

Posudek oponenta disertační práce

Název práce:	Deriváty pyrazinu jako potenciální antituberkulotika
Autor práce:	Mgr. Ondřej Jandourek
Vedoucí práce:	prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.
Konzultant práce:	PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.
Oponent práce:	doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.

Mgr. Ondřej Jandourek předložil k obhajobě disertační práci s tématem „Deriváty pyrazinu jako potenciální antituberkulotika“.

Práce je psána v českém jazyce a má 81 stran a 141 stran příloh. Autor práci rozčlenil klasickým způsobem a uvedl komentář k vlastním výsledkům získaným v průběhu přípravy práce. Autor cituje 114 literárních zdrojů a uvedl 6 vlastních prací v plném znění v rámci příloh práce.

Cíle práce jsou jasně definovány se zaměřením na mikrovlnnou přípravu zvolených derivátů pyrazinu, nalezení jejich fyzikálně chemických vlastností a hodnocení jejich biologické aktivity. V části Přehled současného stavu problematiky se disertant soustředil na tuberkulózu, její terapii, užití pyrazinamidu a jeho derivátů v terapii a mikrovlnami asistovaným reakcích. Tato část práce je přehledně zpracována a dává ucelený přehled o teoretických podkladech práce. Část o mikrovlnami asistovaným reakcích by mohla být více a detailněji rozpracována.

V části Zvolené metody řešení se autor soustředil na syntetické postupy a biologická hodnocení, které použil, nebo byly použity v rámci jeho experimentální činnosti. Dále uvedl komentář k publikovaným výsledkům včetně diskuse, závěr, seznam publikovaných prací (články v časopisech Jimp, elektronické publikace, přednášky a posterová sdělení) a přílohy s publikačními výstupy (4 Jimp - 3× první autor a 1× spoluautor; 1× mezinárodní patent, 1× článek odeslaný do redakce). V rámci experimentálních činností disertant připravil 79 sloučenin (z práce není zcela jasné, kolik z nich je zcela nových), které byly podrobeny zjištění antimikrobní a herbicidní biologické aktivity. Některé připravené sloučeniny vykazaly v rámci antimikrobního testování velmi zajímavé výsledky, které budou zcela jistě přínosem pro pracoviště disertanta a rozvoj výzkumu v daném směru. U předložené práce oceňuji zejména velké množství experimentálních dat, i když by mohly být pečlivěji zpracovány a vyhodnoceny.

K předložené práci mám následující dotazy/připomínky a shrnuji vybrané drobné nedostatky:

Dotazy a připomínky:

1. Pro enoyl-ACP reduktasu je uvedena zkratka InhA (str. 15), je tato zkratka v pořádku? V seznamu zkratek jsem ji nenalezl.
2. Tab. 5-7 (str. 27-28) – Uvedené hodnoty MIC ($\mu\text{g/ml}$) by bylo vhodné korigovat na molekulovou hmotnost uvedených molekul pro korektnější přehled o jejich inhibiční aktivitě, ačkoli byly hodnoty publikovány v uvedeném znění.
3. Str. 34 a dále – Z jakého důvodu byly při testování připravených molekul použity hodnoty $\mu\text{g/ml}$, které nerespektují molekulovou hmotnost testovaných molekul? Takto se např. značně liší MIC pyrazinamidu ($12,5 \mu\text{g/ml}$ resp. $101,5 \mu\text{M}$) versus stejné ředění sloučeniny **3** ($12,5 \mu\text{g/ml}$ resp. $39,3 \mu\text{M}$; Jandourek et al. Molecules 2014, doi:10.3390/molecules19010651) při stejné navážce rozpouštěné a ředěné na použité množství v $\mu\text{g/ml}$. Tento přístup by mohl některé více účinné sloučeniny diskriminovat a naopak některé méně účinné sloučeniny favorizovat. Na rozdíl od

těchto měření byly při testování antifungální aktivity použity koncentrace μM respektující molekulovou hmotnost testovaných sloučenin.

