

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Lukáš Otoupal

Školitel: RNDr. Hana Vlčková, Ph.D.

Název diplomové práce: **Vývoj Stage tips-UHPLC-MS/MS metody pro stanovení statinů v lidském séru.**

Tato diplomová práce se zabývá vývojem metody pro stanovení klinicky významných statinů v lidském séru. Pro extrakci statinů byla zvolena a optimalizována extrakce s využitím Stage tips pipetovacích špiček. Statiny byly proměřeny na ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografii ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem typu trojitého kvadrupólu. Byl optimalizován nejen postup extrakce, ale také základní parametry hmotnostního spektrometru. Chromatografická separace byla převzata z dříve publikované práce.

Optimalizace parametrů hmotnostního spektrometru byla započata výběrem prekurzorových iontů, následně optimalizací jednotlivých parametrů iontového zdroje a v konečné fázi volbou vhodného ionizačního módu, SRM přechodu a kolizní energie pro každý analyt. Pro ověření vhodnosti LC-MS metody byla změřena opakovatelnost metody ($RSD \leq 1$ pro retenční čas a $RSD \leq 10$ pro plochu píku), linearita (korelační koeficient $\geq 0,997$) a citlivost (LOQ v rozsahu 5×10^{-10} - 1×10^{-9} g/ml).

Při vývoji Stage tips metody byla provedena nejprve optimalizace na směsném standardním roztoku (výběr vhodného elučního a promývacího činidla a volba objemu vzorku a elučního činidla) a následně byl vyvinutý postup aplikován na spikované lidské sérum. Protože vybraný postup poskytl velmi nízké výtěžnosti jednotlivých statinů, byla provedena další a podrobnější optimalizace postupu na spikovaném séru. V dalších krocích vývoje bylo zjištěno, že použitý komerční sorbent Stage tips není vhodný pro extrakci statinů z lidského séra, a proto byly otestovány také sorbenty laboratorně vyráběné. Přestože nebyla optimalizovaná extrakce vhodná pro všechny stanovované statiny z důvodů nízkých výtěžností, byl vybrán nejvhodnější postup, který umožnil stanovení většiny statinů. Nalezení vhodného sorbentu pro všechny statiny bude náplní dalšího testování laboratorně vyráběných sorbentů.

Klíčová slova: statin, UHPLC-MS/MS, Stage tips, extrakce pomocí pipetovacích špiček, PT-SPE