

# Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě  
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího       posudek oponenta  
 bakalářské práce       diplomové práce

Autor/ka: Bc. Monika Spasovová

Název práce: Vibrational spectroscopy of pharmacologically important molecules: Study of L-DOPA and its deuterated derivatives

Studijní program a obor: Fyzika / Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2020

Jméno a tituly vedoucího/oponenta: Ing. Jakub Kaminský, Ph.D.

Pracoviště: Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

Kontaktní e-mail: kaminsky@uochb.cas.cz

## Odborná úroveň práce:

- vynikající    velmi dobrá    průměrná    podprůměrná    nevyhovující

## Věcné chyby:

- téměř žádné    vzhledem k rozsahu přiměřený počet    méně podstatné četné    závažné

## Výsledky:

- originální    původní i převzaté    netriviální kompilace    citované z literatury    opsané

## Rozsah práce:

- veliký    standardní    dostatečný    nedostatečný

## Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající    velmi dobrá    průměrná    podprůměrná    nevyhovující

## Tiskové chyby:

- téměř žádné    vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet    četné

## Celková úroveň práce:

- vynikající    velmi dobrá    průměrná    podprůměrná    nevyhovující

### **Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:**

Předložená diplomová práce je zaměřena na studium struktury a charakterizaci L-DOPA kombinací metod vibrační spektroskopie a kvantově-chemických výpočtů. Velký důraz byl kladen na nalezení vhodné metody schopné rozlišit různě deuterované analogy L-DOPA. Jelikož se levodopa používá při léčbě Parkinsonovy choroby, která představuje v současnosti druhou nejrozšířenější neurodegenerativní chorobu, a kterou trpí až 3% populace nad 65 let, představuje předložená práce velmi aktuální téma.

Práce je zpracována jako tematicky ucelený text shrnující kandidátčin samostatný výzkum, je logicky strukturovaná s nadprůměrným rozsahem. Množství výsledků odpovídá odhadem přinejmenším dvouleté samostatné práci. Celkový dojem je nadprůměrný, práce se snadno čte, graficky je velmi dobře zpracovaná a dojem neruší žádné výrazné nepřesnosti, nelogičnosti nebo nejednoznačné definice. Práce je napsána velmi dobrou angličtinou bez gramatických chyb, které bych byl na své úrovni schopen odhalit. Rovněž oceňuji velkou pečlivost, s jakou jsou zpracována a analyzována veškerá data (zejména vyhodnocování experimentálních spekter). Nicméně to je již standardem na autorčině pracovišti.

Diplomová práce je rozdělena do šesti oddílů. První čtyři oddíly představují teoretickou část práce a zabývají se postupně rolí levodopa při léčbě Parkinsonovy choroby, základy vibrační spektroskopie, popisem vybraných metod vibrační spektroskopie a úvodem do kvantově-mechanických simulací vlastností molekul. Zejména oceňuji první kapitolu, která výstižně, přitom v krátkosti uvede čtenáře do zkoumané problematiky a vysvětlí autorčin zájem na studiu struktury a charakterizaci levodopa, či jeho derivátů. Pátá kapitola pak popisuje použité experimentální a výpočetní postupy. Je nutno říct, že kapitola je napsána detailně a umožňuje případnému zájemci spolehlivě reprodukovat uvedené experimenty a výpočty. Poslední kapitola pak shrnuje dosažené výsledky. Nejprve se zabývá studiem rozpustnosti L-DOPA v různých rozpouštědlech. Následuje porovnání různých vzorků levodopa (roztok vs. pevná fáze, nedeuterované vs. deuterované vzorky apod.) pomocí nechirálních technik. Nakonec se práce zabývá studiem struktury levodopa pomocí metod vibrační optické aktivity v kombinaci s kvantově-chemickými výpočty. Zajímavé je zejména určení absolutní konfigurace deuterovaných vzorků L-DOPA. Dohromady práce dává krásný příklad využití metod vibrační spektroskopie spolu s metodami molekulového modelování pro podrobný popis struktury a chování biologicky relevantních systémů. Mohu říci, že předkladatelka si osvojila jak řadu experimentálních technik vibrační spektroskopie, tak teoretické postupy pro jejich vyhodnocení.

Předloženou práci považuji za nadprůměrnou v kontextu diplomových prací. Věřím, že závěry shrnuté v práci by se měly stát podkladem pro článek v impaktovaném časopise. Z důvodu všeho výše řečeného proto práci s radostí doporučuji ji k obhajobě.

### **Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:**

K práci nemám téměř žádné zásadní výhrady. Snad jen pár doplňujících dotazů, či připomínek, které by měly sloužit spíše pro vylepšení textu než jako jeho kritika.

