

Abstrakt

Předložená práce přináší rozšíření aplikací sekvenční injekční analýzy v oblasti farmaceutické analýzy. Zabývá se možnostmi chromatografie pro úpravu vzorku před vlastním stanovením analytu. Soustředí se na zapojení monolitických kolon v systému SIA umožňujících provádět simultánní stanovení několika látek a analyzovat tak vzorky s matricí nebo jednoduchých směsí (farmaceutické přípravky). Nově vytvořená metoda je nazývána sekvenční injekční chromatografie (SIC) a představuje další generaci průtokových metod.

Zapojením krátké monolitické kolony vyznačující se nízkým zpětným tlakem do SIC systému vyústilo v zavedení separačního prvku do dosud neseparační průtokové metody. Komerčně vyráběné monolitické kolony s reverzní fází se jeví jako vhodné pro stanovení léčiv ve směsných léčivých přípravcích. SIC umožňuje velmi rychlé stanovení směsných vzorků bez nebo jen s minimální předchozí off-line úpravou. Analýza vzorků s komplikovanější matricí (krémy, masti) byla provedena po provedení extrakce rozpouštědlem ze vzorku. Bylo také studováno využití různých délek monolitických kolon.

První experimentální práce (příloha I) byla první prací na SIC systému jejíž cílem byla bezproblémová implementace monolitické kolony a následné otestování na léčivém přípravku (mast). Byly optimalizovány jednotlivé součásti systému k práci za vyšších pracovních tlaků a k použití organických rozpouštědel a vybraných vzorků. Před vlastní analýzou musela být provedena úprava vzorku extrakcí do methanolu. Pro urychlení celé analýzy byl proveden skokový gradient zvyšování rychlosti průtoku mobilní fáze. Srovnání naměřených výsledků ukázalo, že SIC je dobrou alternativou HPLC pro stanovení jednoduchých směsí s několika výhodami i nevýhodami.

Druhá experimentální práce (příloha II) byla zaměřena na vyvinutí jednoduché a rychlé metody pro stanovení dvou látek (nafazolin nitrátu a methylparabenu) v léčivém přípravku Sanorin[®] 0,5% oční a nosní kapky. Využity byly zkušenosti z předchozích prací na SIC přístroji a vývoj byl zaměřen především na předúpravu vzorku, složení a pH mobilní fáze, nalezení optimálního vnitřního standardu (ethylparaben) a co největší rychlost celé analýzy. Citlivost stanovení byla zvýšena použitím dvou vlnových délek pro měření v absorpčním maximu stanovovaných látek. Vzorek kapek nebylo třeba před analýzou upravovat (kromě zředění mobilní fáze) což přispělo ke krátkému celkovému času analýzy. Na závěr byly výsledky ověřeny srovnávacím měřením na HPLC za shodných chromatografických podmínek.

V třetí experimentální práci (příloha III) byla vyvinuta metoda pro simultánní stanovení betametasonu a chloramfenikolu v suspenzních očních kapkách Betabioptal. Vývoj metody se kromě optimalizace vlastního stanovení také zaměřil na předúpravu vzorku léčivého přípravku před vlastní analýzou. Protože šlo o suspenzi nebyl možný přímý nástřik. Výsledky validace byly porovnány s výsledky metody vyvinuté na HPLC přístroji a shledány použitelnými pro rutinní analýzu všech aktivních složek léčivého přípravku.

Cílem čtvrté experimentální práce (příloha IV) bylo vyvinout SIC metodu poprvé s využitím monolitické kolony ONYX™ Monolithic C18 pro stanovení kyseliny salicylové a triamcinolon acetonidu v topickém léčivém přípravku. Příprava vzorku byla velmi jednoduchá, protože pomocné látky neruší detekci. K analýze stačilo pouze zředění vzorku mobilní fází, aby odezvy obou látek na UV detektoru byly v pracovním rozmezí detektoru (kys. salicylové je v roztoku 10x více než triamcinolon acetonidu). Bylo provedeno i komparativní měření na HPLC přístroji s DAD detektorem (za shodných chromatografických podmínek).

Rešeršní práce (příloha V) byla zaměřena na přehled všech SIC metod vyvinutých na Katedře analytické chemie od jejího vzniku, její srovnání s klasickou HPLC. Kriticky byly zhodnoceny výhody a nevýhody SIC. Poslední trendy v separaci v nízkotlakých průtokových systémech rozvíjené na zahraničních pracovištích ukazují na úspěšný rozvoj tohoto směru.