

POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Katedra:	Katedra analytické chemie
Autor:	Bc. Ján Kozic
Název práce:	Identifikace metabolitů anthelmintik s využitím UHPLC/MS/MS
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Robert Jirásko, Ph.D.
Oponent:	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Diplomová práce Bc. Jána Kozice se zabývá stanovením ivermektinu jako zástupce anthelmintik pomocí kapalinové chromatografie spojenou s hmotnostní detekcí. Teoretická část práce je systematicky rozdělena na tři větší kapitoly, zabírá celkem 41 stran a opírá se o úctyhodných 100 citovaných literárních odkazů, především článků publikovaných v odborných mezinárodních časopisech. V první menší části se autor věnuje separačním metodám používaných při analýze xenobiotik. V druhé části jsou popsány dostupné hmotnostní techniky, které slouží pro určování struktury metabolitů a poslední část je zaměřena na výčet látek používajících se při léčbě parazitárních onemocnění (anthelmintik). Teoretická část podává ucelenou informaci k dané problematice, autor výstižně popisuje nejnovější iontové zdroje a analyzátory v hmotnostní spektrometrii a jednotlivé typy anthelmintik. Nicméně nepokládám za nutné rozebírat matematický popis výšky teoretického patra v kapalinové chromatografii.

Experimentální část obsahuje použité přístrojové vybavení, chemikálie a postupy při přípravě vzorků. Dosažené výsledky jsou diskutovány na 15 stranách. Část je věnována optimalizaci extrakce a detekci metabolitů. Obsáhle a přehledně je zpracována fragmentace molekuly ivermektinu a jsou navrženy možné fragmentační schémata. Poslední kapitola se věnuje určení struktury metabolitů ivermektinu získaných *in vitro* z hepatocytů potkana.

K formátování diplomové práce bych měl několik výhrad. Rozdělení kapitol a podkapitol až do šesti číselných hodnot (např. 3.1.2.1.2.1.) je zbytečné a snižuje orientaci v diplomové práci. Čtivost je snížena neustálým rozdělováním slov na konci řádku (i 15x na stránku). Některé obrázky v Teoretické části nejsou v textu citovány a tabulkám v Experimentální části chybí číslování a popisky. Diskutované výsledky jsou místy chaotické. Např. na straně 63 (kapitola 5.2.) se objevuje metabolit M6. O co se jedná, se čtenář může

dozvědět až na straně 73 v kapitole 5.4. Seznam použité literatury je neobvykle až za Seznamem zkratk a Přílohami.

Dále mám k práci následující připomínky, dotazy a náměty pro diskusi:

- 1.) V Experimentální části je uvedeno 5 extrakčních technik (str. 58). Byly na každé SPE kolonce zkoušeny všechny extrakční techniky? Na jakém základě byl vybrán pro každou kolonku nejlepší postup? Optimalizace extrakce pomocí SPE je také velice slabě popsána ve Výsledkách a diskuzích.
- 2.) Může autor vysvětlit větu: *Další 10 μ M standardní roztok IVM byl k získaný náhradou 7,5 ml H₂O inkubačním médiem pro hepatocyty, ...* (str. 59, čtvrtý řádek shora).
- 3.) V Experimentální části jsou uvedeny podmínky separace. Proč zrovna tyto podmínky? Byla provedena optimalizace separace?
- 4.) Eluční čas ivermektinu B_{1a} je 15,7 minut. Použitý gradient mobilní fáze nicméně končí v 15 minutě. Dochází k eluci ivermektinu ještě v gradientu nebo až po jeho skončení? Bude hrát roli zpoždění gradientu, popř. jaké je zpoždění použitého UHPLC systému? Jak vypadá chromatogram standardu ivermektinu?
- 5.) Podmínky MS detekce jsou popsány pouze v kapitole 4.3.4. *UHPLC/MS merania*. Předpokládám, že tyto podmínky odpovídají detektoru spojeného s UHPLC systémem. Jednalo se o iontovou past nebo QqTOF? Nastavení druhého hmotnostního spektrometru není nikde popsáno.
- 6.) Na Obr. 8.8 určitě nejsou TIC chromatogramy, jak se uvádí v popisku (str. 91).
- 7.) Proč nejsou na žádných chromatogramech uvedeny metabolity M1-M5, M7 a M9? V oblasti retenčních časů metabolitů M1-M4 (5,6-7,2 minuty) nejsou patrné žádné píky. Byla citlivost detekce dostatečná?

Závěrem mohu konstatovat, že i přes tyto nedostatky bylo splněno zadání diplomové práce. Autor prokázal tvůrčí schopnost a přináší zajímavé výsledky v oblasti léčiv. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím známkou

Výborně mínus

V Pardubicích 18. 5. 2011



Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.