

ČESKÁ FARMACEUTICKÁ SPOLEČNOST
ČESKÉ LÉKAŘSKÉ SPOLEČNOSTI J. E. PURKYNĚ

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

45. konference

SYNTÉZA A ANALÝZA LÉČIV

Sborník



22. – 24. června 2016

Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

Česká farmaceutická společnost České lékařské společnosti J. E. Purkyně

Sekce syntetických léčiv, Sekce farmaceutické kontroly a bioanalytiky

ve spolupráci

s Univerzitou Karlovou v Praze, Farmaceutickou fakultou v Hradci Králové

pořádají ve dnech 22. – 24. června 2016

v prostorách Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové

45. konferenci Syntéza a analýza léčiv

pořádaná při příležitosti životního jubilea

prof. PharmDr. Alexandra Hrabálka, CSc.

45. konference Syntéza a analýza léčiv je podporována těmito firmami:



Vážené kolegyně, vážení kolegové,

dovolte mi, abych Vás pozval k účasti na 45. konferenci Syntéza a analýza léčiv.

Naše konference se vrací do „Salonu republiky“, do Hradce Králové, do zrekonstruovaných prostor Farmaceutické fakulty. Je pro vás rezervováno ubytování v nejbližším okolí fakulty, levnější varianta hotel Garni, příp. o něco dražší Nové Adalbertinum. Součástí konference bude rovněž návštěva východočeské barokní perly - hospitalu Kuks, včetně prohlídky Českého farmaceutického muzea. Věřím, že zvolené prostředí bude pro všechny místem příjemného setkání a plodně stráveného času.

Vážení přátelé, přeji Vám úspěšný pobyt v Hradci Králové a doufám, že konference splní Vaše očekávání a přispěje k další spolupráci nejen mezi učiteli a vědci, ale také mezi institucemi, které zde zastupujeme.

Za organizační výbor konference

prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.

Dear colleagues, dear participants,

It is my great pleasure to invite you to take a part in the 45th conference “Synthesis and Analysis of Drugs”. Our conference is back to the “Salon of Republic”, to Hradec Králové, to renovated premises of Faculty of Pharmacy in Hradec Králové. The accommodation is reserved at the shortest possible distance from the faculty, i.e. in Hotel Garni, or in Nové Adalbertinum Hotel. Some parts of agenda will be held at so called baroque pearl of Eastern Bohemia – the renewed Kuks Hospital, including excursion to Czech Pharmaceutical Museum. I believe this place will be very pleasant, fruitful in making new contacts and inspiring discussions of new challenges in development of drugs.

Dear friends, I wish you successful meeting in Hradec Králové, at a very important annual conference of employees of pharmaceutical universities and research institutions.

Prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.

Organising committee chairman

Organizační výbor:

prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D. (předseda organizačního výboru)

prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.

prof. RNDr. Jiří Klimeš, CSc.

RNDr. Milan Mokrý, CSc.

prof. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

doc. RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.

doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.

PharmDr. Pavla Pilařová, Ph.D.

Bc. Dana Štěpánová

<http://www.faf.cuni.cz/SAL2016/>

Program 45. konference Syntéza a analýza léčiv

středa 22. 6. 2016

příjezd účastníků v dopoledních hodinách, ubytování

- 11:00 - 13:45 **registrace** účastníků ve foyer Farmaceutické fakulty v Hradci Králové
vystavení posterů (S 2155), postery budou vystavené po celou dobu konání
konference
- 14:00 **zahájení konference**
děkan doc. PharmDr. Tomáš Šimůnek, Ph.D., prof. M. Doležal
- 14:10 **doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.**
Jsou generická léčiva pouhými plagiáty originálních léčiv?, plenární přednáška
Zentiva, k.s., ČR
- 15:00 **doc. Ing. Katarína Hroboňová, Ph.D.**
Chiral HPLC for Efficient Resolution of Amino Acids Enantiomers, Fakulta chemickej
a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, SR
- 15:15 **doc. PharmDr. Szilvia Czigle, Ph.D.**
Přírodní a syntetické kanabinoidy – interakčný potenciál, Farmaceutická fakulta,
Univerzita Komenského, Bratislava, SK
- 15:30 **PharmDr. Petr Chocholouš, Ph.D.**
Průtokové metody pro stopovou analýzu v oceánografii, Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové, ČR
- 15:45 **coffee break**
- 16:15 **doc. RNDr. Peter Mikuš, Ph.D.**
Inovatívne analytické prístupy pre chirálne biologicky aktívne látky vo
farmaceuticky významných systémoch, Farmaceutická fakulta, Univerzita
Komenského, Bratislava, SR
- 17:00 **doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.**
Modulátory mitochondriálních enzymů jako potenciální léčiva
neurodegenerativních onemocnění, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Centrum
biomedicínského výzkumu, ČR

- 17:15 **M.Sc. Sara Eunice Agostinho Monteiro**
New Methodology for the Synthesis of C-C Bond in Prostaglandin Precursors,
Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, CZ
- 17:30 **Mgr. Natalia Denderz PhD.**
Application of imprinted polymers as selective sorbents for extraction of some
natural phenolics from food samples, Fakulta chemickej a potravinárskej
technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, SR
- 17:45 **PharmDr. Mgr. Martin Krátký, Ph.D.**
Peptidové nosiče na bázi tuftsinu pro antimykobakteriálně účinné molekuly,
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, ČR
- 18:00 **welcome party** v botanické zahradě

čtvrtek 23. 6. 2016

- 9:00 **doc. PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.**
Modely lipidové kožní bariéry, plenární přednáška, Farmaceutická fakulta v Hradci
Králové, ČR
- 9:50 **Ing. Galina Karabanovich, Ph.D.**
3,5-Dinitrophenyl-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles as a Novel Antitubercular
Agents: Structure-Activity Relationship Study, Farmaceutická fakulta v Hradci
Králové, ČR
- 10:05 **doc. PharmDr. Oldřich Farsa Ph.D.**
Molární substituce substituovaných oligo- a polysacharidů z NMR spekter, Ústav
chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita
Brno, ČR
- 10:20 - 10:50 **coffee break**
- 10:50 **PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.**
Recent research on molecular targets of antimycobacterial pyrazinamide and p-
aminosalicylic acid: implications for design of potential antituberculars,
Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 11:20 **doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.**
Možnosti manipulace se vzorkem a jeho automatizovaná úprava různými

extrakčními postupy v systému sekvenční injekční analýzy, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, ČR

- 11:35 **Mgr. Andrej Kováčik**
Ceramide odvozené od 6-hydroxysfingosinu - syntéza a studium jejich chování v modelových lipidových membránách, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 12:00 - 13:30 **oběd**
- 13:30 - 14:30 **posterová sekce**
- 15:00 odjezd autobusů do Kuksu
- 16:00 - 17:00 **Dr. Václav Čerovský, Ph.D.**
Antimikrobiální peptidy, plenární přednáška, AV, ČR
- 17:15 - 17:45 koncert v kapli
- 18:00 - 19:00 exkurze v hospitalu, farmaceutickém muzeu a lapidariu
- 19:00 - 22:00 společenský večer – raut Barock.cz,
- 22:30 odjezd autobusy do HK

pátek 24. 6. 2016

- 9:00 - 9:50 **Mgr. Radim Nencka, Ph.D.**
Phosphatidylinositol 4-Kinase IIIb Inhibitors as Broad Spectrum Antiviral Agents, plenární přednáška, AV, ČR
- 9:50 - 10:40 **doc. ing. Jiří Dohnal, CSc.**
Padělky léčiv, plenární přednáška, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ČR
- 10:40 - 11:00 **coffee break**
- 11:00 **doc. RNDr. V. Opletalová, Ph.D.**
Význam železa v terapii tuberkulózy, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 11:15 **doc. PharmDr. V. Nováková, Ph.D.**
Phthalocyanines as red-emitting fluorescence sensors, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR

- 11:30 **PharmDr. Marcel Špulák, Ph.D.**
Design and synthesis of quinazoline compounds active as CAR receptor agonists,
Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 11:45 **doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.**
Recent Advances in the Use of Phtalocyanines in Photodynamic Therapy,
Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 12:00 **PharmDr. Marta Kučerová, Ph.D.**
Perspectives of chalcone usage in prevention of long-term complications of
diabetes, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, ČR
- 12:15 **ukončení konference**
- 12:15 - 13:15 **oběd**, svěšení plakátů, odjezd účastníků

Přehled příspěvků

L – plenární přednáška

S – krátké sdělení

P – poster

- L-1 Rádl Stanislav
Jsou generická léčiva pouhými plagiáty originálních léčiv?
- L-2 Mikuš Peter
Inovativne analytické prístupy pre chirálne biologicky aktívne látky vo farmaceuticky významných systémoch
- L-3 Vávrová Kateřina
Modely lipidové kožní bariéry
- L-4 Zitko Jan
Molecular targets of antimycobacterial pyrazinamide and para-aminosalicylic acid: implications for design of potential antituberculars
- L-5 Čeřovský Václav
Antimikrobiální peptidy
- L-6 Nencka Radim
Phosphatidylinositol 4-kinase inhibitors as broad spectrum antiviral agents
- L-7 Dohnal Jiří
Padělký léčiv
- S-1 Hroboňová Katarína
Chiral hplc for efficient resolution of amino acids enantiomers
- S-2 Czigle Szilvia
Prírodné a syntetické kanabinoidy – interakčný potenciál
- S-3 Chocholouš Petr
Průtokové metody pro stopovou analýzu v oceánografii
- S-4 Musílek Kamil
modulators of mitochondrial enzymes involved in neurodegenerative diseases
- S-5 Monteiro Sara
New methodology for the synthesis of c-c bond in prostaglandin precursors
- S-6 Natalia Denderz
Application of imprinted polymers as selective sorbents for extraction of some natural phenolics from food samples
- S-7 Krátký Martin
Peptidové nosiče na bázi tuftsinu pro antimykobakteriálně aktivní molekuly
- S-8 Karabanovich Galina
3,5-dinitrophenyl 1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles as a novel antitubercular agents: structure – activity relationship study
- S-9 Farsa Oldřich
Molární substituce substituovaných oligo- a polysacharidů NMR

- S-10 Sklenářová Hana
Možnosti manipulace se vzorkem a jeho automatizovaná úprava různými extrakčními postupy v systému sekvenční injekční analýzy
- S-11 Kováčik Andrej
6-hydroxysphingosine-based ceramides - synthesis and study of behaviour in model lipid membranes
- S-12 Opletalová Veronika
Role of iron in the therapy of tuberculosis
- S-13 Nováková Veronika
Phthalocyanines as red-emitting fluorescence sensors
- S-14 Špulák Marcel
Design and synthesis of quinazoline derivatives active as car receptor agonists
- S-15 Zimčík Petr
Recent advances in the use of phthalocyanines in photodynamic therapy
- S-16 Kučerová-Chlupáčová Marta
Perspectives of chalcone usage in prevention of long-term complications of diabetes
-
- P-1 Balažová Andrea
Zmeny v sekundárnom metabolizme in vitro kultúr eschscholtzia californica cham. po elicitácii kyselinou salicylovou
- P-2 Bilková Andrea
Štúdium adhérence potenciálne probiotických laktobacilov na eukaryotické bunky a hlien
- P-3 Breiterová Kateřina
Alkaloids from narcissus cv. professor Einstein (amaryllidaceae) – isolation and biological activity
- P-4 Bureš Jan
LC-MS/MS method for analysis of novel potential cardioprotective drug D-MET and pilot pharmacokinetic study
- P-5 Džurinová Radka
Hodnotenie glutatiónu voltampérometrickými metodami
- P-6 Faustmannová Anna
Towards the synthesis of largazole
- P-7 Fibigr J.
UHPLC method development for separation and determination of silymarin compounds
- P-8 Goněc Tomáš
Synthesis and antibacterial activity of N-(substituted phenyl)-2-hydroxynaphthalene-1-carboxamides
- P-9 Havelková Markéta
Synthesis of protein kinase inhibitors as new potential antimycobacterial agents
- P-10 Holková Ivana
Effect of elicitation and inhibition of lipoxygenase enzyme on the production of sanguinarine in opium poppy cultures
- P-11 Horký P.
Design and synthesis of novel 3,4-diarylsubstituted furanones for growth-inhibitory and pro-apoptotic effect against leukemia cells
- P-12 Hrušková Z. R.
Preparation of benzodiazines with bronchodilatory activity
- P-13 Hulcová Daniela
Isolation of alkaloids from narcissus cv. Dutch master and their biological activities

- P-14 Jandourek Ondřej
Microwave-assisted synthesis of novel pyrazinamide derivatives and determination of their biological activity
- P-15 Javorská Lenka
Personalization of vancomycin therapy using simple UHPLC-MS/MS method in various biological fluids
- P-16 Ježko Pavol
Štúdium štruktúry a admet vlastností ace inhibítorov
- P-17 Jurkaninová Sabína
Biologická aktivita sekundárných metabolitov druhu *coleus blumei* benth.
- P-18 Kapustíková Iva
Stanovenie acidobázických disociačných konštánt potenciálnych liečiv metódou UV-VIS spektrofotometrie
- P-19 Kastner Petr
Hodnocení mikonazolu a metronidazolu v přípravku pomocí HPLC
- P-20 Kohlová Michaela
Preparation and optimization of thin flat polysulfone membrane used in miniaturized hemodialysis system to separate biomolecules
- P-21 Kollár Jakub
QSAR and proposition of new anticancer drugs - histone deacetylase 4 inhibitors
- P-22 Kollár Jan
Příprava prekurzorů a ftalocyaninů nesoucích anionické skupiny
- P-23 Kopečná Monika
Estery terpenických alkoholů jsou účinné akceleranty transdermální permeace s reverzibilním účinkem a nízkou toxicitou
- P-24 Kroutil Aleš
Syntéza derivátů arylaminopropan-1-olu
- P-25 Krzykała Klaudia
Cometabolic biodegradation of 4 chlorophenol in presence of vanillic acid and phenol as main growth substrates
- P-26 Kubíček Vladimír
HPLC stanovení potenciálního bronchodilatancia v krevní plazmě
- P-27 Kučerová Kateřina
New UHPLC method for the determination of omeprazole in oral suspensions
- P-28 Lhotská Ivona
On-line coupling of molecularly imprinted solid phase extraction to HPLC for patulin determination
- P-29 Lochman Lukáš
Azaphthalocyanines as indicators in fluorescent CO₂ sensors
- P-30 Lukačovičová Olga
Hodnotenie kvality prípravkov používaných pri ochorení dna rádionuklidovou röntgenofluorescenčnou analýzou
- P-31 Maráková Katarína
Analysis of drugs used in crohn's disease treatment by capillary electrophoresis on-line hyphenated with tandem mass spectrometry
- P-32 Marvanová Pavlína
Syntéza derivátů 3-(4-arylpiperazin-1-yl)-2 hydroxypropyl-4-alkoxybenzoátů
- P-33 Matouš Petr
Tris(2-furyl)phosphine gold(i) in synthesis of substituted pyridines

- P-34 Mikulová Mária
Štúdium reakčných podmienok pri tvorbe komplexu technécia s vybranými aminokyselinami
- P-35 Mach Pavel
On DNA aptamers in molecular recognition
- P-36 Mučaji Pavel
Vplyv záparov vybraných rastlín na prejavy diabetu
- P-37 Němeček J
Syntéza derivátu haemanthaminu
- P-38 Opálka Lukáš
Syntéza lidských ultradlouhých ceramidů a hodnocení mikrostruktury a permeability modelových membrán
- P-39 Paraskevopoulos Georgios
Salicylanilides from dihalogenated salicylic acids: a comparison study over their monohalogenated analogues against mycobacterium tuberculosis
- P-40 Parmová Martina
Studie možnosti využití nanovláken jako sorbentů pro on-line extrakci v HPLC
- P-41 Pavlík Jakub
Využití UHPLC-MS/MS metody pro hodnocení vlivu ochucovadel na obsah katechinů v čajích a na matricové efekty
- P-42 Pecher Daniel
Metodika stanovenia tiopurínových metabolitov technikou HPLC
- P-43 Piešťanský Juraj
Spojenie dvojdimezionalnej kapilárnej elektroforézy s tandemovou hmotnostnou spektrometriou a ich využitie v problematike enantiomérnych separácií
- P-44 Planková Alexandra
Stanovenie vybraných prvkov v rôznych typoch vôd
- P-45 Semelková Lucia
3-aminopyrazine-2-carboxamides: microwave assisted synthesis and biological evaluation
- P-46 Sochorová M.
Modeling β -glucocerebrosidase deficiency in epidermis: effects of glucosylcermaides/ceramides ratio on barrier properties of model stratum corneum lipid membranes
- P-47 Svoboda Pavel
Development of UHPLC-MS/MS method for determination of eight catechin derivatives in tea samples and the role of matrix effects
- P-48 Valášková L
Heterocyklické sloučeniny obsahující 3,5-dinitrofenylový fragment: studium vztahů mezi strukturou a účinkem
- P-49 Vosátka Rudolf
Syntéza a antimykobakteriální aktivita nových sulfathiazolových derivátů
- P-50 Zelená Lucie
Determination of efavirenz using HPLC-UV method – a pharmacological study
- P-51 Mokřý Milan
HPLC analysis of tiaprofenic acid in whole blood using solid-phase microextraction

PLENÁRNÍ PŘEDNÁŠKY

JSOU GENERICKÁ LÉČIVA POUHÝMI PLAGIÁTY ORIGINÁLNÍCH LÉČIV?

STANISLAV RÁDL

Zentiva, k.s., U kabelovny 130, 102 01 Praha, Česká republika
stanislav.radl@zentiva.cz

Vývoj generických léčiv je specifickou oblastí medicínální chemie, která je již ze své podstaty interdisciplinární a která je často odborníky z ostatních oblastí podceňována. Velmi častý je názor, že vývoj generických léčiv spočívá v okopírování původního léčiva s tím, že výsledné generikum není stejně tak účinné a dobře snášené jako léčivo originální.

Abychom lépe pochopili vztah originálních a generických léčiv, bude úvodní část věnována těmto dvěma kategoriím léčiv. Budou vysvětleny postupy originálních výrobců jak prodloužit patentovou ochranu svých produktů (tzv. evergreening), ale také přístupy generických výrobců k této sice legální, ale poněkud kontraverzní strategii. Kromě klasických generických léčiv bude stručně diskutována i skupina takzvaných supergenerik (Gx+).

Po úvodní části bude na několika případových studiích vývoje generických API ilustrováno, že většinou nelze, zejména vzhledem k patentové ochraně, provádět takový vývoj pouhým kopírováním známých postupů a že je nutno využít inventivní přístupy. V diskutovaných případových studiích budou zahrnuty případy originální syntézy klíčových meziproductů, převedení dostupných intermediátů na konečnou účinnou látku (API) novým postupem (nebo modifikací či optimalizací známého postupu) a také originální syntézu API vycházející ze zcela jiných výchozích látek. Tyto jednotlivé přístupy pak budou v závěru přednášky srovnány z hlediska výhod a nevýhod.

Kromě klasických a dobře známých úspěšných generických léčiv vyvinutých v autorově skupině, jako je atorvastatin¹, nebo celá řada „sartanů“^{2,3}, budou diskutovány i novější případy, z nichž některé jistě budou úspěšně Zentivou zavedeny do praxe. (např. azilsartan, elvitegravir, fingolimod). Zmíněny budou i případy, kdy jsme vyvinuli úspěšně velmi dobrou syntézu, ale léčivo se nakonec buď nedostalo do terapie (licofelon), nebo bylo krátce po zavedení z trhu staženo (rimonabant).

Na závěr bude samozřejmě zodpovězena otázka vyslovená v názvu přednášky, přičemž je samozřejmě vzhledem k osobě přednášejícího odpověď snadno předvídatelná. Kromě této odpovědi se ale přednášející vyzná ze změny k přístupu vývoje generických API, kdy původní snaha o originalitu byla nahrazena snahou o efektivitu.

SEZNAM LITERATURY

1. Hájková M., Kratochvíl B., Rádl S.: Chem. Listy *102*, 3 (2008).
2. Rádl S., Stach J.: WO 2003/068739; EP 1470106; US 208608.
3. Rádl S. Stach J., Klecán O.: WO 2005/021535; US 2006/287537; EP 1658281.

INOVATÍVNE ANALYTICKÉ PRÍSTUPY PRE CHIRÁLNE BIOLOGICKY AKTÍVNE LÁTKY VO FARMACEUTICKY VÝZNAMNÝCH SYSTÉMOCH

PETER MIKUŠ^{1,2}, JURAJ PIEŠŤANSKÝ^{1,2}, KATARÍNA MARÁKOVÁ^{1,2}, EMIL HAVRÁNEK^{1,2}, PAVEL MUČAJI^{2,3}

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, SK-832 32 Bratislava; mikus@fpharm.uniba.sk*

² *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Toxikologické a antidopingové centrum, Odbojárov 10, SK-832 32 Bratislava*

³ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky, Odbojárov 10, SK-832 32 Bratislava*

Rozvoj súčasnej farmácie a v nej farmaceutickej chémie aj farmakológie, zameraný na pochopenie princípov interakcií liečiv a cieľových štruktúr (receptorov) pre liečivá na molekulárnej úrovni, vedie k vývoju liečiv, ktoré sú schopné viazať sa na priestorovo unikátne, špecifické receptorové štruktúry práve na základe priestorovo determinovaných interakcií. Je pochopiteľné, že receptorové 3D štruktúry v živej hmote, ktoré sú vytvorené z chirálnych (cheiros – ruka, nestotožniteľná so svojim zrkadlovým obrazom) základných jednotiek (proteíny a peptidy z L-aminokyselín, polysacharidy a nukleové kyseliny z D- a L-sacharidov), budú lepšie rozpoznávať a teda aj špecifickejšie viazať chirálne látky s odpovedajúcou priestorovou štruktúrou (také látky by sa mali viazať podobne dobre, ako sa spájajú dve pravé alebo dve ľavé ľudské ruky pri pozdrave). V dôsledku toho potom možno očakávať aj lepší a špecifickejší farmakodynamický účinok pre konkrétnu izoméru formu liečiva.

Ak sa liečivo vyskytuje vo forme dvoch izomérov s priestorovou štruktúrou typu predmet a jeho nestotožniteľný zrkadlový obraz (pravá a ľavá ruka), tzv. enantiomérov, tak jeden enantiomér môže vykazovať požadovaný terapeutický efekt, zatiaľ čo druhý enantiomér môže byť farmakologicky neúčinný, menej účinný alebo môže dokonca vykazovať úplne iný (aj nežiadúci) účinok. Známym je prípad Talidomidu, liečiva používaného v 60-tych rokoch ako sedatíva pre tehotné ženy. Bol zakázaný, pretože sa ukázalo, že S-thalidomid má silný teratogénny efekt (tzv. Conterganova aféra). Narodilo sa okolo 10 000 detí postihnutých rôznymi malformáciami a okolo 2000 detí následne zomrelo alebo sa narodili mŕtve. Tieto skutočnosti podčiarkujú mimoriadny význam chiralít vo farmácii a biomedicíne, premietnutý do praktickej potreby (i) prípravy enantioméru čistých liečiv, (ii) kontroly enantioméru zloženia/čistoty liečiv a liekov vyvíjaných aj zavedených do terapeutickkej praxe, (iii) monitoringu chirálnych foriem liečiv, ich metabolitov a biomarkerov v komplexných biologických systémoch pre terapeutické a diagnostické účely.

Nároky kladené na analytické metódy využiteľné pre chirálne molekuly sú zvyšované požiadavkou rozlíšenia jednotlivých enantiomérnych foriem, ktoré majú rovnaké chemické a fyzikálne vlastnosti (s výnimkou otáčania roviny polarizovaného svetla). Ak navyše berieme do úvahy multikomponentný charakter farmaceuticky relevantných reálnych analyzovaných systémov (syntetické reakčné zmesi, liekové formy ako farmaceutické matrice, biologický materiál s desiatkami až stovkami detekovateľných endogénnych látok), veľkú variabilitu zloženia týchto systémov (najmä biologických, čo do kvality a kvantity matricových zložiek), veľmi nízke koncentračné hladiny analyzovaných enantiomérov (enantiomérne nečistoty v liekových formách, biologicky aktívne enantioméry v biologických matriciach, nanomolárne a nižšie koncentračné úrovne) vo vysokom nadbytku mnohých doprevádzajúcich matricových zložiek (10^2 -násobnom a vyššom), potreba vývoja nových analytických prístupov, ktoré by dokázali tieto špecifické nároky (alebo čo najväčšiu časť z nich) naplniť, je zrejme a vysokoaktuálna. Predmetom našej práce sa stal preto vývoj inovatívnych analytických prístupov založených na princípoch kapilárnej elektroforézy (vysokoúčinnnej separačnej techniky pre delenie látok v jednosmernom elektrickom poli na základe pomeru náboj:hmotnosť) a jej pokročilých modifikácií, cielených pre riešenie súčasných problémov v oblasti farmaceutického výskumu a praxe s dôrazom na biologicky aktívne nízkomolekulové (najčastejšie $M < 1000$) iónogénne chirálne zlúčeniny. Študovaná a riešená problematika zahŕňa (i) analytický monitoring enantioselektívnych syntéz biologicky aktívnych látok, (ii) kontrolu kvality liečiv a liekov s aktívnymi zložkami na báze enantiomérov, (iii) monitorovanie hladín chirálnych látok (liečivá, metabolity, biomarkery) za účelom uskutočňovania enantioselektívnych metabolických a farmakokinetických štúdií. Tieto oblasti spolu vytvárajú ucelený obraz ilustrujúci „životnú dráhu“ chirálneho liečiva, od jeho zrodu (syntéza), cez farmaceutickú formuláciu až po jeho pôsobenie v organizme, ktoré završuje jeho účel a poslanie. Pridanou hodnotou je efektívnosť, spoľahlivosť, jednoduchosť a priaznivé ekonomické a environmentálne parametre navrhnutých, vyvinutých a aplikovaných analytických prístupov v porovnaní s konvenčnými, ktoré umožňujú túto „životnú dráhu“ liečiv (ale aj ďalších súvisiacich biologicky aktívnych látok) sledovať.

Pre rozlíšenie a oddelenie jednotlivých enantiomérnych foriem separačnými technikami je nevyhnutné vytvoriť chirálne prostredie (chirálny selektor), ktoré pôsobí prostredníctvom reverzibilných komplexotvorných rovnováh s rozdielnou stabilitou vzniknutých prechodných diastereoizomérnych asociátov (enantiomér 1 – chirálny selektor, enantiomér 2 – chirálny selektor). Úspech rozlíšenia a oddelenia jednotlivých enantiomérnych foriem navzájom a súčasne od zložiek skúmaného a analyzovaného systému (reakčná zmes, lieková forma, biologický materiál) zvyšuje substrátová špecificita chirálneho selektora vzhľadom k analyzovanému enantiomérom (princíp zámok a kľúč). V prvej časti našej práce sme sa preto zamerali na návrh a štúdium vlastných novosyntetizovaných iónogénnych chirálnych selektorov na báze derivátov cyklických oligosacharidov {6(I)-deoxy-6(I)-alkyl/arylaminoderivátov β -cyklodextrínu}, ktoré sa ukázali ako extrémne účinné chirálne selektory pre elektroforetické separácie chirálnych nízkomolekulových iónogénnych látok (deriváty aminokyselín, liečivá, biodegradačné produkty liečiv obsahujúce aromatické a/alebo substituované aromatické systémy), s jemným ladením selektivity v závislosti od typu substituenta na cyklodextrínovom makrocykle. V rámci pokročilých separačných mechanizmov, ktoré umožnili maximalizovať efektívnosť enantiomérom rozlíšenia (bežne

dosahované R 2-6) s minimálnymi nárokmi na množstvo chirálneho selektora v separačnom systéme (mg/ml- μ g/ml), boli študované a aplikované v kapilárnej elektroforéze nasledovné: (i) protiprúdny (nabitý chirálny selektor migruje v opačnom smere vzhľadom na opačne nabité enantioméry), (ii) transportný (nabitý chirálny selektor transportuje elektroneutrálne enantioméry k detektoru a súčasne ich separuje), a (iii) duálny separačný mechanizmus (simultánne pôsobenie dvoch chirálnych selektorov s možnosťou synergizmu). Takéto progresívne chirálne separačné systémy ponúkli efektívne riešenie aj v kategórii najnáročnejších separačných problémov, akými sú separácie multikomponentných zmesí enantiomérov, vrátane zmesí štruktúrne príbuzných enantiomérnych párov, separácie zwitterionických (elektroneutrálnych) molekúl a separácie enantiomérnych párov prítomných vo vzorke s veľkým koncentračným rozdielom ($\sim 10^3:1$). Vyvinuté metódy majú uplatnenie v mnohých praktických oblastiach farmácie. (i) v profilovaní multikomponentných zmesí aminokyselín, pričom dosiahnutá početnosť rozlíšených enantiomérov v zmesi je najvyššia, aká bola doposiaľ publikovaná pre kapilárnu elektroforézu aminokyselín. Takéto selektívne profilovanie aminokyselín (vrátane polohových izomérov enantiomérnych párov, napríklad D,L-leucíny) zohráva významnú úlohu v detailnej identifikácii proteínov a peptidov, ako aj hodnotení klinických profilov pre diagnostické a terapeutické účely. (ii) v tvorbe validovaných kontrolných metód pre rutinné hodnotenie kvality komerčných liekov s obsahom chirálnych liečiv (napríklad antihistaminiká prvej, druhej a tretej generácie v tabletoch, géloch, sirupoch, a i., vrátane stanovenia minoritných optických nečistôt, napríklad dexbrómfeniramín či levocetirizin a ich enantiomérne nečistoty). (iii) v tvorbe metód pre hodnotenie enantioselektivity katalyzátorov (napríklad rozpustných ako aj imobilizovaných komplexov na báze ferocenyfosfínových ligandov), použitých v asymetrických syntézach biologicky aktívnych látok (napríklad aminokyselín a ich derivátov ako prekursorov enantiomérne čistých foriem liečiv).

Biologické systémy svojou komplexnosťou a variabilitou patria medzi najzložitejšie analyzované systémy a predstavujú najväčšiu výzvu pre vývoj prakticky využiteľných validovaných analytických metód. Pre oblasť aktuálnych biomedicínskych štúdií, akými sú enantioselektívne metabolické a farmakokinetické štúdie chirálnych liečiv, boli navrhnuté a systematicky vyvíjané pokročilé bioanalytické metodiky, založené na on-line spájaní viacerých autonómnych analytických stupňov s vysokou kompatibilitou: (i) elektroforetického stupňa zabezpečujúceho predúpravu komplexnej biologickej matrice (zakoncentrovanie a prečistenie vzorky izotachoforézou), (ii) enantioselektívneho elektroforetického stupňa umožňujúceho separáciu enantiomérov navzájom a súčasne od matricových rezíduí s využitím pokročilých separačných mechanizmov a chirálnych selektorov s vysokou substrátovou špecificitou (ako bolo spomenuté vyššie), a (iii) spektrálneho detekčného stupňa (aj tandemového) poskytujúceho dodatočnú analytickú informáciu o analyzovanej látke vo forme charakteristického spektra (UV absorpčné spektrá, hmotnostné spektrá). Uvedený inovatívny bioanalytický prístup je charakterizovaný vysokým stupňom ortogonalít (každý z integrovaných analytických stupňov má rozdielny separačný mechanizmus a analytický potenciál čo maximalizuje dosiahnuteľnú selektivitu), mimoriadnou citlivosťou a veľmi nízkymi medzami detekcie (jednotky až desiatky ng/ml-pg/ml analyzovanej látky) a súčasne vysokou spoľahlivosťou (presnosťou a správnosťou nameraných dát), čo spĺňa kľúčové požiadavky pre reálnu analýzu enantiomérnych látok prítomných v komplexných biologických

vzorkách s minimálnymi nárokmi na spracovanie takýchto vzoriek. Optimalizované a validované metódy boli aplikované v celom rade enantioselektívnych farmakokinetických a metabolických štúdií liečiv (antihistaminiká, antihypertenzíva), a spĺňajú prísne validačné kritériá pre ich implementáciu do rutinných klinických laboratórií.

Navrhnutý chirálny multidimenzionálny bioanalytický prístup vďaka vysokej ortogonalite imituje špecificitu biosenzorov, preto enantioméry v komplexnej biologickej vzorke môžu byť identifikované a stanovené aj na veľmi nízkych koncentračných úrovniach s minimálnym rizikom interferencií. Na druhej strane, v porovnaní s dobre zavedenými chromatografickými metódami ponúka rozdielny separačný mechanizmus (optimálny pre iónogénne látky) a výhody jednoduchosti a ceny analýz. Je robustný a vhodný na automatizáciu a miniaturizáciu. Vypracované metodiky preto majú optimálne predpoklady, nezmenené alebo po ich vhodnej adaptácii, aj na cieľnú bioanalýzu ďalších chirálnych (ale aj achirálnych) malých iónogénnych molekúl (liečivá, biomarkery) a úspešnú realizáciu klinických štúdií na optimalizáciu terapie, diagnostických štúdií, ale aj rutinných klinických hodnotení mikromnožstiev biologických vzoriek.

Literatúra

[1] P. Mikuš, Chiral capillary electrophoresis in current pharmaceutical and biomedical analysis, InTech, Rijeka, 1st ed., 2012.

