

PRO ANALYTICKÉ CHEMIKY BYLA INTERNACIONALIZACE SAMOZŘEJMOSTÍ JIŽ PŘED 15 LETY

Tým analytických chemiků pod vedením profesora Petra Solicha z Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové patří díky vývoji a aplikaci nových analytických metod mezi světovou špičku. Jedná se o početně největší vědeckou skupinu na fakultě, jejich úspěšnost dokazuje i výrazné zastoupení členů v první desítce nejúspěšnějších vědců na FaF a skutečnost, že relativně velká část rozpočtu fakulty na vědu směřuje na tuto katedru, která současně tvoří výzkumnou skupinu ACG (Analytical Chemistry Group).

„Věda, to je týmová spolupráce, to jsou nápady, které se intenzivně diskutují, musíte mít ovšem i finanční možnosti, ale i být ochotni se vědě obětovat. Pro náš tým je vědecká práce koníčkem, pracují tady vědci, kteří svému oboru věnují i patnáct hodin denně. A právě díky této mentalitě a široké internacionalizaci našeho bádání jsme úspěšní,“ říká profesor Solich.





KDYŽ STAVÍTE DŮM, NEMŮŽETE ZAČÍT STŘECHOU

Analytická chemie je důležitá v mnoha oblastech přírodních věd. Má za úkol určit, které látky a v jakém množství se vyskytují v různých typech vzorků – např. v biologickém materiálu, potravinách, rostlinách, v životním prostředí, ale třeba i v léčivých přípravcích. Světové renomé za vývoj a aplikaci nových analytických metod si vybudoval tým analytických chemiků pod vedením profesora Petra Solicha z Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové.

Nemůžete začít prvním patrem nebo střechou, musíte od základů.

Začněme od Adama, představte nám prosím svůj tým a co dělá.

Naše katedra analytické chemie a její výzkumná skupina ACG (Analytical Chemistry Group) se zabývá vývojem a aplikací nových analytických metodik a postupů. Je to tým, kde všichni spolupracují, i když každý dělá něco v trochu jiné oblasti. Je to, jako když stavíte dům – cihla k cihle. Nemůžete začít prvním patrem nebo střechou, musíte od základů. Tato katedra měla vynikající základy dané profesorem Joklem a později profesorem Karlíčkem, měla to štěstí, že zde bylo v minulosti běžné o věcech diskutovat, mít společný zájem na rozvoji pracoviště, nebyli to individualisté. V součas-

nosti často používaný pojem na UK, *internacionalizace*, pro nás byl samozřejmostí již před 15–20 lety. A přispěly k tomu i nenahraditelné zkušenosti, které jsem získal během patnáctiletého působení na pozici koordinátora pro výměnné studijní programy Erasmus na FaF UK. Díky tomu není dnes problém úzce spolupracovat s mnoha pracovišti po celém světě, přijímat zahraniční postdoktorandy z vědecky kvalitních zemí, organizovat celosvětové konference. Vyvrcholením těchto aktivit bylo nedávno podání mezinárodního projektu v rámci Horizontu 2020 jakožto koordinující pracoviště pro šest evropských univerzit a minulý měsíc jsme podali další velký projekt pod hlavičkou OP VVV Podpora

excelentních výzkumných týmů – s názvem Vytvoření expertního týmu pro pokročilý výzkum v separačních vědách (akronym STARSS). Klíčovou osobou tohoto projektu je prof. Švec, působící v USA. Věříme, že jeho vědecké zkušenosti – jeho h-index je 78 – by byly pro celou fakultu přínosné. Jde tedy hlavně o přístup, aktivitu a chuť něco dělat, což je tak trochu i vlastní povaze vědeckého pracovníka.

Jaká je vaše role v týmu?

Jednoduše řečeno připravuji mladé generaci podmínky pro výzkum. Již dávno jsem dospěl k názoru, že se kvalitní výzkum neobejde bez dobrého vědeckého managementu – je potřeba nejenom sehnat peníze, přístroje, připravit podmínky pro vědu, ale i vědět, jak a kde publikovat výsledky vědecké práce. A pak ještě dvě „maličkosti“ – sehnat kvalitní „lidské zdroje“ a pak každému v týmu najít pozici, kde nejlépe využije své schopnosti. Někdo je výborný pedagog, jiný má cit pro vědeckou práci, další umí komunikovat se zahraničím apod. – a pokud se najde dirigent, který takový kolektiv naladí na jednotnou notu, je vyhráno. Častým problémem mnoha pracovníků na vysokých školách je to, že mají pocit, že mají všechno řídit sami, o všem rozhodovat, a nedají důvěru mladší nastupující generaci. V této souvislosti bych rád zdůraznil vynikající nápad, jakým bylo před pár lety vytvoření univerzitních center excelence UNCE, podporující mladé aktivní vědecké pracovníky na UK. Poznal jsem, že je potřeba mladé vědecké generaci dát nejenom důvěru, podpořit je, ale i věřit v jejich síly a schopnosti. Moje role je tedy usměrňovat, řídit, vědět, do čeho jít. To dnešní mladá vědecká generace často ještě netuší.

Hodně se mluví o aplikaci výzkumu v praxi. Váš obor je toho, myslím, klasickou ukázkou, že?

