

## Abstrakt

Předmětem této práce bylo studium reaktivity protických metabolitů s chlormravenčany a jejich využití v metabolomické GC-MS analýze biotekutin. Tento výzkum byl veden ve třech samostatných studiích a jeho výsledkem jsou tři nové, originální metody pro GC-MS stanovení protických nízkomolekulárních metabolitů v biologickém materiálu, především biotekutinách.

První studie zkoumá objev rychlé derivatizace alicyklických hydroxylových skupin fluoralkylchlormravenčany (FCF) v bezvodém prostředí [1]. Působením FCF dochází k okamžité přeměně této hydroxylové skupiny na karbonát a tento krok lze snadno spojit s mikroextrakcí kapalina-kapalina (LLME) vznikajících derivátů do organické fáze. Reakce alicyklické hydroxy skupiny s FCF byla testována celkem na 12 klinicky významných steroidech a 4 tokoferolech. Byly popsány analytické vlastnosti zkoumaných analytů a metoda byla validována pro stanovení 6 diagnostických sterolů a 4 tokoferolů v lidském séru a plodové vodě. Nová metoda byla dále úspěšně použita k identifikaci a stanovení sterolů a tokoferolů ve tkáních hmyzu, ruměnice pospolné (*Pyrrhocoris apterus*) [2].

Druhá studie byla zaměřena na zkoumání reaktivity protických, zejména kyselých močových metabolitů s FCF, především s heptafluorbutylchlormravenčanem (HFBCF). Technikami GC-MS a LC-HRMS byly podrobně zkoumány reakční produkty 153 močových metabolitů a dvou vnitřních standardů. Nový postup byl validován pro stanovení 132 metabolitů v lidské moči a úspěšně ověřen pomocí GC-MS analýzy certifikovaného vzorku moči se známými koncentracemi diagnosticky významných organických kyselin a na analýze vzorků moči získaných od 100 zdravých dobrovolníků. Objem 25  $\mu$ l moči umožnil přímé stanovení 112 fyziologických metabolitů v tomto souboru vzorků [3]. Analytický protokol popsání metody byl dále připraven pro kapitolu v knize [4].

Třetí studie popisuje rychlou GC-MS metodu pro stanovení kyselých močových biomarkerů expozice průmyslovým zdravím škodlivým látkám v lidské moči. Byly zkoumány reakce biomarkerů expozice benzenu, toluenu, styrenu, xylenů, alkoxyethanolů, sirouhlíku, furalu a *N,N*-dimethylformamidu s různými alkyklchlormravenčany (RCF). Většina uvedených biomarkerů poskytovala jeden předpokládaný produkt, některé však poskytovaly s RCF ještě další neobvyklý produkt. Jejich struktura byla jednoznačně potvrzena pomocí techniky LC-HRMS a derivatizačních činidel značených stabilními izotopy. Na základě získaných poznatků byla vypracována a validována nová GC-MS metoda pro současné stanovení 14 biomarkerů expozice v lidské moči a ověřena pomocí analýzy vzorku certifikované referenční moči.

Nové poznatky získané při výzkumu reaktivity alicyklické hydroxylové skupiny a dalších protických funkčních skupin metabolitů s chlormravenčany v souhrnu vedly k vypracování 3 nových analytických postupů přípravy biologických vzorků s perspektivním uplatněním především v oblasti GC-MS metabolomické analýzy.