

Posudek disertační práce Mgr. Martina Popra „SYNTHESIS OF CYCLODEXTRIN DERIVATIVES FOR PRACTICAL APPLICATIONS“

Tématem práce Mgr. Martina Popra je syntéza derivátů cyklodextrinů nesoucích kvartérní amoniové funkce zkoumání jejich vlastností. Teoretická část je zpracována přehledně a dostatečně podrobně ve většině kapitol. V části 3.5 „Deposition of modified CDs on solid support“ bych uvítal podrobnější rozbor iontových interakcí ve vodných prostředích. Jak autor sám uvádí, doposud publikované práce využívaly interakcí *polykationických* cyklodextrinových polymerů s povrchy modifikovanými anionickými skupinami (Nafion). Samoskladba polykationických a polyanionických látek je obecně dobře známa, hnací silou je multivaletní efekt iontového párování (elektrostatická interakce) s případnou asistencí vodíkovými vazbami. Není ale zřejmé, proč se autor domnívá, že by k samoskladbě mělo docházet i v případě ve vodě velmi dobře solvatovaných dikationických látek (viz dále kapitola 4.2.). Očekával bych, že pokud není z literatury znám precedens kotvení dikationtů na povrchy samoskladbou iontovým párováním (i na jiných substrátech než CD), autor najde příklady samoskladby dikationických amoniových solí a disulfonových kyselin ve vodných roztocích. Např. J.-M.-Lehn publikoval sérii relevantních prací již v 70. a 80. letech minulého století, jako příklad bych uvedl práci, která se zabývá syntézou polyaminů a polyguanidinů a jejich komplexací různých aniontů (Helv. Chim. Acta 1979, 62, 2763-2787); z této práce ale spíše vyplývá, že stability komplexů diaminů a diguanidinů, kde bazické skupiny jsou odděleny třemi nebo čtyřmi methylenovými skupinami, s dianionty jsou ve vodných roztocích velmi slabé a měřitelné hodnoty byly získány v roztocích methanol/voda 9:1.

Vlastní popis výsledků a diskuse je rozčleněn na dvě hlavní části – syntézu cyklodextrinových derivátů monosubstituovaných v pozici C-6 řetězci nesoucími kvartérní amoniové skupiny a popis jejich vlastností.

Při syntéze autor vycházel z O-6 mono tosylovaných prekursorů, jejichž příprava je známa, v rámci této práce byly modifikovány separační metody, což vedlo k vyšší čistotě těchto derivátů. Následují konverze O6 monotosylesterů α -, β - a γ -cyklodextrinů reakcí s aminy, buď terciárními, kde produktem jsou kvartérní amoniové soli, nebo sekundárními a následnou kvarternizací methylací. Produktem jsou tedy kvartérní mono-, di- a triamoniové soli. Je popsán i alternativní postup zavedení diamoniového substituentu adicí terminálního substituovaného acetyleny na 6-azido- β -cyklodextrin. Tato část je zpracována velmi dobře, postupy vedou k efektivní přípravě produktů a ty jsou velmi dobře charakterizovány.

V kapitole 4.2. jsou popsány vlastnosti některých připravených produktů. Je zde popsána jejich tepelná stabilita, resp. jejich termální degradace za podmínek Hofmanovy eliminace; některé produkty (vinyl a allylamoniové soli) této reakce jsou docela zajímavé z hlediska jejich možného dalšího syntetického využití.

V další části jsou zkoumány schopnosti některých z produktů tvořit inkluzní komplexy s deriváty benzenu nesoucími karboxylovou nebo hydroxylovou funkci, popř. aminoskupinu. Jako metoda byla zvolena isothermální titrační kalorimetrie, měření byla provedena ve vodných roztocích při pH 2,5, 7 a 10. Z podrobného popisu v experimentální části, vyplývá, že zvolené koncentrace (v cele cca 0.8 mM) byly velmi nízké vzhledem k asociačním konstantám; např. pro $K=500 \text{ M}^{-1}$ by optimální koncentrace v cele byla 0,1 M a mezní nejnižší koncentrace 2 mM, což je cca třikrát vyšší než autorem použitá koncentrace v cele. Proto je titrační křivka velmi plochá s nutnou fixací stechiometrického parametru N, což vede k nižší spolehlivosti stanovení. Předpokládám, že důvodem byla nedostatečná rozpustnost a neoptimální experimentální podmínky jsou tedy nechtěným důsledkem, se kterým je nutno se smířit. Nerozumím ale interpretaci výsledků konstant stability o-hydroxybenzoové kyseliny a PEMPDA- β -CD;

