

ABSTRAKT

V současné době patří vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) stále mezi dominantní separační metody, je široce využívána ve všech oblastech analýzy léčiv. HPLC umožňuje kvalitativní i kvantitativní hodnocení separovaných složek směsi.

V této práci je popsán vývoj metody pro HPLC analýzu daunorubicinu (DAU) a jeho metabolitu daunorubicinolu (DAU-OL) v králičí plazmě. Analyzované látky byly nejprve odděleny od interferujících substancí v plazmě deproteinací. Z testovaných deproteinačních činidel byl vybrán methanol (600 μ l), jehož extrakční výtěžnost byla nejvyšší.

Separace DAU a jeho metabolitu byla dosažena na koloně Zorbax SB-Aq (3,5 μ m, 150 x 4,6 mm; Agilent Technologies, USA), mobilní fáze byla tvořena vodnou složkou, která obsahovala čištěnou vodu s fosfátovým pufrům, okyselená kyselinou fosforečnou (výsledné pH = 2,4), a organickou složkou tvořenou acetonitrilem v poměru 74:26 (v/v). Analýza proběhla za podmínek izokratické eluce během 15 minut, průtok mobilní fáze byl 1,1 ml/min a nástřik 40 μ l vzorku. Fluorescenční detektor měl nastavenou emisní a excitační vlnovou délku na 480 nm a 560 nm. Jako vnitřní standard byl použit doxorubicin.

Metoda byla pilotně validována s ohledem na linearitu (4 – 83 ng/ml pro DAU, 25 – 500 ng/ml pro DAU-OL), přesnost a správnost. Byla stanovena stabilita za laboratorních podmínek v průběhu 0,5 hodiny a po zamrazení vzorku během 24 hodin. Ukázalo se, že při dlouhodobém skladování je potřeba mít omezenou stabilitu.

Limitujícím faktorem používání antracyklinového cytostatika DAU je kardiotoxické působení. V klinické praxi je dostupné jediné léčivo dexrazoxan, které je schopné myokard chránit. Výsledky této práce mohou být uplatněny při vývoji nových kardioprotektivních látek během testování jejich účinnosti.