

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Anny Kovalové: „Syntéza oligosacharidů D-hexosaminového typu – potenciálních ligandů aktivačních receptorů NK buněk“

Výzkumný záměr disertační práce paní Mgr. Anny Kovalové je dobře vystižen v jejím názvu. Praktickým cílem syntézy byly větvené i nevětvené homogenní oligosacharidy na bázi 2-amino-2-deoxy-D-glukopyranosy a 2-amino-2-deoxy-D-galaktopyranosy s využitím vhodně chráněných stavebních bloků. Získané oligosacharidy (9 typů a 1 derivát) byly na jiném pracovišti podrobeny testům inhibice vazby vysokoafinitního proteinového ligandu k receptorům NKR-p1A a CD69. V rámci disertační práce bylo připraveno více než 60 nových sloučenin, které byly většinou plně charakterizovány a strukturně analyzovány pomocí spektrálních metod a elementární analýzy.

Práce je dobře obsahově vyvážená: ze 114 stran patří 68 stran experimentální části, tak jak se na syntetickou práci sluší. V seznamu použité literatury je uvedeno 154 odkazů. Oponent uvítal přiložené volné listy s přehledem vzorců diskutovaných sloučenin i barevné odlišení experimentální části.

V rámci syntézy oligosacharidů odvozených od D-glukosaminu byly připraveny vesměs již popsané vhodně substituované stavební jednotky. Pro glykosylační operace byla zvolena metoda s využitím 2-deoxy-2-ftalimidové skupiny jako participující a β -bromidové skupiny (tvořené *in situ* z původního ethylthioglykosidu) jako odstupující v molekule donoru a protekce *O*-benzyllovými substituenty v molekule akceptoru. Použití právě této metody vzešlo autorce víceméně spontánně z poměrně stručného přehledu a rozboru všech užívaných glykosylačních metod uvedeného v první části práce. Nicméně, byly takto připraveny disacharidy s vazbami $\beta(1\rightarrow 3)$ a $\beta(1\rightarrow 4)$, větvené trisacharidy s vazbami $\beta(1\rightarrow 3)[\beta(1\rightarrow 4)]$, $\beta(1\rightarrow 3)[\beta(1\rightarrow 6)]$ a $\beta(1\rightarrow 4)[\beta(1\rightarrow 6)]$ a větvený tetrasacharid $\beta(1\rightarrow 3)[\beta(1\rightarrow 4)][\beta(1\rightarrow 6)]$. Zvláště „jednokroková syntéza“ posledně jmenovaného tetrasacharidu vedle dvou trisacharidů si podle mého názoru zaslouží pozornost a uznání experimentální zručnosti ve zpracování složité reakční směsi.

Analogická metoda použitá pro výstavbu oligosacharidů odvozených od D-galaktosaminu přinesla předvídatelné obtíže spojené zejména s nízkou reaktivitou axiální hydroxylové skupiny na C-4, projevující se zejména v nízkých výtěžcích produktů. Přesto byly připraveny oba disacharidy analogické těm, které byly získány v *gluko* konfiguraci, dále větvený trisacharid $\beta(1\rightarrow 3)[\beta(1\rightarrow 4)]$ a lineární trisacharid s vazbami $\beta(1\rightarrow 4)$.

Všechny finální produkty byly řádně charakterizovány a jejich struktura prokázána NMR.

V biochemických testech zkoumané oligosacharidy jeví téměř ve všech případech řádově horší vazebnou afinitu k proteinu NKR-p1A než k proteinu CD69, která je u některých z nich

naopak lepší, než jaká byla pozorována u kontrolních látek. Zvláště významné postavení zde má větvený tetrasacharid a jeho α -benzylglykosid. Doktorandka na základě těchto výsledků i svých literárních znalostí vyslovila přijatelné úvahy o prostorovém rozmístění vazebných míst na obou receptorech.

K hodnocené práci nemám připomínky týkající se teorie či metody a tak se dále zmíním o některých přehlédnutých chybách. Ty se samozřejmě najdou vždy; v této práci je jich však trochu více a jsou označeny v textu. Zde chci upozornit především na ty, které se v práci opakují.

- a) v experimentální části na str. 57, v odstavci popisujícím přípravu látek **28** a **29** je určitě chybný údaj buď hmotnosti nebo molarity u výchozí látky **27**, což dále znesnadňuje hmotnostní bilanci kroků **27**→**28**→**29**. Podobná chyba je též na str. 77 v popisu přeměny látky **69** na látku **71** a dále **72**;
- b) v celé práci je vzájemné působení molekul nebo jejich částí důsledně označováno nesmyslným slovem intereakce namísto interakce;
- c) práce je psaná češtinou, poznamenanou laboratorním slangem (roztok byl refluxován, reakční směs byla k destilována...), jakož i anglicky (báze-scavenger, glykosidická vazba, anomerická směs...);
- d) v části „Cíle disertační práce“ jsou hexosaminy chybně nazývány 2-deoxyglukosamin, resp. 2-deoxy-galaktosamin (týká se i stejné části v anglickém sumáři).

Bez ohledu na tyto spravedlivě „vyčtené“ chyby lze konstatovat, že předložená práce doktorandky má velmi dobrou odbornou úroveň, je dobře a přehledně formálně vypracována a zejména představuje úctyhodné množství poctivě odvedené práce. Část výsledků již byla publikována v časopisech i v prezentacích na vědeckých konferencích.

Doporučuji přijmout disertační práci Mgr. Anny Kovalové jako podklad pro řízení podle §47, odst.4 Zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách) k udělení titulu PhD.

V Praze 14. 6. 2006.


Doc. Ing. Karel Kefurt, CSc.

Ústav chemie přírodních látek,
VŠCHT Praha