

# **NÁZEV: Studie retenčního chování neopterinu v HILIC chromatografickém systému s různými typy stacionárních fází**

## **ABSTRAKT:**

Předmětem této diplomové práce je vývoj analytické metody určené k identifikaci a stanovení biologicky aktivních látek biopterinu, neopterinu a 7,8-dihydroneopterinu za použití metody chromatografie hydrofilních interakcí (HILIC) ve spojení s fluorescenční detekcí.

Neopterin představuje důležitý a užitečný parametr monitorování aktivace imunitního systému, který doprovází řadu infekčních a autoimunitních onemocnění. Zvýšená hladina neopterinu se vyskytuje také u různých typů malignit. V poslední době je neopterin spolu s 7,8-dihydroneopterinem spojován s intracelulárním oxidativním stresem a apoptózou buněk. Plně redukováná forma biopterinu se v lidském organismu uplatňuje jako kofaktor některých enzymů.

HILIC je varianta vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Testovány byly tři chromatografické kolony (LUNA HILIC, OBELISK R, OBELISK N) za různých chromatografických podmínek. Mobilní fázi tvořila směs vodné (octanový pufr, kyselina octová, voda) a s vodou mísitelné organické složky (acetonitril).

Chromatografická kolona OBELISK N poskytla při užití směsi acetonitrilu a 100mM octanového pufru o pH=4,8 chromatogram se zcela separovanými píky biopterinu a neopterinu, pík 7,8-dihydroneopterinu nespĺňoval patřičná kritéria. Kvantitativní limity pro biopterin a neopterin byly 1 nmol/l, detekční limity byly 0,3 nmol/l. Nejlepších výsledků při stanovení pteridinových derivátů bylo dosaženo s chromatografickou kolonou LUNA HILIC, která poskytla při použití mobilní fáze složené ze směsi acetonitrilu a 100mM octanového pufru o pH=6,8 chromatogram se zcela separovanými píky testovaných látek. Kvantitativní limity pro biopterin a neopterin byly 1 nmol/l, detekční limity pak 0,3 nmol/l. Kvantitativní limit pro 7,8-dihydroneopterin byl 25 nmol/l. Detekční limit 7,8-dihydroneopterinu byl 7,6 nmol/l.

## **KLÍČOVÁ SLOVA:**

Biopterin, neopterin, 7,8-dihydroneopterinu, HPLC, HILIC