

## Posudek oponenta diplomové práce

**Příjmení a jméno studenta:** Bc. Kristýna Čípová  
**Studijní program:** Chemie potravin a bioaktivních látek  
**Studijní obor:**  
**Zaměření**  
(pokud se obor dále dělí):  
**Ústav:** Ústav chemie  
**Vedoucí diplomové práce:** Ing. Roman Kimmel, Ph.D.  
**Oponent diplomové práce:** doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.  
**Akademický rok:** 2023/2024

**Název diplomové práce:**

Studium možností využití 3-aminochinolindionů k přípravě pyrrolbenzodiazepintronových sloučenin

**Hodnocení diplomové práce s využitím klasifikační stupnice ECTS:**

Kritérium hodnocení	Hodnocení dle ECTS
1. Splnění zadání diplomové práce	A - výborně
2. Formální úroveň práce, včetně jazykového zpracování	B - velmi dobře
3. Množství, aktuálnost a relevance použitých literárních zdrojů	A - výborně
4. Popis experimentů a metod řešení	A - výborně
5. Kvalita zpracování výsledků	A - výborně
6. Interpretace získaných výsledků a jejich diskuze	B - velmi dobře
7. Formulace závěrů práce	A - výborně

Předloženou práci **doporučuji** k obhajobě a navrhuji hodnocení

**A - výborně**

### Komentáře k diplomové práci:

Diplomová práce Kristýny Čípkové je zaměřena do oblasti syntézy derivátů na bázi benzodiazepinů (BZD), resp. pyrrolobenzodiazepinů (PBD), jejichž praktické využití je možné nalézt například v oblasti medicínální chemie. Nejen z tohoto důvodu, ale také proto, že se jedná o látky svojí strukturou „elegantní“, považuji danou problematiku za velmi zajímavou.

Práce jako taková má klasické členění na část teoretickou, diskuzní a experimentální. V teoretické části je věnována pozornost oběma skupinám sloučenin, tedy BZD a PBD, a to jak z hlediska možností jejich syntézy, reaktivity a stability, tak biologické aktivity se zaměřením se nejen na deriváty již používané v klinické praxi, ale také sloučeniny aktuálně podstupující klinické hodnocení. Za velmi zajímavou jsem považoval kapitolu zabývající se tzv. ADC terapií (z angl. Antibody-Drug-Conjugates). Teoretická část práce je zpracována na 28 stranách, je doprovázena 160 odkazy na odbornou literaturu, 25 obrázky a 15 schémata. Jádrem práce tvoří druhá kapitola, v níž Kristýna komentuje získané výsledky. Jelikož se jedná o projekt, který navazuje na Kristýninu bakalářskou práci, jsou nejprve ve stručnosti sumarizovány výsledky získané v předchozím stupni studia, což jako čtenář oceňuji. Dále jsou již popisovány výsledky týkající se této práce s rozdělením komentáře do dvou velkých podkapitol, v nichž je popisována cesta vedoucí k uvažovaným sloučeninám **8A** a **10C**. Pravděpodobně nejzajímavější výsledky byly získány při přeměně sloučenin **5** na BZD deriváty **14A–C**. Logicky je těmto výsledkům věnován také největší prostor, kdy vyjma detailního studia struktury pomocí dostupných metod, provedla Kristýna (ve spolupráci s kolegy z UCH) řadu dodatečných experimentů s cílem navrhnout strukturu vznikajících konformerů, a to pomocí NMR (určení teploty koalescence), výpočtů aktivačních energií přechodu mezi jednotlivými geometrickými uspořádáními či kvantové a molekulové dynamiky (MD), které dávají práci jako takové jednoduše řečeno „jiný rozměr“. V případě pokusů o syntézu PBD derivátů **10C** se jako „problematický“ ukázal být hned první krok navržené syntetické strategie, kdy reakcí výchozích 3-aminochinolin-2,4-dionů s ethyl esterem 3-chlorpropanové kyseliny nevznikaly uvažované deriváty **6C**, ale produkty nukleofilní substituce následované Claisenovou kondenzací. Zde oceňuji snahu Kristýny o určení struktury vznikajících diastereomerů **15A–C** na základě výsledků získaných z provedených 2D NMR experimentů. Experimentální část práce má klasické členění, kdy jsou nejprve popsány použité přístroje a parametry měření (včetně metod MD), realizované postupy přípravy jednotlivých sloučenin a nejdůležitější výpisy spektrálních charakteristik.