[2] P. Mikuš, J. Piešťanský, Kapilárna elektroforéza, hmotnostná spektrometria a ich kombinácie vo farmaceutickej a biomedicínskej analýze, VEDA, Bratislava, 1st ed., 2014.

[3] P. Mikuš, K. Maráková, Curr. Pharm. Anal. 6 (2010) 76.

Podakovanie

Táto práca bola podporená projektami Ministerstva školstva SR VEGA 1/0873/15 a KEGA 022UK-4/2015.

Venované prof. PharmDr. Alexandrovi Hrabáľkovi, CSc. pri príležitosti jeho životného jubilea.

MODELY LIPOVÉ KOŽNÍ BARIÉRY

VÁVROVÁ KATEŘINA¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Skin Barrier Research Group, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;*
katerina.vavrova@faf.cuni.cz

Kožní bariéra, která je nezbytná pro naše přežití v suchozemském prostředí, se nachází v nejsvrchnější vrstvě epidermis, stratum corneum. Ochranná funkce kožní bariéry je zajištěna především mezibuněčnými lipidovými membránami stratum corneum, jejichž složení i organizace se liší od běžných buněčných membrán. Hlavními složkami kožní bariéry jsou ceramidy, mastné kyseliny a cholesterol. Tato lipidová směs je velmi heterogenní, jen kožních ceramidů bylo již popsáno přes 400, což komplikuje výzkum v této oblasti. Ve svém příspěvku představím experimentální modely kožní bariéry a budu diskutovat přínos složitých i jednoduchých modelů – od rekonstruované lidské kůže k jednoduchým membránovým modelům a zpět k pokusům s izolovanými lidskými lipidy.

Práce byla podpořena projekty GAČR č. 13-23891S and 16-2568J.

MOLECULAR TARGETS OF ANTIMYCOBACTERIAL PYRAZINAMIDE AND PARA-AMINOSALICYLIC ACID: IMPLICATIONS FOR DESIGN OF POTENTIAL ANTITUBERCULARS

ZITKO JAN

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, Hradec Králové, 500 05, Czech Republic; jan.zitko@faf.cuni.cz

According to the latest WHO Global Tuberculosis Report, estimated 9.6 million people worldwide developed active tuberculosis (TB) in 2014. In 2014, TB was the causative agent of 1.5 million deaths, including 390.000 deaths in people with HIV/TB co-infection. This ranks TB the second leading cause of death from infectious diseases, following HIV. It is estimated that one third of global population is latently infected with TB. On contrary to positive trends in global epidemiology of TB, the widespread of drug-resistant TB is threatening the TB control policy. The basic regimen for non-complicated, non-resistant TB is a cocktail of first-line antituberculars (rifampicin, isoniazid, ethambutol and pyrazinamide) administered for six months. Such prolonged administration is a draw-back with the respect to side effects and compliance. Therefore, there is an urgent need for the development of new TB drugs, preferably with not yet exploited mechanism of action.

Pyrazinamide (PZA; pyrazine-2-carboxamide) exerts synergistic effects with rifampicin and is active even against dormant subpopulation of *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tbc*). The draw-backs of PZA are the narrow spectrum of activity (*M. tbc* only), frequent resistance, and hepatotoxicity. However, aforementioned valuable clinical properties of PZA, its simple structure as well as supposed multi-target activity, make PZA a good starting point for the development of new antituberculars. The renewed interest in PZA can be documented by recent studies which revealed new specific mechanisms of action of PZA and/or its metabolite pyrazinoic acid (POA). Both PZA and POA were shown to act as inhibitors of mycobacterial Fatty Acid Synthase I¹, impairing the synthesis of mycolic acids, substantial component of mycobacterial cell wall, essential for viability and virulence. POA was shown to inhibit trans-translation², the process of rescuing of ribosomes stalled during faulty translation process. Recently, PZA/POA was also shown to inhibit the aspartate decarboxylase (PanD)³, which is an essential enzyme having a central role in the synthesis of pantothenate. In general, in recent years we have observed a significant shift from PZA/POA regarded a non-specific cytosol acidifier to PZA/POA as a multi-target inhibitor of specific and vital mycobacterial enzymes. Although *p*-aminosalicylic acid (PAS) as an antitubercular drug was considered obsolete and was used only in developing countries, it has experienced resurrection due to its usability in combination therapy of resistant TB⁴. Recent studies indicate that PAS interferes with folate pathway in mycobacteria⁵.

In the first part of the lecture, recent information on PZA/POA and PAS molecular targets will be reviewed, especially in the view of described molecular interactions with their inhibitors, as well as their usability in structure-based drug design.

In the second part of the lecture, we will summarize our recent efforts in the development of new potential antituberculars derived from PZA or POA. Derivatives (see general structure **1** in Fig. 1) were designed based on our previous empirical experience and also with the help of structure-based drug design, exploiting the recently published information on potential targets of PZA/POA. Compound **2** and its derivatives combine two antitubercular fragments, PZA and *p*-aminosalicylic acid (PAS), at the same time. Prepared compounds were tested for *in vitro* activity against *M. tuberculosis* H37Rv, *M. kansasii*, *M. avium*, *M. smegmatis* and against selected bacterial and fungal strains of clinical importance. Best compounds exerted micromolar inhibiting activity and proved to be non-toxic in HepG2 (or other mammalian cell lines). Structure-activity relationships within individual series will be discussed, together with prospective of future structural modifications.

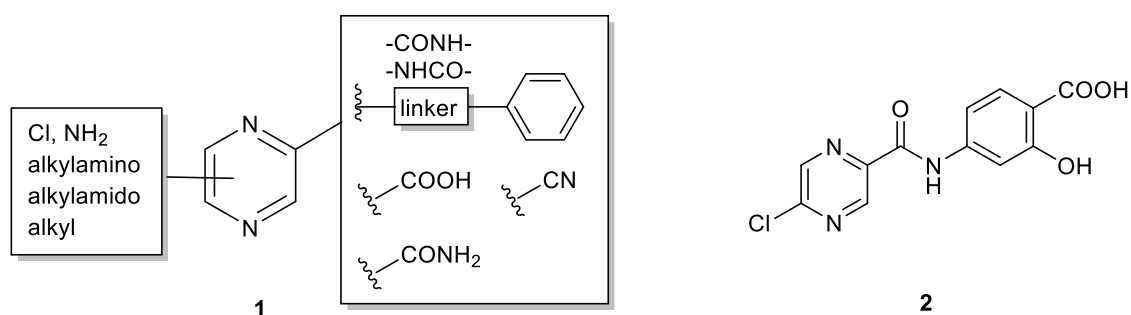


Fig. 1. Example structures

The research was supported by project SVV 260 291.

References:

1. (a) Ngo, S. C.; Zimhony, O.; Chung, W. J. et al. Inhibition of isolated mycobacterium tuberculosis fatty acid synthase I by pyrazinamide analogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 2430-2435; (b) Zimhony, O.; Vilcheze, C.; Arai, M. et al. Pyrazinoic acid and its n-propyl ester inhibit fatty acid synthase type I in replicating tubercle bacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 752-754.
2. Shi, W. L.; Zhang, X. L.; Jiang, X. et al. Pyrazinamide Inhibits Trans-Translation in Mycobacterium tuberculosis. *Science* **2011**, *333*, 1630-1632.
3. Shi, W. L.; Chen, J. Z.; Feng, J. et al. Aspartate decarboxylase (PanD) as a new target of pyrazinamide in Mycobacterium tuberculosis. *Emerging Microbes & Infections* **2014**, *3*, 8.
4. Donald, P. R.; Diacon, A. H., Para-aminosalicylic acid: the return of an old friend. *Lancet Infect. Dis.* **2015**, *15*, 1091-1099.
5. Chakraborty, S.; Gruber, T.; Barry, C. E., III et al. Para-Aminosalicylic Acid Acts as an Alternative Substrate of Folate Metabolism in Mycobacterium tuberculosis. *Science* **2013**, *339*, 88-91.

ANTIMIKROBIÁLNÍ PEPTIDY

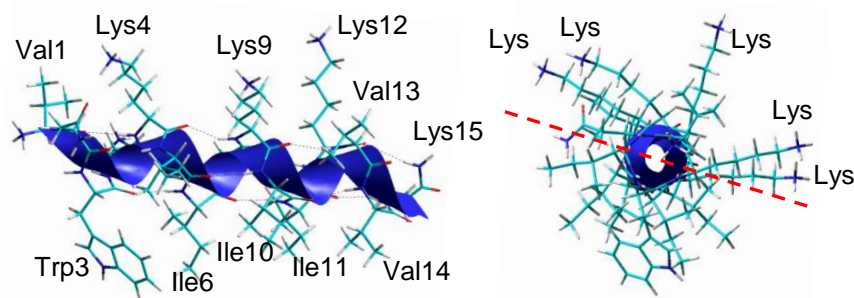
ČEŘOVSKÝ VÁCLAV

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo náměstí 2,

166 10 Praha 6;

cerovsky@uochb.cas.cz

Narůstající rezistence mikrobiálních patogenů k dostupným antibiotikům představuje závažný problém současné medicíny v celosvětovém rozsahu. Možným řešením je jednak revize v používání tradičních antibiotik, ale zároveň i výzkum nových antimikrobiálních látek mající odlišný mechanismus působení. Mezi takovéto látky patří antimikrobiální peptidy (AMP), které se vyskytují v celém spektru živočišné i rostlinné říše. Zde jako složka vrozeného imunitního systému tvoří prvotní obrannou linii proti infekci. Jedná se o peptidy složené z 10 až 50 aminokyselin, které díky svému určitému aminokyselinovému složení mají schopnost vytvářet specifické konformace nutné pro jejich antimikrobiální aktivitu. Jsou to většinou kationické molekuly, a to díky přítomnosti kladně nabitých aminokyselin lysinu a argininu v jejich sekvenci. AMP vykazují antimikrobiální aktivity srovnatelné s konvenčními antibiotiky, ale zabíjejí bakterie podstatně rychleji. I když jejich mechanismus působení není dostatečně probádán, obecně se přijímá, že tyto kladně nabitě peptidy jsou přitahovány k negativně nabitému povrchu bakteriální membrány obsahující záporně nabitě fosfolipidy, interagují s ní, proniknou do její lipidové dvojvrstvy a různými způsoby rozruší její strukturu. Tím dojde k úniku cytoplazmy a následné smrti bakterie. Odlišné složení membrán eukaryotických buněk složené z fosfolipidů převážně neutrálního charakteru a cholesterolu brání živočišné buňky před účinkem AMP. V naší laboratoři jsme objevili několik nových AMP, které patří do kategorie lineárních α -helikálních peptidů. Tyto peptidy jsme izolovali z jedu volně žijících včel [1]. Jsou to kationické peptidy v délce 12 -18 aminokyselin s poměrně velkým zastoupením Arg a Lys a zároveň s výrazným obsahem hydrofobních aminokyselin. Některé z našich AMP vykazují značnou antimikrobiální aktivitu, ale nízkou, popřípadě jen mírnou toxicitu vůči eukaryotním buňkám. Některé z nich jsou též aktivní proti kvasinkám a lýzují určité rakovinné buňky. Ve vodném prostředí mají neuspořádanou strukturu, ale při kontaktu s bakteriální membránou „foldují“ do vysoce uspořádaného stavu amfipatického helixu ve kterém postranní řetězce hydrofobních aminokyselin vyčnívají na jednu stranu helixu, zatímco postranní řetězce hydrofilních aminokyselin včetně kladně nabitých aminokyselin argininů a lysinů čnějí na protilehlou stranu helixu (Obr. 1).



Obrázek 1. Amfipatická α -helikální struktura lasioglossinu [1]

Toto strukturní uspořádání je předpokladem pro jejich antimikrobiální účinek. Vhodnými strukturními záměnami jsme připravili účinná analoga, která mohou nalézt uplatnění při lokální léčbě infekce kostí (osteomyelitis), okolních tkání a prevenci infekce implantátů používaných v medicíně. Tyto syntetické peptidy prokázaly účinnost v pokusech prováděných na vzorcích uměle infikovaných lidských kostí obdrženy ze sbírky pražské nemocnice Motol. Bakteriální nálož byla v infikované oblasti kosti po působení peptidů, které byly smíchané s lokálním nosičem používaným v ortopedii, výrazně nižší než v infikované oblasti, kde byl aplikován pouze lokální nosič bez peptidu nebo i lokální nosič s antibiotiky jako je vancomycin či gentamicin. Významným výsledkem naší skupiny byl objev lucifensinu [2] - antimikrobiálního peptidu imunitního systému medicinálních larev, které se v nemocnicích běžně používají k léčbě obtížně hojitelných ran dolních končetin, převážně diabetických pacientů. V průběhu této larvální terapie larvy mouchy *Lucilia sericata* odstraňují infikovanou nekrotickou tkáň a zároveň vylučují do rány lucifensin a tím ránu desinfikují. Lucifensin patří do skupiny hmyzích defensinů. Pro ně je typická přítomnost několika strukturních domén, konkrétně antiparalelní β -struktura, α -helix a smyčka. Celá konformace je stabilizovaná pomocí tří disulfidových můstků.

Čeřovský V. (2014) Antimikrobiální peptidy izolované z hmyzu. *Chemické listy* 108, 344-353.
 Čeřovský V., Žďárek J., Fučík V., Monincová L., Voburka Z., Bém R. (2010) Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cell. Mol. Life Sci.* 67, 455-466.

PHOSPHATDYLINOSITOL 4-KINASE III β INHIBITORS AS BROAD SPECTRUM ANTIVIRAL AGENTS

NENCKA RADIM¹, MEJDROVÁ IVANA¹, CHALUPSKÁ DOMINIKA¹, PLAČKOVÁ PAVLA¹, MÜLLER CHRISTIN², ŠÁLA MICHAL¹, PROCHÁZKOVÁ ELIŠKA¹, STRUNIN DMYTRO¹, WEBER JAN¹, GARY LEE³, ZIEBUHR JOHN², BIRKUS GABRIEL³, BOURA EVZEN¹

¹ *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i, Gilead Sciences & IOCB Research Centre, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 6, Czech Republic.*
nencka@uochb.cas.cz

² *Institute of Medical Virology, Justus Liebig University Giessen, Schubertstrasse 81, D-35392 Giessen, Germany.*

³ *Gilead Sciences, Inc., 333 Lakeside Drive, Foster City, CA 94404, United States.*

Phosphatidylinositol 4-kinase III β (PI4KB) is indispensable for replication of various positive-sense single stranded RNA viruses (or (+)ssRNA) viruses, which hijack this cellular enzyme to remodel plasmatic membranes inside infected cells and to set up functional replication machinery on such modified membrane structures. Therefore, inhibition of this particular PI4K isoform leads to arrest of viral replication.¹

In our pilot study, we focused on a thorough structure-activity study starting from a HTS hit compound and identified a series of selective PI4KB inhibitors. One of these derivatives was co-crystallized with the target enzyme.^{2,3}

Subsequently, we prepared a series of new derivatives, which were rationally designed based on two distinct structural types of inhibitors that were both shown to bind in the ATP binding site of this enzyme. The obtained “hybrid” structures excel not only in outstanding inhibitory activity, but also proved to be highly selective to PI4KB in comparison with other protein and lipid kinases. Thus, our prototype compounds exert low nanomolar or even subnanomolar activities against PI4KB without significant inhibition in wide kinome screen at 1 μ M. Our crystallographic studies unveiled the exact position of the side chains and explain their extensive contribution to the inhibitory activity. The obtained inhibitors were tested in a panel of (+)ssRNA viruses and proved to possess profound antiviral effect against hepatitis C virus (HCV), human rhinovirus (HRV) and coxsackievirus B3 (CVB3).

1. Boura, E.; Nencka, R. *Exp. Cell. Res.* **2015**, *337*, 136.
2. Mejdrová, I.; Chalupská, D.; Kögler, M.; Šála, M.; Plačková, P.; Baumlová, A.; Hřebabecký, H.; Procházková, E.; Dejmek, M.; Guillon, R.; Strunin, D.; Weber, J.; Lee, G.; Birkus, G.; Mertlíková-Kaiserová, H.; Boura, E.; Nencka, R. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3767.

3. Šála, M.; Kögler, M.; Plačková, P.; Mejdrová, I.; Hřebabecký, H.; Procházková, E.; Strunin, D.; Lee, G.; Birkus, G.; Weber, J.; Mertlíková-Kaiserová, H.; Nencka, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2706.

PADĚLKY LÉČIV

DOHNAL JIŘÍ

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1, 612 43 Brno

dohnalj@vfu.cz

Výroba a rozšiřování padělků léčiv výrazně roste v posledních 20 letech a stává se z ní jakési „průmyslové odvětví“, které představuje vážnou hrozbu. Roční obrat z této činnosti se odhaduje na 75 mld. USD. Podle Interpolu se jedná o jedno z nejrychleji rostoucích „odvětví“ a o nejlukrativnější zdroj příjmů globálně organizované kriminální sítě.

Následkem padělaných léčiv umírá až jeden milion lidí ročně, z toho 200 tis. úmrtí připadá na padělaná antimalarika.

Padělané léčivé přípravky jsou léčivé přípravky (LP) s nepravdivými údaji o totožnosti, včetně obalu a označení na obalu, názvu nebo složení z hlediska kterékoli jeho složky včetně pomocných látek a síly složek a jejich kvality, na nichž jsou uvedeny nepravdivé údaje o jejich původu, včetně výrobce, země výroby, země původu nebo držitele rozhodnutí o registraci nebodoprovázené dokumentací obsahující nepravdivé údaje o jejich historii, včetně záznamů a dokumentů týkajících se využitých distribučních kanálů, které jsou vydávány za pravé registrované přípravky.

Mohou představovat vážnou hrozbu pro zdraví. Mezi nejzávažnější případy v posledních několika letech patřil kontaminovaný heparin, který byl v roce 2008 spojen s desítkami úmrtí po celém světě, včetně USA a EU.

Světová zdravotnická organizace (WHO) předpokládá, že 1 – 10 % celosvětově dostupných léčiv jsou padělky. Polovina z tohoto odhadu se prodává v Asii a Africe. Interpol uvádí vyšší hodnoty - až 30 %. 80 % padělků prodávaných v USA pochází z Číny nebo Indie.

K rozšiřování padělků přispívá nedostatek politické vůle a odhodlání, nedostatek odpovídající lékové legislativy, slabá léková regulace (LR) nebo její absence v některých státech (191 členů WHO, má jen 20 % dobrou LR, v 50 % je implementace LR na různé úrovni, 30 % nemá LR nebo jen s velice malou kapacitou). Dále to je slabá výkonná moc a sankce, korupce a konflikty zájmů, vysoká cena léčivých přípravků, nedostatečná spolupráce mezi stakeholdery, nedostatek regulace v exportujících zemích a v zónách volného obchodu a obchodování přes několik prostředníků.

V legálních i nelegálních dodavatelských řetězcích se objevují většinou padělky LP originálních, ale nechybí zde ani padělky LP generických, jak na předpis, tak volně prodejných.

V rozvojových zemích jsou bohužel častější padělky léků používaných na léčbu život ohrožujících chorob. V USA a EU jsou to především padělky léků na léčbu civilizačních chorob způsobených životním stylem. Jedním z nejčastěji padělaných LP je Viagra firmy Pfizer.

K odhalování padělků LP se používají analytické metody v závislosti na místě a účelu kontroly. Při namátkové a vstupní kontrole se používá s výhodou analýza obrazu, při opodstatněných podezřeních se přechází k analýzám pomocí nejmodernějších analytických metod, jako např. LC-MS a Ramanova rozptylu.

Dne 8. června 2011 přijaly Evropský parlament a Rada směrnici 2011/62/EU¹, kterou se mění směrnice 2001/83/ES² o kodexu Společenství týkajícím se humánních léčivých přípravků. V zájmu řešení tohoto problému směrnice 2011/62/EU zavádí povinné „ochranné prvky“ (jedinečný identifikátor a prostředek k ověření manipulace s obalem) jako součást vnějšího obalu léčivých přípravků na lékařský předpis, ačkoliv platí určité odchylky.

Komise vyhodnotila jako nákladově nejefektivnější následující řešení: Podle nařízení Komise v přenesené pravomoci ze dne 2.10.2015 by měl být jedinečný identifikátor umístěn do dvojrozměrného čárového kódu a měl by obsahovat kód přípravku, sériové číslo, vnitrostátní úhradové číslo (je-li požadováno členskými státy), číslo šarže a datum použitelnosti. Pravost léčivého přípravku by měl zaručit ucelený ověřovací systém doplněný ověřením založeným na míře rizika prováděným distributory. Systém úložišť obsahující jedinečné identifikátory by měl být zřízen a spravován zainteresovanými stranami. Příslušné vnitrostátní orgány by nicméně měly mít k systému úložišť přístup a vykonávat nad ním dozor.

V současné době probíhá implementace výše uvedených opatření, která by měla být dokončena ve většině zemí EU nejpozději do února 2019.

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

CHIRAL HPLC FOR EFFICIENT RESOLUTION OF AMINO ACIDS ENANTIOMERS

HROBOŇOVÁ KATARÍNA, ANNA LOMENOVÁ

Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic; katarina.hrobonova@stuba.sk

For much of three decades, the development and study of chromatographic enantiomeric separations have been dominated by investigations focused on selectivity. This is not surprising given the unique position of chiral separations in chromatography where conventional strategies used for all other molecules are completely ineffective for enantiomers. Hence, the highest impact studies involved conceiving, understanding, and optimizing the use of new and better chiral selectors and enantioselective sorbents. Numerous analytical and thermodynamic studies as well as evaluations of solvent and additive effects continue even today.

Cyclofructans are relatively new type of chiral selectors consisting of D-fructofuranose units. Native cyclofructans has limited enantioselective capabilities as a chiral selector in HPLC. It was reported, that aliphatic derivatized cyclofructan-based HPLC CSPs are suitable for separation of racemic primary amines. The cyclofructan-based chiral stationary phases were proved to be multimodal, they can be used under normal phase, reversed phase mode and polar organic mode. (Sun et al. 2010)

The most frequently utilized chiral selectors for enantioseparation are teicoplanin and teicoplanin aglycone. The variety of stereoselective interactions is related to the presence of many stereogenic centers and the heterogeneity of functional groups. The structure of these chiral selectors indicates multiple interactions (hydrogen bonding, π - π complexation, dipole stacking, steric interactions, hydrophobic interactions, electrostatic interactions, and inclusion). Macrocyclic antibiotic CSPs can operated in all common separation modes.

The advantage of CSPs is large enantioseparation performance, but on the other hand, it is often difficult to predict the elution order of enantiomers. The molecular imprinting technique has attracted much attention as a method to prepare support for molecular separation. Molecular imprinting is a versatile procedure where the template molecules were introduced in a three-dimensional cross-linked polymer matrix, which molecularly imprinted polymer is prepared with a high affinity and selectivity for the target molecule.

In the present study, evaluation and comparison of HPLC separation and interaction ability of different types of CSPs and separation modes for the direct separation of underivatized amino acid enantiomers. Complementarity of the separation modes will be presented and discussed. The studies demonstrated enhanced enantioselectivity of teicoplanin based CSPs in the reversed phase mode for underivatized amino acids. The isopropyl carbamate cyclofructan 6 CSP in polar organic separation mode has shown some selectivity when compared to aromatic

derivatized cyclofructan CSPs. The enhanced selectivity of was observed in the normal phase in comparison with any enantioselectivity of polar organic phase.

The enantioselective sorbents based on molecularly imprinted polymers are suitable choice for enantiomer separation. The possibilities of MIP applicability will be presented. (Hroboňová et al. 2015a, Hroboňová et al. 2015b)

Acknowledgement

This work was financially supported by the Scientific grant agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic and of Slovak Academy of Sciences (grant no. 1/0499/14).

References

Sun P., Armstrong, D.W. (2010) *J. Chromatogr. A* 1217, 4904-4918.

Hroboňová K., Moravčík J., Lehotay J., Armstrong D.W. (2015a) *Anal. Methods* 7, 4577-4582.

Hroboňová K., Deáková Z., Moravčík J., Lehotay J., Armstrong D.W., Lomenová A. (2015b) *Nova Biotechnologica et Chimica* 14-1, 1-11.

PRÍRODNÉ A SYNTETICKÉ KANABINOIDY – INTERAKČNÝ POTENCIÁL

CZIGLE SZILVIA, TÓTH JAROSLAV

*Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky,
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, czigle@fpharm.uniba.sk*

Rastlinné drogy – marihuana (*Cannabis herba*), hašiš (*Cannabis resina*) – získavané z rôznych druhov konopy (*Cannabis L.*, Cannabaceae) a ich biologicky účinné obsahové látky patria medzi halucinogénne látky. Pri užívaní týchto psychotropných látok vzniká len ľahká dependencia. Napriek tomu je na Slovensku trestné prechovávať a pestovať marihuanu, tak pre vlastnú potrebu, ako ani na predaj. V ostatnom čase sa objasnil význam endokanabinoidného systému, objavili sa jeho ligandy, tzv. endokanabinoidy. Pozorovanie vplyvu marihuany, resp. hašiša (účinnok tzv. fytoKANABINOIDOV) na ľudský organizmus otvára cestu aj pre medicínske využitie niektorých substrátov kanabinoidných receptorov (agonistov, resp. antagonistov) v terapii niektorých chorôb, resp. závislostí. V literatúre sa však vyskytujú údaje, ktoré upozorňujú na nebezpečenstvo možných interakcií nielen s liečivami, ale aj s inými liečivými rastlinami.

Literatúra: * Czige, Sz., Tóth, J.: Interakcie konopy (*Cannabis L.*), jej živice a obsahových látok s liečivami a niektorými liečivými rastlinami. Bratislava: Dr. Josef Raabe Slovensko, 2011, A 4.3, 1 – 24. * Czige, Sz., Tóth, J.: Interakcie liečiv s marihuanou a hašišom. Praktické lekárnictvo, 2015, 5(1), 20 – 24.

PRŮTOKOVÉ METODY PRO STOPOVOU ANALÝZU V OCEÁNOGRAFII

CHOCHOLOUŠ PETR ¹, GRAND MAXIME M. ², RŮŽIČKA JAROMÍR ²,
HORSTKOTTE BURKHARD ¹, MEASURES CHRISTOPHER ², SOLICH PETR ¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; chocholous@faf.cuni.cz*

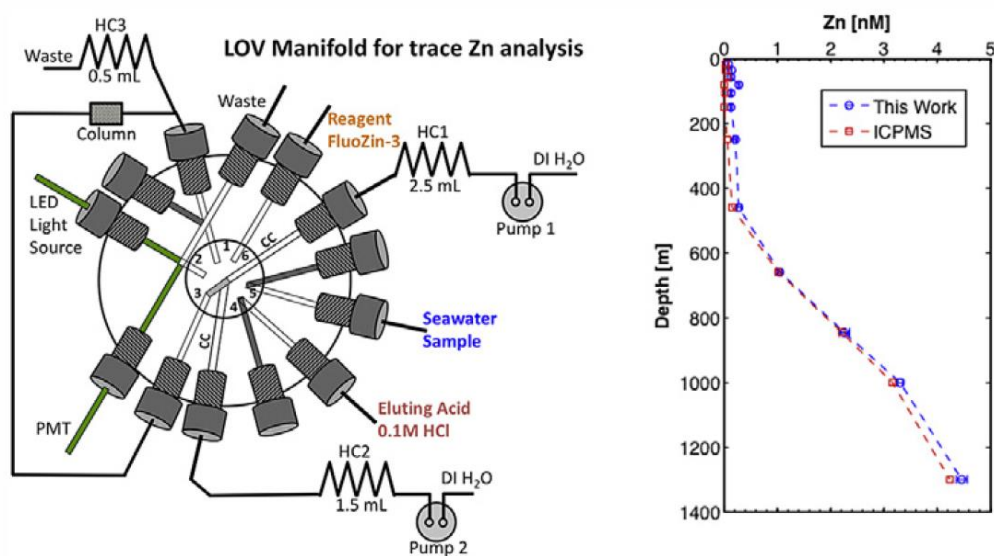
² *Department of Oceanography, University of Hawaii, 1000 Pope Road, Honolulu, HI, USA*

Stanovení stopových prvků v mořské vodě vyžaduje prekoncentrační krok k dosažení citlivosti odpovídající měření na otevřeném oceánu (<0.1 nM). Nová metoda využívající pokročilý Lab-On-Valve hybridní průtokový analyzátor pro extrakci na tuhé fázi (Toyopearl AF-Chelate-650M) a derivatizaci fluorescenčním činidlem FluoZin-3 zajišťující vysoce citlivé a selektivní stanovení za 13 min.

Metoda vykazuje limit detekce 0,02 nM a kalibrační rozsah do 4,00 nM, přesnost <3% (RSD) pro koncentrace 0,10 a 2,00 nM a dlouhodobou variabilitu výsledků při typickém nasazení <10% (RSD). Metoda byla validována pomocí referenčních standardů a výsledky stanovení vzorků z Indického oceánu srovnány se stanovením pomocí ICP-MS.

Práce prokázala možné užití průtokového analyzátoru s optickou detekcí pro analýzu stopových prvků pro měření mimo laboratoř (na výzkumné lodi) a širší aplikovatelnost na další prvky v mořské vodě.

Tato práce byla podpořena projekty MŠMT ČR VES13 Kontakt II LH13023 a NSF-OCE 1235101.



MODULATORS OF MITOCHONDRIAL ENZYMES INVOLVED IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

ONDREJ BENEK ^{1,2}, PATRICK GUEST ³, LAURA AITKEN ³, LUKAS HROCH ^{1,4}, TERRY K. SMITH ³, ONDREJ SOUKUP ¹, KAREL MUSIL ^{1,5}, VLASTIMIL DOHNAL ⁵, DANIEL JUN ¹, KAMIL KUCA ^{1,5}, FRANK GUNN-MOORE ³, KAMIL MUSILEK ^{*1,5}

¹ University Hospital, Biomedical Research Centre, Sokolska 581, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic

² University of Defence, Faculty of Military Health Sciences, Department of Toxicology and Centre of Advanced Studies, Trebesska 1575, 500 01 Hradec Kralove, Czech Republic

³ University of St. Andrews, School of Biology, Medical and Biological Sciences Building, North Haugh, St. Andrews KY16 9TF, United Kingdom

⁴ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, AkademikaHeyrovského 1203, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic

⁵ University of Hradec Kralove, Faculty of Science, Department of Chemistry, Rokitanskeho 62, 500 03 Hradec Kralove, Czech Republic; kamil.musilek@gmail.com*

Amyloid-beta peptide (A β) has been recognized to interact with numerous proteins, which may lead to pathological changes in cell metabolism of Alzheimer's disease (AD) patients [1]. One such known metabolic enzyme is mitochondrial amyloid-binding alcohol dehydrogenase (ABAD), also known as 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 10 (17 β -HSD 10). Based on previous benzothiazolyl compounds [2], we report a novel series of benzothiazolyl ureas along with identification of potent ABAD inhibitors, which exceeded the potency of previously reported compounds, showed limited cytotoxicity and were proved to have blood-brain barrier penetrating physical chemical properties [2].

This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic (no. NV15-28967A), Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC; no. BB/J01446X/1), the Alzheimer's Society and the Barcopel Foundation.

Benek, O.; Aitken, L.; Hroch, L.; Kuca, K.; Gunn-Moore, F.; Musilek, K. *Current Medicinal Chemistry*. **2015**, vol. 22, no. 9, p. 1056-1085.

Hroch, L.; Aitken, L.; Benek, O.; Dolezal, M.; Kuca, K.; Gunn-Moore, F.; Musilek, K. *Current Medicinal Chemistry*. **2015**, vol. 22, no. 6, p. 730-747.

CZ305633 B6 – Musilek, K.; Kuca, K.; Benek, O.; Soukup, O.; Jun, D.; Aitken, L.; Gunn-Moore, F.J.; Smith, T.K.; Guest, P. granted 2015-12-02

NEW METHODOLOGY FOR THE SYNTHESIS OF C-C BOND IN PROSTAGLANDIN PRECURSORS

MONTEIRO SARA ¹, PAUK KAREL ¹, IMRAMOVSKÝ ALEŠ ¹, PAVELOVÁ RADKA ²,
PAVLÍK JAN ²

¹ University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Institute of Organic Chemistry and
Technology, Studentská 573, 532 10 Pardubice; st50369@student.upce.cz

² Cayman Pharma, ul. Ke Spolaně, 277 11 Neratovice

The synthesis of Prostaglandins (PG) has been a challenge over than 30 years. The complex structure, including a cyclopentane with two lateral chains, associated with the presence of several chiral centers contributes for the difficulty of the process. Although all efforts, their synthesis still follows old multistep protocols, contributing for high time-consumptions and low global yields.

Alfaprostol (Fig.1) is a synthetic PGF₂ α methyl ester analogue with veterinary application as luteolytic agent.

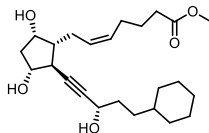


Fig.1 – Alfaprostol structure

In its structure alfaprostol includes a propargyl alcohol moiety. Current efforts are being targeted in the development of a new methodology for the synthesis of the C-C bond in alfaprostol intermediate, starting from a Corey lactone derivative and 3-cyclohexylpropanal (Fig.2).

