

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra organické a bioorganické chemie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Jana Sedláková**

Vedoucí/školitel/ka práce: Doc. PharmDr. Jaroslav Roh,  
Ph.D.

Rok obhajoby: 2018

Konzultant/ka práce:

Oponent/ka práce: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Název práce:

**Synthesis of phosphoramidate prodrugs „ProTides“ as novel potential  
therapeutic agents for the treatment of congenital disorders of glycosylation  
and mitochondrial DNA depletion syndrome**

---

Rozsah práce: počet stran: 116, počet obrázků: 62 obrázků a schémat + 37 struktur, počet tabulek: 13, počet citací: 92

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Jana Sedláková sepsala svou diplomovou práci na základě výsledků, které získala v rámci projektu Erasmus na zahraniční stáži na Cardiff University pod vedením Dr. Fabrizia Pertusatiho. Diplomová práce se zabývá přípravou látek, které by v budoucnu mohly sloužit k léčbě některých vzácných onemocnění, v tomto případě konkrétně při poruchách glykosylace a při nedostatku mitochondriální DNA. V obou případech bylo potřeba vyvinout nové molekuly prekurzorů léčiv s vhodnými vlastnostmi (zvláště se zvýšenou lipofilitou a s možností vhodného průchodu přes buněčné membrány), které by poté v místě účinku sloužily jako zdroj manóza-1-fosfátu, N-acetylmanosamin-6-fosfátu nebo některých nukleotidů.

V části práce, věnované přípravě látek proti onemocnění s poruchou glykosylace, se podařilo připravit 9 nových konečných látek: čtyři založené na peracetylované manóze a pět založených na N-acetylovaném aminoderivátu manózy. Jedna z látek byla navíc vyzkoušena v enzymatické studii a bylo prokázáno, že připravené prekurzory jsou vhodným substrátem pro karboxypeptidázu, což je enzym, který katalyzuje jeden z kroků biotransformace ProTides. V současné době probíhá biologické hodnocení připravených látek. Ve druhé části práce, věnované poruchám s nedostatkem mitochondriální DNA, se podařilo připravit dva

konečné produkty založené na derivátu guanosinu. Tyto látky jsou v současné době rovněž předmětem biologického hodnocení.

Zásadním přínosem této práce je popis přípravy nových látek, využitelných při některých vzácných chorobách, na které doposud úplně nebo částečně chybí léčba.

Dotazy a připomínky:

K diplomové práci mám několik formálních připomínek a poté několik dotazů.

Připomínky:

- Některé zkratky nejsou v textu vysvětleny v místě, kde se poprvé objeví, což trochu znesnadňuje čtení textu člověku, který se problematikou přímo nezabývá - například to, že CMP-Sia je derivát kyseliny sialové je potřeba si v seznamu zkratek potvrdit. Některé zkratky nejsou vysvětleny vůbec (GNE, Asn)
- Strana 28 (vztah struktury a účinku) - mělo by být lépe vysvětleno, o kterém esteru se zrovna hovoří, protože v molekule jsou dva. Čtenář toto s jistotou zjistí až po přečtení tří odstavců
- Schéma 15 - ve vysvětlivkách R odkazuje na řetězec aminokyseliny, avšak v samotném schématu je R esterová skupina a jako aminokyselina je vždy použit alanin
- V části s výsledky a diskusí se zbytečně opakují dlouhé pasáže úvodu, z nichž většina už byla dříve zmíněna
- Tabulka 4 nepřináší žádnou novou informaci ke Schématu 4, proto je zbytečná
- Strana 43 (výsledky a diskuse) - přesný popis přípravy látek patří spíše do experimentální části (kde se znovu opakuje). Toto se vyskytuje i na dalších místech této kapitoly
- Sloučenina 26 (experimentální část) - v navázce N-chlorsukcinimidu je posunutá desetinná čárka a navážka je potom desetkrát vyšší než by měla být

Dotazy:

- V kapitolách 1.4.1.1. až 1.4.1.7. je popsáno mnoho způsobů derivatizace monofosfátů příslušných látek, avšak chybí zde nějaký závěr nebo zhodnocení, kde by bylo okomentováno, který přístup se jeví jako nejlepší. Je možné nějakým kvantitativním způsobem porovnat jejich efekt?
- Struktury 8,9 a 11 nebyly čištěny od nežádoucího bisamidu. Jaký byl obsah této nečistoty? A mohlo se to projevit v dalších reakcích, například při přípravě látek 18-21, kde byl výtěžek reakce pouze mezi 30-50 %?
- Jaký je rozdíl mezi Figure 11 a 22?
- Proč byl výtěžek reakce, vedoucí k produktu 32 (tritylace), pouze 6 %? Jedná se o zavedení chránicí skupiny, což by měla obecně být reakce s vysokým výtěžkem. Co tvořilo zbylých 94 % reakční směsi?
- Finální ProTides odvozené od derivátu guanosinu (53 a 54) se podařilo připravit s výtěžky pouze 2 a 4 %. Proč byly výtěžky této reakce tak nízké? Je možné to lépe okomentovat, protože v diplomové práci k tomuto nízkému výtěžku komentář chybí?
- Experimentální část - při přípravě látky 32 se vycházelo z asi 16 g trityl chloridu, z čehož vzniklo asi 1.25 g produktu (výtěžek 6 %). V následující reakci se ale vychází z 20 g takto připravené látky. Znamená to tedy, že první krok byl později znovu opakován z mnohem většího množství? Vycházelo by to na asi čtvrt kilogramu trityl chloridu. Toto se v experimentální části objevuje vícekrát. Předpokládám tedy, že reakce byly prováděny nejprve v malém množství a poté až ve větším. Mělo množství reagujících látek nějaký vliv na výtěžky reakcí?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci králové dne 21.5.2018

.....  
podpis oponentky / oponenta