

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Mgr. Kateřina Plachká

Školitel: prof. Pharm.Dr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název dizertační práce: Vývoj nových metod ultra-vysokoúčinné superkritické fluidní chromatografie pro farmaceutické aplikace

V předložené dizertační práci je prezentován komentovaný soubor sedmi publikací a tří kapitol v odborných knihách, které jsou zaměřené na využití metod superkritické fluidní chromatografie (SFC) ve farmaceutické analýze.

První část je zaměřená na farmaceutickou kontrolu kvality s důrazem na kontrolu nečistot. Publikace se zabývají jak hledáním generického přístupu k vývoji SFC metod pro monitorování nečistot, tak následující optimalizací a validací těchto metod. Screeningové podmínky byly porovnány na základě vyvinutého matematického modelu. Na základě výsledků byla jako startovní bod pro vývoj SFC metod navržena generická kombinace diolové stacionární fáze a 0,1 % hydroxidu amonného v methanolu jako modifikátoru nadkritického CO₂.

Během následujících optimalizací bylo popsáno několik typických problémů vývoje SFC metod a bylo navrženo jejich řešení. Jako velmi přínosný se prokázal přídavek acetonitrilu do modifikátoru mobilní fáze, spojování kolon a náhrada SFC-dedikované kolony za LC kolonu s toutéž C18 stacionární fází. V dalším kroku byly všechny vyvinuté metody validovány na základě mezinárodních směrnic ICH. Mimo tradiční přístup zahrnující potvrzení linearitu, mezí detekce a stanovitelnosti, rozsahu, selektivity, správnosti a přesnosti na požadovaných koncentračních hladinách byl na vybrané metody aplikován také přístup vyhodnocení celkové chyby měření.

Jelikož pro použitelnost SFC metod v praxi musí být prokázána také jejich mezilaboratorní přenositelnost, byla s metodou SFC pro stanovení nečistot účinné látky salbutamolu provedena také studie opakovatelnosti zahrnující 19 pracovišť z 9 zemí. Statistickým zpracováním získaných výsledků byla potvrzena spolehlivost dané SFC metody,

kdy hodnoty reprodukovatelnosti byly stejné nebo dokonce lepší než ty u metody kapalinové chromatografie (LC).

Během dlouhodobě měřeného SFC projektu zaměřeného na kontrolu nečistot byly pozorovány změny retenčních časů analytů, což může způsobit, že vyvíjené metody nelze aplikovat v přísně regulovaném prostředí farmaceutické kontroly. Tento problém byl adresován v další z publikací, kdy byla sledována změna retenčních časů 70 analytů v průběhu 1 roku na sadě 8 kolon. Tyto posuny byly porovnány na jednotlivých kolonách a byly popsány praktické důsledky těchto změn.

Pro stanovení nečistot v tabletách agomelatinu byla vyvinuta jak SFC, tak LC metoda. Obě metody byly plně validovány a následně porovnány ve vybraných parametrech. Obdobný přístup byl zvolen také při vývoji chromatografických metod pro stanovení vitamínu E v potravinových doplňcích. Jelikož se vitamín E v přírodě vyskytuje v 8 formách a přípravky mohou obsahovat jak rostlinný extrakt, tak syntetický tokoferol acetát, vyvinuté metody musely být schopné separovat těchto 9 strukturně podobných látek. Přestože vyvinutá LC metoda je nejkratší prozatím publikovanou LC metodou pro stanovení tokoferolů a tokotrienolů, SFC metoda byla stále více než 2x rychlejší. Po validaci byla tato SFC metoda použita pro hodnocení kvality 8 potravinových doplňků.

Druhou část dizertační práce tvoří kapitoly publikované v odborných knihách a přehledový článek, které shrnují teoretické poznatky o SFC technice a praktické poznatky o využití v mnoha aplikačních oblastech, jako je farmaceutická analýza, bioanalýza a další.

Obdržené výsledky prokázaly vysoký potenciál rychlých SFC metod pro využití i v přísně regulovaném prostředí farmaceutické analýzy.