

## OPONENTSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

**Název:** Vývoj kapilárně elektroforetických metod pro analýzu biologicky aktivních látek s využitím tvorby komplexních sloučenin

**Autor:** Mgr. Jitka Šířoká

**Oponent:** Doc. PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.

---

Předložená disertační práce má celkem 110 stran včetně dvou publikačních příloh. Teorie je sepsána na 20 stranách a je zaměřena na principy kapilární elektroforézy včetně možností zlepšení selektivity a citlivosti stanovení. Autorka zde také stručně charakterizuje analyzované látky a uvádí přehled publikovaných metod pro jejich analýzu.

Experimentální část je rozdělena do čtyř podkapitol detailně popisujících prováděné experimenty. Autorka se nejprve zabývala vývojem kapilárně elektroforetické metody pro stanovení izomerů chlorofenylpiperazinu a metodu použila pro detekci a stanovení obsahu těchto látek v tabletách. Dále se zabývala stanovením biomarkeru oxidačního stresu 8-hydroxy-2'-deoxyguanosinu v moči, kdy využívala celu s prodlouženou délkou optické dráhy a další techniky pro zakoncentrování vzorku. Další část experimentální práce je zaměřena na analýzu vybraných flavonoidů, troxerutinu a kyseliny askorbové v léčivých přípravcích a potravinových doplňcích pomocí kapilární zónové elektroforézy. V poslední experimentální podkapitole pak autorka aplikovala metodu zakoncentrování z velkého objemu vzorku využívající tvorby komplexů s wolframem do analýzy modelové směsi polyfenolů a fenolických kyselin a porovnála tento přístup s metodou „stackingu“ za využití borátového pufu.

Výsledky tvořící jednu podkapitolu experimentální části byly publikovány v časopise s IF (Food Analytical Methods, IF:1.9), přičemž Mgr. Šířoká je první autorkou této práce. Další výsledky byly zpracovány do formy publikace, která byla v době psaní posudku v recenzním řízení v časopise Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Další část práce je připravovaná k zaslání k oponentnímu řízení, avšak není uvedeno do jakého časopisu. V obou těchto případech není specifikován autorský kolektiv ani autorský podíl doktorandky, což by bylo vhodné doplnit. Jednu přílohu práce pak tvoří přehledový článek, který byl publikován v prestižním časopise Trends in Analytical Chemistry (IF 6.3), jehož je Mgr. Jitka Šířoká první autorkou.

V závěru disertační práce jsou velmi stručně shrnuty dosažené výsledky, následuje seznam citované literatury (116 literárních zdrojů) a přílohy (seznam publikací, prezentací na odborných konferencích a kopie dvou publikovaných článků).

Práce je sepsána stručně a přehledně, teoretická část obsahuje řadu obrázků a schémat, které napomáhají pochopení aspektů řešené problematiky. Po formální stránce lze v práci najít omezené množství překlepů. Např. str. 11...*látek ionotvépovahy.*; Str.13...20-150 *mba.*...; Str. 20...*Mezi nevýhody CE oproti chromatografickým metodám je nízká citlivost.*... str.43:

*Journa of...* V textu se vyskytují některé anglické výrazy, kterým by bylo vhodné se vyhnout, případně je uvádět s uvozovkami např. „*spikování*“ nebo „*recovery*“.

K práci nemám po obsahové stránce žádné významnější výhrady, pouze několik dotazů, případně námětů k diskuzi, zejména k pracím, které ještě neprošly recenzním řízením.

### **Dotazy a připomínky:**

1/ Str. 15: ...“Promývání kapiláry roztokem hydroxidu způsobuje hydrolýzu a disociaci silanolových skupin...” Dochází zde opravdu k hydrolýze v chemickém slova smyslu?

2/ Str. 30: Tabulky 7,8: Specifikace sorbentů pro SPE by měla být uvedena jednotně (množství sorbentu/objem).

3/ Str. 41: V práci uvádíte limity pro některé validační parametry (např. str. 39: RSD pod 5%, str. 41: tabulka 10), z jakého zdroje jste limity převzala?

4/ Str. 40: Limit kvantifikace je, dle FDA směrnice, jež je v textu citována, označován jinak než LOQ.

5/ Práce 1: Můžete porovnat parametry Vámi vyvinuté metody s již dříve publikovanou metodou (metodami) pro stanovení izomerů chlorofenylpiperazinu v tabletách? Uvádíte, že výhodou prokainu jako vnitřního standardu bylo maximum absorbance při 285 nm. Nebylo by výhodnější detekovat tuto látku selektivněji při této vlnové délce?

6/ Práce 2:

Str. 52: Množství sorbentu a objem by měl být uveden u všech použitých SPE kolonek a to pouze v metodické části. Není nezbytné tyto charakteristiky uvádět znovu ve výsledcích.

Str. 55: Uvádíte, že jako vnitřní standard byl využit 2'-deoxyguanosin, nicméně na žádném ze záznamů tato látka není.

Str. 59: Nebylo by možné dále zvýšit citlivost stanovení 8OHdG použitím většího objemu moči pro SPE extrakci? V případě stanovení látky v lidské moči by malý objem vzorku neměl být výraznou limitací.

Vyšší citlivosti by mohlo být dosaženo využitím spojení CE-MS. Byla by vyvinutá CE metoda přímo kompatibilní s MS detekcí nebo bude pro její případné další využití potřeba významnější modifikace?

7/ Práce 4:

Jako vnitřní standard byla použita kyselina sorbová. V práci by měl být uveden její migrační čas.

**Závěr a doporučení:** Mgr. Jitka Šíroká prokázala schopnost samostatné vědecké práce, výsledky které získala jsou nové a originální a mohou zásadně přispět k rozvoji kapilárně elektroforetických technik v oblastech analýzy farmaceuticky, klinicky i toxikologicky významných látek. Své výsledky publikovala nebo připravila k publikaci ve kvalitních impaktovaných časopisech.

**Práce splňuje požadavky kladené na disertační práce, proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.**

V Hradci Králové: 24.5. 2013

Doc. PharmDr. Petra Kovaříková, Ph.D.  
Katedra farmaceutické chemie a kontroly  
léčiv  
Farmaceutická fakulta UK