

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Barbora Pšenčíková

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Petr Kastner, Ph.D.

Název diplomové práce: Vývoj HPLC metody pro hodnocení metabolitů tryptofanu

Esenciální aminokyselina tryptofan je prekurzorem mnoha biologicky aktivních látek. V posledních letech bylo zjištěno, že se metabolity tryptofanu účastní patogeneze mnoha onemocnění, včetně neurodegenerativních chorob, psychiatrických poruch, autoimunitních nemocí nebo rakoviny. Z toho důvodu jsou potřebné analytické metody, které jsou schopny současně detekovat tryptofan a jeho metabolity.

Cílem této diplomové práce bylo vyvinout optimální HPLC metodu pro hodnocení tryptofanu a jeho metabolitů (kynureninu, kyseliny kynurenové, serotoninu a 5-hydroxyindol-3-octové kyseliny) a prozkoumat možnosti hodnocení kyseliny chinolinové a melatoninu.

Chromatografická separace byla provedena pomocí kolony Supelco Ascentis Express F5, velikost částic 2,7 μm , 15 cm \times 3 cm, za použití spektrofotometrické a fluorescenční detekce. Parametry detekce byly: pro kynurenin UV detekce 369 nm, 254 nm, fluorescenční detekce Ex/Em: 369/475; pro kyselinu kynurenovou UV detekce 244 nm; pro tryptofan UV detekce 300 nm, fluorescenční detekce Ex/Em: 280/334; pro serotonin UV detekce 280 nm, fluorescenční detekce Ex/Em: 280/334, pro kyselinu 5-hydroxyindol-3-octovou UV detekce 276 nm, fluorescenční detekce Ex/Em: 276/333.

Byly testovány různé typy mobilních fází. Konečná mobilní fáze se skládala z vody + acetátového pufru 0,1M pH 3,5/acetonitril v poměru 92/8. Separace byla provedena izokratickou elucí. Průtok byl stanoven na 0,5 ml/min a teplota kolony byla nastavena na 30 °C. Nastříkovaný objem byl 20 μl a celková analýza trvala 10 min. Metoda byla dále validována dle směrnic FDA a všechny validované parametry byly v přijatelném rozmezí.

Klíčová slova: tryptofan, kynurenin, kyselina kynurenová, serotonin, kyselina 5-hydroxyindol-3-octová, kyselina chinolinová, melatonin, HPLC