

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce PharmDr. Jany Malákové

„Kvantitativní analýza léčiv v biologických materiálech separačními metodami“

Posuzovaná disertační práce je komentovaným souborem pěti publikovaných původních vědeckých prací, přičemž u čtyř publikací je zcela zřejmý rozhodující autorský podíl doktorandky jako první či korespondující autorky. V doprovodném komentáři, jenž vychází ze soudobého stavu vědeckých poznatků, je srozumitelně definován základní směr práce – optimalizace, validace a aplikace vybraných separačních analytických metod pro stanovení léčiv či jejich metabolitů v biologickém materiálu, a to zejména pro potřeby klinické či toxikologické analýzy. Doktorandka zde zkušeně shrnuje věcné, teoretické a metodické přístupy k řešení vytčené problematiky.

Disertace jako celek zřetelně vychází ze zkušeností, které doktorandka získala během svého působení na odborném nemocničním pracovišti, kde je nutno řešit praktické analytické problémy; je sice primárně zaměřena na vypracování chromatografických metod, ale přitom ji nelze charakterizovat jako úzce monotematickou. Studované metody kapalinové a plynové chromatografie jsou jak z hlediska pestrosti určovaných analytů a volby jejich detekce, způsobů úpravy biologických materiálů před vlastním stanovením, tak i aplikačním zaměřením výrazně autonomní. Je třeba kladně ohodnotit skutečnost, že doktorandka v úvodním komentáři s kritickým nadhledem prezentuje notoricky známé a standardní metody stručně a výstižně. Zde bych si snad dovilil vytknout jen ne příliš šťastné uspořádání v návaznosti jednotlivých dílčích kapitol, kdy předbíhá téma úpravy vzorků před chromatografií (a kde se např. operuje s pojmy, jako je „multidimenzionální kapalinová chromatografie“ a „column switching“, viz sekce 3.4.2.4) tematiku základů HPLC a GC (viz sekce 3.4.3 a dále), což není zcela logické. Také se mi jeví jako zbytečné a z odborného hlediska nepřínosné zařazovat do disertační práce celostránkovou fotografii plynového chromatografu s MS detektorem (viz str. 82, obr. 6). Naproti tomu se doktorandka v teoretické části oprávněně zabývá detailněji problematikou validace analytických metod.

Práce zahrnuté do souboru byly publikovány ve třech renomovaných recenzovaných mezinárodních vědeckých časopisech, z toho ve dvou časopisech specializovaných na analytickou chemii. To samo je nepochybně svědectvím jejich originality a odpovídající vědecké úrovně, ať už se jedná o HPLC/MS či HPLC/UV stanovení galantaminu a jeho metabolitů v jaterní tkáni potkanů, chirální HPLC separaci warfarinu s fluorescenční detekcí, HPLC stanovení koncentrace antibiotika cephuroximu v krevní plasmě během chirurgického zákroku s využitím mikrodialýzy, GC/MS stanovení 8-methoxyorsoralenu v krvi obohacené o leukocyty či GC stanovení topiramátu pro účely TDM s využitím derivatizace a N/P detektoru. V práci je též zmíněno a komentováno GC/MS stanovení topiramátu, avšak tato metoda patrně dosud nebyla publikována. Jako výrazný přínos je nutno zmínit skutečnost, že ve všech případech byly vypracované metody uplatněny v praxi.

K obsahu disertace v podstatě nemám žádné vážnější věcné námitky. Přes pečlivé a zodpovědné zpracování se ovšem v textu vyskytují ojedinělé formální nedostatky, nevhodné formulace, či chyby, z nichž některé je nutno zmínit.

- Přehled použitých zkratk na str. 125: není zdaleka úplný a zkratky by měly být v seznamu uspořádány podle abecedy
- Použitá literatura : u mnoha citací (např. [59] – [67]) není uveden rozsah stránek ač u jiných je to v pořádku; u citací webových stránek chybí datum, kdy byla stránka „navštívena“ ; není jasné, o jaký typ citace se jedná u [34] a [35]
- Na str. 18, 5. řádek shora se uvádí, že pro vyjádření K_D je analyt přítomen v obou fázích v téže molekulární formě; jak se postupuje, pokud tato podmínka neplatí?
- Na str. 19, 5. řádek shora: „(-CH₂⁺NR₃)“ není správné označení kvartérní amoniové skupiny
- Na str. 22 poslední věta: toto rozdělení není konzistentní a nedává smysl
- Na str. 23, 3. řádek shora: „Nevýhodou chemicky vázaných nepolárních fází na silikagelu je rozsah pH 2-8“ je nevhodná formulace.
- Na str. 25 uvedený vzorec s komentářem: Skutečně platí jen pro UPLC?
- Na str. 27, 2. odstavec: jak lze stabilizovat 0,1% octan amonný v acetonitrilu pomocí kyseliny?
- Na str. 34, 2. řádek shora: co je myšleno „vnitřními vlastnostmi látky“ ?
- Na str. 36 a 37: zkratky ČSKB a NCCLS nejsou uvedeny v přehledu zkratk
- Na str. 45 Tab. 2: má smysl uvádět výsledné koncentrace na 3 desetinná místa, když hodnoty směrodatné odchylky mají řád jednotek (např. 43.920±2.470)?
- Na str. 62, 3. a 4. řádek zdola: má být „enanciomerů“ nebo „enantiomerů“ ?
- Na str. 69, 1. a 2. řádek shora: jak byla stanovena hodnota detekční meze 0,42 mg/l a meze stanovitelnosti 0,77 mg/l ?

Jedná se samozřejmě o formální výhrady, které nijak nesouvisí s přínosem k vědeckému poznání, obsaženým v disertaci.

Žádám doktorandku, aby vyjádřila názor i k této otázce:

- na str. 16 uvádíte, že „Při kvantitativní analýze se ve značné míře uplatňují elektromigrační ... metody“. Jaký je Váš názor na uplatnění těchto metod v klinické a toxikologické analýze ve srovnání s chromatografickými metodami?

Závěrem konstatuji, že doktorandka disertační prací plně prokázala svoje předpoklady k samostatné vědecké práci, pronikla do řešené problematiky, dospěla k novým prakticky využitelným vědeckým poznatkům a výsledky své práce na odpovídající úrovni publikovala. Proto doporučuji disertační práci PharmDr. Jany Malákové k obhajobě za účelem získání titulu PhD.

Hradec Králové, 29. 12. 2011

Doc. RNDr. Miroslav Polášek, CSc.
Katedra analytické chemie
Farmaceutická fakulta UK