

**Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) je v oblasti analýzy léčiv jednou z nejčastěji užívaných analytických technik.** Metody HPLC jsou běžně využívány ve všech oblastech moderní farmaceutické analýzy - ve výzkumu a vývoji nových léčiv a léčivých přípravků, v oblasti kontroly a jištění jakosti léčiv, v oblastech zahrnujících analýzu léčiv a metabolitů v biologickém materiálu (např. terapeutické monitorování léčiv, studie bioekvivalence). Teoretická část disertační práce se zabývá hlavními aspekty a specifiky HPLC analýzy léčiv. Experimentální část práce je zpracována jako soubor komentovaných prací rozdělaných do dvou tematických celků (Analýza potenciálních léčiv ze skupiny aroylhydrazonových chelátorů železa, Hodnocení stability vybraných léčiv).

**První tematický celek** se zabýval vývojem, validací a následnou aplikací chromatografických metod (především HPLC) v analýze potenciálních léčiv ze skupiny aroylhydrazonových chelátorů železa – pyridoxal isonikotinoyl hydrazonu (PIH) a jeho dalších dvou analogů, salicylaldehyd isonikotinoyl hydrazonu (SIH) a pyridoxal 2-chlorbenzoyl hydrazonu (o-108).

**Aroylhydrazonové chelátory železa (PIH, SIH, o-108)** jsou v dnešní době jako potenciální léčiva předmětem poměrně **intenzivního výzkumu**. Ačkoliv mají tyto látky zajímavé farmakologické účinky, nebyly dosud dostatečně definovány analyticky. Absence vhodných analytických metod dosud neumožňovala přesně definovat čistotu, stabilitu ani základní farmakokinetické parametry těchto potenciálních léčiv. V této disertační práci byly nejprve **vyvinuty a validovány chromatografické metody umožňující hodnocení čistoty a stability těchto chelátorů**. Za použití vyvinutých metod pak byly poměrně detailně studovány **vybrané aspekty stability** ve vodě rozpustné soli „mateřské“ látky - **PIH·2HCl** - (stabilita ve vodných prostředích o různém pH a farmaceutických pomocných látkách, fotostabilita a termální stabilita). Tyto experimenty ukázaly, že PIH je ve vodných roztocích poměrně citlivý k hydrolytickému štěpení hydrazonové vazby, avšak v pevném stavu je tato látka poměrně stabilní (studie fotostability a termální stability). Výsledky těchto experimentů přináší praktické informace, které mohou být v budoucnu využity při volbě způsobu skladování, výběru vhodného aplikačního média nebo pomocných látek.

Další část tohoto tematického celku byla věnována **vývoji a validaci HPLC metodik vhodných pro stanovení SIH a o-108 v králičí plasmě**. Pro izolaci SIH z plasmy se jako optimální jevila metoda precipitace vzorku acetonitrem (s malým přídavkem kyseliny).

V případě o-108 byla použita extrakce na pevných fázích za použití C8 extrakčních kolonek. HPLC analýzy probíhaly na kolonách s reverzní fází C18 za použití dvou mobilních fází o různém složení. Vyvinuté metody byly následně použity pro **stanovení plasmatického profilu a základních farmakokinetických parametrů** dosažených po i.v. aplikaci těchto chelátorů laboratorním zvířatům. I když byl u těchto látek pozorován poměrně rychlý pokles plasmatických koncentrací, čemuž odpovídá i relativně krátký biologický poločas, výsledky této studie mohou mít významný vliv na průběh dalšího výzkumu zaměřeného na aroylhydrazonové chelátory železa jako potenciální léčiva.

**Druhý tematický celek** byl zaměřen na **vývoj** a následné **využití HPLC** metod ke **studiu vybraných aspektů stability** dvou léčiv za podmínek stresových zkoušek. Studium stability léčiv je jedním ze specifických odvětví farmaceutické analýzy. Cílem zátěžových testů je definovat vnitřní stabilitu molekuly léčiva, zjistit cesty degradace a získat informace o rozkladných produktech potřebné pro vývoj a validaci stabilitu hodnotících analytických metod. Prvním léčivem jehož stabilita byla testována bylo moderní antidiabetikum - **glimepirid**. Stabilita glimepiridu byla hodnocena **v různých vodných roztocích** (0,1 M HCl; 0,1 M NaOH, ve vodě a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) za podmínek stresových zkoušek. Stabilita tohoto léčiva byly vyjádřena jako úbytek koncentrace ve vzorcích v čase. Bylo zjištěno že rychlost rozkladu glimepiridu klesá v pořadí roztok peroxidu vodíku > kyselé prostředí > alkalické prostředí > voda. V zatížených vzorcích bylo detekováno **5 různých rozkladných produktů**.

V další části disertační práce byla sledována citlivost nesteroidního protizánětlivého léčiva - **nimesulidu** k rozkladu vlivem UV záření. **Chromatografické metody** (HPLC a TLC) umožňující separaci nimesulidu a dvou potenciálních rozkladných produktů (2-fenoxy-4-nitroanilinu a kyseliny methansulfonové) **byly vyvinuty** a následně **použity ke studiu fotostability** tohoto léčiva. Výsledky těchto experimentů ukazují, že nimesulid je poměrně odolný vůči působení UV záření. Testovaný vzorek musel být vystaven působení tohoto záření poměrně dlouhou dobu, aby bylo možné detekovat uvedené rozkladné produkty

Tento tematický celek přináší nové chromatografické metody vhodné pro monitorování stability glimepiridu a nimesulidu. Dále pak přináší informace o vlastní stabilitě těchto chemických léčiv, které mohou být dále využity v procesech jistění kvality léčivých látek a léčivých přípravků nebo při vývoji nových lékových forem obsahujících uvedené léčiva.