

# Oponentský posudek dizertační práce

Autor: Ing Karel Bernášek

Název práce: Applications of spectrally and spatially resolved NMR: induced anisotropy and phase transition in hydrogels; new relaxation probes for imaging.

Oponent: Doc. RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

Doktorská dizertační práce Karla Bernáška se zabývá aplikací vyspělých technik spektrálně a prostorově rozlišené NMR spektroskopie v několika molekulárních systémech. V práci jsou názorně demonstrovány možnosti NMR spektroskopie pro studium molekul na mikroskopické úrovni, těžiště práce je především v implementaci složitých zobrazovacích metod a sekvencí MR.

Dizertační práce je logicky rozčleněna na teoretickou a experimentální část, popis výsledků a jejich diskuzi a závěrečné shrnutí celé práce. Teoretická část obsahuje popis základů NMR spektroskopie s ohledem na použité techniky. Velmi dobře je uchopena část týkající se interakcí, které ovlivňují NMR spektra, možná k větší srozumitelnosti by bylo vhodné doplnit schematický obrázek. Dále je formou rešerše popsána problematika částečné orientace molekul metabolitů a jejich NMR spekter a problematika médií, které se k orientaci molekul používají. Poslední část je věnována polymerním hydrogelům citlivým na vnější podněty.

V experimentální části je podrobně popsán postup při přípravě vzorků pro částečnou orientaci molekul a výběr vhodné techniky pro stlačení vzorků. Autor musel najít vhodné chemické složení gelů a vypracoval podrobný protokol jejich přípravy. Popis přípravy vzorků je doprovázen užitečnými fotografiemi a tato část dizertace pak může sloužit jako návod pro další experimenty s orientujícími stlačenými gely.

Výsledková část dizertace je rozdělena do tří kapitol dle studovaných systémů. V první části autor použil radiálně stlačenou želatinu jako orientující médium pro molekulu karnosinu a vyvinul tak modelový in vitro systém jako protějšek k in vivo metabolitům obsažených v měkkých tkáních. Měřeními tzv. reziduálních dipolárních interakcí u částečně orientovaného karnosinu pak bylo možné s určitou aproximací určit molekulovou strukturu a dynamické chování karnosinu. Výsledky byly publikovány v časopise Journal of Spectroscopy.

Dalším zkoumaným systémem byly na podněty citlivé polymerní hydrogely. Tyto systémy jsou sice v současné době hojně studovány, nicméně použití zobrazovacích metod NMR je spíše ojedinělé. Autor studoval časový vývoj uvolňování molekul vody ze zkolabovaných struktur v semiinterpenetrujících sítích připravených z teplotně citlivého poly(*N*-isopropylakrylamidu). Byly také zkoumány hydrogely na bázi polyakrylamidu citlivé na složení rozpouštědla a v tomto případě byl realizován unikátní experiment, kdy anisotropie v gelu byla vyvolána změnou rozpouštědla a následně bylo detekováno reziduální dipolární a kvadrupolární štěpení. Se znalostí dané problematiky mohu konstatovat, že podobné výsledky nebyly na citlivých polymerních hydrogelech dosaženy a je škoda, že se je nepodařilo korelovat s makroskopickým chováním hydrogelů a dovést tento výzkum k publikačnímu výstupu.

Autor se dále podílel na výzkumu relaxačních sond pro zobrazování jader fluoru  $^{19}\text{F}$  a na relaxační studii nových feromagnetických nanočástic. Zdárně implementoval novou měřicí sekvenci používající ultrakrátký echočas a tato sekvence se ukázala být citlivější než do té doby standardně používané techniky. Tyto výsledky jsou shrnuty v závěru výsledkové části dizertace a zároveň byly publikovány v časopisech *Inorganic Chemistry* a *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*.

Dizertační práce obsahuje několik originálních výsledků, což vyplývá z inovativního přístupu autora k výzkumným projektům. Doktorand prokázal implementací složitých NMR sekvencí a interpretací získaných výsledků, že dané problematice rozumí a že je schopen samostatně řešit vědecké úkoly. Určité rezervy bych viděla v omezené schopnosti doktoranda patřičně zdůraznit své úspěchy a vyzdvihnout význam dosažených výsledků a tím i celé práce.

Předkládané dizertační práce má po formální stránce několik nedostatků. V práci lze najít nezanedbatelný počet obrázků a tabulek, na které není odkaz v textu. Některé obrázky a tabulky mají nejasné nebo chybějící popisky, jako příklad mohou sloužit Tabulky 5.1 a 5.2, kdy v záhlaví jsou uvedeny zkratky pro označení vzorků, které nejsou vysvětleny ani v popisu tabulek ani v textu a hodnoty štěpení v tabulkách jsou uváděny s přesností na různý počet míst. Reference v seznamu citací nejsou uváděny ve stejném formátu a evidentně byl seznam generován softwarově se špatně přenesenými názvy článků. Práce je psaná angličtinou, která na mnohých místech je málo srozumitelná. Všechny tyto uvedené nedostatky snižují čtivost a srozumitelnost celé práce a dalo by se jim předejít pečlivější kontrolou textu.

K práci mám několik doplňujících a upřesňujících otázek:

1. Tabulky 5.1 a 5.2 obsahují hodnoty reziduálních dipolárních interakcí RDC zjištěné pro karnosin ve stlačené želatině. Měření přitom byla prováděna pro různé stupně stlačení a pro různé koncentrace želatiny, ale pouze stupeň stlačení má významný vliv na hodnoty RDC. Je to v souladu s teoretickými předpoklady, případně s literaturou? Proč koncentrace želatiny hodnoty RDC prakticky neovlivňuje?
2. Obrázek 6.5 názorně demonstruje pronikání acetonu do hydrogelu. V jaké časové škále proces probíhal? Koreluje tato časová škála s tou, v jaké docházelo ke zkracování vzorku na Obrázku 6.4? Z Obrázku 6.5 je zřejmé, že aceton proniká do hydrogelu nesymetricky, hydrogel je zkolabován pouze na jedné straně. Jaké je pro to vysvětlení?
3. Grafy v Obrázcích 6.11 a 6.12 znázorňují časové závislosti změn velikosti hydrogelů tak, jak byly detekovány pomocí MRI metody. Je zřejmé, že oba měřené hydrogely se v těchto závislostech liší a především, že botnání hydrogelů (Obr.6.12) je mnohem pomalejší než proces kolapsu (Obr. 6.11). Čím je to způsobeno? Jak ovlivňují parametry přípravy hydrogelů (polymerní koncentrace, síťová hustota) rychlost, s jakou se hydrogely dostávají do rovnováhy?
4. V kapitole 7.2 bylo ukázáno, že autorem implementovaná sekvence UTE používající ultrakrátký echočas je podstatně citlivější než jiné standardní metody

pro detekci  $^{19}\text{P}$ . Jaká jsou omezení této metody s ohledem na relaxační časy měřených molekul?

Závěrem mohu konstatovat, že dizertační práce Karla Bernáška svým obsahem převyšuje zmíněné formální nedostatky dizertační práce. Výsledky předkládané práce byly publikovány ve třech recenzovaných článcích. Jedná se tedy o hodnotnou vědeckou studii přinášející nové poznatky v oblasti zobrazovacích technik NMR a doktorand během jejího řešení prokázal předpoklady k samostatné tvůrčí vědecké práci.

*Doporučuji proto předkládanou dizertační práci k obhajobě.*

V Praze, 6.12.2021

Doc. RNDr. Lenka Hanyková, Dr.