

# POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

**Název práce:** VÝVOJ A OPTIMALIZACE KROKU ÚPRAVY VZORKU PRO RYCHLÉ CHROMATOGRAFICKÉ ANALÝZY

**Autor:** Mgr. Veronika Pilařová

**Oponent:** Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Předložená disertační práce má celkem 150 stran (bez příloh a publikovaných prací) a zahrnuje 179 citací. Práce se věnuje vývoji moderních extrakčních metod pro zakoncentrování analytů z různých biologických a rostlinných materiálů. Z hlediska techniky SPE se většinou jedná o moderní mikroextrakční přístupy doplněné extrakcí pomocí umělých kapalných membrán či klasickou LLE, která se jeví jako velice vhodná pro analýzu tokoferolů a tokotrienolů v lidském séru.

Teoretická část se stručně a přehledně zabývá úpravou vzorků a současnými trendy v extrakčních technikách, a dále trendy v rychlých chromatografických separacích. Dále následuje širší diskuse výsledků jednotlivých metod a technik, na nichž se doktorandka během svého studia podílela. Z hlediska experimentální části je rozsah analytických experimentů poměrně velký a vývoj požadovaných metod pokrývá nejen biologický materiál pro klinický výzkum ale i materiál pro farmakokinetické studie na zvířecích modelech a materiál pro metabolomický screening vybraných rostlin. Z výsledků disertační práce je tedy zřejmá aktivní a úspěšná mezioborová spolupráce doktorandky a její školitelky.

Publikační výstupy jsou nadstandardní a jsou doloženy sedmi příloženými rukopisy, z nichž dva jsou prvoautorské. U ostatních, převážně mezioborových výstupů, je jasně zřetelná analytická část, na které se doktorandka vývojem metod podílela.

Celkově považuji předloženou práci za zdařilou a lze konstatovat, že stanovené cíle byly bezesporu splněny.

## **K disertační práci mám několik drobných připomínek a dotazů k diskuzi:**

1. Menší množství gramatických překlepů je na běžné úrovni.
2. Str. 144 – citace 134-138 „spektrometry“ vs. „spectrometry“.
3. Zkratka PFP – chybně vyjádřená. Existuje i jiná komerční zkratka pro tento typ fáze?
4. Str. 73 – chromatogram na PFP koloně – nebylo by možné změnou vhodnějších podmínek (zpomalení eluce) získat zlepšení separace a retence podobné koloně BEH 2-EP? V LC je PFP fáze známá svou dobrou selektivitou pro separaci tokoferolů...
5. Str. 77 – má význam z praktického hlediska času úpravy vzorku vyvíjet dvě metody, kdy jedna je pouze o „90 sec“ rychlejší?
6. Str. 80 – uvádíte, že metoda je vhodnější pro vzorky rostlinného materiálu, který kromě tokoferolů obsahuje i mnoho jiných interferujících složek, které je možné při delším čase

analýzy lépe odseparovat. Můžete lépe konkretizovat, o které, vzhledem ke struktuře tokoferolů pravděpodobně lipofilní interferenty se může jednat?

7. Jednalo se při vývoji PALME techniky pouze o přídavek standardů či byl analyzován reálný biologický materiál s obsahem některého z léčiv?

#### **Dotazy a náměty do diskuse:**

1. Dokážete zdůvodnit proč při vývoji mikroextrakční techniky pro analýzu statinů (str. 89) se jako vhodnější z hlediska retence jevil C-8 sorbent oproti C-18?
2. Sledováním grafu na obr.52, str.118 je pro mne menší záhadou stabilita farnesolu při -20°C oproti ostatním podmínkám. Dokážete tento atypický jev vysvětlit?
3. Kolik nástřiků vzorku po 20 µl, jak uvádíte na straně 129, je možné provést při rekonstituci vzorku do 40µl mobilní fáze? Jak byl tento krok ošetřen při validaci metody?

#### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je rozsáhlá a kvalitní, a moje drobné připomínky její kvalitu nikterak nesnižují. Vyvinuté metody a publikované výsledky mají mezioborový charakter a tím zřejmý přínos do různých oblastí výzkumu.

**Celkově lze konstatovat, že předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práce dle § 47 odst. 4 zákona, a proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.**

Hradec Králové, 9. 2. 2017

Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Katedra analytické chemie  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Univerzita Karlova