

Posudek dizertační práce

Název dizertační práce: Bioanalytické hodnocení nových inhibitorů acetylcholinesteráz

Autor: Mgr. Martin Mžik

Dizertační práce Mgr. Martina Mžika je předkládána ve formě komentovaného souboru prací, které byly publikovány v mezinárodních impaktovaných časopisech. Vývoj a hledání nových potenciálních molekul vhodných pro léčbu Alzheimerovy demence je nepochybně vysoce žádoucí. Studium metabolismu a dalších farmakokinetických údajů přináší velmi cenné informace o chování studovaných potenciálních léčiv v živém organismu. Rovněž vývoj citlivých, selektivních (bio)analytických metod pro identifikaci a stanovení mateřských molekul a jejich metabolitů představuje stěžejní kámen v mozaice bioanalytických a farmakologických studií.

Práce se zabývá vývojem analytických metod pro identifikaci a stanovení vybraných nových potenciálních inhibitorů acetylcholinesteráz a jejich metabolitů jak ve vzorcích po *in-vitro* metabolizaci (v případě mikrosomální metabolizace) tak ve vzorcích moči a dalšího biologického materiálu potkanů (*in-vivo* metabolizace). Získané výsledky pak byly použity pro výpočet vybraných farmakokinetických parametrů a vyvinuté analytické metody byly použity pro studium přestupu studovaných potenciálních léčiv a jejich metabolitů přes hematoencefalickou bariéru, což je v případě léčby Alzheimerovy demence stěžejní parametr.

Autor dizertační práce prokázal, že je schopen samostatně pracovat na vývoji sofistikovaných analytických metod s využitím moderní instrumentace, zejména v oblasti hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením. Autorovu erudici dokazují i předložené publikace v impaktovaných časopisech, kde je hlavním autorem či spoluautorem. Zvolené metody zpracování považují za aktuální v souladu se současnými vědeckými poznatky v daném oboru.

Dizertační práce samotná je psána srozumitelně. Část tvořící teoretický úvod je psána možná zbytečně obsáhle a autor popisuje teoretické skutečnosti, u nichž je automaticky předpokládána detailní znalost již během magisterského studia.

V práci se vyskytuje několik drobných gramatických či formulačních chyb, které nikterak nesnižují kvalitu práce.

Dovolím si upozornit na některé chyby související s odbornou stránkou dizertace:

- na str. 24, 25, 26 jsou uvedeny systematické názvy pro Takrin, Donepezil a Rivastigmin v anglickém nikoliv českém tvaru, u Donepezilu chybí čárka mezi prefixy vyznačující chirální centra (R a S).
- na str. 57 by měl být uveden název extrakčního činidla methyl-*terc*-buthylether namísto methyl-*tert*-buthyl éter.
- na str. 63, odrážka III je uvedeno: "Dlouhodobá stabilita analytu v nativním vzorku v - standardně se "...není mi jasné v čem měl autor namysli zmiňovanou stabilitu.

Vzhledem k tomu, že jednotlivé části dizertační práce byly publikovány v impaktovaných časopisech a prošly tedy přísným recenzním řízením, nepovažují za nutné detailně komentovat obsah prací. Dizertační práce splnila všechny stanovené cíle a mohu konstatovat, že získané poznatky přispějí k dalšímu poznání v oblasti vývoje léčiv k léčbě Alzheimerovy demence.

V rámci vědecké diskuze mám na autora práce několik dotazů:

1. Na str. 73 uvádíte, že hodnota pKa je u obou látek (PC-37 a PC-38) 8,9. Odkud je uvedená hodnota čerpána? Které funkční skupiny se uvedená hodnota pKa týká? Lze předpokládat, že uvedené látky mají pouze jeden disociační stupeň?
2. Na str. 74 je uvedeno, že v porovnání s APCI ionizací bylo s pomocí ESI ionizace dosaženo řádově vyšší citlivosti detekce studovaných látek. Mohl byste, prosím, zvýšení citlivosti uvést přesněji?
3. Při validaci metod používáte lineární modely kalibrací s linearitou několik řádů (např. 5 řádů). Bylo provedeno nějaké statistické hodnocení vhodnosti navržené lineární závislosti?
4. LC-MS/MS neumožňuje provést přesnou identifikaci polohy hydroxylové skupiny na fenolovém jádře hydroxylovaných metabolitů. Mohl byste nastínit postup pro určení polohy hydroxylové skupiny s pomocí alternativní(ch) metod(y) mimo NMR?

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje všechny nároky kladené na tento typ prací a rozhodně ji doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 12.8.2019

doc. RNDr. Vítězslav Maier, Ph.D.