

Abstrakt

Diplomová práce se věnuje vývoji metody stanovení 5-fluorouracilu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie, která by mohla být použita ke stanovení účinnosti jeho enkapsulace liposomy.

Nejprve byla vyzkoušena separace 1 mM standardu 5-fluorouracilu na několika vybraných typech kolon. Mezi testované kolony patřila C18 kolona, C18 kolona s pozitivní úpravou povrchu, fenyl-hexylová kolona a několik fluorových kolon společně se dvěma HILIC kolonami. Jako mobilní fáze byla ze začátku používána směs skládající se z 10 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, $\text{pH} = 4,5$ a MeOH v poměru 98/2.

Výsledky ukázaly, že 5-fluorouracil eluuje na všech kolonách v přílišné blízkosti mrtvého času, kde často eluují také různé nečistoty. Aby se předešlo možnému zkreslení signálu 5-fluorouracilu ze strany nečistot potenciálně se vyskytujících v reálném vzorku, bylo vyzkoušeno několik různých obměn chromatografických podmínek.

Jako definitivně nejúčinnější se ukázalo přidání 5 mM iontově párového činidla (jmenovitě hydrátu chloridu tetrabutylamonného) do mobilní fáze společně se zvýšením pH na 8,0 pro podporu ionizace analytu. V kombinaci s takto upravenou mobilní fází dosahovala nejlepších výsledků fenyl-hexylová kolona s retenčním časem 4,36 minut, která byla vybrána i pro finální stanovení 5-fluorouracilu v reálných vzorcích liposomů.

Zoptimalizovaná metoda pro stanovení 5-fluorouracilu využívala kolonu Poroshell 120 Phenyl-hexyl ($100 \times 2,1$ mm; $2,7 \mu\text{m}$; 120 \AA) a mobilní fázi skládající se z 10 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, $\text{pH} = 8,0$ + 5 mM hydrátu chloridu tetrabutylamonného a MeOH v poměru 98/2. Mez detekce této upravené metody byla stanovena na $4 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a mez kvantifikace na $14 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Na závěr byla tato zoptimalizovaná metoda otestována v praxi stanovením volného 5-fluorouracilu ve vzorcích čtyř druhů liposomů, u kterých byla na

základě zjištěných koncentrací spočítána účinnost enkapsulace pro zmíněný analyt.

Klíčová slova

vysokoučinná kapalinová chromatografie, iontově párová chromatografie, liposomy, 5-fluorouracil, UV-VIS detekce