



*Bírálat Ilisz István Szerkezet-retenció összefüggések tanulmányozása nagyhatékonyságú
folyadékkromatográfiás rendszerekben királis állófázisok alkalmazásával című
akadémiai doktori értekezéséről*

A disszertációban a jelölt elmúlt 10-12 évben, különböző típusú vegyületek enantiomereinek királis állófázisokon végzett nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás elválasztása során kapott eredményeit foglalja össze. Az enantiomerek eltérő biológiai aktivitása, kölcsönhatása az élő szervezetekkel, nagy figyelmet kap többek között a gyógyszervegyületek fejlesztése és a készítmények minőségellenőrzése során. Jellemzően enantiomer-tiszta hatóanyagokat alkalmaznak, melyek esetében fontos a királis szennyezők vizsgálata. Erre legelterjedtebben nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszereket, királis kolonnákon végzett elválasztásokat alkalmaznak. Ugyanakkor kevésbé ismert az enantioszelektív kölcsönhatások mechanizmusa a különböző királis állófázisok esetében és még mindig nehéz előre jelezni, hogy a számos állófázis közül melyik/melyek alkalmazása vezethet eredményre. A jelölt által választott téma tehát fontos, munkája közelebb visz ismereteink bővüléséhez.

Három típusú – ioncserélő, makrociklusos antibiotikum alapú és poliszacharid alapú – kolonnák tulajdonságait vizsgálta tizennégy, biológiailag aktív vegyületcsoport tagjainak királis elválasztása során. Összevetette a kromatográfiás paraméterek; a retenció, a szelektivitás és a felbontás alakulását az eluens összetételének, valamint a hőmérséklet változtatásának hatására és következtetéseket vont le a kölcsönhatások mechanizmusára vonatkozóan. Szerkezeti analógok vizsgálatával tanulmányozta a szerkezet-retenció összefüggést.

A disszertációban bemutatott munka a szerző 36 közleményben publikált eredményein alapul, ezeket kellett egységes dolgozattá szerkesztenie. Ilisz István megoldotta ezt a feladatot, a három típusú állófázison kapott eredményeket külön fejezetekben tárgyalja, azonos felépítés szerint. A szerteágazó anyag követése persze így sem volt egyszerű, hiszen folyamatosan kellett lapozni a függelékben szereplő táblázatokban bemutatott eredményekhez és a vegyületek képleteihez. A dolgozat összefoglalás fejezetében is ezen tagolás szerint összegzi eredményeit, szemben a tézisfüzetben alkalmazott tagolással.

Általános észrevételeim, megjegyzéseim:

