

STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ W JĘZYKU POLSKIM

Współczesna analiza próbek biologicznych charakteryzuje się dążeniem do oznaczania możliwie największej liczby związków chemicznych, w możliwie najkrótszym czasie. Stąd wykorzystywane w celu skriningu oraz identyfikacji związków w płynach fizjologicznych metody chromatografii cieczowej (LC, *liquid chromatography*) najczęściej łączy się ze spektrometrami mas (MS, *mass spectrometry*). Pozwala to na uzyskanie wysokiej czułości, selektywności i szybkości podczas analiz próbek biologicznych. Najnowsze rozwiązania technologiczne oferują połączenie chromatografii cieczowej z wysokorozdzielczymi spektrometrami mas (HRMS, *high-resolution mass spectrometry*), które obecnie należą do najbardziej obiecujących technik instrumentalnych ze względu na bardzo dokładny pomiar masy, dużą szybkość pozyskiwania danych i niską granicę wykrywalności. Takie rozwiązanie pozwala na identyfikację nowych, nieznanych dotąd substancji chemicznych, co sprawdziło się w badaniach toksykologicznych, metabolomicznych, klinicznych i przy analizach antydopingowych. Pomimo, iż dysponujemy coraz bardziej wysoko wydajnymi technikami instrumentalnymi, opracowanie zintegrowanych technik przygotowania próbek oraz sprawnej analizy chemometrycznej otrzymanych danych wydaje się być kluczowe w dobie szerokiego wykorzystania technik LC-MS we współczesnej bioanalityce.

Głównym obszarem tematycznym niniejszej rozprawy doktorskiej jest metoda mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME, *solid-phase microextraction*) jako wysoce zautomatyzowanego i zintegrowanego urządzenia (techniki) mającego zastosowanie przy izolacji analitów z matryc próbek charakteryzujących się złożonym składem oraz ich separacji, identyfikacji i szybkiego oznaczania. Dotychczasowe badania przeprowadzone z wykorzystaniem SPME potwierdzają, iż technika ta ma przewagę nad metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE, *solid-phase extraction*) czy ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz (LLE, *liquid-liquid extraction*) pod względem wydajności, prostoty zastosowania i zwiększenia czystości próbki, a tym samym zmniejszenia interferencji pochodzących z matrycy (mocz, osocze) przy porównywalnej czułości w stosunku do innych metod. Kolejne etapy przeprowadzonych badań obejmowały przygotowanie w pełni zwalidowanej metody analitycznej mającej zastosowanie do oznaczania stężenia rokuronium w różnych punktach czasowych (farmakokinetyka) w osoczu osób poddanych zabiegowi transplantacji wątroby. W badaniach podjęto również próbę opracowania metody z wykorzystaniem mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) w połączeniu z chromatografią cieczową

i detektorem mas (LC-MS) w badaniach próbek zawierających potencjalne leki z listy związków zakazanych wg Światowej Agencji Antydopingowej (WADA, *World Anti-Doping Agency*). Dokonano pełnej optymalizacji procedury przygotowania próbki i kolejno przeprowadzono walidację zgodnie z wytycznymi Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*). Ponadto określony został poziom wykrywania i oznaczania wybranych analitów, w tym również leków, porównany z wymogami opublikowanymi przez WADA. Wyniki przeprowadzonych badań na ponad 100 związkach dopingujących o zróżnicowanej budowie i właściwościach fizykochemicznych, spełniały kryteria określone przez FDA i WADA. Dowodzi to, że SPME stanowi atrakcyjną alternatywę lub uzupełnienie dla dotychczasowych metod przygotowywania próbek podczas kontroli dopingowej.

Ostatni etap badań obejmował wykorzystanie metod chemometrycznych, w tym modeli QSRR, (*Quantitative Structure-Retention Relationships* – ilościowe zależności struktura-retencja) do ulepszenia identyfikacji metabolitów i leków na podstawie czasu retencji, danych fizykochemicznych i struktury chemicznej. W tym celu zbudowane modele QSRR dla platformy LC-HRMS pozwoliły zmniejszyć ilość fałszywych identyfikacji, wnosząc jednocześnie wkład w szybką i co najważniejsze trafną interpretację wyników, co wykorzystane zostało w praktyce w projekcie profilowania metabolicznego na platformie SPME-LC-HRMS.

Krzysztof Gocymil