

## **Abstrakt**

**Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra analytické chemie**

**Kandidát:** Jaroslav Janák

**Školitel:** RNDr. Hana Vlčková, Ph.D.

**Název diplomové práce:** Vývoj MEPS metody pro UHPLC-MS/MS stanovení entekaviru v ultrafiltrátu ledvin

Diplomová práce se zabývala vývojem a validací metody úpravy vzorků pro stanovení entekaviru v ultrafiltrátu ledvin, pomocí techniky MEPS, tj. mikroextrakce tuhým sorbentem. K analýze byla využita již dříve vyvinutá UHPLC-MS/MS metoda pro stanovení entekaviru v potkaní moči.

Pro jeho stanovení byla využita hydrofilní interakční chromatografie na koloně Acquity BEH Amide za použití izokratické eluce. Složení mobilní fáze acetonitril - 5 mM octan amonný pH 4,0 bylo v poměru 75:25 (v:v). Jako vnitřní standard byl použit entekavir  $C_2^{13}N^{15}$ . Ionizace analytu byla provedena elektrosprejem v pozitivním módu a jako detektor byl zvolen trojitý kvadrupól. Ke kvantifikaci analytu bylo využito SRM přechodů entekaviru a vnitřního standardu.

Na základě optimalizace MEPS metody byl jako nejvhodnější tuhá fáze zvolen porézní grafítický uhlík vhodný pro analýzu polárních látek. Jako eluční činidlo byl zvolen roztok acetonitril a vody v poměru 75:25 (v:v) a jako promývací činidlo čistá voda.

Metoda byla validována. Ověřena byla zejména linearita, přesnost, správnost, selektivita a matricové efekty vyvinuté metody. Metoda byla lineární v rozsahu 0,5 – 500 ng/ml a limit kvantifikace byl stanoven 0,5 ng/ml v biologické matrici. Hodnoty přesnosti byly nižší než 4,5 % a správnosti menší než 106 %. Kvantitativní hodnocení matricových efektů bylo provedeno pomocí post-extrakčního přídatku a hodnoty nepřesáhly 4 %. Po validaci MEPS-UHPLC-MS/MS metody pro stanovení entekaviru v ultrafiltrátu ledvin byla metoda aplikována na sérii reálných vzorků.

**Klíčová slova:** Entekavir, mikroextrakce tuhým sorbentem, UHPLC-MS/MS, validace metody