

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Bc. Lenka Vrbová

Školitel: doc. RNDr. Lenka Kujovská Krčmová, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Kateřina Matoušová, Ph.D.

Název diplomové práce: Vývoj a validace UHPLC-MS/MS metody pro stanovení močoviny v kondenzátu vydechovaného vzduchu a její aplikace v klinickém výzkumu

Klíčová slova: močovina, kondenzát vydechovaného vzduchu, UHPLC-MS/MS

Analýza kondenzátu vydechovaného vzduchu představuje jednoduchou a neinvazivní metodu měření biomarkerů nejen dýchacích cest. Protože jsou naměřené hladiny těchto mediátorů ovlivněny ředěním zkondenzovanou vodní párou, je pro správnou klinickou interpretaci naměřených dat nezbytné stanovit biomarker ředění. Močovina se zdá být vhodnou molekulou.

Cílem této diplomové práce bylo vytvořit rychlou, jednoduchou a citlivou analytickou metodu pro stanovení koncentrace močoviny v kondenzátu vydechovaného vzduchu pro klinický výzkum a praxi.

Pro analýzu močoviny byla zvolena ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie v tandemovém uspořádání s hmotnostní spektrometrií. K separaci byla využita kolona Kinetex HILIC 100 A o rozměrech 100 × 2,10 mm (Phenomenex, USA) s povrchově porézními částicemi o velikosti 1,7 μm. Mobilní fázi tvořily acetonitril, methanol a voda v poměru 81 : 9 : 10, organická složka byla obohacena 0,1% kyselinou mravenčí. Jako vnitřní standard byla zvolena izotopově značená molekula močoviny (¹⁵N₂-močovina).

Po optimalizaci extrakčního procesu, separačních a detekčních podmínek byla nově vyvinutá metoda aplikována na vzorky kondenzátu vydechovaného vzduchu 54 pacientů. Koncentrace močoviny se pohybovaly v rozmezí 0,22 μmol/l–11,95 μmol/l.