

Oponentní posudek disertační práce **Ing. Aleše Marka: „Nové dusíkaté ligandy založené na imidazolovém skeletu“**.

Disertační práce Ing. Aleše Marka popisuje syntézu několika nových typů, především chirálních derivátů imidazolu, využitelných mimo jiné jako ligandy při reakcích katalyzovaných přechodnými kovy. Z přírodních aminokyselin (Ala, Val, Leu, i-Leu, Phe) byly syntetizovány chirální C-4 substituované imidazoly, které byly převedeny na 2-jodderiváty a ty pak byly (stejně jako 2-metalované deriváty) využity pro syntézu 2-aryl(heteroaryl) a 4-(nebo 5)-substituovaných imidazolů. S využitím „cross-coupling“ reakcí byly syntetizovány (nebo byly činěny pokusy o syntézu) ligandů obsahujících dvě a více heterocyklických jednotek: dimerní imidazoly, přemostěné imidazoly obsahující dvě imidazolová jádra, imidazoly nesoucí dvě 2-pyridylové skupiny, nabitě pincery nesoucí dvě imidazoliové soli. Rovněž se zdařilo přemostění imidazolového jádra za vzniku cyklofanů (imidazoliofanů).

Dalším přístupem k chirálním imidazolům byla *N*-substituce chirálními skupinami a jejich redukce na odpovídající alkoholy. Byly připraveny i chirální iontové kapaliny na bázi imidazolu obsahující jedno a dvě chirální centra (vnesené jako *N*-substituenty z aminokyselin) a iontové kapaliny obsahující dvě imidazolová jádra.

Práce se však neomezuje pouze na syntézu nových chirálních imidazolů. U vybraných ligandů byly spektrofotometricky zjištěny konstanty stability komplexů s Cu(II). Přitom se ukázalo, že se tvoří rovnovážná směs dvou komplexů s poměrem Cu : ligand 1 : 1 a 1 : 2 s rozdílnou stabilitou. Byly rovněž zkoumány katalytické schopnosti Cu(II) komplexů některých ligandů v Henryho reakci. Zde bylo dosaženo vysokých chemických výtěžků, ale dosažená enantiosektivita byla velmi nízká.

Zkoumány byly i biologické vlastnosti získaných derivátů. Vzhledem k přítomnosti karbamátové skupiny byly (ve spolupráci s katedrou biologických a biochemických věd UPa) zkoumány inhibiční účinky cholinesteráz. Zde se jako nejúčinnější ukázaly některé deriváty cyklofanů. Studium mechanismu inhibice cholinesteráz, ukázalo, že se jedná o nevratnou kompetitivní inhibici enzymu. Na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové byly zkoumány i antibakteriální a antifungální vlastnosti některých vytypovaných látek. V obou případech se jako nejúčinnější ukázal jeden z imidazoliofanových derivátů (derivát **51**).

Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem. Teoretická část seznamuje na 34 stranách se základní chemií 1*H*-imidazolu, především s reakcemi, které mají vztah k tématu

práce, tj. syntézy chirálních imidazolových derivátů, derivatizaci imidazolů pomocí „cross coupling“ reakcí a C-H aktivace, homocoupling, syntéza pincerů, cyklofanů, imidazoliových solí včetně iontových kapalin odvozených od imidazolů a NHC-ligandů. Rovněž jsou diskutovány komplexy imidazolových derivátů s kovy a jejich aplikace v katalýze. Zmíněny jsou též metody určení konstant stability komplexů a biologické vlastnosti imidazolových derivátů. Následuje poněkud nelogicky experimentální část, která uvádí syntézu a charakterizaci připravených derivátů včetně odpovídajících schémat. Teprve potom následuje část věnovaná diskuzi výsledků. Vzhledem k tomu, že odpovídající schémata a struktury jsou uvedeny v předcházející experimentální části, nutí toto uspořádání k neustálému listování a hledání příslušných schémat a struktur. Stručný závěr pak připomíná spíš abstrakt – uvádí výčet provedených syntéz a měření bez kritického zhodnocení výsledků. Literatura je citována obvyklým způsobem a obsahuje úctyhodných 292 citací. V příloze jsou pak uvedena ^1H a ^{13}C NMR spektra připravených látek, krystalografická data změřených struktur a titrační křivky použité pro stanovení konstant stability. Nepodařilo se mi najít explicitně formulované cíle dizertační práce – tedy, které látky doktorand chtěl připravit a proč. Dá se to však vydedukovat z úvodu práce. Jako v každé práci tohoto typu lze i zde najít formální chyby a překlepy, není jich však mnoho a nesnižují celkovou úroveň práce. Některé z nich dále uvádím:

