

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Anny Zerzáňové
„Analytické studie biologicky aktivních látek s využitím kapalinové chromatografie“

Mgr. Anna Zerzáňová se ve své disertační práci zabývala využitím moderních instrumentálních analytických metod ve studiích léčiv event. produktů 1. fáze jejich biotransformace (první dvě autorčiny publikace) a stanovením vitamínu (třetí publikace disertantky). Vzhledem k tomu, že předmětem jejího zájmu byla analýza pěti typů léčiv ve směsi s jejich metabolity a stanovení konkrétního vitamínu, který byl obsažen v lékovém přípravku ve směsi s dalšími vitaminy, musela vlastnímu stanovení koncentračních zón oddělených látek různými typy detektorů předcházet separace směsí vysoceúčinnou kapalinovou chromatografií.

Disertace má rozsah 144 stran, z toho 49 stran textu tvoří příloha obsahující plný text již zmíněných tří publikací s autorčinným komentářem a přehled šesti plakátových sdělení, které autorka prezentovala na různých vědeckých setkáních. Disertační práce je formálně členěna způsobem obvyklým pro tento typ kvalifikační práce.

V teoretické části autorka nastínila současný stav poznání v problematice vysoceúčinné kapalinové chromatografie a podrobněji se zabývá zejména těmi metodologickými okruhy, které souvisí s náplní jejich publikací, tedy zejména se separačními vlastnostmi náplní chromatografických kolon, hmotnostní spektrometrií a elektroanalytickými metodami se zvláštním zřetelem k průtokové elektrochemické detekci. Velmi zdařile jsou napsány zejména kapitoly věnované hmotnostně spektrometrické detekci, které informují čtenáře o nejnovějších trendech v oblasti ionizačních technik, hmotnostních analyzátorů i technik detekce iontů, o interpretaci MS spekter a o specifických aspektech souvisejících s LC/MS spojením. Také kapitoly věnované elektroanalytickým metodám svědčí o autorčinných teoretických znalostech v popisované problematice. Nicméně se domnívám, že například kapitoly 3.3.1 a 3.3.3 mohly být buď vynechány nebo alespoň zredukovány, podle mého názoru nesouvisí s touto dizertací.

Experimentální část disertace je representována komentovaným souborem tří publikací. V první z nich autorka testovala vliv různých typů reversních fází (s oktyl, oktadecyl, pentafluorofenylpropyl a palmitamidopropyl řetězci) a různé architektury kolon (částicové vs. monolitové) na separaci vybraných léčiv (kokain, dimefluron, nabumeton a tramadol) a jejich metabolitů. Tuto studii považuji za velmi hodnotný příspěvek k poznání

vlastností zmíněných sorbentů pro jejich využití v bioanalytických studiích léčiv a jejich metabolitů, tedy analytů, jejichž retenční charakteristiky se často jen nepatrně liší.

Druhá práce je věnována vývoji a validaci bioanalytické SPE-HPLC-PDA-MS metody pro stanovení osmi chinolonových antibakteriálních chemoterapeutik v prasečí plasmě. Třetí práce se zabývá vývojem a validací analytické metody pro stanovení biotinu v lékových přípravcích s využitím HPLC vyzbrojené coulometrickým detektorem. Lze tedy konstatovat, že si Mgr. Anna Zerzáňová během své postgraduální výchovy experimentálně vyzkoušela všechny důležité činnosti související s vývojem a validací HPLC metod (SPE přípravu vzorku plasmy, testování různých sorbentů pro optimální chromatografickou separaci chemicky příbuzných analytů, použití a srovnání různých detekčních principů (spektrofotometrický - UV photodiode-array, hmotnostní spektrometrický a elektrochemický – coulometrický) a validaci bioanalytických a analytických metod podle zásad Správné laboratorní praxe.

V předložené disertační práci jsem nenalezl závažnější formální nebo obsahové nedostatky, drobné překlepy a formulační nepřesnosti jsou zmíněny na konci posudku.

Autorka se během své postgraduální výchovy zúčastnila několika tuzemských i mezinárodních konferencí (2 krát Syntéza a analýza léčiv v Nitře a Velkých Karlovicích, 4 krát mezinárodní analytická symposia ve Stockholmu, Pardubicích, Kodani a na Elbě), na kterých prezentovala dílčí výsledky své experimentální práce. Měla rovněž možnost v rámci programu Erasmus vycestovat na zahraniční univerzitní pracoviště (Barcelona) a během půlročního studijního pobytu se seznámit s novými analytickými technikami. Finálním produktem postgraduální výchovy bylo sepsání tří publikací v prestižních impaktovaných zahraničních periodících (*Journal of Separation Science*, *Journal of Chromatography A* a *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*). Mgr. Anna Zerzáňová je prvním autorem na dvou z těchto tří publikací.

Závěr :

Předložená disertační práce Mgr. Anny Zerzáňové splňuje po stránce obsahové i formální všechny požadované náležitosti. Během své postgraduální výchovy se disertantka seznámila velmi detailně s teorií a metodologií vysoceúčinné kapalinové chromatografie i s možnostmi jejího praktického využití ve farmaceutických i bioanalytických aplikacích. Autorka prokázala značnou experimentální erudici při řešení zadané analytické problematiky i tvůrčí talent a formulační schopnosti při sepsování svých publikací.

Doporučuji proto, aby disertační práce Mgr. Anny Zerzáňové byla přijata k obhajobě a stala se podkladem k udělení vědecké hodnosti Ph.D.

Připomínky, dotazy a náměty do diskuse :

- Str. 5...chybí české ekvivalenty některých pojmů : bulk acoustic wave (mohla byste vysvětlit?), ELSD – má český ekvivalent?
- str. 18...přestylizujte „Detektory monitorují látky vycházející z kolony obsažené v mobilní fázi...“ kolona **není** obsažená v mobilní fázi.
- str. 19, str. 106-107 „...flouorfor...“, „... pentaflouorfenyl...“
- str. 21... „...objasňování iontů v plynné fázi...“. Měla jste na mysli „...objasňování struktury iontů v plynné fázi ...“
- str. 46... objasněte termín „T-kus“
- str. 118... žádám o podrobnější komentář k tvrzení „...Ciprofloxacin není možné metodou UV kvantifikovat...“. UV spektrum ciprofloxacinu a dalších fluorovaných chinolonů má výrazné a poměrně specifické maximum při 285 nm a navíc lze tyto látky velmi citlivě a selektivně detegovat fluorescenčním detektorem ($\lambda_{exc.} = 280$ nm, $\lambda_{emis.} = 446$ nm).

Osobně považuji za nejhodnotnější část dizertace tu, která testuje vliv chemického složení povrchů různých chromatografických sorbentů na separaci podobných struktur (léčiv a jejich metabolitů). Je škoda, že v teoretické části jsou chromatografickým sorbentům věnovány pouze dvě stránky. Mohla by autorka porovnat názory výrobců na charakter retenčních mechanismů jednotlivých testovaných kolon se svými vlastními zkušenostmi?



Doc. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

Ústav experimentální biofarmacie

Heyrovského 1207

500 03 Hradec Králové

Červen 2008