K jednotlivým částem diplomové práce mám následující připomínky a komentáře:

#### Teoretická část

- na Obr. 1 (s. 12) postrádám číslování BZD skeletu, které by čtenáři v dalším textu mnohdy usnadnilo „život“
- v názvu „N,N'-dicyklohexylkarbodiimid“ (s. 22) nejsou atomy N uvedeny kurzívou
- kyselina hexachloroplatičitá (s. 23) – správně má být „chlor“
- „V jedné zahraniční publikaci se autoři zabývali...“ (s. 26) – autorka se neodkazuje na původní článek, ale na článek souborný (review), který se mi navíc ze sítě UTB nepodařilo otevřít (neměl jsem k němu přístup)
- nesprávná formulace „Zbylé dva nevykazují biologickou aktivitu žádnou.“ (s. 29) – je nepravděpodobné, že byly dané sloučeniny testovány na všech dostupných buněčných cílech, tudíž dle mého názoru nevykazovaly „antimykrobiální aktivitu“, na kterou byly testovány
- „Ten je využíván jako antagonist receptoru používaný při ...“ (s. 31) – není uvedeno, jakého receptoru je flumazenil antagonist (jedná se o receptor GABA<sub>A</sub>)

- odkazy na literaturu uvedené pod čísla 110 a 132 jsou totožné (u cit. 110 je nesprávně uveden rozsah stran dané publikace)
- L-prolin (s. 33 a 34), kyselina L-glutamová (s. 34) – písmeno „L“ má být uváděno kapitálkou, tedy např. L-prolin
- „4-demithylamminopyridinem“ (s. 34) – správně má být 4-dimethylaminopyridin
- v textu není uveden komentář k poslednímu syntetickému kroku popisovanému na Schématu 12 (s. 34)
- v textu není uveden odkaz na Obr. 27 (s. 38)
- „...jsou klíčovými alkylátory DNA pro ADC...“ (s. 40) – výraz „alkylátory“ se mi jeví jako nevhodný

#### Diskuze výsledků

- „v suchém THF“ (s. 43) – lépe snad „v bezvodém“
- ve schématu 18 (s. 44) je dvakrát uvedena sloučenina **7C** (pokaždé s jinou strukturou ... sloučenina **7C** uvedená v syntetické cestě A má být správně 7B)
- šipka ve schématu 19 (s. 45) směřující k látce **6B** se mi jeví jako nadbytečná
- formulace „aby utrhla proton“ (s. 46) a „s mnohem razantnější bází“ (s. 48) nepovažuji za vhodné ... v prvním případě bych doporučil použít výraz „odštěpila“, ve druhém „silnější“
- rovněž formulaci „s hmotnostní detekcí“ (s. 48) považuji za nesprávnou ... vhodněji snad „s hmotnostně-spektrometrickou detekcí“
- interpretace ESI-MS spekter (Spektrum 2 a 5) není správná – žádný molekulový ion s hodnotou 266  $m/z$  se ve Spekttru 2 nenachází, stejně tak signál o  $m/z$  329 (Spektrum 5) není molekulovým iontem ... v obou případech se jedná o protonovanou molekulu
- odkazy na Spektra 4 a 5 jsou v textu uvedena nesprávně (přesněji řečeno naopak)
- určení teploty koalescence z obrázků uvedených v diplomové práci (Spektra 8 a 10) se mi jeví jako „střelba od pasu“, věřím ale, že se jedná jen o grafickou nedokonalost a odečet ze získaných dat byl proveden pečlivě (jen jako čtenář z těchto obrázků nejsem s to nic kloudného vyčíst)
- nepovažuji za vhodné používat výraz „konfigurace“ při popisu dvou rozdílných geometrických uspořádání téže sloučeniny (s. 58 a 59)
- formulaci „pokud vzroste velikost mezi jádry“ (s. 60) považuji za neúplnou ... velikost čeho vzroste? vzdálenosti? nebo snad dihedrálního úhlu?
- na s. 63 je nevhodně použit výraz „potaš“ ... lépe buď uhličitán draselný nebo  $K_2CO_3$
- odkazy na Schémata 26, 28 a 29 uvedené v textu odkazují na Schémata 25, 26 a 27
- ve struktuře sloučeniny **15** (Schéma 27, s. 70) není znázorněna absolutní konfigurace na atomu C-3

