

Oponentský posudek disertační práce PharmDr. Jany Malákové:

Kvantitativní analýza léčiv v biologických materiálech separačními metodami.

Předložená disertační práce má celkem 125 stran. Z celkového rozsahu je 34 stran věnováno teoretické části. Na 60ti stranách je uveden komentovaný soubor publikací, tj. kopie otištěných prací a komentáře k nim, diskuze a závěr. Práce má všechny další náležitosti, tj. přehled publikační činnosti uchazečky, souhrny v českém a anglickém jazyce, seznam použité literatury a seznam zkratk, poděkování, prohlášení a obsah. Po formální stránce je práce pečlivě zpracována, což značně usnadnilo oponenturu.

Komentovaný soubor tvoří 5 publikací jichž je uchazečka první autorkou. Z tohoto počtu jsou 2 publikace v časopise s vysokým impaktním faktorem (IF 3) *Journal of Chromatography B*, které uvádějí výsledky vývoje a validace HPLC metody na stanovení galantaminu a metabolitů a HPLC s chirální separací enantiomerů warfarinu. Jedná se o originální práce s vysokou kvalitou, která odpovídá náročnosti oponentního řízení v uvedeném časopise. Další 2 práce jsou také bioanalytické a byly otištěny v časopise s nižším IF. Poslední práce (uvedená jako třetí v pořadí) je aplikační a bioanalytickou část podrobně neuvádí.

Stanovení galantaminu a jeho metabolitů první fáze eliminace bylo provedeno HPLC s fluorescenční detekcí. K extrakci analytů z plazmy a homogenátu jaterní tkáně byly použity kolonky se smíšeným sorbentem MCX. Jako vnitřní standard byl použit kodein. Identifikace metabolitů byla provedena porovnáním s autentickými standardy pomocí detektoru diodového pole a metodou tandemové hmotnostní spektrometrie. Validace byla provedena velmi pečlivě a k vyhodnocení byly použity standardní postupy podle metodického doporučení FDA.

Otázka 1: K této práci mám následující dotaz: správná kvantifikace léčiv a metabolitů z pevných vzorků je vždy problematická z důvodu vlivu postupu přípravy vzorku na výtěžnost – předpokládá se stejná výtěžnost přídatku standardu látky/metabolitu ke tkáni jako látky/metabolitu ve tkáni obsažené a vliv postupu přípravy může být výrazný. Srovnávali jste více postupů homogenizace tkáně?

Druhá práce popisuje HPLC s chirální separací enantiomerů warfarinu a fluorescenční detekcí pro potřeby in vitro experimentů. Poprvé byla separace provedena na koloně obsahující sorbent na bázi makrocyclických glykopeptidů. Přínos práce spočívá především v prvním použití zmíněného sorbentu.

Otázka 2: Teoretická část práce se stručně dotýká také využitelnosti bioanalytických separačních metod pro terapeutické monitorování léčiv. Pro která léčiva se v současnosti považuje chirální separace při TDM za přínosnou?

Práce 4 zabývala vývojem a validací metod na stanovení topiramátu v plazmě plynovou chromatografií s NPD a hmotnostní detekcí (jednoduchý kvadrupól). Byla použita extrakce z kapaliny do kapaliny a derivatizace topiramátu a vnitřního standardu. Práce byla otištěna v časopise *Chromatografia* s IF 1,2.

Práce 5 popisuje vývoj a validaci metody na stanovení 8-methoxypsoralenu ve vzorcích krve obohacené lymfocyty metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Byla použita extrakce z kapaliny do kapaliny. Práce byla otištěna v časopise *Chromatografia* s IF 1,2.

Třetí práce se odlišuje, protože uvádí výsledky mikrodializační studie zabývající se vztahem mezi tkáňovými a plazmatickými koncentracemi cefuroximu. Bianalytická část práce (úprava a validace metody publikované jinými autory) není v publikaci rozvedena a byla uchazečkou popsána v plakátovém sdělení.

K teoretické části disertační práce mám následující připomínku:

Úvodní část 3.1. „Terapeutické monitorování léčiv“ a navazující podkapitoly, které se věnují TDM a farmakokinetickým procesům, byla vzhledem k zaměření práce zařazena zbytečně. Kapitola pokrývá velmi širokou oblast a v důsledku toho je příliš stručná až heslovitá. Navíc je odtažitá od hlavního tématu práce.

Otázka 3. V publikacích popisujících validaci jsou uvedeny parametry „intra-batch“ a „inter batch“ precision a accuracy. V teoretické části práce na str. 36 pojmy preciznost-opakovatelnost a mezilehlá preciznost. Prosím o vysvětlení, jaká jsou současná doporučení k terminologii v českém jazyce (přesnost a správnost se již nepoužívá?). Je správný termín „směrodatná odchylka opakovatelnosti“ použitý na str. 36?

Závěr a doporučení:

Předložená disertační práce je velmi kvalitní. Dr. Maláková je první autorkou 4 bioanalyticky zaměřených publikací s impaktním faktorem, ve dvou případech je IF vysoký a práce velmi originální. I v dalších publikacích s IF paní doktorka úspěšně aplikovala větší počet bioanalytických metod. Disertační práce dokládá velmi dobrou znalost oboru a schopnosti uchazečky úspěšně zvládnout náročné výzkumné projekty z oblasti biofarmaceutické analýzy. Práce splnila všechna požadovaná kritéria .

Proto doporučuji komisi pro obhajobu, aby přijala hodnocení „prospěl“ a udělila PharmDr. Janě Malákové akademický titul Ph.D.

V Hradci Králové, 20.11. 2011

Doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.
Ústav farmakologie, Ústav lékařské biochemie
Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové