

**Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Oleksandra Ponomarova:
„Studium kinetiky a mechanismu sulfurizace P(III) sloučenin deriváty 1,2,4-dithiazolu“.**

Předložená práce se zabývá syntézou nových derivátů 1,2,4-dithiazolu a studiem jejich aktivity při sulfurizaci substituovaných fosfinů a fosfitů. Využití nově syntetizovaných látek směřuje zejména k přípravě thia-analogů oligonukleotidů, které jsou v dnešní době používány v molekulární biologii či diagnostice.

V první části práce autor přehledně shrnuje poznatky týkající se syntézy 1,2,4-dithiazol-3-thionů, 1,2,4-dithiazol-3-onů a 1,2,4-dithiazolidin-3,5-dionů a jejich reaktivitě vůči nukleofilům včetně sloučenin obsahujících fosfor v oxidačním stavu +3. Oceňuji rovněž zařazení kapitoly týkající se fosforthioátů oligonukleotidů, která objasňuje význam sulfurizačních činidel. Po teoretické části je poněkud netradičně zařazena experimentální část. Tato část je sama o sobě velmi přehledná, doplnění syntetických postupů o reakční schémata usnadňuje její čtení. Na druhou stranu, zařazení schémat v této části trochu komplikuje čtení oddílu výsledky a diskuse, kde jsou zpětné odkazy na schémata v experimentální části. V odkazech na schémata by pomohlo uvádění čísel stránek. V části výsledky a diskuse se po stručném zhodnocení syntéz autor podrobně zabývá hodnocením sulfurizační aktivity připravených 1,2,4-dithionů a její srovnání s aktivitou dosud používaných komerčně dostupných činidel. Ke srovnání je používán standardní přístup na základě naměřených bimolekulárních rychlostních konstant. Mechanismus sulfurizace je následně studován s využitím kinetických metod a následně Hammetovy a Brønstedovy korelace získaných dat. Zjištěný rozdíl ve struktuře transitního stavu u 1,2,4-dithiazol-5-onů a 1,2,4-dithiazol-5-thionů na jedné a 1,2,4-dithiazolidin-3,5-dionů na druhé straně koresponduje s jejich rozdílnou aktivitou při sulfurizaci. Zvláště nadějnými sulfurizačními činidly se ukázaly být zejména série látek **4** a **5**, z nichž dvě byly předběžně testovány na oligonukleotidech externí firmou.

K předložené práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Na str. 16 má být ve schématu 9 na pravé straně první rovnice síran amonný.
2. Na str. 47 se autor podivuje nad vznikem 1,2,4-thiadiazolů vedle žádaných dithiazol-3-onů. Tento průběh reakce je běžný, což je mimo jiné uvedeno v teoretické části (str. 19).
3. Z jakého důvodu byla v kinetických experimentech sledovaných pomocí ^{31}P NMR používána deuterovaná rozpouštědla?
4. V práci je nejednotně používáno číslování 1,2,4-dithiazol-3-onů resp. 1,2,4-dithiazol-3-thionů. Například na straně 62 jsou látky **1-5** označovány jako 1,2,4-dithiazol-5-ony. Stejně látky jsou v experimentální části striktně označovány jako 1,2,4-dithiazol-3-ony. To vede někdy i k nesmyslným názvům jako 5-ethoxy-1,2,4-dithiazol-5-ony na str. 49 či 5-amino-1,2,4-dithiazol-5-on na str. 48 apod. Vysvětlení důkazu místa ataku (S-1) heterocyklického skeletu trifenylfosfinem v případě 5-amino-1,2,4-thiaselenazol-3-thionu (str. 48) je pak již zcela nejasné a to zvláště v souvislosti s citovaným vyvrácením ataku na síře S-1 citovaném na stejné straně.
5. Bimolekulární rychlostní konstanty jsou v tabulce 1 uvedeny bez odchylek. Je jejich uvádění na 4 platné číslice (např. u látek **4**) relevantní?

6. Jak si autor představuje oxidaci trifenylfosfitů na trifenylfosfát při sulfurizační reakci? Z údajů na str. 66 není jasné v jakém celkovém množství produkty sulfurizace resp. oxidace vznikaly. Byl experiment proveden rovněž za podmínek pseudoprvního řádu? Dochází k nežádoucí oxidaci rovněž bez přítomnosti kyslíku?
7. Nerozumím podpůrnému argumentu pro nearomatický charakter 1,2,4-dithiazolového kruhu na základě rentgenostrukturní analýzy vycházejícího z polohy benzenového jádra (téměř kolmé k rovině kruhu 1,2,4-dithiazolu), které je k posuzovanému skeletu vázané přes atom kyslíku (str. 63). Spíše bych využil délku jednotlivých vazeb v heterocyklu.
8. U *O*-dimethylaminoethyl-*N*-(4-methoxyfenyl)-thiokarbamátu je v ¹H NMR spektru signál vodíku *NH* štěpen na dva. U ostatních podobných derivátů k tomu nedochází. Čím si autor vysvětluje toto štěpení?

