

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Lucie Havlíčková

Školitel: Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.

Název diplomové práce: Vliv zanubrutinibu na rezistenci nádorových buněk k daunorubicinu způsobenou karbonyl redukujícími enzymy.

Antracyklinová antibiotika (ANT) patří mezi léčiva první volby používaná na onkologická onemocnění, včetně akutní myeloidní leukémie. V chemoterapeutické léčbě se především využívá daunorubicin (DAUN) s karbonylovou skupinou v poloze 13. Působením nikotinamidadenin dinukleotid-fosfát dependentních karbonyl redukujících enzymů (CRE) vzniká jeho hydroxylový metabolit. Daunorubicinol (DAUN-ol) vykazuje vyšší toxicitu na srdeční tkáň a nižší cytotoxicitu na rakovinotvorné buňky, které získávají odolnost k jeho účinkům. Nadměrná exprese enzymů, které katalyzují přeměnu antineoplasticky účinného DAUN, způsobuje postupný rozvoj rezistence na podané ANT. Z toho důvodu se hledají nové farmakoterapeutické možnosti, jak tomuto procesu zabránit, aby se podané léčivo udrželo v cílové buňce po co nejdéle. Jedním způsobem je použití inhibitorů, které snižují enzymatickou aktivitu CRE a tím zabraňují nežádoucímu metabolismu DAUN na kardiotoxický a neúčinný DAUN-ol. Cílem diplomové práce bylo studium inhibice zanubrutinibu (ZANIB) na aktivitu enzymů z nadrodiny aldo-keto reductáz (AKR) a dehydrogenáz/reduktáz s krátkým řetězcem (SDR). Vybrané enzymy byly inkubovány se substrátem DAUN a inhibitorem ZANIB. Za využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) bylo změřeno množství vznikajícího produktu DAUN-ol, které bylo přepočteno na specifickou aktivitu enzymu. Z testovaných CRE byl nejvíce inhibován enzym AKR1C3 s mírou inhibice 79,1 % (ZANIB 10 μM) a 88,5 % (ZANIB 50 μM), který byl použitý v dalších částech experimentální práce. Byla stanovena hodnota $\text{IC}_{50} = 4,90 \pm 2,06 \mu\text{M}$ a hodnota $\text{K}_i = 4,56 \pm 0,35 \mu\text{M}$. Následně byl určen typ inhibice a typ vazby na enzym. Podle naměřených výsledků je ZANIB nekompetitivní inhibitor, který se váže k AKR1C3 reversibilně. Z provedené studie vyplývá, že by použití ZANIB mohlo snížit nežádoucí účinky a zvýšit terapeutickou účinnost současně podávaných ANT v onkologické terapii.