

ABSTRAKT

Artemisin a jeho deriváty, především artesunat, jsou nejdůležitější skupinou léků používaných v klinické praxi v léčbě malárie. Významná a charakteristická je pro ně endoperoxidická skupina. WHO doporučuje tyto látky v kombinaci s jinými déle působícími antimalariky (lumefantrinem, piperaquinem) jako léky volby.

Jelikož ve struktuře těchto látek chybí UV nebo fluorescentně detekovatelné chromofory, dřívější metody pro stanovení těchto látek využívaly post-column on line derivatizaci nebo elektrochemickou detekci v redukujícím módu. Tyto metody ovšem vykazovaly malou selektivitu a sensitivitu.

V rámci této práce byl proveden kompletní vývoj LC-MS metody pro stanovení artesunatu a jeho hlavního metabolitu dihydroartemisinu v biologických vzorcích. Vývoj zahrnoval tyto části: ladění ESI – triple quadrupole hmotového spektrometru a optimalizaci chromatografických podmínek, především pak pH a složení mobilní fáze.

Artesunat (ARST) a dihydroartemisin (DHA) byly stanovovány v lidské plasmě za použití artemisinu jako vnitřního standardu. Různé úpravy vzorků plasmy, a to liquid-liquid extrakce a protein precipitace, byly optimalizovány a porovnány. Na základě prevalidačních údajů byl zjištěn spodní limit kvantifikace při úpravě liquid-liquid extrakcí 2,5 a 3,0 ng/ml pro DHA a ARST za použití 400 µl plasmy. Při úpravě vzorků protein precipitací dosahuje spodní limit kvantifikace 8,0 ng/ml pro ARST i DHA za použití 300 µl plasmy.

Další studie v této práci byla zaměřena na vliv železa hemu a volného železa jako zdroje odpovědného za degradaci těchto látek v průběhu jejich stanovení v biologickém materiálu. Možná řešení, kterými lze předejít degradaci těchto látek v průběhu jejich analýzy, jsou v této práci navržena. Studie tohoto typu je nepostradatelná, má-li být vyřešen problém při stanovení těchto látek ve vzorcích krve/plasmy od pacientů infikovaných malárií, v jejichž krvi jsou produkty hemolýzy přítomny ve velkém množství. Důležitost této studie spočívá především pak v uplatnění poznatků pro LC-MS stanovení artemisinových derivátů v (homogenizovaném) potkaním embryu, které obsahuje velké množství hemoglobinu a také myoglobinu.

V rámci studie případných rizik spojených s podáváním těchto látek v těhotenství, především pak v prvním trimestru, je jejich stanovení v potkaním embryu nepostradatelné. („The safety of usage Artemisinins during pregnancy“ je projektem EU, koordinováno Prof. S. A. Ward; Liverpool School of Tropical Medicine).