

Disertační práce Souhrn 130 Tato disertační práce je zaměřena do oblasti analytického hodnocení biologicky aktivních látek s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie s důrazem na selektivní a citlivou detekci pomocí hmotnostního a coulometrického detektoru.

V **teoretické části** disertační práce je největší pozornost věnována významu a postavení hmotnostní spektrometrie jako moderní analytické metody detekce. Dále je v teoretické části předložen přehled a aplikace elektrochemických analytických metod, s důrazem na coulometrická měření v průtokových systémech.

Výsledky **experimentální práce** jsou shrnuty a prezentovány formou tří prací publikovaných ve vědeckých impaktovaných časopisech.

Přehled dosažených výsledků:

První publikovaný článek se zabývá **srovnáním čtyř chromatografických kolon pro jejich použití v bioanalytických aplikacích**. V dnešní době je na trhu k dispozici velké množství chromatografických kolon s různými sorbenty. Pro naše testování byly vybrány dvě monolitické a dvě náplňové chromatografické kolony s relativně novými sorbenty. Pro měření byly použity reálné směsi biologicky aktivních látek. Každá ze směsí obsahovala parentní účinnou látku, její přirozené metabolity a vhodný vnitřní standard. Na základě chromatografických parametrů (retenční čas, počet teoretických pater respektive výškový ekvivalent teoretického patra, rozlišení a symetrie píku) byly pro každou skupinu látek zvoleny nejlepší chromatografické podmínky. Bylo také popsáno chování analytů s rozličnou chemickou strukturou na sorbentech s různými navázanými řetězci, včetně srovnání s deklaracemi výrobců o jednotlivých kolonách. Přínos naší práce mimo jiné spočíval v testování kolon na směsích příbuzných látek, léčivo s reálnými metabolity, čímž byla otestována i selektivita jednotlivých kolon, což nebývá pravidlem při prezentaci vlastností kolon.

Výsledkem **druhé publikace** je rychlá a citlivá validovaná **SPE a HPLC metoda pro analytické stanovení plasmatických koncentrací osmi chinolonů používaných ve veterinární praxi**.

Vyvinutá a validovaná metoda byla následně použita k stanovení chinolonů v reálných vzorcích. Chinolony, stejně jako některá další chemoterapeutika či antibiotika, se ve veterinární praxi nepoužívají pouze k léčbě konkrétních onemocnění, ale také k profylaktické terapii. Rezidua těchto látek se mohou

Disertační práce Souhrn 131

následně vyskytovat v produktech získaných z ošetřovaných zvířat a způsobovat tak alergické reakce či bakteriální rezistenci. Přínosem této práce je mimo jiné možnost detekce ciprofloxacinu, majoritního metabolitu enrofloxacinu, který se k terapii rutinně používá. Obvyklé UV metody nebyly pro stanovení ciprofloxacinu dostatečně citlivé. Použití hmotnostní spektrometrie tento problém vyřešilo.

Třetí článek předkládá citlivou analytickou metodu pro stanovení biotinu v lékových přípravcích, využívající kapalinovou chromatografii spojenou s coulometrickým detektorem. Vyvinutá a validovaná metoda byla následně použita pro stanovení biotinu ve vybraných přípravcích. Biotin je ve vodě rozpustný vitamín, patřící do skupiny vitamínů B. Účastní se mnoha biochemických procesů a jeho dostatečný příjem je důležitý pro dobře fungující nervovou tkáň, potní žlázy a pro zdravé vlasy, nehty, kůži. Jeho definovaná denní dávka je pouze 30 µg/den a této nízké dávce je přizpůsoben i jeho obsah v lékových přípravcích. Nespecifické UV spektrum a jeho nízký obsah v přípravcích způsobuje potíže při jeho stanovování UV detekcí. Díky coulometrické detekci, jejíž použití umožnila elektrochemická aktivita biotinu, bylo dosaženo mnohem nižšího detekčního a kvantifikačního limitu i v přítomnosti ostatních vitamínů.