

Posudek disertační práce Vojtěcha Kaprase „Syntéza a vlastnosti neuroaktivních steroidů“

Disertační práce je členěna na obvyklé kapitoly ve stylu odborných publikací, tj. na Úvod, ze kterého vyplývá Cíl práce, Výsledky s diskusí, Závěr, Experimentální část, Literatura a přílohy s detailními spektrálními a experimentálními daty. Uchazeč je k datu podání práce autorem či spoluautorem šesti publikací s IF, které evidentně souvisí s tématem disertace, z toho dvakrát jako první autor. Práce tak splňuje podmínky odst. 4 § 47 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, a podmínky Studijního a zkušebního řádu Univerzity Karlovy.

Tématiky je disertace zaměřena na syntézu tzv. neuroaktivních steroidů, které interagují s glutamátovými receptory v mozku. Autor se zaměřil na vybrané deriváty *ent*-steroidů pregnanové řady a jejich zjednodušená analoga, a dále na přípravu látek s angulární CD₃ skupinou, využitelných k farmakokinetickým studiím. Nelze než konstatovat, že zvolené téma je aktuální a zajímavé, neboť ovlivnění kognitivních procesů a patologických stavů v CNS je jedním z důležitých dlouhodobých cílů tzv. neurověd.

V Úvodu tak autor stručně vysvětluje význam neurosteroidů a poskytuje čtenáři nezbytný přehled syntetických postupů a klíčových reakcí, které využil ve vlastní práci. Vzhledem k plánované syntéze *ent*-steroidů je pochopitelné, že se zaměřuje na totální syntézu. Konkrétní záměr, tj. výstavba cílového *ent*-pregnanolonu, je založen na využití klasických Robinsonových anelací k vytvoření základu kruhů A, B a C na základě literárních precedentů. Přidanou hodnotou je připojení kruhu D kombinací konjugované adice organokuprátu a radikálové adice. Vývoj metod pro deuteraci angulárních methylů vychází z klasické radikálové derivatizace těchto zbytků, následné oxidace a zpětné redukce s využitím deuterovaných činidel.

Evidentní páteří celé práce je naplánovaná syntéza *ent*-pregnanolonu. Logickým základem kruhů A a B byl Wieland-Miescherův keton s *R* konfigurací, který uchazeč připravil s využitím organokatalytické Robinsonovy anelace. Pro připojení kruhu C se správnou stereochemií se jako výhodnější ukázal rigidnější substrát, ve kterém byla ponechána C4 dvojná vazba, a cyklus C mohl být připojen dvojicí aldolových procesů. Po přemístění dvojná vazby autor studoval konjugovanou adici prekursoru kruhu D, kterou chtěl spojit se současnou oxidací vzniklého enolátu a radikálovou adicí. I když byl tento proces reálný, vedl k nízkým výtěžkům látek s úplným steroidním skeletem. Ukázalo se tak, že výhodnější je oddělené provedení konjugované adice (se současnou oxidací α -polohy ketonu) a termicky iniciované radikálové cyklizace. Zavedením angulárního methylu na spojení kruhů C a D a úpravách funkčních skupin, kde zásadní byla deoxygenace C12, pak byla dokončena totální syntéza *ent*-progesteronu a takto i formální syntéza *ent*-pregnanolonu. Je jen škoda, že tyto enantiomery přírodních látek nebyly připraveny v takovém množství, aby mohly být podrobeny testům biologické aktivity. Biologickým testům bylo, po převedení OH skupiny na C3 na sulfát, podrobena několik meziproductů s částečným steroidním skeletem, obsahujících systém kruhů A a B a skelet kruhů A, B a C. Přitom se ukázalo, že účinnost tricyklického sulfátu (s *ent*-konfigurací) na glutamátové receptory je v podstatě stejná, jako účinnost pregnanolon sulfátu (s přírodní konfigurací). V další části popisovaná příprava deuterovaných steroidů je založena na derivatizaci angulárních methylů pomocí variant Bartonovy reakce, následné oxidaci a zpětné redukci s použitím deuterovaných hydridových a radikálových redukčních činidel.

Z práce je zřejmé, že autor se musel potýkat s celou řadou problémů v oblasti stereochemie. Lze jen ocenit rigorózní přístup k jejich řešení; i když se řadu derivátů podařilo

vykrytalizovat a jejich strukturu určit rentgenostrukturní analýzou (a o jejich stereochemii tak nelze mít pochyb), uchazeč využil i NMR a chemické metody. Domnívám se, že někde si tak i zbytečně přidělal práci, např. při studiu struktury látek *ent-186A* a **a** by podle mého názoru postačily informace, získané rentgenostrukturní analýzou krystalických triketonů *ent-193* a *ent-195*, vzniklých jejich jednoduchou přeměnou. Rovněž se slepými uličkami, obvyklými v totální syntéze, se uchazeč adekvátně vypořádal.

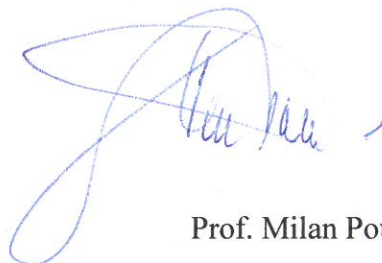
Po formální stránce je práce logicky členěná, použitý jazyk je na slušné úrovni. Množství překlepů a formálních chyb je minimální a jsou takové povahy, že žádné z nich nestojí za zdůraznění. Text a obrázky velmi dobře ukazují čtenáři strategický a taktický vývoj celé práce.

Následující připomínky/dotazy mají sloužit jako případný podnět do diskuse:

1. Jestliže autor optimalizoval přípravu (*R*)-Wieland-Miescherova ketonu (*ent-21*), proč byly následné redukce dekalinového systému dále studovány na (*S*)-izomeru (kap. 3.1.3)?
2. I když nepochybuji o stereochemii látky **150a**, domnívám se, že není v pořádku, argumentuje-li autor chybějícím NOE kontaktem (to, že kontakt chybí, není důkazem ničeho). Nedaly se využít kontakty mezi jinými vodíky?
3. Z výsledků alkylace látek **186A** a **186a** na Schématu 37 je patrný nízký výtěžek produktu *ent-205* s angulárním methylem. V komentáři (str. 58, druhý odstavec) uchazeč popisuje pokusy o optimalizaci postupu, ale není jasné, zda se to povedlo či ne.
4. Popisované afinity látek ke glutamátovým receptorům jsou zajímavé v kontextu informace, že vazba neuroaktivních steroidů může být zesílena změnami v postranním řetězci. Srovnatelné hodnoty afinit tricyklického sulfátového analoga o *ent*-konfiguraci a pregnanolon sulfátu s přírodní konfigurací napovídají spíše o nescifické vazbě těchto látek k receptoru. Jaký je názor uchazeče?

Závěrem konstatuji, že předložená disertace shrnuje velké množství výsledků, které byly adekvátním způsobem získány a prezentovány. Je zcela srovnatelná s obdobnými disertacemi v oboru na národní i mezinárodní úrovni, a proto ji lze bez větších výhrad využít jako podklad k obhajobě a dalšímu řízení.

V Hradci Králové 8. 1. 2015



Prof. Milan Pour