

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Gabriela Licková**
Vedoucí práce: PharmDr. Petr Kastner, Ph.D.
Konzultant/ka: Ing. Daniel Heblík
Oponent/ka: PharmDr. Nela Váňová, Ph.D.
Název práce: **Stanovení metabolitů tyrosinu**

Rozsah práce: 64 stran, 17 obrázků, 22 tabulek, 19 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | velmi dobrá |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | velmi dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Studentka Gabriela Licková vypracovala experimentální diplomovou práci na téma Stanovení metabolitů tyrosinu, která po formální i obsahové stránce splňuje většinu nároků kladených na vypracování závěrečných prací na Katedře farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy FaF UK.

Práce má standardní členění, výsledky a diskuze jsou vedeny v rámci společné kapitoly.

Teoretická část práce stručně a věcně uvádí do řešené problematiky, ale nacházejí se zde některé formální (např. jsou zde zavedeny zkratky bez vysvětlení - MS, MF, SF, NTP..., u tabulek 1-14 chybí názvy) i obsahové nedostatky. V teoretické části postrádám zmínku k současném stavu poznání v oblasti stanovení metabolitů tyrosinu, která by propojila teoretickou, experimentální část a cíle práce.

Experimentální část práce také trpí několika nedostatky, kdy postupy práce uvedené v kapitole 4.3. jsou v některých případech popsány nekompletně a není vždy jasné, za jakých podmínek byly dané experimenty prováděny a ve výsledcích jsou poté uvedeny experimenty, které nejsou popsány v metodické části.

Výsledky jsou zpracovány vcelku přehledně a srozumitelně formou grafů, avšak u některých grafů chybí upřesňující popis/legenda. Ze získaných dat jsou učiněny adekvátní závěry.

Celkově došlo k naplnění cílů vytyčených v diplomové práci.

Práce je bez významných gramatických chyb či překlepů, anglicky psaný abstrakt by však zasloužil důslednější jazykovou kontrolu (chybějící členy, čárky, spelling – optimization, concentration, wavelengths...).

Práce čerpala z poměrně malého množství literárních zdrojů (19 citací; v doporučení pro vypracování diplomových prací na KFCHFA je pro experimentální práci doporučeno alespoň 30), Většina zdrojů odkazuje na přiměřeně relevantní webové stránky, učebnice, studijní materiály, ale v celé práci jsou citovány pouze dvě odborné publikace, což neodpovídá dostatečné rešerši na řešenou problematiku.

Při hodnocení podobnosti závěrečných prací programy byly nalezeny některé shody; Theses – 36 % a Turnitin – 16 %, avšak při podrobné kontrole byly shody s jednotlivými dokumenty minimální a jednalo se převážně o ustálená slovní spojení a definice.

Na základě uvedených připomínek doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě s hodnocením „velmi dobrá“.

Dotazy a připomínky:

V abstraktu by bylo vhodné uvést rozměry chromatografické kolony vzhledem k tomu, že stejný typ kolony byl testován ve dvou různých rozměrech a velikostech částic.

Na str. 16, druhý odstavec, je uvedeno, že „Předkolonovou derivatizací (pre-column chromatography) vznikají...“ – v závorce je pouze špatný překlad?

V tabulkách 6-9 je uvedena molekulová hmotnost v jednotkách g/mol – byla myšlená relativní molekulová hmotnost (bezrozměrná) nebo molární hmotnost (g/mol)? Později v Tabulce 22 je molekulová hmotnost uváděna jako bezrozměrná.

Na str. 17 je uvedeno, že „BZ-Cl se používá v analytické chemii k identifikaci derivátů, tj. derivátů s navázanou benzoylovou skupinou...“ – k identifikaci jakých derivátů?

Na str. 21 je uvedena veličina „Rt“, která není vysvětlena – z kontextu vyplývá, že se jedná o retenční čas, který se však konvenčně označuje tR.

