

OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Syntéza biologicky aktivních alifatických amidů s benzthiazolovým blokem

Autor: Bc. Mirjeta Kafexholli

Diplomová práce Bc. Mirjety Kafexholli je zaměřena na syntézu nových potenciálně bioaktivních amidů obsahujících benzthiazolový motiv a chirální centrum. Součástí práce je orientační stanovení inhibičních aktivit vybraných sloučenin vůči acetylcholinesteráze a butyrylcholinesteráze. Téma je konzistentní s problematikou studovanou ve skupině doc. Pejchala, navazuje na již získané výsledky předchozího výzkumu a významně je obohacuje. Předložená práce obsahuje všechny náležitosti, je sepsána stručně, jasně a přehledně. Celkový rozsah práce je 85 stran.

V krátkém úvodu autorka seznamuje čtenáře se spektrem biologických vlastností, které jsou typické pro amidy a benzthiazoly a vytyčuje cíl práce.

Rešeršní část obsahuje čtyři podkapitoly, ve kterých jsou shrnuty poznatky o vlastnostech, syntéze a využití amidů, chloridů karboxylových kyselin, benzthiazolů a amidů s benzthiazolovým blokem. Autorka pro ilustraci uvádí konkrétní příklady těchto sloučenin. Kapitola je logicky uspořádána a obsahuje podstatné informace.

Experimentální část je věnována vlastním syntetickým postupům a charakterizaci všech připravených sloučenin. Diplomantka připravila reakci 2-amino-5-fluorthiofenolátu draselného s příslušným oxazolidinem klíčový amonium chlorid obsahující benzthiazolový fragment. Následně byla tato sloučenina podrobena reakci s chloridy karboxylových kyselin za vzniku finálních chirálních amidů. Bohužel v experimentální části postrádám číslování sloučenin. Připravené látky byly charakterizovány fyzikálně-chemickými metodami (b. t., ^1H , ^{13}C a ^{19}F NMR spektroskopii, optickou otáčivostí a elementární analýzou). Za zmínku stojí, že přiřazení signálů ve výpisech ^1H NMR spekter pomocí očíslování atomů v molekule významně zvyšuje přehlednost.

V kapitole Výsledky a diskuzia jsou zhodnoceny metody přípravy všech sloučenin. Z technologického hlediska je důležité podotknout, že aspirantka využila optimalizovaného technologicky shodného postupu pro přípravu všech konečných produktů, který lze použít i pro průmyslovou výrobu. Závěr této kapitoly je věnován výsledkům orientačních testů inhibiční aktivity vůči enzymům u tří vybraných sloučenin. Tyto sloučeniny vykazují slibnou inhibiční aktivitu a proto věřím, že budou v budoucnu dále testovány a zkoumány.

V kapitole Závěr jsou stručně shrnuty výsledky vlastního bádání. Bc. Kafexholli připravila celkem 14 nových chirálních amidů s benzthiazolovým blokem. Tři z nich byly podrobeny orientačním testům biologické aktivity.

Celkově působí diplomová práce pozitivním dojmem, avšak našla jsem několik chyb a nepřesností:

1) Faktické chyby

Elementární analýza pro sloučeninu uvedenou v podkapitole 2.8.3 je nesmyslná. Molekulový vzorec připraveného amidu není „ $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{OS}$ “, ale $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{OS}$, tudíž je jeho molekulová hmotnost 308,41 g/mol a nikoli 344,45 g/mol. Vypočítané složení má správně být: C: 62,31 %, H: 6,86 %, N: 9,08 % a S: 10,40 %. Výtěžek této sloučeniny opět neodpovídá skutečnosti, měl by být 60 % a nikoli 67 %.

2-Amino-5-fluorthiofenolát draselný není v experimentální části charakterizován. V podkapitole 2.7.1 je charakterizován 2-amino-6-fluorbenzthiazol jako „Biela krystalická látka“ i jako „Žltá pevná látka“, chybí výtěžek, ale především si myslím, že na tomto místě měla být charakterizována výše zmíněná draselná sůl.

Na str. 16 je chybně uvedena struktura Kevlaru, místo $\text{C}=\text{CH}_2$ má být $\text{C}=\text{O}$. Ve vzorci pyrazinamidu na str. 17 je uvedena karboxylová kyselina $-\text{COOH}$, avšak jedná se o amid $-\text{CONH}_2$.

Na str. 20 je nesprávně uvedena Ritterova syntéza. V prvním kroku vzniká karbokation, kde má být místo hydroxyskupiny methylskupina. Totéž platí o konečném produktu.

