

Oponentský posudek

disertační práce

Ing. Aleny Matelové

**„Nalezení vhodné a originální modifikace
kyseliny hyaluronové pro nosičové systémy“**

Disertační práce Aleny Matelové spadá z velké části do oblasti organické syntézy zaměřené na chemickou modifikaci polymerů, přesněji biopolymerů. Na zadaném biopolymeru – kyselině hyaluronové studuje možnosti jeho modifikace organickými řetězci obsahujícími aromatické struktury. Motivací je příprava derivátů hyaluronanu, které by mohly najít uplatnění jako nosiče (zřejmě hydrofobních) léčiv. Syntetická část je proto doplněna o několik charakterizací připravených derivátů důležitých pro tuto aplikaci.

Práce tradičně začíná, po krátkém úvodu, teoreticko-literární částí. Ta zpracovává jednak téma samotného hyaluronanu, jednak nosičových systémů. Obě tyto dílčí části končí kapitolkou týkající se přímo zadání disertace. Seznam citací obsahuje 233 položek, doktorandka tedy prostudovala bohatý poznatkový materiál, na jehož základě rozvinula vlastní syntetickou a charakterizační činnost.

Po vymezení cílů práce následuje popis použitých experimentálních postupů. Vůči čtenáři jde o poněkud nevstřícné pojetí, neb jsou rovnou uváděny detaily experimentů, aniž by bylo nejprve objasněno, proč se píše zrovna o tomto a tomto. To se čtenář vlastně doví až v následující části pojmenované výsledky a diskuse, v textu, který prezentaci a diskusi výsledků předchází.

Výsledkově-diskusní část pochopitelně tvoří jádro disertace. Prezentuje výstupy opravdu bohaté syntetické činnosti, doplněné o fyzikálně-chemickou a „buňkařsko“-hemolytickou charakterizaci připravených derivátů hyaluronanu, u nichž je předpokládána šance nosičového uplatnění. Odvedený objem práce, zejména v syntézní části, bohatě odpovídá předpokladům disertace. Postupy jsou adekvátní zvoleným cílům, tvůrčí aspekty lze spatřovat především ve

výběru derivatizace a hledání odpovídajících postupů přípravy. Vytčené cíle tak lze považovat za naplněné.

Z příloženého přehledu publikací vyplývá, že výsledky disertace byly zveřejněny v jednom článku v renomovaném mezinárodním časopise, čtyřech příspěvcích na mezinárodních konferencích a jsou zřejmě předmětem jednoho patentu (bližší bibliografické údaje chybí). Dále je doktorandka spoluautorkou dalších dvou časopiseckých publikací a dvou konferenčních příspěvků z oblasti organické syntézy. Zákonná povinnost toho, aby disertace obsahovala zveřejněné výsledky, tedy byla naplněna.

Nyní k některým částem podrobněji, zejména z kritického pohledu.

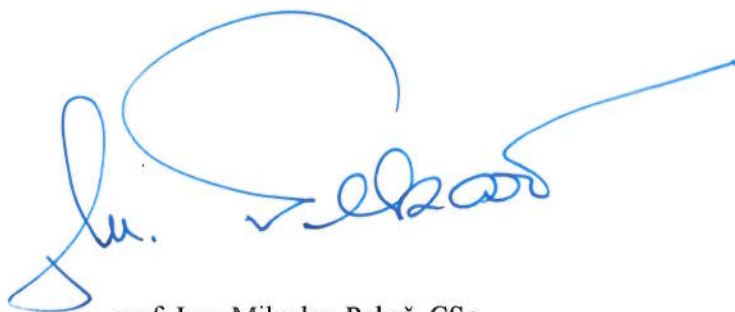
Po formální stránce je práce na obстойné úrovni, nicméně důslednější redakci některé formální prvky postrádají. Třeba na obr. 10 (str. 27) je liposom téměř neviditelný. První odstavec strany 41 tvrdí, že byla přidána aktivační reakce. Tamtéž se mluví o bázi, ale až v další kapitole se čtenář doví, o co jde (viz připomínka výše). V části 5.13 se čtenář nedozví, fluorescence čeho byla měřena. Tabulka na str. 10 nemá vysvětlení zkratku rt. Některé obrázky (třeba 55, 61) nemají popsány všechny osy, některé mají opravdu nedostatečné či dokonce chybné popisky – např. u obr. 59 (str. 103) je podivné sousloví křivky micel; na obr. 60 (str. 104) nebudou tokové křivky, v popisku vodorovné osy asi nemá být log; popisek stylu naše deriváty (obr. 62 na str. 106) je zcela nedostačující, ba přímo nepřijatelný. Na str. 108 se píše: „Vysvětlením...by mohla být neexistující závislost...“ – když něco neexistuje, nemůže to nic vysvětlovat, zřejmě šlo pouze o to, že výsledky nepotvrdily nějakou, snad očekávanou závislost. Pojem gradient (str. 113, 114) není vysvětlen, já osobně pod ním automaticky chápu matematickou operaci na funkci více proměnných. Obrat „...micely obsahovaly neinkorporovanou...látku...“ je nesrozumitelný – předpokládám, že aby micely mohly něco obsahovat, musí to do sebe inkorporovat. Tab. 27 (str. 124) neuvádí jednotky velikosti; jsou u ní uváděná desetinná místa skutečně významná? Popisky obrázků v části 6.2 často neuvádějí, stabilita v čem (v jakém prostředí) byla zkoumána.

