

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce byl vývoj screeningové metody pro analýzu 17 benzodiazepinů ve vzorcích moči pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC-MS/MS). Dílčím úkolem bylo optimalizovat podmínky enzymatické hydrolýzy glukuronidů benzodiazepinů v moči s využitím metody plánování experimentů (DOE).

Optimalizovaný chromatografický systém se skládal z kolony Zorbax Eclipse Plus Phenyl-Hexyl RRHD (100 × 2,1 mm, 1,8 μm), dvousložkové mobilní fáze tvořené vodou s 0,1% obsahem octové kyseliny (složka A) a acetonitrilem s 0,1% obsahem octové kyseliny (složka B) v různém poměru dle gradientového programu. Průtok činil 0,2 ml/min, teplota kolony byla 40 °C. Celková doba analýzy činila 12 min. Za optimalizovaných podmínek byly proměřeny kalibrační křivky všech analytů v methanolu i v moči.

Byly nalezeny optimální detekční podmínky pro oxazepam-glukuronid, který byl v rámci pilotního experimentu hydrolyzován za použití β-glukuronidasy z ušně, čímž byla potvrzena funkčnost enzymu. Optimalizace podmínek enzymatické hydrolýzy prostřednictvím 27 experimentů vygenerovaných programem Minitab 16 podle Box-Behnken design bude realizována později.