

## Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče: Jan Zelený

Název práce: Příprava a charakterizace polymerních, enzymově štěpitelných, nosičů kancerostatik

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)**

<b>1. Rozsah BP a její členění</b>	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
X	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	<b>N – nedostatečné</b>

<b>2. Odborná správnost</b>	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
X	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

<b>3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů</b>	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
X	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

<b>4. Jazyk práce</b>	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

<b>5. Formální a grafická úroveň práce</b>	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
X	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Úvod předložené práce hodnotím velmi pozitivně, čtenář v něm je čtivou formou seznámen se všemi podstatnými aspekty studovaného tématu, aniž by byl zatěžován nadměrnými detaily. Text ukazuje, že se student v dané problematice dobře orientuje.

Z práce je také patrné, že si student osvojil řadu experimentálních postupů a úspěšně splnil vytyčený cíl. K popisu experimentů mám však řadu výhrad, což se výrazně odráží i v mém celkovém hodnocení práce.

Kapitola „Výsledky“ je velmi chudá – sestává pouze ze 2 stránek textu komentujících výsledky, z nichž jedna (kap. 5.1) je spíše jen stručné shrnutí metodiky. Hlavním přínosem studenta byly syntézy polymerních konjugátů, jejichž jednotlivé kroky ale nejsou v práci nijak zdokumentovány. Z části je to dáno faktem, že se občas nějaký výsledek objeví v kapitole „Metody“ (např. výtěšky) nebo „Diskuse“ (např. souhrnná Tabulka 3). Za zásadní nedostatek považuji absenci informace o molárním zastoupení léčiva v rámci molekuly jednotlivých syntetizovaných konjugátů (kolik molekul léčiva připadá na molekulu polymeru), a zohlednění tohoto při porovnávání efektu volného a vázaného léčiva. Obrázek 16 ukazuje totéž co Tabulka 1 (str. 42-43), přínosnější by bylo např. uvést v tabulce pro představu absolutní množství uvolněného léčiva.

V metodické části student zvlášť popisuje postup syntézy 3 různých peptidových spojek, bylo by proto vhodnější místo navážky jednotlivých reaktantů uvádět jejich koncentraci (příp. molární poměry reaktantů), aby bylo zřejmé, jak se popsání postupy liší, nebo je zobecnil do jednoho postupu, pokud se neliší. V kapitole 4.2.6 je uváděna koncentrace karboxylových skupin polymeru, postup tohoto stanovení však v metodách chybí. U syntetických postupů občas chybí některý z důležitých údajů (doba trvání reakce, objem reakční směsi), a postupy jsou tím pádem obtížně reprodukovatelné. Také popis „click“ reakce (kap. 4.2.8) je nedostatečný, a spíše přebytečný, jelikož uvedený postup nebyl použit v rámci této práce. V kapitole 4.1.2 je uvedeno, že „pro výpočet byla použita hodnota inkrementu indexu lomu stanovená pro poly(HPMA)“, tato hodnota ovšem není uvedena. Také složení RPMI média (str. 39) je neúplné.

V práci jsou kromě dalších drobností špatně uvedeny jednotky enzymové aktivity katepsinu B (str. 39 a 42) a aktivita preparátu je zaměněna za „koncentraci aktivních míst enzymu“. Zaráží mě též uvedená přesnost stanovení molekulové hmotnosti pomocí SEC (vysoká) a MS (nízká) – v obou případech s přesností na jednotky Da. Dále nebývají vždy zkratky při první použití v textu vysvětleny, jejich používání není konzistentní (např. kap. 3.2) a některé (PLA, PGA) jsou zavedeny, ale dále v textu již nejsou použity.

V diskusi jsou také špatně uvedeny odkazy na Obrázky 19-21 a na obrázky v úvodu chybí odkazy v textu zcela.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

Pro porovnání cytotoxicity léčiv používáte  $IC_{50}$ , kterou nazýváte „koncentrací způsobující 50% inhibici životaschopnosti nádorových buněk“. Nebylo by vhodnější pojmenování např. letální koncentrace?

Máte představu, co by mohlo být příčinou velmi nízkého výtěžku navázání „TT skupiny“ na peptid Ma-V-Cit-OH oproti ostatním 2 syntetizovaným peptidům?

V práci se pokoušíte potvrdit či vyvrátit hypotézu, že léčivo navázané na polymerní nosič nemá cytotoxický účinek. Konjugát se spojkou V-Cit, které je štěpeno více než se spojkou  $\beta$ -Ala a méně než se spojkou GFLG, vykazuje největší cytotoxicitu. Mohla by být důvodem odlišná vazba léčiva na polymeru způsobená odlišným postupem syntézy komonomeru? Případně čím si tento jev vysvětlujete?

V diskusi uvádíte, že poločasy zhášení volného a vázaného léčiva se při FLIM analýze neliší dostatečně, aby je bylo možné od sebe odlišit. Laickým pohledem na Obr. 21 se mi hlavně u doxorubicinu rozdíl zdá poměrně výrazný. Jak velký rozdíl v poločase zhášení by byl dostatečný pro odlišení obou forem?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** podmínkou přijetí práce

## C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: **velmi dobře – dobře**

Datum vypracování posudku: 3. 6. 2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Tomáš Ječmen, Ph.D.