Na str. 22, kapitola 3.3.5. co znamená tvrzení, že „Sorbent by měl být v ideálním případě dokonale hladký“?

Na str. 23, první odstavec je uvedeno, že „Nevýhodou těchto sorbentů může být jejich nízká stabilita v některých úsecích pH, tj. silně alkalická a bazická oblast“ – alkalická a bazická jsou synonyma.

Na str. 24 uvádíte, že „Ideální detektor by (mimo jiné) měl být nedestruktivní – v čem vidíte benefit nedestruktivního detektoru?“

Na str. 33, kapitola 4.2.1. je u přípravy zásobních roztoků uvedeno, že do zásobních roztoků byla přidávána kvůli stabilitě kyselina mravenčí. Byla tato stabilita poté ověřována, či se jednalo o poznatek z literatury nebo předchozích experimentů?

Kapitola 4.3. Optimalizace koncentrace derivatizačního činidla – v postupu nejsou uvedeny koncentrace FMO-Cl použité pro experiment.

Kapitola 4.3. U optimalizace teploty reakce je uvedeno, že reakce probíhala při dané teplotě 10 min, ale ve výsledcích je uvedeno, že nejlepších hodnot bylo dosaženo po 15 min – došlo tedy při nalezené optimální teplotě k další optimalizaci času reakce? Čas byl optimalizován pouze pro laboratorní teplotu (60 min).

Kapitola 4.3.3. – Po provedení LLE, jaký byl objem odebíraného organické fáze? Pro MS detekci derivátů byl použito také 400 µL vzorku v ACN?

Kapitola 4.4.2 Při optimalizaci času derivatizační reakce se došlo k závěru, že od 60 minuty nedošlo k „výraznému zvýšení odezvy“ – co bylo považováno za výraznou hodnotu?

Kapitola 4.4.3 V textu je zmíněno, že nejlepších hodnot bylo dosaženo při 40 °C a 15 minutách (v metodické části je uvedeno 10 min). Výsledný graf (Obrázek 10) tedy zobrazuje hodnoty získané po 10 nebo 15 minutách?

Obrázek 13. Na obrázku 13 je graf zobrazující hodnoty ploch píků pro jednotlivé analyty a terminační činidla. Jako závěr bylo učiněno, že se všemi činidly se docílí terminace reakce. Jakým způsobem bylo vyhodnoceno, že skutečně došlo k terminaci reakce? Porovnávalo se s neterminovanými vzorky? Proč byl jako terminační činidlo nakonec vybrán glycin?

Tabulka 16. V názvu tabulky je uvedena zkratka NTP, která není vysvětlena. V tabulce je uveden parametr „k“ bez vysvětlení. Bylo by vhodné uvést (nejlépe v metodické části) způsob výpočtu těchto parametrů.

Na str. 53 je ve druhém odstavci uveden pojem „rozumný tlak u kolony“ – můžete tento pojem definovat?

Kapitola 4.4.9. Ač byla extrakce optimalizovaná pro roztoky standardů, máte představu, v jakém biologickém materiálu budou analyty stanovovány?

Tabulka 21. V tabulce jsou uvedeny směrodatné odchylky pro jednotlivé analyty po extrakci různými činidly, avšak není jasné, z jakých hodnot se tyto směrodatné odchylky počítaly (plocha píku, stanovená koncentrace, procenta výtěžnosti...?). Není zde také uveden počet opakování, ze kterých byla směrodatná odchylka stanovena.

Obrázek 17. V legendě obrázku by bylo vhodné označit, že příslušné hodnoty m/z vyznačené ve spektru odpovídají sodným aduktům

Tabulka 22 . V tabulce jsou pro jednotlivé analyty uvedeny molekulové hmotnosti předpokládaných derivátů; v hmotnostní spektrometrii se častěji operuje s pojmem přesná hmota (exact mass). Dokážete vysvětlit rozdíl?

hodnocení, práce je: velmi dobrá

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

26. května 2022

podpis oponenta/ky