

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra anorganické a organické chemie

Kandidát: Mgr. Barbora Janůšová

Školitel: doc. PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.

Název disertační práce: Vliv derivátů aminokyselin a ceramidů na bariérovou funkci kůže

Hlavním cílem této disertační práce bylo přispět k porozumění chování ceramidů a modulátorů bariérové funkce kůže na bázi derivátů aminokyselin, stejně jako osvětlit vztahy mezi jejich strukturou a účinkem.

Akceleranty transdermální permeace jsou látky, které dočasně snižují funkci kožní bariéry a usnadňují tak průnik léčiv. V první části práce byly studovány akceleranty aminokyselin prolinu, sarkozinu, alaninu, β -alaninu a glycinu spojených s hydrofobním řetězcem pomocí biologicky rozložitelné esterové vazby. Dvouřetězcové akceleranty nevykázaly žádný akcelerační účinek, zatímco látky s jedním řetězcem výrazně zvýšily propustnost kůže. Nejúčinnější akcelerační derivát prolinu L-Pro2, dosáhl hodnot akceleračního poměru až 40 při 1% koncentraci, byl aktivnější než standardní akceleranty Azon, DDAIP, DDAK a Transkarbam 12 a navíc působil synergicky s propylenglykolem. Nebyly zjištěny žádné rozdíly v účinnosti mezi jednotlivými enantiomery. Mechanismus účinku L-Pro2 studovaný infračervenou spektroskopií spočívá ve fluidizaci lipidů kožní bariéry bez významného účinku na bílkoviny stratum corneum. Účinek L-Pro2 měřený elektrickou impedancí kůže byl alespoň částečně reverzibilní. Toxicita připravených látek na buněčných liniích keratinocytů (HaCaT) a fibroblastů (3T3) dosahovala hodnot IC_{50} v rozmezí od desítek do stovek μ M, což je srovnatelné se standardními akceleranty. *In vivo* transdermální permeační studie u potkanů potvrdily akcelerační účinek L-Pro2 a ukázaly jeho zanedbatelnou kožní toxicitu a minimální vliv na transepidermální ztrátu vody. Kromě toho L-Pro2 podléhal rychlému enzymatickému rozkladu v plazmě. Tyto vlastnosti dělají z L-Pro2 vhodného kandidáta pro případné klinické použití.

Ceramidy stratum corneum hrají zásadní roli v bariérových vlastnostech kůže. Nicméně vztahy mezi jejich strukturou a účinkem nejsou prozatím dostatečně známy.

V našich nedávných studiích jsme ukázali, že délka řetězce acylu u sfingosinového typu (NS) ceramidů je velmi důležitá pro jejich bariérovou funkci a že jeho zkrácení snížilo difúzní odpor kůže s maximem u ceramidů s délkou řetězce 4 a 6 uhlíků. V návaznosti na tyto studie jsme v druhé části této práce zkoumali vliv délky řetězce acylu u ceramidů typu NS na propustnost a termotropní fázové chování modelových membrán lipidů SC složených z ceramidu, kyseliny lignocerové, cholesterolu a cholesterolu sulfátu za účelem získat základní znalosti k pochopení pozorovaných rozdílů v propustnosti. Ceramidy s krátkým řetězcem snížily elektrickou impedanci membrán a zvýšily propustnost theofylinu modelovými membránami stejně jako bylo pozorováno v kůži. Termotropní fázové chování bylo studováno pomocí diferenční skenovací kalorimetrie a infračervené spektroskopie. Ceramidy, které měly největší vliv na propustnost, rozšířily a snížily teplotu fázového přechodu modelových membrán SC. ATR-FTIR studie prokázaly, že za teploty kůže všechny membrány vykazují organizované řetězce lipidů převážně v *trans* konformaci spolu s orthorhombickým laterárním uspořádáním a velmi podobnou oblastí polárních hlav. Z termálního chování membrán však vyplývá, že krátkořetězcové ceramidy tvoří samostatné domény bohaté buď na ceramidy, nebo kyselinu lignocerovou. Také jsme zaznamenali slabší relativní intenzitu CH₂ vibrací při 32 °C u nejpropustnějších membrán, což naznačuje přítomnost ceramidových domén s nižší hustotou lipidů. Výsledky této práce potvrdily, že dlouhé hydrofobní řetězce v ceramidech typu NS jsou nezbytné pro udržení bariérové funkce kůže. Kromě toho modelové membrány lipidů SC nanesené na porézní poklad ukázaly, že jsou cenným nástrojem pro studium vztahů mezi strukturou ceramidu a propustností, stejně jako souvisejících mechanismů na molekulární úrovni.

V poslední části disertační práce byla připravena řada nových homologů pseudoceramidu 14S24 se záměrem studia jejich potenciálních regeneračních účinků a objasnění vlivu délky hydrofobních řetězců na jejich aktivitu. Tato část práce zahrnovala jak studium různých metod poškození bariérové funkce kůže, tak studium různých vehikul. Nicméně v této části práce jsme nebyli schopni ohodnotit aktivitu připravených látek, neboť jsme zaznamenali značnou variabilitu v propustnosti kůže. Možností, jak obejít tuto komplikaci, se jeví studium těchto látek za použití modelových membrán SC, které byly připraveny v druhé části práce. Nicméně metody a výsledky uvedené v této části však mohou být nápomocny při dalším studiu této problematiky.