

POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Katedra:	Katedra analytické chemie
Autor:	Bc. Anna Veverková
Název práce:	Farmakokinetika hydrogelu na bázi hyaluronanu s obsahem triclosanu po intraperitoneálním podání malým laboratorním zvířatům
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Robert Jirásko, Ph.D.
Oponent:	Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce se zabývá optimalizací metody HPLC-MS na stanovení hydrogelů vytvořených z derivátů kyseliny hyaluronové a tyraminu (HA-TYR) s obsahem triclosanu jako antimikrobiálního činidla. Byla optimalizována příprava vzorků, separace i detekce analytů. Celá metoda byla validována a použita na studium farmakokinetiky hydrogelu HA-TYR s triclosanem, který byl podán myším do dutiny břišní.

V Teoretické části práce jsou popsány principy kapalinové chromatografie a hmotnostní detekce, dále jsou zde základní informace o hyaluronanu, hydrogelu, tyraminu nebo triclosanu. Tuto kapitolu považuji za velmi stručnou a obecnou. Informace by mohly být podrobnější (jak se vyrábí/získává hyaluronan, který byl v práci použit?) nebo více zaměřena za studované téma, např.: podle všech informací byla použita metoda UHPLC, ale autorka se o tomto typu chromatografie zmiňuje pouze v jedné větě. Experimentální část je psána obvyklým způsobem, jsou zde uvedeny přístroje, zařízení, chemikálie a postupy, podle kterých diplomátka pracovala. Nicméně některé kapitoly by měl být spíše v kapitole Výsledky a diskuze, neboť obsahují jak postupy, tak výsledky s komentářem (kap. 2.1.5.1, 2.1.6). V kapitole Výsledky a diskuze autorka na 25 stranách vysvětluje, popisuje a komentuje výsledky měření získané při optimalizaci a validaci metody. Dále jsou zde graficky i slovně shrnuty výsledky o obsahu hydrogelu HA-TYR, triclosanu a jeho metabolitů v různých částech těla myší. Domnívám se, že rozsah provedených měření je na diplomovou práci mimořádný, avšak některé postupy prací by měly být srozumitelněji vysvětleny, některé informace chybí úplně a některé jsou nadbytečné. Kromě toho by mohly být více a lépe interpretovány dosažené výsledky.

Celková čtivost i grafická úroveň práce je na poměrně dobré úrovni, s minimem gramatických, typografických nebo věcných chyb. Např.: zkratka MTBE chybí v seznamu zkratek (str. 40); částice v koloně s velikostí pórů 400–800 nm! (str. 18); některé obrázky a tabulky nejsou v textu citovány nebo komentovány (Obrázek 1, 2; Tabulka 1, Grafy 31, 32, 41, 42, 43, 44); věta „se byla používána“ (str. 43); u některých literárních odkazů chybí jména všech autorů (např. [20], [27], [30], [31]); u odkazu [20] má být název časopisu pouze *J. Chromatogr. B*, nikoliv *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*; atd.

Dále uvádím k práci několik nejzávažnějších chyb, připomínek a dotazů:

1. Kapitola 1.5.3 Stanovení dityraminu: Co to je dityramin? Tato kapitola popisuje stanovení dityraminu, nicméně o dityraminu není v celé Teoretické části ani slovo.
2. Kapitola 2.1.3.1 (str. 41): Tato kapitola je psaná nesrozumitelně. Např. „*První vzorek S1 (1 mg/ml) obsahoval hydrogel bez obsahu TCS (531,3 mg) rozpuštěný v 0,01 M pufru ... (10,09 ml), Ke vzorku byl přidán enzym BTH (1,89 ml)*“ 1 mg/ml se týká čeho? Pokud jde o hydrogel, tak 531,3 mg do 11,98 ml není 1 mg/ml. Dále je uvedeno, že celkový objem byl 15 ml. Podle tohoto postupu by bylo nemožné experiment opakovat.
3. V celé práci není uveden ani jeden chromatogram, hmotností spektrum nebo retenční časy látek.
4. Separace probíhala na koloně s velikostí částic 1,7 μm . Byla použita UHPLC metoda nebo bylo dosaženo tlaku na koloně do 60 MPa, a tedy se jednalo o HPLC jak je uvedeno v anotaci? Při měření na LC/fluorescence byl použit gradient mobilní fáze a průtok 1 ml/min. Při analýzách pomocí LC/MS/MS byl snížen průtok na 0,4 ml/min, ale průběh gradientu byl stejný, „již optimalizovaný“ jako v případě LC/fluorescence. Jaké byly eluční časy analytů? Nedošlo se změnou průtoku ke změně separace?
5. Kapitola 3.2 (Graf 11, 12): Proč bylo zvoleno napětí na kapiláře 2 kV pro $\Delta\text{HA2-DITYR-}\Delta\text{HA2}$, když je z Grafu 11, 12 patrné, že 2 kV poskytují menší plochu píku než 1,5 nebo 2,5 kV?
6. Graf 19,20 – Graf 33, 34: V grafech jsou uvedeny chybové úsečky. Jak byly zjištěny? Jedná se o vzorky z více myší nebo část jedné myši zpracované vícekrát?
7. Graf 19,20 – Graf 44: Jak bylo vypočítáno % dávky?

8. Co znamená „zbytek materiálu“? (např. Graf 33, 34, 41, 42...). Po několikátém přečtení DP a prostudování nekomentovaných grafů se domnívám, že jde o hydrogel, který zůstal v žaludku myši. Je tomu opravdu tak? Tato informace není v práci uvedena.

Závěrem mohu konstatovat, že bylo zadání diplomové práce splněno. Doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě a s přihlédnutím k množství získaných výsledků ji hodnotím známkou

B

V Pardubicích 5. 8. 2020

Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.