v souladu se závěry mimo jiné i výše citované práce J.-M- Lehna bych očekával, že maximální stability komplexu bude dosaženo, když obě interagující látky ponese opačné náboje. V případě permanentně nabitého PEMPDA- β -CD by k tomu mělo dojít spíše v oblasti vyššího pH, kdy bude plně disociována i karboxylová funkce. Experimentální data jsou v rozporu s tímto předpokladem, autor to stručně komentuje blíže neupřesněnou ion-dipolovou interakcí. V Grafu 3 chybí data pro stanovení při pH 10, která by v případě PEMPDA- β -CD byla více potřebná, než v případě nativního β -CD (Graf 2). V souhrnu lze říci, že konstanty stability jsou nízké a vliv iontového párování s karboxylovou funkcí o-hydroxybenzoové kyseliny se příliš neprojevuje, pokud vůbec. Relevantní práci pro srovnání je publikace Matsui and Okimoto (*Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1978**, 51, 3030), kdy byl pozorován čtyřnásobný nárůst asociační konstanty při komplexaci (4-hydroxy-1-naftylazo)-1-naftalen-sulfonátu mono(6-trimethylammonio-6-deoxy)- β -cyklodextrinem ($K_a=1,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) oproti nativnímu β -cyklodextrinu. Tři aminoskupiny na cyklodextrinu již poskytnou podstatně větší nárůst stability: např. Boger a Knowles (*J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 7631) při interakci symetrického tris(6-amino-6-deoxy)- α -CD s benzylofosfátem stanovili $K_a=3,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, což je 1000-krát větší hodnota než pro reakci benzylofosfátu s nativním α -CD ($K_a=33 \text{ M}^{-1}$). Ve srovnání s analogickými pracemi substituce kvartérními amoniiovými funkcemi komplexační vlastnosti nových látek příliš nezvyšuje, nebo nebyly nalezeny vhodné komplementární struktury inkludovaných molekul.

V další části (4.2.3) se autor věnuje kotvení kationických PEMPDA- β -CD samoskladbou s anionickými funkcemi na površích. Jak jsem uvedl výše, podobné samoskladby opačně nabitých polymerů jsou známy, nejsem si ale vědom žádné práce, kde by dostatečně stabilní samoskladby bylo dosaženo interakcí diamoniové funkce s dianionty. Autor zkoušel nejprve polymerní pryskyřice Dowex-50, zde pozoroval absorpci jak PEMPDA- β -CD tak nativního β -CD a dovedl, že je důsledkem hydrofobní interakce cyklodextrinových makrocyclů s polystyrenovou maticí. Následně tedy zvolil Nafion 117 a na základě gravimetrické analýzy dovedl, že dochází ke komplexaci PEMPDA- β -CD sulfonovými funkcemi polymeru a pozoroval časovou závislost ustavení rovnováhy koncentrace PEMPDA- β -CD v roztoku. Rovnováhy je dosaženo po cca 50 hodinách. Zde vyvstává otázka, proč je ustavení rovnováhy tak pomalé; interakce organických iontů – malých molekul - ve vodě jsou rychlé procesy, očekával bych časy nejvýše v sekundách. Domnívám se, že extrémně pomalé ustavení rovnováhy je v důsledku jiných dějů než elektrostatické interakce. Navrhoval bych např. pomalé navlékání PEMPDA- β -CD na perfluoralkylové řetězce polymerní matrice (stabilní komplexy perfluoroalkanolů s β -CD jsou známy), popř. inkluzi cyklodextrinů do kanálků v nafionové membráně (*Nature Materials* **2008**, 7, 75 - 83). Autorem navrhované interpretaci nesvědčí ani pozorovaná absence kotvení derivátů **35** a **36** (kapitola 4.2.4); pokud by hnací silou měla být pouze interakce mezi dvěma kvartérními amoniiovými solemi v postranním řetězci CD a sulfonovými skupinami polymeru, není důvod, aby se deriváty **35** a **36** vůbec nekotvily. Autorem diskutovaná inkluze amoniiových funkcí do kavity (Obrázek 14) skutečně není pravděpodobná a vzhledem k tomu, že autorem provedené experimenty ji vyloučily, nerozumím tomu, proč je tato hypotéza vůbec spekulována.

