

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite

Eine Methode für Standards und für biologische Proben wurde erarbeitet - die Detektion erfolgte elektrochemisch. Neurotransmitter und Metabolite aus Rattenhirn konnten analysiert werden (S. 1-10)

AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈, 105Å, 5µ, 150x3mm HPLC-Säule

RP-Chromatographie Methodenentwicklung mit Ionenpaarbildner (Octansulfonsäure) in Phosphatpuffer NaCl im Laufmittel war erforderlich für die Funktion der elektrochemischen Detektion (S. 1-10)

Trennung der Neurotransmitter mit dem Starteluenten

Amine - Noradrenalin, Dopamin, 3-MT und 5-HT und die Säuren - DOPAC, HIAA, HVA (S. 3)

Erhöhung der Konzentration des Ionenpaarbildners (DOPAC / Dopamin Reihenfolge ändert sich, Trennung unzureichend für DOPAC und Dopamin) (S. 3 => 4)

Chromatographische Feinjustierung durch pH Erhöhung bzw. pH Senkung mittels Phosphorsäure (S. 4 => 5)

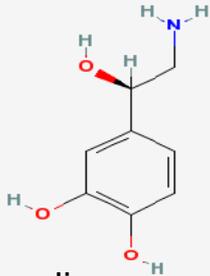
Messung der biologischen Probe (S. 6).

Weitere Methodenoptimierung durch Justierung Phosphorsäurekonzentration (S. 7 => 8 => 9)
=> gute Gesamtanalyse incl. guter Trennung DOPAC und Dopamin.

Ergebnis der biologischen Probe mit optimierten Chromatographiebedingungen (S. 10).

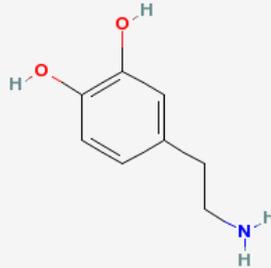
HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix

