

**POSUDEK RECENZENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE**  
**BC. EVY HLAVATOVIČOVÉ**  
***NANOČÁSTICE CITLIVÉ NA VNĚJŠÍ PODNĚTY OBSAHUJÍCÍ***  
***FENYLBORONOVÉ SPOJKY JAKO POTENCIÁLNÍ***  
***NOSIČE LÉČIV***

Diplomová práce Bc. Evy Hlavatovičové se věnuje syntéze a charakterizaci micelárních nanočástic založených na micelárním uspořádání triblokových terpolymerů. Prostřední blok byl modifikován připojením fenyloboronových spojek umožňujících vázání a uvolňování léčiv obsahujících vicinální diolovou strukturní jednotku. Modifikace zároveň také upravila hydrofilicitu středního bloku, což bylo důležité pro samouspořádávání do micel. Byly testovány dvě různé fenyloboronové spojky o různé kyselosti boronových skupin. Vázání léčiva bylo testováno pomocí dvou modelových látek, nemodifikovaného alizarinu a alizarinu S. Pro uvolňování léčiva byla zkoušena cesta okyselení, cesta přidání roztoků cukrů, resp. s nimi příbuzné kyseliny askorbové, která se nakonec ukázala být nejefektivnějším uvolňovacím činidlem.

Téma práce je velmi atraktivní, týká se totiž vývoje systémů cíleného uvolňování léčiv, jejichž využití je zajímavé i při léčbě rakoviny. Z hlediska čistě akademického je atraktivní studium samouspořádání terpolymerů, jakož i optimalizace chemie vázání a uvolňování aktivních látek na micely.

V první části své diplomové práce Bc. Eva Hlavatovičová modifikovala komerční triblokový terpolymer poly(styren)-b-poly(4-vinyl pyridin)-b-poly(ethylene oxide) cestou reakce prostředního polyvinylpyridinového bloku s 2-bromomethyl-fenyloboronovou, resp. s 2-bromomethyl-4-fluorofenyloboronovou kyselinou. Reakční podmínky byly zvoleny tak, že dosažené stupně modifikace prostředního bloku byly 45% (kyselina bez fluoru) a 30% (kyselina s fluorem). Modifikace zavedla reaktivní boronové spojky a zároveň upravila hydrofilicitu středního bloku. Modifikované kopolymery byly vyčištěny pomocí dialýzy, zbaveny rozpouštědla a následně pečlivě charakterizovány. V další části práce bylo testováno samouspořádávání molekul kopolymerů do micel během přikapávání jejich metanolového roztoku do vody při různých pH. Byla zjištěna stabilita micel při neutrálním a kyselém pH a jejich srážení při bazickém. Velikost, disperzita, jakož i morfologie micel byly pečlivě zcharakterizovány. Následujícím stupněm práce byly testy zabudování simulantu léčiva, a sice barviva alizarinu. Rozpustnější alizarin S obsahující sulfonátové skupiny způsoboval srážení micel, vyvolané právě těmito iontovými skupinami. Velmi účinného zabudování barviva nakonec bylo úspěšně dosaženo tak, že byl přidán alizarin bez sulfonátových skupin, a sice v homogenním roztoku, ještě před samouspořádáním kopolymeru do micel. Poslední stupeň práce se pak věnoval uvolňování alizarinu z micel, coby simulantu léčiva: Alizarin

totiž vykazuje rozdílná UV/vis spektra a také různý sklon k fluorescenci v závislosti na své vazebné situaci i na stupni protonace. To umožňovalo velmi citlivou diagnostiku vázání resp. uvolňování simulantu léčiva. Ukázalo se, že esterová vazba alizarinu odolala i dosti kyselému pH, jakož i běžným cukrům fruktóze a galaktóze (patřícím k vicinálním diolům). Alizarin byl nakonec poměrně snadno uvolněn přidáním kyseliny askorbové, látky příbuzné cukrům, která je speciálním případem vicinálního diolu (endiol) a zároveň vykazuje značnou kyselost.

Z popisu je zřejmé, že tato diplomová práce zahrnovala poměrně značné experimentální úsilí při řešení několikastupňového úkolu, a že pro dosažení stanovených cílů Bc. Eva Hlavatovičová musela několikrát překonat nečekané překážky, což bylo završeno plným úspěchem. Ocenění tak zasluhuje nejen píle, ale i tvořivý badatelský přístup.