Celkově hodnotím práci jako dobře a pečlivě napsanou bez většího množství překlepů. Práce je kvalitní i po stránce grafické. Všechny experimenty jsou srozumitelně popsány a látky jsou dostatečně charakterizovány. Závěry učiněné autorem jsou podloženy experimentálními daty. Výsledky byly publikovány formou dvou článků v mezinárodních recenzovaných časopisech, v obou člancích je doktorand hlavním autorem.

Závěrem tedy rád konstatuji, že i přes uvedené připomínky práce splňuje požadavky na disertační práci v oboru Organická chemie a představuje kvalitní podklad pro další řízení pro udělení titulu Ph.D. Doktorand předložil ucelené dílo, ve kterém prokázal schopnost samostatné vědecké činnosti.

Doporučuji proto disertační práci k obhajobě.



V Praze 7.2. 2013

Doc. Ing. Radek Cibulka, Ph.D.



Brno 10. 2. 2013

Oponentský posudek disertační práce

Autor: Mgr. Oleksandr Ponomarov

Název práce: Studium kinetiky a mechanismu sulfurizace P(III) sloučenin deriváty 1,2,4-dithiazolu

Předložená práce se zabývá syntézou substituovaných 1,2,4-dithiazol-3-onů/3-thionů a 4-aryl-1,2,4-dithiazolidin-3,5-dionů a studiem mechanismů jejich reakcí s trifenyl-fosfitem. Práce byla zaměřena i na praktické využití těchto sloučenin jako sulfurizačních činidel.

Disertační práce v rozsahu 77 stran (plus přílohy) je rozdělena do 5 kapitol, které zahrnují úvod do problematiky, literární rešerši a vlastní výsledky výzkumu s oddělenou Experimentální částí a kapitolou Výsledky a diskuse. Po vstupní kapitole autor uvádí čtenáře v literární části (v Kapitole 1) do mechanismu sulfurizace P(III) sloučenin a přehledu reakcí 1,2,4-dithiazolů. Experimentální údaje, jako jsou syntetické postupy, kinetická a analytická data, jsou uvedeny v Kapitole 3. Kapitola 4 obsahuje výsledky a diskusi související s vlastním výzkumem.

Chemická analýza syntetizovaných 1,2,4-dithiazolů byla provedena pečlivě. Pro studium mechanismu jejich reakcí pak autor využil pestrou škálu užitečných kinetických a fyzikálně-chemických experimentálních technik, včetně LFER, Bronstedovy, NMR, RTG a Mayrovy analýzy. Výsledky měření jsou zpracovány na velmi vysoké profesionální úrovni. Předpokládám, že veškerou práci popsanou v DP udělal doktorand sám. Jaký je podíl práce spolupracovnice, která je uvedena v autorském kolektivu v publikacích?

K disertační práci jsou přiloženy dvě publikace uveřejněné v *J. Heterocyclic. Chem. a Org. Biomol. Chem.*, ve kterých je Mgr. Ponomarov uveden jako první autor. Jen jedna z těchto prací je pouze jednou v textu citována (str. 50 – a to předpokládám, že text „viz příloha 1“ odkazuje na jeden z těchto článků) a tak postrádám v DP upozornění na souvislost s přiloženými články. V rámci této poznámky bych se rád zeptal, zdali se připravují ještě nějaké další publikace založené na výsledcích získaných v průběhu studia doktoranda.

Disertační práce je velmi přehledná a popisuje kvalitní a pečlivě provedené experimenty i související výpočty. Diskuse výsledků je na velmi vysoké odborné úrovni. V textu se objevuje jen velmi málo nepřesností. Text má velmi dobrou grafickou i formální úpravu.

Do diskuse mám následující otázky a drobné formální výtky, které však nesnižují kvalitu díla.

- Str. 44: Jak se prováděly statistické výpočty; jak se vyhodnotily chyby měření?
- Str. 48: „...bez přístupu světla“: Znamená to, že jsou látky fotochemicky aktivní?
- Str. 50: Měřila se kinetická data pouze při jediné vlnové délce, nebo se prováděla dekonvoluce spekter?
- Str. 58, řádek 4: „jedinou dostupnou rovnováhou...“ LFER analýzy jsou získány z kinetických dat; proč rovnováha?
- Str. 58, obr. 10: Bronstedovy koeficienty jsou záporné. Nebylo by vhodnější uvádět log KHA místo pKa na x-ové ose?
- Str. 62: Pokud je mi známo, Taftova rovnice separuje sterický příspěvek od elektronového. Efekt rezonanční a indukční/efekt pole je řešen ve Swainově-Luptonově rovnici.
- Str. 63: Zkoušel autor korelovat rychlostní konstanty s σ^- koeficienty v případě, že se očekávala rezonance?

Závěrem konstatuji, že je disertační práce zpracována velmi kvalitně, přehledně a svědčí o zaujetí autora a o jeho odborné úrovni a schopnosti samostatně a úspěšně řešit složité vědecké problémy. Vědecký přínos disertační práce v rámci základního výzkumu je značný. Práce **splňuje** všechna kritéria, která jsou na takovou práci kladeny, a tak ji vřele **doporučuji** k přijetí k obhajobě.



