

UNIwersYTET W BIAŁYMSTOKU
WYDZIAŁ BIOLOGICZNO-CHEMICZNY



Ilona Kiszkiel-Taudul

**Ekstrakcyjne metody wydzielania wybranych leków
przeciwhistaminowych i ich analiza w próbkach
środowiskowych**

Praca doktorska
Zakład Chemii Ogólnej i Nieorganicznej
Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku

Promotor: dr hab. Barbara Starczewska, prof. UwB
Promotor pomocniczy: dr Barbara Leśniewska

BIAŁYSTOK 2016

STRESZCZENIE

Jedną z głównych przyczyn przedostawania się pozostałości farmaceutyków do poszczególnych elementów środowiska, zwłaszcza do wód powierzchniowych, jest wzrastające spożywanie leków oraz nieodpowiednia utylizacja przeterminowanych preparatów. Związki biologicznie czynne, występujące w naturalnych próbkach wodnych na niskim poziomie stężeń (ng L^{-1} bądź $\mu\text{g L}^{-1}$), nie ulegają całkowitemu usunięciu podczas procesu oczyszczania ścieków. Obecność tego rodzaju substancji w środowisku może wywoływać szkodliwy wpływ na zdrowie ludzi i ekosystemy wodne. W związku z tym, istotne jest opracowanie odpowiednich procedur ekstrakcji analitów, które umożliwią ich czułe i selektywne końcowe oznaczenie za pomocą wybranych metod instrumentalnych. Stosowane techniki wydzielania powinny też umożliwiać zmniejszenie objętości zużywanych rozpuszczalników organicznych.

Opracowano nowe metody wydzielania leków przeciwhistaminowych z próbek wodnych, nieopisane dotąd w literaturze do izolacji tych analitów. Do badań wybrano cymetydynę (CMT), nizatydynę (NZZT), ranitydynę (RNT) oraz famotydynę (FMT). Omawiane związki należą do grupy antagonistów receptorów histaminowych typu H_2 i są stosowane w leczeniu schorzeń układu pokarmowego. Z wykorzystaniem techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE) na kolumnie Oasis HLB opracowano procedurę wydzielania famotydyny. W celu selektywnego oznaczenia poszczególnych analitów obecnych w tej samej próbce, metodę tę zastosowano też do izolacji i rozdzielania dwuskładnikowych mieszanin badanych związków biologicznie czynnych. Proces wydzielania przeprowadzono z wykorzystaniem wybranych źródeł adsorbcyjnych i odpowiednich eluentów. Opracowane procedury ekstrakcji SPE umożliwiają selektywne wydzielenie i jednoczesne rozdzielenie analitów na etapie przygotowania próbki. W wykonanych badaniach ten sam cel osiągnięto także podczas przeprowadzania procesu ekstrakcji micelarnej (ME) z wykorzystaniem związków powierzchniowo czynnych. Do rozdzielania mieszaniny najczęściej stosowanych leków z omawianej grupy (famotydyny i ranitydyny), zastosowano następujące surfaktanty: anionowy dodecylosiarczan(VI) sodu oraz niejonowy Triton X-114. Opracowano również metodę ekstrakcji cieczowej wspomaganą ultradźwiękami (UAE), za pomocą dichlorometanu z dodatkiem soli alkiloamoniowej: chlorku dodecylopirydyniowego. Otrzymane ekstrakty analizowano za pomocą metody spektrofotometrycznej (UV) i chromatograficznej (HPLC-UV). Sprawdzone także wpływ substancji interferujących,

które mogą być obecne w próbkach wód naturalnych, na proces wydzielania leków przeciwhistaminowych. Wyznaczone parametry analityczne stosowanych metod wydzielania i oznaczania badanych związków biologicznie czynnych wskazują, iż wykorzystanie opracowanych procedur ekstrakcji ME, SPE oraz UAE, umożliwia oznaczenie analitów z zadowalającą precyzją, a odzysk badanych związków po przeprowadzeniu procesu wydzielania jest bliski 100%.

