



**Oponentní posudek disertační práce Mgr. Zuzany Vosáhlové  
„Charakterizace a využití chromatografických módů s více interakčními mechanismy“**

Oponovaná disertační práce je zaměřena na studium separačních mechanismů stacionárních fází povahy mix-mód a dále na vývoj metod chromatografické separace ionizovaných či ionizovatelných sloučenin. Práce je zpracována kumulativní formou a je založena na úctyhodných 10 publikacích v renomovaných časopisech.

V úvodu kolegyně stručně shrnuje separační metody a následně se věnuje separačním mechanismům a interakcím analytů se stacionárními fázemi. Přehledně diskutuje testy, které v práci zvolila pro charakterizaci studovaných stacionárních fází a následně shrnuje možnosti analýzy cílových sloučenin a problémy, se kterými je nutné se při analýze polárních látek vypořádat. Úvod je poměrně stručný, nicméně rozsahem odpovídá typu disertační práce. V cílech práce je shrnut obsah řešených projektů, které jsou následně ve třech kapitolách diskutovány v části výsledkové.

První kapitola výsledkové části disertační práce shrnuje data získaná při screeningu interakčního potenciálu 10 vybraných stacionárních fází. Pro komplexní posouzení interakčních vlastností stacionárních fází kolegyně použila Waltersův test a linear free energy relationship model. Komplexní informace o interakcích poskytovaných stacionární fází jsou zásadní pro nastavení podmínek separací různých typů analytů. Získané poznatky tak pomohou uživatelům stacionárních fází charakterizovaných v této práci zvolit optimální separační podmínky pro různé typy analytů – kyselé, bazické, zwitterionty. Tím dojde k významné úspoře rozpouštědel i času, a tedy snížení nákladů na provedení potřebných analýz. K této kapitole mám následující dotazy:

- 1) Z jakého důvodu jste zvolila jako bazické analyty katinony? A když už katinony, proč jste volily ty, které nepatří mezi aktuálně nejčastěji zneužívané stimulanty?
- 2) V Tabulce 3 uvádíte struktury jednotlivých stacionárních fází. V případě C18 fází jsou selektory vyobrazeny způsobem, který naznačuje že řetězec obsahuje celkem 26 uhlíků. Je mezi tedy mezi C18 alkylovým řetězcem a nosičem ještě nějaký spojovací prvek?
- 3) U multimodálních fází pak není zobrazen způsob navázání nabitého fragmentu. Uvádí výrobce, jakým způsobem je nabity fragment navázán, případně jsou údaje o ukotvení v literatuře?

Další část disertační práce je zaměřena na využití mix-mód chromatografie pro analýzu peptidů, proteinů a jejich štěpných produktů. Kolegyně nejprve studovala optimální podmínky separace volných dipeptidů na třech stacionárních fázích. Prokázala, že mix-mód stacionární fáze jsou velmi slibné pro tento typ analýz, kdy na jedné z nich bylo dosaženo rozlišení na základní linii pro 14 peptidů. Zároveň zjistila, že výborných výsledků je dosaženo v bazickém pH, které je zásadní pro správnou funkci trypsinu při štěpení proteinů. Zaměřila se tedy na vývoj on-line metody pro štěpení a analýzu proteinů. Metoda využívá tandemového spojení trypsinové kolony, kde probíhá štěpení proteinu, v kombinaci s mix-mód kolonou a následnou detekcí hmotnostním detektorem s jednoduchým kvadrupolem. Celkově se jedná o velmi elegantní metodu analýzy proteinů, která bezpochyby najde široké uplatnění. K této části mám jen zvídavou doplňující otázku:

- 1) Co se skrývá pod označením „C<sub>7</sub>BzO detergent“? Tato zkratka je použita bez vysvětlení jak v disertační práci, tak v příslušné publikaci.



VŠCHT PRAHA

**Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze**

Technická 5, 166 28 Praha 6, telefon: (+420)220 443 688,

e-mail: michal.kohout@vscht.cz



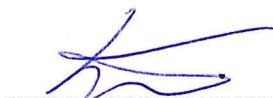
V poslední části práce se kolegyně věnovala analýze terapeutických thiofosfátových oligonukleotidů. Nejprve studovala složení mobilní fáze v iontově-párové chromatografii na reverzní fázi, kde definovala ideální kombinaci amin-protion, která při analýze poskytovala nejlepší rozlišení různě modifikovaných 21merů cílového oligonukleotidu. Studii následně rozšířila o využití HILIC módu s vhodně zvolenou stacionární fází, což umožnilo využít hmotnostní detekci k analýze vzorků a v konečném důsledku i analýzu vzorků plazmy dětských pacientů léčených oligonukleotidovým preparátem. Jednoznačně tak prokázala vhodnost použití mix-mód kolon pro řešení reálných separačních problémů v praxi.

Práce je napsána srozumitelně a věcně, přesto čitvě a naprostým minimem formálních chyb. Dovolím si poznamenat snad jen, že názvy solí by správně měly být psány s pomlčkou (např. diethylammonium-acetát) a že kyseliny zmíněné na str. 18 jsou alkansulfonové nikoli alkylsulfonové.

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce obsahuje množství původních výsledků, které byly publikovány v prestižních vědeckých časopisech. Mgr. Vosáhlová při řešení disertační práce prokázala potřebné tvůrčí a organizační schopnosti. Disertační práce splňuje všechny požadavky nutné pro její obhajobu.

V souladu s §47 odst. 5 zákona č. 111/1998 Sb. disertační práci **doporučuji** přijmout jako podklad k dalšímu řízení a po její obhajobě k udělení titulu Ph.D.

V Roudné, dne 14. 9. 2024



prof. Ing. Michal Kohout, Ph.D.  
Ústav organické chemie  
VŠCHT Praha