V teoretickém úvodu je občas obtížné rozpoznat, kdy se diskutují „cross-coupling“ reakce obecně a kdy na imidazolu (např. diskuse na konci str. 18, ref. 64 se netýká imidazolu).

Str. 21, Schéma 6: Pořadí reakčních stupňů je obrácené.

Str. 23, Schéma 7: Popisovaná reakce organokuprátu není Kumada „cross-coupling“.

Str. 23, ref. 101: Má být **2007** ne **2006**.

Str. 28: Čtenáře by potěšila struktura zmiňované C_2 -symetrické chirální imidazoliové soli.

Str. 31: Jedná se o přípravu \underline{z} (*R*)-(+)- α -methylbenzylaminu, ne o přípravu (*R*)-(+)- α -methylbenzylaminu.

Str. 33: Je uvedena pK_s místo pK_a .

Str. 34: „Redukční vlastnosti měděného iontu.“

Str. 41: Má být Michaelova adice nitroalkenu ne nitroalkanu.

Str. 43 a dále: Diskuzi biologických vlastností by prospělo uvedení struktur diskutovaných látek.

Str 46: Diskuze využití radionuklidů je poněkud nepřehledná. Znamená to, že jsou komplexy ^{105}Rh s NHC-ligandy některými tkáněmi selektivně akumulovány a proto využitelné k terapii?

Str. 48: Která s uvedených struktur ve Schématu 41 odpovídá Silvadene®? _____

Str. 130: „Bromfenyl“ místo brombenzenu.

Str. 132: V případě *ortho*-lithiace není jasné, zda nefunguje lithiace, nebo následná reakce s elektrofilem; Popisovaná dimerizace pomocí Negishiho reakce není uvedena v experimentální části.

Str. 133: Jak byly získány krystaly rozdílných konformerů látky **50**? (Experimentální část o tom mlčí.)

Str. 139: ... možnost příprav kvarternizace


Str. 150: ... University Karlovi

Prosím o zodpovězení následujících dotazů:

- Poměrně mnoho prostoru je v teoretické části věnováno NHC-ligandům. Vlastní práce však pokusy o jejich přípravu neuvádí. Nedošlo k nim, nebo byly neúspěšné?
- Na str. 130 je popisován vznik 2-fenylimidazolového derivátu při reakci 4-jod-*N,N*-dimethylanilinu se C-2 zinečnatou solí imidazolu. Jde skutečně o deaminaci? Byla vyloučena možnost, že fenylový zbytek pochází z trifenylfosfinu použitého jako ligand?

Výše uvedené nedostatky však v žádném případě nesnižují odbornou úroveň předkládané disertační práce, kterou považuji za velmi zdařilé vědecké dílo. Ing. Aleš Marek prokázal, že je zdatným syntetikem, který obohatil chemii imidazolu o řadu nových postupů umožňujících syntézu chirálních derivátů imidazolu. O tom ostatně svědčí i připravených 86 nových imidazolových derivátů a to, že výsledky se staly součástí tří publikací, z nichž dvě (*Molecules*, *Synthesis*) již vyšly a třetí (*Synthesis*) je v tisku. Práci proto bez výhrad **doporučuji přijmout k obhajobě.**

V Praze 2. 8. 2010



prof. Ing. Dalimil Dvořák, CSc.