V poslední části je studována interakce derivátů benzenu s povrchy se zakotvenými molekulami PEMPDA- β -CD. Autor použil nafionovou membránu 100x100 mm s adsorbovanými 5 mg PEMPDA- β -CD a vystavil ji vodnému roztoku derivátu benzenu po dobu 20 hod (do ustavení rovnováhy), poté membránu několikrát promyl vodou a methanolem zpětně extrahoval komplexovanou látku, jejíž koncentraci v methanolicím roztoku poté stanovil pomocí UV spektrometrie. Podílem specificky vázaného „hosta“ a dříve stanovené povrchové koncentrace PEMPDA- β -CD v membráně vypočítal poměr „obsazených“ a „volných“ kavít. Vidím zde dva zásadní problémy: autor předpokládá konstantní výchozí povrchovou koncentraci PEMPDA- β -CD i při další dvacetihodinové ekvilibraci s vodným roztokem derivátů benzenu. Nezbytně ale musí dojít k ustavení nové rovnováhy koncentrací PEMPDA- β -CD mezi tímto novým roztokem a povrchem. Povrchová hustota PEMPDA- β -CD se tedy

musí snížit po druhé ekvilibraci oproti předpokladu (5 mg/100 cm²), přičemž toto snížení bude úměrné objemu vodného roztoku „hosta“ použitého v experimentu (není uveden v experimentální části). Podobně trojnásobné promytí membrány vodou před extrakcí methanolem velmi pravděpodobně sníží povrchovou koncentraci komplexovaného „hosta“; asociační konstanty jsou relativně nízké a kinetika komplexace molekul v cyklodextrinových kavitách se pohybuje v milisekundách.

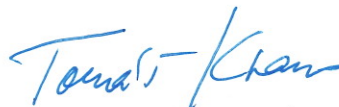
Experimentální část je prezentována standardním způsobem a nemám k ní námitek.

Celkově lze konstatovat, že syntetická část práce je na velmi dobré úrovni, výsledky studia vlastností nově syntetických látek vykazují některé nejasnosti. Bylo by vhodné, aby autor při obhajobě vyjasnil několik výše diskutovaných problematických bodů, zejména:

- 1/ Z čeho autor dovozuje, že organické dikationty mohou tvořit stabilní komplexy s dianionty ve vodných prostředích?
- 2/ Jak si vysvětluje nízké hodnoty asociačních konstant PEMPDA-β-CD s o-hydroxybenzoovou kyselinou; proč nezkusil jiné kyseliny?
- 3/ Jak autor zdůvodňuje dlouhý čas ustavení rovnováhy komplexace PEMPDA- β-CD a sulfonových funkcí na nafionové membráně?
- 4/ Proč se autor domnívá, že nedojde k disociaci předpokládaného komplexu PEMPDA- β-CD a sulfonových funkcí při další 20-ti hodinové ekvilibraci s deriváty benzenu?
- 5/ Proč autor předpokládá, že při trojnásobném promývání zakotveného komplexu PEMPDA- β-CD a derivátů benzenu vodou nedojde k jejich dekomplexaci?

Disertační práce je pečlivě zpracována, napsána je v anglickém jazyce na vysoké úrovni téměř bez formálních chyb. Splňuje požadavky kladené na doktorandské studium, a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 23.1. 2017



Mgr. Tomáš Kraus Ph.D.

ÚOCHB AV ČR