

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát: Seyedmohammad Khatibi

Školitel: PharmDr. Lukáš Opálka, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Martina Navrátilová, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace metody kvantifikace lipidů lidské korneocytální lipidové obálky

Ceramidy jsou esenciální sfingolipidy v kůži, které hrají klíčovou roli v bariérové funkci a buněčné regulaci. Cílem této studie bylo optimalizovat izolaci kovalentně vázaných ceramidů ze *stratum corneum* kůže prostřednictvím vývoje a zdokonalení extrakčních a saponifikačních postupů. Zaměření bylo konkrétně na ceramidy typu NS (volné lipidy), OS, OH, OdS a OP, získané ze vzorků tří zdravých jedinců.

Z každého dobrovolníka bylo odebráno osm vrstev *stratum corneum*, které byly spojeny do jednoho vzorku. Postupy izolace byly rozděleny do tří hlavních kroků: extrakce volných lipidů, čištění zbývající pelety a saponifikace kovalentně vázaných lipidů. Postupy byly systematicky testovány za různých podmínek v průběhu sedmi experimentů, aby byly stanoveny optimální parametry pro extrakci ceramidů.

Počáteční experimenty ukázaly, že vysoké teploty během extrakce a saponifikace vedly k významné degradaci kovalentně vázaných lipidů. První experiment, který využíval vysoké teploty, vedl k úplné destrukci kovalentně vázaných lipidů. Následující experimenty prokázaly, že nižší teploty zlepšily stabilitu ceramidů. Zejména při upravených podmínkách, které zahrnovaly teplotu lázně 40°C pro čištění a 37°C pro saponifikaci, bylo úspěšně izolováno několik typů ceramidů. Tento přístup odhalil významné množství ceramidu OS, ceramidu OH, ceramidu OdS a ceramidu OP. Ceramid NS byl nalezen v malém množství, což naznačuje efektivní odstranění volných lipidů.

Další úprava podmínek, které se lišily v teplotách a časech saponifikace, ukázala, že prodloužení času saponifikace zlepšilo extrakci ceramidů OS a OdS. Zejména delší doby saponifikace zlepšily výtěžnost ceramidu OS, zatímco vysoké teploty nepříznivě ovlivnily stabilitu volných lipidů a některých ceramidů.

Tato studie identifikovala klíčovou roli teploty a časů čištění/saponifikace v optimalizaci extrakce ceramidů. Nižší teploty a prodloužené doby čištění a saponifikace výrazně zlepšily výtěžnost ceramidů typu OS, OdS a OP, zatímco vysoké teploty vedly k degradaci. Optimalizované postupy uvedené v této studii poskytují spolehlivou metodu pro izolaci a analýzu ceramidů, což nabízí vhled do jejich distribuce a potenciální důsledky pro výzkum zdraví pokožky.

Klíčová slova: Ceramidy, Sfingolipidy, *Stratum corneum*, Lipidová obálka, Kovalentně vázané lipidy, Extrakce lipidů, Saponifikace, Kožní bariéra, Kvantifikace lipidů, Teplotní vliv na lipidy, Výzkum zdraví pokožky.