Diplomová práce je napsána v angličtině, v dobré kvalitě, občasné překlapy nebo stylistické nedokonalosti nesnižují její čitelnost. Úvod do tematiky byl dobře rešeršován, a poskytuje dobrý přehled témat souvisejících s předloženou prací. Provedení experimentů je popsáno nejen pečlivě a jednoznačně, ale z velké části i velmi čtivě, což je u experimentálních kapitol diplomových prací situace dosti výjimečná. Diskuse výsledků je napsána přehledně, vyvozené závěry jsou logické a celkově jsou dobře podpořené experimentálními výsledky. Kvalita a přehlednost četných ilustrací je rovněž výborná. Pochvalnou zmínku podle mne zasluhují velmi názorné a působivé ilustrace a schémata stavby micel, resp. vázání a uvolňování modelu léčiva – alizarinu, a také působivé fázové diagramy morfologií diblokových a triblokových kopolymerů.

### **Závěr**

Předložená diplomová práce zřetelně prokazuje, že Bc. Eva Hlavatovičová dokáže samostatně a na velmi dobré odborné úrovni vědecky pracovat, a také dobře prezentovat dosažené výsledky. Její diplomovou práci proto jednoznačně doporučuji k obhajobě a k přijetí za podklad k udělení vědecké hodnosti Magistra a navrhuji známku “výborná”.

V Praze, 25. června 2020

Dr. Adam Strachota, PhD

## Otázky

### 1) Syntéza kopolymerů:

-Jakého původu je zelená barva objevující se při kvaternizaci?

### 2) Experimentální část:

-Jak bylo měřeno pH? Jaké pufrы byly použity?

### 3) Experimentální část:

-Proč byl vybrán jako výchozí rozpouštědlo pro „quenching“ metanol a ne etanol, který by mohl lépe rozpouštět hydrofobní bloky kopolymerů i alizarin?

### 4) Diskuse – zabudování alizarinu do micel (před samouspořádáním):

-Co jsou pozorované malé 1 nm agregáty ve Fig. 33?

## Drobné připomínky

### 1) Diskuse uvolňování alizarinu kyselinou askorbovou:

-při vysvětlení mechanismu uvolňování kyselin askorbové je v Diskusi upřednostňována redoxní reakce. Alizarin i kyselina askorbová jsou ovšem oboje činidla redukční, i když je pravda, že kyselina askorbová při své oxidaci (např. vzdušným kyslíkem) může podporovat i oxidaci jiných látek, jak bylo publikováno v nedávné literatuře.

Je ovšem myslitelný také jednodušší odlišný mechanismus uvolnění alizarinu: Byl by to vznik boronového „esteru“, eventuálně tetraedrického, (přesněji řečeno smíšeného anhydridu) z boronové skupiny a z kyseliny askorbové, provázený uvolněním „nepoškozeného“, ale naprotonovaného alizarinu (žlutá barva). Tento alternativní mechanismus by rovněž byl v souladu s pozorovanými spektry. Úplné uzavření otázky přesného mechanismu této reakce (což nebylo cílem diplomové práce) by zřejmě vyžadovalo dodatečná spektrometrická měření.

### 2) Cíle práce, úvodní věty diskuse syntézy:

-hned na těchto místech mohlo být dobré zdůraznit dvojí účel navázání modifikačního činidla:

1) zavedení reaktivních boronových spojek, 2) částečná hydrofilizace prostředního bloku (zde bylo důležité, že byla použita kvaternizace, tj. Menšutkinova reakce aby vznikly hydrofilní iontové skupiny; na druhé straně bylo třeba aby hydrofilizace byla jen částečná – pro dosažení vhodných samouspořádacích vlastností). Tyto souvislosti sice vyplývají z obsahu textu jako celku, jejich zmínění na začátku by pomohlo čtenářovi, pro kterého je téma nové.

### 3) Úvod:

-terpolymery mohou být různého druhu, například i se všemi zcela kompatibilními bloky; terpolymery s nekompatibilními bloky se ovšem těší téměř výhradnímu zajmu syntetiků vzhledem ke svým zajímavým fyzikálním vlastnostem i možným aplikacím.

4) Úvod:

-výraz “non-linear terpolymers“ je poněkud neurčitý. Názornější by možná bylo “branched terpolymers“, “tri-arm terpolymers“ nebo podobné.

5) Úvod:

-výraz “cargo“ pro látky uvolňované z micel je hodně obrazný, v obecném povědomí je toto slovo velmi silně spojeno s nákladní dopravou; vzhledem k obraznosti by možná bylo vhodné použít toto slovo v uvozovkách.

6) Technické: vzorce, rovnice, symboly:

-formáty rovnic a mnoha dolních i horních indexů jsou v PDF verzi poškozené a nečitelné – doporučuji proto pro finální verzi online použít opravený výtisk PDF.