



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU * PRÁCI

Autor práce: Bc. Martina Poncarová
Název práce: Analýza produktů fotochemické degradace vybraných léčiv (dexametazonu, prednisolonu) pomocí LC/MS
Školitel práce: doc. RNDr. Šárka Klementová, CSc.
Oponent práce: Mgr. Karel Hořejší
Pracoviště opONENTA: KCH, PŘF, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Komentář opONENTA:

Diplomová práce autorky se zabývá analýzou produktů fotochemické degradace protizánětlivých léčiv dexametazonu a prednisolonu pomocí LC/MS se snahou o identifikaci struktur produktů fotodegradace a navržení pravděpodobných cest fotochemického odbourávání.

Literární rešerše velmi stručně charakterizuje studovaná léčiva, jejich biologický význam a použití ve veterinárním lékařství a medicíně. Rovněž jsou zde zmíněny různé studie zabývající se produkty fotochemické degradace studovaných léčiv. Literární rešerše je zpracována poměrně kvalitně, s minimem chyb a překlepů, avšak její rozsah je značně omezený (tj. celkově 4 stránky). Rozšíření teoretické části by tedy bylo přinejmenším vhodné. Celkem je zde uvedeno 25 citací, přičemž zdroje jsou vhodně zvolené a aktuální.

Experimentální část se zabývá identifikací produktů fotochemické degradace dexametazonu a prednisolonu pomocí HPLC/MS a tvorbou schémat pravděpodobných cest fotodegradace. V rámci práce bylo detekováno celkem 45 degradačních produktů, přičemž u 36 produktů bylo možné navrhnout strukturu.

Postup při vlastní experimentální práci nebyl příliš vhodně zvolen, neboť pro strukturní analýzu není využití MS experimentů zcela dostačující a vyžaduje navíc i použití tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS), která byla pravděpodobně provedena pouze pro výchozí studovaná léčiva. V případě interpretace výsledků týkajících se identifikace struktur jednotlivých produktů se zde vyskytují některé nesrovnalosti popírající základní principy chromatografické separace a hmotnostní detekce, v důsledku čehož je věrohodnost některých prezentovaných struktur diskutabilní. Zejména se jedná o hodnoty m/z neodpovídající uvedené struktuře (např. produkt 28), schopnost separace stereoizomerů na reverzních fázích, ale neschopnost separace některých strukturních izomerů nebo nejasnosti v interpretaci hmotnostních spekter (dusíkové pravidlo, polarita ionizace, popis MS/MS spekter či neuvedení prekurzorového iontu při MS/MS experimentech).

Téma diplomové práce je poměrně zajímavé a strukturní charakterizace produktů představovala náročný úkol, nicméně prezentace výsledků není zcela jednoznačná a není řádně odůvodněna (např. na základě interpretace MS/MS spekter). V práci rovněž není uveden popis chromatogramu s identifikací produktů, ačkoliv v diskuzi jsou srovnávány jejich retenční časy a poměry m/z. Z práce není také zcela zřejmé, jaký je její přínos a možnost dalšího využití. Mimo jiné celkový rozsah práce činí 21 stran (bez zdrojů), což považuji za ne zcela dostačující pro kvalifikační práci magisterského stupně studia (obecné doporučení min. 25 stránek). Stanovené cíle, opomeneme-li některé výše zmíněné nesrovnalosti a nejasnosti blíže specifikované v tomto posudku, byly, ačkoliv ne jednoznačně, naplněny. Diplomovou práci autorky lze tedy celkově hodnotit jako vyhovující požadavkům, které jsou kladeny na kvalifikační práce magisterského stupně studia.

* Nehodící se škrtněte

(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	0
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	2
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	2
Úroveň souhrnu/annotace (i v angličtině)	0-3	3
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	2
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	3
Formální požadavky – body celkem		15
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
Splnění cílů práce	0-3	2
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	1
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0-3	2
Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	2
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	1
Experimentální náročnost práce	0-3	2
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	1
Aktuálnost použitých metod	0-3	3
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	1
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		15
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	---
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48/51²	30³

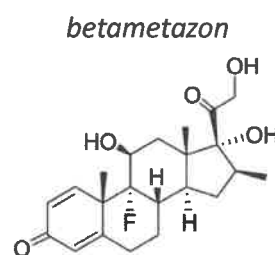
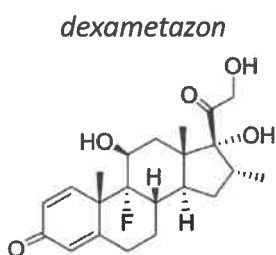
¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nehovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

