

## ABSTRAKT

Extracelulární matrix nejsvrchnější vrstvy kůže tzv. *stratum corneum* (SC), je složena z ceramidů (Cer), cholesterolu (Chol), volných mastných kyselin (FFA) a cholesterol-sulfátu (CholS). Cer hrají důležitou roli ve správné bariérové funkci savčí epidermis. V nedávné době byl v lidské SC nalezen nový typ sfingolipidů tj. 1-*O*-acyl-Cer, jejich role v SC je však neznámá. Tyto druhy Cer tvoří sfingosin (S), jenž je *N*-acylován nehydroxylovanou nebo  $\alpha$ -hydroxylovanou mastnou kyselinou a navíc je hydroxy skupina v poloze 1 sfingosinu acylována další mastnou kyselinou (lignocerovou kyselinou, C24 nebo palmitovou kyselinou, C16). Protože 1-*O*-acyl-Cer nejsou komerčně dostupné, dali jsme si za cíl připravit fyziologické 1-*O*-acyl-Cer tj. Cer-24NS16, Cer-16NS16 a Cer-24AS16. Naším dalším cílem je studium jejich vlivu na permeabilitu a mikrostrukturu modelových kožních lipidových membrán.

1-*O*-acyl-Cer byly syntetizovány acylací primárního hydroxyly Cer-NS16 nebo Cer-AS16 palmitovou nebo lignocerovou kyselinou pomocí *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylkarbodiimidu s 4-dimethylaminopyridinem. Cer-AS16 byl připraven  $\alpha$ -bromací palmitové kyseliny, substitucí bromidu hydroxylovou skupinou a *N*-acylací sfingosinu touto připravenou kyselinou v přítomnosti *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylkarbodiimidu a 1-hydroxybenzotriazolu.

Následně jsme připravili jednoduchý model SC lipidových membrán s následujícím složením: Cer-NS24/FFA C<sub>16-24</sub>/Chol/CholS jako kontrolní membrána a poté 5, 10, 20, 30, nebo 100 % Cer-NS24 bylo nahrazeno Cer-24NS16. Druhý komplexní model SC lipidových membrán byl tvořen izolovanými Cer z lidského SC/FFA C<sub>16-24</sub>/Chol/CholS, kde 10% podíl SC Cer byl nahrazen Cer-24NS16, Cer-16NS16, Cer-24AS16 nebo Cer-24AS16-24. Permeabilita modelových lipidových membrán SC byla měřena ve Franzových difúzních celách, pomocí fluxu teofylinu a fluxu indometacinu, elektrické impedance a ztráty vody membránou. Vliv 1-*O*-acyl-Cer na biofyzikální chování membrán SC byl zkoumán pomocí infračervené spektroskopie a rentgenové práškové difrakce.

Na základě výsledků permeačních pokusů jsme zjistili, že 10% podíl 1-*O*-acyl-Cer v modelových membránách (jednoduchý model) vede k poklesu permeability pro vodu a ionty. Na druhou stranu přítomnost 10% podílu 1-*O*-acyl-Cer v komplexním modelu nevedla k změně permeability nebo ji mírně zvýšila. Pomocí IČ spektroskopie jsme zjistili, že vliv 1-*O*-

acyl-Cer na konformaci lipidových řetězců, fázové přechody i laterálním uspořádání lipidů v modelových membránách není příliš významný. Lamelární uspořádání modelových lipidových membrán bylo dále hodnoceno pomocí rentgenové práškové difrakce. Ve všech studovaných membránách byla přítomna fáze separovaného Chol a krátká lamelární fáze s periodicitou přibližně 5,3–5,7 nm.

Tato práce poskytuje první charakterizaci 1-*O*-acyl-Cer, jakožto složek extracelulární matrix SC. Tyto lipidy bariérovou funkci studovaných membrán s lidskými Cer buď neovlivňují, nebo mírně zhoršují; mezi jednotlivými strukturálními typy 1-*O*-acyl-Cer jsme nepozorovali významné rozdíly.