Máme jednu zásadu: věda je krásná. Když uděláte dobrou publikaci, je to příjemné. Když vytvoříte světovou publikaci ideálně s mezinárodním týmem, je to vynikající. Ale co z toho má společnost? Je to „jen“ kvalitní publikace. A tak se našim krédem postupně stalo, že *dopad naší práce má mířit do praxe*. Už v roce 1993 jsme pro lékárny v rámci vedlejší hospodářské činnosti fakulty připravovali sady chemikálií ke kontrolní činnosti, tzv. reagenční aparáty. Tím jsme získali na výzkumnou činnost peníze, které v té době chyběly, peníze na nové přístroje a mezinárodní spolupráci. Rovněž jsme již v 90. letech založili akreditovanou laboratoř, a můžeme tedy provádět nejenom lékopisné analýzy, ale i např. vyvíjet nové analytické metodiky pro desítky firem.

Co přesně tedy společnosti přinášíte?

Jak popsat někomu, kdo chemii nedělá, co vlastně děláme? V podstatě vyvíjíme a poté aplikujeme do praxe nové analytické metodiky a postupy, které umí čím dál tím rychleji, citlivěji a s větší selektivitou analyzovat vybrané látky v různých typech vzorků. To je princip analytické chemie. Samozřejmě je to otázka i zpracování analyzovaného materiálu, třeba biologického – jako jsou krev, krevní sérum, moč, další biologické tekutiny –, dále sem spadá zjišťování kvality vody, nečistot a rozkladných produktů v léčivých přípravcích, kontrola kvalita potravin. Tam všude se používají analytické metody,

kteří na základě většinou chemických reakcí a jistých fyzikálně-chemických principů – a s využitím moderních přístrojů – určují kvalitu a kvantitu, tedy jaké látky a v jakém množství se ve vzorcích nacházejí.

Je nějaký konkrétní moment, kde může vaši činnost ocenit vlastně úplně každý Čech?

Jistě. Z Asie se dováží spousty tzv. potravinových doplňků, které nejsou registrovány jako léčiva, neprocházejí tedy před uvedením na trh náročným procesem schvalování jako léčiva, nejsou pod dostatečnou kontrolou, ale přitom v řadě případů mohou mít významné účinky na organismus. Spolupracujeme s firmami, které chtějí analyzovat obsah účinných látek v těchto potravinových doplncích, abychom eliminovali ty přípravky, které mohou být problematické.

Často se v akademické obci vedou spory mezi aplikovaným a základním výzkumem. K čemu se kloníte?

Jsou dva přístupy k analytické chemii – první je základní výzkum, druhý je aplikovaný. Typickým základním výzkumem v oblasti analytické chemie je např. nové přístrojové uspořádání pro oceánografické analýzy, které řeší dr. Chocholouš, nebo nové dosud nepopsané metodiky v oblasti superkritické fluidní chromatografie, o kterých se zmiňuje doc. Nováková. Co se týká aplikovaného výzkumu, úzce spolupracujeme např. s výzkumnou laboratoří ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové, kde v současnosti máme pět našich doktorandů. Pokud nějaké klinické pracoviště chce např. sledovat onkologický problém a v literatuře zjistí vhodný marker, může se přihodit, že ještě není metodika jeho analýzy popsána, a tak výzkumná laboratoř na základě analytické instrumentace, kterou má k dispozici, zkusí metodu vypracovat. Pokud pro tu metodiku použije nové postupy, např. nový typ analytické separační kolony, v tu chvíli jsou to vlastně novinky i v metodické části. Tato první, nerutinní část, kdy se vypracovává nová metoda pro stanovení nové kombinace látek, to je základní výzkum v analytické chemii, použití této metody pro reálné vzorky pacientů je pak výzkum aplikovaný. A konkrétní odpověď na vaši otázku: oba typy výzkumu se v určitých oblastech mohou prolínat a oba jsou stejně důležité. →

Častým problémem mnoha pracovníků na vysokých školách je to, že mají pocit, že mají všechno řídit sami, o všem rozhodovat, a nedají důvěru mladší nastupující generaci.



*Dnes už jsem spíše
vědecký manažer,
a ne klasický vědec.
V takové pozici
můžete být blízko
u vlastní vědy, ještě ji
„cítit“, víte, co by se
mohlo či mělo dělat,
ale nemůžete se jí
už časově a detailně
věnovat.*

Už jsme se toho dotkli, ale ještě bych ráda rozvedla otázku zahraniční spolupráce...

O řadě našich současných mezinárodních vědeckých spoluprací se zmíní konkrétně moji kolegové, já bych chtěl zdůraznit jeden princip. Když jsme v naší výzkumné skupině získali v roce 2011 v rámci projektů OPVK celkem sedm tříletých pozic pro postdoktorandy a část pozic musela být obsazena osobami, které nestudovaly na UK, nešli jsme takovou cestou jako školy, jež si vybraly neznámé postdoktoranty z Indie a podobných zemí, ale na odborných zahraničních konferencích a prostřednictvím našich dlouhodobých mezinárodních vědeckých kontaktů jsme si dopředu a cíleně vytipovávali šikovné doktorandy, kteří právě končili Ph.D. studium. Věděli jsme o nich od jejich školitelů, jak jsou zapálení do vědy, a tím se nám podařilo získat několik vynikajících pracovníků. Měli jsme zde postdoktorandku z Thajska, jež Ph.D. studovala ve Španělsku a která již dříve publikovala v nejprestižnějším světovém analytickém časopise Analytical Chemistry, další byla z výborně

hodnocené španělské Univerzity v Granadě a dodnes – i po skončení projektu OPVK – je členem naší výzkumné skupiny také bývalý doktorand původem z Německa, který ale rovněž získal Ph.D. ve Španělsku. Španělština se tedy stala vedle angličtiny běžnou řečí na naší katedře. A není tedy překvapující, že i jediný „hostující profesor UK“ na Farmaceutické fakultě UK, prof. Manuel Miro, je ze španělské Universitat de les Illes Balears. A ještě jedna zajímavost – jednu z postdoktorandských pozic tehdy obsadila vědecká pracovnice z Ruska. Před pár lety přijela na fakultu jako stipendistka, když získala čtyřměsíční prezidentské stipendium udělované 100 nejlepším doktorandům v Rusku, a protože byla pro vědeckou práci zapálena a znali jsme její kvality, pokračovala s námi další tři roky jako postdoktorandka.

Máte za sebou více než deset let v řídicí funkci. Jak se dnes sám vidíte?

Dnes už jsem spíše vědecký manažer, a ne klasický vědec. V takové pozici můžete být blízko u vlastní vědy, ještě ji „cítit“, víte, co by se mohlo či mělo dělat, ale nemůžete se jí už časově a detailně věnovat. Věda se v České republice začala více podporovat až okolo roku 2000. Když řídí vědecký kolektiv někdo, kdo nebyl dlouhodobě v zahraničí, kdo v životě nezažil vědeckou práci v mezinárodním kolektivu, může být sice dobrý manažer, může být i výborný odborník, ale řadu zákonitostí vědeckého bádání nemůže pochopit, tyto mezinárodní zkušenosti se prostě musí prožít a zažít, aby se vám tzv. „dostaly do krve“. I proto je mi pojem *internacionalizace Univerzity Karlovy* tak blízký.

Těch pater už máme postaveno hodně, ale střecha je pořád ještě v nedohlednu...

Prof. RNDr. Petr Solich, CSc., působí jako proděkan pro vnitřní záležitosti, evropské projekty a strategický rozvoj fakulty, je vedoucím katedry analytické chemie na Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Věnuje se automatizaci v analytické chemii, průtokovým analytickým metodám a chromatografickým separačním metodám. Je hlavním řešitelem univerzitního výzkumného centra UNCE Studium léčiv a dalších biologicky aktivních látek perspektivních v prevenci a léčbě závažných civilizačních onemocnění, vede výzkumnou skupinu analytické chemie ACG. Profesor Solich je autorem a spoluautorem více než 200 impaktovaných publikací, autorem 7 učebnic a 6 patentů. Počet citací přesahuje 2900 a má h-index 31.

LIDÉ SI ANALYTICKOU CHEMIÍ PŘEDSTAVUJÍ JAKO KRIMINÁLKU MIAMI

Patří mezi čtyřicet nejvlivnějších analytických chemiků do 40 let na světě. Řeč je o doc. PharmDr. Lucii Novákové, Ph.D., která před dvěma roky získala ocenění zahraničního časopisu *The Analytical Scientist*.

Jak jste se dostala k analytické chemii?

Chemie všeobecně mě bavila již na střední škole a během studia na Farmaceutické fakultě UK mi byly sympatické chemické disciplíny. Začala jsem pracovat na diplomové práci na katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv, tématem byla analýza kokainu a jeho metabolitu pomocí metody kapalinové chromatografie. A od té doby mě analýza toxikologicky významných látek ve vědě provází.

Kokain je lékopisná látka, nebo minimálně toho času alespoň byla, protože se ještě používal v některých léčebných medikacích. Pro analýzu tedy byl dostupný, i když jeho zacházení podléhá zvláštním předpisům. Farmaceutická fakulta jako instituce zabývající se výzkumem a zacházením s léčivými látkami samozřejmě takové oprávnění zacházet s návykovými látkami má. Ty totiž podléhají přísné kontrole a musí se o nich vést evidence, takže pro kokain jsem si chodila do trezoru a musela pečlivě zaznamenávat každý navážený miligram.

Mým cílem bylo stanovení kokainu a jeho metabolitu a už tenkrát se mi líbila práce se separačními technikami. Byla pro mě obrovská čest, když jsem jako studentka mohla pracovat na novém přístroji HPLC, a řekla bych, že tak bylo definitivně rozhodnuto o mé další cestě a o lásce k analytické chemii. Když jsem během doktorátu začala pracovat s dalšími chromatografickými technikami, o správnosti rozhodnutí již nebylo pochyb.

Spousta lidí nemá představu, co analytická chemie obnáší...

Většina lidí si práci v analytické laboratoři představuje asi jako kriminálku Miami. Přijdete, vložíte vzorek do stroje, vyleze vám záznam s výsledky a máte hotovo, ale ono to takhle přesně není. Naše práce pomáhá ostatním objasňovat jejich výzkumné otázky tím, že sledujeme průběh určité reakce, procesu nebo profilu koncentrací různých biologicky aktivních látek pomocí příslušných analytických metod. Vyvinout je není vůbec jednoduché a často už vůbec ne rychlé. Za každou takovou metodou je velké množství znalostí a zkušeností, a pokud se jedná o metodu zcela novou, pak i mnoho

nových experimentů a času. Na druhou stranu to znamená, že nás potřebuje každý, což nám umožňuje podílet se na mnoha zajímavých projektech.

