

## **ABSTRAKT**

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra analytické chemie

Kandidát: Mgr. Tereza Bažantová

Školitel: PharmDr. Ludmila Matysová Ph.D.

Název rigorózní práce: Vývoj a validace HPLC metody pro analýzu pilokarpinových lékopisných očních kapek.

Byla vyvinuta a částečně validována metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) pro stanovení pilokarpin-hydrochloridu v lékopisných očních kapkách o koncentraci 1 a 2% účinné látky.

V odborné literatuře bylo popsáno množství HPLC metod, stanovujících pilokarpin-hydrochlorid v očních kapkách. Metody využívají různé stacionární i mobilní fáze a rozdíly jsou také v době trvání samostatné analýzy.

V této práci je popsán vývoj metody, vycházející z práce autorů El-Deeb S, Schepers U a Wätzig H.: *Evaluation of monolithic C18 HPLC columns for the fast analysis of pilocarpine hydrochloride in the presence of its degradation products* publikované v roce 2006 v časopisu Pharmazie [17]. Byla použita monolitická kolona Chromolith High Resolution RP 18 endcapped 100 x 4,6 mm, Merck, Německo, způsob provedení chromatografie obráceného systému fází. Použitá mobilní fáze byla složena z pufru o pH 3 a methanolu v poměru 98:2 (V/V), rychlost průtoku 1 ml/min. Výsledky byly vyhodnoceny použitím UV-VIS detektoru při vlnové délce 220 nm. Pro kvantitativní stanovení byla zvolena metoda vnitřního standardu. Jako vnitřní standard byl použit fenylefrin hydrochlorid.

Metoda umožňuje stanovení pilokarpin-hydrochloridu i kyseliny pilokarpové. Sledované látky byly vylučovány v pořadí: isopilokarpin, pilokarpin, kyselina pilokarpová a kyselina isopilokarpová. Celková doba trvání analýzy je méně než 10 minut.

Byly provedeny tyto validační parametry metody: přesnost, správnost, linearita, selektivita, stabilita roztoku pilokarpin-hydrochloridu po dobu 72 hodin při teplotě  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  a  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  a přístupu či nepřístupu světla a test způsobilosti systému.

Metoda je selektivní, dává přesné a správné výsledky a lineární odpověď ve stanoveném rozsahu 12,5 – 75,0 mg/100 ml pilokarpin-hydrochloridu.

Z příbuzných látek byla blíže studována pouze kyselina pilokarpová, jejíž nárůst v očních kapkách se vlivem hydrolýzy především předpokládá. Z důvodu neexistence standardu kyseliny pilokarpové, bylo možné pro tuto sloučeninu provést pouze test způsobilosti chromatografického systému a z validačních parametrů test selektivity.