Otázky či poznámky k odborné části disertace mohou být použity při obhajobě disertace. Týkají se hlavně ne-syntézni části disertace, kde studentka zjevně srdnatě bojovala s některými nepříjemnými výsledky:

- Modelové látky (léčiva) byly rozpouštěny v „krátkých“ alkoholech, dobře mísitelných s vodou. Jsou to tedy typicky nepolární látky (v. t. str. 26), vyžadující micerální prostředí, pro které by byla nutná modifikace hyaluronanu?

- Stabilita micel byla studována jen v prostředí albuminu (část 6.2)? Jaké degradační působení albuminu bylo předpokládáno, co je vlastně příčinou rozpadu micel? Degradace tu znamená chemický rozpad derivatizovaného hyaluronanu? Nemůže jít v daných systémech „jen“ o ustavování a „různou polohu“ rovnováhy mezi modelovou látkou v roztoku a v micelách?
- Nefunkčnost pyrenové metodiky je zvláštní, neb je to vcelku prověřený standard, i na derivátech hyaluronanu, a nilská červeň cosi naznačuje. Pyren svítí i z vody, neb nakonec až tak nerozpustný v ní není, takže získaný signál je vždy superpozicí signálu z vody a z případného micelárního prostředí. Fluorescence nilské červeni je ovšem ve vodě zhasena. Nemůže být nárůst její intenzity důsledkem jen nějakých interakcí s modifikujícími řetězci hyaluronanu, které narušují zhasací vliv molekul vody, aniž by nutně vznikaly micelární útvary, které potřebuje pyren? Nepřevažuje u pyrenu prostě stále signál z vody, překrývající signál z hydrofobního prostředí? Práce neuvádí použitou koncentraci pyrenu. Obr. 57 znamená excitační spektrum? Ukazuje nárůst píku kolem 370 nm, ten znamená co? Co pik odpovídající excimeru (obr. 56 cosi naznačuje)?
- Proč data z ITC (obr. 62, str. 106) začínají až při podstatně vyšší koncentraci, než CAC udávaná v tab. 13 na str. 103? Předpokládám, že znázorňují kumulativní změnu entalpie, což v popisku chybí. Tepelný efekt čeho vlastně udávají, když ne micelizace? Něco se tam evidentně stále děje, bohužel není uvedena koncentrace titrujícího roztoku, nelze tedy ani odhadovat, zda by to mohlo být nějaké zředovací teplo. Navíc svislá osa má asi osudovou chybu v jednotkách – stovky kilokalorií na gram jsou obrovské hodnoty, např. reakce mezi vodíkem a kyslíkem má reakční entalpii, tuším, kolem 30 kilokalorií na gram vodíku. Vzhledem k tomu, že molární hmotnost derivátů je udávána (str. 68-71) 6 nebo 15 tisíc g/mol, dostáváme se k naměřeným teplům v řádech alespoň milionů kilokalorií na mol, což už se blíží jaderným reakcím.
- Zjistit, zda připravené deriváty vytvářejí opravdu micely, není jednoduché, a ani v disertaci se to zřejmě nepodařilo prokázat. Někaké interakce nepochybně existují (v. t. diskuse na str. 108). Nejsou nějaké indicie ve změřených NMR spektrech?
- V názvu disertace zní: originální modifikace kyseliny hyaluronové. V čem přesně spočívá originalita? V práci to nebylo vypíchnuto – třeba zda byl objeven dosud nepoznaný modifikační postup.

Závěrem konstatuji, že posuzovaná disertační práce jako celek splňuje zákonné požadavky i obecné požadavky na tento typ práce kladené. Za klíčovou považuji syntézní část, kde se podařilo připravit řadu nových derivátů hyaluronanu. Charakterizační část prozkoumala některé jejich základní vlastnosti významné pro zamýšlené aplikace a zejména ukázala, kde je nutno ještě zaměřit další výzkum v tomto směru. Doporučuji práci přijmout jako odpovídající podklad pro obhajobu.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'M' followed by the surname 'Pekař'.

Brno, 26. 8. 2018

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.