

## Posudek na disertační práci Mgr. Hany Adamusové

Disertační práce Mgr. Hany Adamusové s názvem „Využití vysokoúčinných separačních metod pro analýzy biologicky aktivních látek“ řeší dvě celospolečensky velmi aktuální témata, jakými bezesporu jsou:

- i) Vliv vybraných endokrinních disruptorů na zrání živočišných spermií se zaměřením na kapacitanci a akrozomální reakci jako nezbytné biochemické fáze vývoje spermie, které předcházejí vlastnímu procesu oplodnění vajíčka. Jako disruptory byly testovány vybrané endogenní estrogény, popřípadě jejich syntetické analogy, a v průběhu studie byla sledována rychlost kapacitance pod vlivem různých hladin těchto látek v inkubačním médiu. Dále byl do těchto experimentů zahrnut i inhibiční vliv dalších látek vyskytujících se v životním prostředí jako jsou fluoridy a hlinité ionty. Inovativním počinem celé studie je aplikace chemické kinetiky na vysvětlení ryze biologického procesu, jakým je zrání spermií pod účinkem sledovaných látek.
- ii) Vývoj metod kapalínové chromatografie a kapilární elektroforézy pro sledování chirální čistoty nových farmaceuticky účinných látek jako je tapentadol hydrochlorid a acledinium bromid.

Podkladem pro obhájení této disertační práce jsou publikace v impaktovaných mezinárodních časopisech z oblasti separačních technik, které prošly náročným recenzním řízením v *Journal of Separation Science*, *Chromatographia*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (studentka je zde dvakrát první autorkou). Vedle toho je spoluautorkou dvou biologicky zaměřených publikací v *European Biophysics Journal* a *Scientific Reports*.

K autorce bych měl tyto otázky a k disertaci tyto připomínky:

- i) První část práce zabývající se zráním spermií vychází ze stanovení  $17\beta$ -estradiolu a  $17\alpha$ -ethynylestradiolu ve fertilizačním médiu, ve kterém byly spermie inkubovány. Pro stanovení estrogenů byly vyvinuty dvě nezávislé HPLC metody, jedna s UV detekcí a druhá s tandemovou MS detekcí. Jelikož v disertační práci ani v příložených člancích není publikován žádný záznam z těchto analýz, bylo by vhodné v průběhu obhajoby prezentovat příslušné chromatogramy a porovnat obě metody z hlediska limitu detekce, retenčního času, úpravy biologického vzorku, atd.
- ii) Elektroforetická separace enantiomerů léčiva acledinim bromidu (obr. 2.1) by zasluhovala podrobnější popis a vysvětlení. Jaká je polarita separačního napětí a jaký je mechanismus separace, když na elektroferogramu následuje po píku bromidů pík kationtu acledinia? Byl během separace monitorován elektroosmotický tok a v případě že ano, jaká je jeho pozice na elektroferogramu? Použitý základní elektrolyt vykazuje vysokou elektrickou vodivost, proto by bylo důležité uvést hodnotu separačního napětí a elektrického proudu tekoucího kapilárou. Vedlo použití kapiláry s rozšířenou optickou délkou v místě detekce ke zvýšení poměru signál/šum?
- iii) Chromatografická separace enantiomerů léčiva tapentadol chloridu byla provedena na řadě chirálních stacionárních fázích. Jaká je cena těchto kolon a kolik analýz vydrží?

Na závěr bych chtěl konstatovat, že Mgr. Hana Adamusová prokázala tvůrčí schopnosti a také že předložená práce splňuje všechny požadavky kladené na disertační práce v oboru Analytická chemie.