

UNIVERZITA PARDUBICE

Fakulta chemicko-technologická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Alexandra Lhotská

UNIVERZITA PARDUBICE
Fakulta chemicko-technologická

INHIBITORY ENZYMŮ JAKO LÉČIVA

Alexandra Lhotská

Bakalářská práce
2022

THE UNIVERSITY OF PARDUBICE

Faculty of Chemical Technology

INHIBITORS OF ENZYMES AS DRUGS

Alexandra Lhotská

Bachelor thesis

2022

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Alexandra Lhotská**
Osobní číslo: **C19258**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Inhibitory enzymů jako léčiva**
Téma práce anglicky: **Inhibitors Of Enzymes As Drugs**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši o možnostech využití enzymů jako léčiv.
2. Popsat mechanismus působení enzymů a jejich klasifikaci.
3. Rozdělit inhibitory podle mechanismu jejich působení.
4. Uvést přehled inhibitorů používaných jako léčiva.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlášení

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1.7.2022

Alexandra Lhotská

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové Ph.D. za pomoc, cenné rady a věnovaný čas při zpracování práce. Dále chci poděkovat rodině za podporu během celé doby studia.

V Pardubicích dne 1.7.2022

Alexandra Lhotská

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá inhibitory enzymů jako léčiv. V první části je popsána obecná charakteristika enzymů a jejich nomenklaturické rozdělení dle EC čísel. Druhá část se zabývá několika terapeutickými enzymy, které jsou využívány k léčbě onemocnění. Poslední část je věnována inhibitorům enzymů, které mají terapeutický efekt.

KLÍČOVÁ SLOVA

Enzymy, inhibitory, léčiva, inhibitory enzymů, terapeutické enzymy

TITLE

Inhibitors of enzymes as drugs

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with enzyme inhibitors as drugs. In the first part, the general characteristics of enzymes and their nomenclatural division according to EC numbers are described. The second part deals with several therapeutic enzymes that are used to treat diseases. The last part is devoted to enzyme inhibitors that have a therapeutic effect.

KEYWORDS

Enzymes, inhibitors, drugs, enzyme inhibitors, therapeutic enzymes

OBSAH

| | |
|-------------------------------------|----|
| SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK | 11 |
| SEZNAM ILUSTRACÍ | 13 |
| ÚVOD | 14 |
| 1 Enzymy | 15 |
| 1.1 Struktura..... | 15 |
| 1.2 Enzymová specifita..... | 16 |
| 1.3 Aktivní místo | 17 |
| 1.4 Mechanismus působení..... | 17 |
| 2 Klasifikace enzymů..... | 19 |
| 2.1 EC 1 Oxidoreduktasy..... | 19 |
| 2.1.1 Kofaktory oxidoreduktas | 19 |
| 2.2 EC 2 Transferasy | 19 |
| 2.2.1 Kofaktory transferas | 20 |
| 2.3 EC 3 Hydrolasy..... | 20 |
| 2.4 EC 4 Lyasy..... | 20 |
| 2.5 EC 5 Isomerasy | 21 |
| 2.6 EC 6 Ligasy | 21 |
| 2.7 EC 7 Translokasy..... | 21 |
| 3 Enzymová kinetika | 23 |
| 3.1 Aktivační energie..... | 24 |
| 3.2 Inhibice | 24 |
| 4 Enzymy jako léčiva..... | 26 |
| 4.1 Terapeutické enzymy..... | 27 |
| 4.1.1 Kolagenasa..... | 27 |
| 4.1.2 1-asparaginasa..... | 27 |
| 4.1.3 Streptokinasa..... | 28 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4.1.4 | Urikasa | 28 |
| 4.1.5 | Serratiopeptidasa..... | 28 |
| 4.1.6 | Superoxiddismutasa | 28 |
| 4.1.7 | Aktivátor tkáňového plazminogenu..... | 29 |
| 4.1.8 | Arginindeiminasa..... | 29 |
| 4.1.9 | Chondroitinasy a hyalurodinasy | 29 |
| 4.1.10 | Lysozym a chitinasy | 30 |
| 4.1.11 | Fenylalaninhydroxylasa | 30 |
| 4.1.12 | Sakrosidasa | 30 |
| 4.1.13 | Prolylendopeptidasa..... | 30 |
| 4.1.14 | β -galaktosidasa..... | 31 |
| 4.1.15 | Fibrinolyzin..... | 31 |
| 4.1.16 | Trypsin | 31 |
| 4.1.17 | Serrapeptasa | 31 |
| 5 | Inhibitory enzymů s terapeutickým účinkem..... | 32 |
| 5.1 | Inhibitory cyklooxygenas | 32 |
| 5.2 | Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu..... | 32 |
| 5.3 | Inhibitory HMG-CoA reductasy | 33 |
| 5.4 | Inhibitory aromatasy | 33 |
| 5.5 | Inhibitory 14 α -demetylasy | 34 |
| 5.6 | Fosfomicin | 34 |
| 5.7 | Inhibitory anhydrasy kyseliny uhličitě | 34 |
| 5.8 | Inhibitory topoisomeras | 35 |
| 5.9 | Inhibitory cyklooxygenasy | 35 |
| 5.10 | Inhibitory arginasy | 35 |
| 5.11 | Inhibitory kinasy AKT | 35 |
| 5.12 | Inhibitory Janusových kinas | 36 |

