

Posudok oponenta dizertačnej práce

Názov dizertačnej práce: **Příprava a charakterizace koloidů hyaluronanu s micelárními agregáty pro nanomedicínské aplikace**

Miesto vypracovania: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav spotřební chemie

Meno doktoranda: **Ing. Tereza Pilgrová**

Meno školiteľa doktoranda: **prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.**

Meno oponenta DP: **doc. Ing. Milena Reháková, PhD.**

Pracovisko oponenta DP: STU v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav prírodných a syntetických polymérov, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

a. Aktuálnosť zvolenej témy

Dizertačná práca sa zameriava na výber komponentov, metód prípravy a štúdium vlastností koloidných systémov na báze kyseliny hyalurónovej a katiónových surfaktantov, ktoré by mohli slúžiť ako nosiče hydrofóbných častíc liečiv. Ako samotná autorka uvádza v Teoretickej časti, predovšetkým v kap. 2.2.4 a v kapitole 3 Súčasný stav problematiky, podkapitolách 3.2 a 3.3, existujú jasné indície o aktuálnosti a opodstatnenosti štúdia nanokomplexov podobného typu. Práca nadväzuje a zároveň je súčasťou širokého komplexu experimentov venujúcich sa vývoju perspektívnych nosičov (nielen) onkologických liečiv, ktorému sa tím biokoloidných chemikov pod vedením školiteľa dizertačnej práce venuje už dlhší čas a ktorý bol riešený aj v rámci projektu LD12068 (Příprava koloidů hyaluronanu s micelárními agregáty pro nanomedicínské aplikace a charakterizace jejich vlastností) a akcie COST CM1101. Výsledky týchto projektov sú vysoko hodnotené expertmi z ČR i zahraničia. Z tohto pohľadu je zvolená téma dizertačnej práce veľmi aktuálna.

b. Splnenie cieľov dizertačnej práce

V rámci dizertačnej práce bolo vytýčených niekoľko cieľov reflektujúcich predchádzajúci výskum komplexov hyaluronanu s katiónovými tenzidmi na školiacom pracovisku. Jednalo sa najmä o porovnanie vhodnosti dvoch tenzidov – CTAB a Septonexu, štúdium odlišností správania sa vzniknutých komplexov v čistej vode a v prostredí fyziologického roztoku a v neposlednom rade o porovnanie dvoch odlišných technológií prípravy komplexov – tzv. indukovaným a neindukovaným spôsobom. Napriek tomu, že časť experimentov týkajúca sa najmä sledovania cytotoxicity neindukovaným spôsobom pripravených nosičov v čase odovzdania dizertačnej práce nebola definitívne ukončená, ciele dizertačnej práce formulované v kapitole 4, boli splnené.

c. Postupy riešenia a kvalita získaných výsledkov (konkrétny prínos doktoranda)

Na štúdium vlastností pripravených koloidných systémov bolo využitých niekoľko vzájomne sa dopĺňajúcich metód so snahou získania čo najkomplexnejšej charakterizácie nosičov. Nosnou metódou sledovania vzniku a stability systémov bola fluorescenčná spektroskopia s využitím pyrénu, ktorá bola doplnená meraním dynamického rozptylu svetla a UV-VIS turbidimetriou. Schopnosti komplexov solubilizovať hydrofóbne nanočastice potenciálneho liečiva boli študované UV-VIS spektrofotometriou. Tieto metódy sú dnes štandardom pri štúdiu koloidných systémov. Avšak návrh celkovej koncepcie experimentu, množstvo vykonaných meraní a v neposlednom rade návrh a samotné spôsoby hodnotenia výsledkov a z nich vyvedené závery považujem za veľmi cenný osobný prínos doktorandky. Testy cytotoxicity, ako dôležitý parameter aplikačnej spôsobilosti, vykonávané v kooperácii so špecializovaným pracoviskom Univerzity Karlovej posúvajú výsledky experimentu z úrovne základného výskumu do aplikačnej sféry a považujem ich za veľmi prínosné.

d. Význam výsledkov práce pre prax a rozvoj vedného odboru

V práci bolo získaných množstvo originálnych výsledkov, o čom napokon svedčia aj 2, resp. 3 publikácie v impaktovaných časopisoch. Sú cenným príspevkom k rozvoju vedného odboru nanomedicíny a vývoja cielených nosičov liečiv. Napriek tomu, že niektoré prvotné očakávania možno neboli celkom splnené, experimentom boli definované konkrétne limity prípravy, existencie a účinkov pripravených systémov, ako aj ich nový aplikačný potenciál.

e. Formálna a jazyková úroveň dizertačnej práce

Práca bezo sporu spĺňa požiadavky kladené na tento typ publikácie.