Katecholamine, Indolamine und Metabolite



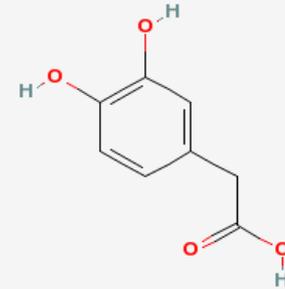
Noradrenalin

4-[(1R)-2-amino-1-hydroxyethyl]benzene-1,2-diol



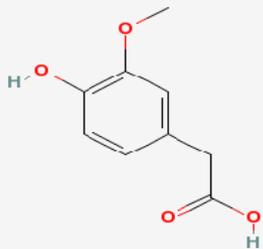
Dopamin

4-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol



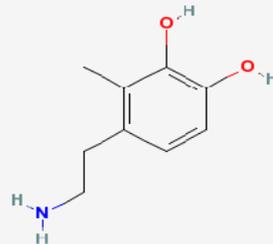
DOPAC

2-(3,4-dihydroxyphenyl)acetic acid



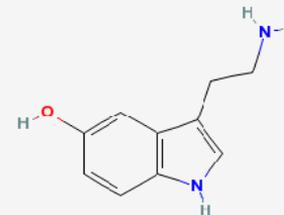
HVA; Homovanillic Acid

2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acetic acid



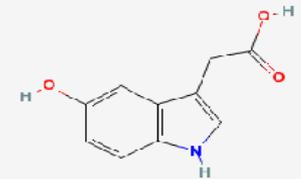
3-MT; 3-Methoxytyramine

4-(2-aminoethyl)-3-methylbenzene-1,2-diol



5-HT; Serotonin

3-(2-aminoethyl)-1H-indol-5-ol

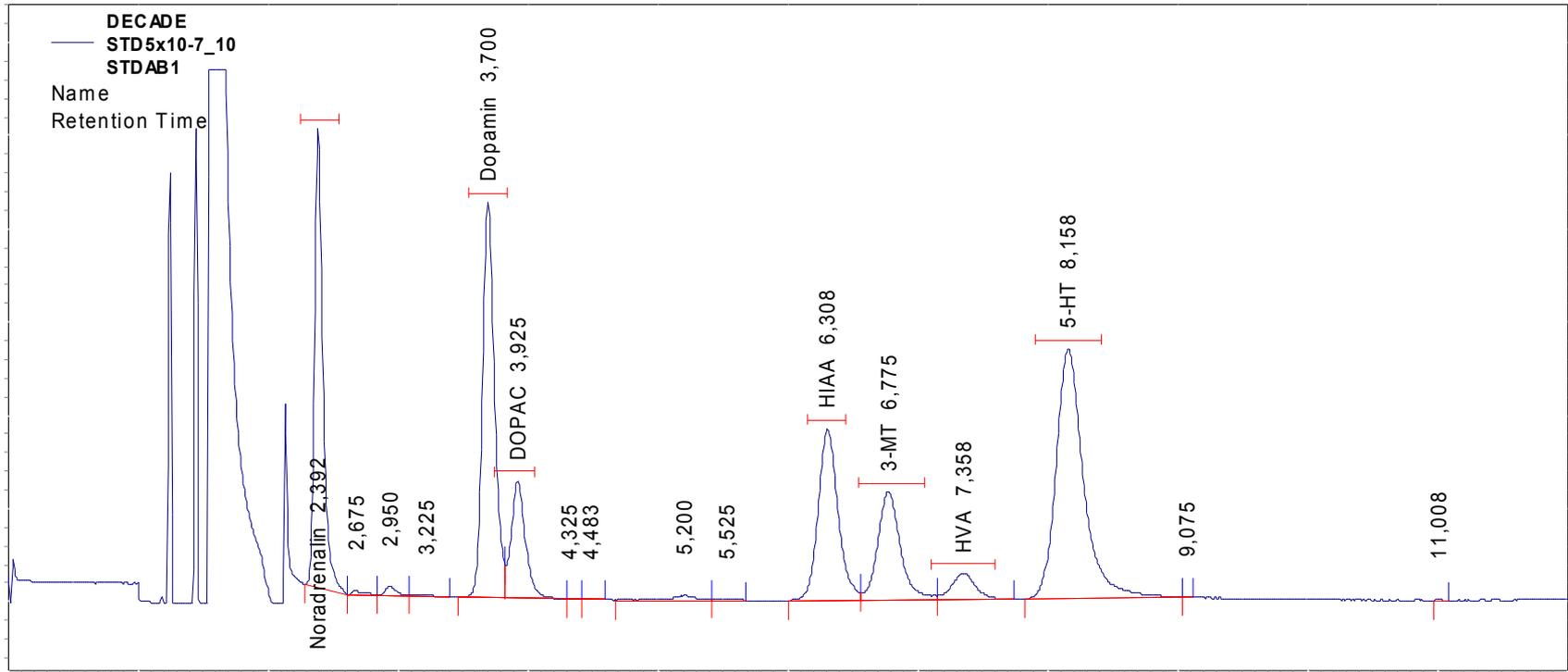


HIAA

2-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)acetic acid

