

## Oponentský posudek disertační práce

Název:	Hybridizace jako přístup při objevování nových antiinvazivních léčiv
Autor:	PharmDr. Petr Šlechta
Vedoucí práce:	prof. PharmDr. Martin Doležal, Ph.D.
Konzultantka práce:	PharmDr. Marta Kučerová, Ph.D.
Oponent práce:	prof. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.

Autor odevzdal disertační práci psanou v češtině na 74 stranách plus přílohy. Práce je rozdělena do relativně standardních kapitol a cituje 95 literárních odkazů. Autor uvedl také 4 publikované práce relevantních pro disertační práci a 1 další publikovanou práci s problematikou související.

Cíle práce jsou definovány, ale jsou velmi stručné (3 věty) a není z nich jasný hlubší zámysl pro molekulární design připravovaných sloučenin, který je částečně vysvětlen v dalších kapitolách. Autor dále představil relativně široký Přehled současného stavu studované problematiky (17 stran), metodickou část (11 stran) a relativně stručný komentář k publikovaným pracím (16 stran). K těmto částem mám řadu připomínek a dotazů uvedených níže. V obecné rovině je zpracování textu i grafických příloh (pokud jsou přiloženy) těžkopádné a značně stěžuje orientaci čtenáře v textu. Naopak oceňuji diskusi k získaným experimentálním výsledkům, ačkoli i tato diskuse by měla být více faktograficky zaměřena.

Autor předložil celkem 4 práce týkající se disertační práce a publikované v impaktovaných časopisech, v nichž je 2× prvním autorem a 2× spoluautorem. Všechny práce byly zveřejněny v renomovaných odborných časopisech, v jednom případě se jedná o odborný časopis nakladatelství se spornou kvalitou recenzního řízení. Všechny přiložené publikace jsou relevantní studované problematice a je uveden přesný podíl autora na konkrétní publikované práci.

K disertační práci mám následující připomínky:

1. Práce je psána relativně nestandardním jazykovým stylem s řadou nestandardních spojení, př. „tuberkulóza (TB) zůstává světově druhým největším zabijákem“, „Obdobně pak rostoucí počet“, „skrze známý mechanismus účinku“, „Na základě uvedených SAR vidíme“, „měřili jejich inhibiční aktivitu“, „rezistence se začíná pomalu stávat celosvětovou zdravotní krizí“, „nebývalý rozsah provedených chemických obměn“, „je nutné z výsledků vypíchnout aktivity standardu“, a mnoho dalších. Proto pro další práce doporučuji autorovi držet se raději věcného jazykového stylu.
2. Práce obsahuje velké množství typografických chyb. Zkratky nejsou vždy objasněny v textu při prvním použití. Obrázky jsou nestandardně zarovnány doleva.
3. Cíle práce jsou velmi stručné a není z nich jasný hlubší zámysl pro molekulární design připravovaných sloučenin.
4. Zcela chybí číslování kapitol, resp. podkapitol, které značně stěžuje orientaci v celé práci. Popisky obrázků nejsou odděleny od textu a splývají s ním.
5. Obr. 2 se nenachází dole, jak je uvedeno na str. 18, podobně Obr. 11 viz str. 23. Plus konjugát naltrindolu a ICI-199,441 neobsahuje dle uvedené struktury oligoglycylový můstek, uveďte správné pojmenování v rámci obhajoby práce.
6. U Obr. 14-15 chybí data bioaktivity uvedených molekul (na rozdíl od ostatních v podkapitole).
7. P1-P4 – Text není v řadě případů strukturován do odstavců a je relativně nepřehledný. Nejsou uvedeny podpůrné obrázky, tabulky nebo grafy, které by umožnily vysledovat design, strukturu a

aktivitu molekul popsaných v textu bez nutnosti dohledávat si tyto informace v publikovaných pracích. To považuji za velký nedostatek práce, která bude pravděpodobně zveřejněna v repositáři závěrečných prací bez publikovaných příloh.

8. P1 – V úvodu k publikaci P1 se částečně opakují informace uvedené v teoretické části práce. Z Obr. 36 není možno vyzorovat popisované interakce ani při velkém zvětšení.
9. P2 – Lépe uvádět nízké než „slabé“ rozlišení pro strukturu 2WFD. Z Obr. 38 není možno vyzorovat popisované interakce ani při velkém zvětšení.
10. P4 – Z Obr. 42 není možno vyzorovat popisované interakce ani při velkém zvětšení. Černé pozadí používané při vizualizaci výsledků MM/MD není vhodné pro publikační účely.
11. V rámci účasti na grantech je chybně u projektu NU21-05-00482 uveden autor práce jako spoluřešitel (projekt má jen řešitele – doc. J. Zitko), autor by měl být uveden jako člen týmu.

K disertační práci mám následující dotazy:

1. Jaká je správná koncovka pro enzymy dle českého názvosloví IUPAC?
2. Domníváte se, že k metabolizaci naznačené v Obr. 21 dochází jen v nádorových buňkách? Resp. kde dále by k ní mohlo v rámci buňky docházet?
3. Na Obr. 22 je naznačena kovalentní vazba boronových kyselin na serinové aminokyseliny proteas, v textu je naznačena interakce s cysteinovými aminokyselinami. Jaký je poločas degradace takových kovalentních vazeb boronových kyselin? Jaké další enzymy v lidském organismu by takto mohly být ovlivněny, resp. s jakým výsledkem?
4. Uvádět pro deriváty boru toxicitu pouze u kys. borité mi nepřijde vhodné. Jsou známy údaje o toxicitě např. organoboronových kyselin *in vitro* nebo lépe *in vivo*?
5. V práci jsou uvedeny pouze pozitivní aspekty spojování ligandů s různými mechanismy účinku. Existují také nějaké negativní aspekty? Resp. představte kritické zhodnocení přínosů versus nechtěných efektů takových ligandů v rámci obhajoby práce (viz např. doi: 10.1016/j.tips.2020.04.008).
6. V části práce jste použil metody molekulárního dockingu (MD). Byl použit rigidní nebo flexibilní MD pro vámi testované proteinové struktury? Resp. proč byla vybrány konkrétní varianta MD?
7. Prosím vysvětlete, co přesněji probíhalo jako „Pokročilé biologické testování“, které z důvodu „nárazovosti a rozličnosti experimentů“ blíže v práci nekomentujete?
8. P3 – Bylo by možné zjistit hlavní molekulární cíl připravovaných molekul jinak než obměnami jednotlivých částí molekuly, jak uvádíte? Popř. jak?
9. Jak si vysvětlujete sníženou účinnost reverzních amidů popsanou v Závěru na str. 62?

Předložená disertační práce představuje zajímavé výsledky získané autorem, které jsou důležité pro další nastavení výzkum v jednotlivých naznačených směrech. Práce by jistě mohla být v mnoha ohledech vylepšena (viz připomínky a otázky oponenta). Autor však vykonal značné množství experimentální práce, kterou transformoval do publikovaných impaktovaných prací, které prošli recenzním řízením. Proto doporučuji práci k obhajobě, kde by autor měl vyjasnit výše uvedené připomínky a dotazy.

V Hradci Králové 9. 10. 2024

prof. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.