Výzkum naší vědecké skupiny ACG v rámci katedry analytické chemie FaF UK je zaměřen na rozvoj separačních metod a hmotnostní spektrometrie. Pokud je ve vzorku přítomno více látek, provedeme nejprve separaci neboli oddělení látek pomocí chromatografických technik, abychom poznali, kolik látek je zahrnuto a o které se jedná. V naší laboratoři ve spojení se separačními metodami široce využíváme techniku hmotnostní spektrometrie, což nám umožňuje analyzovat i složité matrice díky jejich citlivosti a selektivitě. Také oblast chirálních separací byla ještě před nedávnou dobou poměrně výzvou, ale to se změnilo s výrazným pokrokem téměř zapomenuté metody superkritické fluidní chromatografie a s jejím návratem do laboratoří. Požadavky na kontrolu chirální čistoty látek se ve farmacii velice zpřísnily po aféře s thalidomidem, jehož užívání během těhotenství zapříčinilo vážné poruchy u dětí.

Právě v oblasti superkritické fluidní chromatografie spolupracuji s Univerzitou v Ženevě a díky tomuto kontaktu jsem měla možnost

Právě v oblasti superkritické fluidní chromatografie spolupracuji s Univerzitou v Ženevě a díky tomuto kontaktu jsem měla možnost se zapojit do vývoje metod pro analýzu dopingových látek pro sportovce.

Doc. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D., byla časopisem *The Analytical Scientist* zařazena do žebříčku 40 nejvlivnějších analytických chemiků do 40 let („Top 40 Under Forty“) za rok 2014. Ve svém výzkumu se věnuje separačním chromatografickým technikám, zejména UHPLC a UHPSFC ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Pravidelně publikuje v nejlepších oborových světových časopisech a přednáší na konferencích v oblasti separačních metod. Je autorkou nebo spoluautorkou více než 70 impaktovaných publikací a počet citací přesahuje 1600. Na královéhradecké farmaceutické fakultě patří mezi tři nejúspěšnější vědce (za období posledních 5 let). Spolu s Michalem Doušou (Zentiva) je autorkou dvoudílné monografie *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*.



se zapojit do vývoje metod pro analýzu dopingových látek pro sportovce. Nové spektrometry (HRSMS) pracují v nečlověm režimu, což je pro dopující sportovce nevýhodné, protože se zaznamená celé spektrum dat a informaci o zneužití látky lze zjistit zpětně i několik let poté. Pro steroidní hormony, které se užívají dlouhodobě, je složitější vyvinout analytickou metodu, jelikož jejich hladiny jsou kvůli dlouhodobému užívání velmi nízké. Naproti tomu stimulancia jsou snazší, protože hladina je díky podávání před sportovním výkonem relativně vysoká. Navíc steroidní hormony jsou svými strukturami velice podobné látky a superkritická fluidní chromatografie se ukázala být velice zajímavou alternativou k dosud používaným postupům analýzy právě pro tento typ látek. O dopingové analýze jsme s Univerzitou v Ženevě publikovali již tři odborné články a byli jsme první, kdo zapojil techniku superkritické fluidní chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí pro takový typ analýz. Celkem jsme již adresovali více než 200 látek ze seznamu WADA. Díky spolupráci na tomto projektu jsem měla čest participovat také na vzniku prvního mezinárodního tutorialu k metodě SFC a do budoucna to jistě bude jedna z velice často citovaných publikací.

Máte nějaký recept, jak stihnout vědu a dostatek spánku?

Budete se divit, ale poctivě se musí dělat všechno. Proto šest až osm hodin spánku se snažím dodržovat. Většinou. Když ale přijde období, kdy je potřeba doopravdy intenzivně pracovat, pak je samozřejmě třeba obětovat volný čas a třeba i spánek, já tomu říkám „funkční level dva“. Ale samozřejmě organismus nejde vyčerpávat donekonečna. Když jsem pracovala na projektu v Ženevě, bylo potřeba se výzkumu věnovat nadstandardně. Tlačil nás čas, pracovali jsme v laboratorii patnáct hodin denně, protože jsme měli přesně nasmulované termíny měření v Německu. Abychom mohli používat nejlepší instrumentaci, létali jsme ze Ženevy měřit vzorky do laboratoře ve Frankfurtu.

Jelikož jsem původem z vesnice, jsem určitě zvyklá takzvaně vstát za práci, v tom jsem vyrostla. Byla jsem doma nejstarší z pěti dětí,

a vzhledem k tomu, že jsme v rodině neměli kluka, občas mi tato pozice náležela. Dokonce na to vzpomínám s úsměvem, protože sekání s kosou nebo řízení traktoru mě bavilo. Práce mi tedy nikdy nebyla cizí, a když mě něco zaujme, dovedu se nadchnout pro věc a následně jí i věnovat enormně mnoho času. Tak tomu bylo také na začátku mého profesního vývoje až do teď. Díky zázemí katedry analytické chemie, přístrojovému vybavení a otevřenému přístupu pana profesora Solicha (kdykoli jsem přišla s nějakým nápadem, podpořil jej) se mi podařilo relativně rychle se spoustu věcí naučit a posunout se ve výzkumu.

