

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát Mgr. Michal Schöngut

Konzultant doc. PharmDr. Petra Štěrbová, Ph.D.

Název rigorózní práce Analytické hodnocení derivátů salicylaldehyd isonikotinoyl hydrazonu

Následuje stručný souhrn záměrů práce, použitých metod, dosažených výsledků a učiněných závěrů

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) patří mezi nejmodernější a nejpoužívanější analytické separační metody současnosti. Její předností je, že umožňuje kvalitativní a kvantitativní stanovení látek i ve složitě biologické matrici.

Biokompatibilní chelátory železa jsou v terapii používány především pro léčbu přetížení organismu železem. Nicméně díky svým antioxidačním a antiproliferativním účinkům by mohly nalézt uplatnění i v oblasti léčby jiných chorob, například v terapii Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby nebo u nádorových onemocnění.

Velmi nadějným byl biokompatibilní chelátor železa salicylaldehyd isonikotinoyl hydrazon (SIH) ze skupiny aroylhadrazonů, s nízkou toxicitou a signifikantním antioxidačním a cytoprotektivním účinkem. Jeho využití však ztěžuje krátký poločas rozkladu v plazmě. Proto byly od jeho struktury odvozeny deriváty, u kterých se předpokládá vyšší stabilita. Zkoumanými látkami byly: chlor-acetofenon isonikotinoyl hydrazon (CAF-INH) a hydroxymethyl-acetofenon isonikotinoyl hydrazon (HMAF-INH).

Cílem této práce bylo vyvinutí optimálních chromatografických podmínek HPLC analýzy těchto chelátorů a metody úpravy vzorku pro stanovení v biologickém materiálu.

Analýza byla prováděna na koloně Merck 250x4 mm I. D. s náplní LiChrospher® 100, RP-18e (5 µm) s předkolonou Purospher® 100, RP-18e (5 µm).

Pro hodnocení chelátoru CAF-INH v plazmě byla jako mobilní fáze vybrána směs fosfátového pufru, methanolu a acetonitrilu, v objemovém poměru 40:30:30 (v/v/v). UV detektor byl nastaven na vlnové délky 251 a 285 nm. Pro chelátor HMAF-INH byla jako mobilní fáze zvolena směs fosfátové pufru, methanolu a acetonitrilu v objemovém poměru 50:25:25 (v/v/v). UV detektor byl nastaven na vlnové délky 275 nm a 328 nm. Průtok v obou případech činil 1 ml/min. Retenční čas činil 3,4 min pro (Z) a 7,0 min pro (E) izomery CAF-INH a 7,2 min pro HMAF-INH.

Pro úpravu vzorku byla vybrána precipitační deproteinace acetonitrem (0,4 ml k 0,2 ml plazmy), byla dosažena extrakční výtěžnost 80 % pro CAF-INH, 93 % pro HMAF-INH.

Linearita metody stanovení obou analytů byla ověřena v rozmezí koncentrací 10-100 µmol/l. Preciznost a přesnost metody byly ověřeny pro stanovení obou látek v plazmě a oba validační parametry vyhovovaly akceptačním kritériím pro oba analyty <sup>[12]</sup>.

Byla provedena studie stability v plazmě trvající 10 hodin. Na jejím konci zbylo 40 % CAF-INH a 47 % HMAF-INH. Oba chelátory se tak ukázaly jako výrazně stabilnější než mateřská látka SIH. Zvýšená stabilita může být způsobena zvýšením elektronové hustoty na karbonylovém uhlíku a sterickým bráněním hydrazonové vazby