

Posudek disertační práce

Vývoj nových metod ultra-vysokoučinné superkritické fluidní chromatografie pro farmaceutické aplikace

Autorka: Mgr. Kateřina Plachká

Vedoucí disertační práce: prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Oponent: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Kateřiny Plachkové je sepsána celkem na 104 stranách a je doplněna dvanácti přílohami. Přílohy zahrnují publikované práce, práce ve formě manuskriptu a kapitoly v monografiích. Po teoretickém úvodu následují komentáře k celkem sedmi experimentálním pracím (5 publikovaných, dvě ve formě manuskriptu) a třem kapitolám v odborných monografiích. Mgr. Kateřina Plachká je u čtyř experimentálních prací první autorkou (2 publikovány, 2 ve formě manuskriptu) a na zbývajících pracích se významně podílela, totéž platí i pro kapitoly v monografiích.

Mgr. Plachká prezentovala své výsledky formou přednášek na čtyřech postgraduálních konferencích na FaF UK, dvou konferencích v rámci České chromatografické školy a na mezinárodní konferenci ISSS 2017 ve Vídni. U dalších šesti přednášek je spoluautorkou. Dále byly výsledky experimentální práce prezentovány formou plakátových sdělení převážně na významných zahraničních konferencích. V šesti případech byla Mgr. Plachká první autorkou a na dalších šesti posterech se podílela jako členka autorského kolektivu. Kateřina Plachká byla také hlavní řešitelkou dvou projektů GAUK a na dalších dvou projektech se účastnila jako spoluřešitelka. Je také členkou výzkumného týmu v rámci projektu STARSS.

Teoretická část práce obsahuje úvod do problematiky včetně krátkého historického vývoje od počátků SFC do současnosti. Autorka se věnuje popisu instrumentace, aplikačním oblastem SFC, jejím výhodám a vývoji separační metody. V této souvislosti jsou zmíněny možnosti využití SFC ve farmaceutické analýze (kontrola kvality účinných látek, léčivých přípravků, stanovení obsahu, analýza účinných látek a jejich metabolitů v biologickém materiálu).

Cílem disertační práce bylo zejména ověřit vhodnost SFC pro využití ve farmaceutické analýze. Pozornost byla věnována porovnání dosažených výsledků mezi SFC a LC. Výsledky práce zahrnují návrh experimentálních podmínek vhodných jako výchozí bod pro optimalizaci metody. Autorka se věnovala možným problémům a jejich řešení při optimalizaci UHPSFC metody (citlivost, rozlišení). Nově vyvinuté metody byly následně validovány dle mezinárodních směrnic. Studentka byla rovněž zapojena do velké studie, na které se podílelo 19 laboratoří z celého světa, na ověření přenositelnosti metody pro hodnocení čistoty salbutamolu mezi laboratořemi.

Disertační práce je zakončena závěrem. Seznam použité literatury čítá celkem 215 citací. Před přílohami práce je ještě uveden souhrnný seznam publikací, přednášek a posterových sdělení Mgr. Kateřiny Plachkové. Její podíl na všech výstupech lze charakterizovat jako zásadní. Získaná data dokumentují využitelnost SFC v mnoha oblastech farmaceutické analýzy, včetně hodnocení čistoty účinných látek, stanovení jejich obsahu v léčivých přípravcích a hodnocení látek v biologickém materiálu s využitím hmotnostní spektrometrie.

Práce je jako celek sepsána přehledně, jasně a stručně. V práci se vyskytuje několik málo překlepů (např. str. 19 – teploty a tlaky; str. 51 chybí „na“; str. 61, chybně uveden vzorec vody apod.) a chyb (str. 50. rovnice není obrázek, ke komentáři 4.5. chybí odpovídající příloha (efekt historie kolony v SFC); z tohoto důvodu došlo patrně k dalšímu posunu: po příloze 5 následuje příloha 7; komentáři 4.8 odpovídá příloha 10, komentáři 4.9 příloha 9 a komentáři 4.10 příloha 8.

V práci se dále vyskytují některé méně obvyklé pojmy (např. směs pro farmaceutickou kontrolu kvality, farmaceutická nečistota, čtvrtá fáze klinického výzkumu, zbytkové látky ze syntézy, farmaceutický standard apod.) a formulace (např. neutrální látky poskytly užší distribuci rozdílů retenčních časů, čistý silikagel ve smyslu nemodifikovaný silikagel). Odkazy 157, 158 neodkazují na konkrétní fakt, ale pouze na webovou stránku FDA a EMA a jsou tedy irelevantní.

Na základě teoretického úvodu a autorčina komentáře bych chtěl v rámci diskuse poprosit o odpovědi na následující dotazy:

Str. 22 – jaká je definice robustnosti?

Str. 28 – který parametr van Deemeterovy rovnice bude ovlivněn více díky vyššímu difuznímu koeficientu látek v CO₂?

Str. 38 – „analýza méně polárních látek, které jsou silně zadržovány v LC“ – jaký typ látek charakterizuje tento popis?

Str. 39 – zde je věnován ve zkratce odstavec problematice chirální čistoty léčiv. Tato zkratka mi přijde nevhodná, protože čtenář na základě tohoto textu může dojít k chybným závěrům. Problematika je zjednodušená na některé parametry ADME a kromě toxicity zde úplně chybí zmínka o farmakodynamice;

V případě použití SFC pro preparativní účely, je instrumentaci nutno nějak upravit? Jak je řešen odvod CO₂ po separaci?

Str. 40 – poslední odstavec – dle mého názoru byla použita také nevhodná zkratka týkající se hodnocení nečistot v léčivých látkách, popř. léčivých přípravcích. Jak dělíme nečistoty a které jsou hodnoceny pomocí separačních metod? Jaké jsou požadavky na použité metody? V jaké souvislosti zde byla zmíněna ortogonalita metod?

Str. 41 – jaká je kompatibilita vzorků obsahující větší množství solí (např. moč) s SFC?

Str. 47 – proč chybí v komentáři na obr. 14 parametr „čas vývoje metody“, který je v publikaci uveden?

Str. 58 – v mezilaboratorní studii vyšlo rozmezí S/N 34-918 a jako důvod uvádíte opotřebování UV-lamp a různý software. Jakým způsobem ovlivňuje použitý software výslednou hodnotu S/N?

Str. 64 – co znamená „sledování linearity závislosti retenčních časů na měsíci měření“? Odpovídá tomu obr. 28?

Str. 67 – tab. 5 – prosím o vysvětlení hodnot „Nalezený obsah“ a „Deklarovaný vs. Nalezený (%)“ u posledních dvou přípravků?

Závěrem je třeba říci, že výše uvedené připomínky a dotazy nesnižují kvalitu této disertační práce. Studentka prokázala schopnost samostatně vědecky pracovat a její výsledky přinášejí nové a cenné poznatky týkající se využití SFC ve farmaceutické analýze. Dosažené výsledky jsou velmi slibným základem pro další experimentální práci a jejich kvalitu dokládají publikace v prestižních zahraničních časopisech s IF. Pozitivně vnímám také to, že publikované práce mají již svůj citační ohlas.

Na základě výše uvedených skutečností mohu konstatovat, že předložená disertační práce Mgr. Kateřiny Plachké splňuje požadavky kladené na tento typ prací, a proto ji vřele doporučuji přijmout k obhajobě jako jeden z podkladů pro udělení titulu Ph.D.

V Hradci Králové, 25. 3. 2020

doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy
Farmaceutická fakulta UK