4. Str. 40 a dále – Kolik ze 79 vámi připravených sloučenin je originálních a dříve nepublikovaných?
5. U připravených sloučenin jste sledoval závislost biologické aktivity na lipofilitě. Jaké další fyzikálně chemické parametry budou mít dle vašeho názoru vliv na průnik potenciálního léčiva do mykobakterie resp. budou předmětem zájmu pro aplikaci do živého organismu? Bylo by možné vámi navržené fyzikálně chemické parametry nějakým způsobem pro vaše molekuly stanovit?
6. Obr. 10 a dále (str. 41 a dále) – Zvolené znázornění aktivity připravených sloučenin v uvedených grafech se mi nezdá příliš vhodné vzhledem k tomu, že se jednotlivé sloupce překrývají a neumožňují ucelený přehled o výsledcích. Bylo by vhodnější uvést je formou tabulky (jako je to v publikovaných pracích autora v přílohách práce) anebo zvolit jiný graficky přehlednější formát.
7. Str. 44 – Dle mého názoru a zkušeností je při hodnocení toxicity na buněčných liniích (ve vašem případě HepG2) třeba velké opatrnosti, protože sloučeniny potenciálně toxické *in vitro* se mohou ukázat *in vivo* jako netoxické a naopak. Jinými slovy pro zjištění potenciální toxicity je vždy vhodné provést *in vivo* studii a popř. v další fázi vývoje vzít na zřetel také mezidruhové rozdíly.
8. V diskusi práce bych u jednotlivých typů modifikovaných sloučenin ocenil grafický přehled (např. obrázek chemické struktury) sumarizující přehled vlivu chemické modifikace na sledovanou biologickou aktivitu (pozitivní/negativní vliv).
9. Závěr práce by mohl být více zaměřen na získané výsledky autora spolu se zvýrazněním nejzajímavějších z nich pro jednotlivé testované aktivity (nikoli jen pro antituberkulotickou aktivitu viz. Tab. 9).

Drobné nedostatky:

1. Menší množství překlepů a nesprávného frázování v textu.
2. str. 13 - Směs 1% kyseliny chlorovodíkové a 70% ethanolu dle mého názoru není vhodné nazývat „kyselým alkoholem“, ačkoli je možné, že se toto spojení používá.
3. Str. 16 - Struktura streptomycinu je značně nepřehledná a bylo by vhodné ji překreslit.
4. Tab. 3 (str. 19) – U nadějných sloučenin ve vývoji by bylo vhodné uvést fázi aktuální preklinického/klinického vývoje.
5. Obr. 5 (str. 23) – Tento převzatý obrázek by bylo vhodné překreslit v odpovídající kvalitě.
6. Str. 30 a dále – Mnoho slovních spojení v rámci přípravy sloučenin by bylo vhodné nahradit např. nahradit „vzniklé krystaly se odsály a vysušily“ za „vzniklé krystaly byly filtrovány za sníženého tlaku a sušeny při l.t. (popř. jiným způsobem)“ ad.
7. Str. 32 – „Tato silně kyselá masa se zfiltrovala“; „Celá masa se nechala reagovat“ – Nevhodná spojení.
8. Str. 36 a dále – Nejsem si jistý, zda je slovo „skríníng“ správně uvedeno dle Pravidel spisovné češtiny resp. Slovníku cizích slov.
9. Obr. 16 (str. 49) – Bylo by vhodné vložit obrázek ve větším rozlišení (pevně doufám, že to vizualizační program Maestro umožňuje), kde by bylo možné lépe odhadnout zásadní interakce ligandů s molekulárním cílem.
10. Str. 64 a dále – Seznam publikovaných prací autora a seznam použité literatury není uveden dle normy ČSN ISO 690.

Předložená disertační práce je uceleným přehledem o problematice řešené autorem. Ačkoliv by bylo vhodné práci ještě doplnit nebo mírně dopracovat (viz. výše uvedené dotazy/připomínky a drobné nedostatky), je z ní patrné, že disertant odvedl mnoho práce, která prošla kvalitním recenzním řízením (viz. publikace Jimp). Proto disertační práci v předložené podobě doporučuji k obhajobě.

doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.

Katedra chemie

Přírodovědecká fakulta

Univerzita Hradec Králové

Rokitanského 62

500 03 Hradec Králové