

Abstrakt

Ellipticin, protinádorový alkaloid, představuje léčivo, jehož mechanismus účinku je založen na interkalaci do DNA, inhibici topoisomerasy II a na tvorbě kovalentních aduktů s DNA prostřednictvím enzymové aktivace cytochromy P450 a/nebo peroxidasami. Ellipticin je oxidován cytochromy P450 až na pět metabolitů (7-hydroxy-, 9-hydroxy-, 12-hydroxy-, 13-hydroxyellipticin a N^2 -oxid ellipticinu). Z těchto metabolitů jsou 9-hydroxy- a 7-hydroxyellipticin považovány za detoxikační metabolity, zatímco 12-hydroxyellipticin, 13-hydroxyellipticin a N^2 -oxid ellipticinu za aktivační metabolity, které jsou zodpovědné za tvorbu kovalentních aduktů s DNA.

V diplomové práci byla testována efektivita lidských rekombinantních cytochromů P450 exprimovaných v eukaryotním (SupersomesTM) a dvou prokaryotních expresních systémech (Bactosomes) v oxidaci ellipticinu. Cytochromy P450 exprimované v prokaryotních systémech se lišily v množství „koexprimované“ NADPH:CYP reductasy. Vzniklé metabolity ellipticinu byly analyzovány metodou HPLC.

Výsledky získané v diplomové práci demonstrují, že lidské cytochromy P450 CYP2C9/2D6/2C19 exprimované v prokaryotním nebo eukaryotním systému oxidují ellipticin za vzniku až čtyř metabolitů: 9-hydroxy-, 12-hydroxy-, 13-hydroxyellipticinu a N^2 -oxid ellipticinu. Jejich účinnost se ale mezi jednotlivými systémy liší. CYP2C9/2C19/2D6 exprimované v prokaryotním systému s vyšší hladinou NADPH:CYP reductasy oxidují ellipticin nejefektivněji, a to především na metabolity 9-hydroxy-, 12-hydroxy- a 13-hydroxyellipticin, a to v pořadí CYP2C19>2D6>>2C9, v přítomnosti i bez cytochromu b_5 . Naopak jako nejméně efektivní se v oxidaci ellipticinu jeví CYP2C9/2C19/2D6 exprimované v prokaryotním systému s nižší hladinou NADPH:CYP reductasy. Cytochrom b_5 nejvíce ovlivňuje oxidaci ellipticinu CYP2C9, 2C19 a 2D6 exprimovaném v prokaryotním systému s nižší hladinou NADPH:CYP reductasy, a to ve prospěch aktivačních metabolitů. Dále byl zkoumán vliv přidané NADPH:CYP reductasy na oxidaci ellipticinu cytochromy P450 exprimovanými v prokaryotním systému s nižší hladinou NADPH:CYP reductasy.

Klíčová slova: cytochromy P450, ellipticin, NADPH:CYP reductasa, cytochrom b_5 , prokaryotní expresní systém, eukaryotní expresní systém.