

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Synthesis of novel types of annulated deazapurine nucleosides with potential biological activity

Autor: Mgr. Michal Tichý

Školitel: prof. Ing. Michal Hocek, CSc., DSc.

Oponent: doc. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá syntézou kondenzovaných derivátů 7-deazapurinových nukleosidů s potenciální protinádorovou a antivirální aktivitou. V syntéze byla studována možnost využití cross-couplingových reakcí pro substituci chloru různými aromatickými zbytky. Popsána je optimalizace reakčních podmínek, způsob přípravy a dosud získané výsledky biologické aktivity vybraných derivátů. Práce je sepsána v pěti hlavních kapitolách. Po úvodu zabývající se přehledem dosavadních známých výsledků následuje shrnutí a rozbor cílů práce. Na tuto kapitolu pak navazuje kapitola Výsledky a diskuze, která rozebírá způsob plnění těchto cílů. Dosažené výsledky jsou shrnuty v kapitole Závěr, po které následuje Experimentální část. Práce je pak zakončena seznamem použité literatury obsahující 155 citací.

Ke struktuře práce mám připomínku týkající se kapitoly 3.5. pojednávající o fluorescenci 7-deazapurinů s anelovanými kruhy, která se mi zdá do práce vnořena poněkud násilně. Studium fluorescence není zahrnuto ani v cílech práce, ani v Závěru. O fluorescenci cílových látek pak není ani hlouběji diskutováno v teoretické části.

Po stránce obsahové je práce dosti objemná. Autor dokazuje, že při řešení odvedl velké množství práce při přípravě cílových sloučenin, kde se často potýkal s nízkou reaktivitou, nízkými výtěžky finálních sloučenin, v některých případech náročnou izolací (mezi)produktů, apod.

Slabinu práce však vidím ve formě sepsání, které je souhrnem faktů o průběhu reakce bez hlubšího rozboru. Strategie syntézy a výběr cílových sloučenin je komentován bez jasnějšího zdůvodnění. Závěry uváděné na základě rozboru biologické aktivity jsou podle mého názoru příliš odvážné vzhledem k počtu a substituční diverzitě testovaných derivátů.

Práce by rovněž zasloužila pečlivější kontrolu formálních náležitostí- např.

- Str. 66-67: Tabulka 11 nezahrnuje všechny výsledky z textu na str. 66 a výběr zahrnutých derivátů neodpovídá ani schématu 36. Navíc používání textů v meziřádku, rozdílnost počtu položek (Entry) a zahrnutých struktur (Comp.) ubírají na její přehlednosti.
- Str. 81 – Diskuze ke schématu 45: V textu je uveden 15% výtěžek látky **49**, ve schématu je uveden výtěžek 30-40%, v experimentální části pak 56%. Ve Schématu a v experimentální části je pak příprava této sloučeniny uvedena jako fotocyklizace, v textu se na str. 81 diskutuje termická cyklizace. Dále je uvedena příprava látky **49** ve schématu 46 metodou fotocyklizace, podmínky ve schématu chybí, výtěžek je tu 30-50%.

- V diskuzní části se míchají různé způsoby číslování. Např. pro rozlišení substituce v polohách 5 a 6 pyrimidinoindolů se používá jednou změna čísel (např. str. 52, deriváty **23,24,4** atd.) podruhé změna písmen (např. str. 59, sloučeniny **35a, b, f**), případně kombinace obojího stylu (např. str. 57 sloučeniny **32f, 33f, 34**). Výsledkem je jednak ztížená orientace v celé práci a následně i chyby, jakými jsou např. stejné číslo **37** pro různé deriváty (str. 68 a 69), diskuze o aktivitě látek **31a,c,e** (str. 73), která se zřejmě týká sloučenin **32a, 32c, 32e**, fluorescenci látky **43e** (str. 86), která má být zřejmě látka **41e**, apod.

Další formální chyby drobného charakteru jsou např. : str. 70 – místo EC_{50} má být zřejmě IC_{50} , postup na přípravu sloučeniny **4** najdeme v jinak chronologickém řazení experimentální části až mezi přípravou sloučenin **24** a **25**, apod.

Některé další námítky uvádím spolu s dotazy na konci posudku jako námět k diskusi při obhajobě.

Přes uvedené výhrady je nutné konstatovat, že autor publikoval výsledky své disertační práce ve dvou prvoautorských impaktovaných publikacích, a že množství odvedené práce a dosažených výsledků splňuje nároky kladené na uchazeče o titul PhD. Z toho důvodu práci doporučuji k obhajobě.

Připomínky a dotazy, které bych chtěl u obhajoby diskutovat, jsou následující:

- Proč je u řady sloučenin v Tabulce 19 uvedena stejná hodnota CC_{50} 44.44 μ M? Opravdu je u všech sloučenin takováto přesná shoda ?
- Z čeho vyplývá v Tabulce 19, že je sloučenina **61h** 4x méně toxická než sloučenina **66h** ?
- Autor zdůrazňuje, že optimalizovaná syntéza pyrimidoindolových bazí **23,24** a **4** byla provedena z 30g první výchozí látky poskytující 30g produktů v celkovém výtěžku cca 25%. V experimentální části se ovšem uvádí postup vycházející z jiných navážek poskytující i po přepočtu jiné výtěžky. Např. sekvence **13** na sloučeninu **16** (6g výchozí látky, výtěžek produktu neuveden) **16** na **19** (60g výchozí látky poskytlo 46.1g produktu); **19** na **22** (30g výchozí látky poskytlo 23.6g produktu); **22** na **4** (24g výchozí látky poskytlo 21.5g produktu). Celkově je tedy výtěžnost reakce maximálně poloviční. Prosím o vyjádření.
- Závěr z hodnocení biologické aktivity na str. 73 podle mě není úplně správný. Není úplně jasné, zda chlor obecně zlepšuje biologickou aktivitu. Z výsledků v Tabulce 13 mohu tvrdit, že klíčová není přítomnost heteroatomu, ale zvolený typ substituce v poloze 4 (viz tabulka 15, deriváty **44d** vs **44a**, které nemají žádný heteroatom na benzenovém jádře, ale liší se substitucí v poloze 4 nebo Tabulka 13 porovnání derivátů **32** nesoucích chlor na benzenovém jádře a různou substitucí v poloze 4. Pokud porovnáám aktivitu derivátů **38** a **39** v tabulce 15, tak toto obecné tvrzení o přítomnosti heteroatomu na benzenovém jádře rovněž neplatí. Na základě těchto závěrů se však autor začal zabývat syntézou 7-deazapurinů s přikondenzovaným thienovým kruhem substituovaných v poloze 4. Můžete mi blíže zdůvodnit přechod od pyrimidoindolů k thienopyrrolopyrimidinům ? A proč zrovna deriváty **48** a **49** by měly být zajímavé?

V Olomouci dne 3.5.2015

doc. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D.

