

## Abstrakt

Předkládaná práce kombinuje teoretické přístupy směřující k objasnění separačních systémů a interakčních mechanismů s aplikacemi pro konkrétní analytické účely.

HPLC se řadí mezi nejčastěji používané separační metody. Volba vhodného separačního systému se často provádí empiricky, na základě zkušeností experimentátora, podle informací získaných z literatury, s využitím některých optimalizačních programů nebo čistě postupem pokus-omyl. Pro výběr optimálních separačních podmínek, tj. výběr vhodné stacionární fáze a mobilní fáze je však nutné hlubší poznání interakčních a retenčních mechanismů. Jedním z možných semiempirických postupů charakterizace separačních systémů je metoda lineárních vztahů volných energií (LFER – Linear Free Energy Relationship). Proces optimalizace separace může velmi zkomplikovat výskyt systémových píků. Existují případy, kdy je daná systémová zóna detekovatelná a ve výsledném chromatogramu se objeví více píků než odpovídá počtu analyzovaných látek anebo systémová zóna „interaguje“ se zónou analytu a nastává tzv. rezonance. Porozumění jevům probíhajícím v chromatografických separačních systémech má zásadní vliv jak na optimalizaci separačních podmínek tak na správnou interpretaci analytických dat, a tudíž výsledky analýzy.

Model LFER byl použit k porovnání tří chirálních stacionárních fází na bázi teikoplaninu ve různých mobilních fázích z hlediska jimi poskytovaných interakčních možností. Pomocí modelu byly zjištěny interakce rozhodující o retenci analytů v těchto systémech, a také vliv složení mobilní fáze na zastoupení jednotlivých typů interakcí a jejich velikost.

Výskyt a chromatografické chování systémových píků byly sledovány a popsány v RP HPLC na koloně Discovery® RP Amide C16 v mobilních fázích, které byly tvořeny pouze vodnými pufrů. Dvousložkové pufrů byly tvořeny kyselinou benzoovou a hydroxidem alkalického kovu, třísložkové pufrů obsahovaly jako další složku kyselinu tropovou. Nadávkováním poruchy LiOH vznikly dvě resp. tři systémové zóny, kdy první byla vždy stacionární a další měnily svou pozici v závislosti na složení mobilní fáze.

RP HPLC metody pro separace vybraných estrogenů a 1,4-benzodiazepinů byly vyvinuty. Pro kontrolu enantiomerní čistoty veterinárního léčiva ( $\pm$ )-cloprostenolu byla nalezena, optimalizována a následně validována HPLC metoda.