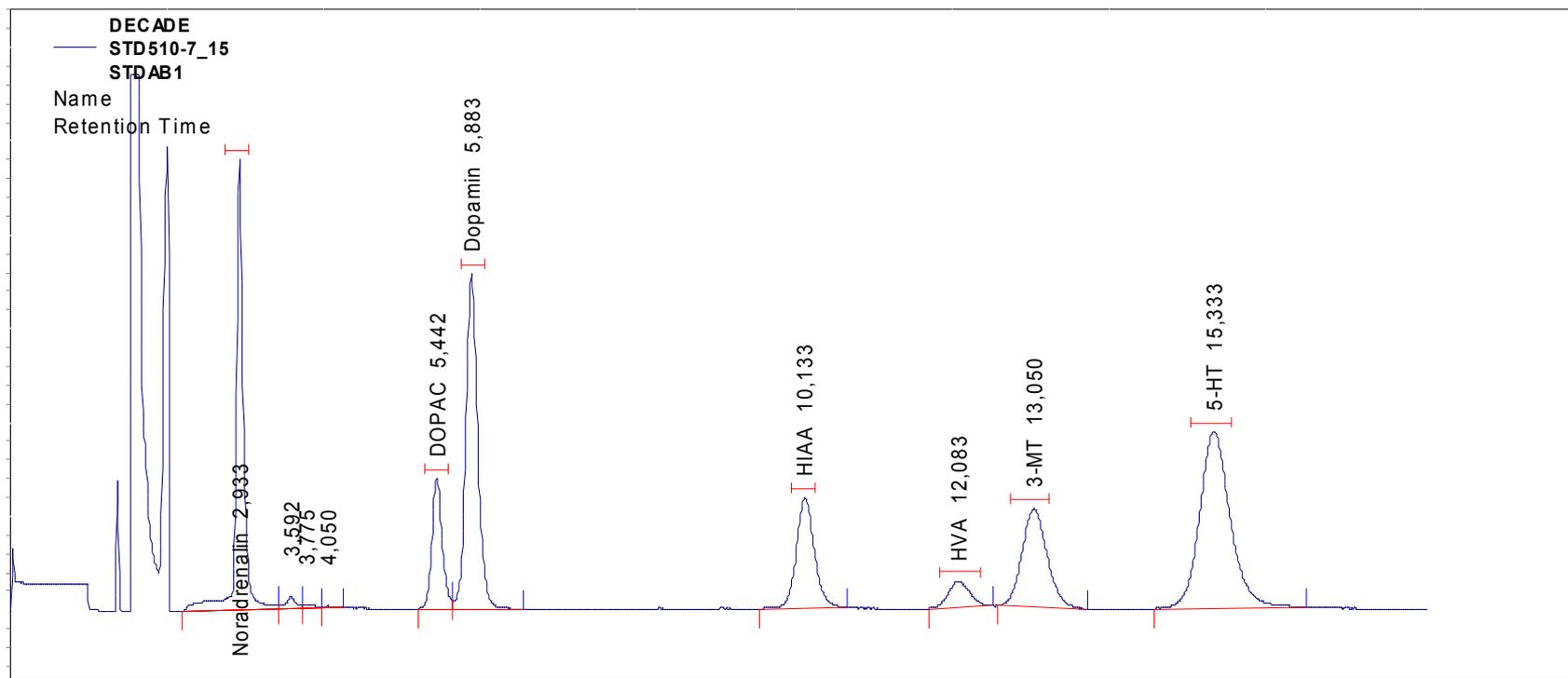
HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix

Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈**, 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss 0,5 ml/min, Temp. 30°C
 Mob.Phase: 80 mM Natriumdihydrogenphosphat, 0,5 mM EDTA, 0,85 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 0,35 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 50 ml 2-Propanol,
 aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

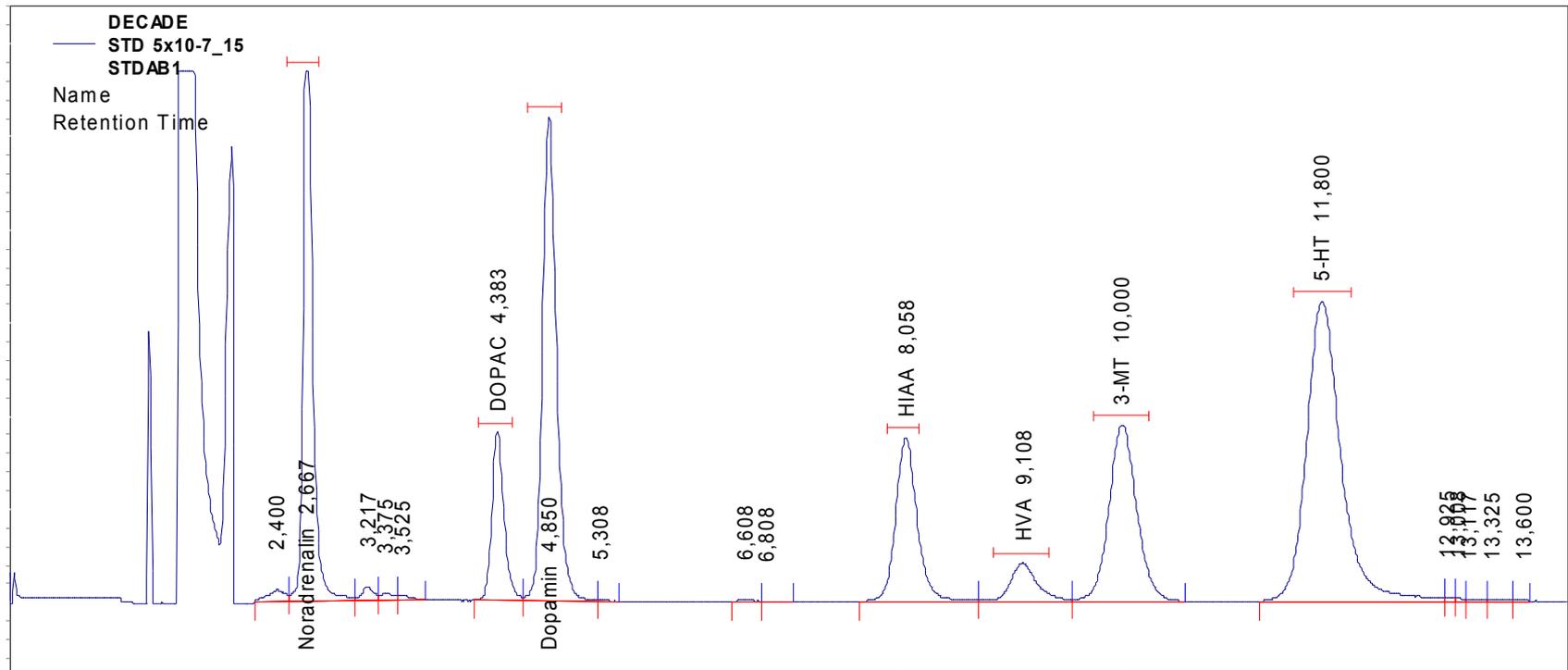
HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss 0,5 ml/min, Temp. 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 1,4 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 70 ml Acetonitril,
 aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

