

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Kristýna Burianová

Školitel: prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Veronika Pilařová, Ph.D.

Název diplomové práce: Vývoj UHPLC-MS/MS metody pro separaci alkaloidů čeledi Amaryllidaceae

V této diplomové práci byla vyvíjena metoda pro separaci 30 alkaloidů čeledi Amaryllidaceae pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC-MS/MS). Byly optimalizovány chromatografické podmínky a parametry hmotnostního spektrometru.

V první fázi optimalizace byl proveden screening 10 analytických kolon na systému ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s detektorem fotodiodového pole (UHPLC-PDA). Jednalo se o kolony Acquity UPLC BEH C18, Acquity UPLC CSH C18, Acquity UPLC BEH Phenyl, Acquity UPLC CSH Phenyl-hexyl, Arion Plus C18, Acquity UPLC BEH Shield RP18, Ascentis Express RP-Amide, ACE Excel C18-PFP, Kinetex PFP a Kinetex F5. K další optimalizaci byly vybrány kolony Acquity UPLC BEH Phenyl, Acquity UPLC CSH Phenyl-hexyl a Acquity UPLC CSH C18, protože poskytly nejvyšší skóre separace analyzovaných izomerních skupin analytů.

Optimalizace MS podmínek byla provedena nastavením parametrů iontového zdroje a nastavením SRM přechodů. S využitím UHPLC-MS/MS byla provedena optimalizace separace, kdy bylo testováno pH mobilní fáze, sklon gradientu, doba analýzy a teplota na koloně. V dalším kroku byl také vyzkoušen vliv organického modifikátoru mobilní fáze, kdy byla použita místo čistého MeOH i směs MeOH:ACN (1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1).

U vyvinuté UHPLC-MS/MS metody byly změřeny vybrané validační parametry, a to přesnost, selektivita, mez stanovitelnosti a linearita. Dále byla provedena analýza extraktu ze sušených listů *Crinum asiaticum*, čeledi Amaryllidaceae a extraktu ze sušených cibulí rodu *Narcissus*, čeledi Amaryllidaceae.

Klíčová slova: alkaloidy čeledi Amaryllidaceae, UHPLC-MS/MS, vývoj metody, optimalizace, validace, PDA detekce