

Abstrakt

V této dizertační práci byla vyvinuta nová metoda pro stanovení primárních žlučových kyselin: cholové kyseliny a chenodeoxycholové kyseliny. V těle savců plní žlučové kyseliny rozmanité významné funkce. Jejich stanovení je rovněž důležitým nástrojem v diagnóze a léčbě onemocnění jater a žlučníku. Tyto nasycené organické sloučeniny postrádají ve své struktuře silné chromofory a fluorofory, což zásadně znesnadňuje jejich spektrometrickou detekci. Proto jsou pro účely detekce využívány instrumentálně pokročilé, ale nákladné metody, jako je hmotnostní spektrometrie, nebo méně spolehlivé enzymatické metody. Z těchto důvodů je neustálá silná poptávka po jednoduchých a spolehlivých metodách pro stanovení žlučových kyselin. Je rovněž známo, že žlučové kyseliny je prakticky nemožné přímo elektrochemicky oxidovat. V této dizertační práci byla vyvinuta a optimalizována metoda, která umožňuje chemickou aktivaci žlučových kyselin pro jejich elektrochemickou oxidaci na nemodifikovaných elektrodových materiálech a která byla aplikována pro stanovení cholové kyseliny a chenodeoxycholové kyseliny. Tato aktivace je založena na dehydratační reakci primární žlučové kyseliny s $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HClO}_4$ v acetonitrilu (obsah vody 0,55 %), která do původně plně nasyceného steroidního jádra zavede jednu nebo více dvojných vazeb. To přirozeně zvýší elektronovou hustotu, a tím umožní elektrochemickou oxidaci žlučové kyseliny při +1,2 V (vs. Ag/AgNO₃ v acetonitrilu) za nezměněných podmínek přímo v dehydratujícím roztoku. Za stejných podmínek byla také pozorována zvýšená elektrochemická aktivita cholesterolu. Na základě výsledků CE-MS experimentů byl navržen mechanismus této reakce. Aktivační reakce byla optimalizována a implementována do elektroanalytického postupu využívajícího diferenční pulsní voltametrii na borem dopované diamantové elektrodě a uvedené dvě žlučové kyseliny byly stanoveny ve vzorcích umělého a lidského séra s dobrou selektivitou. Výsledky měření za využití diferenční pulsní voltametrie byly porovnány s dříve popsanou metodou (HPLC s fluorescenční detekcí), čímž byla potvrzena přesnost navržené metody. Byly stanoveny limity detekce: $0,5 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ pro cholovou kyselinu a $1,0 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ pro chenodeoxycholovou kyselinu. Dále byla vyhodnocena možnost aplikace tohoto postupu v průtokových metodách. Proběhly pilotní experimenty za využití průtokové injekční analýzy s amperometrickou detekcí ve *wall-jet* uspořádání a s borem dopovanou diamantovou elektrodou s limity detekce okolo $1 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ analytu, čímž byl potvrzen potenciál metody v amperometrickém uspořádání. V této dizertační práci byla tedy popsána inovativní, jednoduchá a rychlá elektroanalytická metoda stanovení primárních žlučových kyselin s potenciálem pro aplikaci v klinické praxi.