Prof. RNDr. Petr Klán, Ph.D.

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5/A8, 625 00 Brno
Tel: +420-54949-4856; Fax: +420-54949-2443; E-mail: klan@sci.muni.cz

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Olexandra Ponomarova

Tento posudek disertační práce byl zpracován na základě pověření vydaného panem prof. Ing. Milošem Sedlákem, DrSc. (předsedou komise pro obhajobu disertační práce ve studijním programu P1421) ze dne 3.1.2013 ve věci doktorské disertační práce Mgr. Olexandra Ponomarova na téma „**Studium kinetiky a mechanismu sulfurizace P(III) sloučenin deriváty 1,2,4-dithiazolu**“. Školitelem dizertanta byl doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

Jak autor zmiňuje v úvodu byla motivací této práce syntéza a studium sulfurizačních sloučenin vybraných pro jejich možné praktické uplatnění v chemii modifikovaných oligonukleotidů.

Práce je členěna klasickým způsobem. Jednotlivé kapitoly jsou celkem vyvážené, napsány jsou přehledně, srozumitelně, což svědčí o dobré celkové orientaci v zadané problematice. Úvodní část autor věnuje seznámení se současným stavem poznání v oblasti studované problematiky a to jak mechanismu sulfurizace P(III) sloučenin, tak i problematice syntézy, struktury a reaktivity 1,2,4-dithiazolů. Osobně se domnívám, že to podstatné, co je v dané problematice popsáno, se autorovi podařilo v „teoretické“ části uvést. Tato kapitola je následována detailním vytčením cílů disertační práce, které si autor před sebe postavil.

V Experimentální části na 20 stranách autor popisuje standardním způsobem syntézy modelových skupin látek (13 nových různě substituovaných 1,2,4-dithiazol-3-onů a šesti 4-fenyl-1,2,4-dithiazolidin-3,5-onů a cca 20 dalších látek, jejichž syntézy byly popsány, jejich identifikaci pomocí elementární analýzy, NMR spektroskopie a rentgenostrukturní analýzy. Část této kapitoly je zaměřena i na použitou metodiku při kinetických studiích. V této části práce by mohla být zmíněna v krátkosti problematika spojená s kinetickými experimenty, které jsou velmi významnou částí této doktorské práce. Volba modelových sloučenin, následována kinetickými studii, které měly umožnit zodpovědět zadané otázky je dle mého názoru správná.

Část 4 Výsledky a diskuse je společně s přílohami nejcennější částí práce. Velmi ráda konstatuji, že diskuse získaných experimentálních výsledků je na velmi dobré úrovni, která potvrzuje, že tato práce byla vypracovávána na pracovišti, které má dlouholeté zkušenosti se vším, co zahrnuje oblast fyzikálně-organické chemie. Kladně hodnotím publikování výsledků z této práce v časopisech s vysokým IF (3,65).

V závěru svého posudku bych si dovolila učinit několik poznámek, případně se zeptat na některé drobnosti.

Str. 9, u tvrzení v posledním odstavci postrádám citace

Str. 44 – ověřoval autor ve všech případech platnost Lambertova–Beerova zákona v konkrétních podmínkách měření ??, pokud ano, mělo by to být napsáno.

Str. 44 – měření a vyhodnocení RTG analýz prováděl autor sám?

Str. 49 – odkaz na Tabulku 1, která se nachází až o 6 stran dále, neusnadňuje příliš čtenáři orientaci ve výsledcích

Str. 50 – co měl autor na mysli, když psal...*“je často příliš rychlá pro kinetické stanovení”*... Dala bych přednost přibližnému řádovému údaji.

Str. 50 - ...*“které bylo nedávno zjištěno”*...dle mého 6 let v dnešní době bych za nedávno nenazvala

Str. 55 –v diskusi by mohl autor objasnit pojem bimolekulární rychlostní konstanta (např. Tabulka I)

Str. 59 – Schéma 34 – jak souvisejí struktury intermediátu se symbolikou aktivovaného komplexu?

K vlastnímu zpracování práce mám drobnou připomínku k nevhodnosti dělení názvů, rovnic apod. na kocích řádků.

I přes mé připomínky, které беру spíš jako příspěvek do diskuse, velmi ráda konstatuji, že předložená práce Mgr. O.Ponomarova je prací kvalitní, výsledky v ní prezentované jsou odpovídajícím způsobem diskutovány. Dle mého názoru Mgr. Olexandr Ponomarov prokázal znalost syntetických postupů i spektrálních metod a získal ve své práci dostatečné množství nových poznatků, které rozšíří chemii 1,2,4,-dithiazolu a proto splňuje podmínky § 47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách.

Na základě výše uvedeného

d o p o r u č u j i
doktorskou disertační práci Mgr. Olexandra Ponomarova k o b h a j o b ě

Po úspěšné obhajobě doporučuji udělit titul Ph.D.

V Olomouci 29.1.2013


Doc. RNDr. Tatjana Nevěčná, CSc.