

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Veronika Pilařová

Školitel: Doc. PharmDr. Lucie Nováková Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace kroku přípravy vzorku biologického materiálu pro UHPLC-MS/MS analýzu atorvastatinu, rosuvastatinu a jejich metabolitů.

Cílem této diplomové práce bylo optimalizovat UHPLC-MS/MS metodu určenou pro stanovení koncentrace atorvastatinu, rosuvastatinu a jejich metabolitů v biologickém materiálu a dále vyvinout a optimalizovat metodu pro přípravu vzorku biologického materiálu technikou MEPS, t. j. mikroextrakcí pomocí tuhého sorbentu, a tuto metodu zvalidovat.

K separaci analytů byla využita kolona Acquity BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 μ m, Waters). Ionizace analytů byla provedena elektrosprejem v pozitivním i v negativním módu. Jako detektor byl použit trojitý kvadrupól. U každého analytu byl zvolen prekurzorový ion, ion fragmentu a optimalizována kolizní energie a napětí na vstupním kuželu pro každou látku zvlášť. Kvantifikace látek byla provedena pomocí SRM (monitorování vybrané reakce).

Pro rosuvastatin lakton, který byl stanovován v pozitivním módu, byla prekurzorovým iontem zvolena protonovaná molekula $[M+H]^+$. Pro zbylé statiny byl v negativním módu vybrán prekurzorový ion $[M-H]^-$, který měl největší intenzitu v hmotnostním spektru.

Tyto podmínky byly využity pro vývoj a optimalizaci metody MEPS. Byly testovány tuhé fáze C18, C8 a M1. Nejlepší výsledky vykazoval sorbent C8. Byla zkoušena promývací a eluční činidla složená z acetonitrilu a octanu amonného v různých poměrech. Jako eluční činidlo byl zvolen roztok acetonitrilu a 0,1M octanu amonného o pH 4,5 v poměru 95:5. Jako promývací činidlo byl vybrán roztok acetonitrilu a 0,01M octanu amonného o pH 4,5 v poměru 5:95. Po optimalizaci těchto kroků byla metoda aplikována na biologický materiál, v tomto případě na sérum.

Metoda byla zvalidována. Byla ověřena linearita, správnost, přesnost a selektivita metody. Byl stanoven limit detekce a kvantifikace analytů a matricové efekty. Metoda byla lineární. Korelační koeficienty byly stanoveny v rozmezí 0,9982 – 0,9998. Hodnoty detekčního limitu (LOD) byly v rozmezí 0,15 – 0,75 nmol/l a hodnoty kvantitativního limitu (LOQ) 0,5 - 2,5 nmol/l.

Klíčová slova: MEPS, UHPLC-MS/MS, rosuvastatin, rosuvastatin lakton, N-desmethyl rosuvastatin, atorvastatin, atorvastatin lakton, p-hydroxyatorvastatin, o-hydroxyatorvastatin