

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Iva Kaufmannová

Školitel: PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název diplomové práce: Hodnocení vlastností nových HILIC stacionárních fází pro analyty ze skupiny pteridinů s využitím metodiky UHPLC-FD

Předmětem této diplomové práce je hodnocení vlastností tří typů nových HILIC stacionárních fází určených k identifikaci a stanovení biologicky aktivních látek biopterinu, neopterinu, dihydrobiopterinu a dihydroneopterinu za použití metody UHPLC ve spojení s fluorescenční detekcí.

Neopterin slouží jako ukazatel aktivace imunitního systému a zánětlivých onemocnění. Jeho včasná detekce v moči nebo plazmě může pomoci odhalit patologickou imunitní aktivitu. Se zvýšenou hladinou neopterinu se setkáváme u virových či bakteriálních onemocnění, u autoimunitních nemocí, při HIV infekci či u zhoubných nádorů. 7,8 - dihydroneopterin je schopen bránit proteiny a lipoproteiny před oxidačním poškozením.

HILIC je chromatografickou metodou, kterou lze použít ke zvýšení retence velmi polárních sloučenin. Využívá polární stacionární fáze a mobilní fáze obsahující určité množství vody a polárního rozpouštědla. UHPLC je nejmodernější technologií umožňující vyvinout tlak okolo 100 MPa. Používá kolony s malými částicemi (< 2 µm), které přispívají ke zlepšení separační účinnosti a rozlišení.

Celkem byly testovány tři chromatografické kolony (BEH AMIDE, BEH GLYCAN, BEH HILIC) za různých podmínek, za kterých byla měněna hodnota pH, koncentrace a procentuální obsah vodné složky mobilní fáze. Kolona BEH HILIC neposkytovala za žádných podmínek dostatečnou retenci a selektivitu pro separaci všech čtyř pteridinů. Naopak tomu bylo u kolony BEH AMIDE, která vykazovala silnou retenci pro všechny analyzované látky, a to zejména při vysokých hodnotách pH (9,8). Nicméně při takto vysokém pH byla výrazně snížena selektivita separace pro páry neopterin – dihydroneopterin a biopterin – dihydrobiopterin, což vedlo k nežádoucí velmi dlouhé době analýzy. Nejlepší separace všech čtyř pteridinů, a zároveň dobré retence (do osmi minut), bylo dosaženo pomocí 50mM octanu amonného při pH v rozmezí 4,8 - 7,8.

Klíčová slova:

HILIC, UHPLC-FD, biopterin, neopterin, dihydrobiopterin, dihydroneopterin, 5,6,7,8 - tetrahydrobiopterin, BEH AMIDE, BEH GLYCAN, BEH HILIC