

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra organické a bioorganické chemie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Veronika Sovová**

Vedoucí práce: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Konzultant/ka: Mgr. Tomáš Havrišák

Oponent/ka: doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.

Název práce: **Optimalizace reakcí vedoucích k syntéze značených sfingoidních bází**

Rozsah práce: 54 stran, 11 +14 schémat obrázků, 1 tabulek, 81 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |             |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | dobrá       |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | výborná     |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | velmi dobrá |
| i) Splnění cílů práce:   | velmi dobré |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | velmi dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | velmi dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Studentka Veronika Sovová se v práci Optimalizace reakcí vedoucích k syntéze značených sfingoidních bází věnuje syntéze sfingosinu z C6 prekursoru, a to za účelem přípravy značených analog pro MS. Je to tedy práce svým zaměřením metodická a svědčí ve výsledku o dobré frustrační toleranci diplomantky, i když se podařilo připravit jen pilotní, neznačený sfingosin v celkovém výtěžku 2 %. Vzhledem k limitacím současných syntetických postupů a potenciálními významu a využití značených ceramidů jde o práci aktuální a potenciálně velmi přínosnou.

Diplomová práce byla vypracována pod vedením dr. Opálky a konzultanta Mgr. Havrišáka a komplementárně "zapadá" do výzkumu školitele i výzkumné skupiny. Struktura práce odpovídá odbornému článku: abstrakty, úvod a cíl práce, teoretická část (kůže, její struktura a funkce se zaměřením na stratum corneum a ceramidy, dosud popsané syntetické přístupy k přípravě sfingosinu a hmotnostní spektrometrie - zde se přiznám, že tuto obecně-popisnou kapitulu bych do práce vůbec nezařazoval, relevantní je až velmi stručná část vztahovaná k využití MS pro studium ceramidů; u kapitoly s názvem Použití těžkých izotopů v molekule L-serinu bych podle názvu čekal trochu jiný obsah), výsledky a diskuse, experimentální část,

závěr, seznam zkratk a použitá literatura. Pro snazší orientaci bych uvítal i seznam obrázků/schémat a tabulek (byť ta je jedna). Práce je sepsána poměrně nevyrovnaně - teoretická část je nejprve jazykově na dobré úrovni, ale místy trochu rozvláčná a některé informace se však opakují často na různých místech, místo aby byly prodiskutovány jednou a v úplnosti, někde je popis velmi obecný (např. "ceramid ... (má) ... zásadní vliv na přežití..." - jaký ceramid?; sfingosin indukuje tvorbu kanálů v membránách - jakých? aj.). Posléze, v části výsledky a diskuse, se lehkost sdělení ztrácí. Výsledky a diskuse poctivě popisují zvolené metody včetně neúspěšných pokusů, u reakcí se věnují i jejich mechanismům, což oko chemika vždy potěší. Postupně se však stává stručnější a stručnější. Literatura obsahuje 81 citací různého stáří, zdroje jsou relevantní.

Dotazy a připomínky:

V práci se vyskytují chyby formálního a typografického charakteru (chyby v interpunkci, jednopísmenná slova na konci řádků, psaní velkých písmen, chybějící/přebývající znaky - nejčastěji mezery, opakované definování zkratk aj.), stejně jako překlepy ("neposední", 1,3-dioxam, ethiliden, trifenyfosfinu atd.). Občasné chyby se vyskytují i v názvosloví - např. příslušné deskriptory nejsou v kursivě (O-, terc-), názvy sloučenin bez spojovníků (cholesterol-sulfát, ...-1,3-diol, ethanolamin-fosfát, pyridinium-chlorochromát), názvy typu 1-lithiopentadecyn, anglikanismy typu periodinan, arylido, tert-butyl, nepoužívání hranatých závorek aj. Některé obrázky mají nižší kvalitu (např. str. 10, 32). Některé tyto chyby jsou dány pochopitelnou nezkušeností autorky s tvorbou takového textu.

Další připomínky:

