

## **Determination of pharmaceutically important substances using High Performance Liquid Chromatography with Mass Spectrometry detection**

Disertační práce Blanky Barrett se zabývá stanovením léčiv a jejich metabolitů v lidské plazmě pomocí HPLC/MS. Cílem vědecké práce byl vývoj analytických metod pro klinická hodnocení několika léčivých přípravků.

Netradičně členěná disertační práce sestává ze tří částí, k nimž jsou připojeny výtisky čtyř publikací. Po krátkém úvodním slově následuje obsáhlý přehled věnovaný teoretickým i praktickým aspektům HPLC s MS detekcí, zpracování biologických vzorků a validaci analytických metod. Tato kapitola je sepsána s velkou pečlivostí a svědčí o celkovém rozhledu uchazečky v dané tématice. V další kapitole jsou představeny čtyři projekty vývoje a validace analytických metod pro stanovení léčiv v lidské plazmě. Práce je opatřena nezbytným soupisem citací a plnými texty výše zmíněných publikací.

Práce vznikla na základě velkého množství experimentů prováděných v komerční bioanalytické laboratoři. Metody byly validovány dle požadavků Americké agentury pro kontrolu léků a potravin (FDA) a ověřeny na velkém množství klinických vzorků. Výsledky byly publikovány v prestižních bioanalytických a biomedicínských časopisech, čímž jednotlivé části práce již prošly nezávislým oponentním hodnocením. Vlastní disertační práce tak poskytuje jen velmi málo prostoru k dotazům. Přesto bych se rád zeptal:

1. Příložené publikace jsou dílem několika autorů. Z disertační práce však není zřejmé, jaký podíl publikované práce připadá na uchazečku, jaké konkrétní činnosti vykonávala a ke kterým výsledkům samostatně dospěla. Prosím o upřesnění.
2. Mobilní fáze pro analýzu hydroxykyseliny simvastatinu a lovastatinu (vnitřní standard) obsahovala methanol. Nebyla pozorována esterifikace karboxylové skupiny analytu a vnitřního standardu?
3. Quetiapin a clozapin se za podmínek CID štěpí na piperidinovém kruhu. Naznačená fragmentace by měla vést k odštěpení terciárních aminů jako neutrálních ztrát. V textu jsou však jako neutrální ztráty uvedeny sekundární aminy ( $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}=\text{CH}_2$  a  $\text{CH}_3\text{NHCH}=\text{CH}_2$ ). Prosím o vysvětlení.

4. Při klinických studiích byly analyzovány tisíce vzorků. Zajímalo by mne, jaká je průměrná “životnost” analytických kolon, zda je možné stejnou kolonu použít na všechny vzorky během studie.

K formální stránce mám několik připomínek. Nelze přehlédnout hrubky na druhé stránce ve slově “analytical” nebo na str. 11 – “hydroxilated”. První věta druhého odstavce na str. 48 nedává smysl a u Obr. 5 na str. 52 jsem marně hledal naznačenou fragmentaci. Pořadí kapitol v Kapitole 3 neodpovídá řazení jednotlivých publikací v příloze.

Závěrem bych však rád konstatoval, že Blanka Barrett dostatečně prokázala připravenost k samostatné vědecké činnosti a disertační práci plně **doporučuji přijmout k obhajobě**.

V Praze dne 12.listopadu 2008



---

RNDr. Josef Cvačka, Ph.D.