

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové Katedra analytické chemie

Kandidát: Bc. Moldrzyková Karolína

Školitel: prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název diplomové práce: Vývoj UHPLC-MS/MS metody pro analýzu vybrané skupiny neurotransmiterů

Cílem této práce bylo vyvinout a optimalizovat metodu pro separaci a identifikaci skupiny 10 vybraných neurotransmiterů za pomoci ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC-MS/MS).

V prvním kroku byla provedena základní MS analýza za účelem získání experimentálních m/z hmotnostním spektrometrem, mimo jiné byl sledován retenční čas standardů. Ověřen byl mimo jiné vznik $[M+H]^+$, resp. $[M-H]^-$. Ze skenů produktových iontů byly vybrány nejintenzivnější fragmenty jednotlivých analytů, které byly následně použity při SRM. Byla provedena optimalizace kolizní energie a optimalizace nastavení iontového zdroje. Toto základní měření probíhalo na koloně ACQUITY UPLC BEH C18. V rámci hledání vhodné stacionární fáze byly testovány tři kolony v systémech s RP (ACQUITY UPLC BEH C18, Kinetex F5, ACQUITY UPLC BEH Shield RP C18) a šest HILIC kolon (Atlantis Premier BEH Z-HILIC, Luna NH2, ACQUITY UPLC BEH Amide, Synchronis HILIC, ACQUITY UPLC BEH HILIC, CORTECS UPLC HILIC). Jako vodná složka mobilní fáze byly testovány kyselina mravenčí ve vodě, octan amonný (pH 4, 6 a 9), mravenčan amonný pH 3, a jako složka organická byl testován acetonitril a okyselený acetonitril.

Byla provedena studie krátkodobé stability po dobu 24 hodin. Byla sledována změna plochy píků v čase ve 3 různých rozpouštědlech, a to ve vodě, 0,1 % kyselině mravenčí a 0,1 % kyselině octové. Vybrané analyty byly stabilní v obou kyselinách. Pro metodu na reverzních fázích byla jako vhodnější vybrána 0,1 % kyselina mravenčí, jelikož byla použita také k okyselení mobilní fáze.

Klíčová slova: 2-AG, 3-MT, 5-HIAA, 5-HT, AEA, DA, DOPAC, GABA, GLUT, HILIC, HVA, neurotransmitery, RP, stabilita, UHPLC-MS/MS