

# ROSMARİNUS TÜRLERİNDE BULUNAN BAZI DİTERPENÖİD BİLEŞİKLERİN PLAZMADA SIVI KROMATOĞRAFİK ANALİZLERİ VE BİYOYARARLANIMLARININ İNCELENMESİ

## ÖZET

Bu çalışmada başta antikarsinojenik etki olmak üzere çok çeşitli tıbbi etkileri olduğuna dair bilimsel çalışmalar bulunan, başta *Rosmarinus türleri* olmak üzere Lamiaceae familyasından değişik türlerde de var olan karnosol ve karnosik asit adlı iki diterpenoid bileşiğin insan plazmasında miktar tayini yapılabilmesini sağlayan her iki bileşik için yeni birer yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) metodu geliştirilmiştir. Bu amaçla plazma numunelerinden sıvı sıvı ekstraksiyon tekniği ile ekstre edilen maddeler; karnosol için ters faz kromatografi, C18 (250 mm × 4,6 mm × 5 µm) kolon ve metanol-%2 o-fosforik asit karışımından oluşan bir mobil fazla gradient akış profili ve 1,2 mL/dk akış hızıyla, karnosik asit için ise C18 (150 mm × 4,6 mm × 5 µm) kolon ve metanol-%2 o-fosforik (90:10 (h/h)) asit karışımından oluşan bir mobil fazla izokratik akışta ve 1 mL/dk akış hızıyla ayrılmışlardır. Her iki bileşikte UV dedeksiyonda 230 nm de tayin edilmiştir. Geliştirilen yöntemler ICH kriterleri çerçevesinde seçicilik, doğruluk, kesinlik, gözlenebilme sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), sağlamlık ve dayanıklılık bakımından valide edilmiştir. Karnosol ve karnosik asite ait yöntemlerin sırasıyla doğrusallık sınırları 1-20 ng/mL ve 0.25-8 ng/mL, kalibrasyon sonucu elde edilen doğru denklemlerinin korelasyon katsayıları 0.9942 ve 0.9906'dır. Karnosole ve karnosik aside ait yöntemlerin gün içi ve günler arası kesinliklerini gösteren % RSD değerleri sırasıyla en fazla 5,71 ve 5,13'dür. Ayrıca, her iki bileşik de retansiyon zamanlarında preparatif HPLC kullanılarak toplanmış ve tandem kütle spektrometrik dedektörlü HPLC ve IR yöntemleriyle yapıları aydınlatılmıştır. Geliştirilen yöntemler sağlıklı gönüllü üzerinde *Rosmarinus officinalis* L. ekstresinin oral yolla verilmesinin ardından her iki bileşiğin farmakokinetik parametrelerinin ( $C_{maks}$ ,  $t_{maks}$ ,  $t_{1/2}$  ve  $AUC_{0-t}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ ) hesaplanmasında kullanılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Karnosol, karnosik asit, HPLC-UV, metot validasyonu, farmakokinetik

# LIQUID CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF SOME DITERPENOID COMPOUNDS OF ROSMARINUS SPECIES IN PLASMA AND INVESTIGATION ON THEIR BIOAVAILABILITY

## SUMMARY

In this study high performance liquid chromatographic (HPLC) methods have been developed in order to determine two diterpenoid compounds called carnosol and carnosic acid in human plasma, which are subjected to scientific studies due to mainly anticarcinogenic and other several medical effects and which are found in the species of Lamiaceae family but mainly in *Rosmarinus species*. For this purpose the analytes, that are extracted from plasma by liquid-liquid extraction technique, separated with reverse phase chromatography, C18 (250 mm × 4.6 mm × 5 μm) column and a mobile phase composed of methanol-%2 o-phosphoric acid using gradient elution profile with a flow rate 1.2 mL/min for carnosol and with C18 (150 mm × 4.6 mm × 5 μm) column and methanol-%2 o-phosphoric acid (90:10 (v/v)) mixture as mobile phase with isocritical flow and 1 mL/min flow rate for carnosic acid. Both of the analytes have been detected by UV dedection at 230 nm. The developed methods have been validated according to ICH criteria in the terms of selectivity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ), robustness and stability. The linearity and the correlation coefficient of the linearity equation for carnosol and carnosic acid methods are 1-20 ng/mL and 0.25-8 ng/mL and 0.9942 and 0.9906, respectively. The RSD % values for carnosol and carnosic acid methods are 5.71 and 5.13, respectively. Additionally, both compounds have been collected by preparative HPLC and their qualitative analysis have been performed by LC - tandem mass spectrometry combination and IR spectrometry. The developed methods have been applied to healthy volunteer following oral administration of the extract of *Rosmarinus officinalis* L. and the methods have been used to determine the pharmacokinetic parameters such as  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ ,  $t_{1/2}$  and  $AUC_{0-t}$ ,  $AUC_{0-\infty}$ .

**Keywords:** Carnosol, carnosic acid, HPLC-UV, method validation, pharmacokinetics