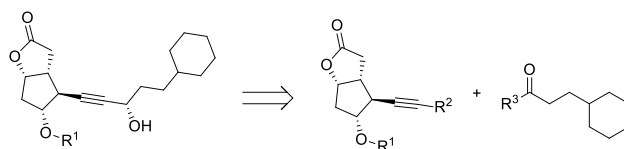


Fig.2 – Retrosynthetic analysis of key intermediate

R¹: Protecting group R²: H, Br, Si(CH₃)₃ R³: H, Cl

The new methodology should have in consideration the stereoselectivity of hydroxyl group, as well as the lability of Corey lactone moiety. In this context the use of chiral ligands or other suitable approach are being considerate.

Acknowledgements: the authors wish to acknowledge the financial support of the SG-project of the Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice as well as to the Cayman Pharma Neratovice (Czech Republic) for the HPLC analysis and delivering of some starting materials.

APPLICATION OF IMPRINTED POLYMERS AS SELECTIVE SORBENTS FOR EXTRACTION OF SOME NATURAL PHENOLICS FROM FOOD SAMPLES

NATALIA DENDERZ^{1*}, JARMILA KRŇANOVÁ², JOZEF LEHOTAY²

¹*Slovak University of Technology in Bratislava, Institute of Analytical Chemistry Faculty of Chemical and Food Technology, 9 Radlinskeho St., 812 37 Bratislava, natalia.denderz@stuba.sk*

²*University of ss Cyril and Methodius in Trnava, 2 J. Herdu St., 917 01 Trnava*

Phenolics belong to the most ubiquitous compounds which can be found in the most of plants. These secondary plant metabolites can be very easily extracted from the different kinds of food samples and plant extracts with high selectivities by using the molecularly imprinted polymers (MIPs) [1,2].

MIPs are synthesised in the presence of specific analyte, called template. During polymerization process, by the copolymerization of functional monomer and crosslinker, around the template molecule are creating special 3D-binding sites – molecular imprints. The molecules of crosslinker act as fundaments of MIP, while the functional monomer provides functional groups which interact with the template molecule and allow to create the 3D-imprints [1].

This work presents the possibility of creating the 3D-molecular imprints which are capable of selectively recognize different phenolic compounds. MIPs, selective for gallic and protocatechuic acid, as well as for quercetin, have been prepared and subsequently used as SPE-sorbents (Solid-Phase Extraction) for their isolation from the wine samples and hop cone extract, respectively. The structures of investigated analytes are shown in Fig. 1.

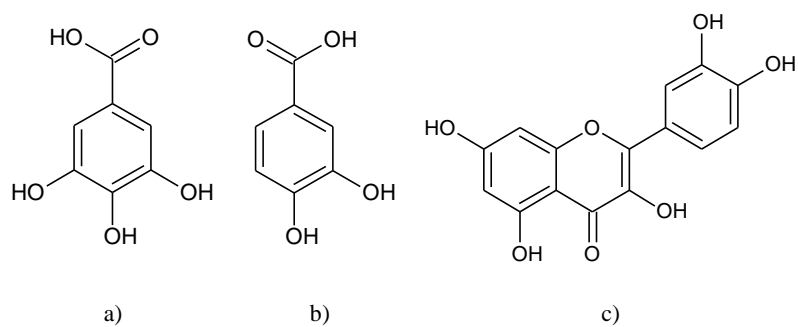


Fig. 1. The structures of investigated target analytes: gallic acid (a), protocatechuic acid (b) and quercetin (c).

Denderz N., Lehotay J.: (2014) *J. Chromatogr. A* 1372, 72-80.

Krňanová J., Denderz N., Lehotay J., Samohýl M.: (2015) *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* 38, 702-78.

PEPTIDOVÉ NOSIČE NA BÁZI TUFTSINU PRO ANTIMYKOBAKTERIÁLNĚ AKTIVNÍ MOLEKULY

KRÁTKÝ MARTIN¹, BÖSZE SZILVIA², BARANYAI ZSUZSA², VINŠOVÁ JARMILA

1

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; martin.kratky@faf.cuni.cz*

² *MTA-ELTE Research Group of Peptide Chemistry, Pázmány Péter Sétány 1/A, 1518 Budapest 112, Maďarsko*

Drug delivery systémy (DDS) jsou využívány k úpravě nevýhodných vlastností bioaktivních molekul, např. za účelem cíleného transportu, snížení toxicity, zvýšení rozpustnosti, biodostupnosti či prodloužení doby účinku¹. Jako potenciální nosiče pro malé antimykobakteriálně účinné molekuly jsme zvolili nově připravené modifikované oligopeptidy na bázi tuftsínu. Tuftsínové deriváty jsou netoxické, neimunogenní, mají imunostimulační aktivitu, specificky „cílí“ do makrofágů, čímž dochází ke zvýšení buněčného uptake, aktivity a zároveň snížení toxicity. Pilotní studie s isoniazidem ukázala, že tento přístup může přinést zajímavé výsledky².

Oligotuftsínové nosiče sekvence [TKPKG]_n (n = 1-4) byly připraveny technikou syntézy na pevné fázi (Fmoc/tBu strategie, rink amide MBHA resin, diisopropylkarbodiimid/ HOBt v *N*-methylpyrrolidonu). Účinnost každého kroku byla kontrolována Kaiser testem. N-konec peptidu, příp. jedna nebo více postranních lysinových ε-amino skupin byly cíleně modifikovány různými substituenty: karboxylovými kyselinami (octová, máselná, palmitová) za účelem zvýšení lipofility, peptidy (sekvence GFLG štěpitelná kathepsinem B, G₅) či deriváty fluoresceinu ke sledování buněčného uptake. Mimo kontrol byla do struktury nosiče (v různých polohách) zabudována jedna či více molekul aminorooxyoctové kyseliny, jejíž amino skupina slouží k tvorbě stabilní oximové vazby s aktivní molekulou. Poté byly nosiče uvolněny z pryskyřice pomocí 95% trifluoroctové kyseliny a chromatograficky purifikovány.

Pro ověření vlastností nosičů byly zvoleny jako modelové sloučeniny salicylanilidové deriváty nesoucí acetyl či formylovou skupinu. Sloučeniny odvozené od salicylanilidu mají významné antimikrobiální účinky, jejich použití však limituje omezená rozpustnost a poměrně značná toxicita pro savčí buňky³. Konjugace s nosiči za vzniku oximové vazby proběhla ve směsi acetátový pufr/2-ethoxyethanol (1:1), reakční čas byl 24-72 h. Konjugáty byly přečištěny a charakterizovány (MS, RP-HPLC, elementární analýza).

Konjugáty nosičů se salicylanilidy vykazují *in vitro* výraznou aktivitu vůči extracelulárním mykobakteriím včetně resistantních kmenů (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. abscessus*), nadto jsou v porovnání s výchozími látkami účinné i v modelu intracelulární tuberkulózy (infikované

makrofágy). Signifikantně je zvýšen i buněčný uptake. Naopak cytostatické a cytotoxické vlastnosti jsou redukovány, výjimkou jsou DDS modifikované kyselinou palmitovou. Zjistili jsme, že nově připravené oligotuftsinové deriváty představují potenciálně slibnou skupinu nosičů pro malé antimykobakteriálně účinné molekuly, neboť experimentálně zvyšují aktivitu, intracelulární uptake, selektivitu i rozpustnost modelových salicylanilidů.

LITERATURA

1. Tiwari G., Tiwari R., Sriwastawa B., Bhati L., Pandey S., Pandey P., Bannerjee S. K.: *Int. J. Pharm. Invest.* 2, 2 (2012).
2. Horvati K., Mezo G., Szabo N., Hudecz F., Bösze S.: *J. Pept. Sci.* 15, 385 (2009).
3. Krátký M., Vinšová J.: *Curr. Pharm. Des.* 17, 3494 (2011).

3,5-DINITROPHENYL 1,3,4-OXADIAZOLES AND 1,2,4-TRIAZOLES AS A NOVEL ANTITUBERCULAR AGENTS: STRUCTURE – ACTIVITY RELATIONSHIP STUDY

KARABANOVICH GALINA¹, ROH JAROSLAV¹, STOLAŘÍKOVÁ JIŘINA², MIKUŠOVÁ KATARÍNA³, SZÉKELY RITA⁴, PÁVEK PETR¹, KLIMEŠOVÁ VĚRA¹, HRABÁLEK ALEXANDR¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové, Czech Republic karabang@faf.cuni.cz

² Regional Institute of Public Health, Department of Bacteriology and Mycology, Partyzánské náměstí 7, 70200 Ostrava, Czech Republic

³ Comenius University, Faculty of Natural Sciences, Department of Biochemistry, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovakia

⁴ Global Health Institute, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015 Lausanne, Switzerland

Tuberculosis (TB) remains one of the wide-spread and dangerous infection diseases. The main obstacle for successful recovery is the ability of *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb.*) to mutate in order to survive under conditions of anti-TB therapy. Therefore, the search for novel highly efficient compounds with new mechanisms of action remains highly desirable.

In previous works we found that benzazoles (**1**) and 1*H*- and 2*H*-tetrazoles (**2**) bearing 3,5-dinitrobenzylsulfanyl moiety showed high antimycobacterial activity.^{1, 2} The minimum inhibitory concentration (MIC) values of compounds of series **1** and **2** reached 1 μ M (0.36-0.44 μ g/mL) against *M.tb.* CNCTC My 331/88 and 0.25-1 μ M against six multidrug-resistant (MDR) clinically isolated strains of *M.tb.* The absence of activity against other bacteria or fungi and low cytotoxicity indicated their selective effect.

In the continuation of our research we replaced tetrazole cycle of **2** with isosteric 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole cycles and synthesized four series of compounds: 2-alkyl/aryl-5-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1,3,4-oxadiazoles and 4-alkyl/aryl-3-aryl-5-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-4*H*-1,2,4-triazoles (**3**), and their reverse analogs, 2-alkylsulfanyl-5-(3,5-dinitrophenyl)-1,3,4-oxadiazoles and 4-alkyl-3-alkylsulfanyl-5-(3,5-dinitrophenyl)-4*H*-1,2,4-triazoles (**4**) (Figure 1).

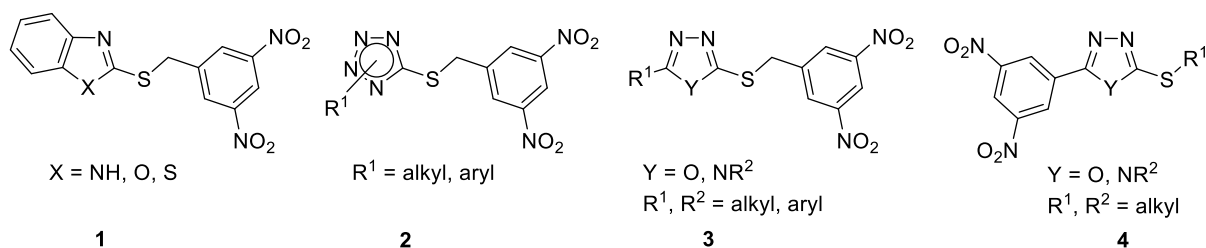


Figure 1. General structures of studied compounds

Within structure – activity relationship study we explored the role of the position of 3,5-dinitrophenyl moiety and the effects of substituents R¹ and R² on antimycobacterial efficiency in the series of compounds **3** and **4**.³

We found that derivatives of 1,2,4-triazoles **3** showed moderate antimycobacterial activity with MIC values of 2-4 μM (0.71-1 μg/mL). Nevertheless, their reverse analogs **4** and 1,3,4-oxadiazole derivatives **3** and **4** displayed outstanding antimycobacterial activity with MIC values as low as 0.03 μM (0.011-0.026 μg/mL) against both drug-susceptible and MDR *M.tb.* It should be noted that position of 3,5-dinitrophenyl moiety in 1,3,4-oxadiazole series **3** and **4** had negligible influence on compounds efficiency. However, the position of this fragment determined their mechanism of action: 1,3,4-oxadiazoles **4** probably act as inhibitors of mycobacterial decaprenylphosphoryl-β-D-ribofuranose 2'-oxidase (DprE1), the only donor of arabinosyl residues for the biosynthesis of arabinan polymers in mycobacteria, while the target of 3,5-dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-oxadiazoles **3** is the synthesis of mycobacterial nucleic acids. The prepared compounds of series **3** and **4** showed no growth inhibitory activity against other bacteria or fungi. Moreover, studied compounds had low toxicity against mammalian cell lines, e.g. isolated human hepatocytes.

Our SAR study determined that position 3,5-dinitrophenyl moiety, the crucial group for high antimycobacterial activity of prepared compounds, significantly affected the efficiency of triazole derivatives of series **3** and **4**. In the case of oxadiazole derivatives of series **3** and **4**, the position of 3,5-dinitrophenyl fragment did not influence the activity, but determined the mechanism of antimycobacterial action.

The substituents R¹ and R² influenced the physico-chemical properties of the studied compounds, as the rest of the molecule remain unchanged. Generally, more lipophilic compounds showed higher efficiency against *M.tb.* strains.

To conclude, prepared 1,3,4-oxadiazole derivatives **3** and **4** as well as 3,4-disubstituted-5-(3,5-dinitrophenyl)-4H-1,2,4-triazoles **4** proved to be promising antitubercular agents with selective mode of action.

The study was supported by the Czech Science Foundation project (14-08423S) and Charles University in Prague (SVV 260 291).

1. Karabanovich, G.; Roh, J.; Smutný, T.; Němeček, J.; Vicherek, P.; Stolaříková, J.; Vejsová, M.; Dufková, I.; Vávrová, K.; Pávek, P.; Klimešová, V.; Hrabálek, A., 1-Substituted-5-[(3,5-Dinitrobenzyl)sulfanyl]-1H-Tetrazoles and Their Isosteric Analogs: A New Class of Selective Antitubercular Agents Active against Drug-Susceptible and Multidrug-Resistant. Mycobacteria. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 82, 324-340.

2. Karabanovich, G.; Roh, J.; Soukup, O.; Pávková, I.; Pasdiorová, M.; Tambor, V.; Stolaříková, J.; Vejsová, M.; Vávrová, K.; Klimešová, V.; Hrabálek, A., Tetrazole Regioisomers in the Development of Nitro Group-Containing Antitubercular Agents. *Med. Chem. Commun.* **2015**, 6 (1), 174-181.

3. Karabanovich, G.; Zemanová, Y.; Smutný, T.; Székely, R.; Šarkan, M.; Centárová, I.; Vocat, A.; Pávková, I.; Čonka, P.; Němeček, J.; Stolaříková, J.; Vejsová, M.; Vávrová, K.; Klimešová, V.; Hrabálek, A.; Pávek, P.; Cole, S. T.; Mikušová, K.; Roh, J., Development of 3,5-

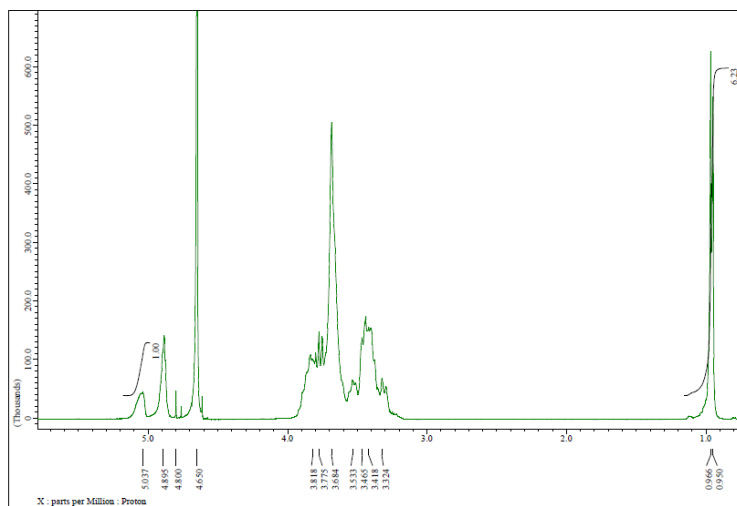
Dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-oxadiazoles and Thiadiazoles as Selective Antitubercular Agents Active Against Replicating and Nonreplicating Mycobacterium tuberculosis. *J. Med. Chem.*, **2016**, 59 (6), 2362–2380.

MOLÁRNÍ SUBSTITUCE SUBSTITUOVANÝCH OLIGO- A POLYSACHARIDŮ NMR

FARSA OLDŘICH

Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv,
Palackého 1, 612 43 Brno, farsao@vfu.cz

Molární substituce MS je parametr používaný ke strukturní charakterizaci substituovaných oligosacharidů. Určuje počet molekul substituentu připadající na jednu monomerní sacharidovou jednotku. Platný Český lékopis [1] užívá tento parametr k charakterizaci substituce hydroxypropylbetadexu, tj. 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinu. U tohoto substituovaného cyklického heptameru glukosy se mohou vyskytovat nejen etherově vázané 2-hydroxypropylové skupiny, ale i oligopropylenglykolové řetězce, což vyplývá z metody přípravy, reakce cyklodextrinu s propylenoxidem (methyloxiranem). Lékopis toleruje MS v rozmezí 0,40 – 1,50, čímž je omezena i průměrná délka těchto řetězců. MS se zde stanoví velmi jednoduše z integrálních ploch na ^1H -NMR spektru cyklodextrinu, měřeném v roztoku v deuteriumoxidu: $MS = A_1/3A_2$, kde A_1 je plocha signálu methylu 2-hydroxypropan-1-ylvého seskupení s chem. posunem kolem 1,3 ppm a A_2 plocha signálu poloacetalového vodíku těsně nad 5 ppm. U oficiálních substituovaných polysacharidů dávají ovšem lékopisy většinou přednost jinému, nepřímému vyjádření míry substituce hydroxylových skupin. Např. u sodné soli kboxymethylcelulosity *Carmellosum natricum* se spokojuje s definovaným obsahem sodíku v rozmezí 6,5 – 10,5 %, zatímco u methylcelulosity se lékopis mírou substituce nezabývá vůbec, ověřuje se zdánlivá viskozita standardně připraveného koloidu udaná výrobcem, která ovšem souvisí nejen s mírou methylace, ale i s polymerním stupněm. U acetátu celulosity se stupeň substituce určuje hydrolýzou acetátových skupin a následným titračním stanovením vzniklé kyseliny octové, přičemž jen samotná hydrolýza trvá 16 hodin. Cílem této práce bylo najít v literatuře a prakticky (do)vyvinout a ověřit metodiky vhodné ke stanovení stupně substituce modifikovaných polysacharidů pomocí jednoduchých metodik založených na ^1H a ^{13}C -NMR spektroskopii tak, aby vznikly postupy použitelné např. jako praktické úlohy z předmětu Chemie farmaceutických pomocných látek, nebo jako alternativa k současným lékopisným postupům. Za tím účelem bylo nutno překonat potíže spojené se špatnou rozpustností mnohých těchto sacharidů v rozpouštědlech, běžně používaných v NMR spektroskopii, o nichž se zmiňuje literatura [2], stejně jako nedostatečné rozlišení signálů u některých z nich a pro měření



spekter nevhodné fyzikální vlastnosti jejich disperzí. Obr. 1: 400 MHz ^1H -NMR spektrum hydroxypropylbetadexu s vyznačením integrálních ploch poloacetalových vodíků a vodíků 2-hydroxypropylového methylu, které se používají k výpočtu molární substituce.

Literatura

[1] Český lékopis 2009, Grada, Praha, 2009

[2] Richardson S., Gorton L. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. *Anal. Chim. Acta* **497**, 27-65 (2003)

MOŽNOSTI MANIPULACE SE VZORKEM A JEHO AUTOMATIZOVANÁ ÚPRAVA RŮZNÝMI EXTRAKČNÍMI POSTUPY V SYSTÉMU SEKVENČNÍ INJEKČNÍ ANALÝZY

SKLENÁŘOVÁ HANA¹, ZELENÁ LUCIE¹, HORSTKOTTE BURKHARD¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; sklenarova@faf.cuni.cz

Sekvenční injekční analýza (SIA) je průtoková analytická technika vhodná pro automatizaci chemických reakcí, ale také pro manipulaci se vzorky včetně jejich úpravy různými extrakčními postupy. Manipulace se vzorky je nejčastěji založena na dávkování malého objemu vzorku do SIA systému, kde proběhne stanovení sledované látky, které je často využíváno pro monitorování dlouhodobých procesů a sledování kinetických profilů (uvolňování účinné látky z lékové formy nebo permeační testy založené na transportu látky přes buněčnou monovrstvu). Mezi extrakční postupy, které je možné automatizovat v SIA systému, patří extrakce mezi dvě nemísitelné kapaliny v jednoduchém i disperzním provedení, extrakce na tuhou fázi včetně miniaturizované extrakce s využitím různých typů sorbentů, ale také head-space extrakce. Extrakční postupy mohou využívat běžný SIA systém nebo tzv. in-syringe postupy, kdy je pro zpracování většího objemu vzorku využit celý objem pístového čerpadla.

V případě pevných SPE sorbentů je často využíván tzv. Lab-on-valve modul, který umožňuje práci s velmi malým objemem sorbentu, který může být využit opakovaně nebo je pro každou extrakci aspirován nový objem sorbentu a odpadá tak jeho regenerace. V prezentaci budou uvedeny příklady automatizace odebírání vzorku z permeačních studií a také automatizace extrakčních postupů včetně získaných výsledků v rámci aplikací pro stanovení různých biologicky aktivních látek.

Poděkování

Práce je spolufinancována projektem Grantové agentury Univerzity Karlovy, GAUK č. 159415.

6-HYDROXYSPHINGOSINE-BASED CERAMIDES - SYNTHESIS AND STUDY OF BEHAVIOUR IN MODEL LIPID MEMBRANES

KOVÁČIK ANDREJ¹, ŠILAROVÁ MICHAELA¹, OPÁLKA LUKÁŠ¹, MAIXNER
JAROSLAV², VÁVROVÁ KATEŘINA

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; kovacika@faf.cuni.cz

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha

Ceramides (Cer) play an essential role in the barrier function of human epidermis, because they help to prevent the water loss from the body and absorption of exogenous substances [1]. Cer based on 6-hydroxysphingosine, *e.g.*, Cer NH have only been found in epidermis; however, their role in the skin barrier homeostasis is not fully understood [2]. In this work, we focused on the total synthesis of Cer NH and study of the permeability and microstructure of model lipid membranes based on Cer NH in comparison with other Cer based on sphingosine, dihydrosphingosine and phytosphingosine, *i.e.*, Cer NS, Cer NdS and Cer NP, respectively [3].

Cer NH was prepared using alkynylation of (*S*)-Garner aldehyde with protected (*R*)-pentadec-1-yn-3-ol as a key step. The triple bond was reduced by modified Trost hydrosilylation/protodesilylation. The prepared Cer NH was incorporated in model stratum corneum lipid membranes and compared with Cer NS, Cer NdS and Cer NP. Model membranes were composed of Cer/free fatty acids (C₁₆-C₂₄)/cholesterol/cholesteryl sulfate. Their permeability was assessed in Franz-type diffusion cells using the following permeability markers: flux of two model compounds (theophylline and indomethacin), electrical impedance and water loss through the membrane. To elucidate the mechanisms of Cer effects on skin permeability, their biophysical properties were investigated by infrared spectroscopy and X-ray powder diffraction.

The results showed that the individual skin Cer classes have unique properties and changes in their structure lead to differences in barrier function of model lipid membranes. We hypothesize that this apparent heterogeneity in chemical structure, permeability and biophysical properties helps the skin lipid barrier better resist external stressors.

This work was supported by the Czech Science Foundation (13-23891S) and Charles University in Prague (SVV 2016-260291).

[1] Novotny, J.; Hrabalek, A.; Vavrova, K. *Curr. Med. Chem.* 2010, 17(21), 2301-24.

[2] Kovacik, A.; Roh, J.; Vavrova, K. *ChemBioChem*. 2014, 15(11), 1555-62.

[3] Motta, S.; Monti, M.; Sesana, S.; Caputo, R.; Carelli, S.; Ghidoni, R. *Biochim. Biophys. Acta*. 1993, 1182(2), 147-51.

ROLE OF IRON IN THE THERAPY OF TUBERCULOSIS

OPLETALOVÁ VERONIKA, KUČEROVÁ-CHLUPÁČOVÁ MARTA

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;

opletalova@faf.cuni.cz

Iron is essential for almost all living organisms. It is a co-factor of important enzymes, where it can be bound in heme or can form Fe-S clusters [1]. On the other hand, high levels of free iron are toxic as it takes part in two step redox process that is known as Haber-Weiss reaction and leads to the formation of dangerous free radicals, especially the hydroxyl radical. Hence, iron absorption and distribution is strictly regulated [2].

Although iron is a common element it is not easily accessible for cells due to poor aqueous solubility of Fe(III) compounds at neutral pH. To get sufficient amounts of iron, organisms utilize siderophores – low molecular weight iron chelators with high affinity to Fe(III) ions. During infection, pathogenic microorganism, including mycobacteria, must compete with the host cells for iron and produce siderophores to withdraw iron from host heme and proteins such as transferrin, lactoferrin and ferritin. Siderophores produced by mycobacteria include mycobactins, carboxymycobactins and exochelins [3].

On the other hand, host organisms use various mechanisms to deprive microorganisms from iron and other nutrients. This defence strategy is known as nutritional immunity. For intracellular pathogens it consists of iron export from the cells and reduction of intracellular Fe levels by means of transmembrane transporters, *e. g.* NRAMP1 (natural resistance-associated membrane protein 1), and other mechanisms [4]. From extracellular space, iron can be removed by transferrin, lactoferrin, siderocalin, haptoglobin and haemopexin. Siderocalin does not bind only free iron, but rather sequesters iron from iron-siderophore complexes [5].

It was also found that iron deprivation can increase susceptibility of mycobacteria to currently used antitubercular drugs [6].

Possible therapeutic strategies based on the above mentioned mechanisms include: i) use of iron chelators as antitubercular drugs or agents increasing mycobacterial susceptibility to existing drugs, ii) inhibition of mycobactin synthesis, iii) blockage of siderophore- and heme-bound iron transport, iv) blockage of siderophore recycling, v) use of synthetic siderophore analogues as competitors of natural siderophores, and vi) siderophore-mediated drug delivery [6, 7]

[1] BARUPALA, D. P.; DZUL, S. P.; RIGGS-GELASCO, P. J.; STEMMLER, T. L. Synthesis, delivery and regulation of eucaryotic heme and Fe-S cluster cofactors. *Arch. Biochem. Biophys.* **2016**, *592*, 60–75.

[2] MLADĚNKA, P.; ŠIMŮNEK, T.; HÜBL, M.; HRDINA, R. The role of reactive oxygen and nitrogen species in cellular iron metabolism. *Free Radical Res.* **2006**, *40*, 263–272.

- [3] RATLEDGE, C. Iron, mycobacteria and tuberculosis. *Tuberculosis* **2004**, *84*,110–130.
- [4] SOARES, M.; WEISS, G. The iron age of host-microbe interactions. *EMBO Rep.* **2015**, *16*, 1482–1500.
- [5] GANZ, T.; NEMETH, E. Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* **2015**, *15*, 500–510.
- [6] HAMEED, S.; PAL, R.; FATIMA, Z. Iron acquisition mechanisms: promising target against *Mycobacterium tuberculosis*. *Open Microbiol. J.* **2015**, *9*, 91–97.
- [7] MILLER, M. J.; ZHU, H.; XU, Y.; WU, C. *et al.* Utilization of microbial iron assimilation processes for the development of new antibiotics and inspiration for the design of new anticancer agents. *Biometals* **2009**, *22*, 61–75.

PHTHALOCYANINES AS RED-EMITTING FLUORESCENCE SENSORS

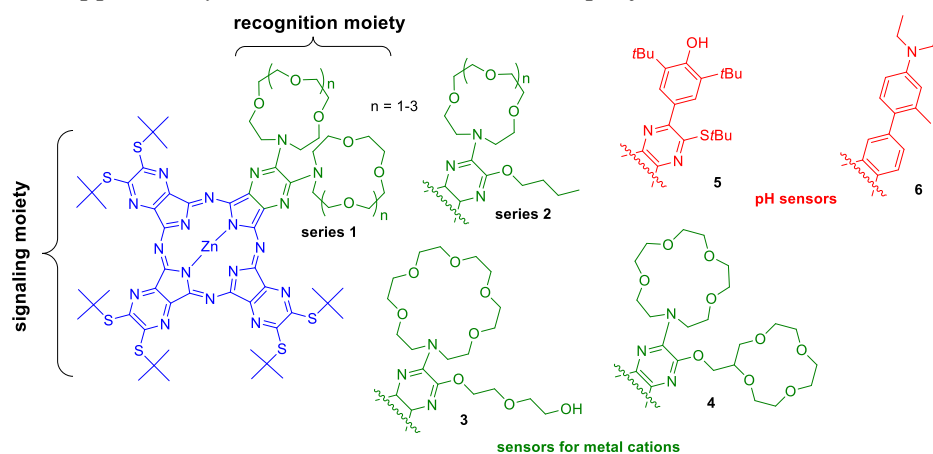
NOVÁKOVÁ VERONIKA, LOCHMAN LUKÁŠ, ZIMČÍK PETR

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05
Hradec Králové; veronika.novakova@faf.cuni.cz

Aza-analogues of phthalocyanines (AzaPc) from the group of tetrapyrazinoporphyrazines were recently found to behave as fluorescence sensors with good brightness and red-emission over 650 nm. The principle is based on the blocking/enabling of intramolecular charge transfer (ICT) that proceeds between a peripheral donor and AzaPc core that serves as an acceptor. ICT is responsible for quenching of the excited states leading to a non-fluorescent (OFF) state. ICT is blocked and sensor switches to its ON state upon binding of sensitive analyte. According to a donor moiety used, sensors for metal cations (**1-4**)[1], pH sensors for acidic (**6**) or basic (**5**)[2] range have been developed.

In the group of sensors to metal cations, an effort has been made to improve the selectivity towards one analyte only. Coronands, tweezer arrangement, cryptands, and lariat ethers have been utilized in the recognition moiety and the selectivity towards alkali and alkaline earth metal cations has been compared. Some of the sensors were further embedded into silica nanoparticles and sensing properties were studied in water. Interestingly, the tweezer arrangement improved selectivity towards potassium with $K_A = 82 \text{ M}^{-1}$ and $17\times$ increase of fluorescence even in the presence of (supra)physiological concentrations of Na^+ and Ca^{2+} [1].

The work was supported by Czech Science Foundation (project No. 14-02165P)



[1] Lochman L.; Svec J.; Roh J.; Lang K.; Kirakci K.; Zimcik P.; Novakova, V. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 2417-2426.

[2] Novakova V.; Laskova M.; Vavrickova H.; Zimcik P.; *Chem. Eur. J.*, **2015**, 21(41), 14382–14392.

DESIGN AND SYNTHESIS OF QUINAZOLINE DERIVATIVES ACTIVE AS CAR RECEPTOR AGONISTS

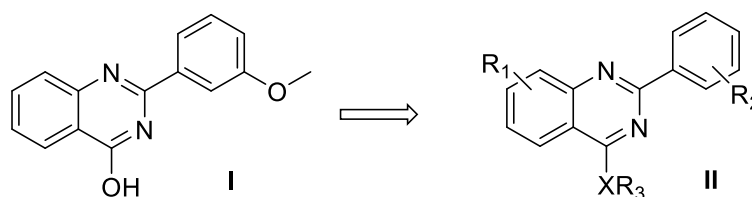
ŠPULÁK MARCEL ¹, HRUŠKOVÁ ZUZANA RANIA ¹, BALMAGAMBETOV DAULET ¹, PÁVEK PETR ²

¹ Department of Inorganic and Organic Chemistry, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic, spulak@faf.cuni.cz

² Department of Pharmacology and Toxicology, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic.

Constitutive androstane receptor (CAR) is a key regulator of xenobiotic and endobiotic metabolism. The unique properties of human CAR, such as its high constitutive activity, both direct (ligand-binding domain-dependent) and indirect activation have hindered the discovery of direct selective human CAR ligands.

As a result of random screening of quinazolines previously prepared as potential antituberculotics, we have revealed that 2-(3-methoxyphenyl)quinazoline-4-ol (**I**) can possibly represent a new CAR receptor ligand. After *de novo* synthesis¹ and preparation of set of derivatives easily accessed by simple modification of the heterocyclic scaffold, followed by the evaluation of their affinity to CAR receptor, we were able to determine the further ways of design leading to compounds possessing promising activity (**II**).²



This project was supported by Czech Science Foundation (15-07332S, 303/12/0472) and Charles University in Prague (GAUK 398315, SVV-260-291).

1. BANDGAR, B. P. *SYNTH. COMMUN.* **1997**, 27, 2065-2068.

2. SMUTNY, T.; NOVA, A.; DRECHSLEROVÁ, M.; CARAZO, A.; HYRSOVA, L.; HRUŠKOVÁ, Z. R.; KUNEŠ, J.; POUR, M.; ŠPULÁK, M.; PAVEK, P. *J. MED. CHEM.* SUBMITTED.