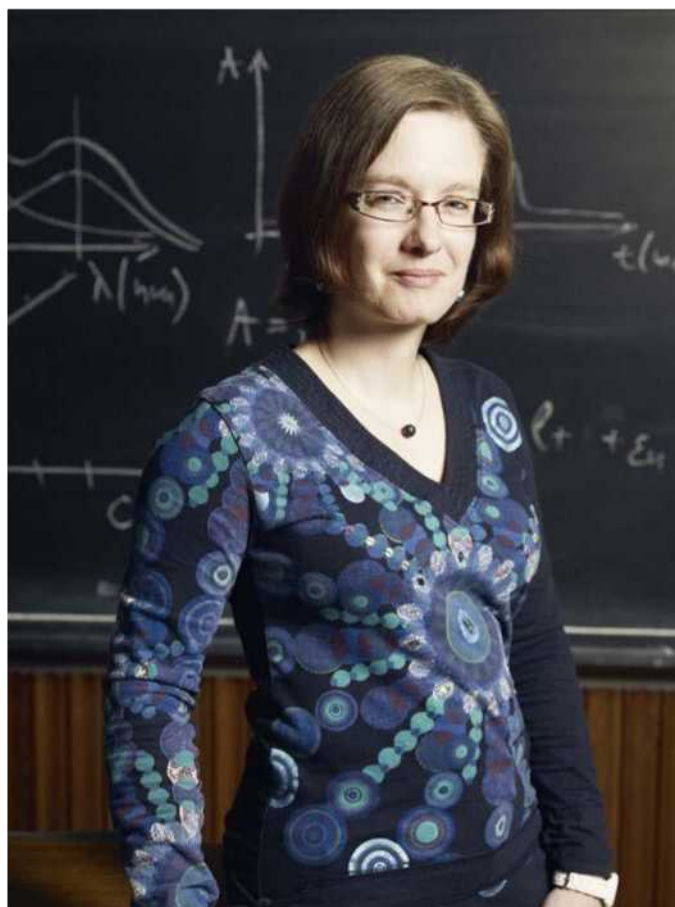
Pokud se vrátíme do vaší laboratoře, jak velké vzorky zpracováváte?

Máme tady nejen vzorky od laboratorních zvířat z farmakologických skupin z fakulty v obsahu desítek mikrolitrů, ale i vzorky rostlinného materiálu či léčivých přípravků, jako jsou tablety nebo topické přípravky. Vzorky od pacientů z nemocnice mají většinou asi jeden mililitr a není tolik náročné s nimi pracovat jako s minimálními objemy ze studií na laboratorních zvířatech. Tak malé objemy samozřejmě vyžadují speciální techniky pro jejich úpravu.

Získala jste za svoji práci řadu ocenění...

Ano, ke konci svého doktorského studia jsem získala taková ta klasická ocenění – Cenu ministra školství pro nejlepší studenty, Hlávkovu cenu, ale musela bych mít před sebou životopis, abych je všechna vybavila. Samozřejmě, velká prestiž je pro mě zejména zařazení do žebříčku Top 40 Under Forty, což je čtyřicet nejvlivnějších vědců v oblasti analytické chemie do čtyřiceti let. Do tohoto žebříčku se nemůžete přihlásit na základě svého zájmu. Můžete se tam dostat teprve tehdy, když vás někdo renomovaný v oboru nominuje. Jednotlivé přihlášky pak posuzuje mezinárodní komise, což znamená, že musíte mít na mezinárodním poli jméno. Právě proto, že jde o ocenění v mezinárodním měřítku, velice mě těší.

UMĚNÍ NACHÁZET NEVIDITELNÉ / ODSTRANIT NEŽÁDOUCÍ



Buňky jsou vybíravé a nevpustí jen tak nějakou látku. Zda se léčivu podaří projít přes membránový transportér a zda bude schopno v buňce interakce, analyzuje v rámci spolupráce s farmakology docentka Hana Sklenářová. Specifikem hradecké laboratoře průtokových technik na katedře analytické chemie je využívání metody, která není až tak často rozšířena ve výzkumných, natož rutinních laboratořích. Jedná se o nízkotlaké průtokové techniky, konkrétně o sekvenční injekční analýzu.

Tento postup, který vyvinuli koncem 20. století profesori J. Růžička a E. Hansen, ulehčuje v laboratoři manipulaci se vzorky a umožňuje vytvářet nové metodiky, jak automatizovat analýzu látek včetně on-line přípravy vzorků k analýze. Využití nacházejí nejen ve farmakologii, ale i např. pro monitorování kvality životního prostředí. Docentka Sklenářová spolupracuje rovněž na metodikách analýz vody a v dalších výzkumných oblastech s univerzitami v Argentině, Španělsku, Portugalsku a USA.

Nové metodiky, které se v Hradci vyvíjejí, umožňují při analýze složitější matrice (obsahující sledovanou látku v malém množství) odstranit ostatní složky vzorku většinou extrakčním postupem, ovšem již bez nutnosti manuálních operací. Ty jsou časově náročné, spotřebují víc organických

