



ÚOCHB AV ČR

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE
AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY
ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC



Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Petry Dolákové

Synthesis and Properties of Chiral Acyclic Nucleoside Bisphosphonates and Phosphonomethylphosphinates

Mgr. Doláková ve své disertační práci shrnuje výsledky své vědecké práce v oblasti acyklických analogů nukleotidů. Práce se skládá ze dvou nezávislých částí. V první části se disertantka zabývala syntézou 2-amino-4,6-(fosfonomethoxyalkyl)pyrimidinů (zejména chirální PMP a HPMP deriváty a jejich kombinace s PME). Pro jejich syntézu použila několik v podstatě známých (ale ne vždy dostatečně reprodukovatelných a efektivních) metod nukleofilní aromatické substituce dichlor- či difluorpyrimidinů popř. alkylace dihydroxypyrimidinů a připravila zhruba 20 finálních bisfosfonátů v různých diastereomerních kombinacích. Všechny tyto deriváty byly neaktivní a ukázalo se, že neaktivní byla i látka **6** (původně publikovaná jako aktivní), kvůli které byla zřejmě celá studie prováděna. Tento fakt musel být pro disertantku velmi frustrující. Ve druhé (a podstatně zajímavější) části své práce se zabývala syntézou nových (fosfonomethylfosfino)methoxyalkyl derivátů nukleobází, které byly designovány jako acyklické stabilní analogy nukleosid difosfátů. Arbuzovova reakce známého bisfosfonátu **11b** s alkyhalogenidy **68** poskytla po odchránění stavební bloky pro alkylace nukleobází Mitsunobuho reakcí. Byly připraveny [(fosfonomethyl)fosfino]methoxyethyl deriváty 5 nukleobází a 4 další analogy v uracilové řadě pro testování inhibice dUTPasy. Tyto látky byly rovněž neaktivní v testech protivirové aktivity a překvapivě neinhibovaly ani dUTPasu. Výsledky disertace byly zatím publikovány pouze částečně v jednom akceptovaném rukopise v *Eur. J. Med. Chem.* a rukopis shrnující druhou část disertace je dosud pouze v recenzním řízení.

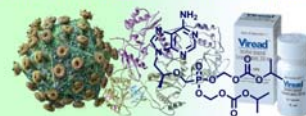
Vlastní disertace je napsána ve stručném až úsporném stylu v anglickém jazyce slušné úrovně (pouze na několika místech jsou trochu kostrbaté formulace a problémy dělá použití členů). Práce je technicky velmi dobře zpracovaná a látky jsou vzorně charakterizovány včetně elementárních analýz a optických rotací. Měl bych pouze trochu výhrady ke zvolené strategii syntéz a testování sérií bisfosfonátů v první části disertace. Tyto diastereomerní látky byly rovnou velmi pracně připravovány ve všech kombinacích enantiomerních postranních řetězců (dokonce byly připraveny i meso-formy kombinací dvou enantiomerních postranních řetězců!!!), což znamenalo velké množství prakticky stejných experimentů. Mnohem efektivnější by bylo připravit racemické deriváty (nebo klidně i diastereomerní směsi) a tyto směsi otestovat a pouze v případě nalezení výraznějších aktivit připravit jednotlivé opticky čisté diastereoisomery. Disertantka by se mnohem dříve dozvěděla o tom, že látky jsou neaktivní a mohla více času věnovat zajímavějšímu projektu. V úvodu zmíněné směrování bisfosfonátů na osteoporózu není podpořeno žádným testováním - bude provedeno alespoň dodatečně? U druhé části disertace bych zase považoval za užitečné připravit fosfáty i od A, T, G a C derivátů **77**, **72b**, **81** a **74** a přímo studovat inhibici reversní transkriptasy popř. DNA polymeras. Neaktivita těchto látek totiž může být způsobena pouze tím, že v buňce nejsou fosforylovány a nabízela by se velmi lákavá možnost přípravy jejich fosfátových profarmak.



ÚOCHB AV ČR

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE
AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY
ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC

Centrum Nová antivirotika a antineoplastika



Centre for New Antivirals and Antineoplastics

Jediná podstatnější technická připomínka se týká faktu, že autorka si zřejmě neuvědomila, že bisfosfonáty nesoucí kombinaci (*R* a *S*) enantiomerních postranních řetězců (např. látky **26b** nebo **52e** a jejich prekursorů) jsou meso-formy (mají rovinu symetrie) a nijak to neokomentovala v textu (ani fakt, že optické rotace byly velmi nízké 0.01-0.6 - ony by tedy neměly točit vůbec, takže fakt, že trochu točí je důkazem ne zcela dokonalé čistoty látek).

Pokus o mechanistickou studii tvorby lineárního **84** a větveného **86** fosfátu pouhým studováním průběhu reakce nebyl průkazný. Průkaznější by byly 2 experimenty, kdy by čisté izolované fosfáty **84** a **86** byly (každý zvlášť) podrobeny reakčním podmínkám analogickým té fosforylaci a studovat, zda jeden (nebo oba) z nich nejsou isomerizovány na ten druhý.

Pro diskuzi u obhajoby bych si dovilil disertantku požádat o zevrubnou analýzu a porovnání obou přístupů k syntéze 4,6-dialkoxypyrimidinů z hlediska aplikovatelnosti a efektivity a pokusit se vysvětlit, proč nefungovala alkylace látky **28** (která by na první pohled měla být snadnější než u Tr-chráněných dihydroxy derivátů).

Přes výše uvedené drobné nedostatky lze celkově hodnotit disertační práci jednoznačně jako velmi dobrou a množství a kvalitu práce disertantky za zcela odpovídající nárokům na tento typ prací. **Proto doporučuji přijmout disertační práci Mgr. Dolákové k obhajobě a k dalšímu řízení k udělení titulu Ph.D.**

V Praze 6. 11. 2008

Doc. Ing. Michal Hocek, DSc.