

Oponentský posudek
dizertační práce Mgr. Barbory Lemrové s názvem
Solid-Phase Synthesis of New Purine Derivatives and Study of Their Properties

Zavedení síťovaného polystyrenu jako nerozpustného nosiče pro reakce na pevné fázi prof. Merrifieldem, znamenalo převrat v syntetické organické chemii. Syntéza na pevné fázi doznala v posledních desetiletích ohromného rozmachu, který umožnil vznik kombinatoriální chemie generující statisíce sloučenin v reálném čase. Realizace chemických knihoven peptidů, oligonukleotidů a dalších typů látek, zejména tzv. „malých molekul“ znamenala převrat v biologických vědách - molekulární biologii, chemické biologii a medicíně. Vyhledávání biologicky aktivních sloučenin s pomocí chemických knihoven je dnes zcela běžné, zejména u farmaceutických firem. Pro vytváření knihoven chemických sloučenin jsou důležité vysoké výtěžky následných reakcí, které vedou k finálním sloučeninám. Jinými slovy, optimalizace známých reakcí a vyhledávání nových typů výtěžných reakcí je nesmírně důležité pro přípravy strukturně diverzifikovaných chemických knihoven, které zvyšují pravděpodobnost nalezení nových biologicky účinných látek – potenciálních terapeutik.

Tímto krátkým úvodem, bych rád zdůraznil význam dizertační práce Mgr. Barbory Lemrové, zaměřené do oblasti syntézy nových derivátů purinu a deazapurinu na pevné fázi s důrazem na generování diskrétních knihoven nových sloučenin s možnými biologickými účinky. Dizertantka připravila rozsáhlý soubor výše zmíněných derivátů substituovaných v polohách 2, 6, 8 a 9. K tomu využila celou řadu obecně známých reakcí, nukleofilní substituci a cross-coupling reakci 2- a 6-halogenderivátů, přímou C-H arylaci v poloze 8 a N-arylaci a N-alkylaci. Většina těchto reakcí byla optimalizována tak, aby bylo dosaženo vysokých výtěžků konečných produktů.

Další částí dizertační práce jsou výsledky biologického testování na serii buněčných kultur. Všechny připravené látky byly podrobeny testům na cytotoxicitu. Byly nalezeny účinné látky se selektivitou vůči některým buněčným liniím.

Musím konstatovat, že nemám zásadní připomínky ani k formě a ani k obsahu dizertační práce, která byla vypracována na vysoce renomovaném pracovišti s prioritami v oblasti syntézy biologicky aktivních látek. Práce je profesionálně zpracována a já se skláním se před obrovským množstvím vykonané syntetické práce dizertantky.

Mám ale také několik dotazů a připomínek, které stručně uvádím v bodech.

1. Při vašich vícestupňových syntézách vznikaly pravděpodobně i dosud nepopsané meziprodukty. Uvažovala jste někdy o izolaci a biologickém testování těchto látek?
2. Str. 35-36. Máte nějaké opravdu věrohodné vysvětlení pro „nereaktivitu“ methyljodidu a cyklohexyljodidu při alkylaci purinového derivátu **3** (Schema 17) do polohy N9? Dále na str. 36 dole uvádíte nereaktivitu ethylendiaminu při nukleofilní substituci atomu chloru derivátu **4**. Zkoušela jste monochráněný ethylenediamin?

3. Str. 39, Tab. 1. Jak si vysvětlujete některé dramatické rozdíly mezi procenty v kolonkách Purity a Yield, např. pro látky **9(2,2,2,2)** a **9(3,2,2,1)**. Znamená číslo v kolonce Purity obsah látky po uvolnění z nosiče? Podobně tomu je i v Tab. 4 na str. 51 (Entry 8).

4. Str. 42, Tab.2. Předpokládám správně, že hodnoty IC_{50} jsou vyjádřeny v μM koncentracích? Proč je zvýrazněna hodnota $IC_{50} = 0.9 \mu M$ pro látku **9(3,2,1,4)** (Entry 1) a linii K562 a nejsou zvýrazněny také hodnoty IC_{50} pro oba typy buněk HCT116 (p53mut) a HCT116 (p53WT), když jejich hodnoty ($1 \mu M$) leží v rámci SD (10-25 %).

Podobně v Tab. 6 na str. 57 by měla být, např. pro entry 12 zvýrazněna také hodnota $IC_{50} = 6 \mu M$ pro HCT116 (p53WT) a pro entry 13 hodnota $2.1 \mu M$. U této Tab. 6 by mne zajímalo podle jakého kritéria jste látky klasifikovala jako účinné? Zdá se to trochu nejasné, např. entry 13 a 14.

5. Str. 44. Obr. 26 je obtížně čitelný. Byla by vhodnější tabulka s excitačními a emisními maximy a kvantovými výtěžky. Jiná otázka je, zda-li jste využila fluorescenčních vlastností např. již zmíněné látky **9(3,2,1,4)** ke sledování její internalizace do buněk?

6. Na str. 46 nahoře uvádíte, že emisní spektra látek ve směsi DMSO-voda se významně mění oproti spektrům v čistých organických rozpouštědlech. V případě, že by se fluorescence látek využila ke sledování internalizace do buněk, by bylo praktičtější znát pH závislosti excitačních a emisních spekter. Prosím o stručný komentář.

7. Na str. 55 je asi překlep. Místo $IC_{50} \sim 1 \text{ mmol}$ má být asi $IC_{50} \sim 1 \mu M$????

8. Jako poslední otázku bych rád otázel dizertantky, zda-li se hledá mechanismus účinku aktivních látek a zda-li je nějaká představa jak tyto látky mohou působit.

Předloženou dizertační práci hodnotím jako objevnou. Mgr. Barbora Lemrová je autorkou a spoluautorkou šesti publikací v kvalitních impaktovaných časopisech. Závěrem s potěšením konstatuji, že dizertantka jednoznačně prokázala vysokou profesionalitu jak při experimentování tak při interpretaci a zpracování výsledků. Proto jednoznačně doporučuji dizertační práci Mgr. Barbory Lemrové k dalšímu řízení.

Praha 14.8.2013

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)