| | | |
|------|--|----|
| 5.13 | Inhibitory reninu | 36 |
| 5.14 | Inhibitory 5 α -reduktasy | 37 |
| 5.15 | Inhibitory tyrosinkinas | 38 |
| 5.16 | Inhibitory cyklin-dependentních kinas | 38 |
| 5.17 | Inhibitory γ -sekretasy | 39 |
| 5.18 | Inhibitory dipeptidyl peptidas IV | 39 |
| 5.19 | Inhibitory cholinesteras | 39 |
| 5.20 | Inhibitory monoaminoxidasy | 40 |
| 5.21 | Inhibitory fosfodiesterasy | 41 |
| 5.22 | Inhibitory poly(ADP-ribóza)polymeras | 41 |
| 5.23 | Inhibitory α -glukosidas | 42 |
| 5.24 | Inhibitory proprotein konvertasy subtilizin/kexin typu 9 | 42 |
| 5.25 | Inhibitory hexokinasy | 43 |
| 5.26 | Inhibitory fosfofruktokinasy | 43 |
| 5.27 | Inhibitory pyruvátkinas | 44 |
| 5.28 | inhibitory kinasy B – RAF | 44 |
| | ZÁVĚR | 45 |
| | Reference | 46 |

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

| | |
|-----------|---|
| A β | beta-amyloid |
| ACE | angiotenzin konvertující enzym (Angiotensin-Converting Enzyme) |
| AD | Alzheimerova choroba (Alzheimer's Disease) |
| ADI | arginindeiminasa |
| AMK | aminokyseliny |
| ASL | argininosukcinatlyasa (ArgininoSuccinate Lyase) |
| ASS | argininosukcinatsyntasa (ArgininoSuccinate Synthase) |
| ATP | adenosintrifosfát (Adenosine TriPhosphate) |
| CDK | cyklin dependentní kinasy |
| CML | chronická myeloidní leukémie |
| DHT | dihydrotestosteron |
| ERT | enzymová substituční terapie (Enzyme Replacement Therapy) |
| HKII | hexokinasa typu II |
| HMG-CoA | 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA |
| IChE | inhibitory cholinesteras |
| JAK | Janusovy kinasy |
| LDL-c | denzitní lipoprotein cholesterolu |
| LSD | lyzozomální skladovací onemocnění (Lysosomal Storage Diseases) |
| MAO | monoaminoxidasa |
| MurA | UDP- <i>N</i> -acetylglukosamin enolpyruvyl transferasa |
| PAL | fenylalanin amoniakální lyasa (Phenylalanine Ammonia Lyase) |
| PARP | poly(ADP-ribóza)polymerasa |
| PCSK9 | proprotein konvertasa subtilizin/kexin typu 9 |
| PD | Parkinsonova choroba (Parkinson's disease) |
| PFK | fosfofruktokinasa (Phosphofructokinase) |
| RA | revmatoidní artritida |
| SOD | superoxiddismutasa |
| STAT | signal transducer and activator of transcription (přenašeč signálu a aktivátor transkripce) |
| TKI | inhibitory tyrosinkinasy |
| tPA | aktivátor tkáňového plazminogenu |
| 3-BrPA | kyselina 3-brompyrohroznová |

