

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra Katedra farmaceutické technologie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Autor/ka práce: **Martin Juhaščík**

Vedoucí/školitel/ka práce: PharmDr. Andrej Kováčik, Ph.D.

Konzultant/ka práce: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Rok obhajoby: 2019

Oponent/ka práce: Dr. Georgios Paraskevopoulos, Ph.D.

Název práce:

**ŠTÚDIUM MIKROŠTRUKTÚRY MODELU KOŽNEJ BARIÉRY POMOCOU  
DEUTEROVANÝCH CERAMIDOV**

---

Rozsah práce: počet stran: 43, počet obrázků: 13, počet tabulek: 0, počet citací: 38

Práce je: experimentální

- a) Cíl práce je: zcela splněn
- b) Jazyková a grafická úroveň: výborná
- c) Zpracování teoretické části: výborné
- d) Popis metod: výborný
- e) Prezentace výsledků: výborná
- f) Diskuse, závěry: výborné
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Dotazy a připomínky: Cílem diplomové práce Martina Juhaščíka byla nejdříve syntéza sfingosinu s deuterovaným uhlíkovým řetězcem a poté ceramidů na bázi deuterovaného sfingosinu a (protonované/deuterované) kyseliny lignocerové. Syntetizované molekuly byly společně s dalšími kožními lipidy použity ke studiu jejich fázového chování a uspořádání v modelových membránách SC pomocí biofyzikálních studií. Celkově byly připraveny čtyři typy modelových membrán s různým zastoupením deuterovaných methylenových (CD<sub>2</sub>) řetězců a byly studovány teplotně závislou infračervenou spektroskopií (od 28 °C do 100 °C). Z těchto dat bylo hodnoceno fázové chování lipidů modelových lipidových membrán (konformace, laterální uspořádání a mísitelnost). Jak uvádí autor, výsledky této studie by mohly být užitečné při vysvětlování (patofyziologického) uspořádání lipidů SC. V teoretické části student popisuje kůži a její anatomii. Zde věnuje zvláštní pozornost ceramidům a jejich organizaci v rohové vrstvě epidermis. V samostatné kapitole teoretické části autor popisuje použití infračervené spektroskopie ve studiu organizace lipidů v modelových membránách a také zde popisuje Grubbsovy olefinační metatize. V experimentální části je popsána příprava deuterovaného sfingosinu a jeho použití pro syntézu značených ceramidů s deuterovanou nebo nedeuterovanou acylovou částí. Připravené látky byly smíseny ve specifických poměrech s cholesterolem, cholesterolem sulfátem a deuterovanou nebo protonovanou volnou mastnou kyselinou. Tyto lipidové směsi se použily pro přípravu membrán modelu SC a membrány se studovaly pomocí IR spektroskopie při různých teplotách.

Některé komentáře k textu:

Studentovi se podařilo pěkně a detailně vysvětlit teoretické pozadí zadané problematiky, informace jsou velmi dobře uspořádány. Velmi dobře popisuje detaily infracervené spektroskopie týkajících se různých vibrací (protonované a deuterované methylenové skupiny) a také je jasně vysvětleno, jaká je souvislost mezi tvarem vibračních pásů a uspořádáním lipidů v systému. V textu se však objevují menší chyby, např. některé odkazy na literaturu nejsou na správném místě (např. strana 13, obrázek 2), některé reakce jsou špatně napsané (strana 27, molekula 6; řetězec by měl být deuterovaný) a podobně. Navíc u finálních látek chybí jejich charakterizace pomocí hmotnostní spektrometrie, avšak uvedená data jsou dostatečná pro kompletní charakterizaci nových molekul. Preferoval bych syntetická schémata v části "Výsledky a diskuse", což by bylo pro čtenáře snazší orientovat se v textu. Kapitulu o Grubbsově metathézi bych přesunul z teoretické části do kapitoly "Výsledky a diskuse". V textu postrádám poděkování za finanční podporu grantovým agenturám.

Otázky:

1. Strana 22, Schéma 1. Během syntézy deuterovaného sfingosinu vzniká dvojná vazba se specifickou stereochemií. Můžete vysvětlit mechanismus, který vede k žádané stereochemii produktu?
2. Strana 28. Během syntézy d-CerNS nebyla provedena žádná izolace d-sfingosinu. Během syntézy dd-CerNS (strana 29) byl použit izolovaný d-sfingosin. Existuje nějaký zvláštní důvod pro tyto dva odlišné postupy?
3. Strana 30. Během přípravy modelových membrán se provádí zahřívání modelových membrán (90 °C po dobu 10 minut a chlazení po dobu 3 hodin). Vysvětlete prosím, proč byly použity právě tyto časové a teplotní podmínky.
4. Stránky 30-31. Infračervená spektra byla získána od 28 °C do 100 °C po 2 °C. Proč byl zvolen tak široký teplotní interval? Nebylo by postačující provést teplotní experiment v teplotním intervalu pouze kolem teploty tání lipidové směsi (+/- 15 °C)?
5. Jaký aplikační dopad by mohly mít Vaše výsledky pro farmacii?

**Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 27.05.2019

.....  
podpis oponentky / oponenta