#### Experimentální část

- popis metod kvantové a molekulové dynamiky (s. 74) je sice napsán srozumitelně, avšak opakovaně (3krát) se v něm vyskytuje namísto čísel předmětných sloučenin formulace „látek xx, yy“
- výpis ESI-MS spekter sloučenin **14A** a **14B** (s. 77) není úplný

#### Obecné poznámky vztahující se k rukopisu jako takovému

- nejednotné uvádění odkazů na použitou literaturu před nebo za interpunkcí
- formální nedostatky (gramatika, překlepy, přebytečné výrazy), např. i) poslední věta druhého odstavce na s. 12 není gramaticky správně; ii) „...jež se pohybovaly se okolo 80 %“

(s. 23); iii) „steregenní“ (s. 38) – správně má být stereogenní; iv) „ACD“ namísto ADC (s. 38); v) „zabývá studiem“ (s. 42) – má být: zabývá se studiem; vi) „neviditelné úskalí“ (s. 44) – lépe „neviditelná úskalí“; vii) „BDZ“ namísto BZD (s. 48, 52, 61); viii) „...nebylo smyslné měřit“ (s. 52); „překlápí se konformeru druhého“ (s. 55) – má být „...se do...“; x) „GS-MS“ (s. 74) namísto GC-MS; xi) symboly „cis, trans, R a S“ (s. 74) nejsou uvedeny kurzívou atp.

- nepovažuji za vhodné uvádět obrázky NMR a ESI-MS spekter titulkem „Spektrum XY“ ... je to přeci obrázek

Práce jako taková je sepsána přehlednou a srozumitelnou formou, je doprovázena velkým množstvím grafických výstupů v podobě schémat, strukturních vzorců komentovaných sloučenin, získaných NMR a ESI-MS spekter či výstupů výpočtů MD, což značně usnadňuje čtenáři orientaci v popisované problematice. Přes výše uvedené připomínky, které by neměly být vnímány jako kritika předložené práce, si dovoluji tvrdit, že Kristýna odvedla spoustu kvalitní a poctivé práce, odměnou jí byl získání velmi zajímavých výsledků, s jejichž vyhodnocením a interpretací si poradila výtečně a připravila rukopis, jehož kvalitu si dovoluji označit za nadprůměrnou. Proto doporučuji diplomovou práci Kristýny Čípové k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm A – výborně.

#### Otázky oponenta diplomové práce:

1) Na s. 22 a 23 popisujete přípravu BZD derivátů z anhydridu kyseliny isatoové: a) uveďte prosím systematický název předmětného anhydridu; b) čím si vysvětlujete skutečnost, že použitím pyridinu bylo dosaženo vyšších výtěžků uvažovaných sloučenin než v případě použití triethylaminu? A jaké byly ve výtěžcích rozdíly?

2) Na Schématech 11 a 12 (s. 34) popisujete dvě rozdílné syntetické strategie při přípravě PBD derivátu DC-81. Která se Vám jeví jako vhodnější a proč?

3) Na s. 35 zmiňujete „Ugiho reakci“. Mohla byste mi, prosím, popsat princip a mechanismus dané reakce trochu detailněji?

4) Na Schématu 22 popisuje přípravu sloučenin **14A–C**, které jste získala ve výtěžcích 54–79 %. Co tvořilo zbývajících 21–46 %?

5) Zkoušeli jste měřit  $^1\text{H}$  NMR spektra sloučenin **14A–C** v jiném rozpouštědle, např. v  $\text{CDCl}_3$ ?

6) Jak si vysvětlujete skutečnost, že při přípravě sloučeniny **15C** nevznikal derivát v uspořádání *anti*?

7) Na Schématu 29 (s. 72) uvádíte návrh struktury produktu dle výsledků získaných pomocí ESI-MS. V textu píšete: „Bylo zjištěno, že molekulový ion má 856 m/z, což by přesně odpovídalo dimeru látky **6C**.“ Tuto formulaci považuji za nepřesnou. Můžete mi, prosím, ukázat předmětné ESI-MS spektrum a okomentovat v něm pozorované signály?

Ve Zlíně dne **6. června 2024**

Podpis oponenta diplomové práce