

Abstrakt

Tato práce se zabývá vývojem a optimalizací metody pro stanovení canagliflozinu pomocí HPLC s UV a MS detekcí. Vyvinutá metoda byla následně použita pro studium nucené degradace této sloučeniny a zkoumání hlavních degradačních produktů vzniklých vystavením canagliflozinu oxidativnímu stresu. Canagliflozin je derivát fenolického glykosidu a inhibitor glukoso-sodného transportéru 2, který stimuluje močovou exkreci glukózy potlačením reabsorpce glukózy z proximálního tubulu v ledvinách. Canagliflozin se používá k řízení hladiny glukózy v krvi u pacientů s diabetem mellitu typu 2. V optimalizované metodě byla použita kolona Agilent Poroshell 120 SB-Aq ($2,1 \times 100$ mm, $2,7 \mu\text{m}$) a jako mobilní fáze byla použita směs pufru (10mM HCOOH upravená hydroxidem amonným na pH 3,5) a acetonitrilu. Součástí validace metody bylo testování přesnosti, opakovatelnosti, meze detekce a kvantifikace, linearity a lineárního dynamického rozsahu, robustnosti metody a testování stability vzorku. Mez detekce metody byla $8,9 \cdot 10^{-5} \text{ mg ml}^{-1}$ ($2,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$) a mez kvantifikace byla $3,0 \cdot 10^{-4} \text{ mg ml}^{-1}$ ($6,8 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$). Pro koncentraci $0,3 \text{ mg ml}^{-1}$ byla opakovatelnost ($n = 7$) retenčního času, vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka, $0,17 \%$ a plochy píku $0,75 \%$. Pro koncentraci $5 \cdot 10^{-3} \text{ mg ml}^{-1}$ byla opakovatelnost retenčního času $0,18 \%$ a plochy píku $1,58 \%$. Koeficient linearity kalibrační závislosti odpovídal hodnotě $0,9517$, koeficient determinace byl $0,9997$ a lineární dynamický rozsah metody byl $3,0 \cdot 10^{-4} - 0,5 \text{ mg ml}^{-1}$. Vyvinutá metoda byla použita ke studiu nucené degradace canagliflozinu. V rámci studie byla účinná látka podrobena chemické oxidaci (vystavením $3\% \text{ H}_2\text{O}_2$) při $50 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 1 - 3 dnů a zároveň byla testována rychlost degradace při laboratorní teplotě po dobu 4 - 7 dní. Na základě výsledků bylo zjištěno, že na rychlost degradace má vliv obsah vody a methanolu v rozpouštědle vzorku a dále kyselost prostředí. Vzniklé degradační produkty byly dále zkoumány pomocí MS. Vlivem oxidativního stresu došlo k navázání dvou atomů kyslíku na molekulu canagliflozinu. V přítomnosti kyseliny chlorovodíkové byla molekula canagliflozinu obohacena o atom chloru a došlo tak ke vzniku nežádoucího nereálného oxidačního produktu. Proto pro testování vlivu kyselého prostředí na rychlost chemické oxidace byla vhodnější H_2SO_4 . Degradace za laboratorní teploty probíhala výrazně pomaleji než při $50 \text{ }^\circ\text{C}$ a vznikaly při ní stejné degradační produkty jako při experimentech za zvýšené teploty. Stejně jako během testování při zvýšené teplotě, vyšší

množství degradačních produktů vznikalo v prostředí s vyšším obsahem vody, a naopak nižší množství degradačních produktů se nacházelo v prostředí s methanolem jako organickým modifikátorem.