

## Abstrakt

**Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra Farmaceutické Chemie a Farmaceutické Analýzy**

**Kandidát:** Mgr. Hana Bavlovič Piskáčková

**Konzultant:** doc. PharmDr. Radim Kučera Ph.D.

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

**Název:** Využití LC-MS v bioanalýze antracyklinů a potenciálních kardioprotektiv

Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS) představuje téměř ideální analytický nástroj pro bioanalýzu léčiv. Toto spojení umožňuje identifikaci a kvantifikaci léčiv s vysokou selektivitou a citlivostí a současně poskytuje informaci o struktuře testovaných látek. Nedílnou součástí bioanalytické metody je také úprava biologického vzorku před analýzou, jejíž cílem je izolace analytů, odstranění balastních látek z matrice a ideálně zakoncentrování vzorku. V současné době je při úpravě vzorku kladen důraz nejen na efektivnost, rychlost, jednoduchost a opakovatelnost metody, ale současnými trendy jsou zejména automatizace procesu, vysoká propustnost vzorků laboratoří a nízká spotřeba organických rozpouštědel, tedy dodržení principů zelené chemie.

Dexrazoxan (DEX) je jediným schváleným léčivem indikovaným pro prevenci chronické kumulativní kardiotoxicity způsobené antracykliny (ANT) – hojně užívanými protinádorovými chemoterapeutiky. Vývoj nových a účinnějších kardioprotektiv je do značné míry limitován nejasnostmi ohledně (1) principu patofyziologického mechanismu rozvoje chronické ANT kardiotoxicity, (2) mechanismu kardioprotektivního účinku DEX a (3) vztahu mezi strukturou a kardioprotektivním účinkem bisdioxopiperazinů.

Teoretická část této disertační práce se věnuje využití LC-MS instrumentace v bioanalýze léčiv, základním metodám úpravy vzorku před chromatografickou analýzou a také současným moderní trendům miniaturizace těchto základních metod a jejich uplatnění v bioanalýze. Dále jsou diskutovány validační směrnice pro bioanalýzu a na závěr jsou představeny analyzované látky. Experimentální část je pojata jako soubor

čtyř publikovaných prací doplněných komentářem. Tato část je rozdělena na dva tematické celky zabývající se: (1) bioanalytickým hodnocením nových potenciálních kardioprotektiv a (2) vývojem a optimalizací mikroextrakčních metod pro izolaci ANT z králičí plasmy.

První část experimentální práce je věnována bioanalýze nových analogů DEX a jejich proléčiv a studiu jejich kardioprotektivního potenciálu vůči ANT-indukované toxicitě. Pro hodnocení stability, bioaktivace, metabolismu a farmakokinetiky nových analogů DEX a jejich případných proléčiv byly vyvinuty a validovány nové LC-MS metody. S přispěním těchto metod jsme (1) odhalili velmi blízký vztah mezi strukturou a kardioprotektivním účinkem, (2) charakterizovali vybrané analogy DEX z hlediska stability, metabolismu a bioaktivace a (3) objevili nového slibného kandidáta pro další komplexní studium protektivního účinku na modelu chronické ANT kardiotoxicity *in vivo*.

V druhé části experimentální práce jsme se zaměřili na stanovení ANT v králičí plasmě s využitím mikroextrakčních technik na principu extrakce z kapalin do kapaliny (LPME). Byla testována LPME v 96-jamkovém uspořádání a také elektromembránová extrakce (EME). Optimalizovaná EME byla následně porovnána s konvenčními extrakčními metodami, a to proteinovou precipitací a extrakcí z kapaliny do kapaliny. EME předčila zmíněné metody ve všech testovaných parametrech, kterými byla výtěžnost, matricové efekty a přečištění vzorků od fosfolipidů. V rámci této práce jsme vyvinuli alternativní mikroextrakční metodu pro izolaci ANT z plasmy, která je rychlá, efektivní, spolehlivá a splňuje principy zelené chemie.