

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **PharmDr. Pavel Jáč, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2016

Autor/ka práce: Tereza Kobrlová

Název práce:

Analýza obsahových látek rodu *Psilocybe* I

Rozsah práce: počet stran: 61, počet grafů: 0, počet obrázků: 14,

počet tabulek: 18, počet citací: 65, počet příloh: 0

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá
- c) Zpracování teoretické části: velmi dobré
- d) Popis metod: velmi dobrý
- e) Prezentace výsledků: dobrá
- f) Diskuse, závěry: dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: dobrý

Případné poznámky k hodnocení: Předložená diplomová práce se zabývá stanovením obsahových látek psilocybinu a psilocinu v lysohlávkách (*Psilocybe serbica* var. *bohemica*, *Psilocybe serbica* var. *arcana*, *Psilocybe semilanceata*), které byly nalezeny na různých stanovištích v ČR. Teoretická část této práce je sepsána přehledně a pečlivě s občasnými překlepy či nepřesnými formulacemi (např. str. 20: "Pro člověka je v rámci gramů na kg"; "nebyl objeven výskyt tolerance...."). Jedinou slabinou teoretické části je přehled metod pro stanovení sledovaných indolových alkaloidů. Autorka mapuje práce v rozmezí let 1980-2005, což není zcela aktuální přehled literatury a určitě lze v odborné literatuře nalézt novější práce zabývající se analýzou cílových analytů s využitím moderních přístupů. U obrázku 9 není uvedena citace; je tedy toto schéma orbitrapu dílem autorky a nebo je převzaté a necitované?

Další slabinou této práce je skutečnost, že pro analýzu obsahových látek byla použita LC-MS metoda, u které není jasné, zda byla validována. Kromě absence jakýchkoliv validačních parametrů chybí i chromatografické záznamy (roztok standardů vs. analyzovaný materiál). Tyto skutečnosti výrazně stěžují práci oponenta a zároveň vnášejí dost výraznou pochybnost o správnosti nalezeného obsahu psilocinu a psilocybinu v analyzovaných vzorcích.

Jako oponent mám i jistou pochybnost o vhodnosti použité extrakce. Pro každý z analytů je použit jiný extrakční postup. Šlo by navrhnout takový postup, kdy by došlo k extrakci obou obsahových látek? Autorka si je vědoma skutečnosti, že nebyla testována výtěžnost; přesto si myslím, že výtěžnost extrakce šlo otestovat pomocí ověřených neznačených standardů (např. za použití HPLC s UV detekcí). Dalším problematickým rysem extrakce je použití netěkavých sloučenin (NaOH, fosfátový pufr), které nejsou kompatibilní s LC-MS analýzou.

V diskuzi autorka píše, že velký rozptyl výsledků byl pravděpodobně způsoben nedokonalou homogenizací, protože nebyl k dispozici homogenizátor. Proč tedy nebyl použit k homogenizaci sušených hub kuchyňský mixér, který by byl vhodnější než třecí miska?

Dotazy a připomínky:

Kromě výše uvedených klíčových připomínek mám tyto dotazy a komentáře:

1. str. 17 - Log P psilocybinu uvádíte 1,000. Je tato hodnota správně?
2. Tabulka 11: vysvětlíte hodnoty $0,058 \pm 3,02\%$ a $0,58 \pm 10,10\%$
3. str. 30 - místo měřič doby průletu iontů má být analyzátor doby letu
4. str. 34 - u kolony uvádíte analogové číslo; na mysli máte spíše číslo katalogové.
5. str. 37,38 - obrázek 13 není obrázek, ale tabulka!
6. na str. 39 píšete: "Na analytických vahách bylo naváženo 30-50 mg lyofilizátu...." Postup přípravy lyofilizátu jsem ovšem v experimentální práci nenašel.
7. str. 40 - není uveden postup přípravy roztoku IS. Jaké bylo použito rozpouštědlo?
8. Jakým iontům odpovídají hmoty 205,1 a 284,9? Jaké jsou monoisotopické hmoty psilocinu a psilocybinu?
9. str. 41 - Tabulka popisující gradient obsahuje mnoho chyb. Složení eluentu s 50% složky A a 95% složky B nedává smysl.
10. str. 42 a 43 - tabulka není očíslovaná a chybí odkaz v textu.
11. str. 42 a 43 - chybí údaje o přesnosti stanovení (buď tedy SD nebo RSD)
12. str. 42 - odkazujete se na kapitulu 4.2.3.3; má být ale 3.2.3.3
13. místo termínu suchá hmota bych raději použil sušina
14. str. 46 - CH₂Cl₂ není dichloromethanol!!!
15. str. 46 Proč si myslíte, že metoda HPLC/UV není schopna rozlišit mezi psilocybinem a psilocinem? Vysvětlíte!
16. Ve Vámi analyzovaných vzorcích jste našla v porovnání s literaturou (viz teoretická část tab 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15) poměrně malý obsah psilocybinu. Jakými faktory může být tato skutečnost způsobena (zaměřte se na analytickou metodiku)?

Závěrem lze konstatovat, že tato diplomová práce, i přes metodologické nedostatky, splňuje základní kritéria kladené na tento typ prací a tudíž práci doporučuji k obhajobě.

Celkové hodnocení: dobře, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 25.5. 2016

.....
podpis oponentky / oponenta