

Pan Mgr. Ondřej Jand'ourek vypracoval na Katedře farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy Farmaceutické fakulty University Karlovy v Hradci Králové disertační práci na téma Deriváty pyrazinu jako potenciální antituberkulotika (příprava a studium biologických vlastností). Práce je pojata jako soubor 6 článků ve vědeckých časopisech, pěti publikovaných a jednoho k publikování zasláno, opatřených společným úvodem. Cíl práce je definován v kapitole 2. Formulace problematiky a způsob řešení poněkud netradičním způsobem tak, že jsou zadány 3 deriváty pyrazinu substituované chlorem v poloze 3 nebo 5, a to 5-chlor-6-methylpyrazin-2,3-dikarbonitril, 3-chlorpyrazin-2-karboxamid a *N*-benzyl-3-chlorpyrazin-2-karboxamid, a cílovými sloučeninami pak jsou látky, které bude možno z uvedených intermediátů připravit pomocí aminodehalogenačních reakcí a alifatickými, alicyklickými a aromatickými aminy a též substituovanými benzylaminy a fenylylhydraziny, provedenými v mikrovlnném reaktoru s fokusovaným polem. Úvodní část práce se dále věnuje tuberkulóze včetně epidemiologické situace ve světě i v ČR a dlouhodobě používaným i novým antituberkulotikům. Více se zaměřuje na pyrazinamid, u něhož shrnuje řadu více či méně potvrzených hypotéz o mechanismu účinku. Dále úvodní část práce líčí postupy přípravy výchozích intermediátů a stručně charakterizuje metody biologického hodnocení připravených sloučenin. V kapitole 5. Komentář publikovaných výsledků je shrnuto 7 sérií připravených cílových sloučenin spolu se stručnou charakterizací jejich biologických aktivit a vyvozením základních vztahů mezi strukturou a aktivitou. Jedná se o substituované 5-(benzylamino)-6-methylpyrazin-2,3-dikarbonitrily (kap. 5.1.1.), 5-(fenylhydrazino)-6-methylpyrazin-2,3-dikarbonitrily (kap. 5.1.2.), 3-(fenylamino)pyrazin-2-karboxamidy (kap. 5.2.1.), 3-(benzylamino)pyrazin-2-karboxamidy (kap. 5.2.2.), 3-(fenylhydrazino)pyrazin-2-karboxamidy (kap. 5.2.3.), 3-(alkyl- nebo dialkylamino)pyrazin-2-karboxamidy (kap. 5.2.4) a 3-(alkylamino)-*N*-benzylpyrazin-3-karboxamidy (kap. 5.2.5.). Kapitola 5.3 Shrnutí a diskuze pak pokračuje v rozboru vztahů strukturních parametrů a aktivity antimykobakteriální, antibakteriální vůči jiným patogenům než mykobaktériím, antimykotické, herbicidní a rovněž cytotoxicity. Protivirová aktivita zde diskutována není, ačkoliv její testování patřilo k cílům práce (kap. 2.) a u série 3-(alkylamino)-*N*-benzylpyrazin-3-karboxamidů byla skutečně stanovena, i když, pravda, bez zajímavých výsledků. V kapitole 6. Závěr se mj. konstatuje, že bylo v rámci této práce připraveno 79 cílových sloučenin, z čehož 75 látek jsou sloučeniny v literatuře dosud nepopsané.

Připomínky:

1. Název kapitoly 5.1.1. a popis obr. 9 a obr. 10 neodpovídá struktuře na obr. 9. Namísto „5-chlor-6-methylpyrazin-2,3-dikarbonitril substituovaný benzylaminy“ by mělo být např. „Deriváty 6-methyl-2,3-dikarbonitrilu substituované benzylaminy v poloze 5“. Obdobná situace je u názvu kap. 5.1.2. a obrázků 11 a 12, kap. 5.2.1. a obr. 13, kap. 5.2.2. a obr. 14 a 15, kap. 5.2.3. a obr. 17 a 18, kap. 5.2.4. a obr. 19 a 20 a kap. 5.2.5. „Odvozený od“ neznamena totéž jako „připravený z“. Zobecněné názvy substituovaných derivátů nějaké základní struktury se tvoří s použitím názvu základní sloučeniny, kde je v substituované poloze vodíkový atom.
2. Rovnice č. (1), (2), (3), (4) a (6) v příloze č. 1 (*Molecules* **2014**, *19*, 658 - 659) obsahují chyby, které je činí nesmyslnými. Uveďte v prezentaci rovnice správně zapsané.
3. Citace 36- 39 v příloze č.1: citujete většinu spoluautorů, posledních 3 – 5 nahrazujete „*et al.*“ Obvyklé je buď vypsát všechny autory, nebo jen první 1 – 2 a všechny ostatní nahradit „*et al.*“

Dotazy:

1. Jaký je vlastně správný název práce? Na obálce čtu „Deriváty pyrazinu jako potencionální antituberkulotika“, zatímco uvnitř je titul „Deriváty pyrazinu jako potenciální

antituberkulotika.“

2. Kterými vyhláškami bylo v ČR zrušeno povinné očkování a přeočkování proti TBC? Zmiňujete se o nich na str. 11, ale necitujete je.
3. Str. 24, předposlední věta: Jakou NMR technikou byly určeny vazebné interakce pyrazinamidu?
4. Proč byly Vaše produkty testovány na protivirovou aktivitu? Znáte nějaký precedens: širokospektré antivirotikum založené na struktuře pyrazinamidu?
5. Charakterizujte mechanismus aminodehalogenační reakce chlorderivátů pyrazinu a aminy a substituovanými hydraziny. Liší se nějak mechanismus reakce provedené klasicky a v mikrovlnném reaktoru?
6. Ke kap. 5.2.4. Jak si vysvětlujete, že reakce 3-chlorpyrazin-2-karboxamidu s aminy, prováděná v mikrovlnném reaktoru, dávala vyšší výtěžky v přítomnosti pyridinu, než bez něho? Bazicitou to opravdu není; všechny použité aminy byly bazičtější než pyridin s $pK_b = 8,75$ (např. methylamin 3,43, dibutylamin 2,69, morfolin 5,51; zdroj: Vohlídal, Junák, Štulík, *Chemické a analytické tabulky, Grada, Praha, 1999*)
7. Ke kap. 4.2.2. Charakterizujte mechanismus reakce 2-chlorpyrazinu s formamidem v přítomnosti peroxodisíranu amonného. Zkusili jste tuto reakci i v mikrovlnném reaktoru?
8. Zasloužil jste se o zavedení metody sledování inhibice rychlého růstu *Mycobacterium smegmatis* jako skrínungu antimykobakteriální aktivity. Zavedl jste tento skrínung přímo na Vašem pracovišti? Jaká bezpečnostní opatření, popř. administrativně-technické kroky bylo nutno podniknout k zavedení takových testů?

Závěr posudku:

V rámci této dizertační práce bylo připraveno 75 nových originálních derivátů pyrazinamidu, přičemž u mnoha z nich byly zjištěny zajímavé biologické aktivity. Pozoruhodné též je zavedení metody antimykobakteriálního skrínungu pomocí rychle rostoucího *Mycobacterium smegmatis*. I přes výše uvedené připomínky předložená práce splňuje nároky kladené na tento typ kvalifikačních prací a proto ji doporučuji k obhájení jako práci disertační.

V Brně dne 3. 11. 2016

doc. PharmDr. Oldřich Farsa, Ph.D. v.r.