



Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra chemie



Hodnocení bakalářské práce

Posudek vedoucího práce



Jméno autora: Monika Mrňavá

Rok obhajoby: 2020



Název práce: Identifikace a charakterizace *in vitro* metabolitů kathinonu tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií



Vedoucí práce: Doc. Mgr. et Mgr. Rafael Doležal, Ph.D.

Oponent práce: Prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.



Téma práce: poměrně aktuální

Téma bylo v literatuře: diskutuje se o něm

Zaměření práce: původní vědecká práce

Práce je zaměřena: empiricky

Jazyková a stylistická úroveň práce: odpovídá

Rozsah práce: přiměřený

Použitá literatura: aktuální

Počet uváděných titulů: dostatečný

Citace v textu: přiměřená

Statistické zpracování výsledků: nebylo v náplni práce

Formální stránka práce: odpovídá

Využitelnost pro praxi: střední

Cíl práce: splněn

Úroveň práce: odpovídá požadavkům

Konkrétní náměty, připomínky nebo otázky vyžadující doplnění u obhajoby:

Předložená bakalářská práce shrnuje provedený experimentální výzkum, který byl zaměřen na identifikaci a popis metabolitů (S)-kathinonu, vznikajících působením lidských jaterních mikrosomů, s využitím LC-MS/MS systému. Teoretická část rozebírá základní principy biotransformace xenobiotik, její *in vitro* modely a aktuální metody necílené LC-MS/MS analýzy zaměřené na stanovení metabolitů. V praktické části je představena metodologie biochemických experimentů, které měly simulovat podmínky 1. fáze biotransformace *in vitro* při třech inkubačních časech. Dále následuje popis, jak byly vzniklé metabolity detekovány různými metodami LC-MS s využitím fragmentace a jak bylo kvantifikováno

množství zbylého (*S*)-kathinonu po ukončení biotransformačního experimentu. Výsledky práce byly podrobeny kritické analýze a v rámci možnosti rovněž racionálně interpretovány. Nejobtížnější část bakalářské práce představuje analýza fragmentačních spekter z vysokorozlišovacího spektrometru a stanovení struktury neznámých metabolitů, které byly primárně detekované v plných MS skenech se širokým rozsahem m/z . Tento poměrně složitý úkol byl řešen jak s využitím chemické intuice, tak s pomocí dostupného komerčního softwaru.

Bakalářská práce zahrnuje celkem 45 obrázků, 12 tabulek a zhruba 50 referencí na informační zdroje v převážně anglickém jazyce. Je napsaná živým a literárně zdařilým stylem, který rovněž podtrhuje logické uvažování autorky. Na některých místech se sice objevují překlepy, nedůslednost v dodržování doporučeného českého názvosloví enzymů, či chybějící popis k prezentovaným datům, ale celkově se domnívám, že bakalářská práce svou hloubkou teoretického rozboru zkoumaného tématu, rozsahem experimentů a úsilím vloženým do interpretace získaných výsledků splňuje požadavky, které jsou na tento typ studentských závěrečných prací kladeny.

S vědomím, že jsem spoluzodpovědný za všechny studie provedené v rámci této bakalářské práce, bych si dovolil vznést následující dotazy, které by mohly být při obhajobě reflektovány:

1. V teoretické části zmiňujete některé izoformy cytochromu P450. Bylo by možné uvést, které izoformy byly přítomné v použitých HLM?
2. Na str. 33 jsou prezentovány struktury a fyzikálně-chemické vlastnosti (*S*)-kathinonu, amfetaminu a kathinu. Mohla byste z uvedených informací vyvodit, která z těchto látek pravděpodobně nejlépe prostupuje z krve do mozku pasivní difuzí?
3. Při MS/MS analýze (*S*)-kathinonu v pozitivním módu byl nalezen iont s hodnotou $m/z = 79.0547$. Pokud víte, že takové hodnotě nejlépe odpovídá vzorec $C_6H_7^+$ a hodnota RDB = 3.5, jakou další hypotetickou strukturu je možné v tomto případě navrhnout?