RECENT ADVANCES IN THE USE OF PHTHALOCYANINES IN PHOTODYNAMIC THERAPY

PETR ZIMČÍK, VERONIKA NOVÁKOVÁ, MILOSLAV MACHÁČEK

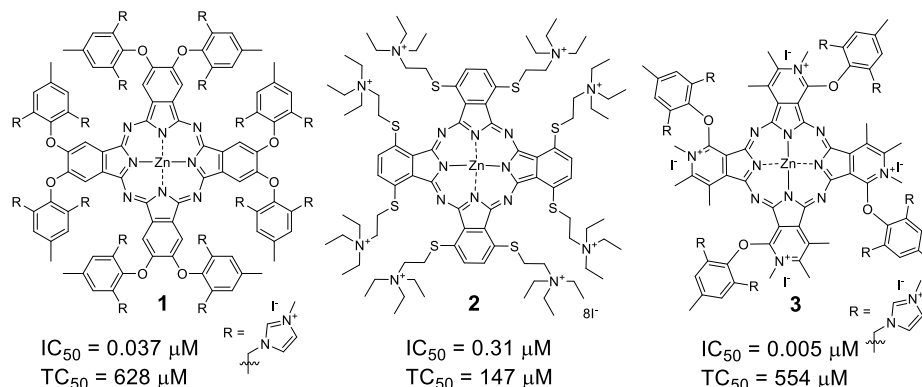
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05

Hradec Králové; zimcik@faf.cuni.cz

Phthalocyanines (Pcs) are widely studied photosensitizers in photodynamic therapy (PDT) with advantageous photophysical properties such as strong absorption in area close to or above 700 nm and strong singlet oxygen production. However, their planar hydrophobic core makes them water insoluble and prone to the aggregation that substantially decreases their potential in PDT. Introduction of cationic substituents on Pcs increases their water-solubility and, at the same time, may prevent efficiently the self-aggregation.

Introduction of the cationic substituents, in particular in the rigid arrangement like in **1**, decreased the aggregation and *e.g.* **1** was completely non-aggregating in water. It was reflected by high photodynamic activity with IC₅₀ values on HeLa cells about 37 nM with low toxicity in the dark (TC₅₀ = 628 μM). Detailed *in vitro* studies were performed for derivative **2** with more flexible linker to understand the mechanism of action of cationic Pcs on the subcellular level [1]. The experiments revealed that they are located in lysosomes leading to redistribution after irradiation with subsequent influence of other subcellular organelles with final destruction of the nucleus. Recent developments in synthesis of substituted tetrapyrroldiopyrroles allowed us to design compound **3** with rigid cationic substituents and quaternized nitrogens in the core that exerted interestingly high photodynamic activity with IC₅₀ in range of nanomols per liter. All studied compounds were significantly more active and less toxic in the dark than clinically used sulfonated aluminium Pc with trade name Photosens (IC₅₀ = 1.93 μM, TC₅₀ = 143 μM).

This work was supported by Czech Science Foundation (reg. No. 13-27761S).



[1] Machacek, M.; Cidlina, A.; Novakova, V.; Svec, J.; Rudolf, E.; Miletin, M.; Kucera, R.; Simunek, T.; Zimcik, P. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 1736.

PERSPECTIVES OF CHALCONE USAGE IN PREVENTION OF LONG-TERM COMPLICATIONS OF DIABETES

KUČEROVÁ-CHLUPÁČOVÁ MARTA¹, OPLETALOVÁ VERONIKA¹, ŠOLTÉSOVÁ PRNOVÁ MARTA², MÁJEKOVÁ MAGDALÉNA², ŠTEFEK MILAN²

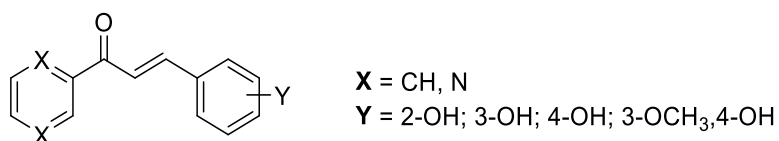
¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;

Marta.Kucerova@faf.cuni.cz

² Slovak Academy of Science, Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava

Long-term complications of *diabetes mellitus* can appear even in patients with compensated diabetes and are associated with hyperglycemia in insulin non-dependent tissue. Under hyperglycemic conditions, polyol pathway is activated in glucose metabolism and the rate-limiting enzyme in this pathway is aldose reductase (AKR1B1). Resulting accumulating sorbitol is associated with osmotic and oxidative stress and glycation of macromolecules.¹ From candidates inhibiting AKR1B1 under development, just epalrestat is marketed to combat diabetic neuro- and retinopathy.

As for the potential inhibitors, pyrazine derivatives as well chalcones (substituted 1,3-diphenylprop-2-en-1-ones) have been noticed.² A series of ring B-hydroxylated chalcones and their pyrazine analogues have been synthesized by Claisen-Schmidt condensation and tested on isolated rat lens aldose reductase. In the enzyme assay, they exerted IC₅₀ in the range 25–50 μM. Interaction of the most potent chalcones in the active site of the enzyme were discussed in accordance with results of *in-silico* molecular docking study.



Štefek, M. et al.: J. Med. Chem. 2015, 58, 2649–2657.

Grewal A. S. et al.: Mini-Rev. Med. 2016, 16, 120–162.

POSTERY

ZMENY V SEKUNDÁRNOM METABOLIZME *IN VITRO* KULTÚR *ESCHSCHOLTZIA CALIFORNICA* CHAM. PO ELICITÁCIÍ KYSELINOU SALICYLOVOU

BALAŽOVÁ ANDREA¹, URDOVÁ JÚLIA², BILKA FRANTIŠEK¹

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

balazova@fpharm.uniba.sk

² Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

Rastlinné sekundárne metabolity sú pre svoje terapeutické vlastnosti považované za unikátne látky. Ich produkcia v materských rastlinách však nie je vždy dostačujúca pre ich priemyselné použitie, preto sa hľadajú nové možnosti ich získavania. Jedným z biotechnologických nástrojov na dosiahnutie tohto cieľa je elicitácia *in vitro* kultúr (1). V práci sme použili *in vitro* kultúry *Eschscholtzia californica* Cham. elicitované abiotickým elicitorom kyselinou salicylovou vo finálnej koncentrácii 4 mg.l⁻¹ po dobu 24, 48 a 72 h. Účinok elicitácie sme hodnotili na základe dvoch parametrov, a to stanovenia obsahu koncových produktov sekundárneho metabolizmu *in vitro* kultúr sanguinarínu, dihydrosanguinarínu a chelerytrínu a miery expresie génov kódujúcich BBE, CYP719A2 a 4'OMT, enzýmov zapojených do biosyntézy benzofenantridínov.

Obsah alkaloidov v biomase *in vitro* kultúr závisel od dĺžky pôsobenia elicitora. Exogénne pridávaná kyselina salicylová podporila tvorbu sledovaných alkaloidov sanguinarínu, dihydrosanguinarínu a chelerytrínu, pričom ich najvyššie obsahy sme stanovili po 72 h elicitácii v porovnaní s neelicitovanými kultúrami. Najvyššiu hladinu génovej expresie pre BBE a CYP719A2 sme zaznamenali po 72 h elicitácie (8,54, resp. 4,42). V porovnaní s kontrolnou vzorkou (0,82, resp. 1,00) išlo o takmer 10,5-, resp. 4,5-násobné zvýšenie expresie génov pre tieto enzýmy. Expresia génov pre enzým 4'OMT sa v porovnaní s kontrolou zvýšila iba po 72 h pôsobení elicitora, a to 3,7-násobne.

1. Baenas, N., García-Viguera, C., Moreno, D.A.: Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules*, 2014, 19 (9), 13451-63.

ŠTÚDIUM ADHERENCIE POTENCIÁLNE PROBIOTICKÝCH LAKTOBACILOV NA EUKARYOTICKÉ BUNKY A HLIEN

BILKOVÁ ANDREA¹, FLOROVÁ BLANKA², KIŇOVÁ SEPOVÁ HANA¹, BILKA FRANTIŠEK¹, HOLKOVÁ IVANA¹, BŘEZINA VÍTEZSLAV³

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Kalinčiakova 8, 832 32 Bratislava; bilkova@fpharm.uniba.sk

² Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni, Biomedicínské centrum, Alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň

³ Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav komplexních systémů, Zámek 136, 373 33 Nové Hrady

Účinnosť probiotických mikroorganizmov v profylaxii a terapii niektorých ochorení potvrdili viaceré klinické štúdie 1, 2, 3. Okrem ochorení gastrointestinálneho traktu (GIT) sa jedná napr. o infekcie urogenitálneho traktu, alergické ochorenia, či choroby dýchacích ciest. Väčšina probiotík patrí k tranzitným organizmom, ktorých zotrvanie v GIT hostiteľa je časovo limitované. Schopnosť vybraných kmeňov adherovať na hlien a epitelové bunky je preto kľúčovým faktorom, ktorý predlžuje ich zotrvanie v GIT. Týmto mechanizmom sa sprostredkuje a prolonguje ich zdraviu prospešné pôsobenie na makroorganizmus na lokálnej aj systémovej úrovni.

V práci sme sa venovali detekcii génov zodpovedných za väzbu na hlien v genómoch ôsmich potenciálne probiotických kmeňov laktobacilov, pochádzajúcich zo živočíšnych zdrojov. Zároveň sme u vybraných laktobacilov sledovali ich spôsobilosť adherovať na ľudské a myšacie bunkové línie v podmienkach in vitro.

Alfaleh K. a [Anabrees J.](#): *Cochrane Database syst Rev* 4, 2014 doi: 10.1002/14651858.CD005496.pub4.
Hempel a kol.: *JAMA*. 307, 2012, 1959 – 1969.
Shen a kol.: *Inflamm Bowel Dis* 20, 2014, 21-35.

Práca bola podporená grantom APVV-0484-12.

ALKALOIDS FROM *NARCISSUS* CV. PROFESSOR EINSTEIN (AMARYLLIDACEAE) – ISOLATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY

BREITEROVÁ KATEŘINA¹, HOŠŤÁLKOVÁ ANNA¹, OPLETAL LUBOMÍR¹, KUNEŠ
JIŘÍ², CAHLÍKOVÁ LUCIE¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; breiterk@faf.cuni.cz

² Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Inorganic and Organic Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

More than 500 *Amaryllidaceae* alkaloids (AmA) have been detected in plants of many different species belonging to the *Amaryllidaceae* family. These alkaloids showed wide range of biological activities. They are isolated from plant material and tested for their possible use in treatment of various illnesses. The most important AmA is galanthamin which is already used in the treatment of Alzheimer's disease as an inhibitor of human erythrocytic acetylcholinesterase (HuAChE; $IC_{50, HuAChE} = 1.5 \pm 0.2 \mu M$)[1]. Some alkaloids display more biologic activities together. Active AmA serve as a template for a synthesis of series of semisynthetic analogues. Among the most widely used template AmA belong lycorine and haemanthamine.

From our previous screening on plants of *Amaryllidaceae* family, *Narcissus* cv. PROFESSOR EINSTEIN was chosen for detailed phytochemical work. Summary alkaloidal extract has been prepared from fresh bulbs (34.336 kg) and separated by column chromatography (Al_2O_3). Almost five hundred fractions were collected and, based on analytical TLC, pooled into 27 subfractions. Three substances were already obtained in crystalline form – isomer of hippeastrine, lycorine and haemanthamine, so far. Lycorine and haemanthamine have been already previously isolated at our department. They are currently used for the preparation of their semisynthetic analogues. Hippeastrine and other AmA which are supposed, according GC/MS analysis, to be isolated in future will be screened for their biologic activity e. g. inhibition of HuAChE and HuBuChE (human butyrylcholinesterase), POP (prolyl oligopeptidase), GSK 3 β (glycogen synthase kinase-3 β), AKR1C3 (aldo-keto reductase 1C3) and others.

The study has been supported by SVV 260 292.

1. He, M., Qu CH., Gao O., Hu X. a Hong X.(2015) *RSC Adv*, 21: 16562-16574.

LC-MS/MS method for analysis of novel potential cardioprotective drug D-MET and pilot pharmacokinetic study

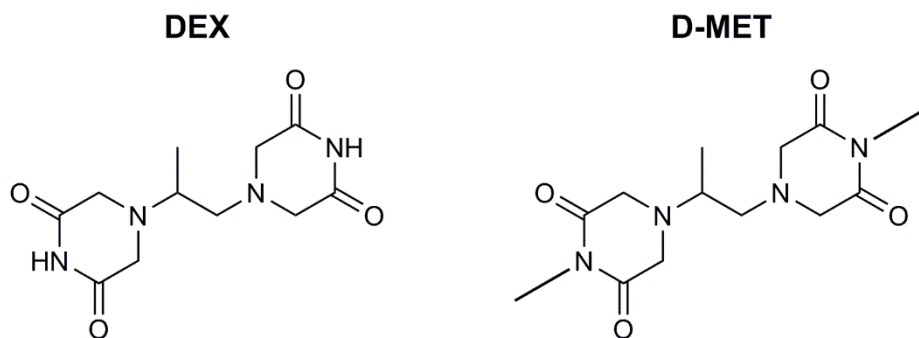
BURES JAN¹, SESTAK VIT¹, JIRKOVSKY EDUARD², KARABANOVICH GALINA³, ROH JAROSLAV³, STERBA MARTIN², KOVARIKOVA PETRA¹

¹Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis; ³Department of Inorganic and Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Charles University in Prague, Heyrovskeho 1203, 50005, Hradec Kralove

²Department of Pharmacology, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Charles University in Prague, Simkova 870, 50038, Hradec Kralove

burej7ba@faf.cuni.cz

Dexrazoxane (DEX) is currently the only clinically used drug to prevent anthracycline induced myocardial damage. Its mechanism of cardioprotective effect still remains unclear, but recent studies suggest that the key factor is depletion of topoisomerase II β isoform. Development of new and more effective analogues is complicated by the lack of structure-activity relationship knowledge. 4,4'-(propan-1,2-diyl)bis(1-methylpiperazin-2,6-dion)) (D-MET) is a new DEX analogue with only minor structural change. Analysis of its cardioprotective potential and pharmacokinetic parameters should bring new information about structure-activity relationship of novel derivatives and contribute to the future targeted development.



The aim of this study was: 1) to develop suitable LC-MS method to assess concentrations of D-MET and its two rings opened metabolite (DM-H2) in plasma and 2) to utilize the method for analysis of samples taken from a preliminary pharmacokinetic experiment in rabbits.

UHPLC Nexera coupled with triple quadrupole in ESI positive mode (LCMS-8030, Shimadzu) was employed in this study. All analyses were performed on a Synergi Polar-RP 100A (100 x 3.0 mm, 2.5 μ m) column (Phenomenex, USA). A mobile phase composed of 2 mM ammonium formate (A) and MeOH (B) was utilized in following gradient: 0.0 min (10%B) – 5.0 min (10%B) – 5.5 min (70%B) – 13.0 min (70%B) – 13.1 min (10%B) – 20.0 min (10%B). Dexrazoxane was used as an internal standard.

Plasma samples (100 μ l) were precipitated with 300 μ l of MeOH, vortexed and centrifuged. 250 μ l of resulted supernatant was diluted with water in 1:1 ratio and injected onto the column.

Developed method was validated according to FDA guideline for analysis of D-MET and DM-H2 in plasma within the concentration range of 1 to 100 μM . All validation parameters reached acceptable values. The method was applied for analysis of plasma taken from preliminary *in vivo* experiment, where D-MET was administered to rabbits (60 mg/kg, *i.p.*). Concentration-time profiles of D-MET and the metabolites resemble that of obtained previously for DEX. Therefore, this study suggests that this structural modification had no significant influence on pharmacokinetic parameters of the compound.

This study provided the first LC-MS/MS method for analysis of new potential cardioprotective drug (D-MET) in rabbit plasma. All acquired data will be utilized in further investigation aimed at understanding of mechanism of DEX cardioprotection and development of bisdioxopiperazine cardioprotective drugs.

This study was supported by the grant of Charles University – GAUK 1324214.

HODNOTENIE GLUTATIÓNU VOLTAMPÉROMETRICKÝMI METÓDAMI

DŽURINOVÁ RADKA ¹, PLÁNKOVÁ ALEXANDRA, MIKUŠ PETER

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava;*

dzurino3@uniba.sk

ÚVOD

Glutatión (GSH) patrí k tiolovým zlúčeninám. Je to neproteínový tripeptid – L-glutamyl-L-cysteinyl-glycín. Obsahuje jedinečnú peptidovú väzbu medzi aminoskupinou cysteínu a karboxylovou skupinou glutamylu.

GSH je prítomný prakticky vo všetkých ľudských tkanivách. GSH zohráva dôležitú úlohu v mnohých biologických procesoch a v ľudskom metabolizme vrátane ochrany voči oxidatívne stresu, detoxifikácii xenobiotík, bunkovej homeostázy a radiačnej ochrany. GSH je dôležitý pre zachovanie železa v hemoglobíne v jeho redukovanom stave a pre zachovanie integrity červených krviniek a je taktiež dôležitý kofaktor v ďalších biologických procesoch, ako napr. katabolizmus a transport. Zmeny jeho koncentrácie v biologických tekutinách alebo v tkanivách sú považované za dôležitý faktor niektorých závažných ochorení, ako napr. Parkinsonova a Alzheimerova choroba, diabetes, alkoholizmus, kardiovaskulárne ochorenia, poškodenie DNA báz, niektoré druhy rakoviny (napr. leukémia), tvorba kataraktov. Bolo tiež preukázané, že GSH spolu s L-cysteínom a homocysteínom sú používané v regulácii transkripčného génu zapojeného do patogenézy rakoviny, AIDS a aterosklerózy. Preto je dôležitý vývoj metód pre stanovenie tejto látky [1-3]. Jednu z nich reprezentujú elektrochemické metódy.

HODNOTENIE GLUTATIÓNU V BIOLOGICKÝCH VZORKÁCH

Z tabuľky vyplýva, že glutatión bol stanovovaný v biologických vzorkách — krv, moč, erythrocyty, plazma, sérum, sliny. Erythrocyty boli získané oddelením plazmy. Moč bol podrobený centrifugácii, pričom bol zozbieraný supernatant. Sliny sa neupravovali vôbec. Interferencie s koexistujúcimi zlúčeninami boli vo väčšine prípadov nižšie než 5 %, pričom najčastejšie bola sledovaná kyselina askorbová, z aminokyselín to boli alanín, fenylalanín, cysteín, leucín, ale aj histidín, metionín, valín, kyselina glutámová, ióny K^+ , Li^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , NH_4^+ , Cl^- , Br^- , F^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , NO_3^- , ale aj dopamín, epinefrín, glukóza, laktóza, sacharóza a močovina. Najčastejšie použitými metódami boli cyklická a square wave voltampérometria. Výhodou sú nízke limity detekcie a možnosť stanovenia glutatiónu priamo v biologických vzorkách. Voltampérometrickými metódami je možné stanoviť veľké množstvo vzoriek v relatívne krátkom čase, čo môže mať uplatnenie v klinickej praxi. Je možné rýchlo reagovať vyhodnotiť zmenený stav pacienta pri niektorých ochoreniach.

[1] ENSAFI A.A., KARIMI-MALEH H., MALLKPOUR S. A new strategy for the selective determination of glutathione in the presence of nicotinamide adeninedinucleotide (NADH) using a novel modified carbon nanotube paste electrode. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2013. 104. 189-193.

- [2] KLEINMAN W.A., RICHIE J.P, Jr. Status of glutathione and other thiols and disulfides in human plasma. *Biochemical pharmacology*. 2000. 60. 19-29.
- [3] KARIMI-MALEH H. et al. A novel biosensor for liquid phase determination of glutathione and amoxicillin in biological and pharmaceutical samples using a ZnO/CNTs nanocomposite/catechol derivative modified electrode. *Journal of molecular liquids*. 2014. 196. 258-263.

TOWARDS THE SYNTHESIS OF LARGAZOLE

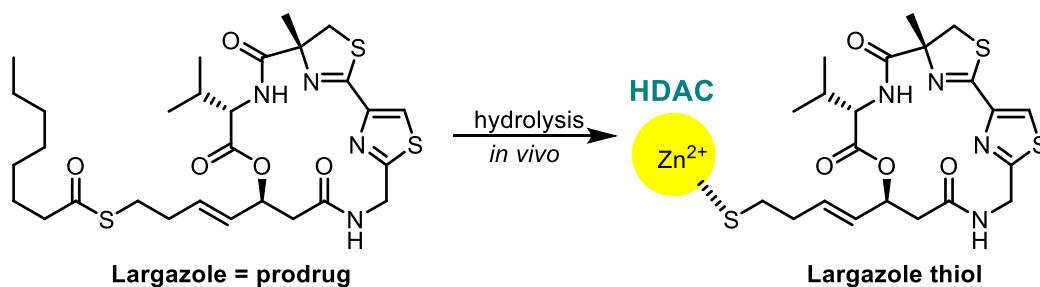
FAUSTMANNOVÁ ANNA*, BABEJOVÁ KRISTÝNA, FEDOR MICHAL, JURÍK ALEXANDER, PÍŽOVÁ HANA, BOBÁL' PAVEL

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Pharmacy, Department of Chemical Drugs, Palackého 1, 612 42 Brno, Czech Republic

*Corresponding author. Email: f14038@vfu.cz

Introduction

Largazole – the cyclic depsipeptide isolated by Luesch and co-workers the first time in 2008 from a cyanobacterium of the genus *Symploca* sp. from the area Key Largo, Florida, USA, is a marine natural product with an interesting chemical scaffold. It efficiently and selectively inhibits class I histone deacetylases (HDACs), it is a potent and selective cytotoxic agent active against human cancer cell lines.¹ Nowadays it is the strongest natural HDAC inhibitor at all. Largazole itself is a prodrug that can be converted into its active metabolite largazole thiol which chelates zinc, and thereby inhibits the enzyme histone deacetylase (HDAC).²



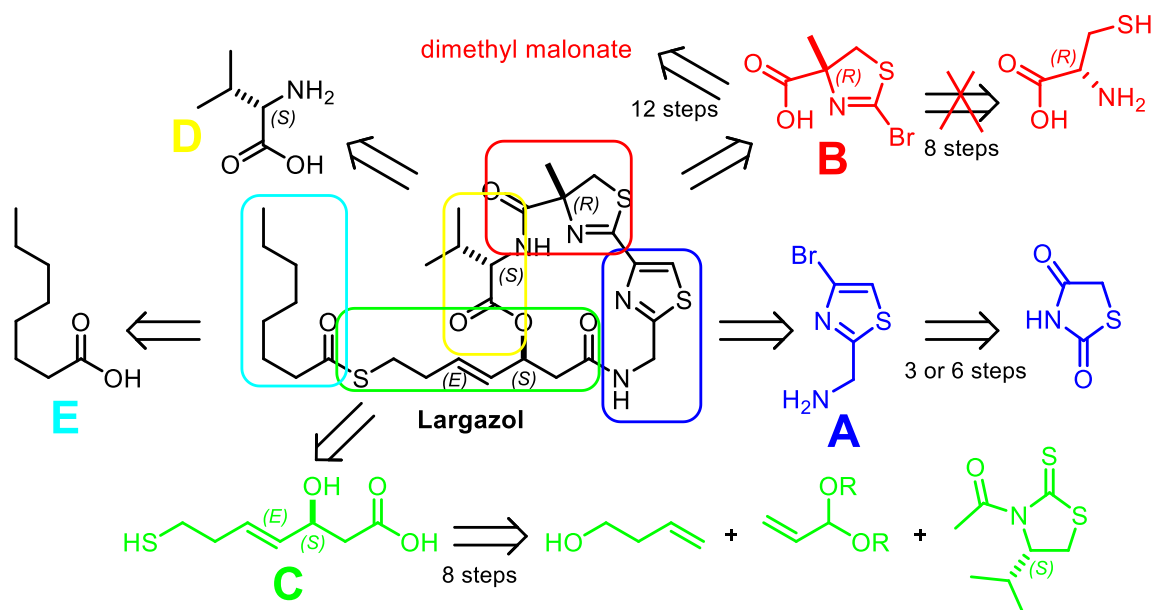
The fascinating structure and biological activity of largazole attracted great interest from the community of synthetic chemists to develop synthetic routes to largazole and explore its potential as an anti-cancer drug.

Experimental methods

All of the products and intermediates were characterized by ¹H, ¹³C NMR, IR and high resolution mass spectrometry. The purity of chiral compounds was determined by chiral HPLC and/or by specific rotation.

Results and discussion

An efficient and highly stereoselective approach towards the largazole precursors is described. The molecule of the largazole could be divided into five synthons. Synthons D and E are commercially available. The other synthons have been prepared by multistep synthesis from available starting materials and herein, we report the results of our pioneering work. The synthesis of synthon A has been successfully achieved from 1,3-thiazolidine-2,4-dione in three steps.



During the preparation of enantiomerically pure synthon B where the starting (*R*)-cysteine was first in two steps transferred into *N*-fomyl-*tert*-butylthiazolidine derivative and later enantioselectively methylated, undesired β -elimination was observed. Therefore the synthesis of this synthon was carried out from dimethyl malonate via *N*-Boc protected *C*-methylated aminomalonate followed by enantioselective enzymatic desymmetrization catalyzed by PLE. After the reduction of an ester function of monoacid to the hydroxyacid and Mitsunobu reaction chiral oxetan-2-one was isolated. It can be cleaved by addition of hydrogen sulfide to lead enantiopure 2-methylcysteine. Synthon B can be prepared by subsequent cyclization to 2-aminodihydrothiazole derivative followed by diazotization and nucleophilic substitution. For the formation of the carbon chain of synthon C the sequence of olefin metathesis, and the Lewis acid catalyzed aldolization reaction of Nagao chiral thiazolidinethione auxiliary could be applied.³

Acknowledgements

This study was supported by IGA VFU Brno 327/2016/FaF.

References

- Taori, K.; Paul, V. J.; Luesch, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 1806 – 1807.
 Hong, J; Luesch, H. *Nat. Prod. Rep.*, **2012**, *29*, 449 – 456.
 Nagao, Y.; Fujita, E. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2391 – 2393.

UHPLC METHOD DEVELOPMENT FOR SEPARATION AND DETERMINATION OF SILYMARIN COMPOUNDS

J. FIBIGR¹, D. ŠATÍNSKÝ¹, P. SOLICH¹

¹ Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University,
Heyrovského 1203, Hradec Králové, Czech Republic;

fibigrja@faf.cuni.cz

A new ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) method using core-shell column with F5 (pentafluorophenyl) stationary phase for separation of seven compounds of *Silybum marianum* extract was developed and used for determination of these substances in samples of food supplements and herbal tea preparations. Silymarin, the extract of *Silybum marianum* is known for its protective abilities of the liver from toxic substances. Separation of seven silymarin compounds (4 isomers) and other substances occurring in real samples was performed on the core-shell column Kinetex F5 (150 × 2.1 mm), particle size 1.7 μm, with mobile phase consisting of methanol and 0.1M phosphate buffer with pH 2.0 according to the gradient program at a flow rate of 0.35 mL min⁻¹ and with detection wavelength 288 nm. The column temperature was set at 50 °C. Under the optimal chromatographic conditions good linearity of determination (regression coefficient $r^2 > 0.999$ for all compounds) was achieved. Samples of food supplements and herbal teas were extracted with 100% methanol using ultrasound bath for 10 min. An undissolved material was removed by centrifugation and subsequent filtration through 0.22 μm filter. A 2-μL of the filtered supernatant was directly injected into the UHPLC system. Accuracy of the method defined as a mean recovery was in the range 98.6-103.9% for all compounds. The intraday method precision was found satisfactory and relative standard deviations of sample analysis were in the range 1.33–4.70% (n=6). The use of F5 stationary phase with methanol as component of mobile phase showed a new approach to isomeric compounds separation in complex matrices, such as food supplements. To other advantages of this method belongs high sample throughput during sample preparation process and short time (10.5 min) of analysis.

The authors are grateful to the Charles University, grant project no. GAUK 181216 and they would like to acknowledge financial support of the project of specific research, project no. SVV 260 292.

SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF N-(SUBSTITUTED PHENYL)-2-HYDROXYNAPHTHALENE-1- CARBOXAMIDES

TOMÁŠ GONĚC¹, JIŘÍ KOS¹, ŠÁRKA POSPÍŠILOVÁ¹, JANA DOHÁŇŠOVÁ²,
MICHAL ORAVEC³, TIBOR LIPTAJ², JOSEF JAMPÍLEK¹

¹ Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého 1, 612 42 Brno, Czech Republic; tgonec@vfu.cz

² Department of NMR spectroscopy and mass spectrometry, Faculty of chemical and food technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava Slovakia

³ Global Change Research Institute CAS, Bělídla 986/4a, 60300 Brno, Czech Republic

Recent studies have shown that, despite antibacterial therapy, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections are still associated with serious clinical consequences, especially treatment failure, higher morbidity and mortality, prolonged hospitalization, increased health care costs, *etc.* Activity against MRSA is of a great importance in the new generation of antibacterial agents because of the worldwide increasing prevalence of this pathogen, more frequent antibiotic resistance to available anti-MRSA drugs, their toxicity and general lack of oral agents¹⁾. Some recently published derivatives with methyl-, methoxy-, halogen-, trifluoromethyl- and nitro- substitution showed promising activities.²⁾³⁾ The aim of recent work was to synthesize series of *N*-(phenyl)-2-hydroxynaphthalene-1-carboxamides with more substituents on anilide fragment (Fig. 1). 60 compounds with di-, tri-, tetra- and penta-substituted anilide ring were prepared according to well-approved microwave-assisted synthetic method²⁾. The identities of compounds were confirmed by ¹H and ¹³C NMR, HRMS and IR spectroscopy. *In vitro* antibacterial activity of the studied compounds was evaluated against three clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA 63718, MRSA SA 630 and MRSA SA 3202). *S. aureus* ATCC 29213 was used as reference and quality control strain. Preliminary results showed that certain derivatives have comparable or even higher MIC than standards ciprofloxacin and ampicillin.

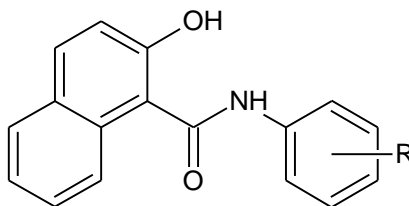


Fig. 1 Studied compounds. R: Me, MeO, F, Cl, Br, CF₃, NO₂

This study was supported by IGA VFU Brno 311/2016/FaF and Slovak Grant Agency VEGA 1/0770/15. The HPLC/HRMS system forms a part of the National Infrastructure CzeCOS (LM2015061); M.O. was supported by NPU I (Grant No. Lo1415).

References

1. Goněc, T. et al. *Molecules* **2015**, *20*, 9767-9787.
2. Goněc, T. et al. *Molecules* **2013**, *18*, 9397-9419.
3. Goněc, T. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6531-6541.

SYNTHESIS OF PROTEIN KINASE INHIBITORS AS NEW POTENTIAL ANTIMYCOBACTERIAL AGENTS

MARKÉTA HAVELKOVÁ¹, ANNA FAUSTMANNOVÁ¹, ŠÁRKA POSPÍŠILOVÁ^{1,2},
ALOIS ČÍŽEK², JOSEF JAMPÍLEK¹, PAVEL BOBÁL¹, HANA PÍŽOVÁ¹

¹ Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého 1, 612 42 Brno, Czech Republic; f14042@vfu.cz

² Department of Infectious Diseases and Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého 1, 612 42 Brno, Czech Republic

Introduction

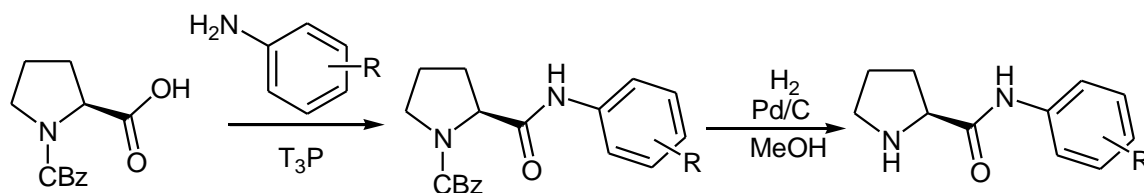
Protein kinase is an enzyme that catalyses transfer of phosphate groups and influences vital processes of eukaryotes and prokaryotes. Commonly used inhibitors of tyrosine kinase and other kinases (such as serine, threonine and proline kinases) show specific activity on prokaryotes, which can cause inhibition of proliferation. Synthesis and characteristics of rationally designed structures of substituted *N*-phenylpyrrolidine-2-carboxamide are described. These newly synthesized compounds are tested as agents with especially antimycobacterial effect.

Experimental methods

All the synthesized compounds were characterized by NMR, LC-MS and IR and screened against mycobacterial strains¹.

Results and discussion

In the first step, commercially available 1-[(benzyloxy)carbonyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid was transformed into appropriate anilide by reaction with a wide variety of substituted anilines (R=H, OH, CH₃, OCH₃, F, Cl, Br, CF₃, NO₂). This one-step reaction is provided in the presence of T3P as a catalyst². The products are isolated with high yields and high purity. Removal of the protecting group was carried out by hydrogenation using 10% Pd/C catalyst in methanol³.



