

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Tereza Lacmanová

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

Název diplomové práce: Využití superkritické fluidní chromatografie v analýze přírodních látek

Cílem této diplomové práce je ověření vhodnosti UHPSFC metody s PDA a MS detekcí pro analýzu přírodních látek. Byly vybrány dva zástupci přírodních látek – alkaloidy čeledi *Amaryllidaceae* účinné v léčbě Alzheimerovy choroby a fenolické látky s antioxidační aktivitou – flavonoidy rutin, kvercetin a jejich metabolity.

Analýzy proběhly na systému Acquity UPC² s PDA a MS detektorem. Základní screening byl proveden na 10 stacionárních fázích: BEH 2-EP, HSS SB C18, BEH, Torus DIOL, Torus 2-PIC, Torus DEA, CSH PFP, Torus 1-AA, Cortecs HILIC a BEH Amide. Zkoušeny byly 4 mobilní fáze: 1. CO₂ + MeOH, 2. CO₂ + MeOH + 0,1 % NH₄OH, 3. CO₂ + MeOH + 10 mM mravenčan amonný a 4. CO₂ + MeOH + 10 mM mravenčan amonný + 2 % H₂O. Podmínky separace byly nastaveny následovně: průtok 1,5 ml/min, teplota 40 °C, tlak 140 bar, gradientová eluce od 2 % do 40 % do 4. minuty, se dvěma izokratickými kroky na začátku a na konci gradientu. Optimalizace chromatografických podmínek zahrnovala změnu složení mobilní fáze, změnu nastavení gradientové eluce i hodnot tlaku a teploty.

Pro obě skupiny přírodních látek byla vyvinuta UHPSFC metoda a podmínky byly optimalizovány tak, aby bylo dosaženo co nejlepší selektivity. Ve skupině alkaloidů byla kvůli výskytu izomerů stěžejním cílem jejich účinná separace. U fenolických látek byl z důvodu různorodosti fyzikálně-chemických vlastností řešen problém eluce a separace v rámci jedné analýzy. Pro alkaloidy čeledi *Amaryllidaceae* byla nejvhodnější analýza na koloně Torus DEA s mobilní fází CO₂ + MeOH/ACN (1:1) + 0,1 % NH₄OH, kde se separovaly všechny analyty. Nejvhodnější pro separaci fenolických látek byla kolona Torus DIOL s mobilní fází CO₂ + MeOH + 0,05 % NH₄OH + 2 % H₂O, nicméně eluce kvercetinu a jeho glykosidu rutinu zůstala předmětem budoucí optimalizace. Cílená analýza obou skupin přírodních látek může sloužit k vysvětlení jejich metabolismu a léčivých účinků na lidský organismus.

Klíčová slova: alkaloidy čeledi *Amaryllidaceae*; fenolické látky; rutin; kvercetin; UHPSFC-PDA/MS; vývoj metody; optimalizace chromatografických podmínek