Ve výpisech některých NMR spekter je chyba: př. na str. 62 je sloučenina obsahující 19 vodíků, ve výpisu ^1H NMR spektra je 28 vodíků a ve výpisu ^{13}C NMR spektra stejné sloučeniny je uvedeno 16 signálů, má jich být 15; na str. 63 je signál pro H13 nesprávně přiřazen k H12; na str. 65 je signál s $\delta = 0,95$ ppm označen jako triplet, správně má být dublet. Na str. 73 jsou ve výpisu ^1H NMR spektra nesprávně přiřazeny signály H15 a H13 (H13 má být H15), také interakční konstanty nejsou uvedeny správně (nejedná se o interakci ^{19}F a ^1H , ale ^1H , ^1H), multiplicita signálů je taktéž zavádějící (př. triplet pro H14 atd.).

Ve schématech 12–14 (str. 28, 29) by bylo vhodné uvést, o jaký substituent R se jedná, např. R = Alk, Ar atd. Ve schématu 13 je uveden keton, správně má být aldehyd. Obdobně ve schématu 14 je nesprávně uveden keton.

Na Obr. 9 (str. 18) je chybně uvedena struktura produktu detoxikace, místo –O-sulfát má být –OH.

Nesprávně uvedené ekvivalenty aminu (str. 21), místo „3equiv.“ mají být 2. Na str. 23 mají být uvedeny 3 ekv. karboxylové kyseliny v případě reakce s PCl_3 .

Ve schématu 15 není uvedena kyselina RCOOH , ale $\text{RC}(\text{CH}_2)\text{OH}$, navíc u činidel chybí dolní indexy, např. „ $\text{P}_2\text{O}_5/\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ “. Tato chyba se v práci opakuje (př. schéma 14, 16, 17 na str. 29, dále pak ve vzorcích na str. 47 a 49 „ H_2C “ atd.).

V kapitole Výsledky a diskuzia je uvedeno, že byl výchozí hydrochlorid aminu připraven trojstupňovou syntézou (str. 75). Přesnější by bylo uvést, že syntéza byla provedena ve třech reakčních krocích (nejednalo se o po sobě jdoucí kroky / stupně). Ve schématu 28 (str. 75) je nesprávně umístěna H_2O . Výtěžek produktu na str. 75 v kapitole Výsledky a diskuzia neodpovídá výtěžku uvedenému v experimentální části (77 % vs. 89 %)

Název sloučeniny na str. 37 má být 2-amino-5-fluorthiofenolát draselný, nikoli „2-amino-5-fluorfenylthiofenolát draselný“.

Ve schématu 32 je pětivazný uhlík (*t*-butylskupina má být uvedena $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, nikoli „ $-\text{CH}(\text{CH}_3)_3$ “).

Ve schématech na str. 38 a 75 je chybně znázorněna struktura D-valinu. Jedná se o L-valin. V tabulce na str. 39 chybí látková množství výchozích sloučenin a také je pro oxazolidin chybně použit název „D-valin“. V textu je tato sloučenina označena jako D- Valin –NCA.

Ve Schématech 22–24 (str. 32, 33) chybí umístění substituentu R_2 (pravděpodobně na benzenovém jádře).

Na str. 27 (obrázek 20) je uvedena struktura jakéhosi Ribuzolu. Ve skutečnosti se jedná o Riluzol. Na stejné straně jsou na obrázku 19 znázorněny struktury látek s antimikrobiálními účinky. Jedná se o *N*-fenylacetamidy, nikoli o benzamidy, jak je uvedeno v popisku.

2) Formální úprava textu a gramatické chyby

V celé práci se objevuje nesprávné použití krátké a dlouhé pomlčky a pevných mezer: př. str. 16 „-0,5“ se správně píše s dlouhou pomlčkou, tedy –0,5. Rozmezí hodnot se opět píše s dlouhou pomlčkou, př. „192–194°C“, má být 192–194 °C (str. 33, 32, 42 aj.). „*N*-(4-hydroxyfenyl)acetamid“ se píše kurzívou *N*-(4-hydroxyfenyl)acetamid (str. 18 a obdobně na str. 21, 24, 27 apod.), kurzívou se píše i poloha substituentu na benzenovém jádře, př. na str. 19 je „*p*-aminobenzoová kyselina“, má být Kyselina *p*-aminobenzoová. Absolutní konfigurace má být opět kurzívou, př. str. 32 (Schéma 22) atd. V některých případech je uvedena mezera navíc nebo naopak chybí, př. str. 19 „ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ “ má být $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ atd. Chybí pevné mezery před jednotkami, př. „50ppm“ má být 50 ppm (str. 24); „1,2mmol“ a „15ml“ má být 1,2 mmol a 15 ml (str. 34) atd. Místo desetinné čárky byla použita tečka, „62.5“ (str. 33).

