



Российский университет
дружбы народов



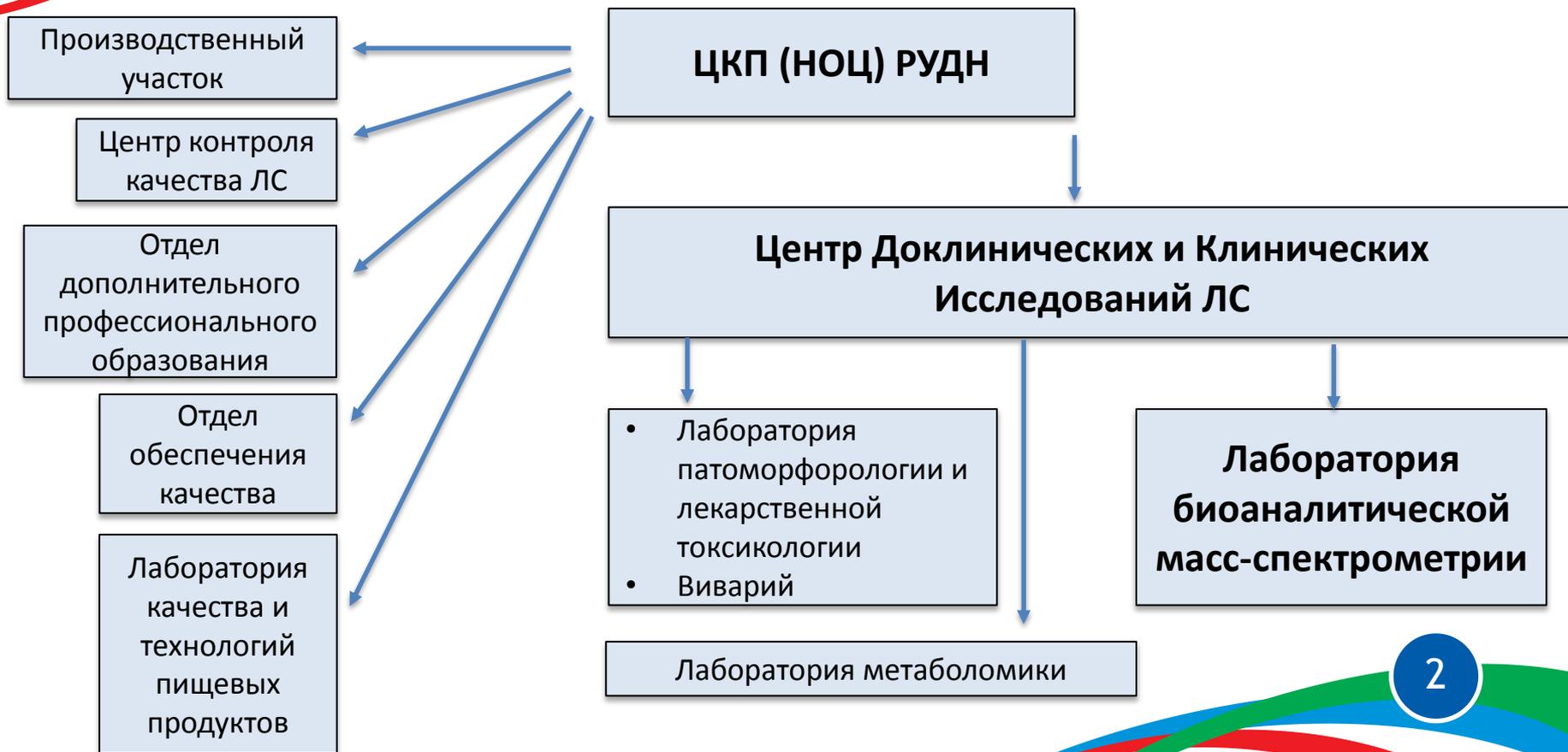
РОССИЙСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ДРУЖБЫ
НАРОДОВ



Степанова Елена Сергеевна
Зав. лабораторией биоаналитической масс-спектрометрии

Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств

Структура ЦКП (НОЦ) РУДН

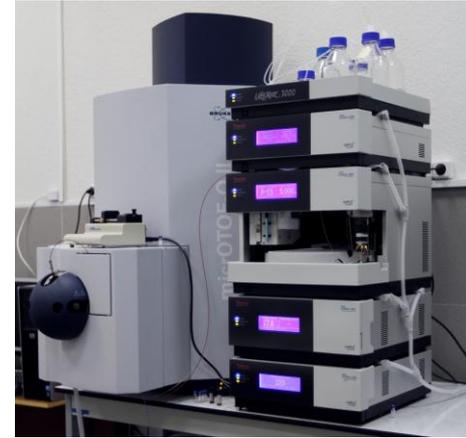




Приборный парк

ВЭЖХ-МС:

- ВЭЖХ Dionex - micrOTOF-QII Bruker (Германия);
- Agilent 1290 Infinity - Agilent 6430 (США);
- LCMS-8040 Shimadzu (Япония);
- ГХ Agilent 6890N - JMS GCmate II JEOL (Япония).