The evaluation of the *in vitro* antimycobacterial activity of the compounds was performed against *Mycobacterium marinum* CAMP 5644, *M. kansasii* DSM 44162 and *M. smegmatis*

ATCC 700084 as model fast- or slow-growing species of pathogens used in laboratory studies¹. Based on the results it can be concluded that lipophilic and electron-withdrawing substituents on C'(3) and C'(4) positions of the anilide ring are essential for antimycobacterial activity.

Acknowledgements

This study was supported by IGA VFU Brno 315/2016/FaF and 311/2016/FaF.

References

1. Goněc, T.; Kos, J.; Zdražilová, I.; Bobál, P.; Kollár, P.; Král'ová, K; Čížek, A; Jampílek, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6531.
2. Pížová, H.; Bobál, P. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2014.
3. Rhyoo, H.Y.; Yoon, Y.A.; Park, H.J.; Chung, Y.K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5045.

EFFECT OF ELICITATION AND INHIBITION OF LIPOXYGENASE ENZYME ON THE PRODUCTION OF SANGUINARINE IN OPIUM POPPY CULTURES

HOLKOVÁ IVANA¹, BALAŽOVÁ ANDREA²

¹ Comenius University in Bratislava, Faculty of Pharmacy, Department of Cell and Molecular Biology of Drugs, Kalinčiakova 8, 832 32 Bratislava, Slovakia; holkova@fpharm.uniba.sk

Elicitation is a biotechnological method based on the signal (elicitor) induced expression of defense-related genes, which subsequently results in increased synthesis of secondary metabolites. In our study we used this method to investigate the role of lipoxygenase signaling pathway in the production of sanguinarine, the major secondary metabolite of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) cultures.

Opium poppy cultures were treated with an abiotic elicitor - salicylic acid. The effect of different concentrations (0,2 - 10 mmol/l) and exposure time (24, 48 or 72 h) were investigated. Opium poppy cultures responded to elicitor treatment with strong increase of lipoxygenase enzyme activity followed by sanguinarine accumulation. Sanguinarine accumulated to maximal levels after 48 h of treatment with 800 $\mu\text{mol/l}$ salicylic acid ($101,27 \pm 0,98 \mu\text{g/g}$ dry cell weight), in which the sanguinarine content was 1,8 times higher than in the control samples. The treatment of cells with phenidone (specific inhibitor of lipoxygenase) before elicitor addition, reduced the sanguinarine biosynthesis.

The research was supported by the Slovak Research and Development Agency (Contract No. APVV-0484-12).

DESIGN AND SYNTHESIS OF NOVEL 3,4-DIARYLSUBSTITUTED FURANONES FOR GROWTH-INHIBITORY AND PRO-APOPTOTIC EFFECT AGAINST LEUKEMIA CELLS

HORKÝ P.¹, VORÁČOVÁ M.¹, VACEK J.², POUR M.¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; horkyp@faf.cuni.cz*

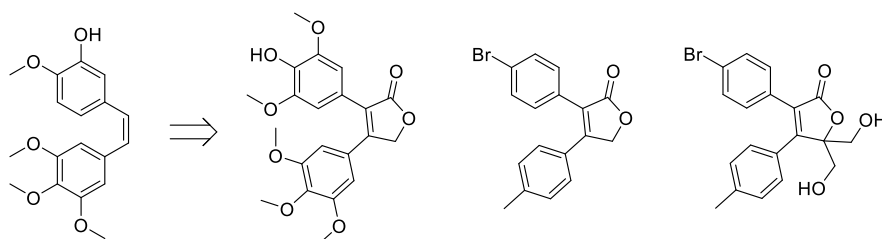
² *Univerzita Palackého, Lékařská fakulta Olomouc, Ústav lékařské chemie a biochemie, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, Czech Republic*

Herein we report the synthesis, derivatization and cytostatic activity evaluation of 3 libraries of α , β -diphenyl furanones.

The first library was derived from natural combretastatin. Since the *cis*-stilbene structural pattern as well as 3,4,5-trimethoxy substitution are essential for antitumor activity, the first library of molecules was characterized with high oxygenation of both phenyl rings.

In the second series of compounds, different substituents were attached. Furanones bearing halogen on C3 aromatic core and alkyl or alkoxy group on C4 were found to possess significant antineoplastic activity against human leukemia cancer cell lines. More specifically, several compounds proved to possess activity at the submicromolar range. Furthermore, the effect on healthy cell lines was also investigated. No toxicity was observed up to a concentration of 40 μ M in medium.

In order to increase the hydrophilicity of our analogs, the third library was developed by the introduction of two hydroxymethyl groups to the structure. Unfortunately, the activity of the obtained molecules was decreased.



Combretastatin A4

Example of 1st library
K562 (IC₅₀ > 50 μ M)

Example of 2nd library
K562 (IC₅₀ < 1 μ M)

Example of 3rd library
K562 (IC₅₀ > 50 μ M)

This work was supported by Charles University in Prague (GAUK 1906214, SVV 260 291) and Czech Science Foundation (15-073325).

PREPARATION OF BENZODIAZINES WITH BRONCHODILATORY ACTIVITY

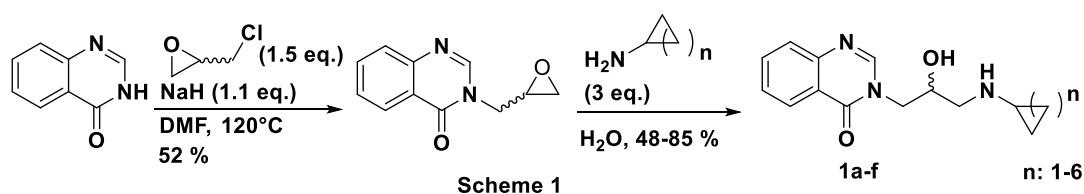
HRUŠKOVÁ Z. R.¹, VOPRŠÁLOVÁ M.², POUROVÁ J.², ŠPULÁK M.¹

¹ Department of Inorganic and Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

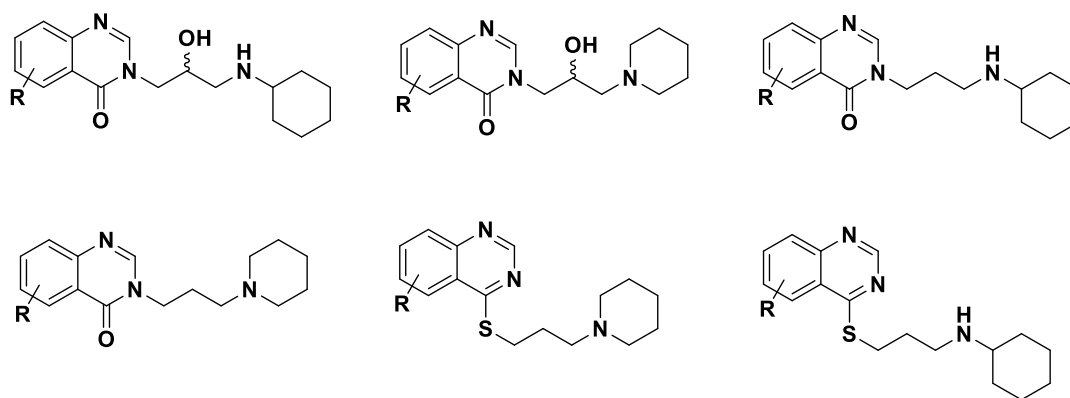
hrukovz@faf.cuni.cz

² Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Czech Republic

The most active bronchodilatory compounds from previous screening contained (piperidine-1-yl)propyl moiety attached to quinazoline ring^{1,2}. Another series of derivatives (**1a-f**) bearing hydroxyl group on the three-membered carbon linker were synthesized (**Scheme 1**).



We have selected the most active cyclohexylamine and piperidine fragment from the previous screening and further series of derivatives with substitution on A-cycle were synthesized (**Scheme 2**). Bronchodilatory activity was evaluated and the relationship between the biological effect and the prepared compounds will be discussed.



R: 6-Br, 7-Br, 7-Cl

Scheme 2

The study was supported by Charles University in Prague (GAUK 398315), SVV-260-291 and Czech Science Foundation (15-07332S).

1. Špulák, M., Novák, Z., Palát, K., Kuneš, J., Pourová, J., Pour, M.: *Tetrahedron*, 69, **2013**, 1705–1711.
2. Špulák, M., Pourová, J., Vopršálová, M., Mikušek, J., Kuneš, J., Vacek, J., Ghavre, M., Gathergood, N., J., Pour, M.: *Eur. J. Med. Chem.* 74, **2014**, 65-72.

ISOLATION OF ALKALOIDS FROM *NARCISSUS* CV. DUTCH MASTER AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

HULCOVÁ DANIELA¹, CHLEBEK JAKUB¹, OPLETA LUBOMÍR L¹, KUNEŠ JIŘÍ², CAHLÍKOVÁ LUCIE¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

hulcovd@faf.cuni.cz

² Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Department of Inorganic and Organic Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

Alzheimer's disease (AD) is one of the most frequent causes of dementia in the world. Deficit of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) in the cortex participates on the development of the AD, which results in the damage of cholinergic functions, and this is responsible for the memory loss. Acetylcholinesterase (AChE) is enzyme which hydrolyzes ACh and terminates process on nerve impulse transmission. Second important enzyme is butyrylcholinesterase (BuChE) which hydrolyzes ACh and another esters. The level of AChE decreases during AD but level of BuChE increases. This fact is the reason for looking at new substances with inhibition of activity against both cholinesterases. Today, inhibition of AChE is the most important goal in the treatment of AD.

Amaryllidaceae plant family is source for structurally unique compounds, Amaryllidaceae alkaloids. Some of these alkaloids show biological activities as anticancer, anticholinesterase and antiviral [1]. For this cause the Amaryllidaceae family is interesting goal in searching for active substances with various biological activities. Galanthamine, an Amaryllidaceae alkaloid is already used as inhibitor of AChE in therapy of AD.

The summary ethanolic extract was prepared from the fresh bulbs of *Narcissus* Dutch Master L. More than three hundred fractions were collected by column chromatography (on Al₂O₃). Fractions were pooled into 16 subfractions. So far, seven pure alkaloids have been isolated. The isolated compounds were identified as homolycorine, seco-isopowellaminone, lycorenine, oduline, masonine, haemanthamine and tetrahydromasonine by comparison with the literature data and results of MS and NMR studies. The alkaloids are screened for their biological activities (the inhibition activity against HuAChE and HuBuChE, prolyl oligopeptidase (POP), glycogen synthase kinase-3 β (GSK 3 β), aldo-keto reductase 1C3 AKR1C3).

The study has been supported by SVV 260 292

1. Havlasová J, Šafratová M, Siatka T, Štěpánková Š, Ločárek M, Opletal L, Hrabínová M, Jun D, Benešová N, Novák Z, Kuneš J, Cahlíková L (2014) Nat. Prod. Commun. **9**: 1151-1155

MICROWAVE-ASSISTED SYNTHESIS OF NOVEL PYRAZINAMIDE DERIVATIVES AND DETERMINATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

JANĎOUREK ONDŘEJ¹, KONEČNÁ KLÁRA², PATEROVÁ PAVLA³, DOLEŽAL
MARTIN¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; jando6aa@faf.cuni.cz

² Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

³ Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 50005 Hradec Králové

Although the total number of new tuberculosis (TBC) cases is slowly falling since 2006, there are reasons that change TBC into one of the most dangerous infectious disease in the world. The most burning problem is resistance to current antimycobacterial therapy. In connection with HIV infection, it makes tuberculosis spreading very quickly and easily. These circumstances result in efforts to find novel active substances, which can fulfil all the requirements for modern medication.

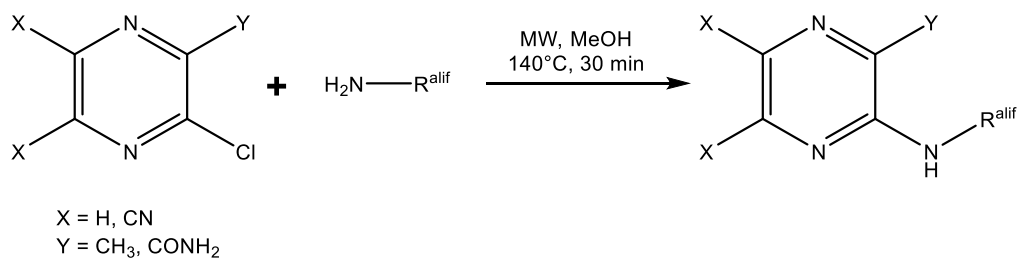
Our working group is dealing with the synthesis of potentially active compounds derived from pyrazinamide, respectively pyrazincarboxylic acid. This small molecule is counted among the first line antitubercular agents with the ability to shorten the therapy time up to three times. It is also very suitable for chemical modification due to pyrazine ring's unique properties.

Two starting compounds (5-chloro-6-methylpyrazine-2,3-dicarbonitrile and 3-chloropyrazine-2-carboxamide) were prepared according to previously published procedures^{1,2} and after purification they were treated with aliphatic amines to yield *N*-substituted products. Aminodehalogenation reactions were performed using the microwave reactor with focused field. The conditions were set experimentally.³

Every molecule was purified and characterized by NMR and IR spectroscopy, elemental analysis, and melting point and also by lipophilicity parameters.

Biological assays were divided into 3 parts. The first assay was focused on potential activity against *Mycobacterium smegmatis* strain. Other screening was performed against human pathogenic mycobacteria – *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium*. Isoniazid was used as standard in both probings. Last testing was targeted on antibacterial and antifungal activities using 8 bacterial strains and 8 fungal stems.

The most potent molecules were also tested for their cytotoxicity. Structure-activity relationships were determined according to the results of biological assays.



This work was supported by SVV 260 291 and also by Grant Agency of Charles University project B-CH/1594214.

¹ DLABAL, K.; PALAT, K.; LYCKA, A.; ODLEROVA, Z. Synthesis and ¹H and ¹³C NMR Spectra of Sulfur Derivatives of Pyrazine Derived from Amidation Product of 2-Chloropyrazine and 6-Chloro-2-pyrazinecarbonitrile. Tuberculostatic Activity. *Collect. Czech Chem. Commun.*, **1990**, 55, 2493-2500.

² TAKEMATSU, T.; SEGAWA, H.; MIURA, T.; ATAKA, T.; CHATANI, M.; NAKAMURA, A. 2,3-Dicyanopyrazines. U.S. Patent, 4.259.489, **1981**; p. 42.

³ JANDOUREK, O., KUNES, J., DOLEZAL, M. Microwave-Assisted Synthesis of Pyrazinamide Derivatives: the Coupling Reaction of 3-Chloropyrazine-2-Carboxamide and Ring-Substituted Anilines. *Curr. Org. Synthesis* **2015**, 12, 189-196.

PERSONALIZATION OF VANCOMYCIN THERAPY USING SIMPLE UHPLC-MS/MS METHOD IN VARIOUS BIOLOGICAL FLUIDS

JAVORSKÁ LENKA^{1,2}, KUJOVSKÁ KRČMOVÁ LENKA^{1,2}, SOLICHOVÁ DAGMAR², KAŠKA MILAN³, SOLICH PETR¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; javorski@faf.cuni.cz

² University Hospital Hradec Králové, 3rd Internal Gerontometabolic Clinic, Sokolská 581, 50005 Hradec Králové

³ Charles University in Prague, Medical Faculty, Academic Department of Surgery and University Hospital Hradec Králové, Surgical Department, Sokolská 581, 50005 Hradec Králové

The optimal antibiotic dosing is crucial for the successful antimicrobial treatment. Underdosing is associated with ineffective therapy or even an antibiotic resistance. This problem can occur especially in patients with large fluid sequestration when the levels of antibiotic in serum and tissue could be lower than is required.

Focus of our study was glycopeptide antibiotic vancomycin with narrow therapeutic index useful against gram-positive organism¹. The aim of this part of the project was to develop the UHPLC-MS/MS method for the determination of vancomycin in three different biological fluid – human serum, urine and effusion with a simple sample pretreatment.

For the chromatographic separation core-shell YMC Meteoric Core C18 BIO column, 2.7 µm particle size C18, 100 x 4.6 mm (YMC Europe GmbH, Germany) was used. The mobile phase was composed of 0.1% (v/v) formic acid in water and acetonitrile with 0.1% (v/v) formic acid in gradient elution mode. VCM and teicoplanin (internal standard) were determined by a triple quadrupole mass spectrometer with electrospray ionization source (LCMS 8030, Japan). Total time of analysis was 4.0 min. For all types of biological samples the simple protein precipitation pre-treatment method was applied. Only low volume (50 µL) of sample was required. The method was validated.

This new UHPLC-MS/MS method will be used for the determination of vancomycin levels in surgical patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) caused by multi-trauma or serious bacterial infection and accompanied with a large fluid sequestration.

¹ Martin, JH., Norris, R., Barras, M., Roberts, J., Morris, R., Doogue, M., Jones, GRD.: *Clin. Biochem. Rev.* 2010, 31, 21–24.

The work is co-financed by SVV 260 292 and IGA NT14089-3/2013.

ŠTÚDIUM ŠTRUKTÚRY A ADMET VLASTNOSTÍ ACE INHIBÍTOROV

PAVOL JEŽKO¹, PETRA JURKOVIČOVÁ¹

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava; jezko@fpharm.uniba.sk*

Renín-angiotenzín-aldosterónový systém je endokrinný systém, ktorý reguluje koncentráciu elektrolytov v organizme, objem cirkulujúcej plazmy, cievny tonus a tlak krvi. Zohráva ústrednú úlohu vo vývoji a progresii kardiovaskulárnych ochorení, a to najmä vo vývoji aterosklerózy a srdcového zlyhania. Dôležitou stratégiou liečby hypertenzie a iných srdcovo-cievnych ochorení je inhibícia tohto systému. Najpoužívanejšími liečivami blokujúcimi tento systém sú inhibítory angiotenzín konvertujúceho enzýmu. Blokujú premenu angiotenzínu I na vazokonstričný peptid angiotenzín II prostredníctvom inhibície angiotenzín konvertujúceho enzýmu. Angiotenzín konvertujúci enzým sa skladá z N a C domény a každá doména obsahuje od zinku závislé aktívne miesto. Súčasné ACE inhibítory inhibujú obe domény približne rovnako. Avšak, v posledných rokoch sa začal klásť dôraz na vývoj doménovo selektívnych inhibítorov ACE, ktoré by mohli mať lepší terapeutický profil než doterajšie ACE inhibítory. Cieľom práce bolo molekulové kotvenie C-doménovo selektívnych inhibítorov do aktívneho miesta tACE (kryštalová štruktúra 3BKK) v programe Glide (štandardná presnosť). Pomocou 2D a 3D vizualizácie boli vyhodnotené najdôležitejšie interakcie medzi ligandami a aminokyselinami v aktívnom mieste tACE. Molekulové kotvenie umožnilo predpovedať väzbové pózy a skóre skúmaných ligandov. Výsledné skóre ligandov bolo porovnané s experimentálne stanovenými hodnotami inhibičnej konštanty. Skúmané ligandy boli podrobené konformačnej analýze v programe ConfGen. Energeticky najvýhodnejšie konforméry C-doménovo selektívnych ACE inhibítorov boli vstupom pre výpočet ADME vlastností v programe QikProp a pre predpovedanie toxicity v programe VirtualToxLab. Zo skúmaných ligandov boli vybraté najperspektívnejšie s najvýhodnejšími ADMET vlastnosťami pre ďalší výskum.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: RAAS, C-doména ACE, Selektívne ACE inhibítory, Molekulové kotvenie, ADMET.

Podakovanie: Práca vznikla s podporou Grantu Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave FaF UK/28/2016.

BIOLOGICKÁ AKTIVITA SEKUNDÁRNYCH METABOLITOV DRUHU *COLEUS BLUMEI* BENTH.

JURKANINOVÁ SABÍNA, KUBÍNOVÁ RENATA

Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Farmaceutická fakulta, Ústav přírodních léčiv,

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno;

sabinajurkaninova@gmail.com

Rod *Coleus* (*Lamiaceae*) zahrňa viac ako 300 druhov rastlín pochádzajúcich z tropických a subtropických oblastí Filipín a Indonézie. Rastliny tohto rodu sú obľúbené pre svoje pestré sfarbené panašované listy.

Jedným z najvýraznejších je druh *Coleus blumei* Benth. (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.), bohatý zdroj látok flavonoidnej povahy, kyseliny rozmarínovej a diterpénov, tradične využívaný ako antiflogistický prostriedok v terapii opuchov, vredov a zápalov kože¹. Naša práca bola zameraná na izoláciu a identifikáciu sekundárnych metabolitov z methanolickeho a éterového extraktu. V rámci testovania biologickej aktivity bol zisťovaný vplyv izolovaných látok na mediátory zápalu zo skupiny reaktívnych foriem kyslíka a dusíka.

Z nadzemných častí sme získali surový methanolickeý extrakt, ktorý bol ďalej extrahovaný rozpúšťadlami o rôznej polarite. Pomocou preparatívnej HPLC sa z ethylacetátovej frakcie podarilo izolovať sedem čistých látok. Kyselina kávová, kyselina rozmarínová a luteolín-5-*O*-glukozid boli identifikované porovnaním so štandardmi a pomocou MS a FTIR spektroskopie. Doposiaľ nepopísané látky flavonoidnej povahy apigenín-5-*O*-(3'-*O*-acetyl)-β-D-glukuronid a apigenín-7-*O*-(3'-*O*-acetyl)-β-D-glukuronid boli identifikované pomocou NMR. Z éterového extraktu sa podarilo vyizolovať luteolín a nepetoidín B, ktorý je chemotaxonomický marker podčel'ade Nepetoidae, do ktorej tento druh zaradzujeme.

V rámci testovania biologickej aktivity bola zisťovaná zhášacia aktivita izolovaných látok voči reaktívnym formám kyslíka a dusíka, ktoré se dávajú do súvislosti s patológiou zápalu. Do štúdie bol zaradený peroxylový radikál, peroxyinitrit, peroxid vodíka a superoxidový radikál. Z výsledkov vyplýva, že predovšetkým kyselina rozmarínová a nepetoidín B vykazovali veľmi výraznú antioxidačnú aktivitu, ich hodnoty EC₅₀ sú porovnateľné so štandardom kvercetínom. Inhibíciu oxidačného stresu je teda možné zaradiť medzi jeden z mechanizmov prispievajúcich k protizápalovej aktivite druhu *Coleus blumei* Benth., ktorá je hojne využívaná v ľudovej medicíne.

Citácie:

NGUYEN, P. N. *Genetic, Molecular and Breeding Study of Coleus (Solenostemon scutellarioides (L.) Codd) During Growth and Development*: Dissertation thesis. University of Florida, 2007. 146 p.

STANOVENIE ACIDOBÁZICKÝCH DISOCIAČNÝCH KONŠTÁNT POTENCIÁLNYCH LIEČIV METÓDOU UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIE

KAPUSTÍKOVÁ IVA, MARUNIAK MATEJ

*Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie,
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava; kapustikova@fpharm.uniba.sk*

V práci boli stanovené acidobázické disociačné konštanty (pK_a) šiestich hydrochloridov alkylesterov kyseliny 4-[2-hydroxy-3-(piperazín-1-yl)-propoxy]-fenyلكarbámovej a 4-[2-(piperazín-1-yl)-1-hydroxyetyl]-fenyلكarbámovej s potenciálnym α - a β -adrenolytickým účinkom.

Stanovenie pK_a pomocou UV-Vis spektrofotometrie spočívalo v meraní absorbie študovaných látok ako funkcie pH prostredia – použitý bol systém vodných tlmivých roztokov podľa McIlvainea. Táto závislosť bola následne aproximovaná sigmoidálnou krivkou, pričom pK_a je hodnotou pH v inflexnom bode získanej sigmoidy. Disociačné konštanty namerané v prostredí tlmivých roztokov boli prepočítané na hodnoty zodpovedajúce vodnému prostrediu s nulovou iónovou silou.

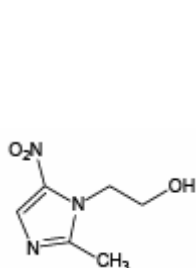
Kľúčové slová: acidobázická disociačná konštant, pK_a , UV-Vis spektrofotometria, aryloxyaminopropanoly, arylaminoetanoly

HODNOCENÍ MIKONAZOLU A METRONIDAZOLU V PŘÍPRAVKU POMOCÍ HPLC

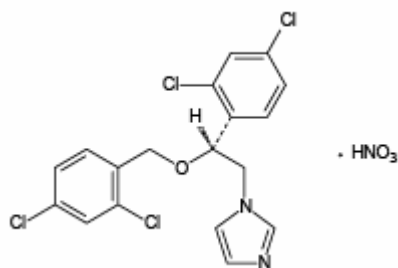
KASTNER PETR ¹, PILAŘOVÁ PAVLA ¹, LUCIE VONDRÁŠKOVÁ ¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; pilarova@faf.cuni.cz*

Předmětem této práce je vypracování a validace metody pro současnou analýzu metronidazolu a mikonazolu v přípravku pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Analyzován byl vzorek přípravku Klion D-100 (vaginální tablety) obsahující 100 mg metronidazolu a 100 mg mikonazol-nitrátu. Metronidazol a mikonazol jsou v ČR dostupné pouze v tomto jediném kombinovaném přípravku. Tato dvě léčiva patří do různých farmakologických skupin s různým spektrem účinku. Přípravek Klion-D 100 se využívá pro terapii ženské urogenitální trichomoniázy a kandidózy^{1,2}.

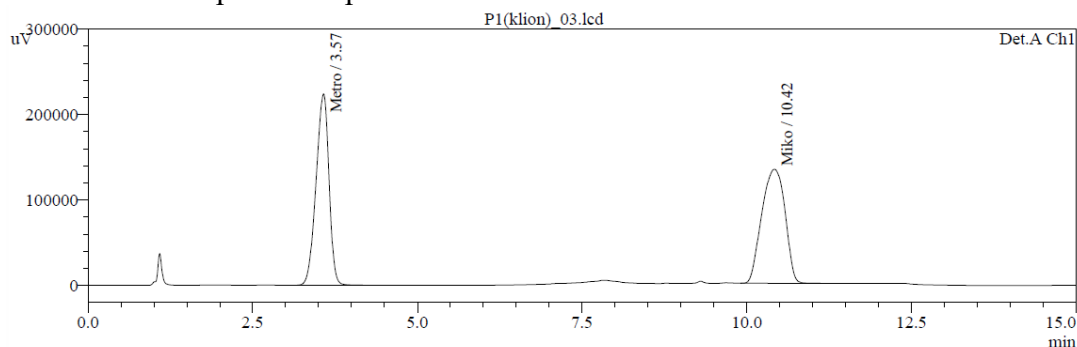


metronidazol



mikonazol-nitrát

Pro HPLC analýzu byla jako stacionární fáze použita kolona MERCK- LiChrosper 60 RP-select B 5 μm , 4 x 125 mm a jako mobilní fáze směs methanolu a pufru dihydrogenuhličitanu draselného v poměrech 80: 20 a 20: 80 (v/v) za použití gradientové eluce. Průtok byl nastaven na 1 ml/min. Vzorek byl nastříkovan v množství 10 μl při teplotě kolony nastavené na 25 °C. Detekce vzorků probíhala při vlnové délce $\lambda = 235 \text{ nm}$.



Vzorový chromatogram přípravku Klion-D 100

Vyvinutá metoda byla ověřena validací³. Z validačních charakteristik byla pro metronidazol a mikonazol měřena linearita- $R = 0,9998$ resp. $R = 0,9996$, přesnost- $RSD = 1,35 \%$ resp. $RSD = 1,67 \%$, správnost- výtěžnost $98,63 \%$ resp. $99,78 \%$ a selektivita. Výsledky všech validačních parametrů byly vyhovující. Metodu lze využít pro kontrolu obsahu, hodnocení disoluce nebo pro hodnocení stejnoměrnosti metronidazolu a mikonazolu v kombinovaném přípravku.

1.LINCOVÁ, Dagmar a FARGHALI, Hassan. Základní a aplikovaná farmakologie. Praha : Galén, 2007. 9788072623730.

2.SPC, 54/ 788/92-S/C. Souhrn údajů o léčivém přípravku-Klion-D 100mg. [Online] 19. Listopad 2014.

3.ICH- INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. www.ich.org. Validation of analytical procedures Q2(R1). [Online] 2005. [Citace: 18. březen 2016.]

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.

Tato práce vznikla za podpory projektu SVV 260 291

PREPARATION AND OPTIMIZATION OF THIN FLAT POLYSULFONE MEMBRANE USED IN MINIATURIZED HEMODIALYSIS SYSTEM TO SEPARATE BIOMOLECULES

KOHLVÁ MICHAELA ^{1,2}, ARAÚJO ALBERTO ², AMORIM CÉLIA ², SOLICH PETR ¹, SANTOS SILVA ALICE ³, MONTENEGRO CONCEIÇÃO ²

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic; kohlm5aa@faf.cuni.cz

² University of Porto, Faculty of Pharmacy, REQUIMTE Department of Applied Chemistry, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal.

³ University of Porto, Faculty of Pharmacy, REQUIMTE Department of Biological Sciences, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal.

Polysulfone (PSf) membranes are used in various fields of industries to separate broad spectrum of molecules. Nowadays one of the main application of PSf membranes is hemodialysis. The advantage of using this polymer for blood purification is the higher biocompatibility and the greater ability to remove a wide range of uremic toxins, in comparison with formerly used cellulose based membranes. However PSf membrane clearance ability for middle size uremic toxins, such as β 2-microglobulin is so far insufficient. Due to the natural hydrophobic character, the PSf membrane is prone to fouling of proteins on its surface, which may significantly influence the membrane molecular removal efficiency. Moreover, the removal efficiency is also crucially dependent on the membrane porosity, pore size, and the pores distribution [1]. To control the membrane characteristics, hydrophilic polymers can be added to the PSf casting solution [2].

In the present work, the mini-scale hemodialysis system was developed to evaluate the biomolecules permeability of PSf membranes prepared with different composition and under different conditions. The effect of additive polyethylene glycol (PEG) 6000, 20000, 35000 g/mol on the flat PSf membrane solute removal characteristics was then evaluated, as well as the impact of the different humidity conditions during the membrane preparation on its structure.

The thin flat sheet membrane was obtained by phase inversion technique, in which the casting solution was composed of PSf, N-methylene-2-pyrrolidone as solvent and PEG as additive. The membrane was prepared by using a spin coater and was conditioned for two minutes in controlled humidity environments. Deionised water was used as coagulation bath. The evaluation of membrane solutes removal was performed by permeation study using urea (MW 60 Da), lysozyme (MW 14 kDa) and bovine serum albumin (MW 60 kDa). To mimic the conditions of hemodialysis, the mini-module was fabricated from polydimethylsiloxane as a channel network and subsequently treated with plasma in order to increase wettability. Two closed circuits were separated by PSf membrane and connected to a peristaltic pump by PVC tubing.

The membranes prepared with PEG 20000 showed better results concerning to reproducibility when compared with PEG 35000 and PEG 6000. Moreover membranes prepared with PEG 20000 had better permeability adjustment for hemodialysis use then membranes prepared with PEG 35000 and PEG 6000. The environment humidity conditions had significant effect on pore formation during polymerization phase, leading to different biomolecules permeability of the PSf membrane. Preliminary results showed that the angular velocity during the membrane deposition has important effect on biomolecules permeability through the membrane.

Acknowledgements: This work was supported by the Grant Agency of the Charles University in Prague, project GA UK No. 860216.

1. Clark, W.R.; *Effect of membrane composition and structure on solute removal and biocompatibility in hemodialysis*. *Kidney Int*, **1999**. 56(6): p. 2005-15.
2. Chakrabarty, B.; *SEM analysis and gas permeability test to characterize polysulfone membrane prepared with polyethylene glycol as additive*. *J Colloid Interface Sci*, **2008**. 320(1): p. 245-53.

