

Téma diplomové práce	Development of an LC-MS Method for Determination of New Antimalarial Drugs in Biological Matrices
Jméno studenta, studentky	Jiří Klimeš
Jméno oponenta	Radim Kučera, PharmDr., Ph.D.

II. Posudek oponenta

Jiří Klimeš předložil diplomovou práci (DP), kterou vypracoval v rámci programu ERASMUS na zahraničním pracovišti (Gothenburg University, Sahlgrenska Academy, Unit for Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Švédsko). Cílem DP bylo:

- vypracovat citlivou a selektivní LC-MS metodu pro stanovení artesunatu (ARST) a jeho hlavního metabolitu dihydroartemisininu (DHA) za použití artemisininu (QHS) jako vnitřního standardu.
- zjistit zdroj degradace studovaných látek v prostředí hemolizátu nedo volných Fe^{2+} iontů.

Diplomová práce má rozsah 62 stran a je členěna obvyklým způsobem do 5 kapitol (teoretická část, cíl práce, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr). Práce je dále doplněna seznamem zkratk, abstrakty v českém a anglickém jazyce a seznamem citované literatury (58 citací).

1. Teoretická část se zabývá:

Vlastnostmi (chemické, farmakokinetické, farmakodynamické, farmakologické etc.) studované skupiny látek a metodami popsané v literatuře pro jejich stanovení. Dále pak se autor věnuje popisu HPLC, MS a jejich spojení. Kapitola je zakončena přehledem metod pro úpravu biologického materiálu před HPLC analýzou.

2. V kapitole Výsledky a diskuse jsou uvedeny chromatografické záznamy, hmotnostní spektra studovaných látek a dosažené výsledky týkající se vlivu hemolizátu/volných Fe^{2+} iontů na stabilitu jednotlivých látek. Dosažené výsledky experimentální práce autor kriticky komentuje.

3. V kapitole Závěr diplomant shrnuje dosažené výsledky a zamýšlí se nad směrem další práce. Celá práce je sepsána přehledně v anglickém jazyce bez většího množství chyb.

Celá práce je sepsána v anglickém jazyce s minimem pravopisných chyb. Práce působí přehledně a uceleně.

K předložené práci mám několik formálních poznámek:

Pokud jsou zavedeny zkratky netřeba je v textu zavádět opakovaně (str. 12,13). Při ionizaci ESI je třeba zmlžující plyn i při nízkých průtocích (str. 16). Rovnice vyjadřující vztah mezi pH, pKa a poměrem mezi ionizovanou a neionizovanou frakcí látky se jmenuje Henderson-Hasselbalchova (str. 46). V diskusi se odkazujete na odstavec 3.4, který se v práci nenachází.

Dále bych se chtěl zeptat:

str. 9 - uvádíte poločas látky (artemether) 3-11h je pro to nějaké vysvětlení

str. 11 - jak souvisí nestabilita vzorku s HPLC-MS metodou?

str. 17 – mohl byste vysvětlit princip APCI?

str. 19 – který typ analyzátoru je vhodný k experimentům typu MSⁿ (ve výčtu jsem jej nenalezl)?

str. 33 pro rozpouštění vzorků jste používal různé směsi rozpouštědel, proč?

str. 34 – k analýze byla odebrána celá organická vrstva?

str. 20 – Na základě čeho byly vybrány chromatografické podmínky? Nezkoušel jste i jiné poměry MF. Jakou retenci měl fenantrolín?

V diskusi (str. 52) píšete, že u precipitace proteinů nezáleží na přidavku kys. octové je to v souladu s daty uvedenými na str. 48?

str. 48 – Tab. 2 – je zřejmé, že se vyskytují rozdíly mezi vzorky s přidavkem a bez přidavku kys. octové. Čím si myslíte, že je dán rozdíl?

Str. 55 - nezkoušel jste, jestli je ve vzorku přítomna látka hem-atremisinin?

Závěrem bych rád konstatoval, že z předložené práce je patrné značné množství vykonané experimentální práce. Tato DP je součástí projektu EU (The safety of usage Artemisinins during pregnancy) , do kterého je hostitelské pracoviště zapojeno. Získané výsledky naznačují směr kudy se dále ubírat v řešení dané problematiky a jsou tedy cenné pro další pokračování projektu. Práce Jiřího Klimeše vyhovuje požadavkům kladeným na diplomovou práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **výborně**

V Hradci Králové dne 20.5.2009

Podpis oponenta diplomové práce