

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra KFCHFA

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Anna Hojná**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Nela Váňová, PhD.

Konzultant/ka práce:

Rok obhajoby: 2021

Oponent/ka práce: Mgr. Hana Bavlovič Piskáčková, Ph.D.

Název práce:

Sledování farmakokinetiky oximového reaktivátoru acetylcholinesterázy K869

Rozsah práce: počet stran: 79, počet obrázků: 16, počet tabulek: 22, počet citací: 101

Práce je: experimentální

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Cílem předložené diplomové práce bylo vyvinout a optimalizovat analytickou metodu (zejména extrakční techniky) pro analýzu látky K869 v plasmě a tkáních (mozek, játra, ledviny). Metoda byla následně použita pro měření reálných vzorků za účelem sledování farmakokinetiky distribuce látky K869.

Teoretická část je sepsána vcelku přehledně, jednotlivé kapitoly na sebe navazují, nicméně některé části mi přijdou nadbytečné (např. kapitola 1.1.5 Základní metody kvantitativní analýzy) a naopak některé informace mohly být více rozepsány. Text je rozčleněn do tří částí, kde první část je věnovaná analytické metodě - HPLC instrumentaci, úpravě vzorku s důrazem na SPE a také validaci analytické metody. Druhá část velmi stručně popisuje preklinické hodnocení léčiv a ve třetí části se autorka věnuje využití oximů (mezi které spadá i látka K869) jako antidot při otravě organofosfáty.

Experimentální část je zaměřená zejména na optimalizaci extrakce látky K869 z plasmy a ledvin. Zatímco v literatuře je tato skupina látek zpracovávána proteinovou precipitací, autorka se ve své diplomové práci zaměřila na využití SPE extrakce s cílem dosáhnout vyšších extrakčních výtěžností. Optimalizované extrakční metody byly validovány a použity pro analýzu reálných vzorků.

Práce má obvyklé členění a text obsahuje pouze běžné množství překlepů, za významnější překlep považuji záměnu AChE za ACh (str. 32: Schopnost oximu zvrátit inhibici ACh je mimo jiné závislá na použitém OP... a str. 33: Reaktivátory AChE působí tak, že přerušují vazbu mezi ACh a organofosfátem a tím uvolňují ACh). Většina výsledků je prezentována formou tabulek, ale pro větší čtivost a přehlednost by bylo vhodnější některá data prezentovat jako grafy (zejména tabulky 8, 9, 10 a 11). Práce obsahuje velké množství

tabulek a některé tabulky jsou nadbytečné, jelikož jsou výsledky duplicitně popsány tabulkou a grafem (tab. 12 = obr. 14; tab. 16 = obr. 13; tab. 18 = obr. 14; tab. 20 = obr. 15; a tab. 22 = obr. 16). Pozitivně hodnotím vypsání částí HPLC stručně do tabulky, ovšem ještě přehlednější by bylo, kdyby jednotlivé části HPLC na obr. 1 byly očíslovány a korelovaly tak s tabulkou. Vzhledem k tomu, že DP byla psaná v češtině bylo by vhodné aby popisky obrázků v teoretické části byly přeloženy do českého jazyka. Práce obsahuje velké množství citací, ale formátování citací není sjednocené (někde uvedena celá jména, někde jen iniciály křestních jmen, atd.), navíc se v textu dvakrát objevuje citace ve stylu "Jméno rok" namísto číslování (str. 21 a str. 37). Anglický abstrakt by uvítal větší jazykovou korekturu. Protokol o vyhodnocení podobnosti závěrečné práce v Theses.cz vyhodnotil 1 podobný dokumentů ovšem s mírou podobnosti méně než 5 %.

Dotazy a připomínky:

- V kapitole 1.4 zmiňujete mezi základními farmakokinetickými (FK) parametry pouze AUC, maximální koncentraci a čas do maximální koncentrace. Naproti tomu ve výsledcích v tabulce 21 uvádíte mezi základními FK parametry také poločas eliminace, clearance, distribuční objem atd., tyto parametry měly být také zmíněné v teoretické části.
- Na str. 24 uvádíte, že cílem úpravy vzorku před analýzou je zvýšení koncentrace analytu a tím i senzitivity metody. Příliš se mi zde nelíbí výraz "zvýšení koncentrace", napadá vás vhodnější termín?
- Na str. 28 uvádíte, že kalibrační křivka by měla mít minimálně 5 bodů (koncentračních hladin). Co doporučuje validační směrnice pro bioanalytické metody dle Evropské lékové agentury?
- V kapitole 1.5.1 uvádíte, že nervově paralytické látky jsou děleny na "G látky" a "V látky" - jaký je mezi těmito skupinami rozdíl? Na základě čeho jsou tyto skupiny pojmenované?
- Na str. 39 uvádíte, že zásobní roztoky K869 byly připravené rozpuštěním 7,1638 mg dibromidu ve vodě. Opravdu byla látka navažována s touto přesností?
- Při SPE extrakci jste pro eluci použili jako eluční činidlo ACN/H₂O/FA; 9:0,5:0,5 v/v/v) - bylo množství vody v činidle nějak optimalizováno?
- Na str. 48 uvádíte, že extrakční proces z plasmy byl optimalizován na vzorcích o koncentraci 50 µg/ml, ovšem v metodice, na kterou se odkazujete (kap. 3.5., str.41) je koncentrace K869 v plasmových vzorcích 20 µg/ml. Na které hladině tedy byl extrakční proces optimalizován a proč jste danou hladinu zvolili?
- Při validaci metody v plasmě uvádíte výtěžnost pouze na jedné hladině. Na jaké hladině byla výtěžnost hodnocena a nebylo v tomto případě lepší hodnotit výtěžnost na nízké i vysoké hladině?
- Pro analýzu využíváte metodu LC-UV kdy pro separaci byla využita iontově-párová chromatografie. Co je velkou nevýhodou této metody? Proč jste nemohli tuto metodu aplikovat při použití citlivější MS detekce, kterou jste nakonec použili pro stanovení látek v játrech a mozku?

Uvedené připomínky nesnižují kvalitu diplomové práce.

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

V Hradci Králové dne 27.5.2021

.....
podpis oponentky / oponenta