

ABSTRACT IN CZECH

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Školitelé: prof. Dr. Michael Gütschow

RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Kandidát: Michaela Hympánová

Název diplomové práce: Hodnocení enzymové kinetiky několika potenciálních inhibitorů lidských proteáz cysteinového a serinového typu

Úvod

Enzymy řadící se mezi cysteinové a serinové proteázy jsou součástí mnoha fyziologických procesů. Nerovnováha mezi enzymy a jejich endogenními inhibitory patří mezi faktory účastnící se rozvoje řady chorob, například nádorových onemocnění nebo osteoporózy. Syntetické inaktivátory by proto mohly být užitečné v léčbě těchto patologických stavů. Některé látky jsou již ve vývoji a dohledatelné v literatuře. Náplní této diplomové práce je hodnocení inhibičního potenciálu látek syntetizovaných skupinou prof. Gütschowa proti vybraným lidským proteázám. Testované látky patří mezi imidazolové sloučeniny pocházející z *N*-chráněného cyclohexylalaninu, sloučeniny získané substitucí 2-phenyl-7,8-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-6(5*H*)-onu, α,β -nenasycené peptidomimetické sloučeniny, karbamáty, deriváty *N,N*-dibenzyl-krotonamidu a peptoidy.

Cíle

Cílem této diplomové práce bylo zhodnotit nové potenciální inhibitory pomocí testování na katepsinech B, L, S a K, které jsou zástupci cysteinových proteáz a na lidské leukocytární elastáze a trombinu, jakožto zástupcích serinových proteáz. Dalším cílem bylo najít vztahy mezi strukturou látek a potenciálním účinkem.

Metodika

Součástí experimentální části byly metody vedoucí k měření a hodnocení enzymové inhibice. V průběhu experimentu bylo třeba modifikovat metodu měření enzymové aktivity lidské leukocytární elastázy a zároveň stanovit novou Michaelisovu konstantu (K_M) při změněných podmínkách. Na základě získaných dat byly testované látky hodnoceny pomocí lineární a nelineární analýzy a byly vypočteny parametry inhibice.

Výsledky

Většina imidazolových derivátů se prokázala jako reverzibilní inhibitory lidské leukocytární elastázy. Nejsilnější inhibiční účinek z této skupiny měla sloučenina **3161** ($IC_{50}/(1 + [S]/K_M) = 0.60 \pm 0.03 \mu M$) obsahující imidazol substituovaný fenylem a methylem. Karbamát **3167** ($k_{inac}/K_i = 12.44 \mu M^{-1}s^{-1}$) lze po provedené analýze považovat za ireverzibilní inhibitor katepsinu B. Derivát *N,N*-dibenzylkrotonamidu, látka **3110** ($k_{inac}/K_i = 2292.8 \pm 240.74 \mu M^{-1}s^{-1}$) obsahující ve své struktuře α,β -nenasycený Michaelův akceptor, může být považována za ireverzibilní inhibitor katepsinu K. Všechny ostatní testované látky neprokázaly inhibiční potenciál.

Závěr

Závěrem můžeme říct, že mezi testovanými látkami byly nalezeny inhibitory některých cílových enzymů. Látky ze skupiny imidazolových derivátů prokázaly reverzibilní inhibiční potenciál proti lidské leukocytární elastáze. Karbamát **3167** poukázal, že sloučeniny tohoto typu by mohly být cestou ve vývoji inhibitorů katepsinu B. Derivát *N,N*-dibenzylkrotonamidu **3110** potvrdil potenciál Michaelova akceptoru jako struktury vhodné u ireverzibilních inhibitorů katepsinu K. Další látky analogické k výše testovaným by měly být syntetizovány a podrobeny enzymatickým testům.

Klíčová slova: katepsiny, cysteinové proteázy, serinové proteázy, enzymová kinetika, enzymová inhibice