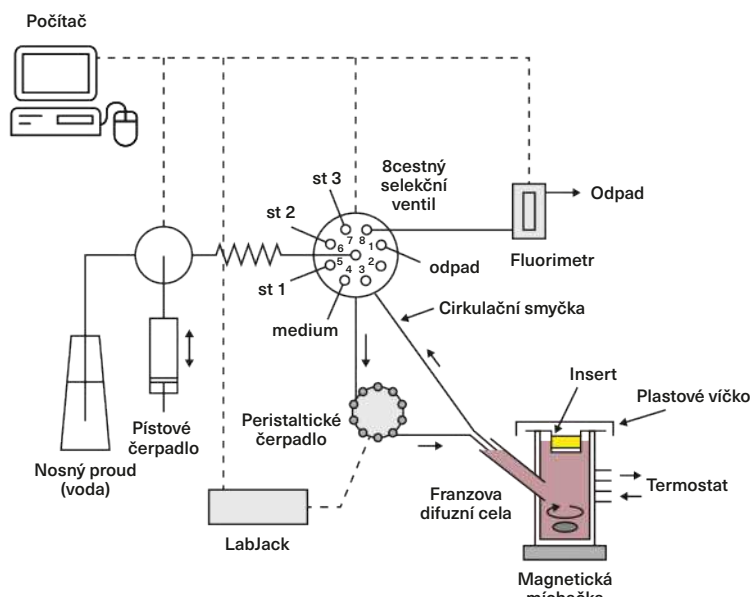
rozpouštědel a hlavně mohou být zatíženy chybou obsluhy, která extrakci provádí. Díky automatizaci v průtokovém systému je látka stanovena plně automatizovaně bez rizika lidské chyby.

„Snažíme se rutinním laboratořím ukázat, jaké možnosti průtokové techniky mají a že díky nim lze miniaturizovat řadu běžných postupů. Úpravy vzorku jsou jen jedna část, protože to, co se tady snažíme zdokonalit, je propojení systémů pro úpravu vzorku s instrumentálně složitějšími systémy pro dostatečně citlivou analýzu velmi malých koncentrací sledovaných látek,“ vysvětluje docentka Sklenářová. „Na publikace našeho základního výzkumu samozřejmě navazují patenty, kterými se snažíme automatizaci extrakčních postupů posunout o trochu dál.“

Snažíme se rutinním laboratořím ukázat, jaké možnosti průtokové techniky mají a že díky nim lze miniaturizovat řadu běžných postupů.

V rámci účasti na toxikologických studiích docentka Sklenářová sleduje, zda testovaná látka – nové léčivo, popřípadě exogenní látka z prostředí, která se dostane do lidského organismu – je schopna interakce, vazby na membránový transportér, který je na povrchu buňky. „Máme nějakou látku, která se v studiích používá jako model, je jednoduchá a většinou fluoreskuje. K tomuto markeru přidáváme různé další látky, což mohou být třeba léčiva, a sledujeme, jestli jednoduchá molekula – tedy marker – projde, nebo neprojde přes monovrstvu buněk, zda se látka naváže na membránu, nebo pokud projde dovnitř do buňky, zda pak třeba zablokuje průchod jiné látky. Hlavně chceme monitorovat tyto interakce v reálném čase a současně se tento postup snažíme také zautomatizovat.“ Při monitorování dané látky se běžně sleduje stav na začátku a pak například v hodinových odstupech. Docentka Sklenářová by ráda farmakologům poskytla přehled kinetiky a případně i spolupracovala na možnostech, jak v rámci jednoho testu sledovat více látek najednou.

Potenciál analytické chemie se vždy prokazuje ve spojení s aplikační sférou. Zmíněný postup by mohl vyřešit problém, se kterým se může potýkat každý z nás. Pokud ve starším věku budeme používat více léčiv a víc účinných látek, dalo by se tímto způsobem jednoduše zjistit, zda při používání kombinace léčivých látek nezablokujeme jedno léčivo tím, že ho užíváme ve stejnou dobu jako jiné. „Chtěli bychom sledovat, které kombinace nejsou vhodné, která léčiva by se dohromady neměla používat a měla by se nahradit jinou účinnou látkou,“ vysvětluje docentka.



Průtokový systém pro monitorování průchodu látek přes buněčnou monovrstvu

Spolu s kolegy ze zahraničních laboratoří vymýšlí nové postupy, jak by bylo možné usnadnit diagnostiku i toxikologické studie. Jak je převést do malého jednorázového mikrofluidního zařízení, ve kterém by bylo možné takovéto testy provádět. Mikrofluidní zařízení, jež pracuje na stejném principu jako průtokové systémy, se dá vyrobit i 3D tiskem. „Buď se používají různé polymery, které lze zpracovávat mechanicky, ale protože nedosáhneme požadované přesnosti, začíná se teď testovat 3D tisk. Zde se např. řeší otázka, zda můžeme kultivovat živé buňky na 3D tištěných materiálech.“

Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D., je zástupkyní vedoucího katedry analytické chemie. Specializuje se na průtokovou injekční analýzu (FIA), sekvenční injekční analýzu (SIA), automatizaci analýzy pitné a povrchové vody, tvorbu metodik pro automatizaci analýzy látek včetně on-line přípravy vzorků k analýze a automatizaci toxikologických testů. Na těchto tématech spolupracuje s univerzitami v Portu, Palmě a Bahía Blanca (Argentina). Je autorkou 52 impaktovaných publikací, podala dva české patenty a její počet citací přesahuje 430.

Sekvenční injekční analýza (SIA) je druhá generace průtokových analytických metod. Řadí se do tzv. neseparačních průtokových metod a její výhodou je rychlost, která umožňuje i při rozsáhlejších počtu vzorků nenáročnou automatizaci komplikovaných postupů při sériových analýzách. Miniaturizované průtokové systémy navíc významným způsobem snižují spotřebu vzorků i chemikálií a zabraňují lidské chybě při přípravě i samotném stanovení.

