

SHRNUTÍ

V první části této disertační práce byla nejprve zpracována rešerše na téma využití SIA ve farmaceutické analýze a její nové trendy jako jsou Lab on Valve, mikroSIA či Bead Injection.

V experimentální části se tato práce soustředila na specifickou oblast farmaceutické analýzy, a sice na dlouhodobé sledování určitého farmaceuticky významného parametru. Bylo navázáno na práce prováděné na katedře analytické chemie, kdy byly monitorovány disoluční studie pevných lékových forem za pomoci automatizovaného odběru vzorků, provedena jejich detekce a z určených koncentrací byl zjištěn disoluční profil daného přípravku v čase. V této disertační práci byla možnost automatizace využita při dalším z postupů farmaceutické technologie, a sice při stanovování profilů uvolňování léčivé látky z polotuhých topických přípravků. Do systému byly začleňovány různé typy Franzových difúzních cel (dvouplášťové, jednoplášťové), různý počet difúzních cel (1-3), byly studovány rozdílné detekční techniky (fluorescence, absorpce v UV oblasti). Také byla studována rozdílná akceptorová média, různé membrány, porovnávány přípravky s odlišným složením vehikula. Bylo testováno spojení SIC systému s monolitickou kolonou a Franzovou difúzní celou tak, aby bylo možno sledovat uvolňování dvou látek během jedné analýzy současně.

První práce (příloha II) se zabývala získáním časových profilů uvolňování kyseliny salicylové z mastí. Byly studovány různé membrány – jejich lag-time a vliv na difúzi aktivní látky. V systému s nejvhodnější membránou a fosforečnanovým pufrem jako akceptorovým médiem byly získány profily uvolňování kyseliny salicylové u tří komerčně dostupných přípravků (Belosalic, Diprosalic a Triamcinolon S). K detekci bylo použito vlastní fluorescence kyseliny salicylové. Bylo využito výhod, které systém poskytuje a sice programovatelného ovládání a možnosti jednoduchého zpracovávání výsledků. Po cílené optimalizaci SIA systému software zajišťoval plně automatizovaný odběr vzorku, doplnění objemu akceptorového média, analýzu vzorku. Po skončení sledování procesu uvolňování aktivní látky systém pomocí připravených standardních roztoků proměřil a vygeneroval kalibrační křivku, podle které pak vypočítal koncentrace jednotlivých vzorků v daných časových intervalech. V této práci byla použita jedna dvouplášťová Franzova cela.

V další práci (Příloha IV) byl vytvořen systém se třemi difúzními celami tak, aby bylo možno sledovat současně uvolňování aktivní látky ze tří vzorků během jedné analýzy. Pro optimalizaci a testování systému bylo užito opět kyseliny salicylové a mast Belosalic. Cely v tomto systému byly jednoplášťové a byly umístěny do speciálně vytvořené termostátované lázně. Ta byla umístěna nad vícemístnou magnetickou míchačku a zajišťovala ukotvení až 9 cel. Pro odebrání vzorků z jednotlivých cel sloužil selekční ventil jako autosampler. Do systému byl začleněn druhý selekční ventil, pomocí něhož byl vyřešen nedostatek vstupů pro umístění roztoků standardů kalibrační křivky.

Jedním z přínosů tohoto systému je možnost získání více profilů uvolňování aktivní látky během kratší doby a tedy zrychlení analýzy. Další výhodou je, že pro testy provedené zároveň v jednom cyklu jsou zachovány stejné podmínky. Tímto se omezuje vliv vnějších faktorů a jejich negativní působení. Systém umožňuje zapojení i více než tří difúzních cel. Limitujícími faktory SIA systému jsou počet poloh selekčního ventilu a počet kanálků přídavné peristaltické pumpy.

Zapojení monolitické kolony s nízkým zpětným tlakem a její využití pro separaci a stanovení jednotlivých složek vícekomponentního přípravku EMLA bylo popsáno v další práci (Příloha III). Možnosti separace byly studovány na monolitické koloně Chromolith Flash RP-18, 25mm x 4.6mm (Merck, Germany) u lokálních anestetik lidokainu a prilokain. Detekce byla provedena spektrofotometricky v UV oblasti. Bylo optimalizováno složení mobilní fáze a nalezen vhodný vnitřní standard. Navržený separační systém byl charakterizován pomocí parametrů běžně užívaných pro popis metod HPLC. Hodnoty obsahu účinných látek v EMLA přípravku stanovená SIC systémem byla ověřena HPLC analýzou. Dále byla studována možnost sledování procesu postupného uvolňování dvou látek současně, tj. spojení toho SIC systému s Franzovou celou. Do systému byla začleněna Franzova cela obdobným způsobem jako v předešlé práci a monitorování procesu uvolňování aktivních látek z polotuhého přípravku byl zcela automatizován. Byl optimalizován řídicí program a vyhodnocování dat. Bylo vybráno vhodné akceptorové médium a vhodná membrána. Pro získání závislosti uvolněných látek na čase byla použita modelová mast se stejným procentuálním zastoupením lokálních anestetik jako hromadně vyráběný přípravek. Bylo naměřeno šest opakování tohoto testu a byly získány profily uvolňování lidokainu a prilokainu.

V další části byl SIA systém využit pro monitorování koncentrací propranololu v systému, který zahrnoval jak disoluci propranololu z tablet, tak jeho následnou permeaci přes Caco-2 buňky. Tyto dvě *in vitro* metody (disoluce a permeace) měly za cíl simulovat osud tablety v lidském těle *in vivo*. K detekci bylo využito vlastní fluorescence propranololu, která byla dostatečná i v prostředí Krebsova-Ringerova pufru. Odebírání vzorků a měření koncentrací probíhalo ve třech místech systému – po průchodu pufru disolučním průtokovým systémem do kterého byla umístěna tableta s určitým obsahem propranololu; na apikální části vrstvy buněk (tj. koncentrace látky, která byla v kontaktu s buňkami, která je o něco málo nižší než koncentrace disoluční v důsledku mírného naředění v průtokovém systému) a na bazololaterální straně buněk tj. množství látky proniknuté přes buňky (simulace průchodu střevní stěnou). Takový systém je pak vhodný pro komplexní studování možnosti ovlivnění jak disoluce tak permeace aktivní látky. Data naměřená SIA systémem byla úspěšně porovnána s dříve naměřenými daty získanými pomocí manuálního odběru a HPLC analýzy.

SIA systém pomohl při automatizaci měření koncentrace a tedy k snadnějšímu, levnějšímu a rychlejšímu přístupu k datům. Nebyly spotřebovávány vialky, organické složky mobilní fáze a nebylo nutné čekat na výsledky HPLC analýzy. Díky on-line analýze byla nesprávná data a chyba v systému odhalena rychleji a experiment případně předčasně ukončen. Při odběru z míst D a A střídavě co minutu a z místa B co 5 minut, je automatizovaný odběr značným usnadněním analýzy.