



Univerzita Karlova

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Akademika Heyrovského 1203, 500 03 Hradec Králové, Česká republika

V Hradci Králové 3. prosince 2024

Posudek oponenta na disertační práci Ing. Lukáše Marka „Využití Eschenmoserovy reakce při syntéze biologicky aktivních sloučenin“

Disertační práce Ing. Lukáše Marka byla vypracována pod vedením prof. Ing. Jiřího Hanuska, Ph.D., a tematicky navazuje na předchozí výzkum školitele. Jedná se jednak o metodickou, jednak následně i o aplikovanou práci zaměřenou na přípravu potenciálních biologicky aktivních látek. Protože Eschenmoserova reakce (ECR), ač prvně reportována na konci 60. let 20. století, jistě ještě „neřekla“ své konečné slovo a inhibitory kináz jsou velmi perspektivní a studovanou skupinou léčiv, téma práce je tak aktuální, zasluhující studium a přínosné, a to ať už z pohledu základního, tak i aplikovaného výzkumu.

Práce vhodně kombinuje dominující syntetickou organickou chemii se studiem reakčního mechanismu i aplikacemi těchto syntéz v přípravě bioaktivních molekul. Členění disertace je klasické a kopíruje odborné sdělení – úvod, teoretická část (současný stav poznání), cíl práce, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr, seznam použité literatury (úctyhodných 327 zdrojů, a to od chemické „prehistorie“ po aktuální práce) a přílohy, celkem 277 číslovaných stran. Další přílohy (NMR, vybrané GC chromatogramy, EI-MS a IR spektra sloučenin) jsou přiloženy jako samostatný svazek (161 stran). Na pracovišti oponenta je zvykem uvádět i seznam prací disertanta včetně uvedení jeho autorského podílu.

Úvod (2 strany) čtenáře uvádí do problematiky ECR. Současný stav poznání fundovaně a systematicky seznamuje čtenáře s mechanismem ECR (zejm. důkazy existence thiiranového intermediátu a extruze síry), reaktivitou primárních, sekundárních a terciárních thioamidů/thiolaktamů, přičemž věnuje pozornost krom samotných mechanismů i reakčním podmínkám, výtěžkům i vedlejším reakcím a stereochemii těchto dějů. Teoretickou část uzavírá stručnější pojednání o biologicky aktivních (Z)-aminoakrylamidech synteticky dostupných právě pomocí ECR, z hlediska aktivity zejména blokátorech tyrosinkinázových receptorů a inhibitoroch kináz. Celkové pojetí kapitoly považuji za zdařilé, drobné poznámky a připomínky viz níže.

Dobře stanovený cíl práce je partikulován do šesti relevantních oblastí. Experimentální část zahrnuje obecné stati: přístrojové vybavení a chemikálie, dále se věnuje jednotlivým postupům při studiu vztahů struktura-reaktivita a obecnosti ECR (příprava thioamidů, oxindolů, isochinolinů a obecně α -bromamidů a jejich analog, následně samotná ECR na různých substrátech, příprava thiazolů) a studiu využitelnosti těchto postupů při syntéze vybraných léčiv i potenciálních léčiv (hesperadin a analoga, nintedanib, inhibitory CDK).

Výsledky a diskuse adekvátní formou shrnují a analyzují zjištěná data, věnují se východiskům reakcí, popisu vztahů struktura-reaktivita (a výtěžkům), vlivu rozpouštědel a přítomnosti katalyzátorů, resp. thiofilů. Autor zdařile diskutuje tendenci substrátů podléhat buď ECR, nebo Hantzschově thiazolové syntéze, což podporuje i výpočetně. Dále pojednává o inovativním využití ECR při syntéze (potenciálních) léčiv na bázi enzymových inhibitorů a receptorových antagonistů, připravovaných doposud odlišně, přičemž autorem nově proponované postupy jsou výtěžky minimálně srovnatelné nebo i superiorní. Některé zahrnuté reakce jsou dosud nepopsané (např. thioacylace). Věnuje se také konfiguraci produktů ECR a různými pokročilými přístupy a metodami

diskutuje studium mechanismu extruze síry a existenci polysulfidových intermediátů a jejich autokatalytickou roli. Použité metody jsou komplexní, náročné a vyžadují hluboké znalosti a dovednosti syntetické organické chemie a využití pokročilých analytických technik. Výsledky jsou všeobecně přesvědčivé a podpořené experimentálními daty. Závěr pak stručně a výstižně shrnuje podstatná zjištění ve vazbě na cíle i „vedlejší“ přínosy, chybí mi tu alespoň naznačení dalších perspektiv.

