

**Posudek oponenta na disertační práci Marie
Honetschlägerové-Vadinské
“Chirální separace biologicky významných látek pomocí
vysokoúčinných separačních metod za využití
makrocyclických antibiotik”**

Disertační práce je předkládána jako kompilace tří publikovaných prací uvedených společným textem.

Cílem práce je studium vlivu modifikace struktury chirálního selektoru (teicoplanin vs. teicoplanin aglykon) a vlivu stupně pokrytí nosiče chirálním selektorem (kolony Chirobiotic T vs. Chirobiotic T2) na retenční a enantioseparační chování vybraných β -blokátorů, profenů, herbicidů na bázi chorfeoxypropanové kyseliny a aminokyselin s rozvětveným řetězcem. Dále byla v práci porovnána separace enantiomerů na komerčních HPLC kolonách a na připravených kapilárních kolonách.

Práce je rozdělena do standardních částí, počínaje úvodem a teoretickou částí. Zde jsou stručně uvedeny základní informace o chiralitě a principech chirálních separací. Přehledně jsou uvedeny základní typy chirálních selektorů a podrobněji skupina makrocyclických antibiotik. V práci jsou rovněž uvedeny údaje o vlastnostech, použití a publikovaných chirálních separacích vybraných analytů. Experimentální část shrnuje experimentální podmínky použité v příložených pracích. Vlastní obsah jednotlivých prací je podrobněji rozebrán v kapitole 5.1- Komentář k publikovaným pracím.

První článek („Study of enantioseparation behaviour of profen NSAIDs on teicoplanin aglycone-based chiral stationary phase by HPLC“, 3rd International Student Conference: Modern Analytical Chemistry, **M.Vadinská**, Z.Bosáková, E.Tesařová, Praha 2008) se zabývá chirální separací skupiny 8 profenů na komerční HPLC koloně s teicoplanin aglykonem. V práci je provedeno srovnání separací v reverzním módu při různých hodnotách obsahu methanolu, koncentraci a pH TEAA pufru. Vlastní výsledky jsou stručně shrnuty a komentovány.

Tématem druhého článku („LC with a Teicoplanin Aglycone Chiral Sorbent for the Separation of the Enantiomers of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs; An Evaluation of the Chiral Capillary Columns“; **M. Vadinská**, Z. Bosáková, E. Tesařová, P. Coufal, J. Planeta, *Chromatographia* 67, 2008, 33-40) je srovnání separace a retenčního chování vybraných profenů na komerční HPLC koloně a připravené kapilární koloně za různých pracovních podmínek (obsah org. modifikátoru, pH a koncentrace TEAA pufru). U obou systémů bylo provedeno srovnání reprodukovatelnosti a opakovatelnosti.

Ve třetím článku („Comparison of enantioselective HPLC separation of structurally diverse compounds on chiral stationary phases with different teicoplanin coverage and distinct linkage chemistry“, **M. Honetschlägerová-Vadinská**, S. Srkalová, Z. Bosáková, P. Coufal, E. Tesařová, *J.Sep.Sci.*, 2009, 32, 1704-1711) se autoři zabývali srovnáním účinnosti chirální separace strukturně rozdílných látek na dvou komerčních kolonách s různým stupněm pokrytí teicoplaninem a rozdílným způsobem jeho vazby na nosič. Jako analyty sloužily všechny 4 výše zmíněné skupiny analytů. Chirální separace byly srovnány při různých separačních módech (HILIC, PI a RP) za různých experimentálních podmínek.

Jelikož se jedná o články zveřejněné v renomovaných odborných časopisech, byly jistě zevrubně hodnoceny příslušnými recenzenty. Proto nevidím důvod tyto dále komentovat. Protože se jedná o práce kolektivní je asi jediným problémem určit podíl, kterým se na nich uchazečka podílela.

Poznámky, dotazy a komentáře

1. Označení živého organismu za „komplexní soustavu chirálních komponent“ vyvolává dojem, že v něm žádné achirální látky nejsou, což evidentně není pravda.
2. V úvodu bych očekával stručnou definici, přehled a komentář parametrů používaných v chirálních separacích k popisu jejich účinnosti, resp. selektivity. Bylo by rovněž vhodné stručně objasnit pracovní módy HPLC používané v chirálních separacích.
3. V kapitole 3.4 autorka uvádí že „Větší porozita nosiče stacionární fáze vede ke zkrácení doby analýzy“ a na str. 18 „Větší pórovitost zajišťuje vyšší hodnoty specifického povrchu silikagelového nosiče“. Jak obecně souvisí porozita, permeabilita a povrch nosiče s.f. s účinností separace?
4. V kapitole 3.4.1 lze číst větu „Před navázáním na silikagel musí být volná aminoskupina proteinu chráněna před hydrolyzou“. Lze její obsah blíže osvětlit?

5. Jsou známy chirální selektory na bázi makrocyclických antibiotik, které nejsou glykopeptidy?
6. V obrázcích 3 a 6 bylo vhodné označit chirální uhlíky tak jako v obr. 4 a 5.
7. Na obr. 5 je špatný vzorec pro 2,3-CPPA (špatná poloha atomu Cl).
8. Počítačový program pro sběr dat Clarity není od firmy Watrex ale od firmy DataApex.
9. V závěru by mělo být sdělení, zda a do jaké míry bylo dosaženo vytyčených cílů práce.

Předkládaná disertační práce splňuje všechna nezbytná kritéria a proto ji také doporučuji k přijetí.

V Praze, 26.8.2009

RNDr. Radomír Čabala, Dr.

