

Název rigorózní práce **Analytické hodnocení derivátů salicylaldehyd isonikotinoyl hydrazonu**
Uchazeč **Mgr. Michal Schöngut**
Oponent **PharmDr. Pavla Pilařová, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Mgr. Michal Schöngut předložil rigorózní práci jejímž cílem bylo vyvinout optimální chromatografické podmínky pro HPLC analýzy čistoty dvou derivátů salicylaldehyd isonikotinoyl hydrazonu (CAF-INH, HMAF-INH), dále vyvinout metodu extrakce obou derivátů z plazmy, provést částečnou validaci těchto metod a využít optimalizovaných metod pro hodnocení stability zmíněných derivátů v plazmě.

Práce je členěna obvyklým způsobem do 9. kapitol, má 88 stran včetně souhrnů v českém a anglickém jazyce. Je doplněna 8 tabulkami, 18 obrázky, které zahrnují i grafy. V teoretické části jsou popsány chromatografické metody, jejich dělení, dále veličiny vztahující se k chromatografickému procesu a způsoby úprav biologického vzorku před analýzou. Také jsou popsány validační parametry a též je pozornost věnována chelátorům železa (terapie, přehled užívaných látek a charakteristika sledovaných analytů v předložené práci). Navazující kapitola Experimentální část obsahuje vývoj chromatografických podmínek, příprava vzorků a dále pak je popsána precipitační metoda pro izolaci sledovaných analytů z plazmy, následuje validace metod a hodnocení stability obou analytů. V kapitole Výsledky a diskuze jsou uvedeny dosažené výsledky, které autor komentuje. Prezentované závěry jsou podloženy chromatografickými záznamy, grafy a tabulkami. V závěrečné kapitole jsou přehledně shrnuty všechny dosažené výsledky.

V práci je citováno 45 zdrojů, některá citace jsou neúplné např. 24, 26-28.

Práce je zpracována s minimálním počtem překlepů. Postrádám v práci číslování stránek, orientace v textu dle obsahu neodpovídá tím pádem elektronické podobě. Poznámky a dotazy jsou uvedeny dle čísel stran pdf dokumentu. Občas se v textu objevují neobdobné termíny a některé dlouhé věty s neobvyklým slovosledem jsou méně pochopitelné, některé budou zmíněny v připomínkách.

Protokol o vyhodnocení podobnosti závěrečné práce v Theses.cz našel 15 podobných dokumentů, odkazuje však na stále stejný dokument jen s různými daty. Turnitin našel 37% podobnost, u většiny dokumentů jde o podobnost menší než 1 %, jen jeden dokument uvádí 29 %, ale jedná se hlavně o podobnost v teoretické části v obecných termínech, názvech kapitol, chemikáliích atd., což se běžně objevuje v rigorózních a diplomových pracích experimentálního charakteru.

K práci mám tyto dotazy a připomínky:

Str. 6: V Úvodu uvádíte 2 názvy obou analyzovaných chelátorů, u prvního je uvedeno“celým přesným názvem...“, u druhého jen ...“ celým názvem...“ jak se tyto názvy označují nebo jak přesněji resp. chemicky jej nazvat?

Str. 8: Kap. 2.1.2 3 odst 2 věta na 5 řádků... Jedna nepohyblivá, stacionární fáze (v koloně nebo na tenké vrstvě) má schopnost různou měrou zadržovat jednotlivé součásti analyzované směsi, druhá pohyblivá, mobilní fáze pak vymývá (eluuje) jednotlivé separované součásti směsi z nepohyblivé fáze a odnáší je ve směru toku různou rychlostí, **čímž dojde k jejich oddělení**.... Vyznívá věta jako že m.f. dělení látek způsobuje jen svým tokem

Str. 10: 2 odst HPLC nachází stále větší uplatnění...myslím že již našla a je dominantní v této oblasti
5 odst ... signál je převeden **od** podoby chromatografického záznamu.... Překlep

