

Posudek disertační práce

Cílená modifikace biologicky aktivních látek

Autor: Ing. Michal Rouchal

Oponent: Doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.

Předložená disertační práce s rozsahem 169 stran se zabývá syntézou derivátů anilinu, benzylaminu a purinu s 1-adamantanylovou skupinou navázanou prostřednictvím můstku tvořeného nejčastěji karbonylovou nebo oxoethandiylovou skupinou a studiem tvorby inkusních komplexů těchto sloučenin s β -cyklodextrinem. Kromě toho jsou v práci uvedeny a komentovány výsledky testů 24 připravených sloučenin na inhibiční aktivitu vůči komplexu CDK2/cyklin E a na cytotoxicitu vůči dvěma typům lidských nádorových buněčných linií, které byly provedeny v Laboratoři růstových regulátorů PŘF UP v Olomouci. Práce vychází z dosud známých poznatků publikovaných v literatuře, jejichž přehled s 317 odazy zabírá 43 strany.

Těžiště práce spočívalo v syntézách sloučenin. Autor připravil 52 nových sloučenin, jejichž složení a struktura jsou dobře doloženy, většinou elementární analysou, hmotnostním spektrem, NMR spektry (^1H a ^{13}C) a IČ spektrem. Struktura dvanácti sloučenin byla potvrzena také rentgenovou difrakční analysou. V práci jsou uvedeny jejich ORTEP diagramy, které například v případech sloučenin **18** a **56** názorně poskytují čtenáři informaci o prostorovém uspořádání molekul vzájemně poutaných vodíkovými můstky, většinou však jsou spíše jen dekorací. S výjimkou délek některých vazeb a velikostí některých torsních úhlů v krystalech zmíněných sloučenin **18** a **56**, které jsou uvedeny u jejich ORTEP diagramů, nejsou v práci uvedeny žádné krystalografické údaje.

Tvorbu a vlastnosti inkusních komplexů zkoumal doktorand pomocí hmotnostní spektrometrie, isothermické titrační kalorimetrie a sofistikovaných method založených na NMR. Získal poznatky o stechiometrii jejich tvorby, v pěti případech stanovil příslušné thermodynamické veličiny a v některých případech dospěl k věrohodným závěrům o jejich prostorovém uspořádání.

K předložené disertační práci mám také kritické připomínky. Její název vyjadřuje motivaci a význam výzkumu, který byl její náplní, avšak čtenář si podle něho nemůže o ní vytvořit první rámcovou představu; je zavádějící, odpovídal by práci zaměřené na problematiku cílené modifikace biologicky aktivních látek obecně. Názvem 1-adamantylaminy, který přísluší sloučeninám s aminoskupinou navázanou přímo na adamantanovém skeletu, jsou nesprávně označovány sloučeniny s aminoskupinou na jiném místě molekuly. Obdobně nesprávně jsou používána označení 1-adamantylbenzylaminy, 1-adamantylaniliny a 1-adamantyl(fenyl)ketony. Tlak rozprašovacího plynu v hmotnostním spektrometru (s. 60, 4. řádek) je uveden v jednotkách psi; nejsem proti uvádění velikostí fyzikálních veličin v "nezákonných" jednotkách, avšak měla by být současně uvedena přepočítaná hodnota v jednotkách SI nebo jiných "zákonných" jednotkách. Při podrobnějším studiu experimentální části shledávám chyby v uvádění spekter – uvádím ty, které jsem zaznamenal aniž bych všechna spektra detailně studoval: Ve ^{13}C -NMR spektru sloučeniny **6** jsou uvedeny 3 signály místo dvou signálů methylenových skupin 1-adamantylové skupiny a

chybí signál C1 1-adamantylové skupiny a jeden ze signálů (C1 nebo C3) nitrofenylové skupiny; pro sloučeniny **12**, **14** a **17** je uvedeno stejné ¹³C-NMR spektrum; v ¹H-NMR spektru sloučeniny **14** je adamantylové skupině připsáno 17 místo 15 atomů vodíku; ve ¹³C-NMR spektru sloučeniny **28** není označen žádný signál, který by odpovídal atomu C1 1-adamantylové skupiny, zatímco jeden signál přiřazený skupinám CH přebývá. V některých popisech postupů příprav sloučenin scházejí údaje o reakční době nebo o množství reaktantů, případně je uveden neexaktní údaj. Příklady těchto nedostatků jsou neuvedení časového rozpětí a rozpětí počtu dávek železa nebo celkového množství použitého železa v postupech redukce nitroketonů na aminoketony (s. 66) a azidosloučenin na aminy (s. 78) či "velký přebytek Ra-Ni" (s. 70, příprava alkoholu **18**).

Pro objasnění některých faktů pokládám do diskuse několik otázek doktorandovi:

- U devíti sloučenin s 1-adamantylkarbonylovou skupinou (**6**, **7**, **9**, **10**, **33**, **37**, **45**, **54** a **59**) vykazuje atom C1 adamantylové skupiny chemický posun v rozmezí 46,9 až 47,3 ppm, zatímco u sloučenin **60** a **65** vykazuje uvedený atom uhlíku chemický posun 29,9 ppm resp. 38,0 ppm. Má autor vysvětlení pro uvedené anomální chemické posuny?
- V postupu přípravy ketonů **4** a **5** se uvádí, že v obou případech byl požadovaný keton doprovázen vedlejšími cross-couplingovými produkty. Co je známo o těchto vedlejších produktech?
- Proč byl k přípravě azidosloučenin **37** a **39** z benzylbromidů **33** a **35** použit desetinásobek theoreticky potřebného množství azidu sodného, i když benzylbromidy jsou obecně vysoce reaktivní alkylační činidla a azidový anion je značně reaktivní nukleofil? Proč byl azid použit v tak velkém přebytku a jak dlouhá byla reakční doba?
- Jaký význam měl methylamonium-chlorid v reakční směsi při vstřicné synthese sloučeniny **49**?

Celkově hodnotím předloženou disertační práci jako dílo, které množstvím a kvalitou dosažených výsledků nesporně má úroveň u disertační práce očekávanou. Experimenty, zejména synthese sloučenin, byly náročné na pečlivé provádění, na čas i na vytrvalost doktoranda. Řešení problematiky vyžadovalo i dobré znalosti v oblasti strukturní analýsy. Složení a struktury připravených sloučenin jsou spolehlivě doloženy s využitím moderních metod. Výsledky práce zřejmě budou v krátké době zveřejněny v impaktovaném časopisu. Úspěchem také je skutečnost, že některé z připravených látek silně inhibují enzymový komplex CDK2/cyklin E nebo vykazují silné antiproliferační účinky.

Na základě uvedených skutečností **doporučuji** práci k obhajobě a po její řádné obhajobě doporučuji udělit uchazeči Ing. Michalu Rouchalovi titul Ph.D.

Ve Zlíně 15.6. 2011

Doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.
pověřený oponent