Posudek disertační práce Aleše Marka „Nové dusíkaté ligandy založené na imidazolovém skeletu“

Předložená disertační práce je zaměřena na C2-arylaci chirálních derivátů imidazolu a inkorporaci takto získaných stavebních bloků do sloučenin typu pincerů, imidazoliofanů, iontových kapalin a některých dalších sloučenin. Dále byly zkoumány některé vlastnosti (např. biologická aktivita, příprava a katalytické vlastnosti komplexů aj.) připravených látek. Disertace je poněkud neobvykle členěna na Úvod, který obsahuje nepřliš jasně formulované cíle, Teoretickou část, Experimentální část, Výsledky a diskusi, Závěr, Literaturu a Přílohy. Součástí je i výčet dvou prací v časopisech s IF, jejichž byl uchazeč autorem či spoluautorem v době předložení disertace a který dokládá, že disertace splňuje podmínky odst. 4 § 47 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů.

Zvolená tematika navazuje na problematiku zkoumanou na pracovišti uchazeče, zaměřenou na přípravu a studium vlastností derivátů imidazolu. Určitě je nutné ocenit široký záběr kandidáta, který použil připravené stavební bloky k výstavbě celé řady nových struktur se zajímavými vlastnostmi. Nepochybují ani o aktuálnosti celé práce, při které byly mj. využity moderní katalytické reakce k funkcionalizaci a přípravě nových chirálních sloučenin s možnými aplikacemi v enantioselektivní katalýze a/nebo ovlivnění vlastností biologických systémů.

Po formální stránce nepovažuji disertaci za vhodně strukturovanou. Za daleko lepší a přehlednější považuji členění ve stylu odborných publikací, tj. na Úvod, který shrnuje dosavadní poznatky a vyplyne z něho potřeba řešit nějaký problém (tj. Cíl), Výsledky s komentářem a Experimentální část. Cíle práce jsou v předložené disertaci jen mlhavě nastíněny na konci kapitoly Úvod, která jinak velmi krátce diskutuje význam imidazolu a jeho sloučenin v chemii a biologii. Stejně tak se domnívám, že obrázky, schémata a tabulky patří do Výsledků s komentářem, aby čtenář na první pohled viděl, jaké výsledky a struktury jsou diskutovány a nemusel mít disertaci otevřenou na několika místech současně. Umístění struktur a tabulek s výsledky do Experimentální části a používání pouhých čísel a odkazů na tabulky v kapitole Výsledky a diskuse mi nedodalo žádnou chuť do čtení celé práce, která jinak obsahuje velké množství výsledků.

Po věcné stránce jsem na disertaci neshledal žádné závažnější vady. Autor nejprve připravil řadu imidazolů s centrem chiralit v postranním řetězci a se střídavými úspěchy se pokusil o arylaci polohy C2 prostřednictvím kaplinkových reakcí katalyzovaných Pd. Získal tak sérii stavebních bloků, které přeměnil na chirální iontové kapaliny nebo z nich klasickými substitučními reakcemi vystavěl pincerové a cyklofanové struktury. Dále připravil chirální α -aminoketony, ve kterých byla zdrojem chiralit aminokyselina a zabýval se možností enantioselektivní redukce oxoskupiny. U vybraných látek byla zkoumána tvorba měďnatých komplexů a jejich katalytický účinek v Henryho reakci. Většina sloučenin byla rovněž podrobena biologickým testům. Vzhledem k přítomnosti karbamátové skupiny a kladně nabitého dusíku v řadě sloučenin byla zkoumána především inhibice acetyl- a butyrylcholinesterázy, a dále antimikrobiální efekt. Zatímco syntéza látek byla více či méně bezproblémová, pokusy o enantioselektivní reakce v podstatě selhaly a to jak snaha o redukci α -aminoketonů, tak snaha o využití měďnatých komplexů chirálních imidazolů při nitroaldolové kondenzaci. Taková situace je však v základním výzkumu běžná a nelze z ní vinit autora. Úspěšnější byly až biologické testy, při kterých byly identifikovány pincerové a imidazoliofanové struktury s inhibičními účinky vůči butyrylcholinesteráze v řádu desítek nmol/L.

