

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Jana Tomanová

Školiteľ: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Vít Šesták, Ph.D.

Názov diplomovej práce: **LC-HRMS analýza vybraných liečiv v biologickom materiáli I.**

Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia patrí k jedným z najrozšírenejších separačných analytických techník. Využíva sa v rôznych medicínskych, farmaceutických a priemyselných laboratóriách. Využíva rozdielne afinity látok v analyzovanej zmesi k mobilnej a stacionárnej fáze. Hmotnostná spektrometria je jedna z inštrumentálnych techník pomocou ktorých sa separujú elektricky nabité častice v plynnej fáze na základe pomeru hmotnosť/náboj. V dnešnej dobe sa kladie veľký dôraz na to, aby jednotlivé analytické metódy, ktoré sa vyvíjajú, boli aj následne zvalidované podľa príslušných medzinárodných smerníc. Validácia je proces, ktorý overuje, či je daná metóda vhodná k zamýšľanému použitiu.

V tejto diplomovej práci boli optimalizované a validované podmienky pre stanovenie warfarínu v sére pacientov pomocou hmotnostného spektrometra s lineárnou iónovou pascou LTQ XL. Pri optimalizácii metódy sa vychádzalo z už vyvinutej a validovanej metódy UHPLC-HRMS na Úseku klinickej a forenznej toxikológie Ústavu klinickej biochémie a diagnostiky Fakultnej nemocnice Hradec Králové. V experimentálnej časti práce bol ďalej zvolený spôsob a podmienky úpravy biologického materiálu, vybraný vhodný vnútorný štandard a overené parametre validácie ako kalibračná krivka, presnosť, precíznosť, matricové efekty, výťažnosť a stabilita.

Na úpravu séra pacientov bola zvolená technika precipitácie proteínov a ako precipitačné činidlo sa použil acetonitril. Ako vnútorný štandard bol použitý citalopram-d6. Parametre validácie vyhovovali kritériám podľa ustanovení Európskej Liekovej Agentúry (EMA).

Táto metóda bola aplikovaná na meranie warfarínu v sére u dvadsiatich pacientov a porovnaná s už validovanou metódou na Úseku klinickej a foreznej toxikológie Ústavu klinickej biochémie a diagnostiky Fakultnej nemocnice Hradec Králové. Napriek tomu, že pôvodná metóda vykazovala jednoznačne lepšiu presnosť aj precíznosť, spĺňala nová HPLC-LIT-MS metóda validačné kritériá podľa EMA. Výsledky meraní sa medzi jednotlivými meraniami líšili hlavne na klinicky nevýznamných subterapeutických koncentráciách. Táto metóda ukázala svoju hodnotu pre rutinné meranie warfarínu v klinickej praxi.