

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové	
Školiace pracovisko	Katedra farmaceutické technológie
Doktorský študijný program	Farmaceutická technológie
Kandidát	Mgr. Martin Juhaščík
Školiteľ	doc. PharmDr. Andrej Kováčik, Ph.D.
Konzultantka	Gloria Huerta-Ángeles, Ph.D.
Názov dizertačnej práce	Štúdium konjugátov sfingolipidov s kyselinou hyalurónovou a ich aplikácie na kožu

Hlavným cieľom tejto práce bolo systematicky navrhnuť a následne pripraviť konjugáty kyseliny hyalurónovej (HA) s vybranými sfingolipidmi, ktoré by mohli nájsť uplatnenie v ich topickom podávaní napr. pri fyziologickom poklese kožných funkcií. V rámci tejto štúdie boli fytosfingozín a ceramid chemickou cestou spojené s HA prostredníctvom linkerov, čo umožnilo úspešnú úpravu HA na hydrofobizovaný konjugát sfingolipid-linker-hyaluronát.

Ako najviac účinná sa ukázala byť príprava konjugátu sukcinylceramid-hyaluronát. Vyvinutá metóda prípravy konjugátu s využitím zmiešaných anhydridov prináša radu výhod, vrátane možnosti škálovania prípravy a prevedenia reakcií vo vodnom prostredí. Metóda bola efektívna v širokom spektre molekulových hmotností, a to od 6 do 442 kgmol⁻¹, pri čom bol dosiahnutý stupeň substitúcie až 14,2 %, z pôvodne definovaného cieľa 2,5 až 3,5 %. Úspešná modifikácia HA na konjugát sfingolipid-linker-hyaluronát bola potvrdená pomocou NMR a infračervenej spektroskopie a hmotnostnej spektrometrie.

Konjugáty sukcinylceramid-hyaluronát nevykazovali žiadne cytotoxické účinky, avšak bol pozorovaný rast buniek, čo by mohlo byť prospešné pre prípadnú kompenzáciu dermálnych atrofických zmien. Ďalej konjugát preukázal významné zníženie hladiny prozápalového cytokínu interleukínu 6, a to až o 95 %, pri relatívne nízkych koncentráciách. Agregáčné vlastnosti boli skúmané pomocou kritickej agregáčnej koncentrácie, väzbovej konštanty pyrénu, dynamického rozptylu svetla a viazaním modelovej lipofilnej látky kurkumínu, ktoré potvrdili spontánnu organizáciu konjugátov do polymérnych nanočastíc s veľkosťou do 40 nm.

Po aplikácii polymérnych nanočastíc konjugátov sukcinylceramid-hyaluronát enkapsulovanou fluorescenčnou značkou nílskou červenou na prasaciu kožu *ex vivo* bola

pozorovaná fluroescencia až v *dermis*. Pripravené konjugáty, aplikované na ľudskú kožu *ex vivo*, nemali negatívny dopad na priepustnosť kožnej bariéry, čo bolo hodnotené pomocou transepidermálnej straty vody, elektrickej impedancie a priepustnosti kože pre modelovú látku teofylín. Z infračervenej spektroskopie sa dá vyvodiť záver, že aplikované konjugáty sukcinylceramid-hyaluronát síce významne neovplyvnili konformáciu kožných lipidov, ale ovplyvnili sekundárnu štruktúru keratínu v prospech tzv. konformácie β -skladaného listu.

Spontánne vytvorené polymérne nanočastice pripravených konjugátov, rozpustných vo vode, by mohli byť začlenené do vodnej fázy kvapalných alebo polotuhých topických liečivých/kozmetických prípravkov na liečbu zápalových kožných ochorení alebo sa mohli použiť ako nosič hydrofóbných aktívnych látok s využitím v (trans)dermálnom podávaní liečiv.