

Oponentský posudek

disertační práce Mgr. Jiřího Šafry : " Využití elektroforetických metod v analýze farmaceuticky významných látek ."

Posuzovaná disertační práce byla předložena jako zevrubně komentovaný soubor pěti původních vědeckých prací publikovaných ve vědeckých časopisech, doplněný kopiemi 11 příspěvků na vědeckých konferencích, otištěných ve sbornících /ty nejsou předmětem posudku, ale dokreslují vědeckou aktivitu doktoranda/. Zaměření obsáhlé disertace /celkem 167 stran textu, tabulek a vyobrazení/ je plně v souladu s jejím názvem. Doktorand se dokonale obeznámil se současným stavem problematiky /přes 80 vesměs recentních citací původní literatury/ a získané poznatky shrnuje v teoretické části. Zde zaujímá hlavní prostor popis instrumentace a výklad významných kapilárních elektroforetických metod a s nimi bezprostředně souvisejících prekoncentračních technik, důležitých v biomedicinských a farmaceutických aplikacích. Celá tato část je zpracovaná kriticky na velmi dobré úrovni. Zařazení sofistikovanych metod v práci nepoužitých /např. miniaturizovaných postupů/ svědčí o vnitřním zaujetí problematikou. K teoretické části mám jen několik spíš formálních připomínek. Při dávkování vzorků jde o vztah mezi jejich objemem a délkou zóny v kapiláře /s. 14 a 36/; v kapitole o EOF by bylo vhodné uvést i poměry v jiných než křemenných kapilárách. O citlivosti detekce rozhoduje spíš látkové množství analytu než jeho hmota /s.35/; v popisu přechodné ITP se hovoří o dvou přístupech ale uvedeny jsou tři/s.43/; nevýznamné tiskové chyby jako "třetí" síla /s.17/ , nl místo nl /s.15/. Žádné věcné nedostatky jsem v teoretické části nezjistil.

Vlastní pokusnou část disertace představují publikace pěti původních vědeckých prací uveřejněné vesměs ve vysoce renomovaných mezinárodních vědeckých časopisech. Čtyři už vyšly a pátá je v recenzním řízení. Vzhledem k těmto skutečnostem jsou autorovy komentáře jen stručné s cílem základní orientace o pracích.

Z hlediska zaměření jsou tři práce orientované na analýzu účinných obsahových látek v rostlinných extraktech klasických drog /vrbovka, meduňka/; většinou šlo o fenolické kyseliny.

Povaha vzorků vyžadovala nasazení prekoncentračních postupů, jmenovitě on-line kombinace ITP-CZE nebo stacking-CZE. Metodická stránka těchto prací je mimořádně náročná, tandemové spojení dvou postupů s jedním cílem vyžadovalo úzkostlivé vyladění a dodržování pracovních režimů hlavně s ohledem na složení elektrolytů a na přesnou časovou posloupnost dílčích kroků analýzy. Použitá instrumentace k tomu byla vhodná a její možnosti disertant plně využil. Typickým příkladem je analýza extraktu vrbovky, kde bylo třeba vyřešit komplikovaný problém koncového elektrolytu pro ITP fázi nebo výběr optimálního protiiontu v CZE fázi. Celý postup byl také konfrontován s prekoncentrací na základě stacking-CZE s pozitivním výsledkem. Závažnou limitací zůstává pro rutinní postup nárok na absolutní dodržení všech detailů pracovních podmínek a na průběžnou aktivní účast analytika s omezením možnosti automatizace.

Další dvě práce představují samostatný okruh svým zaměřením na originální využití méně běžných variant nekombinované CZE ve farmaceutické analýze. Pro analýzu polyolů v infuzním roztoku se doktorand vyhnul nutnosti ionizace analytů extrémně alkalickým prostředím a využil tvorbu komplexů polyolů s boritanem, která způsobuje mnohonásobné zvýšení kyselosti, na derivatizaci vzorku v kapiláře. Základním elektrolytem byl roztok tetraboritanu a UV-detekce byla umožněna nepřímým uspořádáním /na s. 66 se mylně uvádí detekční limit pro "uhlovodíky"/. Metoda je snadno proveditelná a její validace prokázala velmi dobrou shodu s jodometrickým referenčním postupem.

Předmětem posledního úseku disertace byla analýza topického antirevmatického přípravku Ketoprofen gel, obsahujícího nesteroidní antirevmatikum ketoprofen a dva parabeny jako konzervancia. Cílem bylo stanovení obsahu všech tří složek současně, jednou analýzou. S ohledem na jejich výrazně odlišné acidobazické vlastnosti byla zvolena metoda MEKC. Úvodní optimalizační procedura vedla k užití osvědčeného SDS jako pseudostacionární fáze a mírně alkalického tricínového pufru s přísávkem β -cyklodextrinu a methanolu jako základního elektrolytu. Validovaný postup poskytoval přesné a správné výsledky pro všechny tři složky přípravku a ukázal se jako vhodný i pro rutinní použití.

ZÁVĚR

Disertační práce Mgr. Jiřího Šafry plně prokazuje teoretické zvládnutí problematiky, jeho schopnost samostatně vědecky pracovat, přináší nové vědecké poznatky a kriticky je hodnotí. Hlavní části disertace byly publikovány ve vědeckých časopisech formou článků s rozhodujícím autorským podílem doktoranda. Protože jsou tak splněny zákonné požadavky, doporučuji, aby byla disertační práce Mgr. Jiřího Šafry "Využití elektroforetických metod v analýze farmaceuticky významných látek" přijata k obhajobě s cílem získání akademického titulu Ph.D.



Prof. RNDr. PhMr. Vladimír Jokl, DrSc.

V Hradci Králové 10.01.2008

V návaznosti na svůj posudek žádám doktoranda, aby se vyjádřil k těmto námětům :

- 1/ posuďte z vlastní zkušenosti přednosti a negativa prekoncentračních postupů ITP-CZE, stacking-CZE a sweeping-CZE
- 2/ která konkrétní kritéria vedla při analýze Ketoprofen gelu k volbě MEKC ?
- 3/ máte vysvětlení-třeba i subjektivní- pro rozdíly údajů literatury v tab.4 na s. 63 ?
a co znamená zkratka MSPD-LC ?