

Oponentský posudek na disertační práci Ing. Marka Linka

„Metabolická studie sibutraminu“

Ing. Marek Link se ve své disertační práci zabýval využitím hyphenální analytické techniky HPLC-MS v identifikaci chemických struktur metabolitů první a druhé fáze biotransformace sibutraminu, léčiva používaného k léčbě obezity. Současně byly vypracovány metody LC-MS stanovení sibutraminu a jeho metabolitů v různě složitých biomatricích a tím se vytvořily předpoklady k získání informací o přeměnách této látky na různých hierarchických úrovních organismu (subcelulární \Rightarrow jaterní mikrosomy, buněčné \Rightarrow hepatocyty, i na úrovni celého organismu \Rightarrow moč potkana). Za velmi přínosné považuji (s ohledem na primární využití sibutraminu v humánní farmakoterapii) zejména metabolické studie sibutraminu v lidských jaterních mikrosomech a v lidské moči a zahrnutí chirálních aspektů biotransformace sibutraminu do těchto studií.

Disertace má rozsah 110 stran a formálně je členěna způsobem obvyklým pro tento typ kvalifikační práce. Na konec disertace byly přiloženy v plném rozsahu dvě publikace vztahující se k studované problematice.

V úvodu autor nastínil postavení sibutraminu v léčbě obezity.

Velmi kladně bych ohodnotil teoretickou část disertační práce zabývající se třemi tematickými okruhy. První okruh se dosti podrobně zabývá enzymatickými přeměnami xenobiotik v 1. a 2. fázi jejich biotransformace. Druhý okruh je věnován instrumentálně analytickým aspektům studia léčiv a jejich metabolitů. Třetí okruh je zaměřen na farmakodynamické a farmakokinetické informace o sibutraminu.

Experimentální část disertace je členěna na kapitoly věnované studiu metabolismu sibutraminu v jaterních mikrosomech a hepatocytech potkana, v jaterních mikrosomech člověka a studiu metabolickému profilu sibutraminu v lidské moči. Autor disertace se tedy úspěšně zhostil nelehkého úkolu zvládnout xenobiochemické experimenty (inkubace enzymových a buněčných preparátů), přípravu vzorku k analýze (zpracování a extrakce biomatrice) a nakonec techniku LC-MS analýz včetně samostatné interpretace výsledků. Výsledkem jeho snažení je přehled biotransformace sibutraminu u potkana a člověka zahrnující i chirální aspekty přeměn.

V předložené disertační práci jsem nenalezl závažnější formální nebo obsahové nedostatky, drobné překlepy, na které jsem Ing. Linka upozornil, nikterak nesnižují kvalitu tohoto vědeckého pojednání.

Autor se během své postgraduální výchovy zúčastnil dvou národních a dvou mezinárodních konferencí, na kterých presentoval dílčí výsledky své experimentální práce. Ing. Link získal rovněž finanční podporu pro svůj grantový projekt FRVŠ a absolvoval půlroční zahraniční stáž v Helsinkách (Finsko). Finálním výsledkem autorovy postgraduální výchovy bylo sepsání dvou klíčových publikací, které byly zveřejněny v prestižních impaktovaných zahraničních periodících (1 práce v *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1 práce v *Journal of Mass Spectrometry*). Kromě toho participoval jako spoluautor na publikaci zabývající se jinou problematikou (*Journal of Porphyrins and Phtalocyanines* 10 (2): 122-131 2006).

Závěr :

Předložená disertační práce Ing. Marka Linka splňuje po stránce obsahové i formální všechny požadované náležitosti. Autor se během své postgraduální výchovy seznámil velmi detailně s problematikou vysoceúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií, jejím využitím v bioanalýze konkrétního léčiva a jeho metabolitů. Seznámil se rovněž s xenobiochemickými metodami, které mu poskytly vhodné biomatrice, ve kterých identifikoval a kvantifikoval sibutramin a jeho metabolity 1. a 2. fáze biotransformace.

Doporučuji proto, aby disertační práce Ing. Marka Linka byla přijata k obhajobě a stala se podkladem k udělení vědecké hodnosti PhD.

Připomínky, dotazy a náměty do diskuse :

Str. 17, 10.ř. – pojem „hydroxylace etylbenzenu“ bych raději nahradil pojmem „oxidace etylbenzenu“

Str. 19, 3.řádek – poslední písmeno akronymu ADME se překládá jako **exkrece**

Str. 22, 10. řádek – patrně fenchlorazolethyl.

Str. 33 -34 užívejte „5%“ místo „5%-ní“ nebo „5%-cent“

Str. 42 a další : v názvech chemikálií se lokalizace na heteroatomu N-, S- a O- píše kursívou, tedy *N-*, *S-* a *O-*

Str. 98, 2.řádek : správně „kvadrupól“

ke str. 14 „Acetylace“. Je známo, že 5-aminosalicylová kyselina se acyluje, převážně na *N*-acetyl-5-ASA, minoritně jsou však zastoupeny *N*-formyl-5-ASA a *N*-butyryl-5-ASA. Proč se neobjeví mezi metabolity například prostřední člen homologické řady acylderivátů a nevzniká například *N*-propionyl-5-ASA ? Které enzymy jsou zodpovědné za tvorbu minoritních metabolitů ? Podílí se enzym ze skupiny *N*-acyltransferas ? Neměl by být skupinový název biotransformačních reakcí „Acetylace“ zobrazen na „Acylace“ ?

Byly prováděny experimenty s β -glukuronidasou a arylsulfatasou ? Jejich inkubace s biotransformací by napověděla mnohé o struktuře metabolitů 2. fáze biotransformace sibutraminu.



Doc. PharmDr. Milan Nobilis, CSc.

Ústav experimentální biofarmacie

Heyrovského 1207

500 03 Hradec Králové

Červenec 2007