Opracowano również nowe procedury ekstrakcji leków przeciwhistaminowych z zastosowaniem trudno rozpuszczalnych w wodzie cieczy jonowych. Jest to nowy rodzaj ekstrahentów charakteryzujących się m.in. niskimi wartościami temperatur topnienia i wysoką stabilnością, a ich wykorzystanie w procesie ekstrakcji umożliwia ograniczenie ilości zużywania toksycznych rozpuszczalników organicznych. Ustalono optymalne warunki procesu wydzielania nizatydyny i ranitydyny z zastosowaniem dwóch cieczy jonowych: heksafluorofosforanu $[C_4mim][PF_6]$ oraz bis(trifluorometylosulfonylo)imidku $[C_4mim][Tf_2N]$ zawierających w swej strukturze kation 1-butylo-3-metyloimidazoliowy. Do ekstrakcji leków przeciwhistaminowych zastosowano także zminiaturyzowane techniki wydzielania. W tym celu opracowano metodę mikroekstrakcji dyspersyjnej (DLLME) cymetydyny, famotydyny i nizatydyny z udziałem mieszaniny ekstrahenta i dyspergatora. Proces wydzielania CMT i FMT przeprowadzono z zastosowaniem butanolu jako rozpuszczalnika ekstrahującego, natomiast proces wydzielania nizatydyny zachodzi z udziałem dichlorometanu. W omawianych procedurach zastosowano metanol w roli dyspergatora. Do wydzielania ranitydyny z próbek wodnych wykorzystano natomiast metodę mikroekstrakcji poprzez emulgację, w której dyspergatorem były fale ultradźwiękowe (USAEME). Proces wydzielania przeprowadzono z udziałem heksafluorofosforanu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego. Wyznaczone parametry analityczne opracowanych procedur wskazują, iż zastosowanie technik zminiaturyzowanych oraz ekstrakcji cieczami jonowymi, umożliwia obniżenie granic wykrywalności podczas oznaczania badanych związków metodą spektrofotometryczną (UV) i HPLC-UV, w porównaniu do technik SPE, ME oraz UAE.

W badaniach zastosowano także metodę chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas (LC-MS/MS), w połączeniu z jednoczesnym wydzieleniem analitów na stałym złożu sorbentu Oasis HLB. Do izolacji ranitydyny zastosowano także technikę mikroekstrakcji do pojedynczej kropli rozpuszczalnika (SDME), którą przeprowadzano za pomocą 5 μ L dichlorometanu. Otrzymane ekstrakty

analizowano z wykorzystaniem LC-MS/MS. Takie rozwiązanie umożliwiło 45-krotne wzbogacanie RNT i wykorzystanie jedynie kilku mikrolitrów rozpuszczalnika organicznego podczas ekstrakcji. Proces wydzielania analitu za pomocą techniki SDME przebiegał w ciągu 3 minut. Odzysk analitów po przeprowadzeniu ekstrakcji SPE oraz mikroekstrakcji do pojedynczej kropli był bliski 100%. Opracowane metody charakteryzują się zadowalającą precyzją oraz umożliwiają detekcję leków przeciwhistaminowych na niskim poziomie stężeń, o czym świadczą wyznaczone wartości granic wykrywalności i oznaczalności dla badanych analitów.

Opracowane procedury wykorzystano do oznaczania nizatydyny i ranitydyny w preparatach farmaceutycznych metodą spektrofotometryczną (UV) oraz oznaczania badanych leków przeciwhistaminowych w wodach naturalnych i ściekach z zastosowaniem technik chromatograficznych HPLC-UV oraz LC-MS/MS. Wykorzystanie metody chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas, w połączeniu z procesem ekstrakcji SPE oraz mikroekstrakcji dyspersyjnej, umożliwiło oznaczenie famotydyny w próbkach wód pobranych z rzeki Netta oraz jeziora Necko w Augustowie, na poziomie stężeń $\mu\text{g L}^{-1}$ oraz $\mu\text{g mL}^{-1}$.