

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2021

Autor/ka práce: **Jitka Vávrová**

Vedoucí práce: PharmDr. Marta Kučerová, Ph.D.

Konzultant/ka: -

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

Název práce: **Tvorba virtuální knihovny syntetických látek pro praktické využití v molekulově modelovací studii**

Rozsah práce: 82 stran, 46 obrázků, 14 tabulek, 88 citací

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

V předložené DP studentka vytvořila elektronickou knihovnu in-house sloučenin z laboratoře školitelky. Databáze ve formátu CSV obsahuje struktury sloučenin ve formátu SMILES, experimentální data o biologické aktivitě extrahovaná z publikací a vypočtené deskriptory související s fyzikálně-chemickými vlastnostmi sloučenin. Knihovna obsahuje celkem 317 sloučenin. Dále bylo provedeno statistické vyhodnocení distribuce hodnot jednotlivých deskriptorů. V závěru experimentální práce studentka demonstruje praktickou využitelnost připravené knihovny jako zdroje ligandů pro molekulové dokování.

V práci se objevují drobné nedostatky, které vychází z autorčiny krátké zkušenosti s molekulovým modelováním – jako příklad uvedu absenci některých podrobností nastavení přípravy proteinu a ligandů. Ve vlastní databázi, která je vložena jako příloha ve formátu CSV, jsou drobnosti, které budou komplikovat její přímý import do modelovacího software – namátkou názvy sloupců ve dvou různých řádcích, použití desetinné čárky jako oddělovače desetinných čísel, či přítomnost textových znaků (*) ve sloupcích, které jsou jinak číselného formátu.

Systém kontroly podobnosti Theses.cz nezjistil významné shody (vše <5 %). Turnitin reportuje kumulativní podobnost 14 % (včetně seznamu literatury), nicméně po podrobném prozkoumání protokolu konstatují, že shody k jednotlivým dokumentům jsou nevýznamné.

Celkově DP plně splnila zadání. Vytvořená knihovna sloučenin se stala cenným zdrojem informací pro in silico modelovací studie.

Dotazy a připomínky:

- Nesouhlasím s tvrzením (na str. 37), že databáze obsahující záznamy ve formátu SMILES je „Ready to dock“. Pro dokování potřebujete vygenerovat 3D struktury.
- V práci je zmatek v definici pojmů lead-likeness a drug-likeness. Studentka se zřejmě domnívá, že např. drug-like sloučeniny jsou ty, které neporušují žádné z Ro5. Tak tomu ovšem není, běžný úzus definuje drug-like sloučeniny jako ty, které neporušují více než jedno pravidlo. Tímto způsobem to také hodnotí MOE v deskriptoru „lip_druglike“. Analogická je situace s definicí Lead-likeness a s deskriptorem „opr_leadlike“.
- Použití deskriptoru h_pKa pro hodnocení acidobazických vlastností sloučenin je nevhodné až nepoužitelné. Většina vašich in-house sloučenin neobsahuje žádnou výrazně kyselou skupinu a MOE tak naprostě většině sloučenin (178/318) přiřadil arbitrární hodnotu pKa = 14. Tento fakt znemožňuje jakékoliv statistické zpracování hodnot tohoto deskriptoru. Pozn: Deskriptor pKa tak jak je definován v MOE nevyjadřuje sílu bazí.
- Skóre v posledním řádku tabulky 5-5 je pro epalrestat nebo jeho fragment? Pokud pro fragment, tak interpretace, že nejlepší dokované sloučeniny měly skóre srovnatelné s epalrestatem je nesprávná. Podobně poslední řádek v tabulce 5-6 na str. 59.
- Pravděpodobně při přípravě systému utilitou QuickPrep vám MOE udělalo v cyklu epalrestatu dvojnou vazbu navíc a kladný náboj na atomu síry. To určitě mělo vliv na výpočet skóre při redockingu. V tomto ohledu je MOE (stejně jako jiný software) nutno kontrolovat.
- Dokování do ALR2 – metodika – ponechán NADP? Pravděpodobně ano, ale není to zmíněno.
- Na str. 61 dole uvádíte, že MptpB je heterodimerní enzym. Ve struktuře 2OZ5 je však sekvence řetězce A a B shodná.
- terminologie – konformace vs póza
- ve strukturním vzorci u tabulky 5-4 není zachycena poloha substituentu R2
- str. 57, první řádek – jedná se o interakci s vodíkem methylenové skupiny, nikoliv methinové
- V DP hovoříte o záznamech PDB jako o „krystalografických obrazech“, což nepovažuji za vhodný termín. Vzniklo toto překladem? Jakého termínu?
- Str. 62 – uveďte správný český název pro „oxalátovou kyselinu“

Dotazy:

1. V tabulce 3-1 uvádíte počty dostupných sloučenin v jednotlivých elektronických databázích. Jak si vysvětlujete, že databáze GDB-17 obsahuje řádově více záznamů (stovky miliard) oproti ostatním databázím (max. stovky milionů)?
2. Jak přesně byla provedena kontrola na duplikáty ve vaší in-house databázi (excelové tabulce). Uvádíte, že jste použila podmíněné formátování, ale z tohoto popisu mi postup není zřejmý.
3. Pro dokování do β -hydroxyacyl-ACP dehydratasy (HadAB) jste kromě vybraných in-house chalkonů použila i antimykobakteriálně účinné sloučeniny z literatury (NAS-21 a NAS-91), o nichž uvádíte, že inhibice HadAB je pravděpodobným mechanismem účinku. Na jaké úrovni je tento mechanismus účinku potvrzen? Sloučenina NAS-91 splňuje farmakofor

inhibitorů enoyl-ACP-reduktasy (InhA) odvozených od triklosanu. Je podle vás možné, že sloučenina NAS-91 je inhibitorem InhA, tedy jiného enzymu systému FAS II?

4. Shrňte prosím, jakým způsobem jste zacházela s molekulami vody při přípravě proteinů pro dokování. V DP píšete, že byly ponechány vybrané molekuly vody, ale výběr nezdůvodňujete. Jaké jsou v komunitě in silico modelářů obvykle používané přístupy a jaké mají výhody a nevýhody?

5. V PDB záznamu 4JIR i ve všech ostatních krystalografických strukturách ALR2 je viditelný pouze fragment epalrestatu, jak správně uvádíte. Jak si vysvětlujete chybějící část této molekuly?

6. V tabulce 5-5 jsou jednotlivé interagující aminokyseliny graficky odlišeny – červená oranžová, tučné písmo. Není však uveden klíč k tomuto rozlišení. Doplňte význam tohoto odlišení, pokud nějaký je.

7. Na str. 63, obrázek 5-25 popisujete interakce oxalátové skupiny s receptorem. Jako nejsilnější interakci jste popsala vodíkovou vazbu s Arg166. Nemůže tato interakce mít jiný charakter? Nezapomeňte, že záporný náboj deprotonizovaného karboxylátu je delokalizovaný. Podobnou chybu pravděpodobně opakujete při popisu interakce karboxylové skupiny in-house ligandů s Arg166.

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

27. května 2021

podpis oponenta/ky