

ABSTRAKT

Diplomová práce

Purifikace biokonjugátů azaftalocyaninů pomocí SPE

Jakub Cichý

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,

Katedra Farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Tato práce se zabývá vývojem metody pro čištění biokonjugátů azaftalocyaninů pomocí extrakce tuhou fází (SPE). Tyto deriváty azaftalocyaninů jsou zkoumány jako molekulární sondy zhášejíci fluorescenci v různých genetických analýzách.

Postupně byly uskutečněny experimenty s cílem najít ideální SPE podmínky pro tento analyt. Zkoušeli jsme různé druhy SPE kolonek a jejich vliv na extrakci. Následně byly optimalizovány jednotlivé kroky extrakce, provedeny změny pH, molarity a síly elučních roztoků se snahou získat co nejlepší separační výsledky. Jako nejlepší se jevila kolona DSC-Ph (500 mg/3 ml) a neoptimálnější podmínky byly:

- Kondicionace: 3 ml 100% MeOH + 5 ml 50mM TEAA
- Nanesení vzorku: 100 μ l 100nM
- Promývací roztok: 9 ml 55% MeOH/50mM TEAA
- Eluční roztok: 3 ml 80% MeOH/50mM TEAA

Touto metodou jsme získali výtěžnost extrakce analytu okolo 70-75 %, s relativním 10% znečištěním zbytky oligonukleotidových řetězců ve finálním eluátu.

Tato SPE metoda je určitou alternativou k již vyvinuté HPLC metodě pro čištění biokonjugátů azaftalocyaninů.

Klíčová slova: *Biokonjugáty azaftalocyaninů, SPE, příprava vzorků, HPLC.*