

Oponentský posudek disertační práce **Mgr. Michala Tichého: “Synthesis of novel types of annulated deazapurine nucleosides with potential biological activity“.**

Prvním cílem práce bylo vypracovat postup umožňující přípravu větších množství pyrimido[4,5-*b*]indolů nesoucích halogen v polohách 4, 5 nebo 6. Z těchto látek pak měly být s využitím reaktivity halogenů připraveny další deriváty substituované v polohách 4, 5 nebo 6 a jejich ribonukleosidy. Dalším cílem byla syntéza nových kondenzovaných thieno-7-deazapurinů a jejich ribonukleosidů. Uvedené deriváty byly vytipovány na základě předchozích studií ve skupině prof. Hocka a měly být dále testovány především na cytostatickou a anti-HCV aktivitu a na aktivitu proti viru horečky dengue.

Původně navržená syntéza výchozích látek byla založena na C-H aktivaci. I když byla vyzkoušena řada metod, tento přístup k cíli nevedl. Maximální dosažené výtěžky byly okolo 10%. Úspěšný byl až klasický postup, kdy byly cílové látky připraveny postupnou syntézou z příslušných chlornitrobenzenů. Po optimalizaci tak bylo možno připravit desítky gramů výchozích látek. Z takto připravených chlorovaných bází byly připraveny Vorbrüggenovou glykosidací chráněné ribonukleosidy. V dalším kroku byl chlor v poloze 4 pomocí „cross-coupling“ reakcí nahrazen fenylem a heteroaromatickými zbytky odvozenými od furanu, thiofenu a benzofuranu. Odchráněním pak byly získány volné nukleosidy. Poměrně velké úsilí bylo věnováno snaze připravit 4,6-disubstituované deriváty následnou substitucí atomu chloru v poloze 6. Zde se po značném úsilí podařilo připravit několik derivátů pomocí Suzzukiho a Stilleho reakce. Pokusy o Buchwald-Hartwigovu aminaci byly neúspěšné stejně tak jako snahy o elektrofilní substituci. Úspěšná byla naopak substituce atomu chloru v poloze 4 amoniakem za vzniku 4-amino-5-chlor a 4-amino-6-chlor derivátů, kde byl dále atom chloru nahrazen fenylem a některými heteroaromatickými skupinami. Zajímavé je zjištění, že se při Stilleho reakci s 2-furyltributylstananem částečně a s 2-thienyltributylstananem výlučně přenáší butylová skupina. Dále byly substitucí chloru v poloze 4 připraveny pyrimidoindolové nukleosidy nesoucí methylamino, dimethylamino, methyl, ethyl a cyklopropylovou skupinu.

4-Heteroaryl-6-chlornukleosidy nesoucí 2-furyl, 2-thienyl a 2-benzofurylovou skupinu vykazovaly submikromolární aktivitu vůči viru horečky dengue . Jako nejzajímavější se jeví 4-methylpyrimidoindol ribosid **44a**, který vykazoval submilimolární aktivitu vůči HCV a přitom není toxický.

Poslední část dizertační práce je věnována syntéze nových, kondenzovaných thieno-7-deazapurinových nukleosidů. Příslušné tricyklické báze byly syntetizovány ve třech krocích Negishiho „couplingem“ 5-zinkovaného 2,4-dichlorpyrimidinu s 2- případně 3-jodthiofenem, následnou substitucí jednoho atomu chloru azidovou skupinou a fotochemickou, případně termickou cyklizací. Takto byly získány dvě izomerní tricyklické báze, které byly standardní glykosydací převedeny na odpovídající nukleosidy nesoucí chlor v poloze 4. Ten byl následně v obou případech nahrazen nukleofilní substitucí případně „cross-coupling“ reakcemi dalšími osmi substituenty. Získané látky pak byly podrobeny zkouškám na biologickou aktivitu, které v době sepisování dizertační práce stále ještě probíhaly. První výsledky ukazují, že některé látky jsou aktivní vůči HCV, ale zároveň vykazují vysokou toxicitu. Vedle biologických aktivit byly u těchto látek měřeny i fluorescenční vlastnosti s ohledem na jejich potenciální využití jako fluorescenční značky. Nejsilnější fluorescence byla zaznamenána u látek nesoucích furan a benzofuran.

Po formální stránce je tato práce členěna klasickým způsobem, obsahuje úvod, cíle práce, výsledky s diskusí, závěr, experimentální část a přehled použité literatury. Úvod přehledným způsobem zmiňuje syntézu a biologické aktivity deazapurinů a jejich nukleosidů nesoucích další anelované aromatické nebo heteroaromatické jádro. Ocenil jsem přehled jednotlivých typů purinových a deazapurinových derivátů dosud připravených ve skupině prof. Hocka. Logicky z něho vyplývá, proč jsou předmětem práce zrovna anelované deriváty. Cíle práce jsou stručně a výstižně formulované. Vlastní práce obsahuje velké množství experimentální práce a přehledné uspořádání usnadňuje její čtení. Získané látky jsou odpovídajícím způsobem charakterizovány a literatura obsahuje úctyhodných 155 odkazů na původní literaturu. Práce je podle mého názoru sepsána velmi pečlivě, přehledně a dobrou angličtinou. Podařilo se mi najít pouze několik formálních pochybení, které však nesnižují úroveň předkládané práce:

Str. 41: v textu má být LXXII ne LXII, po LXXIII následuje až LXXIXa,b.

Str. 51: má být Scheme 23 ne 21.

Str. 67/68: má být 4-chloropyrimidoindole nucleoside **25** ne **37**, totéž ve Schématu 34.

Str. 74/75: Schéma 40 b, c: chybí transmetalaciční činidlo.

Str. 79: Scheme 44 ... nucleoside **51**, má být **59**

Prosím o zodpovězení těchto dotazů:

- Čím se řídil výběr ligandů pro Suzukiho reakci v případě látky **32f**?
- Fotochemické cyklizace s použitím 4W UV lampy byly velmi pomalé. Nedala by se použít lampa s vyšším výkonem?
- Jak si vysvětľujete, že substituce chloru v poloze 4 látky **37** probíhá snadno s dimethylaminem, zatímco s methylaminem neproběhne vůbec?
- Máte představu o mechanismu vzniku látky **58** při ozařování tetrazolu **57**?

Na základě předložené práce lze konstatovat, že se její cíle podařilo beze zbytku splnit, i když cesta k nim nebyla, jak je to u syntetických prací obvyklé, vždy přímočará. Mgr. Michal Tichý prokázal, že je dobrým syntetikem schopným samostatné vědecké práce. Jeho disertace je kvalitním vědeckým dílem, což je doloženo dvěma publikovanými pracemi v renomovaných časopisech oboru. Práci proto bez výhrad **doporučuji k obhajobě**.

V Praze 5. 5. 2015

Prof. Ing. Dalimil Dvořák, CSc.