

Posudek oponenta na doktorskou disertační práci  
Ing. Michala Rouchala: *Cílená modifikace biologicky aktivních látek*

Podaná disertační práce si klade za úkol zavedení adamantanového skeletu na strukturu již prověřené biologicky aktivní sloučeniny z oblasti 2,6,9-trisubstituovaných purinů. V návaznosti na to, v jakémisi pilotním projektu, zkoumá tvorbu inkluzních komplexů s jím synteticky připravenými ligandy a  $\beta$ -cyklodextrinem.

Zadanému cíli je podrobena velmi rozsáhlá, ale také velmi kvalitně provedená literární rešerše. V ní si všímá znalostí a aktivity cyklin-dependentních kináz a jejich vlivu na buněčný cyklus. Poukazuje na dosud známé poznatky o jejich funkci při aktivaci buněčných dějů.

V návaznosti na to popisuje aktivitu různých nízkomolekulárních sloučenin na činnost zmíněných cyklin-dependentních kináz a z nich vyzdvihuje purinový skelet, kde jsou známy sloučeniny dobře popsané s prokazatelnými inhibičními vlastnostmi, jako olomucin, roskovitin a jejich deriváty. Tyto jsou pro něj pak jakýmisi templáty, které v rámci své disertační práce upravuje a dopracovává. V následujících odstavcích si všímá a rozebírá syntézu těchto aktivních sloučenin. Aby zkompletoval celkový přehled inhibitorů, ve stručnějším popisu si všímá i jiných látek s těmito vlastnostmi jako je butyrolakton, flavonoidy, deriváty thiazolu a pyrazolu apod. Zdá se, že tomuto přehledu věnoval velkou pozornost a proto přehled je vyčerpávající a uvádějící čtenáře do plného obrazu aktivity těchto sloučenin.

Jak již bylo v úvodu sděleno, doktorand sám zamýšlel skelet aktivních sloučenin obohatit o adamantanový skelet. Proto také adamantanu, jeho strukturu a vlastnostem a syntéze derivátů věnuje další strany literárního přehledu. Nezapomíná ani na jejich uplatnění při tvorbě inkluzních komplexů s  $\beta$ -dextrinem.

Poté vkládá do disertační práce rozpracovaný přehled cílů a záměrů práce na něž navazuje velmi rozsáhlou Experimentální částí. Teprve po ní zařazuje kapitoly Výsledky a diskuze.

V práci předkládá obsáhlou syntetickou studii věnovanou přípravě adamantanem substituovaných aromatických aminů s různě dlouhým „spacerem“, které pak zavádí do polohy 6 u 2,6-dichlor-9-(propan-2-yl)purinu a v závěrečné části substituují 6-chlor 3-aminopropanolem, čímž dospěl k vytčeným syntetickým produktům. S odvoláním na možné zlepšení farmakokinetických vlastností, se doktorand zabývá sledováním tvorby hostitel - host komplexů s  $\beta$ -cyklodextrinem. V závěrečné části přikládá výsledky testů – jednak z inhibiční aktivity připravených purinů na cyklindependentní kinázy a také sleduje cytotoxicitu v lidských nádorových buněčných liniích.

Práce je pečlivě sepsána, bez větších chyb a také dobře graficky uspořádána. Nicméně celou práci se nese používání nesprávných názvů syntetizovaných látek, které by snad bylo možné používat v laboratorním žargonu, ale nemohou být používány v důležitém elaborátu, jako je disertační práce. I když látka **4** je správně pojmenována adamantyl(fenyl)keton, sloučenina **5** již adamantyl(fenyl)ketonem není. Podobně na str. 108 se hovoří o 1-adamantylbenzylaminech, ač to takové sloučeniny nejsou. Lze připustit, že to jsou jen substituované benzylaminy. Tabulka 6 je na

straně 117 a ne na uvedené straně 115, jakož i Schéma 27 je na straně 101 a ne na uváděné straně 99.

Nesouhlasím s tvrzením, že alkylace 6-„amino“-2-chlor-9*H*-purin nemůže využít NaH, vzhledem k jeho silným redukčním vlastnostem (str. 111).

Popisované sloučeniny jsou řádně charakterizovány dostupnými metodami strukturní analýzy, včetně dvoudimenzionálních technik NMR, rentgenostrukturní analýzy a hmotnostní spektroskopie. Rozboru výsledků strukturní analýzy a diskuzi struktury je vždy věnována velká pozornost a uvedené rozboru lze považovat za oprávněné a správné. K výsledkům isotermické titrační kalorimetrie (ITC) se nehodlám vyjadřovat, poněvadž uvedená data a popis je jen poměrně omezený.

Pro doktoranda mám k obhajobě několik otázek:

1. Popište mechanismus reakce adamantan-1-karboxylové kyseliny na její chlorid a vysvětlete o jaký typ reakce se jedná.

2. Na str. 108 popisujete reakci chloridu karboxylové kyseliny s Grignardovým reagentem. Jakou následnou nechtěnou reakci lze očekávat a jak byste zabránil této reakci?

3. Při alkylici na N9 nedoporučujete jako rozpouštědlo DMF a přesto ho používáte v přítomnosti báze k S<sub>N</sub>Ar chloru v poloze C6 za stejných podmínek. Nepozoroval jste vznik sloučeniny s *N,N*-dimethylaminoskupinou na C6 a nejsou tím např. snížené výtěžky produktů s adamantanem vázaným přes aminoskupinu (str. 118)?

4. Udivuje mne, že se Vám podařilo změřit MS u sloučenin po GC u sloučenin **48 – 50**, když následně uvádíte, že se to u některých dalších nepovedlo. Můžete to komentovat?

5. Co byly vedlejší produkty při substituci látek **51** a **54**?

6. Při vyhodnocování komplexů hostitel – host vychází doktorand z rozboru hmotnostních spekter nejprve s jednoduchými sloučeninami s adamantanem a pak i vázaných na purinovém skeletu. Nicméně při vyhodnocení spekter poukazuje ve MS vedle molekulových iontů [M+1]<sup>+</sup> na přítomné ionty [M+Na]<sup>+</sup>. Kde se objevil v molekulovém iontu sodík?

Práce představuje velký kus práce s pozitivními výsledky ve smyslu zadání, přičemž jsou všechny produkty řádně identifikovány moderními metodami strukturní analýzy a navíc byly připravené látky i testovány na biologické vlastnosti, pro které se vlastně připravovaly. Pro tyto skutečnosti mohu konstatovat, že práce splňuje kritéria doktorské disertační práce a práci doporučuji k obhajobě.

V Brně 17.6.2011

Prof. RNDr. Milan Potáček, CSc.  
pověřený oponent