

## Abstrakt

Hlavním cílem této práce je příprava inhibitorů jako nástroje pro studium a potenciální zásah do procesů regulovaných proteasami. V této práci jsem se zaměřil na dvě významné proteasy: HIV proteasu (HIV PR), která hraje nepostradatelnou roli během dozrávání virových částic, a glutamátcarboxypeptidasu II (GCPII), důležitý marker rakoviny nádorů prostaty.

Racionální návrh inhibitorů medicínsky významných enzymů slouží hned dvěma účelům: za prvé, jak se ukázalo, jsou inhibitory účinnými virostatiky (HIV proteasa je pravděpodobně vůbec nejlepším příkladem úspěšného vývoje léčiv pomocí racionálního návrhu) a za druhé, - v kontextu této disertační práce pravděpodobně i důležitěji – inhibitory mohou sloužit též jako nástroje pro rozšíření základních biologických otázek týkajících se regulace, načasování a časoprostorové kontroly takových zásadních procesů, jako je maturace virových částic či vznik rakovinových buněk.

### *Proteasa viru lidské imunitní nedostatečnosti*

Virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) způsobující AIDS zabil v průběhu posledních čtyř desetiletí více než 40 milionů lidí, z čehož 1,5 milionu zemřelo jen v minulém roce. Nakažených pacientů je v současné chvíli více než 35 milionů a toto číslo se stále zvyšuje, zejména v méně rozvinutých zemích sub-saharské Afriky.

Především kvůli velké úmrtnosti pacientů nakažených tímto virem se během 90-tých let minulého století vědci z farmaceutických firem a z akademického prostředí postavili této hrozbě. Jejich společné úsilí vedlo ke schválení více než 30 virostatik proti této chorobě a byl vyvinut koncept tzv. „velmi aktivní antiretrovirová terapie“ (HAART), která podstatně zvyšuje kvalitu života pacientů a jejich přežití.

Jeden z hlavních cílů terapie je virový enzym HIV proteasa (HIV PR). Tato malá, homodimerická, aspartátová proteasa se stala jedním z nejvíce prostudovaných enzymů na Zemi. HIV PR hraje klíčovou roli v životním cyklu viru, kde štěpí polyproteinové řetězce na jednotlivé funkční jednotky. Její inhibice vede k zabránění tomuto procesu a tudíž i k zabránění zrání virionů, které jsou poté neinfekční.

I přesto, že o funkci a struktuře HIV PR víme více než o jakémkoliv jiném enzymu, její přesná biologická role během maturace není zcela prozkoumána. Naše znalosti napovídají, že štěpení polyproteinových řetězců musí být přísně regulováno, a to jak časově tak i prostorově, ale zatím nebylo zjištěno, jak takovou regulaci zajistit. Jelikož neznáme přesný způsob

regulace HIV PR a jelikož se stále objevují nové resistance tohoto enzymu vůči komerčním inhibitorům, zůstává tento protein i nadále velmi zajímavým tématem ke studiu i 25 let po jeho odhalení.

### *Glutamátcarboxypeptidasa II*

Na rozdíl od onemocnění AIDS je rakovina prostaty problémem spíše ve vyspělých zemích světa, kde zabije během jednoho roku více než 300 000 pacientů a je tak druhou nejčastější příčinou smrti u mužů v důsledku rakovinového onemocnění. Nejběžnější formou léčby rakoviny prostaty je resekce v kombinaci s chemoterapií. Systémová chemoterapie je ale velice nespecifická, poškozují všechny dělicí se buňky, a má proto řadu nežádoucích vedlejších účinků. Vedlejší účinky by mohly být překonány, pokud by se podařilo najít látku, která by byla selektivně zacílena do nekontrolovaně se dělících buněk, o což se vědci snaží již přes 20 let. Hlavním problémem tohoto cílení je najít rozdíl mezi buňkami zdravými a nekontrolovatelně se množícími.

Glutamátcarboxypeptidasa II by mohl být jedním z takovýchto cílů zásahu, protože její exprese je silně zvýšena u buněk nádoru prostaty a také v neovaskulatuře pevných nádorů. GCPII je zároveň také transmembránovým proteinem, jenž po navázání ligandu internalizuje, což je vlastnost, která může být dále využita při léčbě rakoviny. Malé molekuly cílené na GCPII, ale také monoklonální protilátky byly v průběhu let testovány a některé jsou již používány v klinické praxi. Možností ke zlepšení těchto látek je ovšem nepřeberně a nové inhibitory, které se budou vázat do aktivního místa silněji, jsou stále potřeba.