

Téma rigorózní práce: ***Mikroextrakce oxazepamu tuhou fází z plasmu***

Jméno studenta, studentky: ***Mgr. Martin Raška***

Jméno oponenta rigorózní práce: ***PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.***

## I. Posudek oponenta rigorózní práce

Mgr. Martin Raška se ve své rigorózní práci zabýval optimalizací podmínek extrakce oxazepamu z modelových vzorků plasmu za využití mikroextrakce na pevnou fázi (SPME) s následnou HPLC analýzou. Poté provedl základní validaci celé analytické metodiky.

Předložená práce má standardní členění a obsahuje 26 odkazů na literární zdroje.

Jazyková stránka práce a především používání vědeckého stylu by si zasluhovaly větší pozornost. Práce obsahuje příliš dlouhé věty s neobvyklým slovosledem. Velmi často se v textu (především v teoretické části) několikrát zbytečně opakují stejné informace. Některé kapitoly jsou zbytečně dlouhé a nepřehledné a obsahují velké množství "balastních" informací (např. kap. 2.2.2.2. Extrakce tuhou fází) na úkor těch důležitých. Toto vše přispívá k horší orientaci čtenáře v textu. V experimentální části není nezbytné popisovat prováděné experimenty do nejmenších detailů (např. aktivace míchačky), protože se potom klíčová data ztrácí v množství obecně známých informací. Není nezbytné uvádět např. vzorec pro výpočet průměrné plochy píku nebo koncentrace, protože se jedná o naprosto triviální a obecně známý výpočet.

Kromě těchto obecných připomínek mám k práci následující konkrétní připomínky a dotazy:

- Úvod:... „Biologický materiál je cenným zdrojem informací o vlastnostech léčivých látek. Zkoumáním takového materiálu lze získat data nejen o toxikologických parametrech cílové látky, ale vhodně se dá využít rovněž k studiím farmakologickým “.  
Myslíte si, že toto tvrzení, tak jak je napsáno, je pravdivé?

- Str. 14. Detekce hmotnostní spektrometrií - Ionizace nárazem elektronů nebo termoionizace nepatří mezi ionizační techniky typické pro spojení HPLC-MS. Které techniky jsou pro toto spojení téměř výhradně užívány?

- Str. 15. Zpracování biologického materiálu, 1. odstavec: Co nazýváte "průběhem reakce" v následující větě? ... "Ty pak působí na chování analytu a vlastní průběh reakce"...

Také není zcela jasné, co myslíte...“ stavem komplexu udržujícího pH s jeho odchylkami a pufrovací kapacitou, parciální tlaky plynů v nativním systému atd.“...

- Str. 22. SPE: Je možné po aktivaci kolonky organickým rozpouštědlem přímo nanést na kolonku biologický materiál (např. plasmu)? Opravdu si myslíte, že SPE sorbenty obsahují nečistoty, které se „přenesly z laboratorního ovzduší“?

- Str. 30. Jako nevýhodu SPME (v porovnání s ostatními metodami) uvádíte, potřebu provést kalibraci. Myslíte si, že u jiných metod úpravy vzorku není kalibrace potřebná? Uvádíte, že kalibraci je možné provést za použití vnějšího standardu, vnitřního standardu nebo standardu sloučeniny, která je blízká

vlastnostmi stanovované látky. Jaký je rozdíl mezi posledními dvěma případy?

- Str. 33. Validace analytických metod. Existuje nějaký mezinárodně platný dokument obsahující doporučení a limity pro validaci bioanalytických metod? Jaké jsou limity pro přesnost a správnost pro stanovení léčiv a metabolitů v biologickém materiálu? Vzhledem k tomu, že v experimentální práci autor validuje metodu pro stanovení léčiva v plasmě, bylo by jistě vhodné se zaměřit na konkrétní směrnici a limity týkající se bioanalytických metod.
- Str. 41. V práci chybí údaje o terapeutických koncentracích oxazepamu. Pracoval jste s terapeuticky relevantními koncentracemi oxazepamu?
- Tab. 4, 5: Porovnání výtěžků extrakce. Vzhledem k tomu, že se výsledky některých způsobů extrakce liší zcela minimálně (především Tab. č. 5) a že lze očekávat jistou variabilitu výtěžností extrakce, bylo by jistě vhodné provést celý experiment aspoň 2-3 krát.
- Str. 62. Podle jakého klíče byly vybírány hodnoty pH, které jste testoval? Odrážely nějak fyzikálně-chemické vlastnosti oxazepamu (např. pKa)?
- Str. 64. Linearita - koeficient korelace 0.971 nesvědčí o příliš velké linearitě. Není možné, že by byla výtěžnost extrakce do jisté míry závislá na koncentraci léčiva ve vzorku? Zvažoval jste tuto možnost? Proč jste pro ověření kalibrace vzorky na 12 hod zmrazil?
- Podle čeho byla vybrána pro přesnost a správnost metody koncentrace 100 µg/ml? Vzhledem k tomu, že linearita byla studována od 50-500 µg/ml není tento výběr, dle mého názoru, příliš logický.
- Obr. č. 23 a 24. obsahují stejné chromatogramy.

Přes uvedené připomínky splňuje práce Mgr. Martina Rašky podmínky kladené na práce tohoto typu, a proto ji doporučuji k obhajobě.