



UNIVERZITA KARLOVA
Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové

Oponentský posudek na disertační práci

Autor práce: **Mgr. Jiří Demuth**

Název práce: **Studium azaftalocyninů jako zhášeců fluorescence v oligonukleotidových sondách**

Oponent: prof. PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.

Předložená práce Mgr. Jiřího Demutha popisuje syntézu nesymetrických tetrapyrazinoporfyrázinů s různou substitucí a fluorescenčních oligonukleotidových sond nesoucích dané deriváty. U připravených látek disertant dále sledoval jejich fotofyzikální parametry a chování v hybridizačních experimentech. Velká část práce se věnuje zajímavému chování J-dimerů a využití těchto vlastností v oblasti biomolekulárních logických bran.

Práce je koncipována jako komentovaný soubor tří vybraných prací, u nichž je J. Demuth prvním autorem. Nejprve je jasně definována oblast zájmu, nedostatky současných zhášeců fluorescence i logicky stanoveny cíle práce. Teoretická část práce pak představuje principy fluorescence a jejího zhášení, metody detekce sekvence DNA a vlastnosti skupiny (aza)ftalocyaninů. Následuje metodická část rozebírající vazbu připravených makrocyklů na oligonukleotidový řetězec, hodnocení vybraných fotofyzikálních vlastností. Výsledky s diskusí pak relativně stručně komentují předložené práce. Byť jde o velmi zdařilou kapitolu, ocenila bych, kdyby byla doplněna o důvody výběru konkrétních podmínek či diskusi neúspěšných pokusů. Z formálního hlediska je práce psána čtivě s minimem překlepů a doplněna krásnými obrázky, díky nimž se i ve složitých experimentech dá dobře vyznat. Musím říci, že většina otázek, které mě v průběhu čtení napadaly, byla posléze v textu zodpovězena.

Práce je dále doplněna seznamem publikací autora, pečlivě vypracovaným seznamem literatury a třemi přílohami, tj. originály komentovaných prací. Všechny tři práce vyšly ve velmi kvalitních časopisech (Chem. – Eur. J., Org. Chem. Front. a ChemPlusChem). J. Demuth je spoluautorem dalších 4 prací; u všech prací je jasně popsán podíl autora na jejich vzniku.

K práci mám následující dotazy:

1. Obr. 36 na s. 44. Proč byly vybrány právě tyto podmínky pro azido-alkynovou cykloadici? Zkoušeli jste i jiné postupy, např. reakci s měďnatými ionty v přítomnosti askorbátu? Zkoušeli jste tuto reakci např. nejprve na modelových substrátech – pokud ano, jaké byly výtěžky zkoušených reakcí? Je nutné vybrat rozpouštědlo pro tuto reakci tak, aby nedocházelo k agregaci makrocyklu?

2. Obr. 37 – Jaké byly podmínky reakce a výtěžky reakce azidového TPyzPzs s DBCO-modifikovaným thymidinem?
3. Aktivita Taq-polymerázy byla simulována pomocí DNázy I (např. s. 45). Jaké byly důvody k tomuto kroku – cena nebo jiná výhoda pro daný experiment?
4. S. 47 u kvantových výtěžku fluorescence je uvedeno, že výsledky jsou průměrem tří samostatných měření – jaké jsou odchylky?
5. S. 56-57 –do centra bezkovových TPyzPzs byl zaveden zinečnatý kation, jako prevence chelatace různých kationtů během syntézy ODN vlákna – proč právě zinečnatý?
6. S. 56: při syntéze látky 4H vznikalo po 30 min velké množství polárních nečistot – zkoušeli jste zjistit, k čemu tam docházelo (nižší výtěžek po 3 h reakci naznačuje i rozklad produktu...)?
7. Tab 2 na s. 60 – jsou zde uvedeny dvě kolony – čím se liší, resp. pro jaký účel byla která použita?
8. Myšlenka využití jedné ze sond jako reportéru pro biomolekulární logické brány je velmi zajímavá – koho to napadlo a v jaké konkrétní aplikaci by to mohlo najít využití?

Tyto připomínky nijak nesnižují kvalitu předložené práce, kterou hodnotím jako nadprůměrnou. Oceňuji zejména komplexnost práce od logického návrhu struktur, přes jejich nelehkou přípravu a izolaci, studium zhášení fluorescence, k metodám objasnění agregačních vlastností připravených látek, které Mgr. Jiří Demuth zvládl a využil. Také publikace ve vynikajících časopisech podtrhují kvalitu práce.

Práce plně splňuje kritéria kladená na disertační práce, a tudíž ji bezvýhradně **doporučuji k obhajobě**.

v Hradci Králové dne 1. června 2020

prof. PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové, Katedra organické a
bioorganické chemie