

# POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

**Název práce:** Možnosti uplatnenia nových stacionárnych fáz v analýze liečiv

**Autor:** Mgr. Peter Kalafut

**Oponent:** Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Predložená disertační práce má celkem 165 stran textu včetně všech publikačních příloh. Z celkového rozsahu je 69 stran věnováno teoretické části, a dále následují experimentální část a jednotlivé publikační příspěvky, které již prošly recenzním řízením. Experimentální část je rozdělena do tří celků, které se zabývají podrobným rozpisem experimentů jednotlivých publikovaných prací, což umožňuje detailnější prostudování provedených experimentů.

Autor v disertační práci předkládá celkem 3 publikace v kvalitních bioanalytických časopisech, kde na všech vystupuje jako první autor a tím nadstandardně převyšuje požadavky doktorského studia. Práci hodnotím jako sepsanou poměrně obsáhle, a rozebírající veškeré oblasti výzkumu, kterým se autor věnoval. V závěru práce je krátké shrnutí dosažených výsledků výzkumu a 195 citací použité literatury.

Velkým přínosem teoretické části práce považuji zpracování oblasti týkající se zirkoniových stacionárních fází. Text práce je zpracován návazně a přehledně a obsahuje veškeré podstatné náležitosti ohledně teorie chromatografických metod.

Všechny experimenty i publikace se týkají různého využití Zr fází v analýze farmaceuticky významných látek a tím vytyčují úzký směr tématu disertace. Z tohoto pohledu považuji práci za velmi ucelenou a konzistentní. Dosažené výsledky jsou podloženy kvalitními publikačními výstupy (JCA, JPBA, CAC) a prokazující systematický přístup uchazeče k řešení zadané problematiky.

## **K disertační práci mám minimum připomínek a jen několik drobných dotazů:**

1. Jelikož je práce napsaná ve slovenském jazyce, je těžké hodnotit gramatiku textu. Zdá se však, že práce je napsaná téměř bez chyb a s minimem gramatických překlepů.
2. Uvítal bych umístění abstraktu v úvodní části práce, v závěru mi to přijde nelogické.

## **Dotazy a náměty do diskuse:**

1. Str. 21 - čím si vysvětlujete myšlenku, že monolity nenaplnily v praxi takové očekávání, které se do nich vkládalo?
2. Jaký je trend v oblíbenosti použití povrchově porézních např. „fused core“ sorbentů v HPLC? (jaký je počet publikací na Web of Science v posledních letech, které využívají těchto kolon). Nečeká je podobný osud (stagnace) jako monolity?
3. Jaká je četnost použití monolitních sorbentů v porovnání se Zr fázemi? Které z nich prozatím našly větší uplatnění a čím si to vysvětlujete?
4. Str. 72 – Je možné, aby lékopisná metoda GC stanovení nečistoty byla málo citlivá a selektivní? Čím si toto zjištění vysvětlujete?
5. Str. 76 – která ze Zr fází je obecně preferovaná pro separaci izomerů?

6. Str. 77, obr. 7 – Jedná se o chvostování píku ibuprofenu či pouze o špatné rozlišení? Pokud jde o chvostování, čím je za daných podmínek způsobené?
7. Str. 81 – proč byla testována selektivita metody nástřikem směsi ACN/voda (50:50)? Nebylo by vhodnější použít placebo, nebo rozpuštěnou matici tabletoviny?
8. Na str. 83 uvádíte celkový čas analýzy cca 25 minut. Byla do současnosti vyvinuta nějaká rychlejší metoda pro separaci všech požadovaných nečistot?
9. Str. 89 – při sledování průběhu grafů na obrázcích se nabízí otázka, zda znáte nějaké další typy stacionárních fází, které vytváří tak typické retenční „U“ profily při testování různého obsahu ACN?
10. Str. 89-90 – V tabulce 6 prezentujete data závislostí regresní analýzy log-log a lin-log pro látky na Zr-Carb fázi. Zajímalo by mě z čistě teoretického hlediska, jak by vypadaly korelační koeficienty obou závislostí pro uvedené látky, v případě že by do regrese nebyla zahrnuta hodnota  $k$  pro 90% ACN. A zda by v tomto případě bylo tak jednoznačné tvrzení o převládajícím typu retenčního mechanismu? Nemůže se jednat částečně i o iontově-výměnné interakce? Byla zjišťována hodnota  $k$  v případě benzoových kyselin a guaifenezinu i např. pro 95% ACN?
11. Proč má kolona Zr-MS v porovnání s klasickými staršími Zr fázemi tak nízkou teplotní stabilitu?
12. Str. 117, obr. 23 – bylo by možné urychlit eluci nečistoty F a ondansetronu při dostatečném rozlišení při změně gradientu po deváté minutě např. 9-15 min 70% ACN? Byla nějaká možnost urychlení analýzy testována?
13. Byly testovány v některé z uvedených experimentálních prací mobilní fáze s obsahem tetrahydrofuranu? Má autor nějaké zkušenosti s THF na Zr fázích např. z hlediska účinnější separace některých problematických směsí či z hlediska parametru symetrie píků?

### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je velmi kvalitní. Pokrývá sice poměrně úzkou část teorie a praxe chromatografických separací zaměřenou na Zr kolony, avšak na druhou stranu jsou dosažené poznatky o to více koncentrovanější, a zaměřené značně do hloubky retenčních mechanismů v oblasti Zr fází. Získané výsledky mají vysokou experimentální a teoretickou hodnotu a publikované práce mají velký přínos pro širokou veřejnost při optimalizaci již tak problematických separací na Zr fázích.

Mgr. Peter Kalafut prokázal schopnost výborně teoreticky a prakticky zvládnout výzkum v oblasti chromatografie na Zr kolonách a své znalosti využít pro sepsání velice kvalitních publikačních výstupů a disertační práce.

**Celkově lze konstatovat, že práce nadstandardně splňuje požadavky kladené na disertační práce, proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.**

Hradec Králové 7. 2. 2013

Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.  
Katedra analytické chemie,  
Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové