



Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
Laboratoř analytické biochemie
Branišovská 31/1160, 370 05 České Budějovice
Telefon: 387 775 286, Fax: 387 775 287, E-mail: simek@bclab.eu

Oponentní posudek dizertační práce

Název: Analýza statinů v biologické materiálu
Autor: **Mgr. Hana Vlčková**
Studijní program: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Studijní obor: Analytická chemie
Školitel: Prof. RNDr. Petr Solich, CSc., Doc. PharmDr. Lucie Nováková, PhD.
Oponent: RNDr. Petr Šimek, CSc.

Předkládaná dizertační práce byla vypracována na Katedře analytické chemie a ve spolupráci s odborníky Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Hradci Králové. Mgr. Hana Vlčková (dále autorka) vypracovala a porovnála dva postupy přípravy vzorků pro stanovení statinů technikou LC-MS/MS v lidském séru/plasmě, frakcích lipoproteinů a plasmě a moči krys.

Pod vedením školitele-specialisty se podílela na důkladné rešeršní práci a zhodnocení klíčových kroků v současné moderní bioanalýze, tj. moderními metody přípravy vzorků a vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Tato rozsáhlá, velmi kvalitně připravená, přehledná práce vzbudila zaslouženou pozornost, o čemž svědčí více jak 50 citací během dvou let po jejím zveřejnění v časopise *Analytica Chimica Acta* (Příloha III, str. 97) .

Ve druhé stěžejní práci, opublikované v časopise *Journal of Chromatography B* (Příloha I, str. 76) vypracovala autorka ve spolupráci s výzkumným týmem pracoviště robustní, citlivou a úplně validovanou metodu pro současné stanovení volných kyselin a laktonů simvastatinu a atorvastatinu včetně jejich metabolitů v krevním séru a frakcích lipoproteinů.

Hlavní výsledek však prezentuje autorka ve dvou studiích zaměřených na výzkum nové mikroextrakční metody tuhým sorbentem, kde je zároveň prvním autorem. Ta první byla publikována v časopisu *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (Příloha IV, str. 126), druhá práce je dostupná on-line na webových stránkách časopisu *Talanta* (Příloha V, str. 134). Výsledky popsané v těchto člancích přesvědčivě ukazují, že nová mikroextrakční metoda na tuhé fázi (MEPS) představuje miniaturizovanou verzi SPE, která splňuje vysoké nároky na přípravu vzorků v požadované současné moderní bioanalytice.



Biologické centrum AV ČR
Laboratoř analytické biochemie

Branišovská 31/1160, 370 05 České Budějovice
Telefon: 387 775 286, Fax: 7 775 287, E-mail: simek@bclab.eu

Rukopis dizertační práce je představen na více jak sedmdesáti stranách a je tradičně rozdělen do částí Abstrakt, Seznam použitých zkratk a sedmi kapitol složených z Úvodu, Cíle práce, Teoretické části, Výsledků a diskuse, Závěru, Seznamu použité literatury a pěti Příloh, které na více než sedmdesáti stranách představují kopie prací publikovaných v renomovaných vědeckých časopisech.

Práce je srozumitelně napsána. Současný stav problematiky byl popsán velmi dobře. Popis analytických technik, zvláště těch, které autorka ve své práci nepoužívala, mohl být vypuštěn. Na druhou stranu podrobnější diskusi si zasloužilo porovnání parametrů validovaných metod SPE (práce v příloze I, str. 76) a MEPS (přílohy IV a V, str. 126 a 134).

Práce obsahuje jen minimum pravopisných či stylistických nedostatků. Jako každá kvalitní práce vyvolává i tato hodně otázek. Domnívám se některé, spolu s některými nejasnostmi či drobnými prohřešky by měly být diskutovány během obhajoby. Jedná se zejména o tyto body:

1. Recenzent by si rád učinit si představu o osobním autorském podílu na publikovaných pracech, o osvojených a nově vypracovaných metodách autorkou, které se staly dalším přínosem pro školící pracoviště, kde dizertace vznikala. Doporučuji autorce tyto přínosy zdůraznit v přenášce během obhajoby práce.
2. Podrobnější diskusi při obhajobě práce si zaslouží hlavní problematika řešená v dizertaci: porovnání extrakčních metod MEPS a klasické SPE při analýze metabolitů atorvastatinu, tedy sumarizovaných údajů v tabulkách 1, 2 (práce v příloze IV) s výsledky tabulek 2, 3 (práce v příloze I) a tabulky 3 (práce v příloze V) a tedy zhodnotit vliv důležitých faktorů na celkové provedení obou SPE metod (robustnost, citlivost), jakými jsou vliv objemu zpracovávaného vzorku, manuálního zpracování vzorku v klasickém a miniaturizovaném formátu SPE, přínos poloautomatické stříkačky eVol apod.
3. Jaké nádobky se osvědčily při přípravě vzorků metodou MEPS ?
4. Proč je limit kvantifikace LLQ ve všech publikovaných pracech odvozen od poměru S:N = 10, když podle definice představuje hodnota LLQ množství analytu ve vzorku, které může být stanoveno s dostatečnou přesností a správností ?



**Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
Laboratoř analytické biochemie**

Branišovská 31/1160, 370 05 České Budějovice

Telefon: 387 775 286, Fax: 387 775 287, E-mail: simek@bclab.eu

5. S iontovým zdrojem použitým autorkou bylo možno měřit APCI spektra zkoumaných statinů. Byla APCI spektra měřena, jak vypadala a jaká byla odezva statinů ?
6. Jaký vliv mají složení a koncentrace pufru na ESI MS odezvu statinů? Jak velký byl rozdíl v odezvě testovaných mobilních fází (Tabulka 2 v práci, příloha I, str.9, popis osy y) ?
7. Předkladatelka se aktivně zúčastnila několika vědeckých konferencí, kde prezentovala výsledky svého výzkumu. Získala také zkušenosti na nějakém zahraničním či jiném domácím pracovišti ?

Podle WOS je předkladatelka je autorem či spoluautorem nejméně 8 kvalitních publikací v impaktovaných vědeckých časopisech, které byly citovány více jak 67 krát (63 krát bez autocitací). Hirschův index její publikační činnosti $h = 3$. Autorka splňuje všechny podmínky k podání dizertační práce.

Po důkladném prostudování dizertační práce a příslušných publikací předložených autorkou konstatuji podle příslušných ustanovení Studijního a zkušebního řádu doktorského studijního programu FaF UK, že její práce splňuje všechny uvedené požadavky, a proto

DOPORUČUJI PRÁCI K OBHAJOBĚ.

V Českých Budějovicích dne 25. ledna 2012.

RNDr. Petr ŠIMEK, CSc.