Předchůdcem této metody byla průtoková injekční analýza (FIA). Rozdíl mezi oběma metodami spočívá v principu dávkování vzorku a činidel do systému (u nové metody se používá selekční vícecestný ventil a pístové čerpadlo), ale především v geometrii nosného proudu, který je diskontinuální, takže umožňuje přímý i zpětný tok, čímž je vzniklý průtokový systém výrazně univerzálnější pro velké množství aplikací.

Z HRADCE KRÁLOVÉ NA HAVAJ

Jak daleko je z Hradce Králové na Havajské ostrovy? Více než 12 000 kilometrů. Přesto je tato cesta jednoduchým vyústěním sbližování dvou na prvních pohled natolik různorodých oborů, jakými jsou farmacie a oceánografie. Právě projekt vývoje analytických metod na bázi průtokových metod, jimiž se zabývá SIA Group vedená profesorem Petrem Solichem z Výzkumné skupiny analytické chemie, zavedl české vědce z Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové až do dalekého Tichomoří.

Oceánografie standardně používá průtokové metody pro zautomatizování měření. Skupina ze School of Ocean and Earth Science and Technology na University of Hawaii at Manoa, se kterou vědci z FaF UK v Hradci Králové spolupracují, se soustřeďuje na měření stopových kovů (zinku, manganu, hliníku, železa), což jsou markery různých bioprocusů v oceánu. Třeba zinek je růstový marker bioplanktonu a podle jeho obsahu se dá usuzovat, jak dochází ke změnám v růstu planktonu.

Vzorek se na lodi odebírá každé čtyři hodiny (pět litrů vody). Přínos královéhradeckého týmu tkví v tom, že připravil takové analytické metody, jejichž pomocí se sesbírané vzorky mohou zpracovávat a změřit již během plavby, čímž se výrazně snižují náklady na jejich odběr, případný transport do laboratoře a současně i likvidaci odpadu. Pouhý litr mořské vody k měření totiž přijde i na stovku dolarů. Pomocí těchto jednodu-

chých metod ovšem lze měřit rovněž mimo laboratoř a snadno zpracovat i vzorky, aniž by byly nějakým způsobem znečištěny.

Základní přístroj, přetvořený odborníky FaF UK, je komerčně dostupný a prakticky využitelný nejen v oceánu, takže je jeho pomocí možné i měření např. v českých říčních lokalitách. Hlavním přínosem jejich objevu je vyvinutí způsobu, který spotřebuje méně vzorků a činidel. Jednoduchým preprogramováním dokáže v jednom sestavení měnit podmínky měření, a lze jej proto využít pro různé látky.

Ke spolupráci mezi havajskou univerzitou a Farmaceutickou fakultou UK mohlo dojít díky profesorovi Jaromíru Růžičkovi, který na University of Hawaii at Manoa ve skupině chemických oceánografů v současnosti působí. Technologickou část výzkumu, jež zahrnuje vývoj automatizovaných analyzátorů a inovaci dosud používaných postupů, obstarala výzkumná skupina na vědeckém pracovišti v Hradci Králové, dokončení pak proběhlo během několika stáží na oceánografickém pracovišti na Havaji.

„V recenzním řízení máme publikaci o přístroji pro stanovení stopových množství zinku v mořské vodě,“ uvedl PharmDr. Petr Chocholouš, Ph.D., z FaF UK. „V případě oceánografie se věda nedělá ze dne na den jako při léčení člověka. Výsledky měření mohou být třeba dva tři roky staré, než se objeví výsledky jiných skupin. A teprve až se dají dohromady, vyjde třeba po pěti letech článek, který celou problematiku shrnuje. Je to globální věda.“



PharmDr. Petr Chocholouš, Ph.D., spolupracuje na vývoji vysoce citlivých a selektivních průtokových analytických metod pro stanovení stopových kovů v mořské vodě se School of Ocean and Earth Science and Technology na University of Hawaii at Manoa v americkém Honolulu v rámci bilaterálního ČR–USA projektu Pokročilé analytické techniky pro oceánografii a monitorování životního prostředí. Je nositelem ceny FIA Award for Younger Researchers za významné objevy a dlouhodobý přínos k rozvoji průtokových analytických metod, udělené v roce 2014 Japanese Association for Flow Injection Analysis (JAFIA), Japan Society for Analytical Chemistry.

Výsledky měření mohou být třeba dva tři roky staré, než se objeví výsledky jiných skupin. A teprve až se dají dohromady, vyjde třeba po pěti letech článek, který celou problematiku shrnuje. Je to globální věda.

ANALÝZA POTRAVIN, POTRAVINOVÝCH DOPLŇKŮ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Analytická chemie je rychle se rozvíjející obor, který musí nově vyvinutými metodami nabízet stále něco nového – rychlejší nebo citlivější stanovení, např. selektivnější a nové postupy úprav vzorků či detekce. V tomto oboru není jednoduché přijít s něčím opravdu převratným. Nyní se o to pokouší doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D., z FaF UK v Hradci Králové, jehož hlavním oborem je analýza potravin, potravinových doplňků a životního prostředí pomocí on-line extrakčních chromatografických technik.



Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D., se zabývá zejména analýzou potravin, potravinových doplňků a v neposlední řadě také analýzou životního prostředí. Je autorem a spoluautorem 67 impaktovaných publikací, jejichž počet citací přesahuje 1100. Spolupracuje s univerzitami v Portugalsku, Honolulu a v Granadě. Hlavním tématem jeho výzkumu jsou on-line extrakční techniky v chromatografických systémech.

„V poslední době jsme se začali věnovat aditivním látkám, které v potravinách nemají být,“ vysvětluje činnost svého týmu docent Šatínský. „Tím, jak se trh Evropské unie otevírá, sem proudí potraviny z různých oblastí světa, různého původu a různé kvality. Sledujeme v nich proto např. mykotoxiny a látky, které v nich být nemají, jako jsou například i zakázaná barviva. Začali jsme proto vyvíjet nové metody pro stanovení těchto látek.“

Nová metoda byla vyvinuta např. pro analýzu běžně známého mykotoxinu ochratoxinu A. Výzkumný tým z FaF UK se zaměřil na sledování jeho hladiny v českém pivu. „Mykotoxiny vstupují do potravinového řetězce přes použité suroviny, které již mohou být primárně kontaminované,“

Česká piva jsou na tom z hlediska opravdu stopových množství ochratoxinu A velice dobře a splňují normy EU. Všechny 45 zkoumaných vzorků ležáků z různých pivovarů v ČR bylo v pořádku.

vysvětluje doc. Šatínský, který konzumenty oblíbeného zlatavého moku ihned uklidňuje: „Česká piva jsou na tom z hlediska opravdu stopových množství ochratoxinu A velice dobře a splňují normy EU. Všechny 45 zkoumaných vzorků ležáků z různých pivovarů v ČR bylo v pořádku. Hodnoty ochratoxinu A, které se do piva dostanou přes suroviny, se pohybovaly 10–50x níže, než je povolená limitní koncentrace.“

Analyzovat vzorky piva je podle doc. Šatínského z analytického hlediska poměrně jednoduché, jeho tým proto míří spíše k vývoji technik pro úpravu a extrakce složitějších vzorků. „V poslední době jsou velmi moderní bio potraviny, je však otázka, co je pro člověka lepší,“ uvažuje doc. Šatínský. „Pro laika je lákavější bio jablko, ale netuší, co vše se v něm může skrývat. Otázkou tedy je, zda je lepší klasické jablko, v rozumné míře chemicky ošetřené podle přísně kontrolovaných norem, nebo neošetřené bio ovoce, na kterém může růst např. cizopasná houba, jež může do ovoce produkovat mykotoxiny.“

V případech potravinových doplňků tým doc. Šatínského vyvíjí analytické metody pro kontrolu jejich kvality, respektive kont-

rolu deklarovaného obsahu biologicky aktivních látek. Trh s potravinovými doplňky zažívá z celosvětového hlediska v posledních letech obrovský boom. Bohužel současná legislativa kontroly kvality dohlíží pouze na jejich hygienickou a zdravotní nezávadnost. Zjištěné výsledky v posledních několika letech nás však utvrzují v tom, že z hlediska kontroly obsahu uváděných biologicky aktivních látek se kvalita jednotlivých doplňků značně liší.

Docent Šatínský zároveň upozorňuje, že při kontrole kvality potravin nikdy nelze podchytit všechny škodlivé nebo zakázané látky během jedné analýzy. „Rozbor musíme vždy na něco cílit, na něco, co je pro potravinu rizikové,“ vysvětluje. „Například pokud jeden druh jogurtu vyrábí padesát výrobců, muselo by se všech 50 vzorů analyzovat prakticky na všechno – od polychlorovaných bifenylů (PCB) přes těžké kovy, mykotoxiny až po to, co se do mléka může dostat přes rostlinnou výrobu. To však není reálné, takže je analýza vždy cíleně zaměřena na konkrétní skupinu kontaminantů.“

9× ANALYTICKÁ CHEMIE NA FAF UK

350×

Tolikrát se vejde nejmenší analytický přístroj (mikroSIA) do největšího a nejdražšího přístroje v rámci ACG i FaF UK (Synapt G2-Si).

4

směry analytického výzkumu (kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, průtokové metody, elektroforetické metody); viz <http://portal.faf.cuni.cz/Groups/Analytical-Chemistry-Group/>.

12 489 km

do Bahía Blanky – nejvzdálenější zahraniční partner – Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

8

**mezinárodních
ocenění.**

3

**firmy z USA, se kterými ACG
úzce spolupracuje (Waters –
Milford, FIAlab – Seattle,
Global FIA – Fox Island).**

1:4 690 000 000

je poměr zinku a sodíku v mořské vodě.

8

dlouhodobých zahraničních partnerů (University of Melbourne, University of Hawaii at Manoa, Universidad Nacional del Sur, Universidade de Coimbra, Universidade do Porto, Université de Genève, Universidad de Granada, Universitat de les Illes Balears).

19

dlouhodobých stáží vědců z ACG v zahraničí za posledních 5 let (Honolulu, Melbourne, Auckland, Boulder, Bahía Blanca, Londýn, Cardiff, Ženeva, Brusel, Paříž, Amsterdam, Utrecht, Oslo, Umeå, Porto, Palma de Mallorca, Granada, Krakov, Bratislava).

18

národností z Evropy i zbytku světa působících v ACG (česká, slovenská, polská, maďarská, ukrajinská, ruská, slovinská, litevská, německá, italská, španělská, portugalská, americká, brazilská, argentinská, kolumbijská, thajská, australská).