- Véleményem szerint felesleges olyan triviális megállapítások szerepeltetése a dolgozatban, mint „véltetően a molekula egészének szerkezete és a funkciós csoportok elhelyezkedése a döntő a királis felismerés szempontjából” vagy „a szelektorral kialakuló kölcsönhatások erősen függnének a vizsgált molekula szerkezetétől” (mindkettő a 70. oldalon), „az eluens alkotó összetevők hatása az elválasztani kívánt enantiomerek szerkezetétől is függ” (84. oldal), stb.
- Sajnálatos, hogy sokkal inkább a visszatartás, semmint a királis felismerés mechanizmusaira lehetett általánosítható következtetéseket levonni az elvégzett vizsgálatokból.
- Az eredményekből levont következtetések megértését meglehetősen nehezíti, hogy több helyen is ellentmondás tapasztalható a szövegben leírtak és az ábrákon, táblázatokban bemutatottak között. Például
 - 57. oldal és 15. ábra: az ábrán bemutatottak nem egészen támasztják alá a megállapítást, hogy az *n*-butilszubsztituált amin módosítók kisebb retenciót eredményeznének, mint az etil- és propilszubsztituáltak az ikerionos kolonnán,
 - a 68. oldal első bekezdésében azt írja, hogy a β^2 - és β^3 -aminosavak retenciós ideje a ZWIX(-) oszloppal összevetve a ZWIX(+) oszlopon volt általában nagyobb, de a 4. táblázatban és a 21. ábrán bemutatottakból ennek az ellenkezője látszik,
 - a β -aminosavak esetén a kettőskötés jelenléte az F1 táblázat szerint a 89cd esetében sem járt kisebb szelektivitással, szemben a 68. oldalon írtakkal,
 - a 69. oldalon a β -aminohidroxámsavak esetében a kettős kötés kromatográfiás tulajdonságot befolyásoló hatásáról írtak nincsenek összhangban az F2 táblázatban bemutatottakkal,
 - az F3 táblázat szerint a 154-155 vegyületepárok esetében a metoxi csoportok jelenléte nem növelte szelektivitást egyik oszlopon sem, szemben a 70. oldalon írottakkal,
 - az általános megállapítások ii) pontjában (70. oldal) tett megállapítás a β^3 -aminosavak aromás szubsztitúciójának szelektivitást befolyásoló hatásáról némileg ellentmond a 66. oldalon írtakkal (az adatok nem kerültek bemutatásra),
 - a 71. oldalon tett megállapítás, miszerint a kinin és kinidin alapú állófázisokat összevetve a kinidin alapú a kedvezőbb nagyobb szelektivitást eredményezve, túlzott általánosításnak tűnik, hisz az F1-F3 táblázatokban bemutatott vegyületek 2/5-e esetében ez nem így van (86ab, 86cd, 106ab, 108ab, 102ab, 102cd, 103ab, 103cd, 104ab, 104cd, 105ab, 105cd 118cd és 19cd vegyületek),

Néhány konkrét észrevétel, megjegyzés:

- Ioncserélő oszlopok esetében vizsgálta az eluens acetonitril tartalmának hatását a vizsgált vegyületek visszatartására és ellenkező irányú változásról számol be az ikerionos és az anionos állófázisok esetében. Ennek értelmezésében zavaró, hogy nem ugyanazokat a vegyületeket vizsgálta vagy eredményeit mutatta be ezeken az állófázisokon, magyarázatként pedig csak az állófázis eltérő szolvatáltságát említi, holott a vegyületek polaritása is eltérő (5.1.1.1.).

- Az 5.1.1.2.3. fejezet megállapításaként szerepel, hogy az ikerionos állófázisok jellemzője, hogy a retenciós tulajdonságok hangolhatók az ellenion koncentrációjának változtatásával az enantioszelektivitás számottevő megváltozása nélkül. Ugyanakkor ezt megelőzőekben azt mutatta be, hogy ikerionos állófázisok esetén az ellenionok koncentrációja lényegesen kisebb hatással van a retencióra, mint a monoionos ionkromatográfiás oszlopoknál, azaz úgy tűnik, hogy jelentős hangolásra nem alkalmas.
- Azt írja a 65. oldalon, hogy ikerionos kolonnán a nagyobb térkitöltésű alkilszubsztituenst tartalmazó β^3 -aminosavak esetében nagyobb az enantioszelektivitás, az elúciós sorrend pedig nem változik. Számomra nem teljesen világos, hogy ebből hogy következik az a következtetés, hogy a királis megkülönböztetésben az ionpárképződés szerepe a meghatározó.
- Van-e irodalmi adat a szekunder aminosavak deprotonálódásának hőmérséklet-függéséről, ami megerősítené a ZWIX(-) kolonnán tapasztalt szokatlan hőmérsékletfüggő viselkedésüket?
- A *Chirobiotic T* oszlopokon végzett elválasztások esetében vizsgálta az eluens pH-jának a hatását (86. oldal, 29. ábra). Hogyan jutott arra a következtetésre, hogy a pH csökkentésével kapott nagyobb retenció az ionos kölcsönhatások erősödését mutatja pH 3 és 5 között? Ebben a tartományban az amin csoportok teljesen protonáltak, a karboxil csoportok deprotonálódása pedig pH 5-nél teljesebb (lehet), mint pH 3 értéken.

