UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra anorganické a organické chemie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Oponent/ka: **PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2014

Autor/ka práce: **Ludmila Pavlíková**

Název práce:
Příprava a studium O- a N-modifikovaných ceramidů

Rozsah práce: počet stran: 37, počet grafů: 6, počet obrázků: 3 + 2 schémata, 4 vzorce a 2 rovnice,

počet tabulek: 0, počet citací: 25

Práce je: experimentální

a) Cíl práce je: zcela splněn

b) Jazyková a grafická úroveň: velmi dobrá

c) Zpracování teoretické části: velmi dobré

d) Popis metod: výborný

e) Prezentace výsledků: velmi dobrá

f) Diskuse, závěry: výborné

g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení: Autorka v úvodu své práce shrnuje současné poznání o ceramidech, jejich funkci v kůži i mimo ní a současné poznání o deoxy a N-methyl analozích sfingosinu a ceramidů. V experimentální práci pak autorka připravila dvěma různými postupy celkem tři klíčové analogy přirozeného ceramidu NS24. Poté připravila modelové membrány lipidové vrstvy stratum corneum, a to s přirozeným ceramidem NS24 a dále s jednotlivými analogy. Tyto modelové membrány poté studovala v několika různých experimentech a jednoznačně prokázala změny v bariérových vlastnostech těchto membrán v závislosti na obsaženém analogu ceramidu. Celá studie je vynikajícím způsobem navržena, provedena a její výsledky přináší velmi cenné poznatky o závislostech mezi strukturou deoxy a N-methyl analogů ceramidů a jejich bariérovými vlastnostmi v modelových membránách simulujících pro bariérové vlastnosti klíčovou vrstvu kůže, stratum corneum. Z tohoto hlediska hodnotím práci velmi pozitivně a doporučuji ji k obhajobě.

Dotazy a připomínky: K předložené práci mám několik připomínek. Bylo by vhodné především obrázek 1, který shrnuje základní typy ceramidů, vytvořit nově a nekopírovat z literatury. Vzorce totiž nejsou dobře rozpoznatelné - především dvojné vazby a absolutní konfigurace na chirálních uhlících. Stejně tak i obrázek 2.
str. 12 - estery cholesterolu s organickými kyselinami ve stratum corneum nacházíme, ale zrovna zmíněná kyselina sírová není organickou kyselinou;
str. 17. ve schematu 1 sloučenina 1 není lignocerová kyselina, ale obecný vzorec karboxylové kyseliny. Postup přípravy aktivované lignocerové kyseliny na téže straně obsahuje několik nepřesností v množstvích reaktantů.

Str.18-19 - sloučenina 3 by měla být v textu označena názvem či alespoň jako např. aktivovaná kys. lignocerová, nikoli pouze lignocerová kys.

Autorka by měla lépe formulovat věty. Např. str. 12 - v kůži je 12 přirozeně se vyskytujících ceramidů - těch je ve skutečnosti mnohem víc, tady autorka myslela strukturních typů - ale i těch už je více. Autorka ve větách často zjednodušuje situaci a tvrdí, že daný ceramid vykazuje v daném experimentu určité vlastnosti. To ale nelze říci, jelikož tyto vlastnosti vždy vykazuje modelová membrána, která obsahuje určité množství daného ceramidu/analogu ceramidu. Co bych pak pro přehlednost rozhodně doporučoval, by bylo jednotnější označování ceramidu NS24, který byl použit jako standardní ceramid. V textu je označován zkratkou Cer, poté jako přirozený ceramid, běžný ceramid či fyziologický ceramid. Na str. 22, konec prvního odstavce, by jednoznačně zkratka Cer zasloužila vysvětlení.

K práci bych měl několik dotazů.
1. Proč právě 0,083M HCl jste používala k vytřepávání?
2. Při přípravě Franzových cel s upevněnými membránami musí být uveden údaj o velikosti otvoru v teflonových držácích, aby bylo jasné, jaká byla plocha membrány studovaná v dalších experimentech. Jaká tedy byla? Jak bylo dosaženo toho, aby např. léčivo "neobcházelo" tuto membránu a nepermeovalo skrz obnažené polykarbonátové filtry? Dále by zde mělo být uvedeno, kolik bylo připraveno jednotlivých membrán. To se dozvídáme až v diskusi. Věta nástřik lipidů byl proveden třikrát za použití 3 x 100 ul nevnáší do počtů moc jistoty.
3.U HPLC metody je kolona označena jako CTO-20AC, a pak LiChroCART. Co z toho tedy byla kolona a co je to druhé?
4. V jakých jednotkách je c a V v rovnici na straně 25?
5. Zajímalo by mě, jakým způsobem byla stanovena konstanta 1,393 pro TEWL experimenty a zda je možné ji bez kontrolních měření použít pro popsané experimenty.
6. V grafech 3,4,5,6 má kumulativní množství léčiva a flux léčiva stejné jednotky. Prosím o uvedení na pravou míru.
7. I bez detailnějšího zkoumání grafů 3 a 5 se zdá, že jsou naprosto totožné. Je tomu skutečně tak?

Celkové hodnocení: výborně, k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové dne 30.5.2014 ……

podpis oponentky / oponenta