

Abstrakt

HIV-1 proteasa hraje zásadní roli v pozdní fázi životního cyklu HIV viru, kdy štěpí virové polyproteinové prekursory na strukturní a funkční proteiny. Pokud je účinně inhibována, HIV partikule zůstávají nezralé a neinfekční. Použití vysoce účinné antiretrovirové léčby (HAART) zahrnující proteasové inhibitory může snížit hladinu HIV-1 v plasmě pacientů pod detekční limit, a tak velmi významně zlepšit prognózu jejich onemocnění. Použití prvních inhibitorů bylo poznamenáno vážnými vedlejšími účinky, nízkou biologickou dostupností, nutnými vysokými dávkami léčiv a především rychlým rozvojem virové rezistence pod selekčním tlakem léčiv. Ve snaze překonat tyto komplikace byla vyvinuta druhá generace inhibitorů. Navzdory nespornému zlepšení, které přinesly do antiretrovirové léčby, je další vývoj nových velmi účinných HIV-1 proteasových inhibitorů s optimálními farmakokinetickými vlastnostmi, vysokou metabolickou stabilitou, minimalizovanými vedlejšími účinky a především s příznivým rezistenčním profilem vysoce žádoucí.

V předkládané disertační práci je uveden přehled léků k léčbě HIV spolu s vývojem substituovaných metallakboranů, nové třídy účinných, neobvyklých, nepeptidických inhibitorů HIV proteasy s terapeutickým potenciálem.

Dále je analyzován vliv substitucí v protease na vývoj rezistence vůči maturačnímu inhibitoru bevirimatu. Podle našich poznatků viry s mutovanou proteasou vykazují rozmanitější rezistenční profil k bevirimatu než viry s divokým typem proteasy. Toto pozorování může být vysvětleno různou účinností štěpení Gag substrátu různými proteasami.

Konečně, důležitou roli v mnoha biologických procesech hraje regulace enzymové aktivity malými alkalickými kationty. Jejich specifický účinek na aktivitu HIV proteasy byl studován kombinací experimentálních a výpočetních metod. Naše simulace molekulární dynamiky potvrzují, že afinita alkalických kationtů k povrchu HIV proteasy sleduje Hofmeisterovu řadu, především díky interakcím s karboxylovými skupinami aspartátů a glutamátů. V souladu s tímto pozorováním naše experimentální výsledky ukazují, že počáteční rychlost hydrolýzy peptidového substrátu v přítomnosti různých alkalických kationtů v principu sleduje Hofmeisterovu řadu, s výjimkou cesia. Vyšší katalytická účinnost (k_{cat}/K_M) v přítomnosti K^+ iontů ve srovnání s ostatními alkalickými kationty byla zjištěna v odpovídajících koncentracích solí. Překvapivě byla také pozorována vyšší rychlost štěpení specifického substrátu ve velmi malých koncentracích solí.