

Oponentský posudek k diplomové práci

Název práce: Vývoj LC/MS metody pro stanovení potenciálních léčiv narkolepsie
Autor: Bc. Jan Gebrt
Vedoucí práce: doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.

Předložená diplomová práce se zabývá vývojem a využitím analytické LC/MS metody pro stanovení koncentrace léčiv využívaných při léčbě narkolepsie. Pro testování byla vybrána komerční léčiva fluoxetin a pitolisant. Na celkem 90 stranách je nejprve zpracována Teoretická část postupně věnovaná popisu narkolepsie, příčinám jejího vzniku a možnostem léčby s uvedením přehledu vybraných preparátů. Dále autor popisuje analytické metody použitelné pro stanovení daných léčiv s následným principiálním popisem metod kapalinové chromatografie, hmotnostní spektrometrie vč. možností optimalizace. Dle klasického schématu poté následují Experimentální část a část týkající se Výsledků společně s Diskuzí a Závěr. Diplomová práce je sepsána čtivě, odborně správně, stylisticky i gramaticky téměř bez chyb. Je doplněna 85 citacemi z převážně zahraničních zdrojů.

Autor při experimentálním zpracování využil standardy obou léčiv k otestování a následné optimalizaci široké škály parametrů LC/MS metody. K nim postupně patřily výběr chromatografické kolony a aditiva do MF, optimalizace gradientu, teploty separace, průtoku MF a také podmínek fragmentace u MS. Výstupem práce byla aplikace optimalizované metody pro stanovení koncentrací fluoxetinu a pitolisantu v buněčných lyzátech. Ve výsledku bylo dosaženo vývoje metody, jež selektivně a v krátkém čase za poměrně nenáročných separačních podmínek umožňuje stanovit koncentrace zvolených látek, a to v rámci rozmezí 0,001-1 mg/L, kde byla prokázána linearita odezvy.

Na autora mám tyto 3 otázky, u nichž žádám o jejich zodpovězení. Dále pak jsou níže uvedeny pro kompletnost formální připomínky:

- 1) Ve výsledkové části diskutujete své výsledky pouze v rámci vámi nalezených výstupů. A proto, jak se jeví dosažená specifita/senzitivita/rychlost Vámi vyvinuté metody v porovnání vůči obdobným metodám publikovaným ostatními autory?

- 2) Při optimalizaci složení MF jste u obou testovaných látek našel víceméně shodnou závislost přídatku organických kyselin a kvality separace. Je toto obecný děj u separace organických molekul na reverzních fázích, anebo obě testovaná léčiva mají nějakou strukturální podobnost, jež by toto vysvětlovala?
- 3) Při optimalizaci teploty separace jste ve výsledku zvolil 40 °C. Vzhledem ke kombinaci teplotních závislostí pro obě léčiva naráz v grafu 16 (str. 67) ale není zřejmé, na základě čeho jste takto učinil, resp. jaká barva „bodů optima“ patří ke které látce? Můžete toto prosím stručně vysvětlit?

Další připomínky:

- 1) str. 21, kap. 1.1.2.1 - píšete, že oba „orexinové receptory jsou antagonizovány orexinovými neuropeptidy“. Správnější vyjádření pravděpodobně mělo být, že orexiny jsou „agonisty“ daných dvou receptorů.
- 2) sloveso ve tvaru „viz“ není zkratkou, a proto je obecně psáno bez tečky
- 3) kapitola 1.1.3 má v názvu „Analogické metody stanovení...“ Je tento název chtěný?
- 4) slovo fluoxetin je v textu psáno střídavě s velkým/malým počátečním písmenem
- 5) formát citací v Seznamu literatury není jednotný (např. jména autorů jsou plná či iniciálami; u citací elektronických zdrojů jsou/nejsou uvedeny datumy; atd.)
- 6) v textu se objevují anglicismy odborných slov, např. „reproduktibilita“ namísto reprodukovatelnost, či „specifická“ namísto specifita.

Závěrem shrnuji, že diplomová práce Bc. Jana Gebřta přináší nové poznatky ohledně možnosti stanovení léčiv narkolepsie. Její hlavní přidanou hodnotou je dle mého názoru podrobné definování chování obou látek za testovaných podmínek separace. Předložená diplomová práce tedy dosáhla kladených cílů a přes několik veskrze formálních připomínek ji považuji za velmi zdařilou, kvalitní a **doporučuji ji k obhajobě.**

Závěrečné hodnocení diplomové práce: **B**

V Pardubicích 27.5.2024

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.