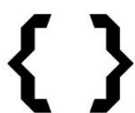
Bakalářskou práci doporučuji k obhajobě.

Výsledné hodnocení:

A

V Hradci Králové dne 15.8.2020

Podpis vedoucího práce



Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra chemie



Hodnocení bakalářské práce

Posudek oponenta



Jméno autora: Monika Mrňavá

Rok obhajoby: 2020



Název práce: Identifikace a charakterizace in vitro metabolitů kathinonu tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií



Vedoucí práce: doc. Mgr. et Mgr. Rafael Doležal, Ph.D.

Oponent práce: prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.



Téma práce:	aktuální
Téma bylo v literatuře:	diskutuje se o něm
Zaměření práce:	původní vědecká práce
Práce je zaměřena:	empiricky
Jazyková a stylistická úroveň práce:	velmi dobrá úroveň
Rozsah práce:	přiměřený
Použitá literatura:	aktuální
Počet uváděných titulů:	dostatečný
Citace v textu:	přiměřená
Statistické zpracování výsledků:	na dobré úrovni
Formální stránka práce:	odpovídá
Využitelnost pro praxi:	střední
Cíl práce:	splněn
Úroveň práce:	odpovídá požadavkům

Konkrétní náměty, připomínky nebo otázky vyžadující doplnění u obhajoby:

Bakalářská práce Moniky Mrňavé se sestává ze 75 stran. Přibližně polovina textu je věnovaná popisu současného stavu a charakterizaci vhodných chromatografických a MS metod, a dále informace o (S)-kathinonu a podobných látkách z hlediska biologické aktivity včetně jejich známých metabolitů. Druhá polovina práce je věnována vlastním experimentálním, analytickým a výpočetním aktivitám.

Tématem práce bylo identifikovat a charakterizovat in vitro metabolity (S)-kathinonu tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií.

Byly provedeny velmi detailní chromatografické studie s hmotnostní analýzou při několika koncentracích a různých inkubačních dobách a výsledky byly detailně vyhodnoceny. Byla

určena hmotnost tří metabolitů M1 – M3 a navrženy jejich hypotetické struktury. Byla použita řada výpočetních postupů jako podpůrných argumentů k navrženým strukturám metabolitů.

Připomínky a dotazy k bakalářské práci:

- 1) Obrázek 20 nemá popsané osy, i když uznávám, že je logické, co má na osách být.
- 2) Jsou hodnoty pKa, logP a logD uváděné pod vzorci experimentální nebo vypočítané?
- 3) Pokusila jste se zjistit, zda struktury na Obr. 27, 28 a 29 už byly připraveny jinými autory? Zvažuje syntézu těchto látek, aby se jednoznačně potvrdily polohy hydroxylových skupin? Bylo by to velmi podstatné vzhledem k existenci dvou až tří píků na chromatogramu, kdy se předpokládá, že se jedná o isomery se stejnou relativní molekulovou hmotností. Je ovšem zjevné, že tento požadavek by přinejmenším z časového hlediska nemohl být splněn v rámci této bakalářské práce.
- 4) Uvádíte retenční časy v tisícinách minuty. Jsou tyto hodnoty opravdu reprodukovatelné?
- 5) Laboratorní slang („eppendorfy“, a pod.) by neměl být v oficiální práci používán.

Závěr:

Bakalářskou práci Moniky Mrňavé považuji za zdařilou. Diplomantka prostudovala 47 literárních odkazů a dva elektronické zdroje a odvedla velké množství experimentální práce. Dosažené výsledky prezentovala přehlednou a srozumitelnou formou. Drobné formální chyby a přiměřené množství překlepů neovlivnily výsledky a lze je přičíst menší zkušenosti s prezentací rozsáhlých výsledků. Cíle práce uvedené na straně 40 byly jak z hlediska kvality tak z hlediska kvality splněny.

Práci jednoznačně doporučuji jako podklad k řízení k udělení titulu Bc.

Výsledné hodnocení:

A

V Hradci Králové dne 7.8.2020

Podpis oponenta