

Nové modifikované nukleosidy s protivirovou nebo cytostatickou aktivitou
Novel modified nucleosides with antiviral or cytostatic activity

Autor disertace:

Mgr. Anna Tokarenko

Oponent:

Doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.

Disertační práce Anny Tokarenko „*Novel modified nucleosides with antiviral or cytostatic activity*“ byla prováděna v rámci skupiny prof. Hocka působící na UK a na ÚOCHB v Praze. Biologické hodnocení pak bylo prováděno jak na ÚOCHB, tak u firmy Gilead Sciences, a na UP v Olomouci.

Předložená práce je dělená obvyklým způsobem, má 165 stran, 36 schémat, několik obrázků a řadu samostatných vzorců. Výsledky jsou prezentovány ve formě 13 tabulek a odkazuje na 257 literárních pramenů. V úvodu uvedený seznam zkratk je opravdu obsáhlý a téměř bezchybný (pro nonstructural protein by zřejmě měla být zkratka NSP).

V poměrně rozsáhlém úvodu (30 stran) disertantka v první části uvádí čtenáře do problematiky nukleosidových analog s protivirovou a cytostatickou aktivitou. V dalších částech pak podává přehled o 7-deazapurinových nukleosidech a C-nukleosidech. V části věnované C-nukleosidům jsou také zmíněny nejčastější způsoby jejich syntézy.

Celý úvod je jak obsahově, tak formálně odpovídající svému účelu. Jediné, co bych snad této části práce vytkl je chyba ve vzorci pentostatinu, kde je uvedený opačný 8-OH isomer. Za mne pak ve výčtu acyklických nukleosidů chybí Holého první schválené antivirotikum 9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin (Duvira), jehož fosfonátový analog stál na počátku jeho veleúspěšných léčiv tenofoviru, cidofoviru a adefoviru.

Následující kapitola Cíle práce (Aims of the Thesis) výstižně a na jediné straně shrnuje dva hlavní cíle práce (vývoj modulární metodiky syntézy fenyl a pyridyl-derivátů 2'-C-methyl-C-ribonukleosidů a jejich trifosfátů; syntézu 7-deazapurinových nukleosidů s přikondenzovaným pyrolovým jádrem). Cíle jsou řádně zdůvodněny s vysvětlením návazností na další výzkumné výsledky skupiny.

Nejdůležitější částí každé práce je samozřejmě část popisující a diskutující dosažené výsledky (Results and Discussion).

V předkládané práci je v části 3.1 *Modular synthesis of phenyl and pyridyl 2'-C-methyl-C-ribonucleosides* poměrně široce diskutován vývoj modulární syntézy uvedených derivátů. Bylo dosaženo poměrně dobrých výsledků při syntéze chráněných „modulárních“ nukleosidů, problematickým krokem je jejich následná debenzylace, která byla vyřešena ne zcela uspokojivým způsobem. Závěrečné převedení těchto ochráněných nukleosidů na příslušné trifosfáty probíhalo celkem adekvátně.

Část 3.2 *Pyrolo-fused 7-deazapurine ribonucleosides* pak popisuje na 8 stranách studii syntézy těchto látek. I když v části 1.2.4.2 *General synthetic approaches to fused 7-deazapurine nucleobases* jsou podrobně diskutovány možnosti výstavby zmíněných tricyklických skeletů, prakticky disertantka využila pouze strategii spočívající v závěrečné konstrukci centrálního pyrolového jádra.

V části 3.2.4 *Biological activity profiling* jsou poměrně podrobně popsány používané metodiky (protivirová aktivita, cytotoxicita, analýza buněčného cyklu, intracelulární fosforylace, ...) a také jsou tabelárně uvedeny aktivity jednotlivých látek.

