

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Mgr. Petra Reimerová

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

Název: Analýza léčiv a potenciálních léčiv v biologickém materiálu s využitím kapalinové chromatografie

Bioanalytické metody hrají významnou roli již při vývoji nových léčiv. Stanovení koncentrace sledovaného léčiva v biologických matricích může totiž pomoci odhalit jeho mechanismus účinku, určit hodnoty základních farmakokinetických parametrů nebo studovat osud potenciálního léčiva během *in vitro* experimentů. Vzhledem ke komplexnosti biologických vzorků a nízkým koncentracím studovaných látek je velmi důležitá úprava vzorku před samotnou analýzou. V moderní bioanalýze mají významné zastoupení miniaturizované formy úpravy vzorku odvozené od klasických extrakčních technik, které umožní snížit spotřebu biologického vzorku i laboratorního materiálu na minimum a usnadňují případnou automatizaci procesu.

Jednou z výrazných oblastí ve vývoji nových léčiv je v současnosti léčba onkologických onemocnění. Vývoj vysoce účinných protinádorových léčiv a prodloužení délky přežití pacientů s sebou bohužel přinesly riziko vzniku pozdních komplikací spojených s protinádorovou léčbou, včetně závažných nežádoucích účinků jako je například poškození srdce po podání antracyklinů vedoucí v některých případech až k srdečnímu selhání.

Experimentální část této práce se skládá ze dvou celků zaměřených na bioanalytické hodnocení 1) vybraných protinádorových látek a 2) potenciálních kardioprotektiv.

V první části je popsáno použití mikroextrakce na pevnou fázi (SPME) jako alternativní metody pro stanovení vaznosti na plazmatické proteiny u thiosemikarbazonu DpC. Vhodnost optimalizovaného postupu byla ověřena zhodnocením opakovatelnosti, linearity a výtěžnosti extrakce z PBS pufru nebo plazmy. Výsledky *in vitro* stanovení ukázaly, že DpC se výraznou měrou váže na proteiny v plazmě, což koresponduje s hodnotami dříve publikovanými pro další thiosemikarbazon Dp44mT.

Další část je zaměřena na vývoj rychlé UHPLC-MS metody pro stanovení antracyklinu daunorubicinu (DAU) a jeho metabolitu v různých biologických matricích, umožňující studium osudu DAU při inkubaci s donorem NO - molsidominem, respektive jeho aktivní formou SIN-1 *in vitro*. Při experimentech bylo pozorováno, že SIN-1 ve vyšších koncentracích urychluje rozklad DAU, což s největší pravděpodobností stojí za neočekávaně nízkou cytotoxicitou DAU při inkubacích se srdečními i nádorovými buňkami.

Cílem třetí práce bylo vyvinout první UHPLC-MS metodu vhodnou pro současné stanovení proléčiva sobuzoxanu, jeho aktivní formy (ICRF-154) a metabolitu (EDTA-diamid) v biologickém materiálu. Na základě následné analýzy vzorků z *in vitro* hodnocení aktivace a metabolismu sobuzoxanu bylo vyvozeno několik důležitých závěrů. 1) V buněčném medium dochází k jeho pozvolnému rozkladu; 2) rychle proniká do srdečních buněk, kde je aktivně metabolizován na ICRF-154 a EDTA-diamid a 3) v plazmě je rychle rozkládán.

Dále bylo vyvinuto několik jednoduchých chromatografických metod s UV detekcí pro porovnání stability řady nově syntetizovaných aroylhydrazonových derivátů. Překvapivě se ukázalo, že substituce salicylaldehydové skupiny skupinou 2,6-dihydroxybenzaldehydovou nezvyšuje významně stabilitu hydrazonové vazby. Nejstabilnější derivát (látka 5) byl následně podroben zkouškám pro zjištění schopnosti chelatace a ochrany srdečních buněk před oxidativním působením nejrůznějších látek.