

Téma diplomové práce	Deriváty pyrazinu jako potenciální léčiva II.
Jméno studenta, studentky	Michal Kačírek
Jméno oponenta	PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.

II. Posudek oponenta

Student Michal Kačírek sepsal svou diplomovou práci na přibližně 60 stranách. V práci se zabývá nejprve vlastnostmi pyrazinů a jejich využití v léčivech, dále rozebírá příčiny a léčbu tuberkulózy, houbových onemocnění a virových onemocnění. V další části se autor trochu nesystematicky vrací opět k pyrazinům a jejich vlastnostem, dokonce se zde prakticky opakují strany 7 a 31. Rešeršní část je vzhledem k orientaci na tři skupiny léčiv poměrně rozsáhlá, což ale vedlo k nepříliš dobře zpracovaným tématům a určitým nejasnostem v textu. V odstavcích autor velice často skáče z tématu na téma (popis onemocnění, léčba a opět popis onemocnění v jednom odstavci). Čtivost také výrazně zhoršuje používání velice dlouhých textů v závorkách s následujícím dokončením původní věty. Čtenář po dočtení závorky na půl strany už opravdu netuší, o čem vlastně byla původní věta (pro příklad str. 28-30). Opravdu velké výhrady mám ale k popisu vlastní práce. Autor zřejmě nikdy neviděl zápis experimentu, a tak se určité údaje o reakci dozvídáme v části Metodické, pak v části Experimentální dále v popisu sloučenin (opět v jiné části dokumentu) a další informace (např. konečně aspoň nějaké navážky apod.) až v Diskuzi. Experimenty jsou popsány velice vágně (bez navážek, objemů rozpouštědel, reakčních dob a jasného a jednoznačného následného zpracování) a abych řekl pravdu, nebyl bych schopen je podle popisu zreprodukovat. Autor dále v práci uvádí, že struktura produktů byla potvrzena. Zajímalo by mě, jak danému tvrzení došel, protože NMR spektra (zejména ^{13}C NMR) neodpovídají ani v jednom případě produktu (jiné počty uhlíků, často chybí uhlík v jasně definované oblasti nebo se objevuje signál v oblasti, kde nemá co dělat, u látek s fluorem se dá čekat výrazné rozštěpení signálů nejbližších uhlíků). Elementární analýza u dvou látek naprosto neodpovídá vypočítaným hodnotám (rozdíly u dusíku o 13%). Naopak je nalezená hodnota u dusíku až podezřele podobná (rozdíly max. 0,2 %) vypočítané hodnotě obsahu bromu, který je uveden v zápisu nad ním. U další látky je struktura potvrzena pouze IČ spektry a teplotou tání, což se nedá považovat za jednoznačné potvrzení struktury nové látky. Dále mám výhradu k zápisu ^1H NMR spekter, kde úplně chybí počty vodíků u každého signálu, multiplicita a případně hodnoty interakčních konstant. V IČ spektrech je u všech látek přiřazena vibrace v oblasti 3055 cm^{-1} methoxy skupině (zajímalo by mě proč?), ačkoliv je pravděpodobné, že se bude spíše jednat o valenční vibrace C-H na aromatickém jádře.

V diskuzi autor rozebírá asi na stránku výsledky antivirového testování, ačkoliv pouze jediná látka vykázala alespoň nějakou aktivitu (malou). Hodnoty uvedené v tabulce s výsledky testů se znakem „>“ znamenají, že látka nebyla ani při nejvyšší testované koncentraci uvedené za tímto znakem účinná. Hodnoty EC50 tak nelze považovat za středně silnou účinnost, jak autor uvádí a diskutuje, ale za nulovou účinnost.

K vlastnímu textu mám následující otázky a připomínky:

- str. 7 a 31. „Vlastnosti pyrazinu jsou podobné terciálním alifatickým aminům“ V čem? Hodnota pKa, jak je uváděno na str. 31, to určitě není.
- str.10 – jakým způsobem se srovnávají aktivity látek podle „optické hustoty“?
- str. 15 – dle čeho se dělí antituberkulotika do 5 tříd uvedených v tabulce?
- str. 29 – proč je uveden odkaz na původní literaturu v samotném textu a ne na konci práce v sekci Použitá literatura?
- str. 34 druhý odstavec u chlorace – není jasné, chloraci jaké látky autor v textu rozebírá (substituované, nesubstituované, do jakých poloh, čím?) a celý odstavec se tak stává naprosto nesrozumitelný.
- str. 34 – číslování 2-substituovaného pyrazin-4-oxidu nemá správné pořadí. Jak by bylo správně?
- str. 36 – špatně použitý termín „deaktivující vliv methoxy skupiny“ – OCH_3 skupina má deaktivující vliv na *elektrofilní substituci benzenu*, ale aktivující vliv na *nukleofilní substituci pyrazinu* (chlorpyrazinu).

