

Analýza vybraných psychofarmak

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na vývoj a validaci analytické metody pro stanovení osmi vybraných psychofarmak pomocí kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií.

Diplomantka na 24 stranách uvádí čtenáře do problematiky účinků, farmakokinetiky a analýzy osmi nově používaných psychofarmak. Dále se v teorii věnuje principům kapalinové chromatografie, hmotnostní spektrometrie a správnému postupu při validaci nové metody (11 stran). Z velmi strohé experimentální a výsledkové části (celkem 10 stran) vyplývá, že vybraná léčiva mohou být poměrně elegantně stanovena pomocí RP-HPLC-MS/MS, a to během vcelku rychlé analýzy (do 10 minut). Oceňuji také použití vnitřního standardu.

Diplomová práce je prezentována přehledně s logickým členěním textu. Je však psána formou složitých souvětí, ze kterých velmi často plynou chyby v interpunkci, a tím dochází i k pozměnění významu věty. Co však považuji za zásadní nedostatek v teoretické části, tak je zcela chybějící řešerše týkající se analýzy jednotlivých léčiv (a zpracování biologických vzorků k analýze), která by, s ohledem na zadání práce, měla tvořit majoritní podíl teorie. K analýze každého psychofarmaka je vždy uveden jenom jeden literární zdroj, z něž studentka navíc uvádí pouze model použitého přístroje, namísto důležitých parametrů analýzy a dosažených výsledků. V rámci celé DP studentka používá neanalytické vyjadřování a v kapitole o kapalinové chromatografii či hmotnostní spektrometrii (které je věnována až příliš velká část teorie) je v textu značné množství nepřesných, nesprávných či zavádějících tvrzení.

K formální úpravě textu bych měla pár drobných připomínek:

1. Úvod leží vždy před teoretickou částí a cíle práce nepatří do experimentální části
2. Citace jsou součástí věty, tečka se píše za nimi
3. Jednotka musí stát vždy za číslem. Není tedy možné, aby bylo na konci jednoho řádku číslo a na dalším řádku jednotka (př. strany 26, 37). Jednotky v tabulkách často úplně chybí
4. Pomlčkové předpony jako *para-*, *n-*, *N-*, *O-*, *trans-* apod. se píší vždy kurzívou
5. Na každý obrázek, graf, tabulku, rovnici apod. musí být v textu odkaz (není splněno v celé teorii)
6. Nepřesné výrazy: metabolizér, LOD uveden jako limit of determination, fragmentor, apod.
7. Nejednotnost psaní některých výrazů: beta-blokátor vs. betablokátor
8. Některé zkratky v textu nevysvětleny při prvním užití či jsou vysvětleny opakovaně
9. Neúplné či velmi krkolomné věty
10. V závěru je pouhé konstatování. Chybí tak data, čeho přesně bylo dosaženo
11. Reference nemají jednotný formát. Ocenila bych mnohem větší množství relevantních zahraničních zdrojů
12. Přílohové obrázky považuji za zbytečné. V přílohových grafech by bylo vhodné na osy doplnit vždy značky a dopsat jednotky do popisku os. Osa y nemůže být značena jako odezva, když se jedná o poměr standard/vnitřní standard. Pro jednodušší orientaci bych doporučila odlišit značení příloh, např. arabskými číslicemi

Dále mám k předkládané práci následující komentáře a dotazy:

1. Pro jednotlivá léčiva studentka udává terapeutické a toxické koncentrační hladiny (Tabulka 1 na straně 38). Toxické hladiny jsou ale ve všech případech velmi blízko horním hranicím

terapeutických hladin. Mohla by tedy studentka vysvětlit, co přesně znamená pojem toxická hladina? Souvisí to nějak s LD_{50} ?

2. Studentka pracovala s velmi malými objemy, jak byly jednotky mikrolitrů odměřovány?
3. Jaký měl význam přídavek 0,5 % acetonitrilu a 0,5 % methanolu do vodné složky mobilní fáze? Byly podmínky HPLC analýzy optimalizovány?
4. Jedním z cílů práce bylo vyvinout novou analytickou metodu a tu validovat. Jak bylo tedy postupováno při vývoji nové metody? Jaké parametry analýzy či přípravy vzorku k analýze byly optimalizovány? Na jakém základě byly použity právě uvedené podmínky analýzy (kolona, mobilní fáze, stacionární fáze) či přípravy vzorku k analýze?
5. Proč byl jako vnitřní standard použit právě propiverin? Co je to za látku?
6. Pro asenapin, flufenazin, galantamin, tranlycypromin je uvedeno LOQ 1 $\mu\text{g/l}$ a pro disulfiram, flvoxamin, memantin a sertindol LOQ 25 $\mu\text{g/l}$. Z jakých hodnot studentka LOQ počítala (výška šumu, koncentrace, výška píku)? Opravdu měla daná léčiva vždy totožné LOQ? Jak může být například LOQ sertindolu vyšší než LOQ galantaminu (dle obrázku 18)? To co je zde prezentováno jako LOQ je, dle mého názoru, pouze pracovní rozsah dané metody
7. Kalibrační rovnice by měly být uváděné včetně směrodatných odchylek. Jsou úseky kalibračních přímků statisticky významné?
8. Zcela chybí diskuse naměřených a vypočítaných výsledků, včetně porovnání s literaturou. Celá výsledková část je velmi stručná (1 strana psaného textu a 6 stran obrázků a tabulek, z nichž tabulky 8-10 sdělují obdobné informace, a bylo by tedy vhodné jejich sjednocení). Některá validační data uvedená v příloze by bylo vhodné diskutovat ve výsledkové části.
9. Mohla by tedy diplomantka dovysvětlit, v čem je vyvinutá metoda lepší, než metody dosavadní? Jaké jsou její výhody, případně nevýhody?
10. Proč byla kalibrace dělána v séru, a ne přímo v krvi/moči, které by tak přímo simulovaly matici reálného vzorku pacientů?
11. Jaký byl postup optimalizace MS/MS detekce? Dle čeho byly vybrány „kvantifikační“ ionty?
12. Vyvinutá metoda byla validována (včetně správnosti) na vzorcích séra a následně aplikována na dva reálné vzorky moči a krve, a to od dvou pacientů, kteří užívali lék Afluditen s účinnou látkou flufenazin. Jak si tedy může být studentka jistá pravdivostí získaných výsledků, když byla použita odlišná matrice (moč), a výsledky nebyly ani s ničím porovnávány (což souvisí s absencí rešerše týkající se analytického stanovení psychofarmak)? Je znám vliv matrice?
13. Ostatní cílová psychofarmaka nebyla v reálných vzorcích stanovována. Jak si tedy může být studentka jistá, že by daná metoda byla použitelná i pro ně?
14. Byla studována návratnost metody (recovery)?
15. Prezentované výsledky flufenazinu stanovené v krvi či moči jsou uváděné bez nejistoty měření. Jaká je tedy chyba uvedených výsledků?
16. Existují lékopisem dané metody stanovení těchto psychofarmak v biologickém materiálu? Pokud ano, jaké metody to jsou?

Z uvedených komentářů k práci a poměrně rozsáhlého výčtu připomínek vyplývá, že diplomové práci mohla být věnována větší pozornost. I přes uvedené výhrady diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

C