

Téma diplomové práce	<b>Vývoj a validace metody pro stanovení klotrimazolu v masti pomocí HPLC</b>
Jméno studenta, studentky	<b>Bc. Jitka Poláčková</b>
Jméno oponenta	<b>Mgr. Lucie Havlíková, Ph.D.</b>

## II. Posudek oponenta

Jitka Poláčková vypracovala svoji diplomovou práci pod vedením PharmDr. Ludmily Matysové, Ph.D. Studentka se zabývala optimalizací a validací HPLC metody pro stanovení obsahu klotrimazolu, degradačního produktu (2-chlorofenyl)difenylmethanolu a konzervačních přísad methylparabenu a propylparabenu v přípravku Clotrimazol mast.

Práce je členěna obvyklým způsobem, má 86 stran textu, včetně 38 odkazů na odbornou literaturu, obsahuje 25 tabulek a 26 obrázků.

Teoretická část práce se zabývá charakteristikou klotrimazolu, separačních metod, stručně charakterizuje metodu HPLC, podrobně popisuje validační parametry a přibližuje čtenáři pohled na již publikované práce na téma HPLC stanovení klotrimazolu.

V experimentální části je popsáno přístrojové vybavení, chemikálie, příprava pracovních a zásobních roztoků, příprava vzorku, stručně je popsán vývoj HPLC metody, jsou uvedeny chromatografické podmínky separace, metoda extrakce a výsledky validace metody.

Práce po obsahové i formální stránce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a proto ji doporučuji k obhajobě.

Připomínky:

-str.5 - v textu abstraktu v anglickém jazyce je řada nesprávně použitých termínů, např. pro „stanovení obsahu“ se spíše používá anglický výraz „assay“ než „determination of capacity“; správný výraz pro rozkladný produkt je „degradation product“ ne „degraded product“; pro konzervační přísady „preservatives“ ne „conservations“; pro vnitřní standard „internal standard“ ne „inside“; spíše se užívá výraz „method validation“ než „method verify“. „pH water component“ by měl být nahrazen výrazem „pH of aqueous part of mobile phase“; věta „If these...“ postrádá smysl. Studentka pod výrazem „test if the chromatographic system is acceptable“ má jistě na mysli „System Suitability Test“

-str. 26 - odstavec 3. Práce v extrémních oblastech pH a následující odstavec - není jasné, zda se odstavec týká práce v extrémních oblastech pH nebo shrnutí problematiky životnosti analytických kolon

-str. 27 - formulace „není třeba brát ohled na stabilitu stacionární fáze“ není příliš vhodná

-str. 29 - v teoretické části jsou uvedeny dva vzorce pro výpočet asymetrie píků. Rovnice použita pro hodnocení asymetrie v experimentální části je odlišná od obou těchto vzorců (str. 58). U druhého uvedeného vzorce je nejasně vysvětlený použitý parametr.

-kap. 2.6 - u některých stran chybí čísla stránek. Objevuje se nejednotnost v uvedení složení mobilní fáze (např. 1:8:1 a 29:11)

-str. 44 - nejednotnost v uvádění rozměrů kolon – mm/cm, dále oddělení názvu kolony od jejích parametrů čárkou je značně nepřehledné (např. Discovery C 18,5 $\mu$ m ...)

-kap. 3.3 - při přípravě jednotlivých roztoků je uveden výraz „nečistota“ a „vnitřní standard“ – vnitřní standard

je blíže specifikován až na straně 55, což je nepřehledné

-str. 51 - kolona Onyx monolithic – podle uvedeného textu to vypadá, že kolona není vyhovující právě proto, že doba analýzy byla do tří minut

-str.52 - „při MF acetonitril a voda byla zkoušena řada pH vodné složky. Vliv ale na píky parabenů a nečistoty neměl“ – nesrozumitelné

-str.54 - český výraz pro „cloroxin“ je „kloroxin“. F-estradiol není správné označení substance.

-str.59 - vzorec pro výpočet počtu teoretických pater se liší od výpočtu uvedeného v teoretické části DP

-tab. 9-17 - zbytečně velký počet desetinných míst

-str.66 - nevyhovující hodnota výtěžnosti pro methylparaben (93,33%) je bez vysvětlení

-str. 79 - na str. 79 je uvedeno, že požadavek na stabilitu je splněn, hodnoty pro methylparaben (tab 24) tomu však neodpovídají

- překlep např. str 5 „Zozbax“, str. 44 „linstruments“

Otázky:

1. HPLC metoda pro stanovení klotrimazolu, methylparabenu, propylparabenu a nečistoty již byla publikovaná (odkaz č.3), proč byla vyvíjena nová metoda?
2. Jaké jiné instituce zabývající se problematikou validace znáte, než ty, které jako příklad uvádíte v DP (str. 30)?
3. Použitá vlnová délka detektoru je 210 nm. Na základě jaké úvahy byla tato hodnota zvolena?
4. Čím si vysvětlujete nízký počet teoretických pater u klotrimazolu (271)? Existuje požadavek na hodnotu tohoto parametru?
5. Hodnota asymetrie pro pík klotrimazolu je 2,25. Je tato hodnota vyhovující požadavkům autorit?
6. Jaká byla použita koncentrace vnitřního standardu? V DP je uvedeno několik použitých hodnot (25; 24;12 mg/100ml)
7. Linearita nečistoty je hodnocena v koncentračním rozmezí 0,1-0,6 mg/100ml. Proč není kalibrační křivka protažena do nuly? Předpokládá se v hodnoceném léčivém přípravku výskyt sledované nečistoty?

Navrhovaná klasifikace **Velmi dobře**

V Hradci Králové dne 20.5.2008

---

Podpis oponenta diplomové práce