² Vyberte jednu z hodnot: 48 bodů pro experimentální práce, 51 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

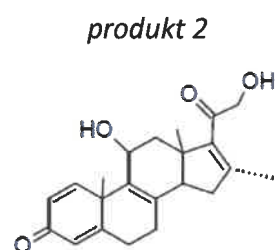
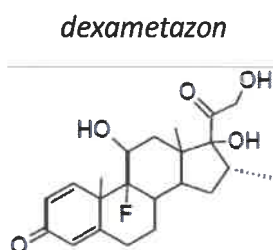
³ Zadejte počet přidělených bodů.

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě.

- 1) Mohla by autorka prosím uvést, jaký je přínos uvedené práce a možnost dalšího využití?
- 2) Na str. 4 (kap. 1) je v posledním odstavci uvedeno, že stereoizomery jsou látky o shodné hodnotě „m/z“ a rozdílném retenčním čase. Na základě čeho autorka usuzuje, že obecně platí výše zmíněné tvrzení?
- 3) Na str. 5 (kap. 3) jsou ve třetím odstavci uvedeny podmínky pro HPLC/MS analýzu, které jsou však pro případnou reprodukci experimentu nedostačující. Prosím autorku o uvedení hodnot dalších důležitých parametrů jako napětí na HESI kapiláře, teplota transferové trubice, poměr průtoků zmlžujícího a pomocného plynu, napětí na S-čočkách a F-čočkách, rozsah měření „m/z“ a kolizní energii použitou pro MS/MS analýzu obou léčiv. Byly tyto parametry optimalizovány?
- 4) Na str. 7 v Tab. I a na str. 13 v Tab. II (kap. 4) jsou uvedeny hodnoty „m/z“ s přesností na dvě desetinná místa. Je reálně možné při použití hmotnostního analyzátoru lineární iontové pasti dosáhnout uvedené přesnosti hmoty?
- 5) Na str. 7 (kap. 4) jsou v Tab. I uvedeny struktury dexametazonu a betametazonu (retenční časy 8,40 min a 12,77 min), přičemž je zcela evidentní, že se jedná o látky se stejným chemickým složením (m/z = 393,3) lišící se pouze prostorovou orientací metylové skupiny na uhlíku C16 (jedná se tedy o optické izomery). Prosím autorku o zdůvodnění, jak dospěla k závěru, že dochází k separaci stereoizomerů? Z praktického hlediska není separace stereoizomerů pomocí chromatografie na reverzních fázích možná, tudíž se domnívám, že se jedná o chybnou identifikaci.



- 6) Na str. 7 (kap. 4) je v Tab. I uvedena struktura dexametazonu (m/z = 393,3; t_R = 8,40 min), jehož postupnou dehydrofluorací a dehydratací vzniká produkt 2 (m/z = 355,2; t_R = 8,40 min). Jak by autorka vysvětlila nemožnost separace dvou strukturálně odlišných látek, jestliže separace optických izomerů je v předložené práci možná?



7) Na str. 27 jsou v Příloze 1 uvedena MS/MS spektra dexametazonu a betametazonu, která jsou značně odlišná, přestože se jedná o stereoizomery, u nichž bych očekával prakticky totožná MS/MS spektra. Prosím autorku o provedení dodatečné analýzy ozářeného a neozářeného vzorku standardu dexametazonu a zobrazení iontového proudu (chromatogramu) pro hmotu $m/z = 393,2$ jak pro ozářený vzorek, tak pro neozářený vzorek spolu s uvedením identifikace obou analytů. Prosím také o uvedení zprůměrovaného MS a MS/MS spekter píků, která dle autorky odpovídají dexametazonu a betametazonu.

Některé příklady nedostatků a chyb, na které si má dávat student v budoucnu pozor.

Níže uvedené komentáře není nutné z časových důvodů u obhajoby číst. Tyto komentáře jsou zde uvedeny zejména pro potřeby autorky, aby věděla, čeho se v budoucnu vyvarovat.