K práci mám následující formální připomínky:

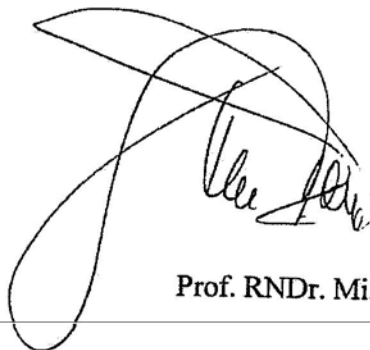
1. Až příliš nápadné gramatické chyby nebo zavádějící formulace: např. „Karlovi Univerzity“ (str. 150), „Alzheimerovi choroby“ (str. 43, 146); dále např. výraz „prekursor kovu“ (str. 141) je nesmyslný, lépe by bylo použít „zdroj kovu“, atd.
2. Nedůslednost při překladu anglických odborných výrazů, např. výraz „thyroid carcinoma“ uvedený kurzivou na str. 46 je česky nádor štítné žlázy, atd.
3. U řady struktur jsou uvedena 2D spektra nebo výsledky rentgenostrukturní analýzy. Myslím si ale, že u řady jednoduchých látek jde o možná až zbytečný nadstandard, neboť např. u substancí tak jednoduchých jako je **53** nebo **54** musí být struktura na první pohled zřejmá z 1D spekter.
4. V případě teprve odeslaných publikací není korektní uvádět „odesláno k publikování“, ale pouze „odesláno k recenzi“. Jinými slovy, odesláno („submitted“) a přijato („accepted“) nelze směšovat.
5. Názvy esterů se píšou dlouze, tj. karbamát a ne karbamat (viz Experimentální část).

Následující připomínky/dotazy mají sloužit jako případný podklad pro diskusi:

1. Pokusil se autor i o přímou arylaci látek typu **11-13**?
2. Lze nějak vysvětlit dvojnásobné rozdíly ve výtěžcích arylace izomerů 4 vs 5?
3. Redukce ketonu **58** vedla k nedělitelné směsi. Nezkusil kandidát také změnit chromatografické vlastnosti látek jednoduchou esterifikací?
4. Nitroaldolová kondenzace vyžaduje obecně bazickou katalýzu. Byly zkoušeny i katalytické vlastnosti připravených látek bez přítomnosti Cu^{2+} ?
5. Relativně nízkou inhibiční účinnost jednoduchých karbamátů (**6-10**, **11a**, **11b**, **17-22** a dalších) vůči ACHE lze možná vysvětlit porovnáním se strukturou rivastigminu, tj. tzv. acylujícího inhibitoru. V aktivním centru enzymu dochází k přenosu aminokarbonylové skupiny na serinový hydroxyl ACHE při současné interakci protonizované aminoskupiny s anionickým místem. Podmínkou účinku je tak dodržení vzájemné polohy esterové a bazické skupiny. Jaký je názor kandidáta?
6. Podobně se domnívám, že solidní účinek biskvarterních pincerů (např. **42**, **44**) a imidazolofanů (např. **50-52**) není příliš překvapivý a nesouvisí se skeletem jako takovým. Struktura ACHE obsahuje celkem dvě anionická místa a existuje řada velmi dobrých inhibitorů ze skupiny biskvarterních amoniových solí (např. některé látky kurarového typu), jejichž inhibiční účinek je dán současnou interakcí s oběma místy.

Závěrem konstatuji, že bez ohledu na zvolený způsob prezentace, který je podle mého názoru nepřiliš šťastný jde o relativně slušnou experimentální práci obsahující řadu výsledků a doporučuji ji proto k obhajobě a dalšímu řízení.

V Hradci Králové 12. 10. 2010



Prof. RNDr. Milan Pour, PhD.

Oponentní posudek na doktorskou disertační práci Ing. Aleše Marka „Nové dusíkaté ligandy založené na imidazolovém skeletu“

Ve své disertační práci se Ing. Aleš Marek soustředil na chemické opracovávání imidazolového jádra s jedním stereogenním centrem v bočním řetězci a na studium vlastností připravených sloučenin. Strategie syntézy výchozích látek je vtipná – vychází z chirálních aminokyselin, ve kterých se po ochránění „pyrrolového dusíku“ převede karboxylová skupina sledem klasických reakcí na imidazolové jádro, které potom na uhlíku 4 (5) nese chirální zbytek pocházející z použité aminokyseliny.

