

Název rigorózní práce **Vývoj a validace HPLC metody pro analýzu pilokarpinových lékopisných očních kapek**

Uchazeč **Mgr. Tereza Bažantová**

Oponent **doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Rigorozantka vypracovala svou experimentální práci na Katedře analytické chemie pod vedením Dr. Matysové. Cílem rigorózní práce byl vývoj a validace HPLC stanovení pilokarpinu a kyseliny pilokarpové v lékopisných očních kapkách obsahujících pilokarpin ve dvou koncentracích. V teoretické části je velmi podrobně uvedeno rozdělení separačních postupů, parametry chromatografické separace, popis HPLC systému a použití této separační metody k různým účelům. Dále je v teoretické části zahrnut popis validačních parametrů včetně jejich detailního popisu provedení a hodnocení. Na tento popis navazují kratší kapitoly týkající se vlastností pilokarpinu a rešerše odborné literatury zahrnující různé chromatografické metody stanovení pilokarpinu.

V experimentální části jsou srovnány dvě stacionární fáze - částicová a monolitická kolona - z pohledu separace jednotlivých látek (pilokarpinu, isopilokarpinu, kyseliny pilokarpové a isopilokarpové) a délky analýzy. Vlastní stanovení bylo dále optimalizováno na monolitické koloně. Byla provedena validace vybraných parametrů, které jsou součástí dvou validačních zpráv - první se týká validace stanovení pilokarpinu jako účinné látky a druhá se zabývá stanovením kyseliny pilokarpové, která je hlavním rozkladným produktem.

Rigorózní práce je napsána v češtině s českým i anglickým abstraktem, je členěna obvyklým způsobem, obsahuje 76 stran, 17 citací literatury, 21 obrázků a 14 tabulek, ve kterých jsou shrnuty výsledky praktických experimentů. Práce je vypracována přehledně a pečlivě, po obsahové i formální stránce splňuje požadavky, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Připomínky:

Teoretická část práce je velmi obsáhlá včetně doslovného překladu popisu validačních parametrů, což sice není na škodu, ale může to způsobit shodu s podobnými typy prací.

Některé zkratky jsou odlišné od běžně používaných - DL (LOD) a QL (LOQ).

str. 18 - v testu způsobilosti systému není uvedena opakovatelnost (ale je správně zahrnuta ve validaci pilokarpinu i kys. pilokarpové).

str. 31 a dále - používáte termín regresivní přímka, ale v experimentální části máte správně uvedenu regresní přímku.

str. 36 - co obsahuje stacionární fáze Aminex (jaký sorbent?) - u ostatních článků v rešerši máte uveden materiál a ne výrobní značku - a dále u této práce chybí poměr složek v mobilní fázi a lineární rozsah. Experimentální část - jaké je pH pufru, který je součástí mobilní fáze? poprvé se hodnota objevuje až v Závěru.

Dotazy:

str. 66 - při hodnocení stability se objevují rozdíly mezi jednotlivými intervaly, které nemají jednotný trend - jak lze změny způsobené např. odpařením rozpouštědla kompenzovat?

str. 72 - u hodnocení selektivity pro kyselinu pilokarpovou máte různá měřítka osy Y u jednotlivých chromatogramů, které měřítko by bylo lepší použít?