Nedostatky a chyby vztahující se k celému textu práce:

- 1) Hlavní kapitoly textu práce by měly začínat vždy na nové stránce
- 2) Názvy kapitol je vhodné nepodtrhávat (v případě nutnosti použít různé fonty písma).
 - např. **1 ÚVOD** vs. **1 ÚVOD** (vhodnější).
- 3) Zdroje, pokud jsou uváděny v podobě horního indexu, nemusí být v závorkách
 - tj. místo „ ... text ^[1].” vhodnější používat „ ... text **[1]**.” nebo „ ... text ¹.”
- 4) Latinské názvy a zkratky by měly být psány kurzívou
 - tj. Horby *et al.* a podobně
- 5) V seznamu použité literatury je vhodnější místo hypertextového odkazu používat digitální identifikátor objektu (tzv. DOI), neboť hypertextový odkaz se může časem změnit, zatímco DOI zůstává vždy stejný.

Rovněž by bylo vhodné sjednotit styl psaní názvu publikací

- kolísá psaní malých a velkých písmen v názvu publikace

Nedostatky a chyby vztahující se ke konkrétní části textu:

- 1) str. 1, kap. 1, poslední odstavec
 - zde je uvedeno „ ...dvojná vazba mezi atomy uhlíku C3 a C4 kortizolu ...“ na základě Obr. 1 na téže straně by se však mělo jednat o uhlíky C4 a C5
- 2) str. 3, kap. 1, odstavec 3
 - výrazy složené z číslice a slova by se měli psát dohromady a bez použití spojovníku např. **4letých** velbloudů apod.
- 3) str. 3, kap. 1, odstavec 7
 - pro vyjádření rozsahu „od .. do“ by se měla používat pomlčka bez mezer např. 315–1918 ng/l apod.
- 4) str. 4, kap. 1, odstavec 5
 - jednotky by měly být od čísla odděleny mezerou např. 11 _W a 87 _μW/cm²
- 5) str. 4, kap. 1, odstavec 6
 - nesprávný tvar slova „nahradit“ – tj. **nahrazením** vs. **nahražením**
- 6) str. 5, kap. 3, odstavec 1
 - není uveden dodavatel metanolu a především jeho čistota

- 7) str. 7, kap. 4, Tab. I
 - není zde uvedeno, v jakém módu polarizace byly dané hmoty „m/z“ změřeny
 - u produktů 8 a 15 není pro navržené struktury splněno dusíkové pravidlo
 - u produktu 17 chybí retenční čas
- 8) str. 15, kap. 4, Tab. II
 - produkty 10 a 11 NEJSOU stereoizomery
- 9) str. 17, kap. 5, odstavec 1
 - zde je uvedeno souvětí: „Je vidět, že sloučeniny mají shodné píky, ale liší se poměrem fragmentů v jejich spektrech.“, nicméně z textu není jasné, jakých spekter se toto tvrzení týká (chybí příslušný obrázek, popř. odkaz na obrázek)
- 10) str. 17, kap. 5, odstavec 5
 - chybně zvolený tvar zájmena „jenž“, správně by mělo být „... produktu 9, pro nějž ...“
- 11) str. 22, kap. 7, citace [6]
 - zde zřejmě mělo být „Glucocorticoids“
- 12) str. 23, kap. 7, citace [14]
 - zde zřejmě mělo být „occurrence“
- 13) str. 23, kap. 7, citace [16]
 - výraz „High-resolution“ by se měl psát dohromady, nikoliv s mezerou
- 14) str. 23, kap. 7, citace [18]
 - v česky psané práci by měl být text citace práce psané v češtině uveden česky
„~~Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice Czech Republic~~“
„Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita, České Budějovice, Česká republika“
- 15) str. 23, kap. 7, citace [19]
 - v názvu časopisu chybí zřejmě mezery: „Photochemical & Photobiological Sciences“
- 16) str. 24, kap. 7, citace [25]
 - zde zřejmě mělo být „spektrometry“
- 17) str. 27 a 28, Přílohy 1 a 2
 - obrázky (zejména Příloha 1) nejsou příliš kvalitní
 - v popisu příloh je uvedeno „... červená čára ve spektrech ukazuje, ...“
nejedná se o spektrum ale o chromatogram celkového iontového proudu

Závěr:

Práci

d o p o r u č u j i / n e d o p o r u č u j i *

k obhajobě a navrhuji známku dobře.⁴

V Českých Budějovicích dne 08. 05. 2021.

.....
podpis

⁴ Je možné navrhnout známku s tím, že navržená známka může být upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navržená známka se do výsledné známky nezapočítává). Známky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).