

Oponentský posudek na bakalářskou práci Michala Šafránka s názvem  
“Syntéza (fosfonomethoxy)ethyl (PME) derivátů odvozených od 4-substituovaných 2-aminothiazolů jako  
potencionálních inhibitorů bakteriálních adenylátcykláz”

Bakalářská práce Michala Šafránka byla vypracována na ÚOCHB ve skupině Dr. Z. Janeby a pod jeho vedením. Tématicky je tato práce součástí dlouhodobě prováděného výzkumu v oblasti syntézy a biologické aktivity acyklických nukleosidfosfonátů (ANP), který započal na konci sedmdesátých let minulého století prof. A. Holý. Přestože jsou ANP z chemického pohledu jednoduché molekuly, výzkum v této oblasti prováděný ve skupině Dr. Janeby přináší stále nové struktury se zajímavými biologickými účinky.

Tato bakalářská práce se zabývá velmi aktuálním tématem - chemickou syntézou potenciálních inhibitorů adenylátcykláz extrémě patogeních bakterií, původců *černého kašle* a *anthraxu*. Cílem práce bylo vypracování syntetického postupu pro přípravu 4-substituovaných 2-amino-5-PME-thiazolů regioizomerních k dosud nepublikovaným 5-substituovaným 2-amino-4-PME-thiazolům připravených Dr. Břehovou. K zavedení 2-hydroxyethylskupiny na chráněný 2-amino-5-bromothiazolový derivát využil Michal halogen-migrační reakci. Následný Suzukiho cross-coupling s vinyltrifluorborátem a hydroborace poskytly sice požadovaný 2-hydroxyethylderivát ale ve velmi nízkém výtěžku. Naproti tomu přímá halogen-migrační reakce za přítomnosti lithiované výchozí látky, provedená v přítomnosti oxiranu vedla k výbornému výtěžku 2-hydroxyethylderivátu, který byl převeden na *O*-methylfosfonát. Zavedení aromatických substituentů do polohy 4 thiazolového derivátu Suzukiho cross-coupling reakcí s aromatickými boronovými kyselinami poskytlo očekávané produkty. Byly připraveny 3 finální látky, které ve formě proléčiva vykazovali hodnoty IC<sub>50</sub> v mikromolárních koncentracích, což lze považovat za velmi dobrý odrazový můstek pro další výzkum.

Bakalářská práce je pečlivě zpracována a obsahuje veškeré náležitosti. Teoretická část je přehledná, srozumitelná a čtivá. Velmi oceňuji obrázky s mechanismy chemických reakcí vztahující se k danému tématu. Je patrné, že se Michal dovede výborně orientovat v literatuře, a že jeho teoretické znalosti jsou na velmi dobré úrovni. Část Výsledky a diskuse hodnotím rovněž velmi pozitivně. Způsob a jazyk jakým je tato kapitola sepsána považuji za profesionální. Experimentální část je přehledná a popis experimentů je v souladu s běžnou praxí. Michal zvládl řadu náročných metod organických syntéz, instrumentálních technik a rovněž prokázal zdatnost při vyhodnocování a zpracování získaných výsledků.

Při pročítání Experimentální části jsem našel pár překlepů ale mnohem více drobných, méně obratných výrazů, z nichž některé bych zde ve stručnosti zmínil:

Str. 45, v první větě něco chybí – nedává smysl.

Str. 45, příprava látky **3**, chybí údaj v jak velkých porcích a v jakých intervalech byl přidáván NBS.

Str. 46, věta: *Reakce byla ukončena 2M HCl*. Chybí množství.

Str. 46, věta: *Etherická vrstva.....* spíše Etherová vrstva. Etherické jsou jen bytosti a oleje.

Str. 48, ..... *byl přidán fosfonát.....*, chybí zde přesný údaj o jaký fosfonát šlo.

Str. 44, drobný překlep ve velikosti částic v koloně Waters Acquity UPLC BEH C18 **1,7 mm**. Správná hodnota má být 1.7 μm.

Str. 49, Chybí údaj o množství přidané kyseliny trifluoroctové ve větě: *Reakční směs byla zchlazena na laboratorní teplotu, odpařena a byla k ní přidána kyselina trifluoroctová.*

Str. 49, Není jasné jak je to myšleno s tím 10% roztokem ve větě: *Nejprve byla v přítomnosti Ar smíchána látka 7 s NaHCO<sub>3</sub>, arylboronovou kyselinou a Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>. Pevné reagentie byly rozpuštěny v DME:H<sub>2</sub>O (2:1) tak, aby vznikl 10% roztok.*

Dále mám několik připomínek a otázek:

1. Na str. 16 zmiňujete, že adefovir dipivoxil byl původně určen k léčbě hepatitidy B. Toto proléčivo bylo původně určené k léčbě AIDS, avšak nebylo schváleno FDA. Adefovir dipivoxil byl naopak schválen FDA k léčbě chronické hepatitidy B.

2. Pokud jde o charakterizaci látek v Experimentální části tak by mne zajímalo zda-li jste vy sám měřil a interpretoval NMR spectra?

3. Str. 47, název látky **4-Brom-2-(terc-butoxykarbonylamino)-5-(ethanol-2-yl)thiazol (6)** Přiznám se, že s použitím názvu *ethanol-2-yl* se setkávám poprvé. Je to v souladu s názvoslovím?

4. K názvosloví ANP mám připomínku. To které jste použil není v souladu s nomenklaturou. Základem je fosfonát a nikoliv thiazol. Např. místo

**4-Brom-2-(terc-butoxykarbonylamino)-5-{2-[(diisopropoxyfosforyl)methoxy]ethyl}-thiazol (7)**

by mělo být

**Diisopropyl 2-(4-brom-2-terc-butoxykarbonylamino-5-thiazolyl)ethoxymethylfosfonát (7)**

5. Str. 50, příprava látky **8b**. *Reakční směs byla po extrakci rozpuštěna v ethyl-acetátu a zachycena na silikagelu. Pro izolování produktu bylo využito HPLC s gradientem (30% acetonitril/voda → acetonitril). Takže chromatografie na silikagelu probíhala z polárního do nepolárního prostředí?*

6. Domníváte se, že by pro racionální návrh inhibitorů adenylátcykláz pomohla krystalografická analýza směšného krystalu enzym\*inhibitor? Existují nějaké krystalové struktury některé ze zmíněných cykláz s inhibitorem?

Závěrem chci dodat, že i přes tyto drobné nedostatky, pokládám bakalářskou práci Michala Šafránka za nadstandardní a na základě toho, co jsem již uvedl výše, plně doporučuji tuto práci k dalšímu řízení.

V Praze dne 21.1.2019

Ing. Ivan Rosenberg, CSc.