

Abstrakt

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A FARMACEUTICKÉ ANALÝZY

Kandidát: Gabriela Licková

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

Konzultant: Ing. Daniel Heblík

Název diplomové práce: Stanovení metabolitů tyrosinu

Tématem diplomové práce bylo stanovení metabolitů tyrosinu (adrenalin, noradrenalin, dopamin, L-DOPA) s využitím derivatizační reakce a následnou analýzou za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenčním detektorem.

Stěžejním krokem celé práce byla optimalizace podmínek derivatizační reakce. Jako derivatizační činidlo byl použit FMOC-Cl (fluorenylmethoxykarbonyl chlorid), který reagoval s katecholaminy v přítomnosti borátového pufru. Nejprve byla stanovena vhodná koncentrace činidla (2,7 mM), čas (15 min) a teplota (40 °C) reakce. Dále byla optimalizována koncentrace (100 mM) a pH (8,0) borátového pufru.

Pro účinnou separaci bylo nutné nastavit vhodné podmínky. Kolona byla použita silikagelová Kinetex EVO C18 s částicemi s pevným jádrem. Složení mobilní fáze bylo nutné optimalizovat a výsledná mobilní fáze se skládala z kyseliny mravenčí (20 mM) a acetonitrilu v poměru 32:68. Výsledná použitá průtoková rychlost činila 0,6 ml/min. Kolona byla temperována na 40 °C. Nástřikový objem byl 5 μ l a doba celé analýzy trvala 19 minut. Fluorescenční detektor byl nastaven na vlnovou délku 263 nm (λ_{ex}) a 313 nm (λ_{em}).

Klíčová slova: Tyrosin, Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin, L-DOPA, FMOC-Cl, Derivatizace, HPLC