

# ABSTRAKT

## Vývoj LC/MS/MS metody pro stanovení hladin ambrisentanu, midazolamu a jeho metabolitu v lidské plazmě

Diplomová práce

Michal Klivický

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Heyrovského 1203, Hradec Králové.

Ambrisentan (ABT) je nová účinná látka pro léčbu pulmonální arteriální hypertenze, která je metabolizována cytochromem CYP3A4. Farmakokinetický profil midazolamu (MDL) a jeho hlavního metabolitu 1-hydroxymidazolamu (OH-MDL) se používá jako marker aktivity CYPu 3A4. Simultánní stanovení ambrisentanu, midazolamu a 1-hydroxymidazolamu je výhodné pro studium vlivu indukce či inhibice CYPu 3A4 na farmakokinetiku ambrisentanu. HPLC/MS/MS metoda pro jejich analýzu v lidské plazmě byla vyvinuta a validována. Po extrakci na pevné fázi na SPE koloně Strata-X (Phenomenex) byly analyty separovány na analytické koloně Synergi MAX-RP (150×4.6 mm, 4µm) (Phenomenex) s použitím izokratické eluce a acetonitrilu/5mM ammoniumacetátu 41:59 (v/v) jako mobilní fáze. Pro detekci byla využita tandemová hmotnostní spektrometrie na trojitém kvadrupólu. Ambrisentan-d<sub>3</sub>, midazolam-d<sub>5</sub> a <sup>13</sup>C<sub>3</sub>-1-hydroxymidazolam byly použity jako vnitřní standardy. Kalibrační křivky byly lineární mezi 2,03 a 150 ng/ml pro MDL ( $r^2 = 0,9993$ ) a OH-MDL ( $r^2 = 0,9987$ ) a mezi 5,40 a 400 ng/ml pro ABT ( $r^2 = 0,9974$ ). Variabilita přesnosti a opakovatelnosti všech analytů byla nižší než 15 %. Limit kvantifikace byl 2,02 ng/ml pro MDL a OH-MDL a 5,40 ng/ml pro ABT při použití 0,1 ml plasmy. Výtěžnost všech analytů byla přes 80 %. Metoda byla aplikována na studii farmakokinetiky midazolamu po orální dávce 4 mg a intravenózní dávce 2 mg.

KLÍČOVÁ SLOVA: ambrisentan, midazolam, 1-hydroxymidazolam, HPLC/MS/MS, SPE