QSAR AND PROPOSITION OF NEW ANTICANCER DRUGS - HISTONE DEACETYLASE 4 INHIBITORS

KOLLÁR JAKUB^{1,2}, POLONEC PETER³, FREČER VLADIMÍR³

¹ Comenius University in Bratislava, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Department of Nuclear Physics and Biophysics, Mlynská Dolina, 842 48 Bratislava; kollar@fpharm.uniba.sk

² Comenius University in Bratislava, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Analysis and Nuclear Pharmacy, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

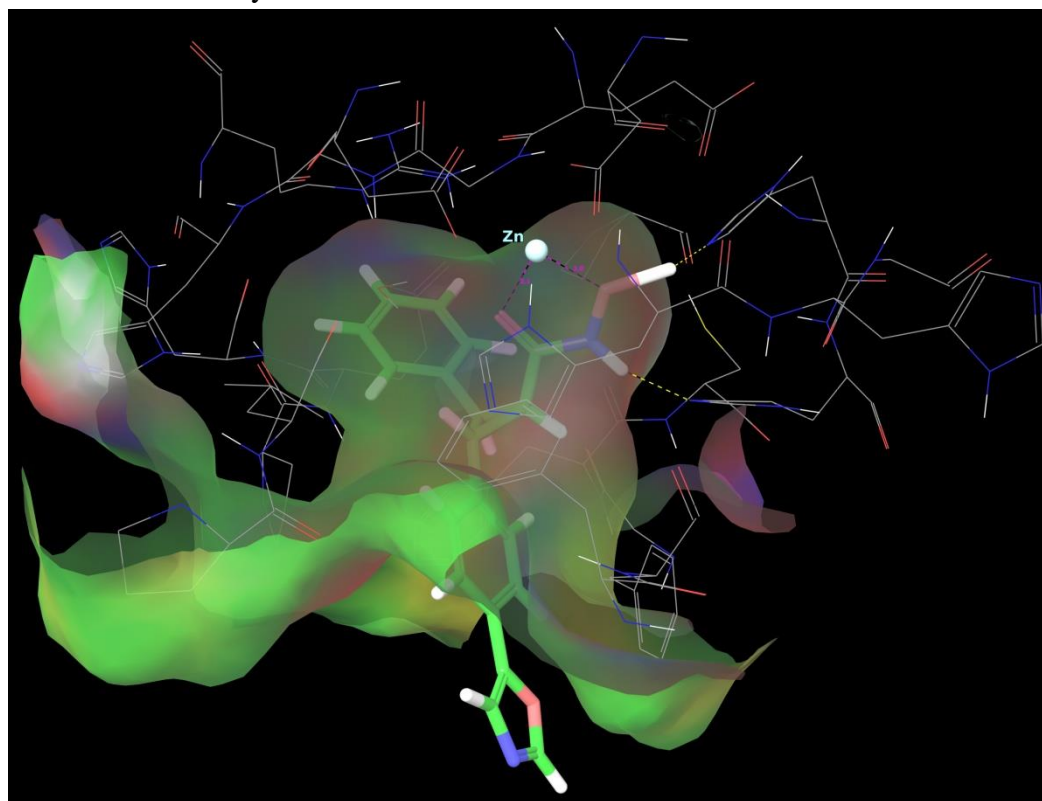
³ Comenius University in Bratislava, Faculty of Pharmacy, Department of Physical chemistry of Drugs, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

In the course of the past century, mankind have come into contact with numerous carcinogens and viruses as well as increased life expectancy. These facts contribute to elevated risk of cancer development and increased cancer incidence. Tissues and cells live longer, experience more stimuli and over time may develop mutations, activate different oncogens and amend specific cellular pathways regulating cell function and survival, resulting in tumorigenesis. Nevertheless, current cancer therapy is not sufficiently broad nor specific, tumors often relapse and develop resistance to previously used anticancer agents. Therefore, development of new cancer therapeutics is still of great importance. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors represent new class of anticancer therapy [1]. HDAC isoforms are involved in regulating gene expression by means of acetylating lysine residues on histone tails. Such epigenetic regulation silences or enhances transcription of specific genes. Intriguingly, tumor cells are more responsive on HDAC inhibitor treatment than normal cells and it was shown that HDAC inhibition silences expression of several oncogens. There are 11 human HDAC isoforms, each having specific roles in specific cancers.

In this contribution, we have focused on HDAC4 inhibitors. HDAC4 plays important roles in renal carcinoma, several breast cancers and acute promyelocytic leukemia and its inhibition slows down angiogenesis [2]. We have computationally explored chemical space around trisubstituted diarylcyclopropanehydroxamic acids, more specifically inhibitors similar to those synthesized by Bürli *et al.* [3].

We have created three different quantitative structure-activity relationship (QSAR) models that correlated calculated interaction energy with experimental inhibitory activities ($pIC_{50\text{ exp}}$) of the synthesized molecules [3]. First QSAR model was based on molecular docking. The second on calculation of interaction energy between ligand and receptor by means of molecular mechanics. The third and most robust method was based on molecular dynamics simulations. This method considers full conformational flexibility of the enzyme's active site after inhibitor binding. Afterwards, combinational library of 4992 analogues similar to the molecules synthesized by [3] was created and docked into the crystal structure of HDAC4. 15 analogues

that showed the best predicted inhibitory activities based on the docking score were further processed to predict their binding affinities using molecular mechanics and molecular dynamics. Three compounds with nanomolar inhibitory activities were finally selected and recommended for synthesis as HDAC4 inhibitors.



Active site of histone deacetylase 4 co-crystallized with reference inhibitor (trisubstituted diarylcyclopropanehydroxamic acid)

[1] - Kim HJ, Bae SC. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am J Transl Res* 2011; 3: 166-79.

[2] - Qian DZ, Kachhap SK, Collis SJ, et al. Class II histone deacetylases are associated with VHL-independent regulation of hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Cancer Res* 2006; 66: 8814-21.

[3] - Burli RW, Luckhurst CA, Aziz O, Matthews KL, Yates D, Lyons KA, Beconi M, McAllister G, Breccia P, Stott AJ, Penrose SD, Wall M, Lamers M, Leonard P, Muller I, Richardson CM, Jarvis R, Stones L, Hughes S, Wishart G, Haughan AF, O'Connell C, Mead T, McNeil H, Vann J, Mangette J, Maillard M, Beaumont V, Munoz-Sanjuan I, Dominguez C. Design, synthesis, and biological evaluation of potent and selective class IIa histone deacetylase (HDAC) inhibitors as a potential therapy for huntington's disease. *J Med Chem* 2013; 56: 9934-54.

This work has been supported by the following grants: VEGA 1/0873/15, KEGA 022UK-4/2015 and FAF/35/2016. Financial support is greatly appreciated.

PŘÍPRAVA PREKURZORŮ A FTALOCYANINŮ NESOUCÍCH ANIONICKÉ SKUPINY

KOLLÁR JAN, NOVÁKOVÁ VERONIKA, ZIMČÍK PETR

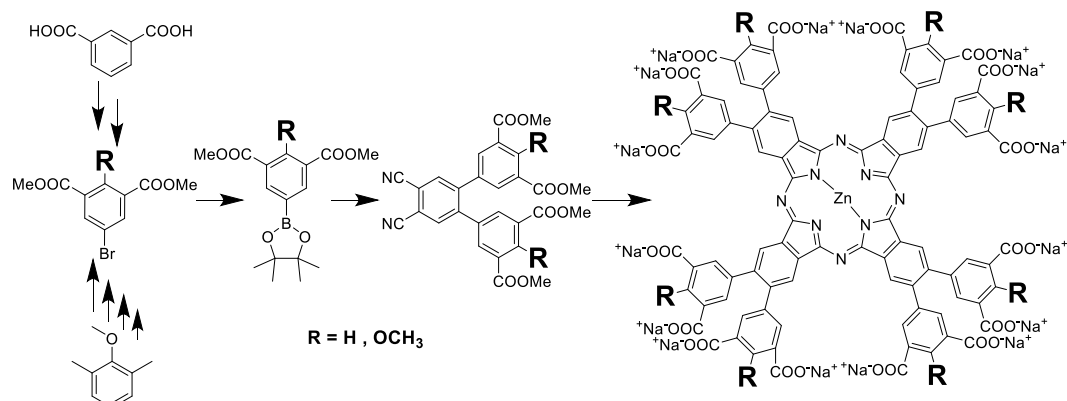
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05

Hradec Králové; kollarj@faf.cuni.cz

Fotodynamická terapie je jednou z metod používaných při léčbě nádorových i nenádorových onemocnění. Kombinuje 3 základní složky: kyslík, světlo a fotosenzitizer, které jsou samostatně netoxické. Jejich vzájemnou interakcí dochází k fotochemické reakci a přeměně kyslíku na jeho singletovou formu, který je pro buňky cytotoxický. Jednou z perspektivních skupin fotosenzitizerů jsou ftalocyaniny. Tato práce navazuje na předchozí projekt¹ zabývající se studiem azaftalocyaninu nesoucího karboxylátové skupiny v rigidním uspořádání, u kterého byla pozorována závislost jeho fotodynamické aktivity na pH prostředí.

Cílem této práce bylo připravit anionický ftalocyaninový analog, který bude mít vhodné substituovaný zbytek odvozený od kyseliny isoftalové na periférii (viz schéma). Nejprve byly připraveny vhodné prekurzory pomocí několikakrokové syntézy (viz schéma) zahrnující bromaci, esterifikaci přípravu pinakolesteru kyseliny borité za katalýzy Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂. U nesubstituovaného derivátu (R = H) s výtěžkem 86% a u methoxy derivátu s výtěžkem 74%. Požadované 4,5-disubstituované ftalonitrily, byly pak získány pomocí Suzukihovo couplingu z 4,5-dichlorftalonitrilu za použití PdCl₂(PPh₃)₂. Tyto prekurzory byly dále použity k přípravě zinečnatých ftalocyaninů cyklotetramerizační reakcí. Finální ve vodě rozpustný ftalocyanin bude připraven hydrolýzou esterových vazeb.

Tento projekt vznikl za finanční podpory GAUK 1060216 a SVV 260 291.



¹ Machacek M., Kollár J., Miletin M., Kučera R., Kubát P., Simunek T., Novakova V., Zimcik P., *RSC Advances*, **2016**, 6, 10064 – 10077.

ESTERY TERPENICKÝCH ALKOHOLŮ JSOU ÚČINNÉ AKCELERANTY TRANSDERMÁLNÍ PERMEACE S REVERZIBILNÍM ÚČINKEM A NÍZKOU TOXICITOU

KOPEČNÁ MONIKA¹, MACHÁČEK MILOSLAV², ROH JAROSLAV¹, VÁVROVÁ
KATEŘINA¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické
a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;

kopem7ba@faf.cuni.cz

² Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biochemických věd,
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

Transdermální podání léčiv je ve srovnání s klasickými metodami možností s řadou výhod. Nicméně kůže funguje jako velmi účinná bariéra a většina léčiv není schopna se přes ni dostat do organismu v dostatečném množství. Jedním ze způsobů, jak prostup léčiv usnadnit, je použití akceleračních transdermálních permeací, látek přechodně snižujících bariérové vlastnosti kůže. Studovali jsme látky vzniklé kombinací struktur dvou typů akceleračních: terpenů či jejich analogů a derivátů aminokyseliny DDAK (dodecyl ester 6-(dimethylamino)hexanové kyseliny). Připravili jsme estery 6-(dimethylamino)hexanové kyseliny s vybranými terpenickými alkoholy (mentol, citronelol, linalol, farnesol, borneol, geraniol, nerol, karveol, perilylalkohol), či strukturálně blízkým cinnamylalkoholem. Akcelerační účinek připravených látek jsme srovnávali s výchozími alkoholy, DDAK, dodekanolem a kyselinou 6-(dimethylamino)hexanovou. Největší vliv na prostup dvou modelových léčiv (theofylin-TH a hydrokortizon-HC) přes lidskou kůži měly estery borneolu, citronelolu a cinnamylalkoholu (BBN, BCN a DMC). Prostup TH přes kůži byl látkou BCN urychlen 15krát, nicméně nepředčil účinek DDAK (24krát). Prostup lipofilnějšího HC byl urychlován látkami DMC, BBN a BCN srovnatelně s DDAK (92-, 67-, 63krát, DDAK 57krát). Následně jsme pomocí infračervené spektroskopie na izolovaném lidském stratum corneum zkoumali mechanismus působení vybraných účinných akceleračních na kožní bariéru. Posun hodnoty kmitočtu symetrických methylenových valenčních vibrací z 2848.6 cm⁻¹ k hodnotě přes 2851 cm⁻¹ ukazuje na interakci látek s lipidovou složkou kožní bariéry (buďto zvýšení fluidity lipidů, nebo tvorba fluidnějších domén). Měřením elektrické impedance a ztráty vody přes kůži jsme prokázali reverzibilitu účinku vybraných akceleračních (BBN, BCN a DMC) po 24h aplikaci. Hodnoty obou měřených markerů se do 24 h po odstranění akceleračních z kůže vrátily na úroveň srovnatelnou s hodnotami před nanesením. Toxicita účinných akceleračních byla studována na dvou buněčných liniích. U 3T3 fibroblastů vykazuje nejnižší toxicitu látka BCN (IC₅₀=177 μmol/l), IC₅₀ pro DMC je 121 μmol/l a pro BBN 73 μmol/l. Nejnižší toxicitu u HaCaT keratinocytů vykazuje látka DMC (IC₅₀=742 μmol/l), hodnota IC₅₀ pro látku BCN je 167 μmol/l, pro BBN činí 44 μmol/l. Hodnoty IC₅₀ zkoumaných látek jsou lepší nebo srovnatelné s hodnotami pro DDAK.

Kombinací struktury derivátu aminokyseliny (DDAK) a přírodních alkoholů (borneol, citronelol a cinnamylalkohol), se nám podařilo najít tři nové účinné akcelerační permeace s reverzibilním účinkem a nízkou toxicitou.

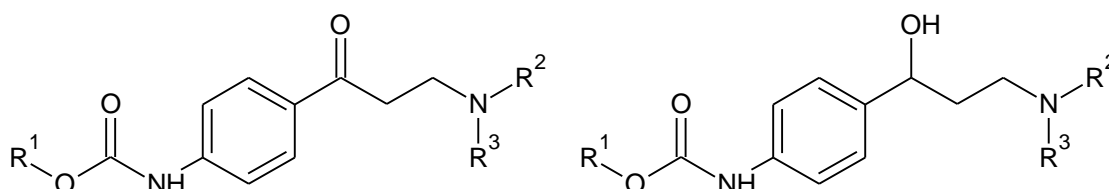
Finanční podpora: GAUK 1404213, SVV 260 291, GAČR 13-23891S.

SYNTÉZA DERIVÁTŮ ARYLAMINOPROPAN-1-OLU

KROUTIL ALEŠ¹, HUDCOVÁ ANNA¹..CSÖLLEI JOSEF¹

¹ Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv,
Palackého 1-3, 612 43 Brno kroutila@vfu.cz

Syntéza látek uvedeného obecného vzorce vychází z 4-aminoacetofenonu, ze kterého byly nejdříve připraveny příslušné karbamáty. Tyto meziproducty pak byly mannichovou syntézou převedeny na meziproducty obsahující keto-skupinu. Tato funkční skupina pak byla pomocí NaBH₄ redukována na sekundární alkohol.



Struktura ketonických meziproductů a konečných látek

R¹ = methyl až butyl

R² = butyl

R³ = methyl, ethyl

Ketonické meziproducty byly izolovány také jako hydrochloridy, u látek tohoto typu byla pozorována inhibice acetylcholinesterázy. Redukované producty byly z důvodu rozpustnosti ve vodě převáděny na soli s tím, že vzhledem k poloze hydroxy- skupiny není možné použití HCl, nebo jiné silné minerální kyseliny, protože dochází k rychlé dehydrataci.

Připravené látky a jejich meziproducty byly charakterizovány zejména pomocí IČ a NMR spektroskopie a jejich struktura byly potvrzena.

COMETABOLIC BIODEGRADATION OF 4-CHLOROPHENOL IN PRESENCE OF VANILLIC ACID AND PHENOL AS MAIN GROWTH SUBSTRATES.

KLAUDIA KRZYKAŁA¹, IZABELA GREŃ², URSZULA GUZIK², ROBERT MUSIOŁ¹

¹University of Silesia, Institute of Chemistry, Department of Organic Chemistry, Szkolna 9, 40-007 Katowice, Poland

²University of Silesia, Faculty of Biology and Environmental Protection, Department of Biochemistry, Jagiellońska 28, 40-032 Katowice, Poland

In cometabolism microorganisms are used to degrade toxic compounds, while using non or less toxic compounds as main source of carbon and energy. Process is based on structural similarity between toxic compound, growth substrate, and non-specific enzymes engaged in biodegradation, or on providing easy to absorb source of carbon and energy – like glucose. 4-chlorophenol is a toxic monoaromatic xenobiotic, which is widely spread in environment due to its formation from pesticides used in agriculture and from waste water chlorination.¹ Usually glucose, peptone, sodium glutamate and phenol were used as growth substrates for cometabolic biodegradation of chlorophenols. Particularly phenol is widely used as ideal growth substrate, to induce enzymes necessary for biodegradation of 4-chlorophenol and to provide source of energy.² But phenol is toxic in even small dosages. That's why in our work we tried to use vanillic acid (4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid) as growth substrate in cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol by *Stenotrophomonas Maltophilia* KB2 strain. Vanillic acid is nontoxic plant compound, which can be found in their cell walls, and is released to the environment after plants are degraded by fungus.³ With respect to that it can be potentially used in cometabolic biodegradation of toxic aromatic compounds, and at the same time it won't cause environment contamination. We demonstrated that speed of 4-chlorophenol degradation in presence of vanillic acid is slightly slower than in presence of phenol, but fact that vanillic acid is nontoxic makes it promising growth substrate in cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol.

¹ Huang L., Sun Y., Liu Y., Wang N. 2013. Mineralisation of 4-chlorophenol and analysis of bacterial community in microbial fuel cells. *Proc Environ Sci* 18: 534 – 539

² De Los Cobos-Vasconcelos D., Santoyo-Tepole F., Juarez-Ramirez C., Ruiz-Ordaz N., Galindez-Mayer C. J. J. 2006. Cometabolic degradation of chlorophenols by a strain of *Burkholderia* in fed-batch culture. *Enzyme Microbial Tech* 40: 57 – 60

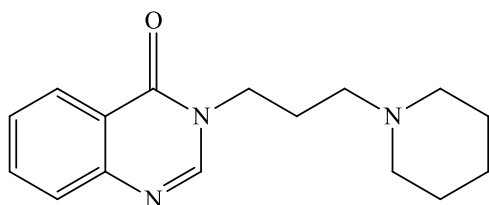
³ Gitzinger M., Kemmer C., Fluri D. A., El-Baba M. D., Weber W., Fussenegger M. 2012. The food additive vanillic acid controls transgene expression in mammalian cells and mice. *Nucleic Acids Res* 40: 1 – 15

HPLC STANOVENÍ POTENCIÁLNÍHO BRONCHODILATANCIA V KREVNÍ PLAZMĚ

KUBÍČEK VLADIMÍR¹, SUCHARDOVÁ JANA¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biofyziky a fyzikální chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; kubicek@faf.cuni.cz

Pro sledování hladin nově syntetizovaného potenciálního bronchodilatancia v krevní plazmě potkanů byla vyvinuta HPLC metoda za použití core-shell kolony a fluorescenční detekce. Studovaným bronchodilatanciem byl 3-[3-(piperidin-1-yl)propyl]-3,4-dihydrochinazolin-4-on, látka syntetizovaná na katedře anorganické a organické chemie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové.



Pro jeho extrakci z plazmy byla použita LLE do MTBE s následným odpařením MTBE a rekonstitucí v mobilní fázi.

HPLC analýza byla prováděna na koloně Ascentis[®] Express RP–Amide, mobilní fáze byla složena z 0,03 mol/l roztoku kyseliny mravenčí a methanolu. 4-chinazolinol byl používán jako vnitřní standard, detekce byla fluorimetrická.

Metoda byla validována, byla ověřena linearita a selektivita, stanovena přesnost, správnost, LOD a LOQ.

NEW UHPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF OMEPRAZOLE IN ORAL SUSPENSIONS

KUČEROVÁ KATEŘINA^{1,2}, REISKÁ VERONIKA¹, MATYSOVÁ LUDMILA¹,
KUJOVSKÁ KRČMOVÁ LENKA^{1,2}

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; kucerok1@faf.cuni.cz

² University Hospital in Hradec Králové, 3rd Internal Gerontometabolic Clinic, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Omeprazole is one of the most widely used drugs from the group of proton-pump inhibitors (PPIs). PPIs play role in the treatment of the acid-related disorders, such as gastroesophageal reflux disease (GERD), Barrett's esophagus, peptic ulcers disease and Zollinger-Ellison syndrome.

Due to the instability of omeprazole in acidic conditions, enteric-coated tablets or extended-release capsules are commonly used dosage forms. This kind of drug administration is not convenient in pediatric, elderly as well as critically ill patients having problems to swallow solid dosage form. Thus, individually prepared oral suspensions of omeprazole facilitate the administration and the dosage exactly in this group of patients.^{1,2}

The new and modern UHPLC method for the monitoring of omeprazole stability in suspensions was developed and fully validated. The separation of omeprazole standard solution, omeprazole related compound (as impurity) and methylparaben as internal standard was performed by Kinetex™ C18 column (50 × 2.1 mm, 1.7 μm) using mobile phase 25 mmol/L phosphate buffer (pH 7.6) and acetonitrile (74 : 26, v/v). All analytes were determined using suitable wavelength 300 nm.

This novel, simple and rapid method will be applied to the analysis of concentration of omeprazole and its stability in six different suspension formulations prepared in the Hospital pharmacy in Motol University Hospital and will serve for the Department of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital.

The study was supported by project SVV 260 292.

REFERENCES

- (1) Burnett, J. E.; Balkin, E. R. *Am. J. Health. Syst. Pharm.* **2006**, 63 (22), 2240.
- (2) Israel, D. M.; Hassall, E. J. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1998**, 27 (5), 568.

ON-LINE COUPLING OF MOLECULARLY IMPRINTED SOLID PHASE EXTRACTION TO HPLC FOR PATULIN DETERMINATION

LHOTSKÁ IVONA¹, HOLZNEROVÁ ANEŽKA¹, ŠATÍNSKÝ DALIBOR¹, SOLICH
PETR¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie,
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; lhotski@faf.cuni.cz*

Patulin is a mycotoxin produced by various fungi, mainly by *Penicillium expansum*. Among other fruits, vegetables and cereals, rotten apples are the most effected. Patulin contamination in apple products is controlled by European legislation because patulin is cytotoxic, genotoxic and intestine-irritating in higher uptake.

Mycotoxins occur in trace amounts. More selective determination and preconcentration of analyte enable cleaning from matrix and reaching lower concentrations.

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are selective sorbents for solid phase extraction (SPE). Theirs cavities for analyte are similar to those in antibodies. Compared to another very selective sorbent, immunoaffinity columns, MIPs are less expensive to prepare and much more stable. They also show higher extractive capacity. All these characteristics - combining advantages like robustness of classic solid phase extraction and selectivity of immunoaffinity extraction - make MIPs very promising sorbent. Furthermore, it is possible to use them on-line in chromatographic system.

In this study, we coupled extraction on MIP to HPLC on-line in column-switching system to achieve selective preconcentration and separation in one run. Although MIP should be selective, small polar molecule of patulin is difficult to separate from complex matrix of apple juice. Some experiments for improvement of elimination of interfering matrix are going to be presented.

AZAPHTHALOCYANINES AS INDICATORS IN FLUORESCENT CO₂ SENSORS

LOCHMAN LUKAS¹, NOVAKOVA VERONIKA¹, ZIMCIK PETR¹, BORISOV SERGEY²

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic; lochmanl@faf.cuni.cz

² Graz University of Technology, Institute of Analytical Chemistry and Food Chemistry, Stremayrgasse 9/II, 8010 Graz, Austria

Azaphthalocyanines (AzaPcs) are aromatic compounds with interesting fluorescence properties like absorption and emission over 650 nm, high extinction coefficient (approximately 200 000 Lmol⁻¹.cm⁻¹) and high fluorescence quantum yields. Recently, AzaPcs have been described as promising indicators for metal cations¹ or pH sensitive indicators.²

The aim of this work was to study the possibility to use pH-sensitive AzaPc indicators in optical sensors towards CO₂. The AzaPc indicators² with one, two or four phenolate/phenol moieties were immobilized into several matrices from the group of urethane polymers together with a quaternary ammonium base to give appropriate sensor devices. A significant increase in fluorescence intensity was observed in the presence of CO₂ (Fig. 1). Interestingly, the sensitivity of the sensors can be tuned over a wide range of CO₂ concentration by the selection of different bases which is highly appreciable in development of sensors for different applications (e.g. marine research, biotechnology or capnography).

The work was supported by Grant Agency of Charles University (494214) and scholarship Aktion Austria-Czech Republic.

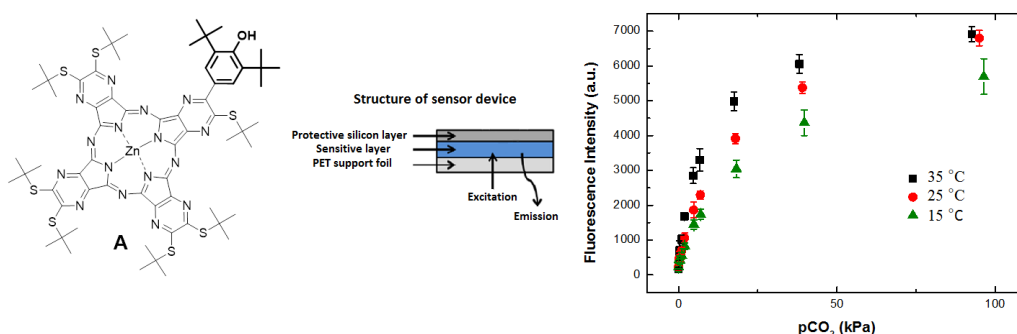


Fig.1. The sensor device and temperature dependency for AzaPc A in Hydrothane 5 matrix

Lochman L, Svec J, Roh J, Kirakci K, Lang K, Zimcik P, Novakova V, *Chem. Eur. J.*, **2016**, 22, 2417-2426.

Novakova V, Laskova M, Vavrickova H, Zimcik P, *Chem. Eur. J.*, **2015**, 21, 14382-14392.

HODNOTENIE KVALITY PRÍPRAVKOV POUŽÍVANÝCH PRI OCHORENÍ DNA RÁDIONUKLIDOVOU RÖNTGENOFLUORESCENČNOU ANALÝZOU

LUKAČOVIČOVÁ OL'GA, HAVRÁNEK EMIL

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta v Bratislave, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava; lukacovicova@fpharm.uniba.sk

Dna - *Arthritis Uratica*, je porucha metabolizmu so zvýšenými hodnotami kyseliny močovej v krvi. S dnou nie je život príjemný, trpia ňou kĺby, pacient má problémy pri chôdzi a pohybe. Pacienti s chronickou dnou sú vystavení bolestiam aj v pokojovom režime, prejavujú sa u ich trvalé kĺbové zmeny; ochorenie môže viesť k trvalej invalidite. Opatrenia proti rozvíjaniu ochorenia začínajú zmenami stravovacích návykov. Na reguláciu obsahu kyseliny močovej sa často využíva fytotherapia. Liečivé rastliny sa ako čaje užívajú vo veľkých objemoch. Ak sa nachádza v rastlinnej droge stopové množstvo nežiaduceho prvku, jeho obsah sa vo veľkých objemoch stáva nebezpečným. Preto je nevyhnutné podrobiť kontrole všetky prípravky aj liečivé rastliny na prípravu záparov. Na kontrolu vybraných prvkov vo vzorkách, používaných v terapii ochorenia bola použitá nukleárna analytická metóda – rádionuklidová röntgenofluorescenčná analýza. Táto metóda je založená na vzájomnej interakcii nízkoenergetického žiarenia gama a vzorky. Na identifikáciu prvkov bolo nevyhnutné zistiť energiu vzniknutého fluorescenčného žiarenia, ktorá je charakteristická pre emitujúci prvok – kvalitatívne parametre a vyhodnotiť intenzitu žiarenia, ktorá je úmerná koncentrácii prvku - kvantitatívne parametre. Na analýzu a vyhodnotenie prvkov vo vzorkách bol použitý rádionuklidový zdroj žiarenia ^{238}Pu (energia 12-22 keV, aktivita 880 MBq), polovodičový detektor Si/Li (detekčná účinnosť do 30keV, rozlišovacia schopnosť 200eV) a mnohokanálový analyzátor ORTEC®. Bola zabezpečená trvalá reflexná bočná geometria pre vzorku, zdroj a detektor. Toto priestorové usporiadanie bolo zvolené za účelom zníženia prenikania primárneho žiarenia do okna detektora, dosiahnutia maximálneho pomeru charakteristického a odrazeného žiarenia vzorky a dosiahnutia maximálnej účinnosti detekcie. Analýze boli podrobené rastlinné vzorky: *Filipendula ulmaria, L.*; *Betulae pendulae, R.*, *Rosmarinum officinalis, L.*; *Calluna vulgaris, L.*; *Cnicus benedictus, L.*; *Juniperus communis, L.*; *Solidago virgaurea, L.* a liek Milurit (účinná látka alopurinol). V nameraných spektrách analyzovaných vzoriek boli identifikované energetické maximá, ktoré zodpovedali konkrétnym prvkom (po energetickej kalibrácii). Ku kvantitatívnej analýze boli vzorky zhomogenizované, lisované do tabliet s rovnakými parametrami. Hodnotenie obsahu jednotlivých prvkov bolo realizované porovnaním plochy píkovej v nameraných spektrách s plochami píkovej pripravených štandardov, ktoré sa líšili pomerným zastúpením obsahov jednotlivých prvkov aj variabilitou nosnej

matrice. Obsah prvkov bol zhodnotený tiež výpočtom pomocou parametrov skonštruovaných analytických priamok pre konkrétne prvky na matrici. Obsah vybraných prvkov v lieku Milurit bol vzhľadom na charakter vzorky hodnotený z parametrov analytických priamok, ktoré boli pripravené na matrici kyseliny benzoovej. Porovnaním výsledkov nameraných štandardov a neanalytického signálu boli vypočítané detekčné limity: (Cr-3,32µg/g; Mn-3,12 µg/g; Fe-2,74 µg/g; Ni- 2,18 µg/g; Cu-1,70 µg/g; Zn-1,53 µg/g; Pb-1,89 µg/g).

Významnou výhodou rádionuklidovej röntgenofluorescenčnej analýzy v porovnaní s ostatnými metódami prvkovej analýzy, ktoré sa používajú pri identifikácii a stanovení jednotlivých komponentov vzoriek, je jej nedeštruktívnosť, polykomponentnosť, jednoduchosť a rýchlosť.

Práca bola uskutočnená s grantovou podporou agentúry VEGA MŠ SR 1/0873/15.

Kľúčové slová

Dna – rádionuklidová röntgenofluorescenčná analýza - Arthritis Uratica – prvková analýza.

Ing. Oľga Lukačovičová, PhD.
Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie
Univerzita Komenského
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
Slovenská republika
+421 2 501 17 256
lukacovicova@fpharm.uniba.sk

ANALYSIS OF DRUGS USED IN CROHN'S DISEASE TREATMENT BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS ON- LINE HYPHENATED WITH TANDEM MASS SPECTROMETRY

MARÁKOVÁ KATARÍNA^{1,2}, PIEŠŤANSKÝ JURAJ^{1,2}, DOKUPILOVÁ SVETLANA^{1,2},
PECHER DANIEL^{1,2}, MIKUŠ PETER^{1,2}

¹ Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Department of Pharmaceutical Analysis and Nuclear Pharmacy, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovak Republic; marakova@fpharm.uniba.sk

² Toxicological and Antidoping Center (TAC), Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Department of Pharmaceutical Analysis and Nuclear Pharmacy, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovak Republic

Crohn's disease belongs to the group of inflammatory bowel diseases (IBD) characterized by immune-mediated inflammation of gastrointestinal tract. IBD affect mainly young patients and their incidence is still rising. There are several drugs used in the treatment of IBD. Thiopurines represent the main group of therapeutics based on an immune suppressive function through various metabolites that are created during complex enzymatic reactions. Efficacy of this therapy varies among the patients, depending on their individual metabolic profile. Thiopurines can be used alone or in combination with other drugs like steroids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (derived from salicylic acid), antibiotics, enzyme inhibitors or immunomodulators. Because of an excessive metabolism involved in this multidrug IBD therapy, it is necessary to control it by choosing an appropriate separation and detection techniques.

Capillary electrophoresis (CE) hyphenated with tandem mass spectrometry (MS/MS) is a promising separation method for the analysis of different compounds at low concentration levels with a minimum sample treatment. The CE-MS/MS combination can be useful in the identification and quantification of drugs used in IBD treatment with many advantages of such coupling (e.g. high peak efficiency, short analysis time, small amount of reagents, good compatibility with aqueous samples, almost no need for sample pretreatment, high sensitivity and structural information).

For the simultaneous analysis of drugs commonly used in Crohn's disease treatment (azathioprine, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, mesalazine, prednison and allopurinol) by CE-MS/MS method, we used triple quadrupole as the tandem mass spectrometer. Several operation modes were used to find an optimum fragmentor voltage (100-140 V) and collision energy (8-

30eV) and to find parent and product ions of the analytes. These parameters were needed to be optimized to obtain the best signal-to-noise ratios for all analytes in MRM mode. Process of optimization of the separation conditions was then focused mainly on the selection of an optimum background electrolyte system (BGE). Because of the MS detection and taking into consideration analysis time, reproducibility, resolution and thermal dispersion, the volatile buffers with low salt concentration were tested. The best separation conditions were obtained with BGE composed of 10 mmol/L ammonium acetate with an addition of 5% methanol adapted with ammonium hydroxide to pH 9. 50% v/v methanol in water containing 5 mmol/L ammonium acetate at a flow rate of 800 μ L/min was used as the optimum sheath liquid in our work. The nebulizing gas (N_2) pressure was set to 10 psi. The optimum drying gas temperature was 300°C and its flow rate was 7 L/min. The capillary voltage of + 4500 V was set in MS detector to obtain the best sensitivity of the MS detection. Under the optimum separation conditions, all six analytes were separated in less than 13 minutes. Limits of detection were at sub μ g/mL levels.

The research was supported by the projects VEGA No. 1/0873/15, KEGA No. 022UK-4/2015.