Takto připravené chirální imidazolové deriváty synteticky obměňuje na periferii imidazolového jádra, pevně substitučními reakcemi na atomech pyrrolovém i pyridinovém dusíku a na uhlíku C2. Všemi těmito reakcemi a zejména pak „cross-coupling“ reakcemi na C2 připravil desítky nových sloučenin. Nejsou to „reakce pro reakce“ či „syntézy pro syntézy“, ale jsou to reakce zaměřené na syntézu cílových molekul různých tvarů – pincerů, cyklofanů s dvěma imidazoliiovými kruhy v cyklu (imidazoliiofanů) a chirálních imidazoliiových iontových kapalin. Uvedené typy sloučenin jsou v práci dále studovány jako ligandy, vzniklé komplexy s Cu^{2+} solemi jako katalyzátory v enantioselektivní Henryho reakci a také jako látky s antimikrobiálními a s protiplísňovými účinky.

Souhrnně řečeno, je to disertační práce rozsáhlá jak po stránce organické syntézy, tak i po stránce studia vlastností a potenciální praktické použitelnosti připravených sloučenin.

Oceňuji její logickou strukturu, srozumitelnost. Dobře se čte. Struktura látek je přesvědčivě dokazována všemi dostupnými prostředky a stejně přesvědčivé jsou i učiněné závěry. Z obsahu disertační práce je zřejmé, že v ní doktorand navazuje či pokračuje v problematice, kterou začal řešit už ve své práci diplomové. Neškodilo by proto připomenout stručně téze diplomové práce. Přesto uvedu jen několik, převážně formálních připomínek z těch, které jsem v textu disertace vyznačil tužkou:

1. *n*-butyl(butyl), ethylacetát (ethyl-acetát), hmotová (hmotnostní), *s*-Pr (*i*-Pr), *i*-Bu (*i*-Bu), *n*-Bu (Bu), *i*-Pr (*i*-Pr), *i*Le (Ile), paladium (palladium) – na více místech disertace
2. Řada slov a slovních spojení jako by pocházela z nějaké „čengličtiny“, např. elektron-bohatých komplexů (16), trimethyl chránící skupina (25), několik review příprav (35), přes

noc při r.t.

3. Chirální centrum, chirální uhlík a pod. (chiralitní centrum, chiralitní uhlík, asymetrické centrum, centrum chiraloty, stereogenní centrum),(31)
4. Quater (kvater), terdentátní (tridentátní) (26), co to je měděný ion (34).
5. Organofosfátové nebo organofosfanové komplexy (38).
6. Ve skutečnosti se jedná o Meerweinovu-Ponndorfovovu redukci a ne o "transfer hydrogenaci" (40).
7. ...Michaelovi adice.... (schema 35),DMF a přebytek výchozího imidazolu byli...(91). Rád bych věřil tomu, že to je jen rafinovaný způsob doktoranda, aby si ověřil, jak důkladně oponent disertaci čte.
8. Nikoliv nitrát stříbrný, ale dusičnan stříbrný nebo argentum-nitrát (48)
9. Místo formamidin acetát lépe formamidinium-acetát, (51).
10. „Ochrana imidazolového vodíku“, co se vlastně chrání, vodík nebo dusík (52).
11. Názvy karbamátů jsou vlastně názvy anglické.
12. Co vyjadřuje první stereodeskriptor (S) v názvech derivátů 25 (62), 71 a 72 (101).
13. Deriváty 45 – 52 nemají názvy? (84-87).
14. bromfenyl (snad fenylbromid a ještě lépe brombenzen)
15. Co to je za sloučeninu: 1-(1H-imidazol-1-yl)-4-butan-2-ol (138).
16. Produkt s „nulovou enantiomerní čistotou“, stačí napsat racemát.
17. Špatné označení pincerů na str. 145: 43a (34a), 45a (35a), 46a (36a).
18. Nejsou sole ale soli (146).
19. NMR spektra byla měřena a nikoliv byly měřeny.

Závěrem konstatuji, že disertační práce Ing. Aleše Marka obsahuje víc jak dostatečné množství původních výsledků. Uchazeč prokázal, že je schopen samostatné vědecké činnosti a splňuje tak podmínky § 47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách.

Doporučuji

doktorskou disertační práci Ing. Aleše Marka k obhajobě.

V Praze dne 18.8.2010



Prof. Ing. František Liška, CSc.