Methode freundlicherweise zur Verfügung gestellt durch Hr. Dr. Reinhard Sohr, Charite Universitätsmedizin Berlin, Inst. f. Pharmakologie, Berlin (Feb. 2010)

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule:

AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈ 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss 0,5 ml/min, Temp. 30°C

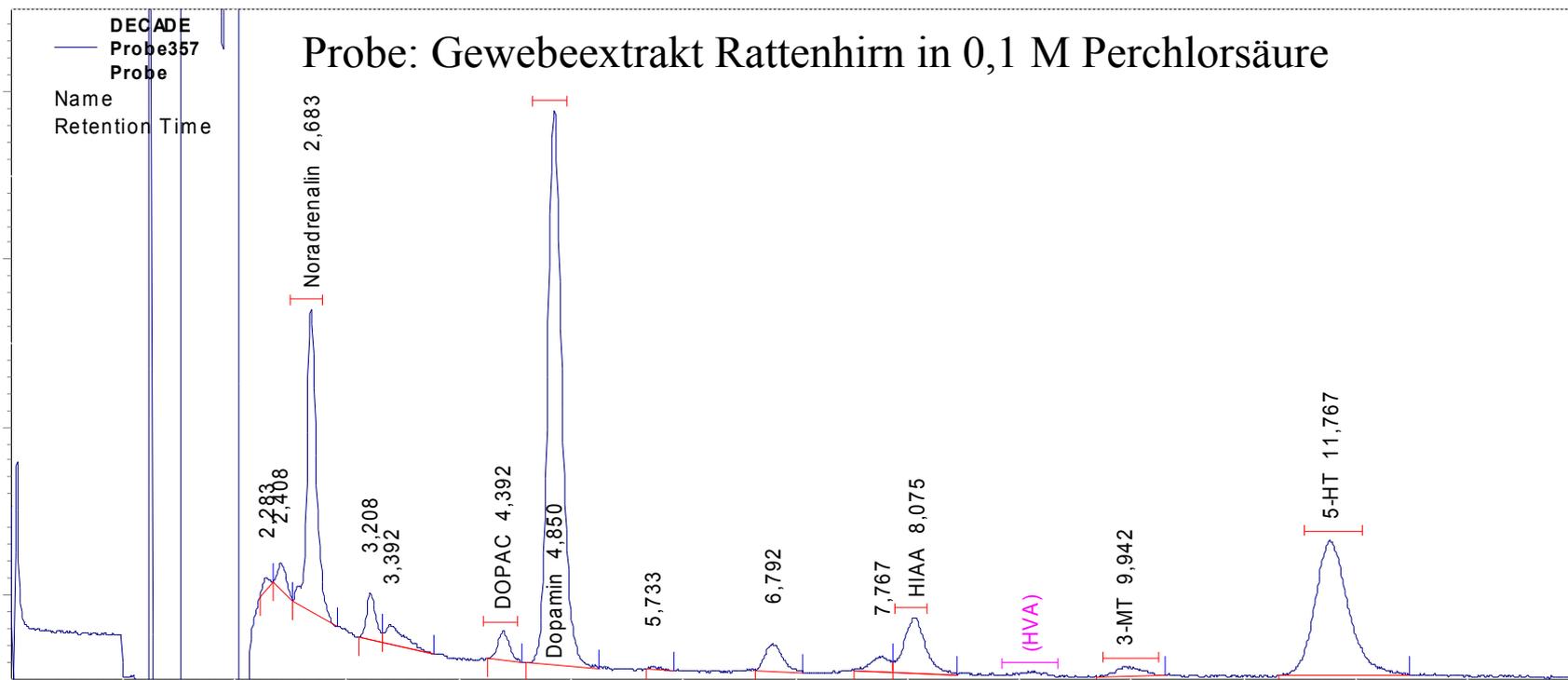
Mob.Phase:

100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz), 2 mM Natriumchlorid, 0,5 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 80 ml Acetonitril, aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser

Detektor:

elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

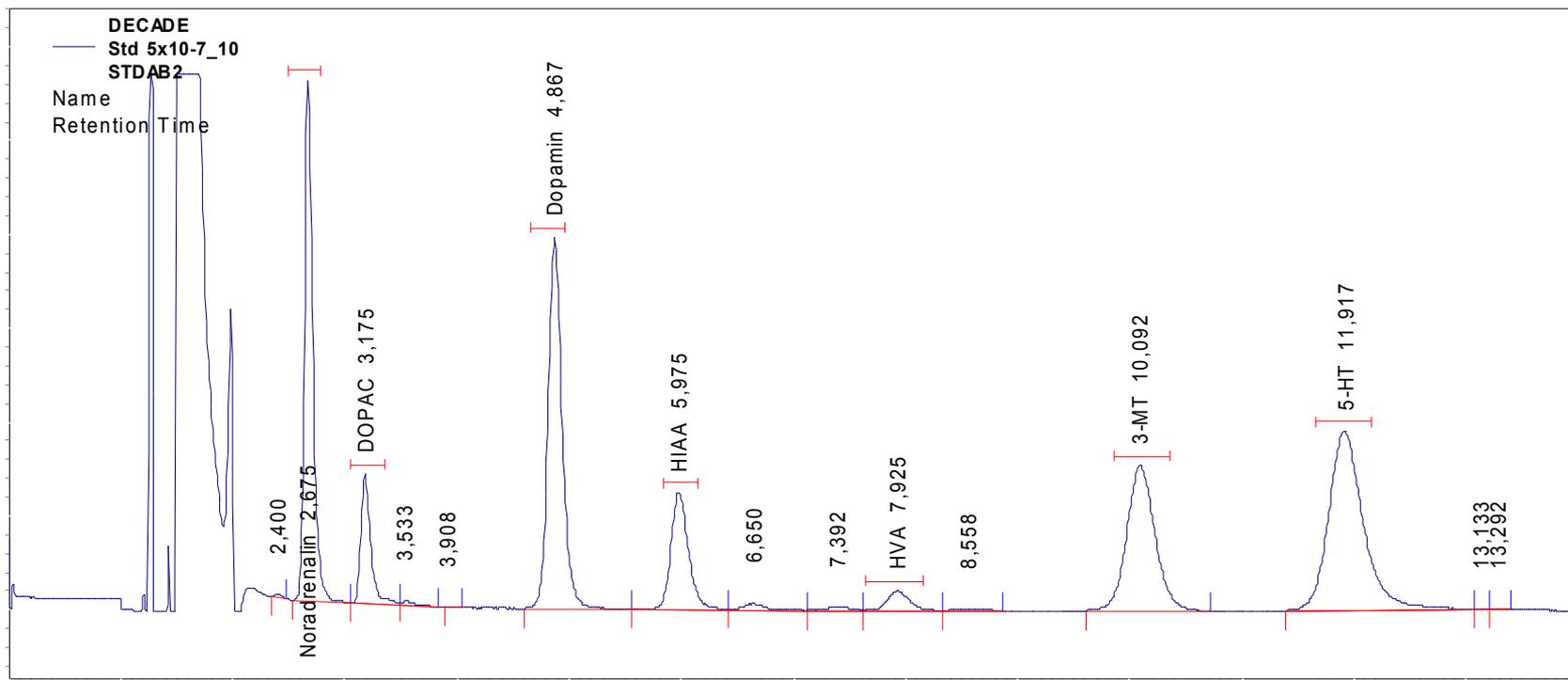
HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss: 0,5 ml/min, Temp.: 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 0,5 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 80 ml Acetonitril,
 aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

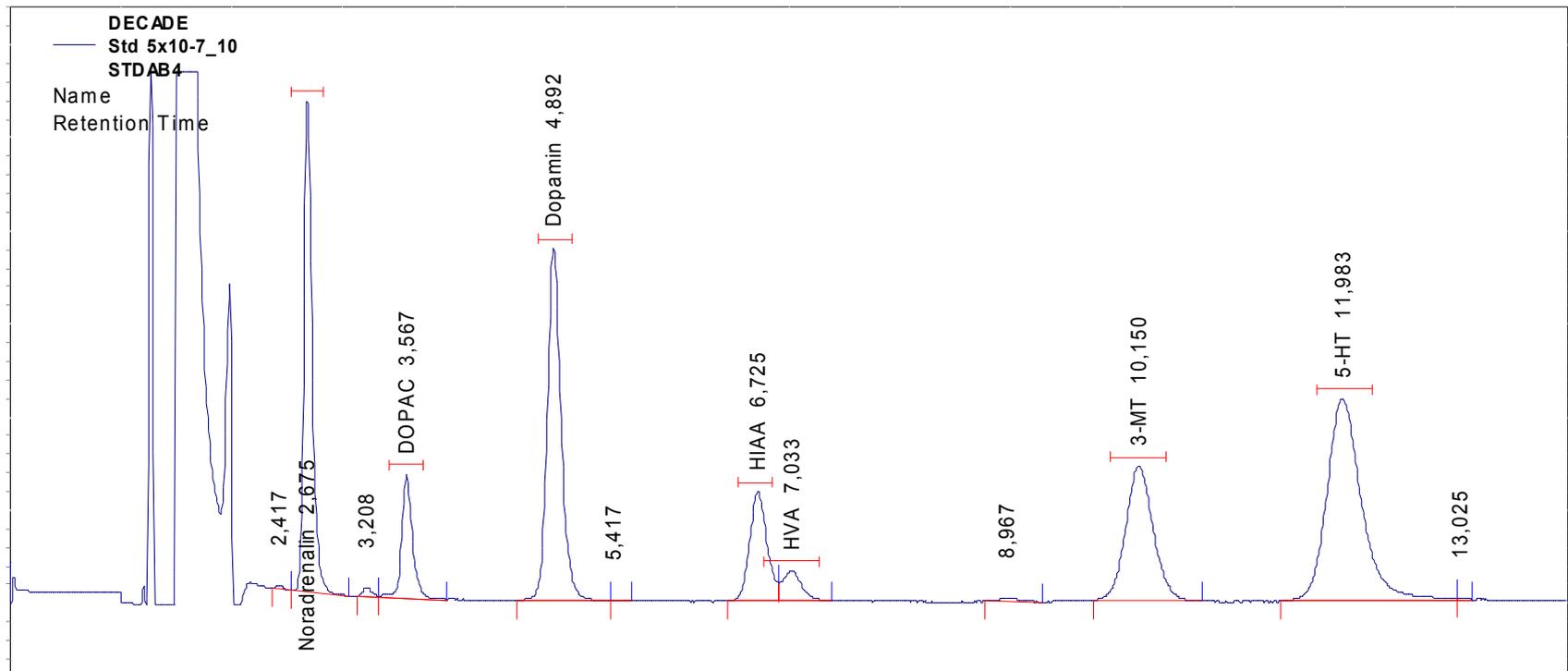
Methode freundlicherweise zur Verfügung gestellt durch Hr. Dr. Reinhard Sohr, Charite Universitätsmedizin Berlin, Inst. f. Pharmakologie, Berlin (Feb. 2010)

