

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra Farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Oponent/ka: **PharmDr. Jan Zitko, Ph.D.**

Rok obhajoby: 2016

Autor/ka práce: **František Slovák**

Název práce:  
**MOLEKULÁRNĚ MODELOVACÍ STUDIE POTENCIÁLNÍCH INHIBITORŮ  
MYKOBAKTERIÁLNÍ ENOYL-REDUKTASY**

---

Rozsah práce: počet stran: 61, počet grafů: 0, počet obrázků: 56,

počet tabulek: 2, počet citací: 37, počet příloh: 0

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: dobrý
- e) Prezentace výsledků: velmi dobrá
- f) Diskuse, závěry: velmi dobré
- g) Teoretický či praktický přínos práce: výborný

Případné poznámky k hodnocení: Předložená diplomová práce se zabývá HTVS skříninkem potenciálních inhibitorů mykobakteriální InhA. Ze subsetu databáze ZINC o velikosti přibližně 30 tisíc molekul bylo kombinací dockingu a aplikací farmakoforového modelu určeno 22 potenciálně aktivních sloučenin a byly diskutovány jejich předpovězené molekulární interakce s InhA. Úvodní teoretická část práce je slabší z hlediska práce s literárními zdroji, čemuž odpovídá i menší množství citovaných zdrojů v diplomové práci. V metodické části jsou některé použité postupy popsány neúplně či nejednoznačně. Toto přičítám faktu, že student se věnoval metodikám, s nimiž se během svého pregraduálního studia neměl možnost seznámit. Jako garant budoucího předmětu Základy molekulového modelování léčiv jsem rád, že je o tuto problematiku mezi studenty zájem.

Dotazy a připomínky:

**PŘIPOMÍNKY:**

- Místy nedostatečná práce s literaturou, kdy například velká část informací o antituberkulotických je čerpána z publikace č. 18 z roku 1994 s názvem Treatment And Developmental Therapeutics Of Mycobacterium Tuberculosis Infections. Je jasné, že to, co bylo „vývojové“ v roce 1994, už bude dnes někde jinde. Sekce 2.4.1. o primární TBC a sekce 2.4.2 o postprimární TBC jsou zcela bez odkazů na zdroje. Není tak jasné, odkud autor čerpal, i když s vysokou pravděpodobností to budou některé terciární zdroje uvedené v následujícím textu.
- Práce obsahuje velké množství typografických chyb a nepřesností – namátkou: Mycobacterium tuberculosis s malým „m“ na str. 4; deskriptory R,S či cis, trans bez kurzívy;

titulek k obrázku 2 – latinské písmeno b místo řeckého symbolu beta; v Obr. 2 InhA chybně s malým „a“; FabH v seznamu zkratk s malým „h“; ve spojeních jako enoyl-ACP reduktáza a obdobných nejednotné užití spojovníků; občasné desetinné tečky místo čárek; str. 18 „karbomyolová“ skupina; na str. 27 „indolil“ má být indolyl

- Obr. 2, 4, 6 a další nejsou odkázány v textu. Obrázky obsahující pouze struktury konkrétních sloučenin nebylo třeba opatřovat titulkem, např. „Obr. 8. Pyrazinamid“ apod. Pokud už je titulek užit, musel by být obrázek odkázán v textu.
- Terminologické nepřesnosti: správně má být keto-mykolové kyseliny, nikoliv ketoxy-; správně hydroxyacyl-ACP dehydratáza, nikoliv hydroxyl-acyl-ACP dehydratáza; chybný chemický název triklosanu na str. 17, nesprávně chloro-, v českém názvosloví chlor-; indol-5-amidy by bylo přesnější nazývat indol-5-karboxamidy; str. 22 – „Kompletně rezistentní kmeny“ – TDR-TB - pojem de facto zanikl se zavedením bedachilinu.
- Na str. 12 dole je uvedeno „Důvodem kombinační léčby u počáteční fáze je stále častější rezistence MBT na léčiva první linie.“ To je značně nepřesné. Kombinační terapie se užívá standardně i tam, kde rezistence dosud nevznikla, právě jako prevence vzniku rezistence.
- Str. 21 – chybný chemický název isoniazidu. Dále nerozumím formulaci „ Je (INH) stále ještě antituberkulotikum první linie i první volby.“ INH je přeci jedním z nejdůležitějších antiTBC léčiv a na nějaký ústup z klinické praxe to nevypadá. Nebo máte jiné informace?

#### DOTAZY:

1. V jakém formátu byla stažena databáze ZINC? 2D, 3D? Konfigurace chirálních center a cis/trans konfigurace jednotlivých molekul byly zachovány nebo variovány? Případně 3D koordináty z databáze ZINC byly zachovány, nebo byly sloučeniny v databázi energeticky minimalizovány v programu MOE? Pokud ano, jaké bylo použité silové pole (Force Field)?
2. Neuvažovali jste o tom aplikovat na databázi sloučenin před vlastním HTVS dockingem nějaký filtrovací krok? Např. již zde dle Lipinského pravidla, molekulové hmotnosti, drug-likeness apod.? Toto filtrování by mohlo být provedené buď na stránkách ZINCu při stahování databáze nebo posléze v MOE. Předpokládám, že databáze „natural products“ obsahuje i velké molekuly, u kterých není rozumné předpokládat, že se vmístí do aktivního místa InhA.
3. V sekci 3.2. - Co si mám představit pod „byly poupraveny úhly ligandů“?
4. Upřesněte mi prosím, jakým způsobem byl aplikován farmakoforový filtr. Jednalo se pouze o filtr typu SMARTS (tj. přítomnost nebo nepřítomnost daného znaku v molekule), nebo byl vytvořen 3D farmakofor, kterému musely znaky v molekulách vyhovovat i svou polohou v prostoru? Farmakoforový model byl aplikován jakým způsobem? V rámci dokování? Pokud ano, nechápu, jak jste mohli ve výsledku obdržet pózy, které nemají vodíkovou vazbu s Tyr-158. Pro větší přehlednost by bylo vhodné uvést organizační schéma experimentů se všemi na sebe navazujícími kroky.
5. Jakým způsobem se běžně vyjadřuje míra shodnosti/odlišnosti póz ligandu? Co je RMSD? Ve výsledcích redockingu by tuto hodnotu bylo vhodné uvést.
6. Vysvětlíte prosím, proč jste za referenční hodnotu považovali skóre původního ligandu po redockingu? Nebylo by správnější/lepší skóre vypočítat pro původní nezměněnou pózu z krystalografické struktury (tzv. score in place)?
7. Jaké jsou praktické výsledky této HTVS studie? Doporučil byste některé identifikované kandidátní molekuly zakoupit a otestovat na inhibici InhA, případně na inhibici růstu mykobaktérií? Jaká je cenová náročnost?

I přes uvedené nedostatky diplomová práce splnila zadaný cíl a je způsobilá k obhajobě.

**Celkové hodnocení: velmi dobře, k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové dne 20. 9. 2016

.....  
podpis oponentky / oponenta

