

**Oponentský posudek disertační práce Mgr. Václava Žižkovského  
Studium využitelnosti alternativních přístupů v HPLC analýze léčiv.**

Předložená disertační práce má celkem 150 stran. Z celkového rozsahu je 71 stran věnováno teoretické části, 31 stran tvoří kopie 4 prací v zahraničních odborných časopisech, 9 stran zabírají komentáře publikovaných prací a výsledků a zbytek je přehled publikačních výstupů, souhrny, seznam zkratk a seznam použité literatury.

Po formální stránce je práce velmi pečlivě zpracována, což značně usnadnilo oponenturu.

Mgr. Žižkovský je prvním autorem dvou prací v zahraničních časopisech s IF:

1/ Žižkovský V, Kucera R, Klimes J, Dohnal J. Titania-based stationary phase in separation of ondansetron and its related compounds. *J Chromatogr A*. 2008;1189(1-2):83-91 (IF 3,55).

2/ Žižkovský V, Kucera R, Klimes J. Potential employment of non-silica-based stationary phases in pharmaceutical analysis. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;44:1048-55 (IF 2,03),

a spoluautorem dvou dalších publikací s IF:

3/ Kucera R, Žižkovský V, Sochor J, Klimes J, Dohnal J. Utilization of zirconia stationary phase as a tool in drug control. *J Sep Sci*. 2005;28:1307-14 (IF 2,53)

4/ Zerzanová A, Žižkovský V, Kucera R, Klimes J, Jesenský I, Dohnal J, Barrón D.

Using of HPLC coupled with coulometric detector for the determination of biotin in pharmaceuticals. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;45(5):730-5 (IF 2,03).

Práce 1 a 2 jsou zaměřením velmi blízké a na sebe navazující. Zabývají se optimalizací separace ondansetronu a jeho pěti lékopisných nečistot na stacionárních fázích na bázi oxidu zirkoničitého a titaničitého a srovnáním těchto sorbentů s klasickými silikagelovými sorbenty. Podstatou prací je pečlivé vyhledávání optimálních separačních podmínek a hodnocení vlivu složení mobilní fáze (druh a množství organického rozpouštědla, druh, pH a koncentrace pufru, druh a koncentrace aditiva – Lewisovy báze) a dalších faktorů (průtok mobilní fáze kolonou a teplota) na parametry separace. Práce 3 se věnuje separaci ibuprofenu, příbuzných látek a konzervačních látek (parabenů) simultánně na stacionární fázích na bázi oxidu zirkoničitého. Jde o práce rozsáhlé, prokazující systematický přístup uchazeče k řešení výzkumného projektu.

Čtvrtá práce, jíž je uchazeč spoluautorem, je zaměřena metodicky do jiné oblasti. Popisuje vývoj a validaci HPLC metody pro stanovení biotinu v multivitaminových přípravcích založené na separaci na klasických kolonách a coulochemické detekci. Je pozoruhodná tím, že se jedná o první publikované použití coulochemické detekce pro stanovení biotinu a je dokumentováno výrazné zvýšení kvantifikačního limitu.

**K disertační práci mám následující připomínky a dotazy:**

1/ Teoretická část má přiměřený rozsah a je velmi kvalitně zpracována. Pro HPLC specialisty ve farmacii a biofarmacii je velmi informativní a jako taková by si jistě zasloužila další zpracování do formy publikace nebo monografie, čímž by se stala dostupnou širšímu okruhu zájemců.

**Otázka 1:** Popisované aplikace se týkají především využitím sorbentů na bázi oxidů kovů při farmaceutické analýze zaměřené na kontrolu kvality farmaceutických přípravků. Jaké jsou zkušenosti s použitím těchto sorbentů v biofarmacii a medicíně, tzn. pro ještě širší okruh analytů a komplexnější matrice. Byly publikovány aplikace pro analyty s větší molekulou?

**Otázka 2:** Teoretická část i vaše vlastní práce dokumentuje u některých směsí analytů lepší separaci na sorbentech na bázi oxidů kovů než na klasických sorbentech. Dá se formulovat nějaké obecnější pravidlo, u jakých analytů lze očekávat, že tyto sorbenty budou výhodnější ?

**Otázka 3:** Předností většiny sorbentů na bázi oxidů kovů je jejich stabilita v širokém rozmezí hodnot pH a teplot. Jak dopadá v tomto směru srovnání s nekovovými monolytickými kolonami ? Jaká je cenová relace při zohlednění rozdílů v životnosti kolon na bázi kovů, silikagelu a monolytických kolon ?

2/ Nedílnou součástí validace analytické metody je ověření linearity. Ve vašich pracích uvádíte výsledky lineární regrese analýzy závislosti měřené veličiny (např. plocha píku analytu) na teoretické koncentraci analytu (response function).

**Otázka 4:** Jaká jsou kritéria pro posouzení linearity z hodnot korelačního koeficientu, směrnice a interceptu? Většina recentních doporučení k validaci metod pro hodnocení linearity doporučuje po inspekci vhodnosti zvolené response function také analýzu vztahu změřená koncentrace jako funkce teoretické koncentrace, což má asi své výhody např. pro přímé porovnání výsledku při přenosu metody na jiný systém atd. Prosím o vaše vyjádření k této stránce validace.

#### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je velmi kvalitní. Mgr. Žižkovský prokázal schopnost dobře teoreticky a prakticky zvládnout výzkumný projekt z oblasti farmaceutické analýzy. Mgr. Žižkovský je prvním autorem 2 prací a spoluautorem dalších 2 prací otištěných v zahraničních časopisech s významným impakt faktorem (rozsah IF pro zmíněné časopisy: 2 až 3,5) a s odpovídající náročností recenzního řízení, které je zárukou kvality publikovaných prací.

**Proto doporučuji komisi pro obhajobu, aby přijala hodnocení „prospěl“ a udělila Mgr. Žižkovskému akademický titul Ph.D.**

V Hradci Králové, 20.4. 2008



Doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.  
Ústav farmakologie, Ústav lékařské chemie  
Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové