

## **Abstrakt**

**Univerzita Karlova**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy**

**Kandidát:** Mgr. Tomáš Šemlej

**Vedoucí rigorózní práce:** doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

**Název rigorózní práce:** Vývoj HPLC metody pro monitorování přípravy oligodeoxynukleotidových sond

Uměle připravená oligodeoxynukleotidová sekvence s navázanou značkou je označována jako molekulární sonda. Molekulární sondy se uplatňují především ke kvantifikaci multiplikace při RT-PCR a identifikaci mutací při PCR analýzách. Typicky existují dva druhy molekulárních sond – jednoduše značené molekulární sondy a dvojitě značené molekulární sondy. Jednoduše značené molekulární sondy obsahují oligodeoxynukleotidovou sekvenci s navázaným fluoroforem nebo zhášečem. Zatímco dvojitě značené molekulární sondy se skládají z oligodeoxynukleotidové sekvence s navázaným fluoroforem na jednom konci a se zhášečem navázaným na druhém konci řetězce. V této práci jsme nejprve věnovali pozornost separaci dvojitě značených oligodeoxynukleotidů od jednoduše značených oligodeoxynukleotidů. Byly testovány různé typy stacionárních fází a pro separaci směsi značených oligodeoxynukleotidů byla vybrána kolona Clarity® Oligo-RP™, která byla selektivní ke všem testovaným standardům. V další části jsme se zaměřili na monitorování přípravy jednořetězcových oligodeoxynukleotidů značených zhášečem Q40 ze skupiny azaftalocyaninů, interkalačním činidlem FK8 a fluoroforem BDP16. Molekula navázané značky hrála zásadní roli při analýze. Podařilo se nám vyvinout tři specifické HPLC metody, pomocí kterých jsme dokázali vyhodnotit post-syntetické modifikace oligodeoxynukleotidových sond připravené *click* reakcí a rozlišit případné nečistoty ve vzorku.

**Klíčová slova:** HPLC, azaftalocyaniny, akridiny, bodipy, oligodeoxynukleotidy, molekulární sondy.