

Oponentský posudek disertační práce Ing. Kristýny Kolouchové "Self-Assembled Polymer Systems Based on Poly[(N-2,2-difluoroethyl)acrylamide] as Diagnostic and Theranostic Tracers for 19F Magnetic Resonance Imaging"

Disertační práce K. Kolouchové se zabývá přípravou a využitím fluorovaných termoresponsivních polymerních systémů na bázi poly(N-alkylakrylamidů) pro 19F MRI zobrazování v medicínských aplikacích. Záběr práce je široký a úctyhodný: od polymerní syntézy, přes fyzikálně-chemickou a biochemickou charakterizaci polymerních nanostruktur a biokompatibilních materiálů, až po zobrazovací techniky 19F MRI využívajících polymerní systémy, jak *in vitro*, tak *in vivo*. Předložená práce tak představuje cenný, logicky uzavřený celek s významným aplikačním potenciálem. Je výsledkem 4 let práce doktorandky na ÚMCH AVČR, v.v.i., pod vedením Dr. Martina Hrubého.

Vlastní text je založen na 3 člancích, 1 přehledovém článku a na 1 rukopisu článku odeslaném k publikaci, kde je doktorandka 3-krát prvním autorem. Jedná se vesměs o prestižní mezinárodní časopisy s vysokým IF (jmenoval bych *Biomacromolecules* a *Journal of Controlled Release*). Již publikované 4 články tvoří přílohu disertační práce: Appendix 1-4.

Práce je psána anglicky, má 93 stran a 161 referencí, je rozdělena na 5 kapitol: (1) Úvod, kde jsou představeny principy MRI zobrazování, termoresponsivních polymerů, použité polymerní syntézy a experimentálních technik, dále pak detailní popis nízko- a makromolekulárních systémů pro 19F MRI teranostiku. (2) Cíle práce, kde je nastíněno 5 dílčích otázek/úkolů. (3) Výsledky a diskuse s 5 podkapitolami, kde jsou poměrně detailně shrnuty výsledky 5 článků doktorandky. Práci pak uzavírá (4) Shrnutí a (5) Seznam literatury.

Jádro práce (5 podkapitol části Výsledky a diskuse) představuje 5 samostatných projektů doktorandky:

(1) Syntéza, charakterizace a využití amfifilních dvojblokových kopolymerů o různé délce bloků s hydrofilním blokem: poly(methyl-oxazolin), nebo poly(hydroxypropyl methacrylamid), a termoresponzivním blokem: poly(difluoroethyl akrylamidem); Appendix 1. (2) Detailnější studie zaměřená na vnitřní strukturu nanoagregátů tvořených dvojblokovým kopolymerem poly(methyl-oxazolin)-b-poly(difluoroethyl akrylamid) v závislosti na vnějších podmínkách; Appendix 2. (3) Studie navazující na předchozí dva projekty, kde je v termoresponzivním bloku se statistickým rozložením přidán akrylamidový segment s navázanou ferrocenovou skupinou, která je citlivá na oxidativní prostředí; článek v recenzním řízení v době odevzdání práce. (4) Studie zaměřená na *in vivo* testované implantáty tvořené statistickým terpolymerem s různým obsahem hydrofilního, ionizovatelného a termoresponzivního (fluorovaného) segmentu; Appendix 3. (5) Poslední podkapitola odkazuje na rozsáhlejší text v Úvodu založený na Appendixu 4.

Jak jsem již uvedl, práce je uzavřeným celkem, který přináší velmi cenné a pro soudobou společnost extrémně důležité výsledky ukazující, jak lze fluorované polymerní systémy citlivé na vnější podněty využít v 19F zobrazování, diagnostice a léčebné terapii. Vědecký význam

práce, která má svoji vnitřní logiku, je proto nesporný. Měl bych však výhrady k formě a částečně i k dílčímu obsahu:

1) Předložená práce je výrazně multidisciplinární a týmová. V práci však není explicitně řečeno (kromě Acknowledgment), jaký je podíl doktorandky na projektech, kterou jsou její součástí.

