

## Posudek školitele disertační práce

Využití HPLC-HRMS pro studium látek ze skupiny takrinu potenciálně využitelných v terapii Alzheimerovy choroby

**Autor:** Mgr. Martin Novák

**Vedoucí disertační práce:** doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

**Oponenti disertační práce:** doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.; doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D.

Mgr. Martin Novák je absolventem Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové. Vystudoval studijní program Zdravotnická bioanalytika nejprve obor Zdravotní laborant (Bc.) a následně obor Odborný pracovník v laboratorních metodách (Mgr.). Poté nastoupil do doktorského studijního programu Farmaceutická analýza.

Ve své disertační práci se Mgr. Martin Novák zabýval vývojem analytických metod v rámci multidisciplinárního výzkumu zaměřeného na vývoj nových léčiv využitelných v terapii Alzheimerovy nemoci. Tato problematika byla řešena v rámci spolupráce s Centrem pro biomedicínský výzkum FN HK (vedoucí prof. Ondřej Soukup, Ph.D.). Vzhledem k rostoucímu počtu pacientů trpících Alzheimerovou nemocí a neexistenci kauzální léčby je tato konkrétní oblast výzkumu a vývoje velmi aktuální.

Ve své práci se zabýval molekulami odvozených od takrinu (7-methoxytakrin (7-Meota), 7-fenoxytakrin (7-Feota), 6-chlortakrin) a dále látkami odvozených od 7-methoxytakrinu. V rámci své experimentální práce doktorand využíval zejména spojení UHPLC-HRMS. Úkolem doktoranda, kromě ověření totožnosti s využitím HRMS a hodnocení čistoty pomocí HPLC-UV po syntéze studovaných látek, bylo také hodnocení prostupnosti látek přes potkaní hematoencefalickou bariéru. Dobrá prostupnost je základním předpokladem pro uplatnění látek v terapii Alzheimerovy nemoci. Stěžejní náplní doktorského projektu byl vývoj selektivní UHPLC-HRMS metody pro identifikaci a relativní kvantifikaci metabolitů I. fáze biotransformace takrinu, 7-Meoty, 7-Feoty a 6-chlortakrinu *in vitro*. Následně byla daná metoda použita pro porovnání metabolizace takrinu, 7-Meoty a 7-Feoty na modelu potkaních a lidských primárních hepatocytů a porovnání metabolického profilu takrinu mezi modelem lidských jaterních mikrosomů a vybranými zvířecími jaterními mikrosomy. S ohledem na předpokládané toxické působení 7-hydroxytakrinu byla pozornost věnována také ověření této hypotézy.

Díky svým zkušenostem z analytické laboratoře získaných během bakalářského a navazujícího magisterského studia se Mgr. Novák velmi rychle zorientoval v dané problematice a dále prohluboval své teoretické znalosti absolvováním řady odborných kurzů zaměřených především na chromatografické techniky a hmotnostní spektrometrii.

Navzdory pandemii onemocnění Covid 19 - prezentoval Martin Novák výsledky své experimentální práce formou osmi ústních sdělení (4× Postgraduální a postdoktorandská vědecká konference FaF UK; Annual conference IT4Neuro(degeneration); XVII Konference Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Hradec Králové; Interdisciplinary Toxicology Conference – TOXCON 2022; V. Postgraduální vědecká konference CBV) a dvou plakátových sdělení na mezinárodních konferencích (VII. International scientific conference Applied Natural Sciences - ANS 2019; Interdisciplinary Toxicology Conference – TOXCON 2022). Za svou prezentaci v rámci

12. Postgraduální a postdoktorandské vědecké konference FaF UK získal cenu od Sekce Farmaceutické analýzy a bioanalýzy ČFS v soutěži o nejlepší přednášku. Dále získal 1. místo ve znalostním kvízu v rámci České chromatografické školy - HPLC 2021.

Dosažené poznatky byly zveřejněny celkem ve čtyřech publikacích, které jsou součástí disertační práce. Martin Novák je prvním autorem u prací zveřejněných v časopisech Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (IF, AIS Q2/Q2 – analytical chemistry) a ACS Chemical Biology (IF, AIS Q2/Q1 - pharmacology and pharmacy) a je spoluautorem u dvou prací zveřejněných v European Journal of Medicinal Chemistry (IF, AIS Q1/Q1 - medicinal chemistry) a Biochemical Pharmacology (IF, AIS Q2/Q1 - biochemistry and molecular biology). Dále je Martin Novák spoluautorem dalších devíti publikací, které nejsou součástí disertační práce.

Během svého doktorského studia:

- složil Martin Novák všechny předepsané dílčí zkoušky a státní doktorskou zkoušku z farmaceutické analýzy;
- se podílel na výuce praktických cvičení a seminářů z předmětů Farmaceutická analýza I. a II., a byl konzultantem tří diplomových prací, které jsou již obhájeny;
- získal Osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů podle zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.;
- se podílel na řešení multidisciplinárních grantových projektech (GAČR, AZV) v rámci Centra biomedicínského výzkumu;
- absolvoval tříměsíční zahraniční stáž pod vedením prof. Michaela Lämmerhoffera v Pharmaceutical (Bio-)Analysis group, Institute of Pharmaceutical Sciences, University of Tübingen, Německo;

Kladně hodnotím doktorandův široký rozhled a jeho zájem o řešené téma po stránce praktické i teoretické, což se kladně odrazilo ve schopnosti samostatně a racionálně plánovat experimentální práci, interpretovat dosažené výsledky a úspěšně řešit případné problémy.

**Závěr:** Výsledky vědecké práce Mgr. Martina Nováka přinesly nové a cenné poznatky v oblasti výzkumu látek odvozených od tarkinu a jsou zásadní pro další práci na tomto tématu (aktuálně řešena v rámci projektu GAČR). Zároveň dokazují klíčovou roli metod farmaceutické analýzy v mezioborových projektech. Doktorand získal i bohaté pedagogické zkušenosti během vedení praktických cvičení, seminářů a konzultování diplomových prací.

Z hlediska kontroly podobnosti programy Theses i Turnitin našly maximálně 3% podobnost textu práce s nalezenými dokumenty a u většiny z nich byla podobnost pod 1%. Tato shoda je marginální a práce je originálním autorským dílem doktoranda.

Lze tedy konstatovat, že Mgr. Martin Novák se během svého doktorského studia stal samostatným a odborně erudovaným pracovníkem s předpokladem pro další samostatnou vědeckou práci. Na základě výše řečeného a po úspěšné obhajobě vřele doporučuji udělit Mgr. Martinu Novákovi titul Ph.D. v oboru Farmaceutická analýza.

V Hradci Králové 25.10. 2023

-----  
doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.