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



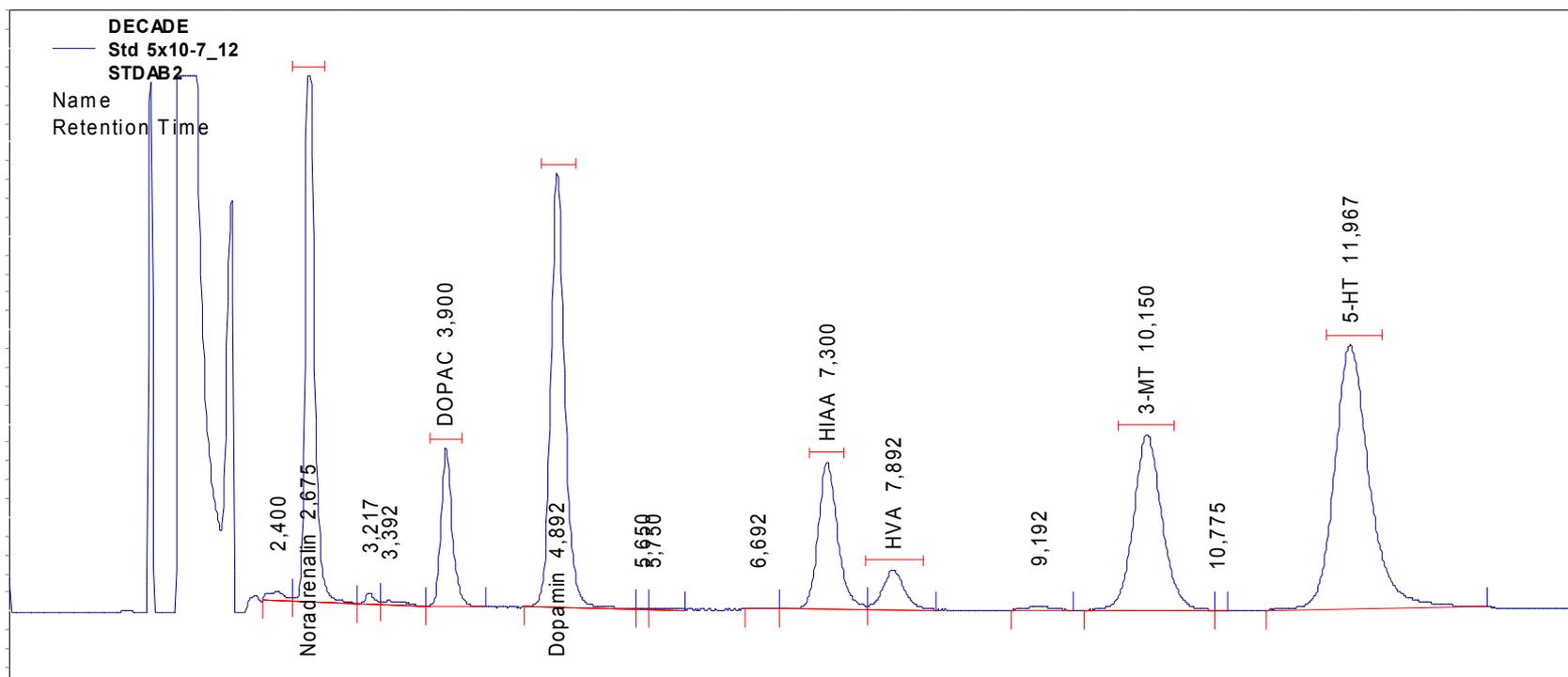
HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ 150x3 mm, Fluss: 0,5 ml/min, Temp.: 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 80 ml Acetonitril, aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



