

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Školící pracoviště Katedra analytické chemie

Doktorský studijní program Farmaceutická analýza

**Kandidátka / kandidát** Mgr. Petra Riasová

Školitelka / školitel doc. RNDr. Miroslav Polášek, CSc.  
Prof. dr. Debby Mangelings  
Prof. dr. Yvan Vander Heyden

Konzultantka / konzultant PharmDr. Pavel Jáč, Ph.D.

**Název disertační práce** Příspěvek k vývoji metod pro analýzu farmaceuticky významných látek kapilární elektroforézou a superkritickou fluidní chromatografií

Cieľom predloženej dizertačnej práce je skúmanie nových spôsobov vývoja separačných metód pre analýzu štruktúrne podobných farmaceutických látok. Ako analytické separačné metódy boli použité kapilárna elektroforéza (CE) a superkritická fluidná chromatografia (SFC). Teoretická časť tejto dizertačnej práce popisuje hlavné princípy a aspekty vývoja CE a SFC metód a uvádza hlavné študované analyty. V experimentálnej časti je prezentovaný komentovaný súbor štyroch publikácií zaoberajúcich sa praktickou aplikáciou týchto separačných metód vo farmaceutickej analýze.

Prvá publikácia sa zaoberá vývojom, validáciou a aplikáciou CE metódy na separáciu indometacínu a jeho troch nečistôt. Metóda bola vyvinutá za použitia multivariantnej optimalizácie. Frakčný faktoriálny design bol použitý na screening, a centrálny kompozitný design na optimalizáciu metódy. Úplná separácia indometacínu a jeho troch nečistôt bola dosiahnutá v rámci 10 minút za použitia micelárnej elektrokinetickej chromatografie. V rámci validácie bola hodnotená linearita, presnosť a správnosť metódy a následne bola metóda aplikovaná na analýzu farmaceutických prípravkov.

Druhá práca je zameraná na optimalizáciu, validáciu, a aplikáciu CE metódy pre stanovenie hlavných komponentov silymarínu. Na vývoj tejto metódy bola použitá univariantná optimalizácia. Prvý prístup vo vývoji bol zameraný na optimalizáciu cyklodextrínom modifikovanej micelárnej elektrokinetickej chromatografickej metódy. V dôsledku zlej opakovateľnosti migračných časov, optimalizácia metódy pokračovala použitím elektrokinetickej chromatografie s chirálnym selektorom heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- $\beta$ -cyklodextrínom. Použitím tejto metódy bola dosiahnutá úplná separácia všetkých analytov, vrátane diastereomérov silybínu a isosilybínu. Počas validácie bola overená linearita, presnosť a správnosť elektrokinetickej chromatografickej metódy, a metóda bola aplikovaná na doplnky stravy s obsahom pestreca mariánskeho.

Tretia publikácia opisuje evaluáciu a zlepšenie predpovedaného retenčného správania analytov v systéme spojených kolón v SFC. Chirálny analyty, diastereoméry a štruktúrne izoméry boli testované na vybraných piatich chirálnych a štyroch achirálnych kolónach, zapojených jednotlivo a v sériovo spojenom systéme. V prvom kroku bola vybratá rovnica, ktorá poskytovala najlepšiu koreláciu medzi predikovanými a experimentálnymi retenčnými faktormi. Predpovedaná presnosť bola zlepšená prispôbením rýchlosti toku mobilnej fázy a spätného tlaku.

Stratégia, ktorá viedla k najlepším výsledkom, bola využitá v štvrtej práci na selekciu kolón pre separáciu flavonolignanov silymarínu. Ďalší optimalizovaný parameter metódy bol výber organického modifikátora. V nasledujúcom kroku bol použitý frakčný faktoriálny design za účelom skúmania efektov rôznych koncentrácií organického modifikátora, rýchlostí toku, koncentrácií aditív, spätných tlakov, a teplôt kolóny. Ďalšie optimalizované parametre boli typy rozpúšťadiel vo vzorke a typy aditív v mobilnej fáze. Napriek rozsiahlej optimalizácii, úplná separácia všetkých analytov nebola dosiahnutá.

V predloženej dizertačnej práci sú demonštrované rôzne metódy a postupy separácie štruktúrne podobných látok. Multivariantná a univariantná optimalizácia boli úspešne použité pre vývoj CE

metód, ktorých použitie viedlo k úplnej separácii analytov. Aj napriek použitiu multivariantnej optimalizácie, separácia flavonolignanov silymarínu nebola dosiahnutá v SFC systéme ani za použitia spojených kolón.