

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Mária Krutáková**
Vedoucí práce: doc. PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.
Konzultant/ka: Assoc. Prof. Izidor Sosič, M. Pharm., Ph.D.
Assist. Prof. Stane Pajk, M. Pharm., Ph.D.
Oponent/ka: PharmDr. Marta Kučerová, Ph.D.
Název práce: **Synthesis of a combinatorial compound library based on the double click reaction**

Rozsah práce: 86 stran, 31 schémat a 22 obrázků, 17 tabulek, 87 citací

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce byla vypracována v rámci programu Erasmus plus na katedře farmaceutické chemie na Farmaceutické fakultě Univerzity v Lublani pod vedením Assoc. Prof. Izidora Sosiče a M. Pharm., Ph.D. a Assist. Prof. Stane Pajka, M. Pharm., Ph.D. Práce je sepsána anglicky. Teoretická část je zaměřena na kombinatoriální syntézu prováděnou především "click" chemií. Studentka podrobně popsala cykloadiční reakce azidů s alkeny, včetně praktického využití produktů při designu potenciálních léčiv.

Během laboratorní práce připravila Mária Krutáková dvanáct výchozích azidů, pět monoalkynů, pět dialkynů a jeden trialkyn. Polyvalentní alkyny byly použity ke "click" reakci s deseti azidy vždy v jedné baňce. Připravené knihovny sloučenin byly jako celek testovány na inhibici několika enzymů: AChE, BuChE, PBP1b, InhA a MurA. U celkového množství 1500 sloučenin, které byly takto teoreticky a zřejmě i prakticky získány, byly zhodnoceny in silico základní parametry aplikované při návrhu léčiv. Připravené monoalkyny budou v budoucnu využity na pracovišti pro další syntézy.

Dotazy a připomínky:

1. Na str. 13. píšete, že terapeutický potenciál proteinů je malý. Mohla byste uvést některé terapeuticky využívané peptidy, příp. glykopeptidy? Jak mohou být překonány problémy s aplikací takových látek?

2. Jak si vysvětlujete protonové spektrum látky IS-MK-AZ6 s chybějícími vodíkovými signály?

3. Azidy IS-MK-AZ3, IS-MK-AZ11 a IS-MK-AZ12 byly připraveny dvoustupňovou syntézou. Byly reakční výtěžky vztaženy na výchozí látky nebo na meziproducty? Byly meziproducty nějak charakterizovány? Uveďte prosím alespoň jejich chemické názvy. Byla pro poslední jmenovaný produkt uvedena teplota tání v ref. 70? Podobně u sloučenin IS-MK-AZ1 a IS-MK-AZ5 je uvedeno, že jsou popsány v citovaných referencích, ale diplomová práce neobsahuje žádná data, např. referenční teploty tání. Naopak u sloučeniny IS-MK1 na str. 50 je uvedena látka jako tekutá a přitom je uvedena t.t.

4. Pozorovali jste u dialkynu IS-MK-7 alkylation Grignardovým činidlem i na druhém karbonylu (str. 47)?

5. Na str. 51 je uvedeno, že byly optimalizovány podmínky pro "click" reakci. Jaký byl zhruba výtěžek reakce jednoho alkynu s jedním azidem nebo pilotní reakce s třemi azidy (str. 77)? Lze takové výtěžky předpokládat i u dialkynů, když je z ploch pod píky na chromatogramu (str. 56) patrné, že látky nevznikaly vždy ve shodném množství. Jak může tento fakt ovlivnit výsledky biologických testů?

6. Proč nebyly na AChE a BuChE testovány všechny knihovny sloučenin z "click" reakcí, ale jenom knihovny 1-3? Z popisu biologického testu není zcela jasné, jak byla reakční směs naředěna před testováním v DMSO.

7. Na str. 60 a 61 jsou uvedeny různé názvy pro sloučeninu, jejíž absorbance se měřila v rámci inhibičního testu vůči AChE a BuChE. Jaký je správný systematický název?

Dále uvádím drobné připomínky:

Na str. 29-30 uvádíte, že triazolové sloučeniny inhibují růst mykobakterií. Tuto aktivitu by bylo vhodné označovat jako antimykobakteriální, nikoli antituberkulotickou a tuto kapitolu zařadit k antibakteriální aktivitě. Pro lepší přiblížení biologických aktivit by bylo dobré uvádět v teoretické části práce hodnoty MIC u antibakteriální, resp. antimykobakteriální aktivity a hodnoty IC50 u inhibice cholinesteras v rámci testování proti Alzheimerově chorobě.

Pro systematické názvy sloučenin by měly být správně používány kulaté, hranaté a složené závorky (str. 44).

U "click" reakcí 1-5 není v reakčních schématech uvedeno, že jsou přidávány 2 ekvivalenty azidů jako je to u reakce s dialkynem (str.59).

Procento reziduální aktivity BuChE se neshoduje u neaktivnější směsi č. 3 na str. 62 a 77.

Není zcela jasné, jaký typ reakce klasifikujete jako schéma a jako obrázek (str. 20 versus 23).

Jedno jméno autora citace 63 na str. 36 je uvedeno chybně.

Z typografického hlediska práce obsahuje velmi málo chyb, občas se vyskytnou drobné jazykové chyby (postavení podmětu a přísudku ve větě na str. 15 a 52) a nevhodná vyjádření v angličtině ("was tested on enzymes" na str. 11, "was purified by column chromatography" na str. 31), příp. typografické chyby (1,4-Substituted 1,2,3-triazoles str. 24, neuvedení množství roztoků na zpracování reakce str. 41 versus str. 42).

Přes všechny výše uvedené výhrady je diplomová práce Marie Krutákové sepsána na velmi vysoké úrovni a obsahuje velké množství experimentů, což je nutné ocenit vzhledem k omezenému času pobytu v zahraničí.

Co se týká kontroly na plagiátorství, program Theses vygeneroval 25% shodu s 28 dokumenty (maximální jednotlivá 5 %) a program Turnitin odhalil 31% shodu se 185 dokumenty (maximální jednotlivá 3 %). Nebyla tedy nalezena významná shoda s jinými texty.

Práce splňuje všechny požadavky kladené na diplomové práce.

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

11. září 2022

podpis oponenta/ky