

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Mgr. Jan Bureš

Školitel: doc. PharmDr. Petra Štěrbová, Ph.D.

Název práce: Analytické a bioanalytické hodnocení nových potenciálních léčiv ze skupiny chelátorů železa

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) díky svým kvalitám získala důležitou pozici v analýze léčiv v biologickém materiálu. Umožňuje za vhodně zvolených podmínek separovat téměř jakoukoliv směs látek, provádět kvalitativní i kvantitativní analýzu, a to obvykle ve velmi krátkém čase. Díky moderním stacionárním fázím a detekčním technikám lze detekovat i látky ve stopovém množství a v rámci jedné analýzy je možné kromě koncentrace získat i informace o struktuře analytů. Spolehlivost používaných HPLC metod je garantována jejich validací na základě přijatých norem.

Chelatace železa se jeví jako efektivní přístup v léčbě celé řady patologických stavů od přetížení organismu železem, přes rakovinu až po neurodegenerativní choroby. Pro vývoj chelátorů pro tyto indikace je však klíčové nejprve jasně charakterizovat jejich vlastnosti (vztah struktura-aktivita, metabolismus, toxicita atd.), k čemuž je mimo jiné zapotřebí i spolehlivých analytických metod.

V rámci této disertační práce byly vyvinuty a validovány LC-UV a LC-MS metody pro analýzu aroylhydrazonových chelátorů železa a jejich vybraných proléčiv v relevantním biologickém materiálu. Během práce byl studován vztah struktura-aktivita v této skupině látek. Jako nejvýhodnější se na základě sledovaných parametrů (především stabilita a selektivita účinku látek) ukázala substituce vodíku v blízkosti hydrazonové vazby alkylem. LC-UV metoda byla v této fázi využita především při hodnocení vlivu jednotlivých strukturních modifikací na stabilitu látek v plasmě.

Dále byla pozornost zaměřena na hodnocení potenciálních proléčiv, která by umožnila zacílení účinku vlastních aktivních látek a omezení systémové toxicity. Pro studium aktivace a stability vybraných prochelátorů byly použity LC-UV/MS metody. Bylo zjištěno, že prochelátor BSIH vykazuje vyšší stabilitu v porovnání se SIH *in vitro* a má také delší

biologický poločas *in vivo*. Dále byla prokázána jeho relativně nízká toxicita a dobrá cytoprotektivní účinnost proti peroxidu vodíku. Při aktivaci se BSIH rozkládá na aktivní SIH, ale ve větším množství také na salicylaldehyd, který však přispívá k celkovému protektivnímu účinku.

Druhým studovaným prochelátorem byl BHAPI, odvozený od aroylhydrazonu s vylepšenou stabilitou (oproti předlohovému SIH) – HAPI. S využitím LC-UV bylo zjištěno, že je proléčivo aktivováno katecholaminy na HAPI v ekvimolárním množství. Jak HAPI, tak BHAPI (po aktivaci) snižovaly cytotoxický účinek katecholaminů a jejich oxidačních produktů. Z výsledků těchto studií vyplývá, že koncept prochelátorů je velice slibný směr v budoucím vývoji aroylhydrazonových léčiv.

S využitím LC-MS byl systematicky hodnocen metabolismus a farmakokinetika kardioprotektivního léčiva dexrazoxanu (DEX) a jeho metabolitu ADR-925. Byly analyzovány biologické vzorky odebrané jak z *in vitro*, tak *in vivo* experimentů. Získaná data byla zpracována v populační studii a farmakokinetické parametry přibližně odpovídají hodnotám z klinických studií. Práce zpochybňuje dosud uznávaný mechanismus účinku DEX, zprostředkovaný chelatujícím metabolitem, který má snižovat produkci kyslíkových radikálů (ROS). Získaná data naopak podporují nejnovější teorii mechanismu kardioprotekce DEX – depleci topoizomerázy 2 β (TOP2B) parentní látkou.

Poslední část práce byla zaměřena na nový analog DEX – JR-311, který byl připraven záměnou methylové skupiny ve spojovacím řetězci za oxo- skupinu. Pro detailní studium jeho stability, metabolismu a průniku do srdečních buněk byla vyvinuta nová LC-MS metoda. Bylo zjištěno, že JR-311 je *in vitro* rychle degradován, což poukázalo na nutnost změny designu experimentů. JR-311 vykázal jednak schopnost deplece TOP2B, ale také kardioprotektivní účinek vůči toxickému působení daunorubicinu (DAU). Výsledky studie prokázaly, že uvedená strukturní modifikace nevede ke ztrátě účinku, avšak pro další vývoj těchto látek je nutné zlepšit stabilitu nových analogů. Kromě toho práce naznačuje významnou roli TOP2 v kardioprotekci bisdioxopiperazinů.