2) Část Úvodu (kapitola 1.5) seznamuje čtenáře s použitými experimentálními technikami. Tento přehled je však nedostatečný a místo standardního exaktního popisu fyzikální podstaty technik, je zde spíše stručně uveden názor či pohled diplomantky, jak daná metoda funguje. Některé výroky balancují na hranici správnosti. Například metody SAXS a SANS jsou v textu zhodnoceny, že jsou příliš drahé a vlastně neposkytující nějaké hlubší a důkladnější informace než můžeme získat například pomocí rozptylu světla. (Myslím, že se najde poměrná početná skupina vědců, která by s tímto výrokem nesouhlasila.) Metoda SEC je uvedena jako jakási varianta HPLC; apod. Naopak některé dále v textu používané veličiny, jako například Floryho exponent, nejsou v této části vůbec vysvětleny, což by bylo pro přehlednost a pochopení textu přínosné.

3) V práci chybí část Materiál a metody. Příslušné popisy experimentů a použitých přístrojů jsou pak poměrně rušivě rozprostřeny v textu a popisech obrázků v kapitole Výsledky a diskuse.

4) Některé termíny jsou v textu použity v nesprávném kontextu a mimo obvyklý význam. Např.: koncentrace atomů v molekule místo zlomku či frakce; rozptyl signálu v NMR místo štěpení; degradace polymerních agregátů ve smyslu jejich de-asociace; použití termínu klastr pro popis nedefinovaných agregátů; „broad polydispersity“, apod.

5) Některé výsledky disertační práce jsou uvedeny už v úvodu, což není standardní a snižuje to přehlednost textu. Jako ne příliš šťastné vidím také to, že cílem práce č. 5 je kapitola 1.3 Theranostics v Úvodu. Takže si doktorandka vytyčuje cíl, který je již uveden na začátku. Příslušná kapitola ve Výsledcích a diskusi je pak jen odkazem na kapitolu 1.3. Nebylo by lepší tento cíl, když už je na začátku práce v podstatě uveden a vysvětlen uveden, vůbec vynechat?

Tyto výtky nesnižují vědecký význam práce, ale snižují srozumitelnost textu.

K samotným výsledkům práce bych měl několik otázek do diskuze:

1) Polymerní nanočástice vzniklé agregací termoresponzivních dvojblokových kopolymerů nad T_{cp} jsou popsány jako fyzikální hydrogely s propojenou sítí zkolabovaných řetězců obklopených hydrofilními řetězci. Na obrázku 20 je taková nanočástice znázorněna jako pravidelný kulovitý útvar s homogenním vnitřkem a stabilizujícími hydrofilními bloky na povrchu. Je velikost a tvar tohoto útvaru nějak termodynamicky řízena? Jaký je vliv délky bloků na celkovou velikost nanočástice? Jak by se lišila hustota celého tohoto útvaru od

hustoty jedné jeho vnitřní části (domény hydrofobních bloků obklopených hydratovanými bloky)? Jaká je konturová délka studovaných kopolymerů?

2) Dojblokové kopolymery vytváří menší nanočástice i pod teplotou T_{cp} . V práci je to vysvětleno vznikem vodíkových vazeb mezi segmenty fluorovaného poly(akrylamidu). Bylo by to dostatečné pro vznik micel? Jak je tento komplex stabilní při změně teploty? Je ještě nějaký důkaz pro vznik tohoto komplexu než nepřímé výsledky z NOESY NMR (např. posuny v NMR a IR spektrech)?

3) Je pozoruhodné, že přítomnost relativně malého množství segmentů s oxidovanou formou ferrocenu dokáže důkladně „rozbít“ celou nanočástici. Je to způsobeno vlivem náboje a hydrofilnosti daného segmentu (např. v porovnání s terpolymerem v části o implantátu)? Kam se posune T_{cp} celého polymeru po oxidaci tohoto segmentu?

Závěrem bych rád uvedl, že disertace Ing. Kristýny Kolouchové přináší cenná vědecká data, která významně přispívají k využití polymerních systémů v MRI zobrazování, splňuje požadavky kladené na doktorské práce a na základě toho doporučuji práci k obhajobě.

V Praze, 3. prosince 2020

Doc. RNDr. Pavel Matějček, Ph.D. (PřF UK)