- str. 39 – „u použitých chemikálií byly ověřeny fyzikální konstanty“. Jakým způsobem a co jste měřili?
- str. 39 – Varian a Bruker jsou dva různí výrobci NMR spektroskopů. Který přístroj byl použit na měření?
- str. 39 – „po reakci se za sníženého tlaku odstranily nezreagované výchozí látky“ Které?
- str. 40 – není jasné, co vlastně byl produkt reakce – monooxid, dioxid, směs? Oddělovaly se od sebe nějak (jak?) nebo ne? Nebo to jsou produkty dvou rozdílných reakcí?
- str. 40 – u chlorace jsou uvedeny dva produkty – není jasné, co tím bylo myšleno. Polohové izomery? Oddělovali se od sebe (jak?)? Pokud ne, tak do následné aminodehalogenace šly dva polohové izomery, které po reakci jen těžko oddělíte krystalizací z EtOH/vody. Produkt chlorace navíc není nikde v textu charakterizován.
- str. 48 – proč uvádíte graf s teplotami tání. T. t. je popisná fyzikální veličina a pokud dále nerozebíráte nějaký vliv na její hodnotu je grafické zpracování zbytečné. Podobně u grafu R_f hodnot (str. 49).
- str. 51, 52 – Proč jsou v tabulkách antivirové aktivity uváděny koncentrace zkoumaných látek v $\mu\text{g/ml}$ a standardů v μM ? Dost těžko lze tyto hodnoty srovnávat.
- str. 53 – Co je příčinou „nejednotnosti chlorderivátů“? Polohové izomery (viz výše)?
- str. 54 – špatná formulace: „V tabulce je vidět zbytek výchozího *N*-oxidu“. Z tabulky navíc není jasné, kde by ho tam měl čtenář hledat (jedna z těch R_f hodnot produktu?).
- str. 54 – není jasné, kdy byl v reakci použit toluen a kdy aceton jako rozpouštědlo.
- str. 54 – nesouhlasím s odstavcem o přidavku pyridinu. Za prvé hydrochlorid pyridinu není určitě tmavě červený prášek. Za druhé u použití přebytku anilinů, LZE velmi snadno předvídat vznik dalších produktů – jsou to hydrochloridy příslušných anilinů, které lze taktéž snadno odseparovat. Maximálně bude probíhat nukleofilní substituce i místo methoxy skupiny, ale pokud neprobíhá při použití pyridinu, tak nebude nijak významná ani v případech přebytků anilinů.
- str. 55 – diskutujete mechanismus účinku, ale není jasné, o jaký mechanismus účinku se jedná. Navíc není jasné, co může mít popisovaná tautomerie, alkylace pyrazinu nebo oxidace společného s mechanismem účinku.

Na spoustě míst došlo chybou formátování k rozdělení slov na dvě části. V práci se vyskytuje také větší množství překlepů nebo chyb v názvech. Prosim o uvedení správných názvů, případně vysvětlení u následujících: měděné katalyzátory (str. 12), kys. undecylová (str. 22), uncoasting (str. 27 a dál), neuramidáza (str. 28).

Z takových „standardních“ chyb vyskytujících se ve většině diplomových prací uvádím namátkově: vzorce v celé práci by měly být jednotné, ne kreslený každý v jiném programu. Zkratka použitá poprvé v textu by měla být vysvětlena, dál se dá již používat. Obrázky a schémata nejsou často popsány legendou nebo označeny čísly a nejsou citovány v textu. Čtenář pak ztrácí přehled, k čemu dané schéma vlastně patří. Koncovky enzymů psát jednotně –asa nebo -áza. Špatné přepisy anglických názvů do češtiny (např. crotonin x krotonin, str.12). V Použité literatuře jsou jednou použity zkratky časopisů, jinde jejich plné názvy.

Celkově působí předložená práce velice nesourodým dojmem. Autor možná mohl věnovat trochu více času uspořádání si myšlenek a návrhu celého dokumentu. Navíc, jak jsem již předeslal výše, vlastní provedení reakce, popisy experimentů a částečně i metodická část jsou dost nejasné a pro případné následovatele v daném tématu nepoužitelné jako návod pro syntézu daných sloučenin.

Navrhovaná klasifikace

V Hradci Králové dne 26.5.2009

Podpis oponenta diplomové práce