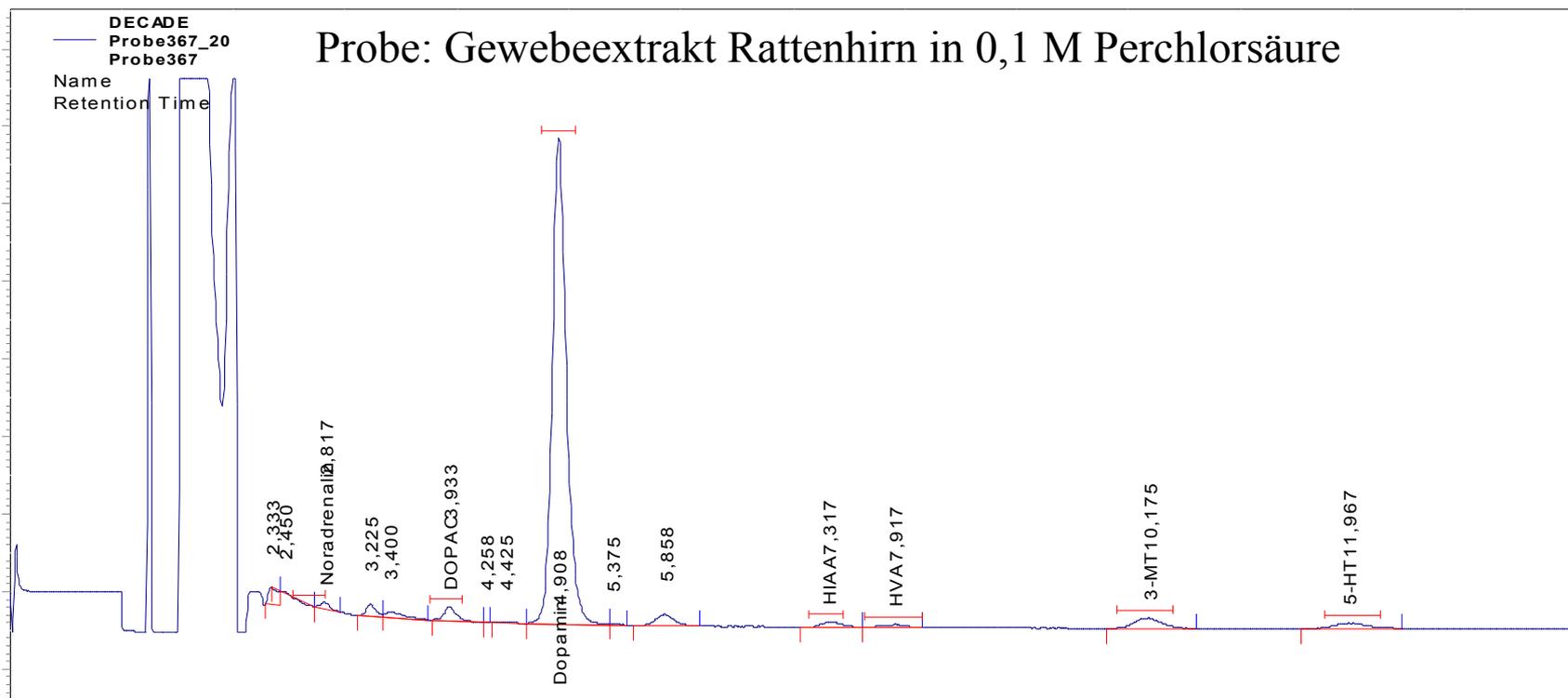
HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss: 0,5 ml/min, Temp.: 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz), 2 mM Natriumchlorid, 0,1 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 80 ml Acetonitril, aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss: 0,5 ml/min, Temp.: 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 0,2 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 80 ml Acetonitril,
 aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V

HPLC-Methodenentwicklung – Neurotransmitter und Metabolite aus biologischer Matrix Katecholamine, Indolamine und Metabolite



HPLC-Säule: **AppliChrom® OTU LipoMare C₁₈** 105Å, 5µ, 150x3 mm, Fluss: 0,5 ml/min, Temp.: 30°C
 Mob.Phase: 100 mM Natriumdihydrogenphosphat, 1 mM EDTA, 1,4 mM Octansulfonsäure (Na-Salz),
 2 mM Natriumchlorid, 0,2 ml Phosphorsäure (1:4 verd.), 80 ml Acetonitril,
 aufgefüllt auf 1000 ml mit Wasser,
 Detektor: elektrochemisch, Antek, Potential 0,65 V