V části *Conclusions* jsou pak na dvou stranách shrnuty výsledky práce. Zřejmě prakticky nejvýznamnějším je zjištění, že některé s pyrolem kondenzované 7-deazapurinové ribonukleosidy vykazují zajímavou úroveň cytotoxicity a jsou vlastně z hlediska biologické aktivity novou potenciálně významnou skupinou látek.

V experimentální části je popsána syntéza všech diskutovaných typů látek, včetně koncových trifosfátů. Postup experimentálního provedení syntézy zahrnuje také podmínky purifikace. Všechny látky jsou řádně charakterizovány (m.p., NMR, HRMS, IR, optická rotace, ...). U některých nukleosidů je uvedena také HPLC čistota, včetně podmínek měření. V relevantních případech byla dokonce prováděna analýza obsahu Pd.

Odkazy na literaturu jsou zpracovány velmi pečlivě, téměř důsledně jsou používány akceptované zkratky časopisů s uvedením všech autorů. Vzhledem k rozsahu (257 referencí) jsem našel jen minimum drobných formálních nesrovnalostí. V odkazu 12 chybí iniciála jména druhého autora. V několika odkazech je navíc tečka za zkratkou časopisu, i když poslední slovo kráceno není (např. „*Drugs*. 2003, ...“). V některých odkazech je pak před rokem čárka (např. 22, 33, ...), ve většině ne.

Celkově je předkládaná práce svým zpracováním na velmi dobré úrovni, stejně jako většina formálních aspektů práce (preferoval bych obecně používání trpného rodu před ich-formou). Práce je velmi obsažná, působí vyrovnaně po odborné stránce, je psaná velmi čtivou a, dle mého názoru, dobrou angličtinou.

Závěr:

Disertantka předkládanou původní prací přispěla k rozšíření poznatků daného vědního oboru. Na závěr konstatuji, že předkládaná práce je velmi kvalitní a splňuje všechny požadavky kladené na disertační práci.

Proto **doporučuji**, aby byla disertační práce Anny Tokarenko s kladným hodnocením postoupena k dalšímu řízení.

Doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.

V Praze 3. 1. 2021

Dotazy a náměty k diskusi:

1. Při syntéze fenyl a pyridyl C-nukleosidů byla získána směs 2 anomerů, které redukcí Et_3SiH (přímo, nebo po acetylaci) poskytla dle vašeho tvrzení jako jediný produkt příslušný β -anomer **6**, **8**, nebo **11**. Přitom bylo čištění směsi prováděno chromatograficky. Zkoušela jste prokázat přítomnost druhého anomeru ve směsi před chromatografií?
2. Dokážete vysvětlit rozdílné chování isomerních acetylovaných hemiketalů **10** a **13** při redukcí Et_3SiH ?
3. U látky **11** by zřejmě šlo provádět derivatizaci jednoduchou aromatickou nukleofilní substitucí, například reakcí s aminy, hydroxidy, alkokidy, což by mohlo zjednodušit syntézu látek **18b-e**. Chápu, že jste chtěli mít postup aplikovatelný obecně, přesto by to stálo za pokus.
4. Zkoušeli jste převést pyridin obsahující deriváty na příslušné N-oxidy? Pokud ne, proč? Dovedu si představit, že se mohou chovat při debenzylaci (zvláště kyselě) odlišně, než příslušné neoxidované látky.
5. Celkem předvídatelně se stala problematickým krokem debenzylace benzylym chráněných nukleosidů. Nenapadá vás vhodnější typ chránění?
6. Cyklizací azidů jste získala příslušné deriváty 5,8-dihydropyrrolo[2',3':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu a 7,8-dihydropyrrolo[3',2':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu **38** a **39**. Nepozorovala jste cyklizací látky **37** vznik příslušného derivátu 6,8-dihydropyrrolo[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu?
7. Vzhledem k aktivitě syntetizovaných s pyrolem kondenzovaných deazapurinů by bylo zajímavé v bodu 6 uvedené isomery také otestovat. Máte nějaký návrh syntézy takových látek?