Některé zkratky nejsou vysvětleny v seznamu: př. THP (str. 33) Et (str. 34).

Ve schématu 27 (str. 34) by měl být místo substituentu R uveden cyklohexylkarbonyl.

Chybí jednotky ppm pro chemický posun ve výpisech NMR spekter připravených sloučenin. Chybí také jednotky g/mol u uvedených molekulových hmotností.

Aminoskupina se píše dohromady (str. 29).

Nešikovně zvolené výrazy a formulace jako např. „...aktivačního činidla DCC,...“, volila bych spíše dehydratačního činidla DCC (str. 20) nebo „...hydrolyza vyvolaná zásaditými podmínkami pomocou peroxidu vodíka“, mnohem vhodnější by bylo alkalická hydrolyza s přidavkem peroxidu vodíku jako oxidantu. Na str. 24 je několikrát uvedena zkratka VH pro Vilsmeier-Haackovo činidlo, volila bych spíše spojení VH činidlo. Pro ilustraci např. „...nerozpúšťá VH.“ nebo „...metóda prípravy VH pomocou...“ zní poněkud zvláštně. Neobratné jsou také výrazy na str. 25: „Táto zlúčenina je konjugovaná sp^2 hybridizáciou...“ nebo „Prírodné suchozemské výrobky“, pričemž se nejedná o výrobky ale o strukturu látky přítomné v rostlinách.

Překlepy: „tionylchlorid“ má být thionylchlorid (str. 20), „2-(2-tienyl)-benzothiazol“ má být 2-(2-thienyl)-benzthiazol (str. 27), „zrazenia“ má být zrazenina (str. 31). Na str. 31 má být v textu odkaz na obrázek 24 (a), nikoli na obrázek 23 (a), u chirální sloučeniny na tomto obrázku by také bylo vhodné zvolit místo dvou substituentů R

spíše R₁ a R₂. Slovensky „Brom“ se správně píše bróm (str. 36). Na str. 40 je „0,3 m“, má být 0,3 ml. Na str. 49 výtěžek odpovídá 82 %, nikoliv 84 %. V závěru je uvedeno „Požadované diamidy...“, ale jedná se o amidy.

Chybí sjednocení fontu, př. str. 18 (Obrázok 9). Chybí sjednocení odkazů na sloučeniny, př. str. 32 „5 a – q“, následně „5 a až q“. Správně by mělo být 5a–q. Na str. 21 není sjednocená velikost vzorců na Obrázku 12, obdobně str. 76, 77.

V kapitole Literatura je špatně uvedeno jméno autora, místo Hmpl má být Hampl (odkaz č. 7). V odkazu č. 11 na chybí název kapitoly a rozsah stran. Překlep v odkazu na lit. 52 „Meicinal...“ má být Medicinal. V seznamu literatury je dvakrát odkaz na jeden článek a navíc je v jednom případě uveden nesprávně rok vydání (odkaz 52 a 55). Správně je odkaz č. 55.

V celé práci autorka používá benzthiazol i benzothiazol, správně má být benzthiazol, př. str. 25, 26, 34; někdy dokonce uveden benthiazol (str. 68).

Řádkování na str. 73 není jednotné.

Na obrázku 17 je uvedena struktura označená jako „6 – hydroxybenzothiazol - 5octová kyselina“, správný název je kyselina 6-hydroxy-1,3-benzthiazol-5-yl octová.

Jedna z možností, jak uvádět odkazy na literaturu je horním indexem na konci věty za tečkou, nikoli horním indexem a poté tečkou (př. str. 27).

K oponované diplomové práci mám tyto dotazy:

- V postupu na str. 39 jste uvedla: „Potom bola oddelená toluénová vrstva a celý proces sa ešte raz zopakoval“ Prosím upřesněte, jak byla syntéza provedena.
- Z jakého důvodu byla reakce 2-amino-6-fluorbenzthiazolu s vodným roztokem KOH provedena v inertní atmosféře?

Oponovaná diplomová práce odpovídá nárokům na kvalifikační práci. Aspirantka splnila všechny body zadání, avšak množství výše zmíněných chyb a nepřesností mírně snižuje celkovou kvalitu práce. Z hlediska obsahového považuji toto dílo za zdařilé, práci doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm

B

V Pardubicích dne 28. 8. 2020

Posudek vypracovala:



Ing. Hana Doušová, Ph.D.

Univerzita Pardubice