

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra organické a bioorganické chemie

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Tomáš Havrišák**

Vedoucí práce: PharmDr. Lukáš Opálka, PhD.

Konzultant/ka:

Oponent/ka: prof. Milan Pour

Název práce: **Syntéza modifikovaných a označených acylceramidů**

Rozsah práce: 44 stran, 15 obrázků, 0 tabulek, 42 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |                    |
|--|--------------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | vyberte zhodnocení |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | vyberte zhodnocení |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | vyberte zhodnocení |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | vyberte zhodnocení |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | vyberte zhodnocení |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | vyberte zhodnocení |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | vyberte zhodnocení |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | vyberte zhodnocení |
| i) Splnění cílů práce:   | vyberte zhodnocení |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | vyberte zhodnocení |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | vyberte zhodnocení |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | vyberte zhodnocení |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce Tomáše Havrišáka obsahuje všechny podstatné části, počínaje obecným Úvodem a cílem práce, dále následuje Teoretická část, Výsledky a diskuse, Experimentální část, Závěr, Seznam použitých zkratk a Literatura. Osobně bych dal přednost zařazení cílů práce za Teoretickou část a Závěru za Výsledky a diskusi, podobně jako v odborných publikacích, nicméně zvolená následnost jednotlivých kapitol neubírá na přehlednosti.

Cílem kandidáta byla příprava acylceramidu s ultradlouhým řetězcem, částečně značeným deuteriem, a dále prozkoumání mobility tohoto řetězce v lipidové směsi, která simuluje extracelulární prostor stratum corneum pomocí NMR spektroskopie v pevné fázi.

Vzhledem k tomu, že se jednalo o přípravu značené sloučeniny, byla volba strategie pochopitelně závislá na omezené paletě dostupných deuterovaných výchozích látek, kterými byl dvanáctiuhlíkatý fragment 1,12-dibrómdodekanu a čtyřuhlíkatý fragment butyrolaktonu. Tyto fragmenty autor nejprve spojil prostřednictvím interkonverzí funkčních skupin a Wittigovy reakce a k takto vzniklé kyselině byl po úpravě funkčních skupin dále připojen v analogickém procesu tentokrát již nedeuterovaný šestnáctiuhlíkatý stavební blok, opět s koncovým karboxylem. Poslední úpravy zahrnovaly připojení linoleátu ke koncové hydroxylové skupině a konjugaci karboxylu se sfingosinem. Oceňuji závěrečný odstavec se

shrnutím celkové efektivity osmnáctikrokové syntézy s celkovým výtěžkem 2 %. Připravený acylceramid byl dále využit k vytvoření lipidové směsi, která byla v rámci zahraniční spolupráce zkoumána NMR spektroskopii v pevné fázi. Z šířky a tvaru signálu bylo možné učinit předběžný závěr, že chování ultradlouhého řetězce je duální, část řetězce je pohyblivá a neuspořádaná, ale přes mezistupeň fluidního stavu postupně přechází do pevné krystalické podoby.

Práce je přehledně a srozumitelně napsaná, čtenáři je okamžitě jasné, jaké jsou cíle autora a jak k nim hodlá dospět. Množství formálních chyb a překlepů je na přijatelné úrovni, namátkou vybírám str. 4 ...vyplněné lipidmy... (určitě má být „lipidmi“), str. 15 nadpis „Acylceramidy“, str. 21 ...a zohraity až do refluxu...Rekčný čas..., str. 25, 26 ...sfingodinej báze...str. 27 ...vel'midlých.... Oceňuji i přiměřený rozsah práce v celkové délce 44 stran.

Dotazy a připomínky:

K práci mám další formální poznámky:

1. Autor označuje veškerou grafiku v textu jako Obrázky, což sice zjednodušuje práci, ale i tak konstatuji, že znázornění chemických reakcí se označuje jako Schéma.
2. Do slovenského textu je někde, podle mého názoru trochu nepatřičně, vsunuty anglické termíny, zejména str. 26, název podkapitoly Solid State NMR se běžně překládá jako NMR v pevné fázi (viz i Teoretická část), diplomant se mohl alespoň pokusit i o překlad krkolomného názvu enzymu na str. 16.
3. Obrázek 11 nahoře, chybí výtěžek nežádoucí hydroxykyseliny, kterou kandidát ani neočísloval.
4. Obr. 11 dole, Obr. 12 a 13, u směsí E,Z izomerů, získaných Wittigovou reakcí, chybí údaje o poměru obou látek.
5. Str. 23 nahoře, konstatování, že k ylidu byl po čase přidán aldehyd je nedostatečné, resp. nicneříkající, je nutné uvést v jakém čase nebo časovém rozmezí.
6. Možná jsem něco přehlédl, ale autor mohl definovat počet uhlíků, kterým končí velmi dlouhý řetězec a začíná ultradlouhý.
7. Pro podkapitulu o NMR v pevné fázi (Teoretická část) bych ocenil uvedení základních informací o vztazích mezi tvarem a šířkou signálů a chováním sledovaných lipidů ve směsích.
8. V Obr. 14 na str. 26 chybí stupnice, předpokládám, že jde o výseky z 2D spekter?

Následující připomínky mají sloužit jako podklad pro diskusi nebo pro moje poučení:

1. Str. 14, Schéma biosyntézy ceramidů, první krok (konjugace palmitoyl-CoA s L-serinem). Jaký je další osud uhlíku karboxylové skupiny L-serinu (dochází k dekarboxylaci)?
2. Str. 20 a 21, konverze 1,12-dibrómdodekanu na 12-brómdodekan-1-ol s HBr v toluenu. Na str. 20 uchazeč tvrdí, že důvodem selektivity jsou rozdílné rozpustnosti možných produktů. Na str. 21 je uvedeno, že s mírným přebytkem HBr za varu byla po 72 hodinách velká část nezreagovaná a bylo možné pozorovat produkt dvojnásobné substituce. O tři řádky dále pak kandidát píše, že při častější kontrole reakční směsi bylo zřetelně patrné, že po dvou hodinách nebyla zreagovaná jen malá část dodekandiolu. Vzhledem k tomu, že mám obtíže se v tom vyznat, prosím o vysvětlení.
3. Str. 22, Schéma přípravy fosfoniové soli 8. Líbí se mi nápad přímého štěpení butyrolaktonu trifenylofosfonium hydrobromidem v tavenině. Jde o původní myšlenku nebo jsou nějaké precedenty?
4. Na str. 24 je uvedeno, že nižší výtěžek deuterace dvojnásobné vazby v průtokovém reaktoru (72 %) je dán horší rozpustností substrátu v EtOAc. Prosím o komentář k horší rozpustnosti. Dále autor uvádí, že výtěžek klasické deuterace na Pd katalyzátoru je

kvantitativní. V Experimentální části jsem ale provedení deuterace na Pd katalyzátoru nenašel.

5. Podle NMR spekter jsou linoleátové řetězce izotropické, tj. neuspořádané a pohyblivé (str. 26 a 27), což autor dává do souvislosti s dvojnými vazbami v řetězci. Prosím o komentář, neboť v běžném vnímání organického chemika je důsledkem přítomnosti dvojných vazby v řetězci rigidita, nikoliv mobilita.

**hodnocení, práce je: výborná**

**k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové

18. května 2022

podpis oponenta/ky