

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Radka Jánková

Školitel: PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název diplomové práce:

Vývoj HILIC metodiky pro UHPLC- MS/MS stanovení pteridinů, porovnání selektivity různých stacionárních fází

Tato diplomová práce se zabývá vývojem HILIC metodiky určené k identifikaci a stanovení biologicky aktivních látek neopterinu, biopterinu, 7,8-dihydroneopterinu a 7,8-dihydrobiopterinu za použití ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem typu trojitého kvadrupolu.

Testovány byly tři chromatografické kolony (BEH Glycan, BEH Amide a BEH HILIC), na kterých bylo zkoušeno několik druhů mobilních fází a jejich vliv na separaci zkoušených látek. Mobilní fáze byla tvořena vodnou složkou (kyselina octová a mravenčí, octan a mravenčan amonný a hydroxid amonný o nízké koncentraci) s acetonitrilem.

Na chromatografické koloně BEH Glycan byly jako nejlepší vyhodnoceny mobilní fáze ve složení 1mM octan amonný o pH= 3,8 s acetonitrilem v poměru 30:70 a 1mM octan amonný o pH= 6,8 s acetonitrilem v poměru 28:72. Chromatografická kolona BEH Amide poskytla nejlepší výsledky při užití dvou mobilních fází ve složení 1mM octan amonný o pH= 4,8 s acetonitrilem v poměru 23:77 a 1mM octan amonný o pH= 6,8 s acetonitrilem v poměru 28:72. Chromatografická kolona BEH HILIC byla vyhodnocena jako nevhodná, protože neumožnila docílit separaci všech pteridinů.

Při zvolených optimálních podmínkách byla změřena opakovatelnost metody, linearita metody a její citlivost. Metody jsou lineární (pro BEH Glycan- $r= 0,9915-0,9999$, pro BEH Amide- $r= 0,9987-0,9999$). Vyšší citlivost vykazuje kolona BEH Amide (LOD se pohyboval u NEO a BIO v rozmezí 0,22- 0,91 nmol/l, u redukovaných forem 113,94- 916,67 nmol/l, LOQ se pohyboval u NEO a BIO v rozmezí 0,74- 3,00 nmol/l, u redukovaných forem 376,00- 3025,00 nmol/l).

KLÍČOVÁ SLOVA:

Neopterin, biopterin, 7,8-dihydroneopterin, 7,8-dihydrobiopterin, HILIC, UHPLC, hmotnostní spektrometrie, BEH Glycan, BEH Amide, BEH HILIC