Специфическое вспомогательное оборудование:

- Вакуумный испаритель-концентратор Eppendorf;
- Вакуумная установка для ТФЭ – манифолд;
- Установка для выпаривания в токе инертного газа (азот);
- Гомогенизатор Ultra Turrax Tube Drive Control, IKA;
- Морозильные камеры -40°C и -80°C.



Специфика хромато-масс-спектрометрии в биоаналитике

Положительные стороны	Подводные камни
❖ Простота пробоподготовки	В случае анализа органов, тканей, фекалий пробоподготовка все равно включает несколько этапов
❖ Требуется небольшой объем исследуемого биоматериала	Малые количества аналита концентрируют из больших объемов биоматрицы
❖ Высокая селективность	Только для приборов высокого разрешения или при реализации МС/МС
❖ Высокая чувствительность	Зависит от природы вещества и матричных эффектов
❖ Экспрессность	Зачастую лимитирующая стадия - пробоподготовка

Одновременное определение периндоприла и периндоприлата

Задача: методика одновременного определения периндоприла и периндоприлата в плазме крови с пределами количественного определения 0,4 и 1,5 нг/мл соответственно.

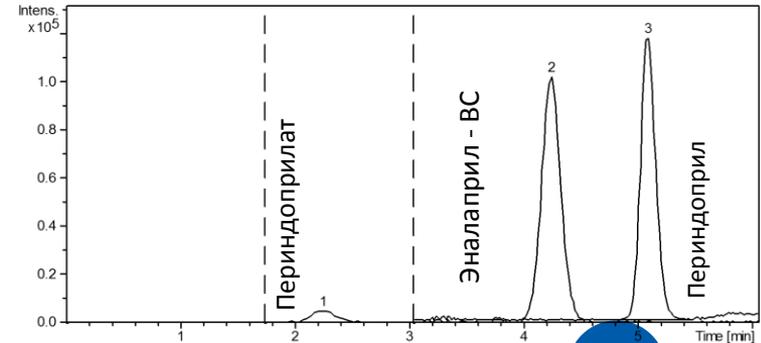
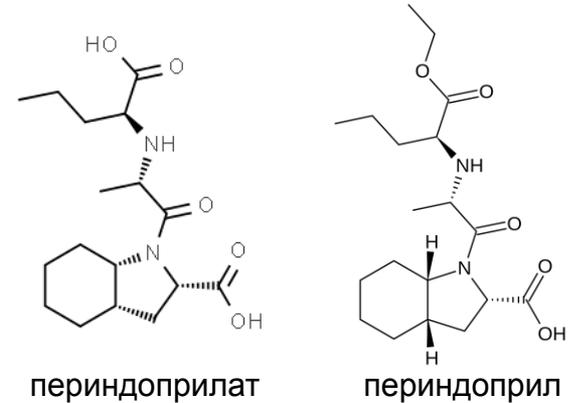
Проблема: Необходима пробоподготовка с экстрагированием аналитов и их концентрированием.

$$\log P_{oct/wat} = \log \left(\frac{[solute]_{octanol}}{[solute]_{water}} \right)$$

LogP*	2,6 (эксп.)	Периндоприл
	-0,85 (расч.)	Периндоприлат

* - Данные Drugbank

Решение: пробоподготовка при помощи ТФЭ



Хромато-масс-спектрометрия Гидроксикарбамида

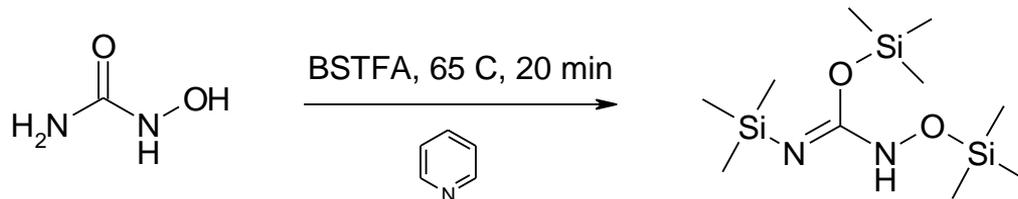
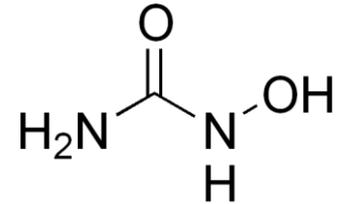
Задача: создать методику хромато-масс-спектрометрии.

