

Válasz opponensi bírálatra

Szerző:

Páll Boglárka Zsuzsa

Dolgozat címe:

Gyógyszerhatóanyagok és - szennyezők retenciós tulajdonságainak vizsgálata nagyhatékonyságú ionkromatográfiás rendszerben

Bíráló:

Dr. Nádasi Levente, PhD, Osztályvezető (Teva Gyógyszergyár Zrt.)

Tisztelettel köszönöm Dr. Nádasi Leventének az aprólékos és lelkiismeretes opponensi munkáját. Külön köszönettel tartozom az előbírálat során megfogalmazott kritikus észrevételekért, amelyek nagyban hozzájárultak a kézirat véglegesítéséhez és annak szakmai színvonalának emeléséhez. Kiemelten hálás vagyok a korrektúrázott dokumentumért is, amely jelentős segítséget nyújtott a sajtóhibák és a magyartalan megfogalmazások javításában.

A következőkben az előbírálat során megfogalmazott, a dolgozat témájához szorosan kapcsolódó kérdéseket, valamint az ezekre adott válaszokat ismertetem, amelyek a végleges dolgozatban nem kerültek részletes kifejtésre.

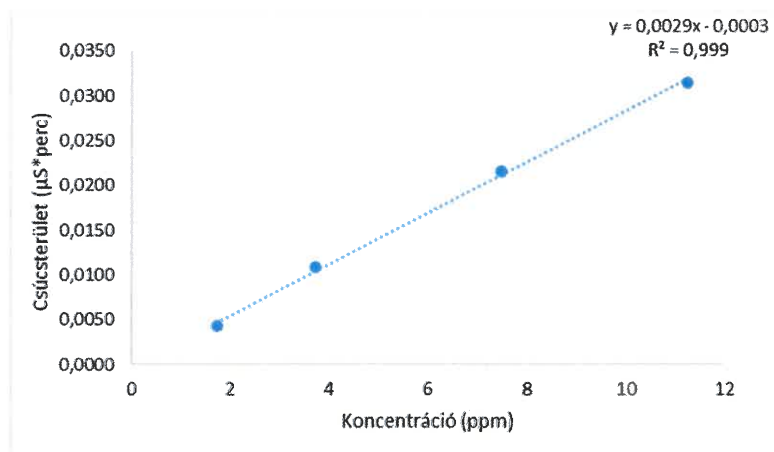
1. A 3.1.1. fejezetben a szerző az ecetsav gázkromatográfiás és ionkromatográfiás meghatározása során nyert validálási eredményeket hasonlítja össze. A gázkromatográfia esetében a standard oldattal meghatározott rendszerprecizitás relatív szórás értéke (10,7%) jóval nagyobb, mint a mátrixterhelt addíciózott mintaoldat injektálása során nyert koncentráció értékek relatív szórása (6,2%), elvileg ez utóbbi esetben egy mintaelőkészítési lépés is növel(het)i a bizonytalanságot. A követelményeket mindkét esetben maximum 20,0%-os szinten határozza meg. Összhangban van-e a limit a nemzetközi szabályozásokkal, ha nem, mivel tudja az eltérést igazolni, illetve mi lehet az oka a rendszerpontosság nagy szórásának?

A gőztéranalízises mintabevitelt alkalmazó gázkromatográfiás mérések esetében a hatóanyagminta kisózó hatása, valamint (savas) pH-ja, víztartalma, esetlegesen javíthatja is a reprodukálhatóságot. Ebben az esetben is ez történhetett. A validálási követelményeket a gyógyszergyár szabványműveleti előírásai alapján adtam meg, elsődlegesen a gázkromatográfiás vizsgálatra. Tudomásom szerint nincsenek külön az

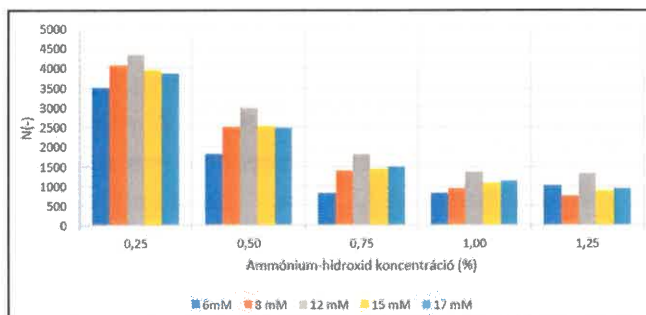
ionkromatográfiára vonatkozó előírások, de az eddig törzskönyvezésre került módszerek mindegyike elfogadásra került ezen limitekkel.

- 2. A szerző az azid-ionok meghatározására kifejlesztett módszer validálásában bemutatja, hogy az limit (QL) szinten alkalmazható. A validálás során az egyes paraméterekre nyert kromatográfiás és statisztikai értékek kiválóan bizonyítják a módszer teljesítő képességét, de nem közöl linearitási és torzítatlansági adatokat. A limit módszer áthordási vizsgálatok estében elfogadott, de termék felszabadításhoz a hatóságok a fenti kiegészítő adatokat is kéri/kérhetik. Voltak-e ilyen irányú mérések, és ha igen, megfelelő volt-e a linearitás?**

