

# Abstrakt

Chřipka je infekční onemocnění způsobené virem chřipky. Tento vir způsobuje závažnou virovou infekci, která se snadno přenáší z osoby na osobu během sezonních pandemií. Nejefektivnější způsob jak zabránit infekci, je očkování, nicméně kvůli vysoké mutační schopnosti viru se musí každý rok vakcína přeformulovat. Další způsob, jak bojovat proti chřipce, je podávání antivirotik. Klinické studie izolovaných kmenů ptačí chřipky (H5N1, 2004) a prasečí chřipky (H1N1, 2009) ukázaly na zvyšující se rezistenci vůči známým neuraminidasovým inhibitorům (oseltamivir, zanamivir). Tato resistance je zapříčiněna strukturálními změnami v blízkosti katalytického místa enzymu. Výše zmíněné skutečnosti jsou motivací pro vývoj nových neuraminidasových inhibitorů a také pro vývoj inhibitorů, které cílí na jiné chřipkové enzymy.

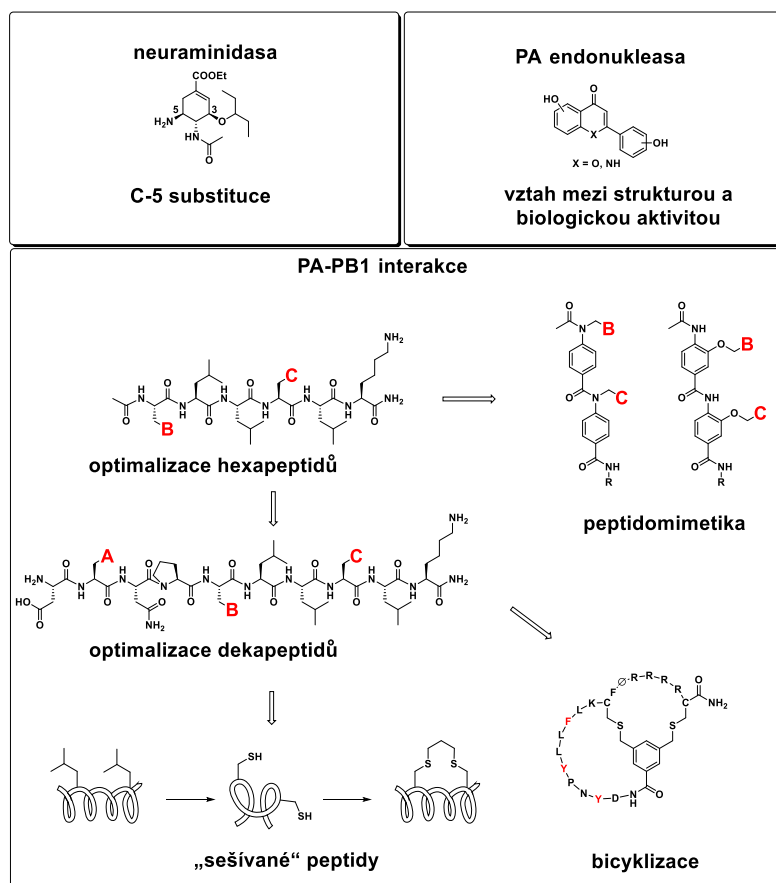
Tato práce se zabývá návrhem a přípravou nových inhibitorů chřipkové neuraminidasy a RNA-dependentní RNA polymerasy (konkrétně na PA podjednotku a skladbu PA-PB1 heterodimeru, Schéma 1).

Inhibitory chřipkové neuraminidasy byly připraveny pomocí modifikace oseltamiviru v pozici C-5. Oseltamivir byl následně modifikován skupinami, které byly navrženy tak, aby vytvářely interakce v kavitě-150. Byly změřeny aktivity nových derivátů oseltamiviru proti dvěma kmenům chřipky.

Další část disertační práce přispěla k objasnění mechanismu účinku kvercetinu (a strukturně podobných látek) jako inhibitoru RNA-dependentní RNA polymerasy. Je zde diskutován mechanismus účinku flavonoidů jako inhibitorů PA podjednotky. Tato disertační práce představila rozsáhlé studium vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou flavonoidů jako inhibitorů PA podjednotky chřipkové polymerasy. Byly připraveny inhibitory chřipkové PA endonukleasy se submikromolární aktivitou a tato práce obsahuje několik syntetických přístupů pro přípravu flavonoidů.

Poslední část disertační práce je zaměřena na přípravu inhibitorů PA-PB1 protein-proteinové interakce. Na základě krystalové struktury PB1 odvozeného dekaeptidu s PA C-terminální podjednotkou byla navržena a připravena peptidomimetika vycházející z oligobenzamidového strukturálního motivu. Fenylyalanin a dva tyrosiny byly identifikovány jako nezbytné pro aktivitu PB1 odvozeného dekaeptidového inhibitoru PA-PB1 interakce.

Následně byly pomocí peptidové syntézy na pevné fázi optimalizovány hexapeptidové inhibitory tak, aby při zachování či zlepšení inhibičního účinku byla zlepšena jejich rozpustnost. Data získaná při optimalizaci hexapeptidů byla použita pro optimalizaci dekapeptidů.



**Schéma 1.** Vyobrazení tří témat této disertační práce včetně použitých strategií.

Byla vyřešena nová krystalová struktura optimalizovaného dekapeptidu s PA C-terminální podjednotkou. Nové strukturální informace byly použity pro návrh a přípravu tzv. „sešivaných“ peptidů za účelem zlepšení vazebné interakce. Peptidové inhibitory postrádají schopnost efektivního průchodu buněčnou membránou. Za tímto účelem byly peptidové inhibitory vybaveny peptidovou sekvencí, která umožňuje průchod buněčnou membránou. Tyto kombinované peptidy byly cyklizovány kolem centrálního fragmentu za účelem průchodu buněčnou membránou a zvýšení metabolické stability. Po průchodu peptidů do nakažené buňky by se tyto bicyklické peptidy měly stát lineárními a následně zablokovat vznik PA-PB1 heterodimeru.

**Klíčová slova:** *neuraminidasa, polymerasa, enzym, inhibice, syntéza, design*