

# **Oponentský posudek doktorské disertační práce Ing. Lenky Gřundělové**

## **„Stabilita a chování hyaluronanu v roztocích pro technologii výroby farmaceutických přípravků“**

Tento posudek disertační práce byl zpracován na základě pověření vydaného panem doc. Ing. Romanem Čermákem, Ph.D. (děkanem Technologické fakulty Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně) ze dne 14.7.2014 ve věci doktorské disertační práce **Ing. Lenky Gřundělové**. Školitelem disertantky byl doc. RNDr. Aleš Mráček, Ph.D. (UTB Zlín).

Základem disertační práce paní Ing. Lenky Gřundělové je studie stability a chování hyaluronanu sodného ve vodných roztocích solí především pro problematiku technologie výroby různých farmaceutických přípravků. Pozornost je zaměřena především na vliv vybraných tenzidů a iontů z Hofmeisterovy řady solí na chování vodného roztoku hyaluronanu. Hlavní metody, které autorka k dosažení cíle své práce – přispět k pochopení chování vodných roztoků hyaluronanu sodného v přítomnosti iontových sloučenin (viz kap. 3) – zvolila, patří měření povrchového napětí a viskozity, měření velikosti částic pomocí dynamického rozptylu světla (DLS). Součástí předložené práce bylo také sledování viskoelastického chování karbodiimidu modifikovaného hyaluronanu. Systematičnost experimentálního postupu byla velmi prozíravá a zaslouží pochvalu. Použití různých metod charakterizace disperzních soustav a jejich vlastností (dynamického rozptylu světla, měření povrchového napětí a viskozity) dovolilo kromě stanovení velikostí částic posoudit jejich stabilitu a ovlivňování různými ionty. V závěrečné části experimentů potom bylo využito dynamické mechanické analýzy, NMR a FTIR-ATR spektroskopie, které umožnily autorce popsat viskoelastické chování karboimidu modifikovaného hyaluronanu.

Disertační práce má celkem obvyklé členění. Za částí Současný stav problematiky je v krátkosti popsán cíl práce. V Teoretické části (kterou bych asi spojila s kap. Současný stav řešené problematiky) je nejprve obecně popsána problematika spojená s kyselinou hyaluronovou a tenzidy. Závěrečná část teoretické části je věnována Hofmeisterově řadě solí.

Následující kapitola nazvaná Vybrané metody studia chování hyaluronanu v roztoku je zaměřena na dobře srozumitelný popis všech užitých technik.

V kapitole Experimentální část jsou přehledně shrnuty experimentální výsledky získané dílčími experimenty, přičemž tabulky s numerickými hodnotami jsou vhodně kombinovány s grafy zkoumaných závislostí. V této části jsou popsány konkrétní podmínky, za nichž byly prováděny veškeré experimenty. Dle mého názoru, trochu nestandardně je spojená tato část s částí diskuze získaných poznatků. Nicméně, je to pro čtenáře srozumitelné.

V diskusních částech jsou podrobně rozebrány vlivy změn konkrétních podmínek při jednotlivých krocích experimentů. Závěry vyvozované z experimentů jsou podpořeny původními přístrojovými daty, zpracovanými ve formě grafů či snímků získanými pomocí AFM.

Disertace je zpracována přehledně a obsahuje jen málo nepřesných formulací či přehlédnutých chyb např.:

Obr. 2 – nejedná se o strukturní jednotku kyseliny hyaluronové, ale o strukturu její soli  
 Str.32 – správně by mělo jít o  $pK_A$  kyseliny nikoliv hyaluronanu a navíc se  $pK$  bude lišit podle použité metodiky a také podle toho, zda se jedná o nízko či vysokomolekulární HA  
 Str. 63 poslední věta - doporučila bych doplnění, že Ubbelohdeho viskozimetry jsou různé pro různé rozsahy viskozit (značení dle poloměru kapiláry)  
 Obr. 24 – chybně vyznačena trubice pro eliminaci hydrostatického tlaku v širší trubici  
 Str. 65 – termín špatná a dobrá rozpouštědla bych alespoň dala do uvozovek  
 Str. 66 – vzhledem k tomu, že se v práci věnujete roztokům, postrádám zmínku o závislosti povrchového napětí na složení roztoků a čase  
 Str. 73 - zmínka o odpovídajícím přídavku NaCl je nepřesná  
 Obr. 28 – nemá žádnou vypovídající schopnost  
 Tabulka 4 i další – postrádám uvedení chyby měření nebo alespoň v textu poznámku z kolika měření hodnoty vychází a s jakou %-chybou jste je získávala  
 Str. 87 – filtrace před měřením... byla kontrolována změna koncentrace po filtraci?  
 Str. 88 – pro upřesnění... jak si představujete roztok iontu?  
 Obr. 36 – i jinde – problematika chyby experimentu – z grafu určitě žádná chyba nevyplývá  
 Obr. 50 a obdobné – já bych si netroufla v takto malých změnách spekulovat o vlivu... co chyba měření – přístroj samozřejmě může měřit i s přesností na 0,01 mN/m, ale problém experimentální chyby bych viděla spíš v reprodukovatelnosti povrchu

V rámci obhajoby bych chtěla zodpovědět následující otázky:

- **Jak závisí viskozita a povrchové napětí na teplotě?**
- měření časové závislosti povrchového napětí – **Jak provádíte měření v čase 0?**
- Str. 98 **Bylo zvýšení povrchového napětí roztoku NaHy v přítomnosti  $(NH_4)SCN$  opakovaně potvrzeno – případně jak si to vysvětlujete?**
- **Čím si vysvětlujete rozdílné chování NaCl a NaSCN .... diskuze k povrchovému napětí na str. 114**

Závěrem si dovoluji malou poznámku: nejsem si jistá, zda v experimentech, kdy velmi záleží na teplotě se obejdete bez zmínky o teplotě

I přes výše zmíněné připomínky, které nejsou zásadního charakteru, mohu konstatovat, že studie RNDr. Lenky Gřundělové splňuje dle zákona č. 11/1998 Sb., § 44 všechny požadavky kladené na doktorské disertační práce, a proto práci

**doporučuji k obhajobě.**

V Olomouci 3. srpna 2014

doc.RNDr. Taťjana Nevěčná, CSc.