

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra fyziky a fyzikální chemie

Kandidát: Bc. Martina Dvořáková

Školitel: Doc. Ing. Alice Lázníčková, CSc.

Konzultant: Mgr. Martina Hermannová, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace preparativní LC-MS metody frakcionace oligosacharidů hyaluronanu

Tato diplomová práce se zabývá optimalizací LC-MS analýzy oligosacharidů hyaluronanu v preparativním módu. Teoretická část stručně shrnuje dostupné informace o biologických a chemických vlastnostech kyseliny hyaluronové. Kyselina hyaluronová je snadno enzymaticky degradovatelná prostřednictvím savčích hyaluronidáz za vzniku oligosacharidů hyaluronanu, které mohou být biologicky aktivní v závislosti na jejich molekulové hmotnosti. K separaci a purifikaci oligosacharidů hyaluronanu se nejčastěji využívá vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Nové analytické metody založené na kombinaci separačních technik s hmotnostní spektrometrií umožňují snadnou a velmi citlivou identifikaci složitých oligosacharidových směsí. V experimentální části jsme se zabývali optimalizací podmínek ionizace oligosacharidů hyaluronanu v negativním a pozitivním módu. Nejprve jsme se zaměřili na nastavení napětí na kapiláře, napětí na sample cone, desolvatační teploty, průtoku desolvatačního plynu a průtoku cone gas. V MS spektrech 4-, 6-, 8- a 10- sacharidu hyaluronanu jsme sledovali vznik jednonásobně a dvojnásobně nabitých iontů a porovnávali jejich výslednou intenzitu. Na základě naměřených výsledků jsme si ověřili, že analýza oligosacharidů hyaluronanu v negativním módu je výrazně citlivější než v pozitivním módu. V dalším kroku jsme provedli optimalizaci složení eluentů v preparativním módu. Zjistili jsme, že přidání 0,1 % kys. mravenčí podporuje vznik negativních iontů, přidání 0,1 % amoniaku podporuje vznik pozitivních iontů, nejlepších výsledků jsme dosáhli při použití 100% metanolu.