- cíl práce - jak Vaše práce, prosím, konkrétně přispěla k cíli: "poskytnout nový náhled na funkci sfingosinu a jiných sfingolipidů v rámci komplexní struktury kůže"?
- str. 4 - lze v kontextu kůže hovořit o dopaminu jako o hormonu?; zmatečná věta ohledně přítomnosti TSH receptorů v kůži,
- str. 6 - kyselina hyaluronová není proteoglykan, ale glykosaminoglykan,
- str. 9 - zmatečná poslední věta v kap. 2.2.1; co je to hlavní skupina, kam řadíte i vodík?
- str. 10 - v tabulce by bylo správnější uvádět R1 v podobě acylu, R2 pak jako příslušný substituent (glukosyl aj.), sulfatovaný galaktosyl by měl být uveden jako anion; membrány, lipoproteiny a kůži bych neoznačoval za biomateriály,
- str. 16 - v referenci 45 nenacházím nic o neurodegenerativních onemocněních, jak uvádíte,
- str. 17 - asi bych nepoužil označení "aminodiolová funkční skupina",
- str. 17 a dále - nejnovější syntetický přístup pro přípravu sfingoidních bazí, který uvádíte, je z r. 2004 - od té doby opravdu nebylo publikováno nic dalšího?
- str. 18, schéma 3 - nevidím jodhydrin 11 (ten je v originální práci), obecně číslování sloučenin zrovna v tomto obrázku kopíruje publikaci, ale je nekonzistentní se zbytkem práce,
- str. 18 - metoda 4 - popis je jen mechanickým překladem abstraktu práce, včetně schématu, dokonce i s atypickým zápisem chránicí skupiny; podobně tak další práce, u lit. 57 včetně informace z r. 2001, že připravené sloučeniny jsou v současnosti využívány pro biofyzikální studie...,
- str. 25 - reakci halogenkyseliny s trifenyfosfinem bych neoznačoval za kondenzaci,
- schéma 5 - v jaké podobě z reakce vystupuje dusík při reakci alkoholu se selenokyanátem? Prosím o prověření počtu uhlíků v produktech v reakčním sledu 5 - 6 - 7.
- str. 26 - uvádíte, že při Swernově oxidaci vzniká minimum vedlejších produktů - jaká jsou kritéria pro toto tvrzení? Uvolňuje se v daném reakčním prostředí opravdu HCl?
- str. 27 - ad PCC - asi bych chrom neoznačil za dobrou odstupující skupinu na kyslíku, kyslík na chrom "neútočí", ale atakuje ho, ester vytváří kyselina chromová, nikoli chroman; v lit. 71 nenacházím popsanou přípravu a domnívám se, z dané reakční směsi PCC spontánně nevykrytalizuje,
- str. 28 - samotné uhličitany ani octan nemají vlastnosti pufrů; v čem spočíval postup podle lit. 73, který měl umožnit "lehce" bezvodé podmínky? V ní jsem to nenalezl.
- str. 29 - kde a jak dochází k intramolekulárnímu odštěpení atomu vodíku při použití DMP?; dále uvádíte, že reakce proběhla pozitivně za vzniku alkoholu i aldehydu zároveň - co bylo pozitivního na vzniku alkoholu, pokud to nebyl výchozí?; na co se rozkládal hexanal a jak jste

určili, že byl nestálý? Považujete  $T_v$  130 °C za nízkou?

- doporučil bych nepoužívat chemickou hantýrku ("vymražený Et<sub>2</sub>O", "směs se vložila do mrazáku" - raději konkrétní teploty, suchá rozpouštědla aj.),
- str. 31: "Podle literatury může být výtěžek až kvantitativní." - podle jaké, chybí reference,
- str. 32 - na obr. 11 chybí formální náboje; je to Vaše originální dílo?
- str. 33 - uvádíte, že reakce probíhá, než se spotřebují výchozí látky (...) nebo veškerý katalyzátor (...) - jaká je vlastně funkce katalyzátoru, může se spotřebovat?
- str. 35 - u detekčních směsí chybí jejich přesné složení, resp. poměr složek; jak byla určena čistota připravených látek?
- str. 37 - uvádíte, že takto připravený hexanal jste použili bez dalšího čištění - jak jste určila identitu a čistotou?
- str. 38 - v <sup>13</sup>C spektru látky 2 neodpovídá počet signálů - nepozorovali jste štěpení signálů? I v jiných spektrech lze občas nalézt neodpovídající počet signálů či štěpení, jakkoli chápu, že se jedná o netriviální sloučeniny a dochází k překryvům.
- str. 39 - podle schématu i diskuse vznikla směs dvou sloučenin, podle charakterizace se jednalo o sloučeninu jedinou - prosím o komentář; chybná jednotka hmotnost mg (místo g).

K obhajobě vznáším následující dotazy k širší diskusi:

1. Uvádíte, že sfingolipidy se vyskytují i ve virech. Prosím, rozved'te tuto tezi - kde jsou v nich lokalizovány, jakou mají funkci, liší se nějak strukturně od těch přítomných v prokaryotických a eukaryotických buňkách?
2. Lze předpokládat/obecně říci, že isotopově značené sloučeniny budou reagovat stejně jako ty nezačtené, kterým jste se věnovala ve své práci? Co na to říká literatura?
3. Prosím, shrňte, v čem je největší přínos Vaší práce a v čem se liší od prací dříve publikovaných?

Kontrola podobnosti ukázala shodu 13 a 20 %, faktická podobnost s jinými pracemi je zanedbatelná, týká se vesměs jen literatury a formálních částí práce.

I přes uvedené připomínky diplomovou práci Veroniky Sovové doporučuji k obhajobě, neboť odpovídá požadavkům kladeným na diplomovou práci a přináší nové praktické poznatky a výsledky, které mají potenciál být dále v pracovní skupině rozvíjeny a využity.

**hodnocení, práce je: velmi dobrá**

**k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové

16. září 2024

podpis oponenta/ky