

6 Závěry

Výsledky uvedené v této disertační práci ukazují, že kapilární zónová elektroforéza je vhodná metoda pro analýzu i fyzikálněchemickou charakterizaci biomolekul, což bylo doloženo na příkladech stanovení pK_a ionogenních skupin v řadě nově syntetizovaných fosfinátových pseudopeptidů a dále na separaci diastereoizomerů fosfinátových pseudopeptidů a enantiomerů serinu.

V rámci vypracování ucelené kapilárně-elektroforetické metody pro stanovení pK_a byly prozkoumány vlastnosti základních elektrolytů o různém složení v kyselé oblasti pod pH 2. Byla sestavena a odzkoušena řada základních elektrolytů umožňující měření spolehlivých elektroforetických pohyblivostí látek v rozmezí pH ~ 1,5 – 12. Byl vypracován postup dovolující snadné stanovení průměrné teploty roztoku v separační kapiláře, a tím i zpřesnění měřených elektroforetických pohyblivostí. Dále byl také navržen postup přinášející snížení časových nároků na stanovení pK_a , který zachovává separační účinnost metody a přesnost měřených elektroforetických pohyblivostí a který je založen na vhodném zkombinování rychlosti elektroosmotického toku modifikacemi vnitřního povrchu kapilár a efektivního, tlakem urychleného, stanovování elektroosmotické pohyblivosti.

Studie zaměřená na zkoumání platnosti teoretického Onsagerova modelu, jenž popisuje koncentrační závislost elektroforetických pohyblivostí, pro pohyblivostní data experimentálně stanovená v CZE upozornila na vliv složení základního elektrolytu na naměřené elektroforetické pohyblivosti. Dále bylo shledáno, že přesné přepočty elektroforetických pohyblivostí mezi základními elektrolyty o různých koncentracích jakož i stanovení spolehlivých limitních pohyblivostí iontů se neobejdou bez započtení individuálních parametrů analyzovaných iontů.

Z výzkumu separovatelnosti diastereomerů fosfinátových pseudopeptidů kapilární zónovou elektroforézou v achirálním prostředí lze vyvodit závěr, že k dělení dochází výlučně v pH oblasti, jež se přibližuje k hodnotám pK_a ionizovatelných skupin analytu, přičemž nejvyšší vliv na separaci měla disociace centrální fosfinátové skupiny. Všechny fosfinátové pseudopeptidy bylo možno rozdělit na dvě dvojice diastereomerů, u některých bylo dosaženo úplné separace všech čtyř diastereomerů. Ze srovnání CZE a HPLC separací vyplývá doplňkový charakter obou metod, neboť v průměru vyšších rozlišení diastereomerů bylo sice docíleno v HPLC, avšak v CZE byly rozděleny i diastereomery v HPLC nerozlišené.

Byla vypracována kapilárně-elektroforetická metoda pro stanovení D-serinu využívající derivatizaci analytů v prostoru separační kapiláry, která je použitelná obzvláště pro analýzy vysokého počtu vzorků v komerčních analyzátoch. Metoda byla použita pro testování aktivity řady potenciálních inhibitorů serin racemasy.