

Posudek disertační práce Václava Vaňka „Synthesis of Prolinol-Based Phosphonate Nucleotide Analogues

Předložená disertační práce je členěna ve stylu odborných publikací, tzn. skládá se z Úvodu, který pojednává o modifikacích nukleových kyselin a dále o fosfonátových a pyrrolidinových modifikacích nukleotidů a nukleosidů, Cíle, Výsledků a diskuse, Závěru, Experimentální části a Literatury. Součástí práce je i seznam publikací, jejichž spoluautorem je uchazeč; publikace z r. 2003 je založena na předložené disertaci a disertant je prvním autorem, u práce z r. 2005 není jasné, zda jde o recenzovanou práci in extenso či nerecenzovaný abstrakt konferenčního příspěvku a třetí publikace byla teprve zaslána k posouzení. I tak lze konstatovat, že práce splňuje podmínky § 47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů.

Po věcné stránce byla disertace zaměřena především na přípravu kompletního souboru stereoizomerních synthonů založených na 4-hydroxyprolinolu a jejich další využití k syntéze pyrrolidinových analogů nukleotidů, konkrétně odpovídajících *N*-fosfonátů a fosfonátů karboxamidového typu. Vzhledem k incidenci virových a nádorových onemocnění je takové téma nepochybně aktuální. Autor disertace vyzkoušel i přípravu dinukleotidu a několika oligonukleotidů a v závěru disertace popisuje i biologickou aktivitu látek. Z tohoto hlediska byl cíl práce v zásadě splněn, byť lze říci, že disertant především využil zavedených chemických metod a postupů a během práce se nestalo nic zvláštního nebo neočekávaného. Jakkoliv se ale může zdát, že nejsložitější transformace použité autorem jsou nukleofilní substituce a redukce NaBH_4 , je nutné říci, že tento typ chemického výzkumu je spojen se zdoluhavými manipulacemi s chránícími skupinami a obtížným čištěním finálních látek, důsledkem čehož bývají drasticky snížené výtěžky.

Celkovému stylu, prezentaci výsledků a formální stránce disertace se dá podle mého názoru ledacos vytknout. Stylem kvalifikační práce by měl být nejen popis výsledků, ale i jejich diskuse a zdůvodnění zvolených cílů/struktur a postupů. Charakter této disertační práce je ale spíše popisný, přičemž řada potenciálně důležitých informací je zmíněna jen okrajově. Příkladem je styl úvodních pasáží a jejich souvislost s cílem práce. V úvodních podkapitolách se autor mj. zmiňuje o dosud připravených pyrrolidinových analogách nukleotidů a nukleosidů a podobných látkách a vcelku přehledně uvádí jejich struktury, ale nenašel jsem ani náznak pokusu o diskusi biologické aktivity v závislosti na struktuře. Biologická aktivita je komentována spíše neurčitými pojmy, např. „compounds **34d-g**, which gave accordingly good bioactivity results“ (str. 21) nebo „these compounds inhibited the growth of breast carcinoma...“, aniž by bylo cokoli řečeno o velikosti účinků a srovnání se standardy. Domnívám se, že by bylo účelné biologickou aktivitu a) přesněji specifikovat a b) přehledně prezentovat relevantní data spolu se strukturou, např. formou tabulek, ve kterých by byly uvedeny jak struktury, tak typ a rozmezí jejich účinků. Čtenář by si tak snadněji udělal představu o tom, jak se mění aktivita v závislosti na struktuře. Z informací uvedených v úvodních podkapitolách tak není jasné, proč si autor zvolil zrovna analoga L-deoxynukleosid 3-fosfátů jako jeden z hlavních dílčích cílů. Při prezentaci reakčních schémat

považuji za přehlednější uvést nad šípkami hlavní reagenty a pod šípkami výtěžky, než shrnout informace o reagentech a podmínkách reakcí do jednoho bloku pod schématem a v jednom případě to dokonce nalepit až na následující stránku, zřejmě kvůli nedostatku místa. Je zajímavé, že autor používá oba způsoby (např. schémata 1, 2, 3 a další versus schémata 4, 5, 6 a další) zároveň. Komentář k oddílu o biologické aktivitě je minimální, což je sice v pořádku v případě neaktivních látek, ale bez jakéhokoliv komentáře jsou i čísla na obr. 30, která sama o sobě mají nízkou vypovídací hodnotu, i graf na obr. 31. Disertace jako celek tak působí dojmem práce šité poněkud horkou jehlou.

Kromě výše uvedených mám k práci následující formální připomínky:

1. Číslování látek ve Schématu 1 je zavádějící, neboť **L-69** a **D-69** atd. až po **L-79** a **D-79** naznačuje, že jde o enantiomery (o **L-78** a **D-78** je to dokonce řečeno v textu na str. 29), ale ve skutečnosti se jedná o diastereomery. Enantiomery jsou např. **L-76** a **D-79**.
2. Z obr. 12 str. 20 nelze zjistit struktury látek **34g** a **39b**, struktura **68** na str. 25 neobsahuje fosforamiditový fragment.
3. V ROESY spektru na str. 37 je korelace označená 1'/'4'(M), která koreluje vodíky u ca 4.8 a 2.5 ppm. Podle spektra převažujícího izomeru látky **95** na str. 94 jde o NOE kontakt mezi vodíky H_{4'} a H_{4'a}, nikoliv o korelaci mezi H_{1'} a H_{4'}. Rovněž značení vodíků na obr. 20 není identické se značením v popisu spektra látky v Experimentální části (str. 95).
4. V popisu cílů práce (str. 26) by měl bod 2 logicky předcházet bodu 1, v rozporu s názvem neobsahuje cíle práce popis syntetických strategií.
5. I když si vážím toho, že disertant práci sepsal v angličtině, na některých místech jsou použity obtížně srozumitelné formulace, např. str. 27: ...Looking these compounds as aza-pentofuranosyl derivatives, it can be also considered the pair of pyrrolidine nucleotides differing in the chirality on C4' as the α - and β -anomers...

Následující věcné připomínky mají sloužit jako podklad do diskuse:

1. Proč si autor zvolil zrovna analoga L-deoxynukleosid 3-fosfátů jako jeden z hlavních dílčích cílů?
2. Methylestery hydroxyprolinu byly zredukovány na odpovídající alkoholy působením NaBH₄ v ethanolu. Jak lze vysvětlit tak snadnou redukci esteru působením činidla, které selektivně redukuje především oxoskupiny (a to i v přítomnosti esteru)?
3. Prosím o komentář k biologickým aktivitám, konkrétně srovnání se standardy.

I když autor odvedl odpovídající množství práce, podle mého názoru mohla být disertace napsána lépe a nemusela obsahovat řadu zbytečných chyb. Přesto se domnívám, že může sloužit jako podklad pro obhajobu.

V Hradci Králové 27. 8. 2008

Prof. RNDr. Milan Pour, PhD.