

WYKORZYSTANIE METOD PLANOWANIA EKSPERYMENTU DO OPTIMALIZACJI PROCEDURY EKSTRAKCJI MODYFIKOWANYCH NUKLEOZYDÓW I DEOKSYNUKLEOZYDÓW W CELOWANEJ ANALIZIE METABOLOMICZNEJ

Małgorzata Artymowicz¹, Szymon Macioszek¹, Julia Jacyna¹, Joanna Dawidowska^{1,2},
Gracjana Stachewicz^{1,2}, Wiktoria Struck-Lewicka¹, Michał J. Markuszewski¹, Danuta Siluk¹

1. *Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny*
2. *Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Modyfikowane nukleozydy i deoksynukleozydy stanowią produkty katabolizmu RNA i DNA. Ze względu na brak specyficznych enzymów, związki te nie są ponownie wykorzystywane do syntezy cząsteczek RNA i DNA, nie podlegają metabolizmowi i są wydalane z moczem w formie niezmienionej. Zwiększone przemiany RNA i stres oksydacyjny obserwowane w trakcie zachodzących procesów patofizjologicznych powodują zwiększoną syntezę modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów. Uwidacznia się to poprzez wzrost stężenia tych związków w próbkach biologicznych. Z tego powodu, są one uważane za potencjalne markery chorób. Celem badania było opracowanie procedury ekstrakcji do fazy stałej (ang. *Solid Phase Extraction*, SPE) 12 modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów. Ze względu na różnice w strukturze tych związków, ich jednoczesna ekstrakcja jest utrudniona. Dlatego wykorzystano mieszane złożo SPE, składające się z sorbentu fenyloboranowego i kationowymiennego. Procedurę zoptymalizowano z użyciem metod planowania eksperymentu (ang. *Design of Experiment*, DoE). Częściowy plan czynnikowy (ang. *Fractional Factorial Design*) użyto do optymalizacji roztworu do kondycjonowania, przemywania i elucji. Następnie zastosowano pełny plan czynnikowy (ang. *Full Factorial Design*). Optymalizowanymi czynnikami były czasy trwania etapów dozowania próbki, przemywania złoża i elucji. Odpowiedzią w obu planach było pole powierzchni analitów. W wyniku analiz ustalono poziomy ocenianych czynników. Zoptymalizowana procedura SPE umożliwiła ekstrakcję modyfikowanych nukleozydów i deoksynukleozydów ze średnim odzyskiem 78,1%.

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki (projekt Preludium: 2018/29/N/NZ7/02299).