

## **Oponentský posudek disertační práce Mgr. Petera Kalafuta s názvem Možnosti uplatnění nových stacionárných fáz v analýze liečiv.**

Předložená disertační práce má celkem 165 stran. Z celkového rozsahu je 55 stran věnováno teoretické části, 48 stran zabírá experimentální část a na 2 stranách jsou uvedeny závěry. Zbytek spisu tvoří přehled publikačních výstupů, souhrny, seznam zkratk a seznam použité literatury. Dizertační práce má všechny předepsané náležitosti a po formální stránce je zpracována pečlivě.

Experimentální část je rozčleněna do tří částí, které svým zaměřením odpovídají třem prvoautorským publikacím Mgr. Kalafuta:

1/ Kalafut P, Kucera R, Klimes J, Sochor J. An innovative approach to the analysis of 3-[4-(2-methylpropyl)phenyl]propanoic acid as an impurity of ibuprofen on a carbon-coated zirconia stationary phase. *J Pharm Biomed Anal.* 2009;49(5):1150-6 (IF 2,453).

2/ Kalafut P, Kučera R, Klimeš J. The influence of a carbon layer deposited on a zirconia surface on the retention of polar analytes in an organic rich mobile phase. *J Chromatogr A.* 2012, 1232:242-7 (IF 4,194).

3/ Peter Kalafut, Radim Kucera and Jiri Klimes. The Retention Behavior of Acidic, Basic and Neutral Pharmaceuticals on the Deactivated Polybutadiene Zirconia Phase. *Current Analytical Chemistry* 2012, 8: 574-582 (IF 1,00).

První část dizertační práce popisuje vývoj, optimalizaci a validaci originální HPLC metody na separaci a kvantifikaci ibuprofenu a dvou strukturně velmi podobných látek, jejichž stanovení je předepsanou součástí lékopisných zkoušek na obsah nečistot v substanci ibuprofenu. K separaci byla využita kolona obsahující částicový sorbent na bázi oxidu zirkoničitého pokrytým uhlíkem (Zr-CARB). Během optimalizace bylo testováno více druhů zirkoniových kolon a pozornost byla dále věnována vlivu organické složky mobilní fáze a složení vodné složky včetně koncentrace a pH pufru. Práce má vysokou kvalitu a významný praktický přínos spočívající v jednoduchosti nové metody a ve vyšší citlivosti detekce nečistoty F ve srovnání s metodou podle Ph. Eur. Je proto velmi vhodná pro rutinní kontrolu substance ibuprofenu.

Druhá část dizertační práce se věnuje detailnímu studiu retenčních mechanismů směsi polárních látek na koloně Zr-CARB při separaci za HILIC podmínek v mobilních fázích s vysokým obsahem acetonitrilu. I tato práce je velmi zajímavá a přínosná pro odborníky v oblasti HPLC analýz léčiv, protože nabízí detailní informace o multimodálním charakteru interakcí analytů se sorbentem a odkrývá tak zajímavé možnosti využití těchto materiálů v biofarmaceutické analýze.

Třetí část dizertační práce porovnává vlastnosti nové kolony ZirChrom-MS s deaktivací povrchu oxidu zirkoničitého ve smyslu potlačení vlivu  $Zr^{IV}$  Lewisových kyselin, modifikované polybutadienem a starší kolony Zr-PBD. Prezentovány jsou výsledky systematického výzkumu vlivů pH vodné fáze, koncentrace a typu Lewisovy zásady a teploty na retenci většího spektra látek s vlastnostmi kyselin, neutrálních látek a zásad. Kolona byla

dále použita při vývoji HPLC-MS metody na stanovení ondansetronu a 5 příbuzných látek – lékopisných nečistot.

Dizertační práce je po formální i obsahové stránce velmi kvalitní. Nemám k ní žádné výhrady a připomínky. V teoretické části zejména oceňuji podrobný rozbor vlastností moderních stacionárních fází na bázi oxidu zirkoničitého včetně příkladů úspěšných a neúspěšných aplikací, dokládající pečlivé studium literárních pramenů.

K vlastní práci a k řešené problematice obecně mám následující dotazy:

**Otázka 1:** Je možné zobecnit, čím se při HILIC chromatografii odlišují klasické sorbenty na bázi silikagelu a kolony s oxidem zirkoničtým z hlediska retence různých látek a dalších vlastností?

**Otázka 2:** Prosím o komentář, zda by nemohlo dojít při analýze vzorků obsahujících současně vysokou koncentraci ibuprofenu ke změnám rozsahu linearit pro nečistotu F?

### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je po formální i obsahové stránce velmi kvalitní. Mgr. Kalafunt prokázal schopnost dobře teoreticky a prakticky zvládnout výzkumný projekt z oblasti farmaceutické analýzy. Je prvním autorem třech prací publikovaných v zahraničních časopisech s významným impakt faktorem (rozsah IF pro zmíněné časopisy: 1 až 4,2) a s odpovídající náročností recenzního řízení, které je zárukou vysoké odborné úrovně publikovaných prací.

**Proto doporučuji komisi pro obhajobu, aby přijala hodnocení „prospěl“ a udělila Mgr. Kalafuntovi akademický titul Ph.D.**

V Hradci Králové, 4.1. 2013

Doc. Ing. Jaroslav Chládek, Ph.D.  
Ústav farmakologie, Ústav lékařské chemie  
Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové