

# ABSTRAKT

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

**Katedra analytické chemie**

**Kandidát:** Veronika Šestáková

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

**Název diplomové práce:** Vývoj metody pro stanovení 8-hydroxy-2-deoxy guanosinu v moči pro klinický výzkum

Tato diplomová práce se zabývá vývojem metody pro stanovení 8-hydroxy-2-deoxy guanosinu, 8-hydroxyguanosinu a kreatininu pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Cílem bylo vytvořit optimální chromatografické podmínky pro klinický výzkum.

Experimenty byly prováděny na přístroji UHPLC Nexera, (Shimadzu, Japonsko) s hmotnostním spektrometrem LCMS-8030 (Shimadzu, Japonsko). Byly testovány 2 stacionární fáze. K separaci byla použita kolona Meteoric core C18 BIO o rozměrech 4,6 × 50 mm (YMC, Německo) s povrchově porézními částicemi o velikosti 2,7 μm opatřena předkolonou KrudKatcher Ultra 0,5 μm in-line filtr (Phenomenex, Německo). Mobilní fáze byla připravena z vody (pH 3 upravené pomocí kyseliny octové) a methanolu (s přídavkem kyseliny mravenčí - 0,2 mM) v poměru 90 : 10. Teplota byla nastavena na 25 °C, průtok na 0,5 ml/min a nástřik zvolen 4 μl. Po optimalizaci separačních podmínek byla metoda aplikována na biologickou matici (moč). Vzorky byly upraveny extrakcí na tuhou fázi. Metoda byla validována.

Nová metoda bude sloužit v klinickém výzkumu i praxi pro potřeby Fakultní nemocnice v Hradci Králové ale i ostatních pracovišť, která již vyslovila zájem (Fakultní nemocnice Olomouc). Hlavní výhodou této metody je možnost současně monitorovat vliv oxidačního stresu na poškození DNA a RNA u pacientů se závažnými onemocněními. Díky stanovení z moči, nedochází k zátěži pacienta a tím lze snadno provádět vyšetření v čase, popř. ho opakovat. Další výhodou je také zařazení kreatininu pro korekci diurézy.

**Klíčová slova:** 8-hydroxy-2-deoxy guanosin, 8-hydroxyguanosin, kreatinin, UHPLC-MS/MS, moč, nádorové onemocnění, neurodegenerativní onemocnění