V práci sa vyskytuje len minimum jazykových nedokonalostí (s. 24, 93).

V kapitole 6.1.3 (s. 72) je uvedené, že najvyššie hodnoty $EmPI$ zodpovedajú pomeru $T/D=5,35$ s odvolaním na obr. 26 (s. 59), na ktorom je však závislosť $ExPi$, resp. $Ex:Mo$ od koncentrácie.

Oceňujem rozsiahle využitie aktuálnych literárnych zdrojov sumarizovaných v kap. 8.

Do kap. 9 Seznam použitých skratiek by som doplnila skratku FBS (fetálny buňkové sérum?), používanú v diskusii v kap. 6.1.4 (s. 72 – 75).

Do Prílohy 2, za Tab. P2 by bolo vhodné zaradiť vysvetlenie znaku X – experiment nebol vykonaný. Dôvody sú podrobne popísané v kap. 6.2.1 (s. 77), ale textu predchádza odvolávka na zmienenú Tab. P2.

f. Splnenie podmienok uvedených § 47 odst. 4 VŠ zákona

Doktorandka vypracovaním dizertačnej práce preukázala svoju pripravenosť na samostatnú činnosť v oblasti výskumu a vývoja. Dôkazom toho je o. i. aj súbor pôvodných výsledkov publikovaných v 2 vysokoimpaktovaných časopisoch ($IF_M = 2,8$, , resp. 3,6) a 1 pripravený manuskript pre publikovanie v impaktovanom časopise, 2 publikácie uverejnené v zborníkoch indexovaných vo WOS a 1 publikácia v časopise indexovanom vo WOS.

Otázky k dizertačnej práci a námety do diskusie k obhajobe

- Aký je dôvod použitia hmotnostnej koncentrácie hyalurónanu, napriek tomu, že koncentrácie všetkých ostatných roztokov (tenzidov, solubilizátu) sú udávané v molárnej koncentrácii?
- Aké bolo absorpčné maximum Sudan Red G pri stanovení kalibračnej závislosti od koncentrácie v etanole? Bolo toto maximum zhodné s λ_{max} farbiva solubilizovaného v roztokoch študovaných komplexov?
- Na s. 86 sa konštatuje: „Je pravděpodobné, že dochází k přeuspořádání micel, které za pomoci hyaluronanu zvětšují svoje hydrofobní jádro a tím jsou schopny podpořit solubilizaci hydrofobního barviva...“ a „... podpora solubilizace není způsobena přítomností hyaluronanu o nízké molekulové hmotnosti, ale spíše jeho interakcí s micelárními agregáty a tvorbou komplexů v systému.“ Aká je predstava tohto mechanizmu, prípadne možno túto predstavu podporiť literárnymi odkazmi? Predpokladané tvary agregátov v závislosti od molekulovej hmotnosti hyalurónanu sú čiastočne diskutované na s. 89 a 90.
- Bolo by možné vyššie uvedené skutočnosti, ako aj celú diskusiu ohľadom priestorového aspektu vytváraných micelárnych agregátov vyplývajúcu z výsledkov uvedených v kapitole 6.2.3 a 6.2.4 potvrdiť špeciálnymi metódami optickej, resp. elektrónovej mikroskopie (cryo-SEM, TEM), príp. metódou AFM?
- Ako je naznačené v záveroch, uvažujete využiť systémy, u ktorých dochádza k významnej fázovej separácii vo forme oddelenia stabilnej gélovej fázy so zachovanými solubilizačnými schopnosťami na účely aplikácie, vyžadujúcej práve gélovú formu (v kožnej medicíne) ako objekt ďalšieho výskumu. Vedeli by ste načrtnúť koncepciu experimentu v zmysle konkretizácie výberu komponentov, koncentračných rozsahov, nastavenia vonkajších podmienok a pod.?

Záverečné hodnotenie:

Dizertačná práca Ing. Terezy Pilgrovej je cenným príspevkom k rozšíreniu poznania v oblasti štúdia nových potenciálnych kompozitných nosičov liečiv. Študentka pri vypracovaní dizertačnej práce preukázala samostatné tvorivé schopnosti. Práca spĺňa požiadavky kladené na doktorskú dizertačnú prácu podľa § 47 odst. 4 VŠ zákona a preto ju

—odporúčam k obhajobe—.

V Bratislave, 7.1.2018

doc. Ing. Milena Reháková, PhD.