

Ing. Miroslav Kuchař, DrSc.,  
Zentiva, a.s.  
U kabelovny 130,  
102 37 Praha 10

**Oponentní posudek**  
na disertační práci (PhD.) Mgr. Boženy Kafkové na téma:

*Studium separačního chování vybraných biologicky aktivních látek  
kapilární kapalinovou chromatografií*

Disertační práci, kterou předkládá Mgr. Božena Kafková, lze rozdělit do dvou částí:

- 1) v první se zabývá achirální separací substancí ze skupiny potenciálních chemoterapeutik ze skupiny thioderivátů akridinu pomocí kapilární kapalinové chromatografie (CLC) a jejím využitím ke kvalitativní a kvantitativní analýze těchto látek;
- 2) druhá část je věnována chirální separaci enantiomérů ve třech skupinách známých opticky aktivních látek, a to bazických blokátorů  $\beta$ -adrenergických receptorů, protizánětlivých 2-arylpropanových kyselin („profenů“) a herbicidních polohových isomérů 2-(chlorfenoxy)propanové kyseliny.

Práce je koncipována v současnosti běžným způsobem, tzn. komentovaným souborem čtyř publikací, na nichž je deklarován většinový podíl práce Mgr. Kafkové. Seznam autorčiných publikací je doplněn dalšími třemi publikacemi; šest z nich je publikováno v cizojazyčných časopisech, vesměs s vyšší hodnotou IF. Komentář je doprovázen úvodem, který je věnován stručné historii mikrokapalinové chromatografie a chirálním separacím. Autorka zmiňuje i hlavní principy chiralit, ale přílišná stručnost je zde poněkud ke škodě věcnému výkladu. Je poněkud překvapující, že práce není zasazena do historického kontextu, neboť chybí informace o alespoň nejdůležitějších dřívějších publikacích, které se týkají obdobného hodnocení studovaných látek. Enantiomérním separacím všech tří skupin látek je v literatuře věnována široká pozornost. Za všechny cituji práci, týkající se přímo enantioseparace flobufenu na koloně Chirobiotic V (Tesařová E. a spol.: *Biomed. Chromatogr.* **1997**, *11*, 321-324).

První část, týkající se analytického hodnocení thioderivátů akridinu má rutinní metodický charakter, v němž šlo hlavně o vhodný výběr stacionární fáze. Autorka vcelku správně odhadla rozdílné chování aminoderivátů, pro něž bylo záhodno zvolit jinou kolonu vzhledem k jejich výraznějšímu bazickému charakteru. Ten významně narušuje solvofobní mechanismus separace charakteristický pro ostatní slabě bazické deriváty. Nutno podotknout,

že vyšší bazicita je výsledkem zavedení nové aminoskupiny do molekuly, což v textu na str. 18 není zřejmé. Použití vnitřní normalizace pro stanovení čistoty v přítomnosti nečistot, u nichž je značné nebezpečí výrazně nižší extinkce (viz reakční schema v publ. 1, str. 35) je rizikové a bylo by vhodné na toto v textu upozornit.

Druhá část předložené disertace je věnována chirální separaci pomocí CLC, v níž jako chirální selektory byla použita makrocyclická antibiotika teikoplanin a vankomycin. Selektory byly použity jednak jako aditiva v mobilní fázi, jednak vázaná na stacionární fázi (Chirobiotic T a V). CLC byla provedena v modu reverzní fáze s proměnlivým množstvím modifikátoru v mobilní fázi (podle charakteru hodnocených analytů), po případě v polárně organickém modu. Ve všech třech skupinách hodnocených látek byly pečlivě vyhodnoceny vlivy podílející se na separaci enantiomérů za účelem nalézt optimální podmínky pro tuto separaci. Výsledky této značně rozsáhlé experimentální práce jsou shrnuty v závěru disertační práce a vcelku přehledně jsou zhodnoceny možnosti, které poskytuje CLC s chirálními selektory – volnými či vázanými – v chirální separaci studovaných tří skupin bioaktivních látek.

Lze tedy konstatovat, že z praktického hlediska byl cíl disertační práce splněn.

K teoretickým úvahám zdůvodňujících některé rozdíly v enantioseparaci mám několik dotazů:

- a) Zvyšující se retence atenololu se stoupajícím pH (publ. 5, str. 87) je vysvětlována silnější interakcí analytu s disociovanou karboxylovou skupinou teikoplaninu – tedy interakcí, která pravděpodobně především ovlivňuje enantioseparaci. Nabízí se však jiné vysvětlení, vycházející ze solvofobního mechanismu separace v kapalinové chromatografii s obrácenou fází, kde určující pro retenci analytu je jeho lipofilita – ta u bazického analytu ve zmíněné oblasti pH s hodnotou pH stoupá.
- b) V souvislosti s chirální separací protizánětlivých 2-arylpropanových kyselin by mě zajímala představa autorky o způsobu a charakteru interakce (interakcí) těchto analytů s chirálním selektorem.
- c) Obtížnější chirální separace flobufenu je vysvětlována rozdíly ve struktuře ve srovnání s ostatními profeny. Čím si lze vysvětlit obtížnou separaci fenoprofenu a ibuprofenu? (publ. 5, str. 89).
- d) Ve skupině dichlorfenoxipropanových kyselin je obrácený trend v enantioselektivitě s obsahem methanolu u 2,4-dichlorderivátu připisován sterickým interakcím (publ. 5, str. 90). Uvítal bych bližší vysvětlení.
- e) Pro retenční chování profenu je v publ. 6 (str. 534) použit poněkud složitý výklad týkající se jejich retenčních charakteristik. Nabízí se vcelku jednoduché vysvětlení

odpovídající jejich lipofilitě – hodnoty log P jednoznačně sledují odpovídající retenční charakteristiky:


Substance	Log P
carprofen	3.78
flobufen	3.78
flurbiprofen	3.55
fenoprofen	3.35
ketoprofen	3.00
suprofen	2.62
indoprofen	2.32

- f) V souvislosti s vysvětlením rozdílné enantioseparace flobufenu volným a vázaným vankomycinem je zmíněna diskriminační úloha ketoskupiny (v sousedství chirálního centra) v separaci. Prosím o bližší vysvětlení.

Z formálních připomínek uvádím pouze, že prefixy *R* a *S* ve spojení s názvem látky jsou vždy v závorce. Dále upozorňuji na termín „profen“, který chemicky nic neznamena, a proto nelze použít spojení ...deriváty profenu (viz str. 24); dále, v českém názvosloví používáme chlorfenoxy... a nikoliv chlorofenoxy..... (viz str. 22).

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce Mgr. Boženy Kafkové představuje obsahově konsistentní vědeckou práci s jasně formulovaným a posléze splněným cílem. Práce splňuje všechny náležitosti doktorské (PhD) disertační práce, a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě jako podklad pro udělení vědecké hodnosti PhD.

V Praze 29. srpna 2007



Miroslav Kuchař