

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutickej chémie a farmaceutickej analýzy

Kandidát: Adam Reguli

Konzultant: PharmDr. Hana Bavlovič Piskáčková, Ph.D.

Vedúci diplomovej práce: doc. PharmDr. Petra Štěrbová, Ph.D.

Názov diplomovej práce: Vývoj UHPLC-MS/MS metódy na stanovenie vybraných liečiv v biologickom materiáli

Dexrazoxan je liečivo využívané na potlačenie kardiotoxicity spôsobenej antracyklínovými chemoterapeutikami. ICRF-193 bol syntetizovaný ako nový, efektívnejší analóg dexrazoxanu. Bolo zistené, že inhibícia topoizomerázy II, ktorá je potrebná pre kardioprotektívny účinok, je sprostredkovaná *R,S* diastereoizomérom (ICRF-193), zatiaľ čo racemická zmes *R,R* a *S,S* enantiomérov je takmer bez účinku. Napriek tomu, naše *in vitro* experimenty s racemickou zmesou vykazovali určitý kardioprotektívny efekt. Cieľom tejto práce bolo 1) overiť možnú rolu kontaminácie štandardu racemickej zmesi určitým množstvom ICRF-193 a 2) vyvinúť extrakcie na pevnú fázu (SPE) pre ICRF-193 a jeho metabolit (ICRF-193_{met}) z plazmy. Na separáciu ICRF-193 a racemátu bol použitý UHPLC systém spojený s hmotnostným spektrometrom typu trojitý kvadrupól s ionizáciou elektrosprejom v pozitívnom móde, Bonus-RP kolóna (100 × 3,0 mm; 1,8 μm) a kyselina mravčia s metanolom ako mobilná fáza. Analýza ICRF-193 a ICRF-193_{met} prebiehala na kolóne Luna Omega Polar (100 × 2,1 mm; 1,6 μm) s predkolónou. Mobilná fáza bola tvorená mravčanom amónnym a acetonitrilom. Boli testované štyri typy SPE kolóniek (Discovery DSC-PH 100 mg/1 ml, Discovery DSC 18 100 mg/1 ml, Supel Select HLB 30 mg/1 ml a Hypersep Verify AX 130 mg/1 ml), rôzne premývacie (H₂O, 5% MeOH, HCOOH) a elučné činidlá (ACN, MeOH, ACN + 10% HCOOH). V racemickej zmesi bolo zistené menej ako 0,035 % ICRF-193. Nakoľko ICRF-193 je vysokoúčinná látka, kardioprotektívne účinky racemátu môžeme čiastočne pripísať práve tejto kontaminácii. SPE extrakcie boli optimalizované a najvyššia výťažnosť oboch analytov (ICRF-193 a ICRF-193_{met}) z plazmy bola dosiahnutá na kolónkach Hypersep Verify AX. Elúcia analytov ale vyžadovala silno okyslený acetonitril (10% HCOOH), ktorý viedol k supresii signálu MS detekcie. Senzitivitu súčasnej metódy sa tak podarilo zvýšiť iba 10násobne. Pri zameraní iba na aktívnu látku ICRF-193 bola

efektívnejšia SPE extrakcia s využitím HLB sorbentu (25násobne nižšie LLOQ bez zahrnutia kroku zakoncentrovania).