

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Student: Mgr. Martin Novák
Název práce: Využití HPLC-HRMS pro studium látek ze skupiny takrinu potencionálně využitelných v terapii Alzheimerovy choroby
Posudek zpracoval: doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D.

Tématem disertační práce předložené Mgr. Martinem Novákem je využití kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií pro studium látek ze skupiny takrinu potencionálně využitelných v terapii Alzheimerovy choroby. Disertace je předložena jako soubor komentovaných prací. V teoretickém úvodu se práce zabývá seznámením s Alzheimerovou chorobou a používanými léčebnými přístupy, včetně nových vývojových směrů. Dále je čtenář seznámen se základy farmakokinetiky léčiv, využitím techniky LC-MS při stanovení farmakokinetických parametrů a specifiky souvisejícími s přípravou vzorků v bioanalýze. Teoretickou sekci následuje seznámení s cíli práce a experimentální část, kde jsou představeny publikované odborné práce a jejich nejdůležitější závěry. Disertační práce je zakončena souhrnným závěrem, výtisky jednotlivých prací a seznamy výsledků prezentovaných na konferencích, účastí na grantech a absolvovaných stáží.

Na předložené práci velmi oceňuji systematický, precizně sepsaný a čtivý teoretický úvod, který čtenáře uvádí do studované problematiky, což je v případě podobných prací spíše výjimka.

Z experimentální části bych vyzdvihl zejména nové zajímavé poznatky související s mechanismem toxicity takrinu a jeho derivátů, včetně publikace poznatků v renomovaných zahraničních časopisech. Mimo obsahové stránky je práce kvalitně zpracována i stylisticky a gramaticky s minimálním výskytem chyb.

K vlastní práci mám následující připomínky a dotazy:

Připomínky

Str. 15) Přestože použití slova kalcium namísto vápník nelze chápat jako vyloženou chybu, tak pokud je práce psaná česky, vhodnější by bylo použít český termín.

Str. 17) V textu je uveden zkomolený termín estratické místo. Má být esteratické místo.

Str. 18-21) U takto laděné práce bych očekával, že text popisující preparáty využívané k léčbě AN bude doprovázen jejich strukturními vzorci.

Str. 24 a dále) Mimo slova biodostupnost by bylo asi vhodnější použít běžněji užívaný termín biologická dostupnost.

Str. 33) Namísto termínu „ethylene bridged technologie“ by bylo vhodnější použít častěji užívaný český termín „hybridní stacionární fáze“.

Str.37) Pokud budeme hovořit o Fourierově transformaci, tak zažitý termín je časová doména a frekvenční doména, ta odpovídá obdrženému hmotnostnímu spektru.

Str. 49) Kmen není outbradní, ale outbrední.

Dotazy

1. Str. 18) Patří glukuronidy do třídy metabolitů vznikajících prostřednictvím cytochromu P450? O kterou fázi metabolismu se zde jedná?
2. V práci zmiňujete zvýšenou hladinu apolipoproteinu E, jako jeden z rizikových faktorů rozvoje AN. To je velmi zajímavá informace. Máte představu o fyziologické funkci tohoto proteinu?
3. Zmiňujete, že jedním ze směrů vývoje nových léčiv je studium použití inhibitorů cyklin dependentní kinasy. Jaký je Váš názor na použití těchto inhibitorů z hlediska systémového působení?
4. V kapitole 2.4.2.4 uvádíte možnost v některých případech tolerovat horší chromatografickou separaci, pokud je spojena s MS detekcí. Můžete uvést příklad, nebo příklady, kdy si toto zanedbání naopak dovolit v žádném případě nemůžeme, ani v případě použití MS detektoru?
5. V práci uvádíte, že pro extrakci bylo bráno 160 μL plasmy a 1000 μL extrakčního činidla. To jsou na dnešní dobu poměrně velké objemy. V případě práce na malých laboratorních zvířatech a nutnosti odebrat více vzorků, např. pro kinetická měření, je 160 μL plazmy opravdu hodně. Proč jste při vývoji metody ne zvolil menší objemy?
6. Na straně 51 uvádíte, že z hlediska selektivity vyvíjené metody byla zajímavá pentafluorofenylová fáze, pravděpodobně díky π - π interakcím s analytem, nicméně použití phenyl-hexylové kolony podobný benefit nepřineslo, přestože pro tento typ fáze je π - π interakce možná ještě typičtější. Jaký typ interakce je čistě specifický pro PFP stacionární fáze, pokud srovnáme např. se zmíněnou phenyl-hexylovou, nebo oktadecylovou fází?
7. Str. 53) Myšlenku extrapolace separační metody otestované pouze na derivátech 7-MEOTA, 7-FEOTA a 6-Cl-takrinu, bez dalších úprav, na ostatní potencionální deriváty považuji za poměrně odvážnou. Můžete toto tvrzení podložit nějakými objektivními fakty? Spektrum nově syntetizovaných derivátů takrinu může být přece jen poměrně pestré, a ne vždy se domněnky o retenčním chování látek potkávají s realitou.

Závěr

Disertační práce obsahově odpovídá schválenému tématu a student naplnil vytýčené cíle. Výsledky výzkumu studenta přinesly nové poznatky v oblasti vývoje léčiv proti Alzheimerově chorobě, založených na derivátech takrinu a byly otištěny v uznávaných impaktovaných časopisech s nezávislým recenzním řízením. Doktorand tedy prokázal dostatečnou schopnost samostatného řešení vědeckých úkolů a jejich prezentace. Po prostudování disertační práce a zohlednění všech dostupných podkladů **doporučuji práci Mgr. Martina Nováka přijmout k obhajobě.**

V Hradci Králové dne 25.9. 2023

.....
oponent
doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D.