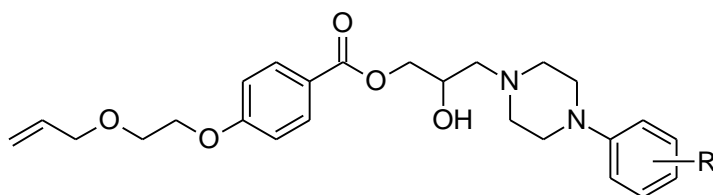
SYNTÉZA DERIVÁTŮ 3-(4-ARYLPIPERAZIN-1-YL)-2-HYDROXYPROPYL-4-ALKOXYBENZOÁTŮ

MARVANOVÁ PAVLÍNA, MOKRÝ PETR, HOŠÍK ONDŘEJ, PADRTOVÁ TEREZA

Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv,
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno; mokryp@vfu.cz

V rámci studia vztahu struktury a účinku byla připravena nová série derivátů arylkarbonyloxyaminopropanolů. Konkrétně se jednalo o 5 derivátů 3-(4-aryl-piperazin-1-yl)-2-hydroxypropyl-4-alkoxybenzoátů (obr. 1), jejichž bazickou část tvoří nesubstituovaný fenylpiperazin nebo fenylpiperazin substituovaný v *ortho*- resp. *para*-poloze aromatického jádra methoxyskupinou nebo atomem fluoru. Uvedené sloučeniny byly připraveny šestistupňovou syntézou. Jednotlivé kroky syntézy byly monitorovány TLC a struktura meziproductů byla ověřena pomocí spektroskopie NMR. Finální látky byly získány navrženou syntézou v dostatečné čistotě a s dobrými výtěžky. Jejich struktura a čistota byla ověřena spektrálními a chromatografickými metodami (^1H FT-NMR, ^{13}C FT-NMR, FT-IR, TLC, HPLC).

Výsledné látky budou poskytnuty k farmakologickému testování jejich aktivity na kardiovaskulární systém. Je předpokládán duální účinek těchto látek - β -adrenolytický (arylkarbonyloxyaminopropanolový fragment) a α -adrenolytický účinek (fenylpiperazinový substituent), které byly prokázány u analogických sloučenin ^[1-3]. U aktivních látek je poté plánována stereoselektivní syntéza jednotlivých enantiomerů s využitím chirálních syntonů [(2*R*)-oxiran-2-yl]methyl- a [(2*S*)-oxiran-2-yl]methyl-tosylátů.



R = -H; 2-OCH₃; 4-OCH₃; 2-F; 4-F

Obr. 1: Struktura finálních sloučenin

Práce vznikla s podporou grantu IGA VFU Brno č. 323/2016/FaF.

1. Louis S. et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 34, 919-937, 1999
2. Bartošová L. et al.: *Eur. J. Pharmacol.* 575, 127-133, 2007
3. Kulig K. et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 44, 3994-4003, 2009

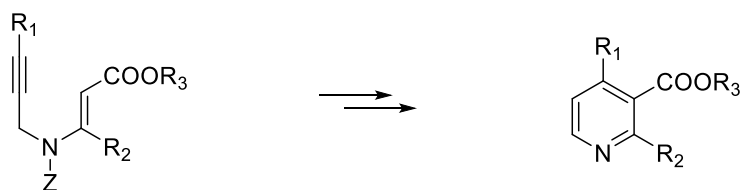
TRIS(2-FURYL)PHOSPHINE GOLD(I) IN SYNTHESIS OF SUBSTITUTED PYRIDINES

MATOUŠ PETR ¹, MIKUŠEK JIŘÍ ¹, JANOUŠEK MARTIN ¹, POUR MILAN ¹

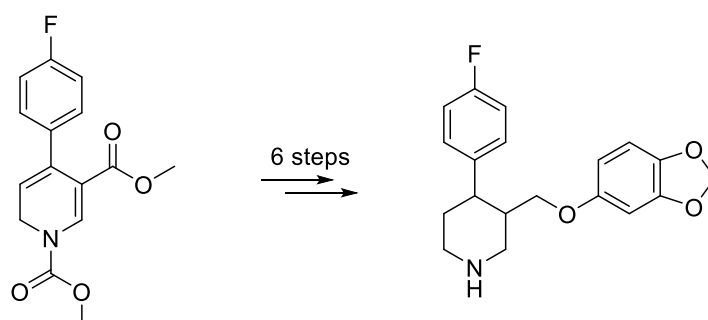
¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; matousp1@faf.cuni.cz

Synthesis of various types of heterocycles is possible from enyne precursors using cationic gold(I) species as a catalyst. In order to expand our research¹, we employed the same catalytic system (tris(2-furyl)phosphine gold(I) chloride (TFPAuCl) and silver tetrafluoroborate) on cyclization of β -propargylamino derivatives.

The synthetic protocol was optimized and a series of substituted pyridines synthesized. Crucial step of the synthesis is gold(I) catalysed endo-cyclization of 1,5-enynes. Compared with synthesis of pyrrols,² forming of dihydropyridines was observed. The appropriately substituted dihydropyridines are potential precursors for paroxetine synthesis.³



$R_1, R_2 = H, \text{aryl, heteroaryl, alkyl}, R_3 = \text{methyl, ethyl}$
 $Z = \text{Ts, MBS, Boc, -COOMe}$



This work was supported by Charles University in Prague (SVV 260 291 and GAUK 5671/2012) and Czech Science Foundation (Project No. 15-07332S).

1 Matoušová, E.; Růžička, A.; Kuneš, J.; Králová, J.; Pour, M. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 6164.

2 Saito, A.; Konishi, T.; Hanzawa, Y. *Org. Lett.* **2010**, 12, 372.

3 Pastre, J. C.; Correia, C. R. D. *Org. Lett.* **2006**, 8, 1657.

ŠTÚDIUM REAKČNÝCH PODMIENOK PRI TVORBE KOMPLEXU TECHNÉCIA S VYBRANÝMI AMINOKYSELINAMI

MIKULOVÁ MÁRIA¹, HAVRÁNEK EMIL¹, SÝKOROVÁ MIROSLAVA²

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika

mikulova@fpharm.uniba.sk

² Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika

Aktuálnou témou v biomedicínskych odboroch je získavanie nových poznatkov o látkach a materiáloch pre diagnostické účely. V rámci nukleárnej medicíny sa až 90% činností zaoberá diagnostickými metódami, ktoré zahŕňajú hodnotenie morfológie a funkcie tkanív a orgánov, či sledovanie biochemických procesov v organizme až na molekulárnej úrovni. Pre diagnostické účely si už vyše 40 rokov udržiava najvýznamnejšie postavenie rádionuklid technécium-99m s optimálnymi fyzikálnymi charakteristikami (γ premena, polčas premeny 6,01 hod., energia žiarenia 141 keV) pre diagnostiku. Tradičné technéciové rádiofarmaká, ako napr. ^{99m}Tc-DMSA, ^{99m}Tc-MIBI, ^{99m}Tc-HMPAO, sa bežne používajú pri diagnostických vyšetreniach v nukleárnej medicíne, ale v súčasnosti sa výskum sústreďuje na štúdium rádioaktívne značených biologicky aktívnych látok so selektívnou distribúciou, resp. väzbou na proteínové cieľové štruktúry v organizme, t.j. enzýmy, transportéry, receptory, ktorých zvýšená expresia je charakteristická pre konkrétne patologické zmeny. Takéto biomolekuly predstavujú tzv. cieľovo-špecifické rádiofarmaká. K nim je možné priradiť aj značené aminokyseliny ako malé molekuly, peptidy, proteíny a protilátky. Veľký potenciál pre uplatnenie majú značené aminokyseliny, pretože pre ich vychytávanie bunkami sú nevyhnutné transportné proteíny, vo zvýšenej miere exprimované v mnohých typoch tumorov. Z hľadiska ich zobrazovania sú najvýznamnejšie transportéry typu LAT1 a ASC.

Pre túto prácu bola ako východisková látka zvolená aromatická aminokyselina L-tryptofán. Cieľom bolo priame značenie aminokyseliny s ^{99m}Tc s využitím dihydrátu chloridu cínatého ako redukčného skúmadla a sledovanie vplyvu zmien reakčných podmienok z hľadiska látkových množstiev reaktantov a pH. Pre hodnotenie vplyvu reakčných podmienok na tvorbu reakčných produktov a pre kontrolu účinnosti značenia boli použité separačné metódy chromatografia na tenkej vrstve a zónová elektroforéza s rádiometrickou detekciou. Fluorescenčnou spektrometriou boli sledované vplyvy rôznej koncentrácie SnII na tvorbu komplexu. V kyslom aj neutrálnom prostredí dochádzalo k tvorbe záporne nabitého komplexu s výťažkami 24 - 42%. Ďalšie experimenty budú zamerané na pripojenie rádionuklidu k ligandu cez spojovací reťazec.

Kľúčové slová: ^{99m}Tc, rádiofarmaká, diagnostika, aminokyselina

Práca bola uskutočnená s podporou grantu Farmaceutickej fakulty UK č. FaF/17/2016.

ON DNA APTAMERS IN MOLECULAR RECOGNITION

MACH PAVEL², MELICHERČÍK MILAN², MOTYČKA JOZEF¹, URBAN JÁN²

¹*Department of Pharmaceutical Analysis and Nuclear Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava, Slovakia; motycka1@uniba.sk*

²*Department of Nuclear Physics and Biophysics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University in Bratislava, Slovakia*

Aptamers are ligand-binding nucleic acids with affinities and selectivities that make them useful for the detection of a variety of compounds and therefore can be utilized as molecular recognition elements. This fact has motivated many theoretical and experimental studies. Proposed optimal structure of aptamers with high affinity and selectivity to various compounds of pharmaceutical interest, mainly drugs and toxins can lead to design of high perceptive biosensors in course of their detection. The complexes of aptamers may also be employed in area of medical and environmental research [1].

Our contribution is oriented to the application of theoretical methods for the study of the recognition of ochratoxin A and diclofenac molecules.

Molecular dynamics simulations (MD) with as precise as possible description of atom interactions and quantum chemical calculations have been applied for the study of the structure and interaction of aptamers as well as aptamer-small molecule complexes. The obtained results are discussed.

Acknowledgements: Support from the FAF UK/50/2016 grant is acknowledged.

[1] McKeague, M.; DeRosa, A.B.: *Journal of Nucleic Acids*, **2012**, Article ID 748913

VPLYV ZÁPAROV VYBRANÝCH RASTLÍN NA PREJAVY DIABETU

MUČAJI PAVEL¹, KUCZMANNOVÁ ANIKA¹, RAČANSKÁ EVA², BALAŽOVÁ
ANDREA³, GÁL PETER¹, NAGY MILAN¹

¹ Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava; mucaji@fpharm.uniba.sk

² Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

³ Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava

Diabetes mellitus (DM) je chronické metabolické ochorenie prejavujúce sa prítomnosťou hyperglykémie. Porušené metabolické procesy sacharidov, tukov a bielkovín vedú k vývoju chronických mikrovaskulárnych a makrovaskulárnych komplikácií (DVC), vrátane orgánovo špecifických degeneratívnych procesov. Tieto komplikácie postihujú drobné kapiláry až tepny, špecifické bunky tkanív, interstícia, nervové bunky a bunky nešpecifickej imunity. Na rozšírenie poznatkov o možnom protektívnom účinku rastlín pri DM a DVC bol sledovaný vplyv záparov artičoky kardovej (*Cynara cardunculus* L., Asteraceae - CC) a repíka lekárskeho (*Agrimonia eupatoria* L., Rosaceae - AE) na viaceré parametre experimentálneho modelu diabetu potkanov, ktorý bol navodený podaním streptozotocínu. Experimentálne zvieratá boli náhodne rozdelené do 4 skupín (CTRL – kontrolná skupina, UD – diabetická neliečená skupina, AED/CCD – diabetická skupina, ktorej bol podávaný extrakt repíka/artičoky). Zmeny v hladinách glykémie a hmotnosti boli monitorované počas 5 týždňového intervalu. Po ukončení tohto intervalu boli zvieratá usmrtené aby sa mohli stanoviť zmeny v reaktivite aorty a aktivite butyrylcholínesterázy (BuChE) v pečeni ako aj aktivita aldóza reduktázy (AKR1B1). Výsledky experimentov poukazujú na podobné antioxidačné a antidiabetické účinky oboch rastlín a na možnosť ich využitia v prevencii vývoja a progresie cievnych komplikácií diabetu v klinickej praxi..

Podakovanie: práca vznikla s podporou grantov VEGA MŠVVaŠ SR 1/0646/14 a 1/0048/15.

SYNTÉZA DERIVÁTU HAEMANTHAMINU

NĚMEČEK J., HOŠTÁLKOVÁ A., CHLEBEK J., OPLETAL L., CAHLÍKOVÁ L.

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; nemej6aa@faf.cuni.cz*

Isochinolinové alkaloidy jsou jednou z nejrozšířenějších skupin sekundárních metabolitů a s více než 2500 zástupci, představují rozsáhlou skupinu přírodních látek s různými biologickými vlastnostmi.¹ V této skupině sekundárních metabolitů představují alkaloidy čeledi amaralidaceae rozsáhlou skupinu sloučenin s protinádorovou, antibakteriální, antifungální, antimalarickou, antivirovou a analgetickou aktivitou a dále s inhibiční aktivitou vůči acetylcholinesteráze a butyrylcholinesteráze.²

Haemanthamine je jedním z isochinolinových alkaloidů čeledi amarylidaceae. Jedná se o derivát 5,10-β-ethanofenantridinu, který prokázal výraznou protinádorovou aktivitu vůči různým liniím nádorových buněk jako např. MOLT-4, HepG2, HeLa, MCF7, CEM, K562, G-36, Bj human fibroblast, A 549, OE21, Hs683, U373, SKMEL a B16F10.³

V této práci byly připraveny deriváty Haemanthaminu a bude studován jejich vliv na inhibici acetylcholinesterázy a butyrylcholinesterázy. Dále bude studován vliv těchto derivátů na protinádorovou aktivitu.

Tato práce vznikla za finanční podpory Univerzity Karlovy v Praze (SVV 260 184)

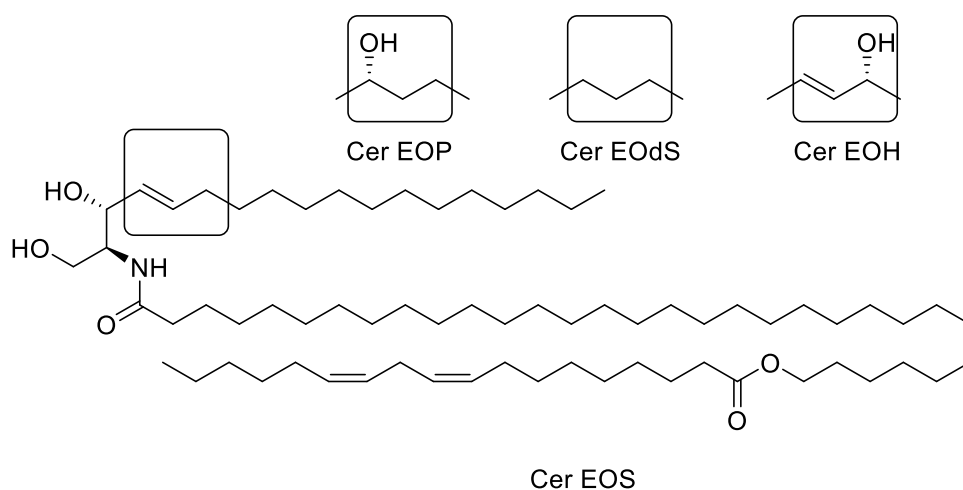
1. Ziegler, J., Facchini, P.J.: *Annual Review of Plant Biology*, 59, 2008, 735–769.
2. Kulhánková, A., Cahlíková, L., Novák, Z., Macáková, K., Kuneš, J., Opletal, L.: *Chemistry & Biodiversity*, 69, 2013, 1120–1127.
3. Van Goietsenoven, G., Andolfi, A., Lallemand, B., Cimmino, A., Lamoral-Theys, D., Gras, T., Abou-Donia, A., Dubois, J., Lefranc, F., Mathieu, V., Kornienko, A., Kiss, R., Evidente, A.: *Journal of natural product.*, 59, 2010, 1223–1227.

SYNTÉZA LIDSKÝCH ULTRADLOUHÝCH CERAMIDŮ A HODNOCENÍ MIKROSTRUKTURY A PERMEABILITY MODELOVÝCH MEMBRÁN

OPÁLKA LUKÁŠ¹, KOVÁČIK ANDREJ¹, SOCHOROVÁ MICHAELA¹, MAIXNER
JAROSLAV², ROH JAROSLAV¹, VÁVROVÁ KATEŘINA¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; opall6aa@faf.cuni.cz

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice



Hlavní kožní bariéra se nachází v *stratum corneum* (SC), což je nejsvrchnější vrstva kůže. Korneocyty v SC jsou obklopeny lipidovou matrix, která je složena z ekvimolární směsi cholesterolu, mastných kyselin a ceramidů (Cer). Cer s ultradlouhým řetězcem (také známé jako acylceramidy, acylCer) jsou neobvyklé, ale zároveň nezbytné komponenty lidské kožní bariéry, která chrání lidské tělo před ztrátami vody z organismu a zároveň brání vniknutí exogenních látek do organismu. Dalšímu studiu těchto lipidů brání jejich omezená dostupnost. Cílem této práce bylo připravit všechny lidské acylCer (EOS, EOP, EOdS a EOH) a studovat jejich chování v modelových lipidových membránách a vliv na jejich permeabilitu. Klíčovými kroky syntézy byla Wittigova reakce, využití succinimidyl esteru jakožto chránící skupiny, pro zvýšení rozpustnosti a zároveň jako aktivátor karboxylové skupiny pro tvorbu amidové vazby a Yamaguchiho esterifikace pro připojení linolové kyseliny. Finální acylceramidy byly získány v 11% celkovém výtěžku (v gramovém množství byl výtěžek snížen na 8%).[1]

Připravené acylCer byly použity pro přípravu modelových membrán simulujících lidskou kožní bariéru. Dlouhá opakující se fáze (LPP), která je nezbytná pro správnou funkci bariéry se začíná objevovat při 10% množství Cer EOS v membráně. Komplexnost připravených membrán se

ukázala jako velmi důležitá, protože při použití příliš jednoduchého modelu neodpovídaly permeability modelových látek přes membránu pozorováním *in vivo*. Proto byl vytvořen složitější model za použití směsi lidských Cer, na kterém se prokázalo, že po přidání acylCer do membrány klesá permeabilita a zlepšuje se jejich bariérová funkce.

Získaná data nám v budoucnu mohou pomoci při léčbě závažných kožních onemocnění, jako je například atopická dermatitida nebo lamelární ichthyóza.

Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (13-23891S) a Univerzitou Karlovou (SVV 2015-260-183)

1. Opálka, L., et al., *Scalable Synthesis of Human Ultralong Chain Ceramides*. *Organic letters*, 2015. **17**(21): p. 5456-5459.

SALICYLANILIDES FROM DIHALOGENATED SALICYLIC ACIDS: A COMPARISON STUDY OVER THEIR MONOHALOGENATED ANALOGUES AGAINST *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

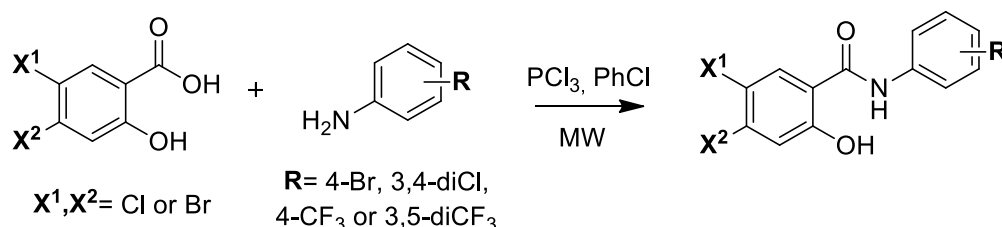
PARASKEVOPOULOS GEORGIOS^{1,2}, MONTEIRO SARA^{1,3}, VINŠOVÁ JARMILA¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Inorganic and Organic Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; paraskeg@faf.cuni.cz

² Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Technology, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;

³ University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Institute of Organic Chemistry and Technology, Studenská 573, 532 10 Pardubice

Salicylanilides and their derivatives have shown great promise as antimicrobial agents over the past years.^{1,2} On our ongoing efforts in order to explore the influence of different substitutions on the parent structure of salicylanilides, in terms of activity and cytotoxicity, the introduction of several substituents is under investigation.³



As a continuation of our previous studies, we report here the synthesis of new salicylanilides' derivatives containing two halogens at the salicylic part. The antimycobacterial activity of the new molecules against *Mycobacterium tuberculosis* (including multidrug-resistant strains), as well as their cytotoxicity against HepG2 cells were evaluated and compared with their mono-halogenated analogues.

1. Krátký, M.; Vinšová J., Mini-Rev. Med. Chem., 2011, 11(11), 956-967.

2. Krátký, M.; Vinšová J.; Novotná, E.; Mandíková, J.; Trejtnar, F.; Stolaříková, J. Molecules, 2013, 18(4), 3674-3688.

3. Paraskevopoulos, G.; Krátký, M.; Mandíková, J.; Trejtnar, F.; Stolaříková, J.; Pávek, P.; Besra, G.; Vinšová, J., Bioorg. Med. Chem., 2015, 23(22), 7292-7301.

STUDIE MOŽNOSTI VYUŽITÍ NANOVLÁKEN JAKO SORBENTŮ PRO ON-LINE EXTRAKCI V HPLC

PARMOVÁ MARTINA¹, CHOCHOLOUŠOVÁ HAVLÍKOVÁ LUCIE¹, ŠATÍNSKÝ DALIBOR¹, CHVOJKA JIŘÍ²

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; parmovam@faf.cuni.cz*

² *Technická univerzita v Liberci, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Bendlova 1409/7, 46001, Liberec 1*

Extrakce na pevné fázi (SPE) je nejčastěji využívaná metoda při úpravě vzorku před analýzou. Sorbenty pro SPE jsou neustále inovovány a jedna z možností inovace je využití nanovláken jako sorbentů pro extrakci. Díky malé velikosti, mají nanovlákná velký povrch, větší extrakční kapacitu a díky tomu velký potenciál využití v SPE. Nejčastěji využívaný proces pro výrobu nanovláken se nazývá elektrospinning (elektrostatické zvlákňování). Zvlákňování probíhá z taveniny nebo z roztoku polymeru v silném elektrostatickém poli. Polyamid 6 polypyrrol a polystyren jsou zatím nejčastěji využívané polymery ve formě nanovláken pro SPE.

V dnešní době je výzkum také zaměřen na automatizaci všech kroků úpravy vzorku a následné on-line spojení úpravy vzorku s vhodnou analytickou technikou. Úprava vzorku v on-line zapojení je prováděna přímo v HPLC systému a po extrakci jsou analyty přímo dávkovány na analytickou kolonu.

Tato práce byla zaměřena na využití nanovláken jako sorbentů v on-line SPE-HPLC. Testované analyty byly ze skupiny pyrethroidových a karbamátových insekticidů. Rozdílné fyzikálně chemické vlastnosti zvolených analytů umožnily popsání extrakčních vlastností nanovláken pro širší spektrum látek. Jako testované nanovláčenné polymery byly zvoleny polyamid 6, který byl testován ve dvou formách, polykaprolakton a polystyren. Jako porovnávací sorbent byl zvolen sorbent C18. Byla sledována retence analytů v průběhu měnících se podmínek extrakce (čas přepnutí ventilu, promývací krok). Uvedené parametry extrakce a HPLC podmínky pro analýzu byly optimalizovány. Za použití optimálních podmínek byla testovaná linearita a opakovatelnost pro každý polymer.

Tato práce vznikla v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu SVV 260 292

VYUŽITÍ UHPLC-MS/MS METODY PRO HODNOCENÍ VLIVU OCHUCOVADEL NA OBSAH KATECHINŮ V ČAJÍCH A NA MATRICOVÉ EFEKTY

PAVLÍK JAKUB¹, SVOBODA PAVEL¹, NOVÁKOVÁ LUCIE¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; pavlikja@faf.cuni.cz*

Katechiny se řadí se do skupiny flavanolů (derivátů flavan-3-olu) a patří mezi hlavní složky zelených čajů (až 30 % sušiny), kde se vyskytují ve formě epimerů a galokatechinů. Jedná se o významné látky, u nichž je znám značný antioxidační účinek, taktéž snižují rizikové faktory vzniku rakoviny plic, střeva a jater [1], mají účinky anti-histaminové, anti-artritidové, antivirové, antimikrobiální [2], pozitivní vliv na paměť a dlouhověkost. Tato práce vychází z publikovaných výsledků [3], které poukázaly na výskyt matricových efektů v několika vzorcích ochucených čajových nálevů. Analyzované matricové efekty u zelených čajů nebyly příliš vysoké (od -5,3 % do +10,4 %), stejně jako počet hodnocených vzorků ochucených čajů, u kterých bylo přítomno méně celkového množství katechinů, než v neochucených formách. Jedním z možných vysvětlení tohoto fenoménu je přítomnost matricových efektů způsobených přidáním ochucovadly nebo případný jiný vliv ochucovadel na tuto hladinu. V rámci výzkumu jsme přistoupili k analýze jak komerčně dostupných čajů, tak i vlastních lépe definovaných směsí, přičemž se jednalo o čaj sáčekový (Pickwick) a sypaný (Basilur). Z hlediska struktury jednotlivých analytů bylo nutné přistoupit k UHPLC-MS/MS analýze, která dokázala od sebe odlišit jednotlivé epimery katechinů a galokatechinů. Pro analýzu byla vybrána ochucovadla, jež lze nalézt i v komerčních směsích, a to: plod brusinky, list máty, plod šípku, citrónová kůra, pomerančová kůra, kořen zázvoru, květ růže, skořicová kůra, citrónová tráva, květy jasmínu a vanilka. Přídavek těchto ochucovadel k analyzovanému čaji byl na základě průzkumu komerčních směsí stanoven na cca 15% tak, aby co nejvíce odrážel podmínky reálných čajových směsí, a tím i podmínek běžného spotřebitele. Jednotlivé čajové nálevy, byly připraveny v ultra-čisté vodě při 90°C po dobu 20 minut tak, aby výsledky extrakce byly optimální a přitom odrážely skutečnost běžné přípravy čaje. Vzorky byly hodnoceny z hlediska celkového obsahu katechinů a výskytu matricových efektů. Matricové efekty byly hodnoceny pomocí metody porovnání směrníc kalibračních křivek.

[1] N. Sueoka, M. et al. Ann. New York Acad. Sci., 928 (2001), pp. 274-280.

[2] N. Khan, H. Mukhtar, Life Sci., 81 (2007), pp. 519-533.

[3] P. Svoboda, H. Vlčková, L. Nováková, J. Pharmaceut Biomed. Anal., 114 (2015), pp. 62-70

METODIKA STANOVENIA TIOPURÍNÓVÝCH METABOLITOV TECHNIKOU HPLC

PECHER DANIEL¹, DOKUPILOVÁ SVETLANA¹, MIKUŠ PETER¹

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta UK, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava.*

Tiopuríny sú látky s imunosupresívnymi vlastnosťami, ktoré sa okrem iného používajú pri liečbe chronických nešpecifických zápalov čriev (IBD). Tieto látky podliehajú komplexnému metabolizmu, do ktorého sú zapojené viaceré enzýmy.

Táto práca bola orientovaná na separáciu tiopurínových metabolitov predovšetkým metylmerkaptopurínu (6-MP) v prítomnosti liečiv využívaných pri liečbe Crohnovej choroby. 6-MP je hlavný produkt reakcie jedného z najdôležitejších enzýmov zapojených do metabolizmu tiopurínov - tiopurín-S-metyltransferáza (TPMT). Porovnaná bola separácia na troch analytických kolónach: HPLC-LiChrospher 100 x RP-8, 125 x 4 mm, 5 µm; Kinetex 1,7 µm F5100, 50 x 2,1 mm; a ZIC-HILIC 3,5 µm, 100 x 2,1 mm. Použitá bola gradientová elúcia s prietokovými rýchlosťami 0,2 – 0,4 ml/min pri teplote 35 °C a injektovaných objemoch 10 µl (5 µl v prípade HILIC kolóny). Separácia bola vykonaná za použitia 10 mmol/l mravčanu amonného s pH upraveným na 3,1 kyselinou mravčou (A) a acetonitrilu (B) ako mobilných fáz. Detekcia bola uskutočnená hmotnostným spektrometrom Agilent 6520 Accurate Mass Q-TOF LC/MS a UV detektorom Agilent 1290 DAD.

Metóda bola lineárna v intervale 0,1 – 5 µmol/l pre MS detektor a v intervale 0,1 – 100 µmol/l pre DAD detektor. Medza dôkazu bola 0,093802 µmol/l pre MS detektor, resp. 0,884092 µmol/l pre DAD detektor. Medza stanovenia pre MS detektor bola 0,312674 µmol/l a 2,946972 µmol/l pre DAD detektor.

Vyvinutá metóda bude použitá pre stanovenie aktivity TPMT v reálnych matriciach od pacientov nastavených na tiopurínovú liečbu.

SPOJENIE DVOJDIMENZIONÁLNEJ KAPILÁRNEJ ELEKTROFORÉZY S TANDEMOVOU HMOTNOSTNOU SPEKTROMETRIOU A ICH VYUŽITIE V PROBLEMATIKE ENANTIOMÉRNÝCH SEPARÁCIÍ

PIEŠŤANSKÝ JURAJ ^{1,2}, MARÁKOVÁ KATARÍNA ^{1,2}, MIKUŠ PETER^{1,2}

¹ *Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta UK, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava; piestansky@fpharm.uniba.sk*

² *Toxikologické a antidopingové centrum, Farmaceutická fakulta UK, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava*

Chirálné molekuly z pohľadu farmácie reprezentujú zaujímavé látky, pretože ich účinok je v mnohých prípadoch viazaný na jeden z enantiomérov takýchto zlúčenín. Druhý z enantiomérov môže byť zas spojený s prejavmi závažných nežiaducich účinkov, resp. môže reprezentovať neprimeranú/nadmernú záťaž pre organizmus. V praxi je preto potrebné disponovať takými analytickými metódami, ktoré sú schopné relatívne rýchlo a účinne separovať jednotlivé enantioméry biologicky aktívnych látok za ich súčasnej jednoduchej identifikácie a kvantifikácie. Jednou z takýchto metód je v súčasnosti i kapilárna elektroforéza (CE). Popri dominantných a konvenčne používaných chromatografických metódach predstavujú techniky CE na základe svojej relatívnej jednoduchosti a vysokej miery variability významný analytický nástroj v prípade separácie ionogénnych látok. Z hľadiska prevedenia chirálnych separácií je táto analytická metóda mimoriadne cenovo výhodná, keďže k uskutočneniu príslušného typu separácií je potrebná jedine implementácie vhodného chirálneho selektora do elektrolytového systému CE, čo v praxi predstavuje jednoduchý proces rozpustenia chirálneho selektora v elektrolyte. Takýmto spôsobom odpadá potreba použitia veľmi drahých chirálnych kolón, ktoré sú typické a potrebné pre prevedenie separácie pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC).

Dvojdimenziálna CE (2D-CE) kombinujúca spojenie kapilárnej izotachoforézy a kapilárnej zónovej elektroforézy predstavuje mimoriadne citlivý analytický nástroj, ktorého použitím je možné niekoľkonásobne znížiť medze detekcie analytov ionogénneho charakteru, a tak posunúť analýzu samotnú do stopových oblastí, a to len s použitím konvenčných detekčných techník využívajúcich UV-VIS spektrofotometriu. On-line spojenie takéhoto 2D-CE systému s vysoko citlivými a selektívnymi detekčnými technikami, akou je tandemová hmotnostná spektrometria umožňuje posun analýz až do ultrastopových oblastí, čo vo významnej miere prispieva k detailnejšiemu monitorovaniu hladín liečiv a ich metabolitov, resp. hladín biologicky významných látok v biologických tekutinách ľudského organizmu. Spojenie 2D-CE s tandemovou hmotnostnou spektrometriou v oblasti chirálnych separácií môže reprezentovať významný posun nielen v oblastiach jednoduchej kontroly kvality chirálnych liečiv, ale i vo

farmakokinetickom a/alebo farmakodynamickom popise ich správania sa v ľudskom organizme.

Kľúčové slová: Kapilárna elektroforéza. Izotachoforéza. Hmotnostná spektrometria. Feniramín. Chirálny selektory. Enantioména separácia.

Pod'akovanie: Táto práca vznikla s podporou grantov VEGA 1/0873/15, KEGA O22UK-4/2015 a grantu Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského FaF UK/3/2016.

