

Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Andrej Kováčik

STUDIUM Vlivu HYDROXYLACE CERAMIDŮ NA PERMEABILITU A MIKROSTRUKTURU MODELOVÝCH LIPIDOVÝCH MEMBRÁN

Předložená disertační práce je zaměřena na syntézu a charakterizaci ceramidů, které představují základní stavební kameny lipidových struktur rohové vrstvy kůže. Pomocí modelových lipidových membrán sledoval vliv chemických obměn struktury na jejich organizovanost a bariérové schopnosti. Tento model je již pracovní skupinou Skin Barrier Research delší čas úspěšně využíván pro studium struktury kůže a prostupu látek kůží. Téma práce je proto vysoce aktuální.

Práce je komentovaným přehledem šesti publikací, z nichž pět bylo publikováno v recenzovaných vědeckých časopisech, a jedna je v probíhající řízení. Zde mohl být uveden časopis, ve kterém řízení probíhá. Na čtyřech z těchto šesti prací je doktorand prvním autorem, jedna z nich reprezentuje minireview.

Úvodní část disertační práce se věnuje struktuře kůže a její bariérové funkci. Tato kapitola je podrobněji rozvinuta v následných částech, kde autor podrobně specifikuje a popisuje roli lipidů v rohové vrstvě a jejich uspořádání. S ohledem na řešené téma se detailně věnuje ceramidům a jejich struktuře. Ve 4. části jsou podrobně shrnuty informace o modelech kožní bariéry a metodách in vitro studia této bariéry, včetně IR spektroskopie a Rtg difrakce, které přímo souvisejí s metodikami využitými v disertační práci. Tyto části práce jsou psány čtivě a využívají 190 literárních citací. Pro kompletaci literárních údajů bych doporučila uvádět také identifikační čísla ISBN u knih, či ISSN u časopisů, příp. DOI článků.

V pracovní skupině Skin Barrier Research Group se autor konkrétně zaměřil na syntézu hydroxylovaných ceramidů s dlouhým a ultradlouhým acylem s esterově vázanou kyselinou linolovou. Za pomoci permeačních a biofyzikálních metod (infračervená spektroskopie a prášková rentgenová difrakce) sledoval vliv hydroxylace v poloze 4 na

bariérové vlastnosti a fázové chování fytoceramidů v modelových membránách. Studoval také ovlivnění bariérové funkce hydroxylací v poloze 6 a stereochemií polární hlavy ceramidů pomocí přípravy vhodných derivátů ceramidů.

Z výsledků vyvodil řadu závěrů přispívajících k prohloubení znalostí o mechanismech uplatňujících se v kůži, např. že hydroxylace v poloze 4 u fytoceramidů zhoršuje jejich organizovanost, omezuje mísitelnost s mastnou kyselinou a zvyšuje prostupnost membrán. Rovněž další modifikace struktury (hydroxylace v poloze 6 či změna stereochemie) měly podobný dopad na snížení bariérové funkce. Souhrnný komentář k možnostem chemické modifikace ceramidů včetně stereochemie funkčních skupin v polární hlavě představuje pátá kapitola, kde jsou prezentovány výsledky publikovaných prací.

K práci mám následující připomínky či dotazy:

- Z formálního hlediska je pro čtenáře nepříjemné malé písmo a řádkování, což činí text nahuštěným.
- Autor zmiňuje, že pro studium role ceramidů byly využity čtyři parametry permeability (ztráta vody přes membránu, elektrická impedance a měření toku dvou modelových látek přes membránu). To mi připadá jako tři.
- Je obr 9 objasňující uspořádání a organizaci kožních lipidů autorským dílem? Mohl by být komentář k uspořádání v rámci obhajoby více přiblížen, především v kontextu *gauche* konformerů (str. 22)?
- Mohl by autor v rámci obhajoby blíže objasnit, jak je možné, že se zvýšila propustnost modelových membrán pro vodu nebo lipofilní látky u hydroxylace v poloze 6, a současně na druhé straně zvýšila rezistence modelových membrán vůči prostupu iontů?

Jak bylo zmíněno je disertační práce komentovaným přehledem šesti publikací. Odborná úroveň pěti z nich je doložena otištěním v recenzovaných zahraničních vědeckých časopisech. Práce jsou uvedeny jako přílohy, orientaci v nich však trochu ztěžuje absence průběžného stránkování. Výsledky byly rovněž prezentovány na řadě studentských a dalších odborných konferencí. V závěrečné 7. části autor komentuje svůj podíl na jednotlivých publikacích v rámci autorského kolektivu.

Práce představuje ucelený literární přehled studované tematiky s komentářem experimentální práce a vyvozenými závěry a svědčí o vyspělosti autora a jeho schopnostech pracovat s vědeckými poznatky.

Po celkovém posouzení předloženého spisu **doporučuji** práci přijmout jako podklad pro obhajobu a disertační řízení

ve studijním programu Organická chemie, oboru Bioorganická chemie

doporučuji

aby **Mgr. Andreji Kováčikovi** byla po úspěšné obhajobě disertační práce udělen vědecký titul

Ph.D.

ve studijním programu **Organická chemie**, oboru **Bioorganická chemie**

V Hradci Králové 17. 11. 2017

doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.