

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra analytické chemie

Kandidát **Ing. Jakub Sedláček**

Školitel **doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.**

Název disertační práce **Studium distribuce substituentů v derivátech na bázi hyaluronanu**

Deriváty na bázi hyaluronanu nacházejí uplatnění v řadě medicínských odvětví. Připravované deriváty bývají charakterizovány molární hmotností a stupněm substituce, nicméně tyto parametry neumožňují odlišit deriváty s rozdílnou distribucí substituentů podél řetězce, které mohou vykazovat rozdílné makroskopické vlastnosti. Z toho důvodu jsou potřebné metody, které dokážou distribuci substituentů postihnout. Předkládaná disertační práce pojednává o stanovení distribuce aminoskupiny v deacetylovaném hyaluronanu. Teoretická část začíná popisem hyaluronanu, jeho struktury a jeho derivátů. Následně se zaměřuje na deacetylovaný hyaluronan, na jeho využití, přípravu a charakterizaci, přičemž hlavní zájem je věnován jeho depolymerizaci na oligosacharidy pomocí deaminačního štěpení nebo pomocí enzymů štěpících hyaluronan. Nakonec jsou uvedeny příklady metod použitých pro analýzu oligosacharidů hyaluronanu pomocí kapalinové chromatografie. Experimentální část popisuje přípravu vzorků deacetylovaného hyaluronanu, stanovení jejich molárních hmotností rozměrově vylučovací chromatografií a stanovení jejich stupně deacetylace pomocí protonové nukleární magnetické rezonanční spektroskopie. Největší pozornost se poté soustředí na vývoj dvou metod pro stanovení distribuce aminoskupin podél řetězce. První je založena na deaminačním štěpení deacetylovaného hyaluronanu kyselinou dusitou a následné derivatizaci vzniklých oligosacharidů 3-methyl-1-fenyl-2-pyrazolin-5-onem. Druhá je založena na enzymatickém štěpení hyaluronidasou ze *Streptococcus pneumoniae* a na stejné derivatizaci. Získané směsi oligosacharidů jsou v obou metodách analyzovány pomocí kapalinové chromatografie na reverzní fázi. Následně jsou experimentální distribuce oligosacharidů porovnány s teoretickými modely náhodné distribuce. Ze srovnání vyplývá, že deacetylace hyaluronanu neprobíhá zcela náhodně. Konkrétně deacetylace daného N-acetyl-D-glukosaminu snižuje pravděpodobnost, že k deacetylaci dojde v sousední disacharidové jednotce.