Oponentský posudek disertační práce

Autorka: Mgr. Bohumila Suchanová

Název: Versatile use of liquid chromatography and mass spectrometry in drug metabolism study

Oponent: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.

Vývoj nových léčiv je nemyslitelný bez důkladného zkoumání biotransformace nových látek - potenciálních kandidátů. Detailní poznání metabolických cest může mnohé napovědět o mechanismu účinku dané látky a může rozhodnout o vhodnosti látky pro terapeutické účely. Významnou analytickou metodou uplatňující se v dané oblasti je spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (HPLC/MS). Tato technika je účinným nástrojem pro identifikaci metabolitů i jejich stanovení. V dnešní době je již zvládnuta řada úskalí provázející spojení HPLC/MS, přesto získání dalších poznatků z uplatnění tohoto spojení při studiu metabolismu může být velmi cenné a může přispět například k efektivní identifikaci minoritních metabolitů ve složité matrici.

Využitím HPLC/MS v uvedené oblasti se zabývá i předložená disertační práce. Komentář v rozsahu 25 stran poskytuje čtenáři stručný úvod do problematiky metabolismu xenobiotik a jeho zkoumání uvedenou technikou. Dále je věnován stručnému výtahu výsledků z pěti publikací, ve kterých je shrnuta výzkumná práce autorky. Kopie publikací jsou součástí disertační práce. Čtyři z publikací již prošly recenzním řízením, poslední pátá publikace byla zaslána k posouzení. Skutečnost, že převážná část výsledků již byla publikována v recenzovaných časopisech, dokládá jejich kvalitu. Práce přináší řadu velmi zajímavých výsledků. Jako příklad lze uvést studium metabolismu enantiomerů, postup pro rychlé získání metabolických dat pro skupinu látek ve směsi či průkaz 21 metabolitu s využitím fragmentačních experimentů a měření přesné a správné hmotnosti.

K předkládané práci mám následující připomínky a dotazy:

- k formálním připomínkám patří např. nepřesné některé formulace – str. 13 „...the triple quadrupole is the only...“ – není jediný; str. 15 – M-177 nebo 176?
- V práci je věnováno poměrně dost prostoru obecně známým faktům např. popis různých scanů, ale větší pozornost by si zasloužil kritický rozbor jednotlivých kroků analýzy

metabolitů metodou HPLC/MS včetně přípravy vzorku a dále např. potlačování signálu iontů složkami matrice atd.

- Obr. 3 u poslední připojené práce je poněkud nepřehledný např. naznačení ztrát pro ionty 377 a 334 ve třetí struktuře nahoře. Jaké části rodičovského iontu se odštěpují? V textu téže práce neodpovídají neutrální ztrátě 117 navrhované struktury. Má autorka detailnější představu o mechanismu fragmentace?

Na str. 10 naznačuje autorka porovnání tří typů hmotnostních spektrometrů – QqQ, ITMS a TOF. Může toto srovnání rozvést?

Setkala se autorka s problémem ztráty metabolitů, pokud vzorky nebyly analyzovány ihned?

Jaké jsou osobní zkušeností autorky z využívání software pro identifikaci metabolitů?

V práci je uvedeno, že byl použit iontový zdroj ESI. Byl testován i jiný iontový zdroj a jak dopadlo případné srovnání?

V textu práce by bylo vhodné jasněji deklarovat její obecnější přínos například zobecněním autorčiných zkušeností s vývojem metod HPLC/MS pro analýzu metabolitů. Má autorka nějaká doporučení pro pracovníky řešící stejnou problematiku?

Předložená práce se opírá o rozsáhlý soubor měření a dokládá úspěšné uplatnění HPLC/MS v metabolických studiích. Jak již bylo zmíněno, kvalitu výsledků dosvědčuje jejich publikování v recenzovaných časopisech, v posudku uvedené připomínky nikterak nesnižují celkovou úroveň předložené práce. Autorka splnila stanovené cíle.

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji přijetí práce k obhajobě.

V Olomouci 17.2.2007

prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.