Oponentský posudek doktorské disertační práce
RNDr. Martina Dračínského:

Syntéza derivátů elipticinu a studium jejich interakcí s DNA

Předložená disertační práce je příspěvkem ke studiu interakcí mezi DNA a deriváty elipticinu, o nichž je známo, že mají protinádorové účinky; jde o tématiku, která je v současné době nepochybně aktuální. V úvodu práce autor uvádí stručný přehled postupů, používaných pro syntézu elipticinu a jeho derivátů, a v sedmi tabulkách pak shrnuje dosud připravené deriváty elipticinu. Uvedený přehled je zřejmě téměř vyčerpávající a zahrnuje více než 320 sloučenin.

Část, která popisuje vlastní výsledky autora, je rozdělena do třech oddílů. První z nich je věnován syntéze elipticinu a jeho derivátů. Dr. Dračínský vypracoval metodu, která umožňuje přípravu elipticinu ve větším množství a poskytuje přímo čistý preparát, takže není nutné chromatografické čistění. Připravil řadu derivátů elipticinu s různými substituenty v polohách 2, 9 a 13 a dále prostudoval oxidaci v benzylových polohách 1,4-dimethylkarbazolu a jeho derivátů. Výsledky pak využil k syntéze 13-hydroxyelipticinu, který je jedním z metabolitů elipticinu. Strukturu všech připravených sloučenin bezpečně potvrdil hlavně NMR spektry a pomocí 2D NMR technik přiřadil signály všech atomů H a C; kromě toho zjistil, že chemické posuny v derivátech elipticinu závisejí značně na použitém rozpouštědle, koncentraci a pH.

Těžiště práce spočívá v testování vhodnosti výpočetních metod pro studium interakcí mezi deriváty elipticinu a bázemi DNA (druhá část) a ve studiu způsobu, jakým se elipticin váže na nukleotidy, pomocí ^{1}H NMR spektroskopie (třetí část). Autor porovnal energie interakcí vypočtené s použitím různých empirických potenciálů s energiemi, získanými na základě kvantově–mechanické metody. Za významné výsledky této části práce považuji zjištění, že potenciál ff86 (na rozdíl od ff99) poskytuje hodnoty interakční energie srovnatelné s hodnotami získanými metodou *ab initio* a že empirické potenciály nelze použít pro hledání geometrie, která odpovídá absolutnímu minimu energie. Dr. Dračínský dále pomocí COSY, TOCSY a NOESY spekter přiřadil signály všech vodíkových atomů dvou oktadeoxyribonukleotidů a prostudoval vliv elipticinu a jeho 9-hydroxyderivátu na spektra při různých teplotách a při dvou hodnotách pH. Ukázal, že dochází převážně k interkalaci elipticinu a že elipticin může v závislosti na pH a na typu oligonukleotidu ovlivňovat stabilitu dvojšroubovice.

Práce je napsána velmi pečlivě bez věcných chyb a téměř bez překlepů; nalezl jsem v ní jen několik formálních chyb (např. na str. 16, ve vzorci **11** chybí ethoxylová skupina; na str. 24, schéma: jako redukční činidlo byl asi použit $SnCl_2$; eluční soustavy pro TLC, slibované v úvodu k experimentální části na str. 31, nejsou u žádného z experimentů uvedeny). Výsledky jsou presentovány stručně v kondenzované formě (včetně schémat a tabulek), avšak srozumitelně. Celkově

hodnotím práci velmi kladně; použité metody jsou na současné úrovni a nemám proti nim ani proti závěrům formulovaným v práci žádné námitky.

Dále uvádím několik poznámek, dotazů a námětů pro diskusi:

– Citovaná první syntéza elipticinu (str. 13) není průhledná. Mohl by autor blíže objasnit jednotlivé kroky postupu (redukce Zn, reakce s Ac_2O), pokud jsou v uvedené literatuře vysvětleny.

– Podle tvrzení na str. 24 byla prokázána identita zde připraveného 13-hydroxyelipticinu s jedním z metabolitů elipticinu pomocí chromatografie. Byla měřena a porovnána také NMR spektra nebo hmotnostní spektra obou vzorků?

– Zarážející je přítomnost iontů $[M^+ + 23]$ místo molekulových iontů v EI-MS (str. 33–34); při elektronové ionizaci se ionty se sodíkem obvykle nepozorují.

– Proložení paraboly pouhými třemi body se zdá být poněkud riskantní (str. 48). Má autor představu o tom, k jakým chybám to může vést u vzdálenosti a zvláště u energie minima?

– Během obhajoby by autor mohl blíže definovat hlavní osy studovaných systémů interkalátor–pár bází (str. 44) a úhel pootočení os (str. 47) a specifikovat, jaké změny v prostorovém uspořádání uvažoval při hledání globálního minima (str. 46).

– Vzhledem k diskutované teplotní závislosti chemických posunů by v tabulkách 12 a 13 (str. 67) měla být uvedena teplota, pro kterou platí tabelované hodnoty.

– Není mi jasné, z jakých dat ($\Delta\nu$) dospěl autor k rychlostní konstantě 142 s^{-1} při teplotě koalescence (str. 79).

Závěrem konstatuji, že disertační práce má velmi dobrou úroveň; cíle práce byly splněny a práce přinesla řadu původních a zajímavých poznatků; její části byly již publikovány v odborném tisku a byly podkladem pro referáty na několika konferencích. Z práce je vidět, že autor se výborně orientuje jak v syntetické organické chemii, tak v interpretaci NMR spekter a ve využívání výpočtových metod. Vypracováním této práce Dr. Dračínský prokázal, že je schopen samostatně vědecky pracovat.

Práce splňuje požadavky kladené na doktorské disertační práce a proto bez výhrad

doporučuji, aby se stala podkladem pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

RNDr. Martinu Dračínskému.

V Praze dne 30.července 2006.

Prof. RNDr. Jiří Klinot, CSc.