

Posudek disertační práce

Metabolismus a účinky nových anthelmintik u helmintů a jejich hostitelů

Autor: Mgr. Lucie Stuchlíková

Vedoucí disertační práce: prof. RNDr. Lenka Skálová, Ph.D.

Odborné konzultantky: Ing. Petra Matoušková, Ph.D.; MVDr. Lenka Lecová, Ph.D.

Oponent: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Lucie Stuchlíkové je sepsána celkem na 116 stranách. Práce je tvořena teoretickým úvodem a komentáři k 6 publikacím uveřejněných v časopisech s IF. Mgr. Lucie Stuchlíková je u čtyř publikací první autorkou a na zbývajících pracích je uvedena jako druhá v pořadí. Kromě toho je Mgr. Stuchlíková spoluautorkou pěti dalších publikací uveřejněných v časopisech s IF a jedné publikace, která je v oponentním řízení. Své výsledky prezentovala Mgr. Stuchlíková také na 7 odborných konferencích (3 zahraničních a 4 tuzemských).

V teoretické části se pojednává o helmintózách hospodářských zvířat, jejich terapii a o rozdělení anthelmintik. Pozornost je dále věnována vzniku rezistence na běžně podávaná léčiva a diagnostice rezistence. V další části je uveden obecný přehled biotransformačních reakcí xenobiotik a biotransformačních pochodů xenobiotik u vlasovky slezové. Malá část teoretického úvodu se zabývá využitím LC/MS při detekci a identifikaci metabolitů a využití qPCR pro stanovení exprese genu.

Cílem práce bylo získat nové poznatky o biotransformaci a účincích anthelmintika monepantelu (MOP). Studovaným helmintem byla vlasovka slezová (*Haemonchus contortus*). Byly identifikovány metabolity I. a II. fáze - *in vitro* (ovčí hepatocyty), *in vivo* (ovce) a *ex vivo* (vlasovka slezová). Autorka se věnovala také studiu účinků MOP na vývojová stádia vlasovky slezové. Účinky a biotransformace monepantelu byly srovnány s dalšími aminoacetonitrilovými deriváty (AAD). Dále byl sledován vliv MOP na expresi základních isoformů cytochromu P450 v ovčích hepatocytech (*in vitro*, *in vivo*). Závěr práce je tvořen přehledovým článkem, který shrnuje nejnovější poznatky týkající se monepantelu z hlediska mechanismu účinku, toxicity a farmakokinetiky u savců, jeho metabolismu, účinku na ostatní parazity, jeho možného protinádorového účinku, atd.

Seznam literatury čítá celkem 135 citací, následuje seznam zkratk a specifikace podílu Mgr. Lucie Stuchlíkové na publikovaných článcích tvořící disertační práci. Její podíl je vždy zásadní. Po článcích tvořící disertační práci je přiložen seznam publikací, kde je Mgr. Stuchlíková spoluautorkou, a seznam prezentací na odborných konferencích.

Práce je jako celek sepsána přehledně, jasně a stručně s minimem překlepů a chyb. Získané poznatky přinášejí nové a důležité informace o metabolismu a účincích anthelmintika monepantelu, které mohou být dále využity v terapii. K práci bych měl několik dotazů a připomínek plynoucích z textu vlastní práce.

Odkazy na internet by měly mít patřičné náležitosti, aby je bylo možné dohledat. Podobně jako u knih a časopisů, by měl být uveden název citovaného dokumentu, jeho autor, dále pak datum citování, atd. Vlasovka slezová se píše s malým „v“, pokud není na začátku věty. Text kapitoly 2.8 (Využití LC/MS pro detekci a identifikaci metabolitů) je z pohledu analytického chemika méně konzistentní. Autorka se snažila obsáhnout velmi širokou oblast na malém prostoru a bohužel se tak nevyhnula některým faktickým či terminologickým nepřesnostem.

Jakým způsobem jste vyvíjeli SPE metodu pro extrakci monepantelu a jeho metabolitů?

str. 25 – uveďte příklad oxidace látek typu nukleofilních terciárních aminů, kterou katalyzují flavinové monooxygenasy?

str. 29 – z textu není patrné, co má výhodu oproti NMR a rentgenové difrakci?

str. 30 – uvádíte, že pomocí UV nebo fluorescenčních detektorů je možné získat doplňující informace k MS datům např. rozlišení polohových izomerů – můžete to prosím vysvětlit?

str. 31 – lze v systému obrácených fází oddělit enantiomery?; lze využít i další ionizační techniky k identifikaci metabolitů léčiv nebo je to výhradně doména ESI?; co znamená poměr m/z?; co je to analyzátor s FT?

Publikace 1 – na chromatogramu hepatocytárního extraktu je poměrně velký pík s retenčním časem cca 4 minuty – máte představu, co je to za látku?

Publikace 2 – na základě čeho jste určili interval odběru moči (8 h) a feces (48 h) u ovcí? Protože v druhé práci není uveden chromatogram – mohla byste shrnout, který metabolit/y je/Jsou nejvíce zastoupeny v jednotlivých experimentech?

Publikace 3 – MOP nevykázal ovicidní účinek – plyne z toho nějaké terapeutické doporučení? – i s ohledem na indukci CYP3A (publikace 5)?

Publikace 4 – proč považujete ADD-1154 a ADD-1336 za lepší adepty pro další využití ve veterinárním lékařství než ADD-970? Bylo záměrem u těchto látek vynechat nitrilovou funkční skupinu na kruhu B, kterou má MOP?

Závěrem je nutné konstatovat, že výše uvedené připomínky a dotazy plynoucí z textu nesnižují úroveň disertační práce Mgr. Lucie Stuchlíkové. Autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky, které získala, jsou nové a originální. Jejich kvalitu jasně dokládají publikace, které prošly náročným recenzním řízením v časopisech s významným IF. Získané poznatky tvoří slibný základ pro další experimentální práci.

Předložená práce splňuje požadavky kladené na tento typ prací, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě jako jeden z podkladů pro udělení titulu Ph.D.

V Hradci Králové, 15. 7. 2015

doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv
Farmaceutická fakulta UK