Проблема: Молекула не удерживается на хроматографических колонках и выходит в нулевом объеме.

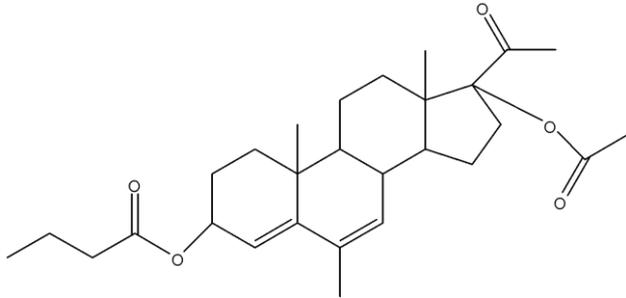
Литературные данные:

- Разделение на ВЭЖХ - колонке HILIC (*Hai X et al. J Pharm Biomed Anal. 2017 Apr 15;137:213-219*)
- Дериватизация молекулы (ксантгидрол) и дальнейшее ВЭЖХ-разделение (*Legrand T et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2017 Oct 1;1064:85-91*)
- Дериватизация молекулы и дальнейший ГХ-МС анализ (*Legrand T et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2017 Oct 1;1064:85-91*)

Решение: Дериватизация молекулы с получением триметилсилильных производных и дальнейший ГХ-МС анализ.



Изучение фармакокинетики и метаболизма Гестобутаноила



Гестобутаноил (ГБ)

$C_{28}H_{40}O_5$

$M=456,29$

17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метилпрегна-4,6-диен-20-он

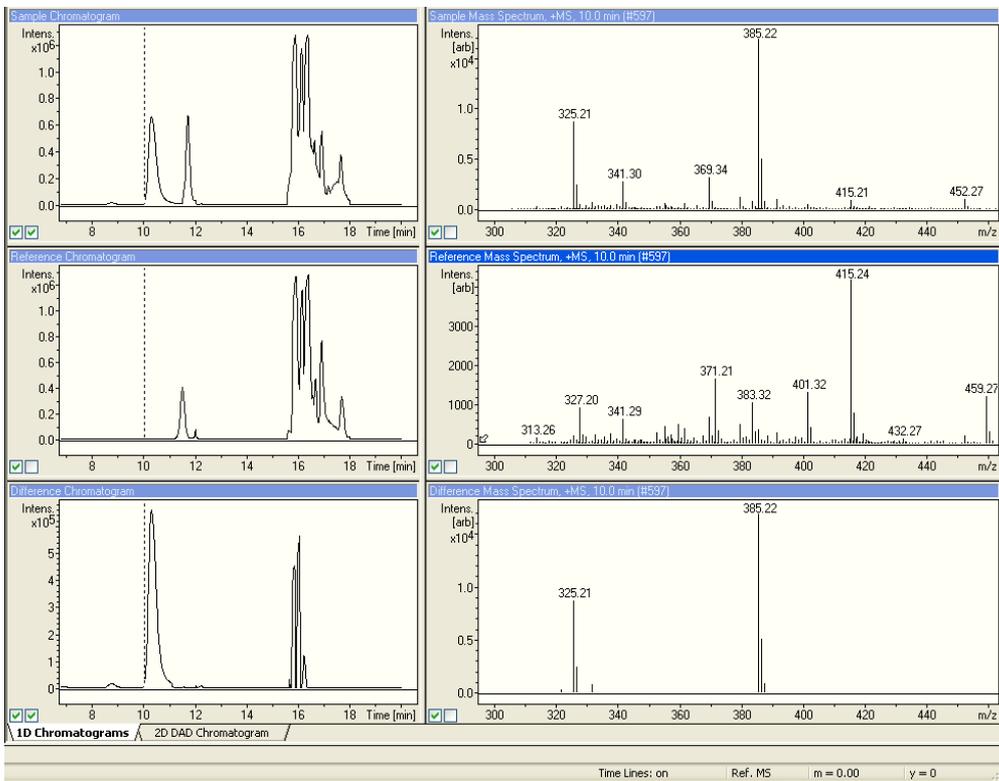
Молекула Гестобутаноила создана в Центре по Химии ЛС (ЦХЛС- ВНИХФИ).

