

Oponentský posudek

na disertační práci Mgr. Anny Zerzaňové:

„Analytické studie biologicky aktivních látek s využitím kapalinové chromatografie“

Základem předložené disertace jsou tři původní experimentální práce Mgr. Anny Zerzaňové, publikované v letech 2006 – 2007 se spolupracovníky ve významných chemicko-analytických časopisech; všechny práce se podrobily náročnému recenznímu posuzování příslušných redakcí a jejich uveřejnění je dokladem kvality a vědeckého přínosu.

Společnou úlohou a cílem bylo rozšíření možností a aplikací techniky HPLC pro separaci a stanovení biologicky aktivních látek, testování a výběr optimálních stacionárních fází a metod selektivní detekce. Zahrnuje typické příklady úkolů farmaceutické analýzy - sledování čistoty substancí včetně kvantifikace, stanovení léčiv a metabolitů v biologickém materiálu, sledování metabolismu a analýzu vícesložkových léčivých přípravků.

Před soubor prací s komentářem autorka zařadila značně rozsáhlou teoretickou část (str. 13 – 93), ve které kromě obecného popisu HPLC a výčtu detekčních zařízení, zpracovala detailně dva další celky. Prvním jsou základy, principy a techniky hmotnostní spektrometrie, specifika a výhody spojení HPLC-MS. Dalším je přehled elektroanalytických metod s tabulkovým zpracováním příkladů použití vybraných elektrochemických metod při stanovení léčiv v přípravcích a biologickém materiálu, u coulometrie ve spojení s chromatografií. Uvedené techniky patří k nejcitlivějším, selektivním a progresivním detekčním postupům při HPLC. Teoretickou část autorka doplnila názornými schémata instrumentace, ukázkami a rozbořem záznamů hmotnostního spektra a měřených signálů elektroanalytických metod. Poukázala na nejnovější poznatky studovaných oblastí, citovala 84 pramenů literatury; další citace, zaměřené na konkrétní problematiku, jsou součástí publikovaných prací.

První experimentální práce, využitelná pro farmaceutickou příp. i toxikologickou analýzu, publikovaná v J. Sep. Sci. 2006 - hodnotí porovnáním objektivních elučních parametrů chování analytů s rozdílnými vlastnostmi na 4 různých stacionárních fázích. Jedná se ve všech případech o separaci léčiva, jeho přirozených metabolitů a příbuzných látek, troj- až osmi-složkových směsí se spektrofotometrickou detekcí v uv-oblasti. Pro bazické látky doporučuje na základě hodnot rozlišení a symetrie píků sorbenty s výhodnějšími vlastnostmi než C8 nebo C18.

K experimentálně ještě náročnějším lze řadit další studii (ve spolupráci se zahraničním pracovištěm), uveřejněnou v J. Chromatogr. A 2006, která zahrnuje vypracování a validaci metody HPLC pro skupinu 8 chinolonových derivátů, sledování výtěžnosti těchto sloučenin z plasmu extrakcí na pevnou fázi (SPE) a stanovení v plasmě. Vedle uv-detekce, která nebyla

vždy dostatečně citlivá se pro detekci i kvantifikaci v biologickém vzorku uplatnila hmotnostní spektrometrie.

Třetí práce publikovaná v J. Pharm. Biomed. Anal. 2007 je příkladem vývoje HPLC metody pro separaci a stanovení biotinu jako minoritní složky ve vícesložkových léčivých přípravcích. Kromě výběru chromatografických podmínek byla stejně významná volba citlivé detekce; zvolená coulometrie vyžadovala předem vyhodnocení elektrochemického chování látky.

Vypracováním a publikováním uvedených prací, podílem na dalších příspěvcích prezentovaných na mezinárodních sympoziích a konferencích (6 prezentací, 5krát 1.autorka) prokázala Mgr. Anna Zerzaňová schopnost tvořivě vědecky pracovat. Práce zahrnují velký objem experimentů, ukazují na promyšlený a systematický přístup k řešení, obsahují fundované diskuse a komentáře.

K disertační práci mám následující připomínky a otázky:

- v tabulkách v teoretické části práce (str. 92 a další) se uvádí slovní spojení „měření obsahu“; české názvy léčiv správně methylprednison-acetát, triprolidin-hydrochlorid
- při výběru optimální stacionární fáze byl jedním z rozhodujících parametrů faktor symetrie. Dá se vypočítat i jednodušším postupem, než uvádíte v práci? (lékopis)
- jak se dosahuje zlepšení symetrie, eliminace chvostování na stacionárních fázích, jejichž základem je silikagel. Co je to „baze deactivated“ silikagel?
- máte citační ohlas na Vaše práce, byl Vámi doporučený chromatografický systém (J.Sep. Sci. 2006) již použit např. při sledování metabolismu dimefluronu, příp. dalších látek?

Závěr:

Dizertační práce Mgr. Anny Zerzaňové představuje původní vědeckou práci s rozsáhlým teoretickým přehledem a množstvím experimentálních výsledků náležitě zpracovaných a interpretovaných. Přináší řadu nových poznatků z hlediska rozvoje a optimalizace metody HPLC i nové možnosti praktických uplatnění ve farmaceutické analýze a příbuzných oborech. Cíl studia doktorandka splnila, proto doporučuji její práci jako podklad k obhajobě, pro získání akademicko- vědecké hodnosti Ph.D.



Doc. RNDr. Marie Blešová, CSc.

Ústav chemických léčiv

Farmaceutická fakulta VFU Brno

Brno, 13. června 2008