

Abstrakt

Bisdioxopiperaziny byly syntetizovány pro léčbu nádorů s významným antiproliferativním působením, ale mají nízkou biologickou dostupnost po perorálním podání. Proto byl vyvinut sobuzoxan. Byl připraven jako proléčivo bisdioxopiperazinu ICRF-154 pro zvýšení jeho biodostupnosti a usnadnění perorálního podání při léčbě lymfomů a leukémie. Předpokládá se, že je v těle metabolizován na aktivní metabolit ICRF-154, které by mohl být následně přeměněn na otevřený analog EDTA-diamid. Během preklinických výzkumů bisdioxopiperazinů bylo objeveno, že snižují nežádoucí účinky (kardiotoxicitu) antacyklinů. Největší kardioprotektivní potenciál má dexrazoxan, který je už 20 let používán v klinické praxi jako kardioprotektivum. Přesný mechanismus účinku antiproliferativního a kardioprotektivního působení, ale stále není objasněn. Proto bylo cílem této práce vyvinout UHPLC-MS/MS metodu umožňující současnou analýzu sobuzoxanu a jeho předpokládaných metabolitů, která by pomohla při studiu bioaktivace sobuzoxanu v srdečních buňkách, v buněčném médiu a plazmě.

Pro analýzu sobuzoxanu, ICRF-154 a EDTAm z plazmy a buněčného média byla vytvořena UHPLC-MS/MS metoda s gradientovou elucí. Pro separaci analytů byla použita chromatografická kolona Zorbax Sb-Aq (100 mm, 1,8 μ m, Agilent) a jako mobilní fáze byl použit methanol a 1 mM mravenčan amonný. Analyty byly po ionizaci elektrosprejem detekovány pomocí trojitého kvadrupólu, na kterém byly nastaveny nejintenzivnější SRM přechody. Linearita metody byla ověřena pomocí pracovních roztoků v různém koncentračním rozmezí pro každý analyt. Následně byla také linearita testována v plazmě a buněčném médiu v jednotných koncentracích 2,5 až 150 μ M pro sobuzoxan, ICRF-154 i EDTAm. Analýzy byly komplikovány různou polaritou analytů a špatnou rozpustností ICRF-154. ICRF-154 bylo rozpustné pouze v kyselině mravenčí, která snižovala ionizaci EDTAm. Následně byla testována stabilita sobuzoxanu v buněčném médiu, kde bylo zjištěno, že koncentrace sobuzoxanu klesala velmi rychle. Pro extrakci analytů z plazmy byla použita precipitace proteinů methanolem. Buněčné médium nebylo žádným způsobem upravováno, jen bylo naředěno 90% methanolem.

Vyvinutá metoda bude dále optimalizována pro použití při analýze srdečních buněk a plazmy a bude plně validována. Následně bude využita pro analýzu vzorků z pilotní studie bioaktivace sobuzoxanu.