- 1) Část práce se zabývá rozpustností levodopa s konstatováním nízké rozpustnosti látky ve vodě, což může ovlivňovat jeho farmakokinetiku, biodostupnost apod. V jaké části trávicího traktu se levodopa vstřebává (pokud v žaludku, tak to asi není problém)? V jaké formě se v současnosti levodopa podává (tablety, kapsle apod.)? Existují na trhu například různé krystalové formy levodopa (kokrystaly, sole, solváty), které by měly příznivější fyzikálně-chemické vlastnosti?
- 2) V kapitole 5.2.2 je popsán postup měření IR/VCD levodopa v roztoku a problémy spojené se sestavováním cely. Nebylo by vhodnější použít celu s vyvrtnými otvory, která se plní již sestavená? Nebo taková "skla" nejsou na pracovišti dostupná? Na stránce 45 ve stejné

- kapitole je dále zmíněno, že zvolený počet bloků při měření závisel na době měření, která byla k dispozici („...available time for the measurement...“). Co si mám pod tím představit?
- 3) V kapitole 5.4 jsou shrnuty použité teoretické úrovně pro simulace. Cituji: “We used the 6-31+G\* basis set for 1D energy scans, G-316 for 2D scans, and 6-311++G\*\* for 2D scans, geometry optimization, and for the vibrational frequency calculations.“ Z takto napsané formulace (pomiňme překlep G-316 místo 6-31G) mi není příliš jasné, zda 2D skeny byly provedeny s bazovými funkcemi 6-31G nebo 6-311++G\*\*. Přestože se to čtenář dozví v příslušné kapitole Výsledků, tak i formulace zde by měla být jednoznačnější.
  - 4) Na stránce 54 je uvedeno, že „acidic L-DOPA solutions showed long-term stability...“ Co si pod tím představit? Jak byla stanovena koncentrace L-DOPA v tabulce 6.1 na stejné stránce?
  - 5) Na stránce 55 je zmíněno, že v závislosti na pH může levodopa existovat v různých formách. Nicméně použití 2.5M NaOH (proč právě tato koncentrace?) tak, jak bylo popsáno v práci, patrně způsobí pH roztoku > 9 a tudíž patrně i deprotonaci -OH skupin(y) na aromatickém jádře. Nicméně, možná by bylo vhodné uvést dostupné hodnoty pKa pro levodopa (například jako v RSC Advances 2012, 2, 8306).
  - 6) V tabulce 5.2 jsou uvedeny délky akumulace v sekundách. Pro DMSO a chloroform jsou dané časy řádově kratší než pro ostatní rozpouštědla. Bylo to dáno tím, že pro všechna měření chtěla předkladatelka použít stejný výkon laseru?
  - 7) Na straně 60 jsou popisovány problémy s nečistotami ve vzorku způsobujícími fluorescenci při měření Ramanových spekter. Nezkoušela autorka tyto nečistoty nějak odstranit? Například čištěním na aktivním uhlí a filtrací?
  - 8) Na straně 63 je zmíněno, že při použití DCDR techniky docházelo spíše k rekrystalizaci, než k tvorbě „amorfní formy“. Toto bylo pozorováno v mikroskopu? Na následující straně se hovoří o „slightly different crystalline structure“ v případě vzorků I a II. Nebylo by vhodné do budoucna toto ověřit použitím práškového XRD nebo solid-state NMR?
  - 9) V kapitole 6.6.2 je řečeno, že všechny vážené průměry jsou založeny na elektronových energiích  $\Delta E$ . Přitom v tabulce 6.5 jsou i hodnoty spočtených Gibbsových energií. Proč jste pro Boltzmannovo průměrování nepoužili tyto hodnoty? Ve stejné kapitole se vyskytují dva „error“ způsobené zřejmě špatným automatickým odkazem („Error! Reference source not found.“).
  - 10) Neuvažovali jste o použití NMR při odhadu distribuce rotamerů kolem C2-C3 ( $\beta$ )? Analýzou  $^3J_{HH}$  interakčních konstant by toto mohlo poskytnout vcelku přesné populace jednotlivých rotamerů.
  - 11) Bylo při simulacích vibračních spekter použito nějakého škálování vypočtených vlnočtů, které se používá pro částečné odstranění problémů harmonické aproximace?
  - 12) Některá schémata mají nižší rozlišení než ostatní (např. Figure 1.3). Vzorce na obrázku Figure 1.5 mají hodně zvláštní formu znázornění postranních řetězců. Asi bych se držel standardních vzorců, jako jsou například na obrázku Figure 1.6. Dále si myslím, že podle doporučení IUPAC by se prefix L u levodopa měl psát jako „small caps“.
  - 13) Obrázky Figure 3.2, 3.3 a 3.4 tvořila autorka sama? Pokud jsou převzaté, chybí u nich reference. Pokud ano, beru otázku zpět. Popisek u obrázku Figure 5.7 by neměl začínat na nové stránce, ale měl by být hned pod obrázkem.

**Práci** doporučuji nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

**Navrhuji hodnocení stupněm:** výborně  velmi dobře  dobře  neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

V Praze, 28.8.2020

