

**Posudek na disertační práci**  
**„Analýza biologicky aktivních látek s využitím kapilární elektroforézy“**  
**Autor : Mgr. Klára Petřů**

Mgr. Klára Petřů se ve své disertaci zabývala možnostmi využití kapilární elektroforézy s bezkontaktní vodivostní detekcí (CE-C<sup>4</sup>D) resp. hmotnostně spektrometrickou detekcí (CE-MS) v analýze farmaceuticky významných kvartérních amoniových bazí s antiseptickým a myorelaxačním účinkem. Autorka vyvinula a validovala CE- C<sup>4</sup>D metodu pro stanovení aktivní látky, nízká citlivost bezkontaktní vodivostní detekce však neumožnila spolehlivé stanovení nízkých koncentrací nečistot. Další navržená metoda CE-ESI-MS/MS pro analýzu myorelaxancií (pankuronium dibromid, vekuronium bromid a rokuronium bromidu) by mohla s ohledem na dosažený nízký detekční limit sloužit k identifikaci těchto látek jako nečistot, případně pro detekci v biomatricích. Pro účely stanovení koncentrace myorelaxancií bude vhodné metodu ještě reoptimalizovat (např. zakoncentrováním analytu) a případně revalidovat.

Disertace má rozsah 117 stran a formálně je členěna způsobem obvyklým pro tento druh kvalifikační práce.

V úvodu autorka nastínila historický vývoj kapilární elektroforézy od Kohlrauschových experimentů kolem roku 1897, přes významný příspěvek nositele Nobelovy ceny Arne Tiselie až po současná hyphenací spojení CE s hmotnostní spektrometrií. Podrobně jsou popsány principy a jevy související s elektromigrací analytů, základní elektroforetické techniky a v této práci využívaná bezkontaktní vodivostní detekce a hmotnostní spektrometrie s elektro-spreyovou ionizací a iontovou pastí (CE-ESI-IT-MS/MS). Byly popsány tři nejdůležitější typy CE-ESI rozhraní. Dále byly charakterizovány analyty (kvarterní amoniové baze) a současné možnosti jejich stanovení různými technikami v přehledném tabelárním provedení. Následuje cíl práce a komentář výsledků a diskuse ke dvěma publikovaným a jedné připravované práci. Stylizace textu je srozumitelná, text disertace je členěn způsobem obvyklým pro tento typ kvalifikační práce. Autorka se elegantně vyhnula potenciálním problémům s copyrightem obrázků dostupných na internetu a vytvořila vlastní obrázky, které považuji za velmi zdařilé a instruktivní.

V předložené disertační práci jsem nenalezl závažnější formální nebo obsahové nedostatky.

Autorka během své postgraduální výchovy, kterou zahájila v roce 2008, prezentovala dílčí výsledky své experimentální práce jako autor nebo spoluautor v 10 plakátových sděleních (7 v zahraničí a 3 na tuzemských odborných setkáních). Finálním výsledkem

postgraduální výchovy Mgr. Petřů bylo sepsání dvou publikací, které byly zveřejněny v prestižních impaktovaných zahraničních periodících (v *Journal of Separation Science* s impakt faktorem 2,631 a v *Electrophoresis* s impakt faktorem 3,569). Další rukopis, ve které je Mgr. Petřů prvním autorem, je připravován k publikaci.

#### **Závěr :**

Předložená disertační práce Mgr. Kláry Petřů splňuje po stránce obsahové i formální všechny požadované náležitosti. Autorka se během své postgraduální výchovy seznámila velmi detailně s problematikou kapilární elektroforézy a jejím využitím ve farmaceutické analýze kvartérních amoniových bazí (povrchově aktivní dezinficiens a tři myorelaxancia). K detekci zmíněných látek byly použity dva typy detektorů. Přes určité problémy s validací autorka vyvinula nové kapilárně elektroforetické metody pro analýzu výše zmíněných látek, které nemají chromofóry, s dobou analýzy do 5 minut. Podobné metody dosud nebyly popsány. Disertantka rovněž prokázala schopnost prezentovat své výsledky na mezinárodních odborných fórech a v prestižních zahraničních časopisech.

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

#### **Připomínky a dotazy :**

Str. 9 ...pro bezkontaktní vodivostní detekci jsou uvedeny dvě zkratky, asi bych spojil na jeden řádek

Str.33...Septonex je firemní, nikoli generický název. Mělo by se psát s velkým počátečním písmenem

Str. 62, obr.15 ...vypadlé písmeno v „Elektroferogram“

Mohla byste se pokusit porovnat validační parametry stanovení kvarterních amoniových bazí pomocí Vaší CE-C<sup>4</sup>D resp. CE-MS s výsledky dosaženými jinými analytickým přístupy. Existují HPLC metody vhodné pro tyto typy látek (iontově-párová, HILIC HPLC ???)

V Hradci Králové, 8.5.2012

Doc. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.  
Ústav experimentální biofarmacie, společně  
pracoviště AV ČR a PRO.MED.CS Praha a.s.  
Heyrovského 1207  
CZ-500 02 Hradec Králové