5 α -RD

5 α -reduktasy

SEZNAM ILUSTRACÍ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 – Schéma teorie zámku a klíče | 18 |
| Obrázek 2 – Schéma oxidoreduktas | 19 |
| Obrázek 3 – Schéma transferas | 20 |
| Obrázek 4 – Schéma hydrolas | 20 |
| Obrázek 5 – Schéma lyas | 21 |
| Obrázek 6 – Schéma isomeras | 21 |
| Obrázek 7 – Schéma ligas | 21 |
| Obrázek 8 – Schéma jednosubstrátové reakce | 23 |
| Obrázek 9 – Schéma saturační křivky | 24 |
| Obrázek 10 – Aryly léčiv | 32 |
| Obrázek 11 – Chemické složení léčiv | 33 |
| Obrázek 12 – Stučkový model reninu s navázaným aliskirenem | 37 |

ÚVOD

K zajištění přísunu energie, stavebních materiálů a následně jejich využití pro fungování organismu byly vytvořeny složité sítě chemických dějů. Na řízení a koordinaci těchto složitých chemických reakcí a s nimi spojených energetických změn se podílí velká řada biokatalyzátorů. Nejpočetnější a nejdůležitější skupinou jsou bílkovinné makromolekuly obdařené katalytickými funkcemi, a to enzymy. Enzymy se nachází ve všech živých systémech. Předpokládá se, že i ty nejjednodušší buňky obsahují přes 3000 enzymů, které zde ovlivňují rychlost všech reakcí v nich probíhajících. Jejich počet se díky druhové specifitě odhaduje na miliardy.

Terapeutické enzymy se využívají ve společnosti jako volně dostupné doplňky stravy, příkladem můžou být amylasa, lipasa a pepsin, které zlepšují trávení. Dalším využitím terapeutických enzymů je při léčbě různých onemocnění. Léčba pomocí těchto enzymů se stala součástí mnoha výzkumů a klinických studií. Léčbu pomocí enzymů mohou využívat lidé s menšími problémy jako je nesnášenlivost lepku, tak i lidé s kardiovaskulárními onemocněními ohrožující bezprostředně život pacienta.

Inhibitory enzymů se hojně využívají k léčbě karcinomů, kde jsou schopny rakovinné bujení zastavit nebo zmírnit průběh nemoci a prodloužit život pacienta. Dalším využitím je léčba demence, kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění, zánětů, diabetu a dalších. Enzymy jsou a budou i nadále jedním z primárních cílů léčby, protože změna jejich aktivity má bezprostřední a zřetelně definované účinky.

1 Enzymy

Enzymy jsou specifické organické molekuly umožňující průběh reakcí i při nízkých teplotách, neutrálním pH a atmosférickém tlaku, které se v organismech běžně nacházejí. Většina enzymů jsou proteiny. Výjimku tvoří některé druhy RNA molekul – tzv. ribozymy. (Fontana, a další, 2018)

Enzymy, stejně jako syntetické katalyzátory, které jsou v chemii využívány, urychlují reakce bez toho, že by ovlivnily složení rovnovážné směsi, neboť zvyšují rychlost reakce oběma směry. Směr průběhu reakce není dán katalyzátorem, ale energetickými a koncentračními poměry v reagujícím systému. (Vodrážka, 1992; Mikkelsen, a další, 2004)

Díky komplexnímu charakteru metabolismu jsou na kvalitu katalyzátorů kladeny velké nároky, protože reakce, které jsou jimi řízeny, probíhají dle přesného plánu. Enzymy musí zajišťovat specifický průběh těchto reakcí bez toho, aby vznikaly vedlejší produkty. Aktivita enzymů pak musí být regulovatelná podle potřeb organismu. Přírodní enzymy jsou dokonalejší než ty syntetické a předčí je v mnoha ohledech:

