

## **Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Ivany Pasákové „Analytické hodnocení biologicky aktivních látek chromatografickými metodami“**

Mgr. Ivana Pasáková se ve své disertaci zabývala možnostmi využití chromatografických metod (TLC a HPLC) v kombinaci s různými typy detekce (od vizualizace skvrn tenkovrstvého chromatogramu nespecifickou derivatizací, přes HPLC dinitrobenzoyl-derivátů studovaných látek až po vysoce specifickou HPLC-ESI-MS s iontovou pastí). Studovanými látkami byly akcelerátor transdermální penetrace Transkarbam 12 (T12) a jeho rozkladné produkty, tedy látky, které nemají vlastní chromofór ani fluorofór. Bylo tedy nezbytné hledat vhodné derivatizační metody, které by do studovaných látek příslušný chromofór vnesly. Finálním a optimálním řešením nakonec bylo použití sestavy HPLC-ESI-MS(IT), které nevyžadovalo derivatizaci a přineslo významné strukturální informace o analyzovaných látkách.

Během zahraniční stáže v Heidelbergu se Mgr. Pasáková zabývala vývojem a validací bioanalytické HPLC/MS/MS(QqQ) metody stanovení nového antiretrovirotika efavirenz (EFV) v krevní plasmě, ultrafiltrátu a monocytech periferní krve. Protože EFV patří mezi induktory různých forem CYP-450, jeho plasmatické koncentrace jsou po podání stejných dávek různým pacientům velmi individuální, je třeba provádět v průběhu léčby terapeutické monitorování léčiv a upravovat dávkování podle výsledků analýz prováděných metodou, na jejímž vývoji a validaci se Mgr. Pasáková podílela.

Disertace má rozsah 194 stran a formálně je členěna způsobem obvyklým pro tento typ kvalifikační práce.

V úvodu autorka nastínila postavení vysoceúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) ve výzkumu, vývoji a kontrole léčiv, ve sledování léčiva a jeho metabolitů v biomatricích.

Velmi dobře je koncipována a formulována teoretická část disertační práce, kde autorka velmi podrobně zpracovala současný stav instrumentace v HPLC. Podrobně byly rozpracovány kapitoly, které jsou věnovány chromatografickým materiálům a způsobům detekce. V další části disertace se autorka věnuje charakteristice studovaných látek, tedy akceleratorům transdermální penetrace a antiretrovirotikům.

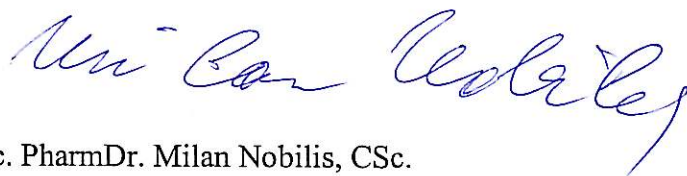
Experimentální část disertace je koncipována jako komentovaný soubor čtyř publikací. Tři z těchto prací se věnují problematice vývoje a validace TLC a HPLC metod pro hodnocení akceleratoru transdermální penetrace Transkarbamu 12 a jeho rozkladných produktů. Na všech těchto publikacích je Mgr. Pasáková hlavním autorem. Čtvrtá publikace se týká zmíněné bioanalýzy antiretrovirotika efavirenzu. Všechny publikace byly zveřejněny

v zahraničních impaktovaných periodikách (J.Sep.Sci., J.Pharm.Biomed.Anal., Chromatographia, J.Chromatogr.B). Dílčí výsledky Mgr. Pasáková presentovala na 4 tuzemských a 5 zahraničních odborných setkáních. V předložené disertační práci jsem nenalezl závažnější formální nebo obsahové nedostatky, drobné překlepy, na které jsem autorku upozornil, nikterak nesnižují kvalitu tohoto vědeckého pojednání.

**Závěr :**

Předložená disertační práce Mgr. Ivany Pasákové splňuje po stránce obsahové i formální všechny požadované náležitosti. Autorka se během své postgraduální výchovy seznámila velmi detailně s problematikou kapalinové chromatografie (TLC, HPLC) a jejím využitím ve dvou oblastech farmaceutické analýzy (v oblasti stabilitních studií a bioanalýzy). Své praktické a invenční schopnosti využila pro vývoj a validaci nových původních chromatografických metod, které pak uplatnila v konkrétních aplikacích. Disertantka rovněž prokázala slušný publikační talent a schopnost prezentovat své výsledky v prestižních zahraničních časopisech a formou posterů na různých odborných setkáních.

Doporučuji proto, aby disertační práce Mgr. Ivany Pasákové byla přijata k obhajobě a stala se podkladem k udělení vědecké hodnosti PhD.



Doc. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

Ústav experimentální biofarmacie  
společné pracoviště PRO.MED.CS Praha a.s.  
a Akademie věd České republiky  
Heyrovského 1207  
CZ-500 02 Hradec Králové