

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Lukáše Opálky
**Syntéza lidských ω -*O*-acylceramidů a hodnocení jejich vlivu na bariérové vlastnosti
kožních lipidových membrán**

Disertační práce Mgr. Lukáše Opálky se zabývá studiem bariérových vlastností kůže. Cílem práce byla jednak syntéza „lidských“ ω -*O*-acylceramidů, některých ceramid-1-fosfátů a gangliosidů, jednak studium vlivu přítomnosti těchto ceramidů na bariérové vlastnosti a chování modelů lipidových membrán kůže.

Konstatuji, že se doktorand se stanovenými cíli úspěšně vypořádal:

- Vypracoval modifikovaný syntetický postup pro přípravu ω -*O*-acylceramidů aplikovatelný i pro syntézy v gramovém měřítku.
- Vypracoval postup pro syntézu ceramid-1-fosfátů pro budoucí studium vlastností těchto signálních molekul.
- Zvládl syntézu modifikovaných gangliosidů typu GM1 se zkráceným acylovým řetězcem.
- Využil připravené ceramidy ke studiím vlastností modelů lipidových membrán kůže.
- Z dosažených výsledků vyvodil odpovídající závěry.

Oponentovi usnadňuje jeho úlohu skutečnost, že výsledky práce již byly publikovány v *peer reviewed* časopisech (3 práce, z toho 1x jako první autor) a další 3 práce byly již zaslány k opublikování.

Přes uvedená pozitiva mám k práci několik připomínek a dotazů. Tyto dotazy, komentáře a připomínky jsou řazeny nikoliv podle závažnosti, nýbrž chronologicky, tak, jak jsem na ně v textu narazil:

1. Čtenář, který není odborníkem v oblasti sfingolipidů, by jistě uvítal krátké *entrée* do názvosloví těchto sloučenin – minimálně by to chtělo zmínit číslování skeletu sfingosinových derivátů, které je odlišné od systematického názvosloví. Po jisté době se sice čtenář zorientuje, ale...
2. Když jsem si při čtení disertační práce průběžně doplňoval vzdělání v oblasti sfingolipidů, narazil jsem na pseudoceramidy. Jaký je potenciál (terapeutický, využití v modelech apod.) u těchto sloučenin, které jsou bezpochyby snáze dostupné než autentické přírodní ceramidy?
3. V odst. 3.2.1 (str. 18) autor zmiňuje, že řetězce mastných kyselin v lipidové membráně kůže mohou mít sudý (převážně) i lichý počet uhlíkových atomů. Je něco známo o tom, zda se zde (podobně jako např. u termotropních kapalných krystalů a u mnohých dalších látek) vyskytuje *even-odd* efekt?
4. Na str. 33 v obr. 12 mě zaujal pokus o přípravu Grignardova činidla z ω -bromalkanové kyseliny. V tomtéž schématu je rovněž pozoruhodná transformace silylovaného ω -bromalkoholu **2** na silylovanou ω -hydroxykyselinu **3**. V této souvislosti ještě jeden dotaz: problém syntézy spočíval v nemožnosti přípravy Grignardových činidel (pochopitelně ne z volných karboxylových kyselin), nebo v jeho následné transformaci? Otestoval doktorand, zda organokovové činidlo opravdu vzniklo, např. rozkladem organokovu pomocí CD₃OD a následnou analýzou produktů rozkladu?
5. Na str. 36 doktorand zmiňuje pokus o acylaci látky **16** v iontových krystalech – zřejmě však má na mysli iontové kapaliny.
6. V oddílech popisujících vliv přítomnosti připravených ω -*O*-acylceramidů na vlastnosti modelů lipidových membrán postrádám porovnání s chováním přírodních biologických membrán. To by pomohlo posoudit, nakolik jsou navržené a studované

modely relevantní. Jsou zde sice odkazy na práce, kde by se vlastnosti nativních systémů nechaly zjistit, ale bylo by moc pěkné, kdyby práce poskytla přímé porovnání...

Formální chyby:

1. Možná jsem zaspal vývoj v názvosloví, ale biochemie – stejně jako organická chemie – je (aspoň doufám) stále konzervativní a nepodléhá snahám o fonetizaci slov. Takže (jak doufám) nomenklaturně správné názvy enzymů mají koncovku **–asa**.
2. Na str. 22 je uveden enzym, který transformuje 3-hydroxyacylCoA na 2,3-enoylCoA, jako **3-hydroxyacylCoA dehydrogenasa**. Vzhledem k tomu, že v tomto kroku zůstává oxidační stupeň molekuly beze změny (jde o dehydrataci), zařazení enzymu mezi dehydrogenasy považuji za zločin.
3. U halogenů, které jsou jako substituenty základních hydridů používáme v češtině předponu fluor-, chlor-, brom, nikoliv fluoro-, chloro-, bromo-. Tento anglickanismus se vyskytuje na mnoha místech v disertaci.

Přes uvedené připomínky konstatuji, že předložená práce rozsahem experimentů, závěry z nich vyvozenými i formou zpracování splňuje nároky na disertační práce kladené. Mgr. Lukáš Opálka prokázal, že je schopen samostatné vědecké činnosti ve výzkumu i ve vývoji.

Doporučuji proto disertační práci Mgr. Lukáše Opálky k obhajobě.

V Praze dne 7. září 2016

doc. Ing. František Hampl, CSc.