

Posudek disertační práce

Student: Mgr. Zuzana Vosáhllová
Disertační práce: Charakterizace a využití chromatografických módů s více interakčními mechanismy
Vedoucí práce: doc. RNDr. Květa Kalíková, Ph.D.
Studijní program: Fyzikální chemie

Předkládaná disertační práce se zabývá charakterizací různých typů stacionárních fází v rámci studia více interakčních mechanismů v módech kapalinové chromatografie s aplikací pro biologicky aktivní látky. Na platformě deseti publikovaných prací je disertace členěna do tří kategorií, které dohromady tvoří kompaktní celek. V první části se autorka věnuje retenčně-intrerekčním mechanismům reverzních a mix-mód stacionárních fází s popisem elektrostatických interakcí. V této části je testována a popisována korelace teoretických predikcí aplikovaných chromatografických modelů s naměřenými daty. Aplikací potenciál získaných dat vybraných chromatografických kolon byl následně ověřen pro různé chemické typy modelových sloučenin. Druhá část navazuje na tyto předchozí výsledky interakčních možností se zaměřením na chromatografii peptidů a proteinů na kolonách s charakterem mix-módu (MM). Po testování různých parametrů byla úspěšně vyvinuta metoda pro on-line štěpení proteinů s následnou separací na mix-mód koloně v UHPLC. Potenciál této metody je v kompatibilitě s možnou detekcí v oblasti hmotnostní spektrometrie (MS). Třetí část práce popisuje vliv různých chromatografických podmínek na retenci a analýzu terapeutických thiofosfátových oligonukleotidů v iontově-párové chromatografii na reverzních fázích a v HILIC módu. Získaná data byla následně použita pro analýzu oligonukleotidů ve vzorcích plazmy pacientů léčených těmito analogy v rámci terapie spinální svalové atrofie. Přínosem této nové metody je možnost separačního ověření přítomných nečistot, respektive identifikace metabolitů podávaného léčiva. V této identifikaci může pomoci skutečnost, že toto metodické navržené uspořádání je kompatibilní s MS detekcí. Použití HILIC módu je také výhodné při přípravě vzorku plazmy pacientů, kde stačí rychlá precipitace vzorku adekvátním podílem organické fáze a vzorek může být následně po filtraci injektován do stroje. Řešení práce je realizováno s ohledem na nejnovější trendy daného oboru. Kombinuje moderní analytické

přístupy separací a zároveň metody teoretických predikcí na platformě recentní literatury. Výběr tématu je velmi aktuální a získané výsledky mohou přinést cenná data pro vývoj dalších separačních metod v různých oborech. Teoretická část je sepsána velmi přehledně a dostatečně uvádí do dané problematiky. Z toho vyplývá, že autorka je erudovaným vědeckým pracovníkem v dané oblasti. Finální grafické uspořádání je vyhovující. Cíle práce byly v hlavních bodech dosaženy, zjištěné závěry byly publikovány v zahraničních impaktovaných časopisech a prezentovány na četných vědeckých a odborných setkáních, jejichž přehled je součástí předkládané práce. Výsledky jsou dobře diskutovány s ohledem na aktuální trendy další aplikační možnosti. Z formálního hlediska působí práce kompaktně a přehledně, je vhodně strukturovaná s absencí chyb a překlepů a podává dostatečný náhled řešené problematiky. Závěrem konstatuji, že autorka svojí prací předkládá kvalitní vědecké výsledky a prokazuje schopnost samostatné výzkumné práce.

Předložená práce svým obsahem a výsledky splňuje podmínky předepsané pro doktorskou disertační práci. Práci doporučuji k obhajobě a po úspěšné obhajobě navrhuji udělit autorovi vědecký titul Ph.D.

Dotazy k diskuzi:

- 1)** Byly pozorovány nějaké interference při měření oligonukleotidů ve vzorcích plazmy pacientů léčených nusinersenem? Měla nějaký vliv rozdílnost matrice u jednotlivých vzorků?
- 2)** Je možné se vyjádřit k robustnosti retenčních parametrů použitých chromatografických kolon v delším čase a v rámci různých šarží téže kolony?
- 3)** V části práce týkající se optimalizace HILIC podmínek pro analýzu oligonukleotidů jste pracovala s DNA oligonukleotidy, ale v případě reálného vzorku se jednalo o RNA oligonukleotidy. Je možné přímo aplikovat získané poznatky z DNA oligonukleotidů na analýzu RNA oligonukleotidů?
- 4)** Existují nějaká omezení při používání separační teploty 90°C použité pro oligonukleotidy (instrumentální etc.)?