Az ICH guideline alapján alkalmazható limit szintű validálás mennyiségi meghatározásra is, de pontos koncentráció értékek természetesen nem adhatóak meg ez alapján. Abban az esetben, ha az adott limitet megfelelően választjuk, vagy több pontot is mérünk (QL, RL) az eredmény megadható, úgy, hogy az adott szint alatt van-e vagy sem. Rutin vizsgálatok esetében megkövetelik a teljes validálást, de kizárásos vizsgálatokhoz (tehát megfelelő számú sarzson bizonyítva, hogy nem található az adott szennyezőből), vagy skip teszt (időszakos vizsgálatok) vizsgálatok esetében alkalmazható ezen meghatározás. A fejlesztés során vizsgáltam a linearitást, ám nem előírás szerint, így nem használtam fel azokat, de az erre kapott eredmények is megfeleltek. (4 pont (1,73 ppm – 11,25 ppm), $r^2=0,999$)

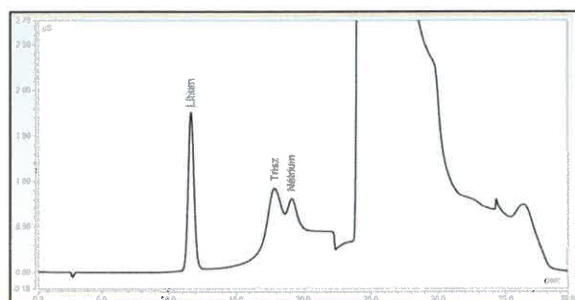
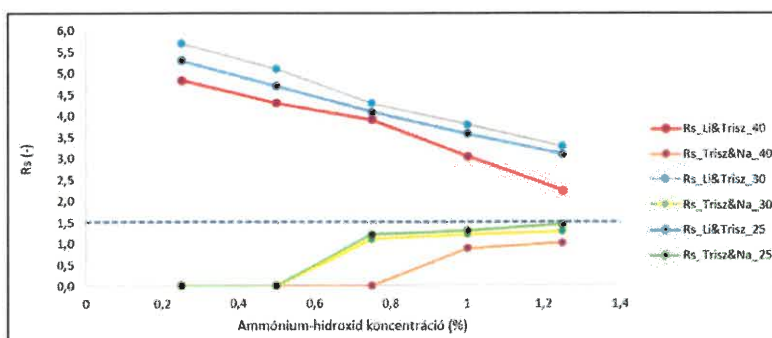


- 3. A 3.3.1. fejezetben a szerző külön kitér a nátriumion csúcs jellemző kromatográfiás paramétereinek a változására is. Vizsgálja a tányérszám és a szimmetria faktor változását az ammónia és az eluens koncentráció függvényében: a szimmetriára nincs hatással egyik paraméter sem, míg a tányérszám jelentősen csökken az ammónia koncentráció emelésével. Ugyanakkor az is elmondható, hogy a tányérszám egy adott ammónia koncentráció mellett az eluens koncentrációjának növelésével optimum görbe szerint változik. Van-e erre valamilyen magyarázat?**



Valóban felfedezhető 12 mM-nál egy optimum görbe. Nagyobb eluens koncentráció estében (közelebb a holtidőhöz) az oszlopon kívüli csúcsszélesítő hatások jelentősek - melyek az ionkromatográfia esetében nagyobb mértéket öltenek, mint RP-HPLC esetében - míg kisebb eluens koncentrációknál a mátrixhatás nagy, így elképzelhető egy ideális pont ahol, messzebb van a holtidőtől és a mátrixhatása kevésbé jelentős, mint kisebb koncentrációknál.

4. A 3.3.2. fejezet 3.20 ábrán a lítiumion és a trisz közötti felbontások láthatók az ammónia koncentráció függvényében különböző hőmérsékleteken. A szöveges értékelés szerint az alacsonyabb hőmérséklet kedvez az elválásnak, de a grafikon ezt nem támasztja alá, hiszen az optimum 30 °C-on van, 25 °C-on az elválás ennél rosszabb. Ha ez nem véletlen adatcsere, van-e erre valamiféle magyarázat?



A kiértékelések során nem alkalmaztam alapvonal korrekciót és a szoftver által generált felbontás értékeket használtam fel így ebben az esetben az alapvonal emelkedéséből ered ez a látszólagos felbontás csökkenés, így ténylegesen nincs jelentős különbség a 25°C-on és a 30 °C-on mért Li-és trisz-kationok közötti felbontások között.

5. A 3.33. ábrán Prasugrel hatóanyag maradék N-bróm szukcinimid meghatározása során nyert tipikus kromatogramok láthatók. A mintaelőkészítésen még nem átesett Prasugrel is tartalmazhat bromidiont (például az n-bróm-szukcinimid szintézisútjából visszamaradva), ami hozzáadódhat a meghatározandó komponens bontásából származó bromid-ionokhoz. Ennek megfelelően - különösen beszállító váltások kiértékelése kapcsán érdemes lehet egy kezeletlen minta injektálása is a rendszerbe.

A módszerfejlesztés során vizsgáltam, hogy tartalmaz-e az adott hatóanyag bromidot, hiszen ezzel a mennyiséggel korrigálni kellene a kapott eredményeket, ám az elvégzett kísérletek (vizes-szerves extrakció) során nem találtam bromidiont. A validált módszerrel minősített tételek egyikében sem találtam mennyiségileg mérhető bromidot így természetesen ez eleve kizárja az esetlegesen visszamaradó bromidiont is. Teljesen jogos a felvetés, miszerint beszállító váltásakor érdemes egy kezeletlen minta injektálása is, ám minden esetben, ha a szintézisút valamilyen pontja változik mely hatással lehet a vizsgált szennyezőre szükség van revalidációra, mely során mélyrehatóbban górcső alá kerül az adott termék (újra).

Végül ismételten köszönöm Dr. Nádasdi Levente opponensi munkáját.

Budapest, 2025.06.05.



Páll Boglárka Zsuzsa