

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Autor: Šárka Salvová

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Nela Váňová, Ph.D.

Název diplomové práce: Využití LC-MS/MS v *in vitro* transportních experimentech

Gilteritinib, léčivo ze skupiny antineoplastik, se využívá k cílené protinádorové terapii. Řadí se k inhibitorům tyrosinkinázových receptorů. Jeho struktura je založena na pyrazinkarboxamidovém skeletu. Doposud byl chromatograficky stanovován v biologickém materiálu pouze z plazmy. V této diplomové práci byl gilteritinib stanovován z buněčného média Opti-MEM za účelem využití pro *in vitro* transportní experimenty a následně byla optimalizovaná a validovaná metoda LC-MS/MS. V průběhu vývoje a optimalizace LC-MS/MS metody byla u hmotnostního spektrometru Thermo Finnigan LCQ Advantage Max Ion Trap s narůstajícím počtem nástřiků pozorována zvyšující se suprese signálu pro gilteritinib i jeho vnitřní standard (maravirok), která dosahovala až 75 % po pouhých 30 nástřicích. Také byla viditelná kontaminace vstupu na iontransferovou kapiláru, ke které je iontový zdroj (elektrosprej) umístěn diagonálně. Dále bylo testováno, zdali jiná konstrukce iontového zdroje (ortogonální poloha elektrospreje) problém nevyřeší. Po transferu metody na chromatografický systém Shimadzu LCMS 8030 (trojitý kvadrupól) nebyla ani po 100 nástřicích zaznamenána žádná významná suprese signálu analytů, ani kontaminace. Výsledná chromatografická separace probíhala na koloně Hypersil Gold C18 (100 × 4,6 mm, 3 μm) při 40 °C v isokratickém módu, kde vodnou složku mobilní fáze tvořila 0,1% kyselina mravenčí ve vodě a organickou metanol při průtoku (1:1, v/v) 0,350 ml/min. Pro analýzu byly použity následující přechody: analýza probíhala v režimu SRM s následujícími iontovými přechody: GIL [M+H]⁺ m/z = 553 (CE -27, -34) → m/z 436, 353 a IS [M+H]⁺ m/z = 514 (CE -20) → m/z 389.

V případě validace metody, při které byly kladeny požadavky na selektivitu, linearitu, přesnost a preciznost, matricový efekt a stabilitu, bylo dosaženo hodnot, které splňují podmínky

směrnice Evropské lékové agentury (EMA). Metoda jako taková je připravena pro aplikaci na reálné vzorky.