Összességében megállapítható, hogy Ilisz István jelentős munkát végzett számos, biológiailag aktív, királis vegyületcsoport enantiomereinek nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztása terén, sokféle királis kolonna alkalmazásával szerzett tapasztalatot. Szisztematikusan vizsgálta a kromatográfiás paraméterek változását az eluens-összetétel és a hőmérséklet függvényében, vizsgálta a szerkezet-retenció összefüggést. Eredményeit elismert szakmai folyóiratokban közölte.

Új tudományos eredményként fogadom el

- Az ioncserélő tulajdonságú állófázisokon az eluens MeCN tartalmának növelése a poláris vegyületek nagyobb visszatartását eredményezte az ionos kölcsönhatások elősegítésével, ami általában az enantioszelektivitás növekedésével is járt.
- Anionos karakterű vegyületek esetében az anioncserélő állófázisokon az ikerionos oszlopokon tapasztaltnál képest nagyobb visszatartást az ikerionos szelektor kationcserélő funkciós csoportja taszító hatásával értelmezte.
- Ikerionos szelektorok esetében az 1:1 – 1:2 sav:bázis módosító arány alkalmazása esetében a legnagyobb a retenció, a szelektivitás és a felbontás.
- Megmutatta, hogy ioncserélő tulajdonságú állófázisokon az elsőként eluálódó izomer retenciós tényezőjének tízes alapú logaritmusának lineárisan csökken az ellenion koncentrációjának tízes alapú logaritmusával. Hasonló megfigyelést tett teikoplanin aglikon szelektort tartalmazó *Chirobiotic TAG* oszlopon, az ikerionos oszlopon tapasztaltnál hasonló meredekséggel, ezzel is alátámasztva az ionos kölcsönhatások szerepét a retencióban ezen a kolonnán.

- Több vegyület enantiomerei esetében is igazolta, hogy a pszeudoenantiomer viszonyban lévő kinin és kinidin alapú szelektorok általában fordított elúciós sorrendet eredményeznek. A retenciós sorrend meghatározásában a szelektor kationcserélő alegységének konfigurációja a meghatározó.
- Makrociklusos antibiotikum alapú állófázisok esetében a mozgófázis metanol tartalma kritikus az enantioszelektivitás szempontjából. Poláros vegyületek esetében általában csak 60 v% feletti MeOH tartalom esetén volt megfigyelhető, hidrofóbbabb karakterű vegyületeknél minimum görbe szerint változott.
- Makrociklusos antibiotikum szelektort tartalmazó állófázisok enantiomer-felismerő képessége általában a *cisz*-izomerek esetében kedvezőbb, ahol gyengébbek a nem-szelektív kölcsönhatások. Aromás szubsztituenszt tartalmazó β -aminosavak esetében jobb enantioszelektivitás volt tapasztalható az alifás szubsztituenseket tartalmazókhoz képest, amit a π - π kölcsönhatások szerepével magyaráz.
- A vegyületek aromás szubsztituensei biztosította π - π kölcsönhatások a poliszacharid alapú oszlopok enantiomer-felismerő képességében is fontos szerepet játszanak.
- A hőmérséklet elválasztásra gyakorolt hatásának vizsgálata során példát mutatott az elúciós sorrend megváltozására a szobahőmérséklet körüli hőmérsékleten.
- Több esetben tapasztalta a hőmérséklet növelésének az általánostól eltérő hatását a vegyületek visszatartására és az enantioszelektivitásra. A szokatlanul viselkedő enantiomerpárok esetében a termodinamikai számítások entrópiavezérelt elválasztást mutattak.

Mindezen eredmények alapján a benyújtott disszertációt nyilvános vitára alkalmasnak tartom.

Budapest, 2018. augusztus 18.



Dr. Szökö Éva
egyetemi tanár