STANOVENIE VYBRANÝCH PRVKOV V RÔZNYCH TYPOCH VÔD

PLANKOVÁ ALEXANDRA, GAJDOŠ RICHARD, KAJAN MAREK, DŽURINOVÁ
RADKA, MIKUŠ PETER

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR; plankova@fpharm.uniba.sk

Zdravé životné prostredie je popri životnom štýle človeka jeden z rozhodujúcich činiteľov ovplyvňujúci zdravotný stav obyvateľstva. V posledných desaťročiach stúpa záujem o štúdium účinku prvkov na rastliny, živočíchy a hlavne človeka. Skúsenosti s nutričnými chorobami domácich zvierat poukazujú na mnohé situácie, pri ktorých geochemické charakteristiky môžu mať výrazný vplyv na zdravie alebo produktivitu v súvislosti so zdrojom stopových prvkov. Uvedené výskumy poukazujú na zmeny v pôde a úrode rastúcej na nej, hlavne z dôvodu znečisťovania vôd chemickými látkami. Znečisťujúce látky sa tak hromadia v potravinom reťazci a ľudia sú vystavení ich nežiadúcim účinkom práve konzumáciou pitnej vody, rýb, zeleniny,... a v neposlednom rade i rekreačnými aktivitami. Znečisťujúce látky prenikajú do životného prostredia z poľnohospodárstva, priemyslu, či už ako hlavné alebo neúmyselne vypúšťané vedľajšie produkty spaľovania,... Preto, z dôvodu ochrany vôd ako aj ich zachovania pre následujúce generácie, jedným z dôležitých cieľov je základný monitoring niektorých ťažkých kovov v rôznych typoch vôd. (1)

Cieľom našej práce bolo stanovenie vybraných prvkov v rôznych typoch vôd z okresu Nové Zámky metódou diferenčnej pulznej voltampérometrie. Pri stanoveniach bol použitý elektrochemický analyzátor 663 VA Stand for Metrohm Autolab. Výhodami použitej metódy sú nízka medza stanoviteľnosti, správnosť výsledkov, dobrá reprodukovateľnosť meraní, ako i polykomponentnosť, rýchlosť a ekonomičnosť. Výsledky nášho stanovenia prvkov boli verifikované s výsledkami získanými metódami - hmotnostná spektrometria s indukčne viazanou plazmou a atómová emisná spektrometria s indukčne viazanou plazmou.(2,3)

Práca bola podporená grantovou úlohou grantovej agentúry MŠ SR VEGA č. 1/0873/15.

(1) Planková A, Havránek E, Mikuš P: Využitie galvanostatickej rozpúšťacej chronopotenciometrie pri analýze vybraných prvkov vo vzorkách biologického pôvodu. Pokroky vo farmaceutickej chémii I., s. 131-140, 2016

(2)GAJDOŠ, Richard. Stanovenie vybraných prvkov vo vzorkách vôd zo Slovenska. [Diplomová práca]. Richard Gajdoš. - Univerzita Komenského v Bratislave. Farmaceutická fakulta; Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie. Školiteľ: RNDr. Alexandra Planková, PhD., Bratislava, FaF UK, 2016, počet strán: 106 s.

(3)KAJAN, Marek. Analýza vôd diferenčnou pulznou voltampérometriou. [Diplomová práca]. Marek Kajan, - Univerzita Komenského v Bratislave. Farmaceutická fakulta, Katedra

farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie. Školiteľ: RNDr. Alexandra Planková, PhD.,
Bratislava, FaF UK, 2016, počet strán: 100.

3-AMINOPYRAZINE-2-CARBOXAMIDES: MICROWAVE ASSISTED SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION

SEMELKOVÁ LUCIA ¹, CARLOS FERNANDES ², KONEČNÁ KLÁRA ¹, PATEROVÁ PAVLA ³, DOLEŽAL MARTIN ¹

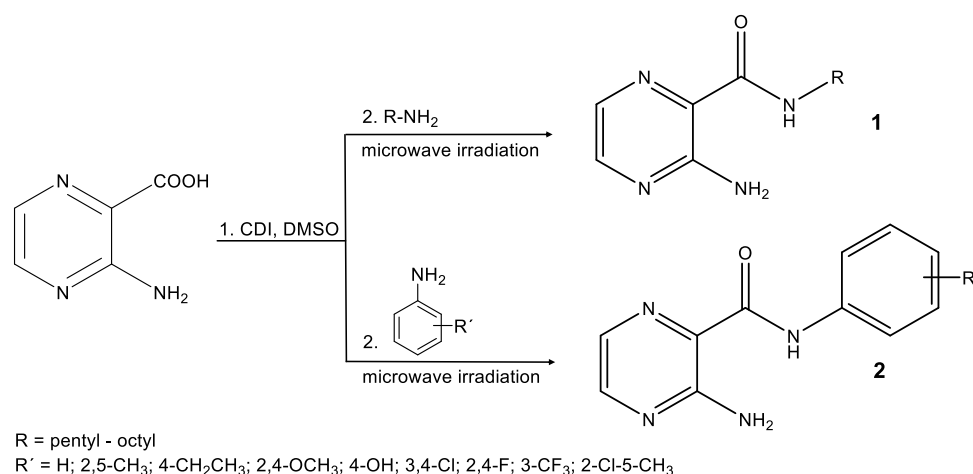
¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic; semelkol@faf.cuni.cz

² Faculty of Pharmacy in Porto, University of Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal

³ Department of Clinical Microbiology, University Hospital, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic

Pyrazine is a small heterocycle, which is suitable for various chemical modifications. Pyrazine occurs as a part of many significant biologically active substances and clinically used drugs. One of the most important pyrazine derivatives is pyrazinamide. This first-line antitubercular drug plays a unique role in tuberculosis treatment for its sterilizing effect on semi-dormant tubercle bacilli and helps to shorten the duration of the treatment.¹

In this work we focused on preparation of 3-aminopyrazine-2-carboxamide derivatives. Two series of *N*-alkyl-3-aminopyrazine-2-carboxamides (**1**) and substituted 3-amino-*N*-phenylpyrazine-2-carboxamides (**2**) were synthesized. The starting 3-aminopyrazine-2-carboxylic acid reacted with carbonyldiimidazole (CDI) to obtain a semi-product, which was converted to final structure by reaction with alkylamine or substituted aniline. Microwave irradiation was used to form amide bond.



Prepared compounds were characterized with analytical data and tested *in vitro* for their antimycobacterial (*M. tuberculosis* H37Rv, *M. avium*, *M. kansasii* and *M. smegmatis*), antibacterial and antifungal activity. Activity was expressed as minimal inhibitory

concentration in $\mu\text{g/mL}$ for mycobacterial strains and in $\mu\text{mol/L}$ for bacterial and fungal strains. 3-Amino-*N*-octylpyrazine-2-carboxamide exerted moderate activity against *M. tuberculosis* and *M. avium* (MIC = 50 $\mu\text{g/mL}$) and interesting activity against *M. kansasii* (MIC = 25 $\mu\text{g/mL}$).

The most active compound against *Candida albicans* was compound 3-amino-*N*-(4-ethylphenyl)pyrazine-2-carboxamide with MIC = 7.81 $\mu\text{mol/L}$ and 3-amino-*N*-(3-(trifluoromethyl)phenyl)pyrazine-2-carboxamide was the most effective substance against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* with MIC = 1,95 $\mu\text{mol/L}$. Structure activity relationship will be discussed.

The study was supported by the Grant Agency of Charles University, project B-CH/1594214 and SVV 260 291.

References

¹ Singh, P., et al. The paradox of pyrazinamide: an update on the molecular mechanisms of pyrazinamide resistance in Mycobacteria. *Journal of Communicable Diseases*, **2006**, 38.3: 288

MODELING B-GLUCOCEREBROSIDASE DEFICIENCY IN EPIDERMIS: EFFECTS OF GLUCOSYLCERAMIDES/CERAMIDES RATIO ON BARRIER PROPERTIES OF MODEL STRATUM CORNEUM LIPID MEMBRANES

SOCHOROVÁ M., STAŇKOVÁ K., PULLMANNOVÁ P., KOVÁČIK A., VÁVROVÁ K.

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; sochormi@faf.cuni.cz*

Glucosylceramides (GCer) are precursors for all ceramide (Cer) types in the stratum corneum (SC) and their hydrolysis by β -glucocerebrosidase (GCerase) is important in the formation of the epidermal permeability barrier. [1] Decrease in Cer content in patients with Gaucher disease is related to decreased GCerase activity. [2] We studied how the presence of GCer and/or lack of Cer influences permeability barrier properties of model SC lipid membranes.

The SC model membranes were prepared as an equimolar mixture of Cer or GCer in different ratios, Chol, FFA and 5% of CholS. We used the full spectrum of isolated human SC Cer (hCer). hCer were in the membranes subsequently replaced by 5, 10, 25, 50 and 100% of GCer. Also membranes with decreased hCer fraction were prepared. Four permeability markers – water loss through the membrane (TEWL), opposition to electrical current and steady state fluxes of theophylline and indomethacin, were evaluated. The membrane microstructure was characterized by X-ray diffraction. The replacement of 5 – 25% of hCer by GCer led to impairment of the permeability of the prepared membranes to all 4 permeability markers. At these concentrations, the presence of GCer is a stronger contributor to this disturbance than a lack of hCer. The reduction of hCer to 50 or 0% showed that the lack of hCer disturbs the barrier, while the larger GCer/hCer ratio or complete replacement of hCer by GCer has no negative effects on permeability.

In conclusion, we confirmed that the accumulation of free GCer associated with their incomplete processing contributes to altered permeability barrier properties in skin disorders. However, this barrier perturbation by free GCer seems to be concentration-dependent.

This work was supported by the Czech Science Foundation (13-23891S) and Charles University in Prague (GAUK 936216, 1868214, 88615 and SVV 2016-260291).

1. Jennemann, R., Sandhoff, R., Langbein, L., Kaden, S., Rothermel, U., Gallala, H., Sandhoff, K., Wiegandt, H., Gröne, H. J. *J Biol Chem* 2007; 282(5): 3083-3094.
2. Holleran, W. M., Ginns, E. I., Menon, G. K., Grundmann, J. U., Fartasch, M., Mckinney, C. E., Elias, P.M., Sidransky, E. *J Clin Invest* 1994; 93(4): 1756-1764.

DEVELOPMENT OF UHPLC-MS/MS METHOD FOR DETERMINATION OF EIGHT CATECHIN DERIVATIVES IN TEA SAMPLES AND THE ROLE OF MATRIX EFFECTS

PAVEL SVOBODA¹, HANA VLČKOVÁ¹, LUCIE NOVÁKOVÁ¹

¹ Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical Chemistry, Heyrovského 1203, 500 05, Hradec Králové, svobodp1@faf.cuni.cz

Catechins show various health beneficial effects and they are best known for their antioxidant activity. High amount of these flavan-3-ol derivatives is contained in leaves of *Camellia sinensis* (Theaceae). Post-harvest processing of tea leaves is an important factor determining a type of tea and affecting tea polyphenol content and also polyphenol composition. According to the level of fermentation, three basic tea types are distinguished including non-fermented green tea, partially fermented oolong tea and fully-fermented black tea. Fermentation is an enzymatic oxidation process that converts monomeric phenolic compounds into dimers, oligomers and polymers. Therefore, monomeric catechins predominate in green tea whereas dimeric and polymeric theaflavins and thearubigins in black tea.

The major catechins contained in fresh tea leaves include epigallocatechin gallate, epigallocatechin, epicatechin gallate and epicatechin. During post-harvest processing and storage of the tea leaves catechins are prone to oxidation, epimerization, polymerization and degradation. Oxygen, humidity, temperature, metal ions and pH of the system cause these chemical changes. UHPLC-MS/MS method was developed and validated to determine these catechins and their non-epimeric forms in tea infusions. Sample preparation step and chromatographic separation were simplified as much as possible to speed up the analysis and thus decrease the risk of analyte degradation.

Complex matrices such as tea leaves contain a lot of constituents that may co-elute with the target analytes and then influence their ionization in the ion source of the mass spectrometer. This results in a matrix effect phenomenon which is considered as the most important drawback of the LC-MS coupling. To get rid of these undesirable effects high dilution of the formed tea infusion was applied as higher dilution leads to higher probability of matrix effect elimination.

The resulting UHPLC-MS/MS method was employed for determination of eight catechin derivatives in flavored and unflavored green, white and black tea samples.

The authors gratefully acknowledge the financial support of the Charles University in Prague; SVV 260 292.

HETEROCYKlickÉ SLOUČENINY OBSAHUJÍCÍ 3,5-DINITROFENYLOVÝ FRAGMENT: STUDIUM VZTAHŮ MEZI STRUKTUROU A ÚČINKEM

VALÁŠKOVÁ L¹, ROH J¹, KARABANOVICH G¹, NĚMEČEK J¹, ČONKA P¹,
STOLAŘÍKOVÁ J², VÁVROVÁ K¹, KLIMEŠOVÁ V¹, HRABÁLEK A¹

¹ Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Karlova
Univerzita v Praze, Česká Republika

² Laboratoř pro diagnostiku mykobakterií, Státní zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Ostrava, Česká
Republika; e-mail: valaskl1@faf.cuni.cz

Tuberkulóza (TB) je infekční onemocnění, které se i přes existenci účinné terapie a očkování nedaří dostat pod kontrolu. Naopak, velkou komplikací léčby TB se stávají rezistentní kmeny *Mycobacterium tuberculosis*, jejichž výskyt se zvyšuje díky nedostatečné zdravotnické péči v nejvíce zasažených regionech a faktu, že několik desítek let nebyla uvedena do širší klinické praxe žádná nová léčiva. Až v roce 2011 a 2012 byly schváleny dvě nové antituberkulotická léčiva, avšak pouze pro léčbu onemocnění způsobených rezistentními kmeny, kde již selhala standardní terapie.

V naší skupině byly vyvinuty substituované tetrazoly a oxadiazoly obsahující ve své struktuře 3,5-dinitrofenylové uskupení. Tyto látky vykazují vysokou a selektivní *in vitro* účinnost proti mykobakteriím, včetně multirezistentních kmenů, a nízkou *in vitro* cytotoxicitu proti lidským buněčným liniím. Navíc bylo v *in vitro* studiích prokázáno, že studované nitro látky nemají genotoxické či mutagenní účinky.

V této práci jsme se zaměřili na studium klíčového 3,5-dinitrofenylového uskupení. Byly připraveny deriváty s dalším substituentem v poloze 2 nebo 4 a navíc byly připraveny analogy, ve kterých byla jedna nitroskupina nahrazena jinou elektronakceptorovou skupinou. U připravených látek byly studovány vztahy mezi jejich strukturou a antimykobakteriálním účinkem.

Tato práce byla podpořena Grantovou Agenturou Univerzity Karlovy (projekt 361215/2015), Grantovou Agenturou České Republiky (projekt GAČR 14-08423S) a Karlovou Univerzitou v Praze (projekt SVV 260 291).

SYNTÉZA A ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA NOVÝCH SULFATHIAZOLOVÝCH DERIVÁTŮ

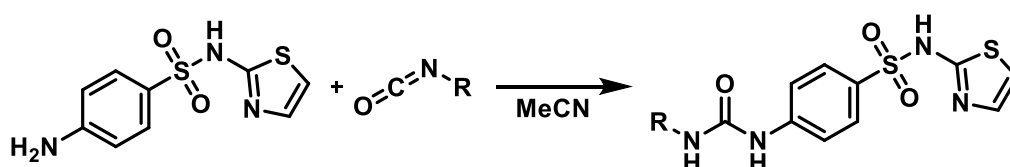
VOSÁTKA RUDOLF, KRÁTKÝ MARTIN, KUFA MARTIN, VINŠOVÁ JARMILA

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; vosatkar@faf.cuni.cz

Tuberkulóza (TB) a její rezistentní formy – multirezistentní (MDR-TB), extenzivně rezistentní (XDR-TB) a totálně rezistentní (TDR) TB – patří celosvětově mezi jedny z nejčastějších příčin úmrtí mezi infekčními chorobami, především v rozvojových zemích. Léčba TB je zdlouhavá, podle typu rezistence trvá 6-18 měsíců a vyžaduje vždy kombinaci několika antituberkulotik najednou. S délkou a složitostí léčby roste riziko nárůstu rezistence, zátěž pro organismus i ekonomiku a vysoký podíl vedlejších účinků antituberkulotik¹.

Sulfonamidy jsou chemoterapeutiky, která byla v minulosti široce studována a využívána k léčbě bakteriálních a protozoárních chorob, ovšem jejich význam poklesl kvůli nárůstu získané rezistence². Bylo ovšem prokázáno, že kmeny *M. tuberculosis* včetně těch rezistentních jsou *in vitro* citlivé na klinicky dosažitelné koncentrace sulfonamidů, ev. v kombinaci s trimethoprimem, což opět nastartovalo další výzkum sulfonamidů jakožto potenciálních antimykobakteriálních látek, a to i vůči atypickým kmenům³.

Schéma 1. Schéma přípravy derivátů sulfathiazolu v prostředí acetonitrilu (MeCN) při teplotě varu, kdy R = alkyl, cykloalkyl, aryl či arylalkyl.

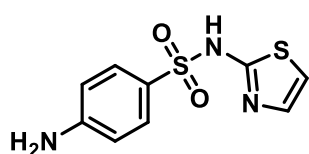


Připravené močoviny na bázi sulfathiazolu byly hodnoceny *in vitro* vůči *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv a atypickým mykobakteriím (*M. avium*, *M. kansasii*). Nejlepších hodnot

dosahovaly sulfathiazolové močoviny odvozené od cyklohexyl- a fenethyl isokyanátu (viz Tabulka 1.).

V alkylové řadě methyl- až dodecyl- dosahoval nejlepších MIC hodnot methyl-, což by nasvědčovalo preferenci méně objemného substituentu. To ovšem bylo vyvráceno kondenzací sulfathiazolu s objemnými cyklohexylem a fenethylem, kdy byly získány nejefektivnější deriváty z celé řady. Významné je zejména zjištění, že jejich aktivita proti *M. tuberculosis* výrazně převyšuje výchozí sulfathiazol. Pro stanovení přesnějších a spolehlivějších SAR je tedy další rozšíření této syntetické knihovny nezbytné.

Tabulka 1. Neaktivnější deriváty sulfathiazolu



MIC [μM]

R	<i>M. tuberculosis</i>		<i>M. avium</i>		<i>M. kansasii</i>			<i>M. kansasii</i>		
	331/88		330/88		235/80			6509/96		
	14 d	21 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d
Cyklohexyl	4	8	62,5	125	4	4	8	4	8	16
Fenethyl	4	4	32	62,5	4	4	4	2	4	4
Sulfathiazol	32	62,5	62,5	62,5	2	4	4	1	2	2
INH	0,5	0,5	>250	>250	>250	>250	>250	4	8	8

Citace:

1. Global tuberculosis report 2014, http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (citováno 21-4-2016)

2. J. D. Smilack, Mayo Clin. Proc., 74, 1999, 730-734.

3. M. Krátký et al., Chem. Pap., 69, 2015, 1108-1117.

DETERMINATION OF EFAVIRENZ USING HPLC-UV METHOD – A PHARMACOLOGICAL STUDY

ZELENÁ LUCIE¹, ŘEZNÍČEK JOSEF², ČEČKOVÁ MARTINA², SKLENÁŘOVÁ HANA¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; zelenal@faf.cuni.cz*

² *Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakologie a toxikologie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové*

A study with drug efavirenz (EFV), a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, used in combination with other drugs in treatment of HIV-patients, was performed by the Group of Experimental Pharmacology and Toxicology. The aim of this experimental work was to develop an HPLC method for analysis of EFV in biological samples obtained in this study.

Three sample types with different matrices were analyzed – samples from transport studies on cellular models (A), samples from perfusion of rat placenta (B) and placenta lysate samples after perfusion (C). Because of low real sample volume (50 – 100 µL), commonly used techniques such as liquid-liquid extraction and solid-phase extraction were excluded. Filtration of samples accelerated by centrifugation was tested, but without sufficient results. Finally, direct injection of samples in OptiMEM® medium (A) after dilution with internal standard (IS) and direct injection of samples in Krebs perfusion liquid (B) without any treatment (no sufficient IS was found) onto analytical column with high pore size (5 µm) guarded with pre-column was used. Placenta lysates (C, volume of 1 mL) were treated by SPE procedure, evaporated, reconstituted in mobile phase and measured.

Analyses of all sample types were performed on HPLC system Nexera X2 (Shimadzu Corporation, Japan) using Discovery HS C18 analytical column (150 mm × 4.6 mm, particle size of 5 µm) with OptiGuard 1 mm C18 guard column (SUPELCO) under following conditions: mobile phase ACN-water (65:35, v/v), flow rate of 1.6 ml/min, temperature of 25°C, sample volume of 10 µL and UV detection at 245 nm. Sample analysis took 5 minutes. HPLC method was optimized and validated for each type of matrix. 820 real samples were analyzed and obtained data will be used by the Group of Experimental Pharmacology and Toxicology.

The authors acknowledge support of the Project of specific research, SVV 260 292, and by the Grant Agency of the Czech Republic, GACR P303/120850.

HPLC ANALYSIS OF TIAPROFENIC ACID IN WHOLE BLOOD USING SOLID-PHASE MICROEXTRACTION

MOKRÝ MILAN, SOCHOR JAROSLAV

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; mokry@faf.cuni.cz

A simple method for quantification of tiaprofenic acid in blood by solid-phase microextraction coupled off-line with high-performance liquid chromatography has been developed. Tiaprofenic acid /2-(5-benzoyl-2-thienyl)propionic acid/ is classified as non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). NSAIDs are most frequently prescribed in rheumatology for their analgesic and anti-inflammatory effect. The best extraction conditions were obtained when fiber was immersed into diluted blood sample, pH of which had been adjusted to 2.9 by phosphoric acid (10%) and centrifuged. Sorption of tiaprofenic acid onto the fiber was being executed for 20 min, whereas desorption to 200 μ l of methanol lasted 15 min. The analysis was performed on reverse phase column, mobile phase was methanol-phosphate buffer 3:2 (pH 3.0) and detection at 306 nm. 20 μ l was injected. Naproxen was used as an internal standard for quantitative determination. After developing the method it was validated; it showed a good linearity (10 to 500 μ g ml⁻¹), with the regression coefficient of 0.997. The photosensitivity of tiaprofenic acid was taken into account. The method was used for determination of tiaprofenic acid concentration in rabbit blood.

PŘEHLED ÚČASTNÍKŮ A PŘÍSPĚVKŮ

Agostinho Monteiro Sara Eunice	S-5; P-39
Balažová Andrea	P-1; P-10; P-36
Bilková Andrea	P-2
Breiterová Kateřina	P-3
Bureš Jan	P-4
Czigle Szilvia	S-2
Čeřovský Václav	L-5
Denderz Natalia	S-6
Dohnal Jiří	L-7, S-4
Doležal Martin	P-14; P-45
Džurinová Radka	P-5; P-44
Farsa Oldřich	S-9
Faustmannová Anna	P-6
Fibigr Jakub	P-7
Goněc Tomáš	P-8
Havelková Markéta	P-9
Havránek Emil	P-30; P-34
Holková Ivana	P-2; P-10
Horký Pavel	P-11
Hroboňová Katarína	S-1
Hrabálek Alexandr	bez příspěvku
Hrušková Zuzana Rania	S-14
Hulcová Daniela	P-13
Chocholouš Petr	S-3
Jandourek Ondřej	P-14
Javorská Lenka	P-15
Ježko Pavol	P-16
Jurkaninová Sabína	P-17
Kapustíková Iva	P-18
Karabanovich Galina	S-8; P-4
Klimeš Jiří	bez příspěvku
Kohlová Michaela	P-20
Kollár Jan	P-22
Kollár Jakub	P-21
Kopečná Monika	P-23
Kováčik Andrej	S-11; P-38
Krátký Martin	S-7; P-49
Kroutil Aleš	P-24
Krzykała Klaudia	P-25
Kubíček Vladimír	P-26
Kučerová Marta	S-12; S-16;
Kučerová Kateřina	P-27
Kuneš Jiří	P-3; P-13
Lhotská Ivona	P-28
Lochman Lukáš	S-13; P-29;
Lukačovičová Oľga	P-30
Maráková Katarína	P-31; P-43
Matouš Petr	P-33
Mikulová Mária	P-34
Mikuš Peter	P-5; P-31; P-42; P-43; P-44
Mokrý Petr	P-32
Mokrý Milan	P-51

Motyčka Jozef.....	P-35
Mučaji Pavel.....	P-36
Mučajiová Ivana.....	bez příspěvku
Musílek Kamil.....	S-4
Musiol Robert.....	P-25
Necka Radim.....	bez příspěvku
Němeček Jan.....	P-37; P-48
Nobilis Milan.....	bez příspěvku
Nováková Veronika.....	P-13; P-22
Opálka Lukáš.....	S-11; P-38
Opatřilová Radka.....	bez příspěvku
Opletalová Veronika.....	S-12; -16
Paraskevopoulos Georgios.....	P-39
Parmová Martina.....	P-40
Pavlík Jakub.....	P-41
Pecher Daniel.....	P-31; P-42
Piešťanský Juraj.....	P-31; P-43
Pilařová Pavla.....	P-19
Planková Alexandra.....	P-44
Pour Milan.....	bez příspěvku
Rádl Stanislav.....	L-1;
Semelková Lucia.....	P-45
Sklenářová Hana.....	S-10; P-50
Sochorová Michaela.....	P-38
Spaczyńska Ewelina.....	bez příspěvku
Svoboda Pavel.....	P-41
Špulák Marcel.....	S-14
Tóth Jaroslav.....	S-2
Valášková Lenka.....	P-48
Vávrová Kateřina.....	L-3; S-11; P-23; P-38
Vinšová Jarmila.....	S-7; P-39; P-49
Vosátka Rudolf.....	P-49
Zelená Lucie.....	S-10; P-50
Zimčík Petr.....	S-13; P-22
Zitko Jan.....	L-4

ADRESÁŘ ÚČASTNÍKŮ

Msc. Sara Eunice Agostinho Monteiro
Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Studentská 573
Pardubice 532 10
st50369@student.upce.cz

PharmDr. Andrea Balažová PhD.
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
balazova@fpharm.uniba.sk

Mgr. Andrea Bilková PhD.
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
bilkova@fpharm.uniba.sk

Mgr. Kateřina Breiterová
Katedra farmaceutické botaniky a ekologie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
breiterk@faf.cuni.cz

Mgr. Jan Bureš
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
burej7ba@faf.cuni.cz

RNDr. Václav Čeřovský, CSc.
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo náměstí 542/2
166 10 Praha 6
radim.nencka@uochb.cas.cz

doc. PharmDr. Szilvia Czige PhD.
Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
czigle@fpharm.uniba.sk

Mgr. Natalia Denderz PhD.
Fakulta chemickej a potravinárskej
technológie
Radlinského 9
812 37 Bratislava
natalia.denderz@stuba.sk

prof. PharmDr. Martin Doležal Ph.D.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
dolezalm@faf.cuni.cz

doc. Ing. Jiří Dohnal Ph.D., MBA
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
dohnalj@vfu.cz

Mgr. Radka Džurinová
Katedra farmaceutické analýzy a nukleárnej
farmácie
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
radka.dzurinova@gmail.com

doc. PharmDr. Oldřich Farsa Ph.D.
Ústav chemických léčiv
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
farsao@vfu.cz

Anna Faustmannová
Ústav chemických léčiv
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
Annafaustmannova@seznam.cz

Mgr. Jakub Fibigr
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
fibigrja@faf.cuni.cz

PharmDr. Tomáš Goněc, Ph.D.
Ústav chemických léčiv
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
tgonec@vfu.cz

Markéta Havelková
Ústav chemických léčiv
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
makynahavik@seznam.cz

prof. RNDr. Emil Havránek PhD
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
havranek@fpharm.uniba.sk

Mgr. Ivana Holková, PhD.
Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Kalinčiakova 8
832 32 Bratislava
holkova@fpharm.uniba.sk

Mgr. Pavel Horký
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
horkyp@faf.cuni.cz

Prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
hrabalek@faf.cuni.cz

doc. Ing. Katarína Hroboňová, PhD.
Oddelenie analytickej chemie
Slovenská technická univerzita v Bratislave
Fakulta chemickej a potravinárskej chémie
Radlinského 9
812 37 Bratislava
katarina.hrobonova@stuba.sk

Mgr. Kateřina Hrušková
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
hruusk4aa@faf.cuni.cz

Mgr. Daniela Hulcová
Katedra farmaceutické botaniky a ekologie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
hulcovd@faf.cuni.cz

PharmDr. Petr Chocholouš Ph.D.
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
chocholous@faf.cuni.cz

Mgr. Ondřej Jandourek
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
jando6aa@faf.cuni.cz

Mgr. Lenka Javorská
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
javorskl@faf.cuni.cz

PharmDr. Pavol Ježko PhD.
Katedra farmaceutickej chémie
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
jezko@fpharm.uniba.sk

prof. RNDr. Jíří Klimeš CSc.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
jiri.klimes@faf.cuni.cz

PharmDr. Jiří Kuneš CSc.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
kunes@faf.cuni.cz

Mgr. Ivona Lhotská
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
lhotski@faf.cuni.cz

Mgr. Lukáš Lochman
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
lochmanl@faf.cuni.cz

Ing. Ol'ga Lukačovičová PhD.
Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
lukacovicova@fpharm.uniba.sk

PharmDr. Katarína Maráková PhD
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
marakova@fpharm.uniba.sk

Mgr. Petr Matouš
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
matousp1@faf.cuni.cz

PharmDr. Mária Mikulová
Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
mikulova@fpharm.uniba.sk

doc., RNDr. Peter Mikuš PhD.
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
mikus@fpharm.uniba.sk

Mgr. Petr Mokřý Ph.D.
Ústav chemických léčiv
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Farmaceutická fakulta
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
mokryp@vfu.cz

RNDr. Milan Mokřý CSc.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
mokry@faf.cuni.cz

RNDr. Jozef Motyčka
Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej
farmácie
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
jozef.motycka@gmail.com

prof. PharmDr. Pavel Mučaji, PhD.
Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
mucaji@fpharm.uniba.sk

PharmDr. Ivana Mučajiová
Univerzitná Nemocnica Bratislava
Nemocnica Ružinov
Ružinovská 6
826 06 Bratislava
ivana.mucaji@gmail.com

doc. PharmDr. Kamil Musílek Ph.D.
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Centrum biomedicínskeho výzkumu
Sokolská 581
50005 Hradec Králové
kamil.musilek@gmail.com

Robert Musiol Ph.D.
University of Silesia
Szkolna 9
Katowice 40-007 (Polsko)
robert.musiol@us.edu.pl

Mgr. Radim Necka, Ph.D.
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo náměstí 542/2
166 10 Praha 6
radim.nencka@uochb.cas.cz

Mgr. Jan Němeček
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
nemej6aa@faf.cuni.cz

prof. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
milan.nobilis@faf.cuni.cz

doc. PharmDr. Veronika Nováková Ph.D.
Katedra biofyziky a fyzikální chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
veronika.novakova@faf.cuni.cz

Mgr. Lukáš Opálka
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
opall6aa@faf.cuni.cz

doc. PharmDr. Ing. Radka Opatřilová Ph.D.,
MBA
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Palackého tř. 1/3
612 42 Brno
opatrilovar@vfu.cz

doc. RNDr. Veronika Opletalová Ph.D.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
opletalova@faf.cuni.cz

Dr Georgios Paraskevopoulos PhD
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
paraskeg@faf.cuni.cz

Mgr. Martina Parmová
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
parmovam@faf.cuni.cz

Mgr. Jakub Pavlík DiS.
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
pavlikja@faf.cuni.cz

Mgr. Daniel Pecher
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
pecher1@uniba.sk

PharmDr. Juraj Piešťanský PhD.
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
piestansky@fpharm.uniba.sk

PharmDr. Pavla Pilařová, Ph.D.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
pavla.pilarova@faf.cuni.cz

RNDr. Alexandra Planková PhD.
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
plankova@fpharm.uniba.sk

prof. RNDr. Milan Pour PhD.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
milan.pour@faf.cuni.cz

Doc. Ing. Stanislav Rádl CSc.
Zentiva
U kabelovny 130
102 37 Praha 10
stanislav.radl@zentiva.cz

Mgr. Lucia Semelková
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
semelkol@faf.cuni.cz

doc. PharmDr. Hana Sklenářová Ph.D.
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
sklenarova@faf.cuni.cz

Mgr. Michaela Sochorová
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
sochormi@faf.cuni.cz

Mgr. Ewelina Spaczyńska
University of Silesia in Katowice
Szkolna 9
40-007 Katowice (Polsko)
ewelina.spaczynska@gmail.com

Mgr. Pavel Svoboda
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
svobodp1@faf.cuni.cz

PharmDr. Marcel Špulák, Ph.D.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
spulak@faf.cuni.cz

Dana Štěpánová
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
stepanod@faf.cuni.cz

Mgr. Jaroslav Tóth, PhD.
Katedra farmakognózie a botaniky
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta
Odbojárov 10
832 32 Bratislava
Toth@fpharm.uniba.sk

Mgr. Lenka Valášková
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
valaskl1@faf.cuni.cz

doc. PharmDr. Kateřina Vávrová Ph.D.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
katerina.vavrova@faf.cuni.cz

Prof. RNDr. Jarmila Vinšová CSc.
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
vinsova@faf.cuni.cz

Mgr. Rudolf Vosátka
Katedra anorganické a organické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
vosatkar@faf.cuni.cz

Mgr. Lucie Zelená
Katedra analytické chemie
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
zelenal@faf.cuni.cz

Doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly
léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
petr.zimcik@faf.cuni.cz

PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.
Katedra farmaceutické chemie a kontroly
léčiv
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
jan.zitko@faf.cuni.cz