Disertace je sepsána na velmi slušné úrovni dobrou češtinou, přesto se neubráníla občasným chybám jazykového a formálního charakteru (překlepy typu „thiranového“, „fibrolast“, „petailně“, „chazení“, „12 ml s vody“, „šestičlennů“, „pyridil“, „standartní“, vzácněji pak interpunkce či velká písmena vč. psaní názvů léčiv a přírodních látek s velkými písmeny, používání chemické hantýrky, spojovníky vs. pomlčky, za jednotkou min se nepíše tečka, x vs. ×, rozdělení hodnoty a jednotky/% na dva řádky aj.). Připomínky lze mít i k českému chemickému názvosloví – občasně používání anglikanismů, namátkou corrinového, bromoisochinolin, benzene, abecední pořadí substituentů (např. str. 50, 77 či 90), nepoužívání spojovníku u esterů a solí (např. str. 83 a 112), dále např. skupina, která by měla být vyjádřena koncovkou, je v předponě (např. str. 107, 41), občasně používání pouze kulatých závorek v názvech aj.

Další připomínky a dotazy:

- podle čeho jste volil kurzivu při psaní některých slov?
- některé zkratky nejsou definovány (např. TFA, PPA), jiné nejsou vysvětleny v textu práce,
- str. 5, produkt IV – byl tento produkt specifický jen pro $R^1 = \text{Me}$? Pokud ano, jaké navrhuje vysvětlení?
- str. 17, schéma 15 – mezi intermediáty XLIII a XLV chybí ve schématu (de)protonizace, dále u XLV chybí v tomto znázornění kladný náboj na dusíku,
- u diskuse stereochemických aspektů ECR bych upřednostnil konzistentně používat *E/Z* konvenci,
- str. 31 – k rozpustnosti isochinolin-1,3-dionů ve vodě nepochybně napomáhá i imidové seskupení, nikoli jen fenolická skupina,
- experimentální část – postrádám někde detaily o výrobcích/dodavatelích,
- str. 37 a násl. – odlišné výtěžky u některých látek v tabulce 7 a v textu,
- str. 41 – sloučeniny **3a** a **3b** již byly popsány, postrádám příslušné reference, totéž např. u některých oxindolů,
- str. 43 aj. – v ^1H spektru látky **5b** postrádám methyl, podobně u **31b**,
- str. 48 – je správně uveden vzorec diethyl-fosfitu i produktu?
- str. 52 aj. – jaký je, prosím, důvod neuvedení ^{13}C spekter látek **12c**, **30** či **31d**?
- str. 61 – podařilo se identifikovat některé nečistoty u látky **25**?
- je zbytečné opakovat ^1H spektra látky **35b**, i když byla připravena různými metodami (str. 85 a 87),
- str. 163, schéma 43 – z čeho jste usoudil, že záporný náboj bude lokalizován právě na kyslíku?
- str. schéma 69 – nebylo by vhodnější u reakce vycházet ze skutečně existující molekuly P_4S_{10} ?

Kromě těchto připomínek vznáším následující dotazy k diskusi v rámci obhajoby:

- 1) Na str. 6 a dále uvádíte přehled thiofilních činidel. Existuje nějaké přímé porovnání jejich „síly“? Resp. jak by to bylo možné? A jak si, prosím, v souhrnu vysvětlujete, že u řady Vašich reakcí byl přídavek thiofilu kontraproduktivní?
- 2) Zaujal mne bazicky katalyzovaný přesmyk *N*-acetylisatinu. Nezkoumali jste podrobněji „substrate scope“, příp. reakční podmínky?

3) Thioamidy mohou zaujímat dva různé konformery (*Z* a *E*). Existuje práce, která by se zabývala vlivem této isomerie, resp. existující rotační bariéry, na průběh, výtěžky nebo stereochemii ER? Případně jaký je Váš komentář?

I přes uvedené výtky vesměs benigního charakteru je rozsáhlá disertační práce Ing. Lukáše Marka jednoznačně zajímavým, originálním a přínosným dílem a jedná se o poctivou synteticko-metodickou práci. Doktorand prokázal přesvědčivou erudici v oblasti tématu disertační práce i v kontextu celého vědního oboru, dovednost pracovat ve vědeckém kolektivu, prezentovat své výsledky v experimentálních publikacích (sedm publikací, pět se týká přímo Eschenmoserovy reakce, z toho čtyři prvoautorské). Oceňuji také srozumitelnou a zároveň fundovanou prezentaci svých zjištění v rámci disertační práce.

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na tento typ práce a podle § 47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ji doporučuji k obhajobě a dalšímu řízení. Po jejím úspěšném obhájení pak souhlasím s udělením titulu Ph.D. v oboru organická chemie.



doc. PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.

Katedra organické a bioorganické chemie
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova
Akademika Heyrovského 1203
500 03 HRADEC KRÁLOVÉ
martin.kratky@faf.cuni.cz