

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát **Mgr. Andrej Kováčik**

Školitel **prof. PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.**

Název disertační práce **Studium vlivu hydroxylace ceramidů na permeabilitu a mikrostrukturu modelových lipidových membrán**

Ceramidy (Cer) se nachází v mezibuněčných prostorech nejsvrchnější vrstvy savčí epidermis, stratum corneum, kde společně s dalšími lipidy (volné mastné kyseliny, cholesterol) tvoří lipidovou kožní bariéru. Kromě sfingosinových (Cer NS) a dihydrosfingosinových Cer (Cer NdS) se ve zdravé savčí epidermis nachází i polární Cer, tj. Cer odvozené od fytosfingosinu (s hydroxylovou skupinou v poloze 4 sfingoidní báze, tzv. fytoceramidy) a 6-hydroxysfingosinu (s hydroxylovou skupinou v poloze 6, tzv. 6-hydroxyceramidy). Doposud však nebylo objasněno, jaké postavení mají polární fytoceramidy (Cer NP) a 6-hydroxyceramidy (Cer NH) v bariérové funkci kůže. 6-hydroxyceramidy nejsou navíc komerčně dostupné. Proto bylo prvním cílem práce připravit fyziologické 6 hydroxyceramidy. Byly syntetizovány 6 hydroxylované Cer, tj. Cer NH s dlouhým (C24:0), a Cer EOH s ultradlouhým acylem s esterově vázanou kyselinou linolovou. Trojná vazba byla na trans-dvojnou redukována pomocí selektivní aplikované Trostovy hydrosilylace-protodesilylace za katalýzy $[Cp^*Ru(CH_3CN)_3]PF_6$ v bezvodém acetonu. Rozmanitost Cer v kůži a důvod, proč savčí epidermis syntetizuje fytoceramidy, jsou doposud nejasné. Cílem této disertační práce bylo hodnocení vlivu hydroxylace Cer v poloze 4 na bariérové vlastnosti a fázové chování fytoceramidů v modelových membránách. Modelové membrány byly připraveny jako ekvimolární směs Cer NP nebo Cer NdS nebo Cer NS, kyseliny lignocerové a cholesterolu s přídatkem cholesterol-sulfátu. Modely byly hodnoceny v permeačních a biofyzikálních (infračervená spektroskopie a prášková rentgenová difrakce) experimentech. Hydroxylace Cer v poloze 4 způsobuje, že lipidy v modelu jsou hůře uspořádány, fázově se separují a membrány obsahující Cer NP jsou propustnější pro různé látky ve srovnání s membránami obsahujícími Cer NS nebo Cer NdS. Použitím deuterované kyseliny lignocerové v modelových membránách bylo zjištěno, že hydroxylace Cer v poloze 4 u fytoceramidů omezuje mísitelnost lipidů s mastnou kyselinou. Z této studie lze vyvodit závěr, že fytoceramidy v epidermis pravděpodobně neplní pouze bariérovou funkci, ale podílejí se i na jiných procesech. Doposud nebyla objasněna jedinečnost 6-hydroxyceramidů v savčí epidermis. Proto bylo cílem této práce studovat Cer odvozené od 6-hydroxysfingosinu (Cer NH) pomocí modelových membrán. Mnohvrstevné lipidové membrány byly připraveny ve složení Cer NH/směs mastných kyselin (C16 C24)/cholesterol/cholesterol-sulfát. Hydroxylace Cer v poloze 6 nejenom že zvyšuje propustnost modelových membrán obsahujících Cer NH pro vodu nebo lipofilní látky, ale také zvyšuje rezistenci modelových membrán vůči prostupu iontů. Hydroxylace Cer v poloze 6 navíc brání dobré mísitelnosti Cer NH s mastnými kyselinami v modelu. Z hodnocení mikrostruktury modelových membrán bylo zjištěno, že Cer NH stojí za vznikem lamelární fáze s neobvykle dlouhou periodicitou. Dlouhá lamelární fáze je esenciální pro správnou bariérovou funkci epidermis. Tento fakt by mohl vysvětlovat jedinečné postavení 6-hydroxyceramidů v kůži. Pro objasnění významu fyziologické D-erythro konfigurace sfingosinových a dihydrosfingosinových ceramidů bylo cílem práce připravit nefyziologické L-threo (dihydro)ceramidy. Z hodnocení bariérových vlastností a fázového chování L-threo-Cer NS a L-threo-Cer NdS v modelových lipidových membránách bylo zjištěno, že změna stereochemie v polární hlavě Cer vede ke zvýšení přitažlivých sil mezi lipidy v membránách. Zatímco L-threo konfigurace Cer nemá na lamelární uspořádání lipidů žádný vliv, změna stereochemie vede ke snížení mísitelnosti deuterovaných mastných kyselin s L-threo-Cer NS nebo L-threo-Cer NdS a rovněž ke zvýšení permeability modelových lipidových membrán. Použité modely přispěly k lepšímu pochopení významu vztahu struktura-účinek ceramidů v bariérové funkci kůže. Získané poznatky z této práce by mohly najít uplatnění při topickém podávání ceramidů (např. Cer NH)

v léčbě atopické dermatitidy.