Str. 11: bod 1)... z jednoho nástřiku analyzovaného vzorku určit...úplně nesouhlasím z 1 nástřiku, ale určit z jednoho chromat. záznamu všechny uvedené parametry ano

Str. 13, 14: u autosamplerů a kolon by mělo být zmíněno termostatování a vliv teploty v jednotlivých částech zařízení

Str. 17: 2 odst posl věta ... uniká mi její význam., prosím vysvětlit

Samotná voda bez přísady organického rozpouštědla dobře nevyhovuje, protože hydrofobní povrch se vodou nesmáčí dobře; samotná voda je tedy složkou o velmi malé eluční síle.

Str. 23: asymetrie píku, nenazvala bych nežádoucím jevem – asymetrie píku rovna 1,0 bych považovala za žádoucí

Str. 32: 3 odst uvádíte, že se validace provádí vždy v uvedených případech – je to tak opravdu, např. u přenosu do jiné laboratoře?

Str. 33: 2 odst. posl věta limit kvantifikace (LLOQ) – je toto spojení správné, uvádíte ještě dále s různými názvy (na konci stránky, u linearity)

Str. 36: Robustnost metody – s popisem souhlasím a mám dotaz... U metod je žádoucí vysoká (velká) robustnost nebo naopak?

Str 43: Věta uprostřed Schopnost vázat železo v roztoku mají obě sloučeniny podobnou jako mateřská sloučenina SIH, kdežto účinnosti SIH při testování v buňkách nedosáhla ani jedna. .. je tím míněno že v buňkách nemají schopnost chelatace Fe?

Str. 49: Příprava roztoků – zaujal mě výběr IS – znali jste jeho čistotu? pro syntézu HAF-INH použity asi stejné chemikálie? Neočekával se také rozklad?

Str. 51: ... v poměru 2:1 ku plazmě, : již významově značí ku; nevhodný termín ...odsát pipetou....
Dotaz ve vztahu k následující kap.4.5 proč stanovujete extrakční účinnost(dle práce výtěžnost) IS a u další metody s jiným IS ne resp. naopak

Str. 54: Příprava m.f.... Smísení obou složek mobilní fáze řídil automaticky **operátor**. ?

Str. 60: posl odst bylo by vhodné očekávanou vlastnost EDTA doložit chromatogramy nebo aspoň číselně

Str. 64: Hodnocení linearity – v jakém rozsahu je metoda lineární a na základě čeho byl zvolen spodní bod rozsahu resp. linearity
kap 5.2.3 1 odst ...Pro každou koncentraci bylo připraveno 5 vzorků, každý byl analyzován dvakrát. – tzn. 2 nástříky ze stejné vialky
Tab 3 je koncentrace v 1 sloupci správně?

Str. 65: V hodnocení parametrů (přesnost, preciznost) by bylo vhodnější uvést přímo limity, aby se nemuselo hledat v teoretické části o jaké hodnoty jde.

Str. 66: Pro názornost by bylo přehlednější dát do společného obr. prázdnou plazmu a chromatogram analyzovaných látek, nebo aspoň stejné měřítko obr. 9 a 10.
Při 251 nm by pro Z izomer metoda moc selektivní nebyla, měření však probíhá při 285 nm, není nikde uvedeno, proč byla tato vlnová délka zvolena, což by hodnocení selektivity důvod byl.
Z a E izomery jak se zjišťovaly?

Str. 67: 1 odst...průměry ze čtyř analýz... jakých 4, v kap 4.5. je uveden 2 x 14 vzorků.

V práci bylo provedeno velké množství experimentů a vyvinuté metody budou určitě přínosné pro výzkum chelátorů železa ze skupiny aroylhydrazonů na naší katedře. Závěrem chci konstatovat, že tato rigorózní práce Mgr. Michala Schönguta splňuje požadavky na takovéto práce kladené, a proto ji doporučuji k obhajobě.