

Oponentský posudek na disertační práci PharmDr. Ludmily Matysové

„Vývoj a validace HPLC metod pro analýzu léčivých přípravků“

PharmDr. Ludmila Matysová se ve své dizertaci zabývala vývojem a validací analytických metod využívajících vysoceúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) ke sledování kvality léčiv a lékových přípravků. Tyto dva tématické okruhy využila konkrétně pro analýzy topických lékových přípravků, které jsou popsány v publikacích a posterech tvořících součást disertační práce.

Dizertace má rozsah 240 stran, z toho 128 stran tvoří přílohy (publikace a postery), formálně je členěna způsobem obvyklým pro tento druh kvalifikační práce.

V teoretické části se autorka zabývala chromatografickými metodami (teorií, instrumentací, stacionární a mobilní fází, základními chromatografickými daty), vývojem chromatografické metody (volba parametrů separace a detekce), přípravou léčivých přípravků k analýze a konečně parametry validace analytické metody. Vzhledem k tomu, že HPLC je metodou dobře známou v povědomí odborné veřejnosti, zdají se mi některé informace uvedené v teoretické části až příliš triviální, vhodné snad do bakalářské nebo diplomové práce, nikoli do práce disertační. Mnohem zajímavější a přínosnější jsou informace uvedené v kapitolách věnovaných vývoji a validaci HPLC metod. Zejména kapitolu o validacích autorka pečlivě zpracovala a tato část je pro čtenáře velmi přínosná.

Experimentální část je koncipována jako komentovaný soubor devíti příložených publikací, které byly presentovány v kvalitních zahraničních periodikách s impact faktorem od 1.889 po 3.096. Dr. Matysová je prvním autorem dvou publikací. Součástí experimentální práce je dále soubor dvaadvaceti posterů. Ve zmíněných odborných sděleních se autoři zabývali vývojem a validací HPLC metod pro stanovení jednotlivých účinných složek a případných nečistot v topických lékových přípravcích. Byl zkoumán rovněž vliv architektury chromatografických kolon (monolitické vs. částicové stacionární fáze) a vliv velikosti částic stacionární fáze (5 → 3 → 1,7 μm, HPLC vs. UPLC) na rychlost a separační účinnost kolon.

V předložené disertační práci jsem našel některé nedostatky uvedené v přehledu připomínek a doporučení, tyto však nikterak nesnižují kvality této dizertace.

Závěr :

Předložená disertační práce PharmDr. Ludmily Matysové splňuje po stránce obsahové i formální požadované náležitosti. Autorka se během své postgraduální výchovy seznámila velmi detailně s problematikou vysoceúčinné kapalinové chromatografie ve farmaceutické analýze, dále s vývojem a validací HPLC metod, které dovedla využít ke sledování kvality topických léčiv a lékových přípravků. Své výsledky dokázala disertantka prezentovat v prestižních zahraničních časopisech a na mezinárodních i tuzemských konferencích.

Doporučuji proto, aby disertační práce PharmDr. Ludmily Matysové byla přijata k obhajobě a stala se podkladem k udělení vědecké hodnosti PhD.

Připomínky a doporučení :

Str.10 V členění chromatografických metod podle různých kritérií nejsou vyjmenovány všechny druhy chromatografie podle povahy interakcí – chybí například afinitní (bioafinní) chromatografie. Nebylo by vhodnější nahradit pojem „gelová chromatografie“ pojmem „gelově permeační chromatografie“?

Str.11 (GC – Gass chromatography) – proč dvě ss

Str. 12 Pojmem „Metoda normalizace“ se míní zřejmě „Metoda vnitřní normalizace“

K úplnosti výčtu postrádám „metodu standardního přídatku“

Str. 15 Jaký má praktický význam členění na čerpadla s konstantním tlakem a čerpadla s konstantním průtokem?

Str. 16 „...Nevýhodou je nutnost výměny ventilu při změně dávkovaného objemu...“ – Nepravdivé tvrzení - kromě metody Full Loop existují dokonce dvě metody (Push Loop a Pull Loop) pro dávkování menších objemů ze stávající (nainstalované) smyčky.

Dotazy a náměty do diskuse :

1. V teoretické části disertace postrádám alespoň zmínku o významu van Deemterovy rovnice pro vysvětlení předností monolitických kolon nad náplňovými kolonami. Mohla byste podat vysvětlení analogické tomu, které bylo presentováno v publikaci 9 pro různou velikost částic náplňových kolon?
2. Poměrně podrobně a přehledně se zabýváte stabilitou léčiv a léčivých přípravků v kapitole 3.3.2., postrádám však v rámci validace analytické metody stabilitní studie během přípravy vzorků a vlastního chromatografického procesu (stabilita základních roztoků při

skladování v chladničce event. fotostabilita roztoků, stabilita během přípravy vzorků, případně autosamplerová stabilita, pokud byl použit autosampler).

3. Pro úplnost informací o validaci analytické metody by bylo vhodné se zmínit o významu QC vzorků v sekvenci analyzovaných vzorků pro přijetí nebo zamítnutí výsledků analyzované sekvence.



Doc. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

Ústav experimentální biofarmacie

Heyrovského 1207

CZ-500 03 Hradec Králové

V Hradci Králové, 27.11.2006