

## Oponentský posudek na bakalářskou práci Ondřeje Groborze

Předložená práce Ondřeje Groborze si vytyčila za cíl přípravu netoxického polymerního materiálu selektivně komplexujícího ionty železa za podmínek panujících v gastrointestinálním traktu, což by mohlo napomoci léčbě pacientů s poruchami příjmu železa. Z hlediska potenciálního medicínského přínosu se proto jistě jedná o atraktivní oblast výzkumu. Předložená práce je sepsána v angličtině s dobrou kvalitou jazyka, logickou posloupností, výstižně a čtivě, a je rozsahem teoretické i experimentální části více než dostatečná pro uznání jako práce bakalářské.

K práci a výsledkům v ní prezentovaným mám několik otázek a drobných výhrad:

Práce pokrývá řadu tematických okruhů počínaje organickou syntézou (včetně radiochemického značení), přes studium schopností komplexace a cytotoxicity až po *in vivo* testy zakončené srovnávací histologií. Adekvátně tomu je v Poděkování zmíněna řada spolupracovníků – některým je děkováno za provedení experimentů, jiným za pomoc s prováděním (a tedy je implicitně zmíněno, že na daných experimentech se autor sám osobně účastnil). Přesto bych rád autora vyzval k sesumírování toho, co vše během řešení tohoto projektu prováděl osobně.

Jaká byla role poly(*N*-vinyl pyrrolidonu) při přípravě výchozího G-gelu? Probíhá reakce v emulzi, nebo v suspenzi (jak je uvedeno na str. 24)?

Co znamenají odchylky u obsahu prvků v elementární analýze? Patrně se jedná o statistický rozptyl několika stanovení, nicméně obsah uhlíku v produktu  $53.28 \pm 0.00$  % v kapitole 3.3.2 působí dosti podivně, a měla by být použita spíše odchylka použité metody stanovení.

Podle Experimental Section byly použité dvě různé hořečnaté soli, podle Results by jedna z nich měla být zjevně sůl manganatá (tetrahydrát síranu).

Pro studium morfologie zrn polymeru byl použit SEM, přestože se jedná o drahou a pracnou techniku, a použité zvětšení bylo cca 200x. Proč nebyl použit normální optický mikroskop, má to pro studium daných částic nějaké zásadní nevýhody?

Pásky v NMR spektru na Fig. S2 jsou chybně označené (B vs. H).

Proč byl v NMR spektru pozorován side-band pouze jediného signálu, D? Navíc, ve spektru ukázaném na Fig. S6 najednou záhadně zmizel. Není původ signálu SSB<sub>D</sub> v něčem jiném?

Na str. 25 zmíněný úbytek absorbance je spíše indikací vymytí nadbytku fenolu než vypláchnutí oligomerů, taktéž diskutovaná změna v IR spektru na Fig. S5 nevypadá příliš významně.

Nukleofilní otevírání epoxidu aminofenanthrolinem bylo testováno v protických rozpouštědlech. Proč nebyl použit např. ACN nebo DMF, které se často využívají pro zvýšení nukleofility aminů?

Pro značení radioaktivním jodem byla využita předchozí modifikace polymeru tyrosinem. Bylo testováno, zda jod neznačí i výchozí G-gel např. díky otevírání epoxidu?

Je nějaké vysvětlení, proč má materiál GAL významně níže plato plného nasycení pro ionty Fe<sup>3+</sup> než pro ionty Fe<sup>2+</sup>, když logika by velela, aby bylo na stejné úrovni (podobně jako bylo pozorováno pro ostatní materiály)?

Jak si vysvětľujete, že podle elementární analýzy více než dvojnásobný počet chelatujících jednotek v materiálu GAL není přetaven ve vyšší plato plného nasycení oproti CAT?

Při studiu setrvání polymeru v organismu pomocí radioaktivního značení byl stanoven poločas vylučování cca 10 h. Po 58 h od aplikace by tak celková aktivita setrvávající v organismu měla činit cca 2 % původní hodnoty; souhrn aktivity ukázaný na Fig. 6 je však mnohem nižší. Kde se vzala tato diskrepance? Btw. – intenzitní škála aktivity použitá v Fig. 5 je pro oko čtenáře dosti zavádějící – aktivita s časem významně ubývá, což není při pohledu na obrázek příliš zřejmé.

Na str. 36 se pak píše, že hladina hemoglobinu vystoupala u kontrolní skupiny na fyziologickou hodnotu po 10 dnech, nicméně při pohledu na Fig. 7 je stále podstatně níž než byla na začátku anaemizačních experimentů (a je zhruba na úrovni po prvním odběru vzorku krve o „velkém“ objemu).

Ve větě hodnotící histologická srovnání chybí zápor: „...showing NO toxicity of the polymers“.

Jak bylo zmíněno výše, jazyk práce je kvalitní a s pouze malým množstvím překlepů a nepřesných obrátů, nicméně práce se neubrání několika četnějším formálním nedostatkům, mezi které lze zmínit nedůslednou/nekonzistentní práci s interpunkcí u titulů za jménem (v Poděkování) a nekonzistentní odkazy na literaturu používané v textu (někteří autoři jsou zmiňováni s iniciálou křestního jména, jiní nikoliv; někdy je použito „et al.“, ačkoliv v jiných případech prací s více autory tomu tak není). Taktéž použití množného čísla „authors“ v poděkování za grantovou podporu působí poněkud podivně. Z dalších bych zmínil (netřeba číst na obhajobě, jedná se spíše o poznámky, jak vylepšit připravovaný manuskript publikace): Mass je spectrometry, nikoliv spectroscopy. Podle seznamu zkratk je CAT používáno jak pro katechol, tak pro katecholem modifikovaný polymer (podobně i ostatní ligandy), což může být zavádějící; v Fig. 3 je navíc použito počestěné KAT. Je zmíněna i příprava zásobních roztoků Fe s pH = 6, ale dál už je o tomto roztoku zcela pomlčeno (patrně z důvodu vysrážení hydroxidu). Pokud je odkazováno na konkrétní hodnoty vlnočtů v IR spektrech, bylo by vhodné pro snazší orientaci čtenáře v obrázku spektra označit, o který pás se jedná. Z filozofických připomínek bych doporučil opatrnost při používání termínu „nové paradigma léčby“ – ano, v souvislosti s poruchami metabolismu železa nebyl patrně představený přístup použit, nicméně se nejedná o žádnou převratnou novinku, neboť chelatující polymery se využívají v léčbě onemocnění způsobených např. poruchami metabolismu mědi. Dále bych vzhledem k tomu, že i samotný výchozí G-gel obsahuje řadu donorových atomů, doporučil pro kontrolní experiment aplikaci výchozího polymeru, nikoliv „no polymer conditions“.

Celkově je však chyb velmi málo, jedná se vesměs o drobnosti, a nijak nesnižují pozitivní dojem čtenáře.

Z výše uvedených důvodů plně podporuji připuštění předložené práce k obhajobě a navrhuji známku „výborně“.

V Durhamu, 31. 5. 2019

Jan Kotek