Лекарственное средство - таблетки Гестобутаноила 2 мг - разработка ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Шаги по изучению биодоступности:

- Создана ВЭЖХ-МС методика
- Пилотные исследования – определение дозы, достаточной для ВЭЖХ-МС методики

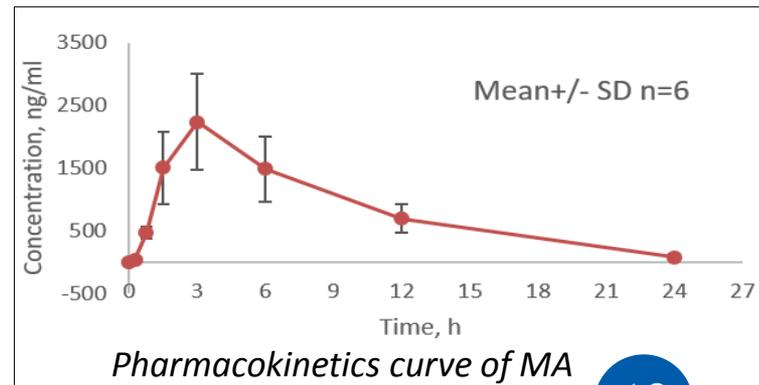
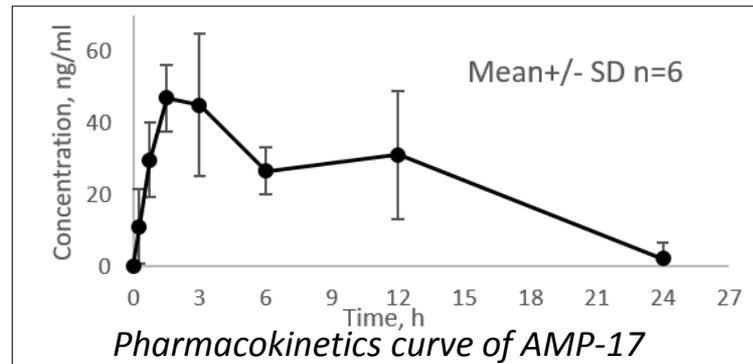
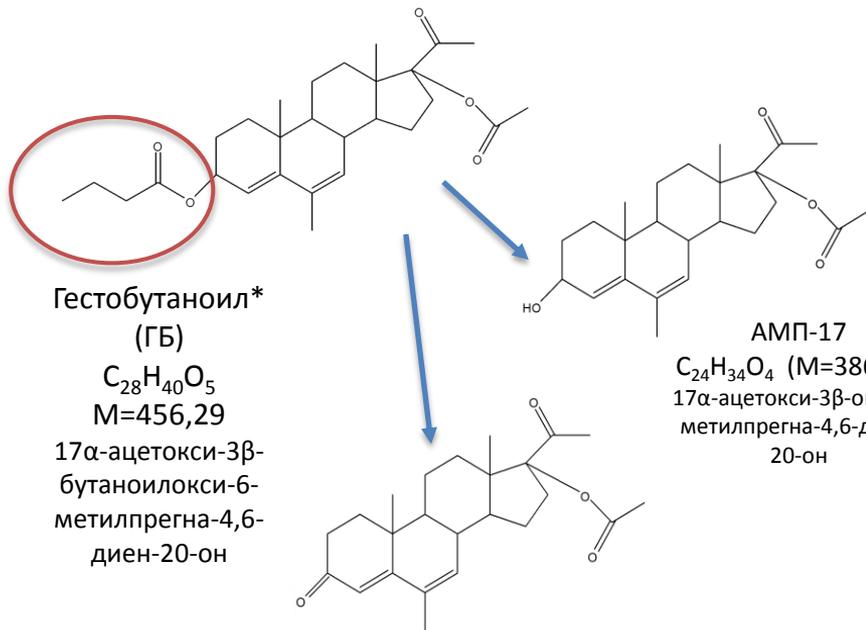
Изучение фармакокинетики и метаболизма Гестобутаноила



- Увеличение дозы введения в пилотных исследованиях;
- Градиентный режим элюирования;
- Регистрация полного ионного тока на масс-спектрометре высокого разрешения;
- Анализ результатов при помощи Metabolite tools.



Изучение метаболизма Гестобутаноила





Заключение

- Хромато-масс-спектрометрический анализ в исследованиях фармакокинетики и метаболизма действительно эффективен и является одним из наиболее часто употребляемых методов.
- Природа изучаемых веществ, сложная биоматрица и низкие дозировки требуют от исследователей осторожности при планировании эксперимента.
- Убрать основные вопросы в отношении аналитической части работы помогают пилотные исследования, первичные тесты, хорошая литературная подготовка.

Благодарю за внимание!