižují kvalitu předložené diplomové práce a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace

V Hradci Králové dne 1.6 2007

Podpis oponenta diplomové práce