

Oponentský posudek
dizertační práce RNDr. Lucie Brulíkové s názvem
„Syntéza a studium reaktivity a biologické aktivity C-5 substituovaných analog uracilu“

Dizertantka se zaměřila v první části své dizertační práce na přípravu série 5-alkoxymetyl- a 5-[alkoxy(4-nitrofenyl)metyl]derivátů uracilu a uridinu s různě dlouhým alkylovým řetězcem a na studium jejich cytostatických/cytotoxických účinků na 6 různých typů rakoviných buněk. Tato strukturně aktivní studie zahrnuje kolem 50 nových látek, pro které byly naměřeny hodnoty IC_{50} . Byly získány zajímavé poznatky o vztazích mezi délkou alifatického řetězce 5-alkoxymetyl- a 5-[alkoxy(4-nitrofenyl)metyl]derivátů uracilu a uridinu a jejich cytotoxicitou. V rámci této studie byly nalezeny aktivní látky, které zřejmě budou dále studovány. V případě derivátů uridinu **178a-o** byly separovány oba diastereoizomery, což rozšířilo počet látek o dalších 30 a byla provedena srovnávací studie vlivu chiralit na cytotoxicitu - bohužel, nebyly nalezeny žádné významné rozdíly. Rovněž nebyl nalezen rozdíl v antimikrobiální aktivitě diastereoisomerních dvojic.

- 1. Trochu mne překvapily údaje o cytotoxicitě látek v Tabulce 4 na str. 60 (a logicky i v Tabulce 5 na str. 63) kde C_{12} derivát 185l ztrácí oproti svému kongeneru C_{11} 185k aktivitu u K562-tax buněčné linie, zatímco u CEM-DNR-bulk linie si ji zachovává. Máte pro to nějaké vysvětlení?**
- 2. V tabulkách o cytotoxicitě používáte v názvu pojem „relative IC_{50} “. Můžete prosím vysvětlit relativní k čemu?**
- 3. Pro výpočet μM koncentrací jste použila teoretické hodnoty. Jak si můžete být jistá, že vaše látky jsou stoprocentní?**

Kapitola 3.1. věnovaná 5-[alkoxy(4-nitrofenyl)metyl]derivátům uracilu a uridinu je zakončena dílčím závěrem 3.1.5. kde dizertantka zhodnotila tuto skupinu látek a zcela logicky navrhla určité další možnosti využití reaktivity nitroskupiny pro přípravu nových sloučenin s heterocyklickými kruhy. 4-Nitrobenzylskupina představuje silný chromofor a proto bych očekával UV-VIS charakterizaci látek, které tuto funkci obsahují - hodnoty lokálních maxim a minim a stanovení extinkčního koeficientu. Bohužel tyto údaje v dizertaci chybí.

Obdobně i následující kapitolu 3.2. věnovanou 5-alkoxymethylderivátům uracilu a uridinu zakončila dizertantka dílčím závěrem 3.2.5., ve kterém pečlivě zhodnotila výsledky biologických studií a pokusila se vysvětlit zvýšenou cytotoxicitu připravených látek u rezistentních linií interakcí s některými transportéry, např. s P-glykoproteinem, atd.

- 4. Domníváte se, že vaše látky inhibují transportéry a nebo je využívají k dopravě do buněk? Odhližte od této hypotézy, máte nějakou další představu o mechanismu účinku vašich látek?**

V kapitole 3.2. je podkapitola 3.2.4.2., která se zabývá pokusem o přípravu acyklického fosfonátového analogu nukleotidu. Zde musím bohužel konstatovat, že tato část na mne svým obsahem příliš nezapůsobila a z celé této podkapitoly lze vytušit, že se dizertantka

ocitla na velmi, velmi tenkém ledě. Je tam sice patrná veliká snaha o přípravu fosfonátu, která však byla namířena bohužel, ne zcela tím správným směrem.

Poslední část dizertace je věnována syntéze oligodeoxynukleotidů se substituovaným triazolovým kruhem v poloze 5 uracilové báze. Přiznám se, že jsem dlouho hledal souvislosti s předchozí částí dizertace, ale žádné jsem bohužel nenašel.

Jakoby dizertantce náhle došla invence co dělat dál nebo nabyla dojmu, že té syntetické práce, kterou již vykonala není dostatečný objem, a že je třeba ji prostě nějak rozšířit a doplnit. Tímto nezpochybňuji vědeckou hodnotu této kapitoly, pouze konstatuji, že tato část do dizertace tématicky prostě nepatří.

Byl bych ochoten akceptovat i tuto část, pokud by se ovšem zabývala inkorporací nalezených biologicky aktivních 5-substituovaných uridinových nukleosidů do oligoribonukleotidů, stabilitou modifikovaných duplexů, jako jednou z možností jak by tyto látky mohly v buňce působit.

5. Zde bych chtěl dizertantku požádat o vysvětlení.

6. Dále by mne zajímalo v jakém časovém horizontu byla experimentální část dizertace vypracována.

V dizertaci jsem objevil pár nepřesností:

Str. 29 chybný vzorec cyklouridinu.

Str. 43 Obr. 19 by měly být upřesněny polohy substituentů ve vzorcích **175** (R=uracil) a **178** (R₂=ribose)

Na závěr bych chtěl konstatovat, že i přes můj velmi kritický pohled na poslední kapitulu dizertační práce RNDr. Lucie Brulíkové doporučuji, aby tato práce byla postoupena k dalšímu řízení.

Praha 20.3.2011

Ing. Ivan Rosenberg, CSc.
Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, v.v.i.
Flemingovo n.2, 166 10 Praha 6
(skupina nukleotidů a oligonukleotidů)