1. jsou účinnější – to znamená, že jediná molekula enzymu je schopná za 1 sekundu přeměnit až 5×10^4 molekul substrátu,
2. vykazují specifitu – dle typu katalyzované reakce (reakční nebo účinková specifita), a dle struktury přeměňovaných substrátů (substrátová specifita).
3. pracují za mírných podmínek odpovídající 20–40 °C, tlaku 0,1 MPa a pH cca 7,
4. jejich účinek lze regulovat na několika úrovních,
5. jsou netoxické. (Vodrážka, 1992)

I tyto výhody mají svá úskalí. Struktura enzymů je složitá, a proto jsou citlivé k řadě vlivům. Enzymy se poměrně rychle opotřebovávají. Proto a také podle potřeby regulace jsou neustále odbourávány a znovu syntetizovány. (Vodrážka, 1992)

1.1 Struktura

Enzymy svou strukturou odpovídají jednoduché nebo složené bílkovině, nicméně existují výjimky v podobě molekul RNA, které tvoří tzv. ribozymy. (Roehm, a další, 2005)

Vedle bílkovinné složky mohou enzymy obsahovat také nebílkovinnou nízkomolekulární součást tzv. kofaktor. Funkce kofaktorů spočívá v tom, že přenášejí atomy, skupiny atomů nebo elektrony při jednotlivých biochemických reakcích, které enzymy katalyzují. Pokud je kofaktor pevně vázán na bílkovinnou část, můžeme jej nazývat prosthetickou skupinou. Jindy je kofaktor vázán s bílkovinnou složkou (obvykle nazvanou

apoenzym) slabě a může se od ní lehce oddělovat. Tento kofaktor se pak nazývá koenzym. (Vodrážka, 1992)

Součástí kofaktorů jsou většinou struktury, které mají povahu organických molekul a obsahují heterocykly. Mnohé z kofaktorů mají vztah k vitamínům rozpustným ve vodě a obsahují jako důležitou složku zbytek kyseliny fosforečné, který bývá vázán v nukleotidu. Díky vzniku fosforečného esteru dochází ke zvýšení obsahu energie molekuly kofaktoru. Pokud je také součástí enzymu ion kovu, označujeme tento enzym jako metaloenzym. Nejčastější ionty, které se vyskytují, jsou Mg^{2+} (fosfatasa), Zn^{2+} (alkoholdehydrogenasa), Na^+ (ATPasa) a K^+ (pyruvátkinasa). Ionty mohou působit jako stabilizující prvek, dále mohou být součástí aktivního centra a také mohou sloužit pro vazbu substrátu. Jednotlivé kofaktory se primárně dělí dle jejich funkce a typu reakce, jejíž katalýzy se účastní, to je podle jednotlivých tříd enzymů. (Kodíček, a další, 2015)

1.2 Enzymová specifita

Enzymy mají v první řadě tzv. účinkovou neboli reakční specifitu, která odpovídá konkrétnímu typu katalyzované reakce. To znamená, že jeden substrát může být přeměňován pomocí několika enzymů s různou specifitou účinku na různé produkty. Kromě reakční specifity existuje i specifita substrátová, která je zajišťována na třech úrovních. Nejprve musí dojít k rozeznání struktury jednotlivých substrátů. Tato úroveň specifity se nazývá strukturní specifita, která se dále dělí. (Vodrážka, 1992)

U absolutní specifity dochází k reakci pouze jednoho určitého substrátu, ale ne jeho derivátů. Příkladem může být enzym ureasa, která katalyzuje přeměnu močoviny na oxid uhličitý a amoniak. (Fontana, a další, 2018)

Častější formou je skupinová specifita, kdy enzym katalyzuje reakce několika podobných substrátů. Většinou tyto substráty obsahují stejné funkční skupiny. Avšak afinita se k jednotlivým substrátům může lišit. Příkladem může být karboxypeptidasa B, která hydrolyzuje karboxylové konce peptidů, přičemž preferenčně štěpí peptidy obsahující arginin nebo lysin. (Fontana, a další, 2018)

Nejméně specifické jsou enzymy, jejichž skupinová specifita je relativní. K tomu dochází tehdy, když enzym katalyzuje přednostně reakci jedné skupiny substrátů, a zároveň je také schopen v menší míře působit na jiné skupiny. (Vodrážka, 1992)

Kromě strukturní specifity musí být zajištěno to, aby reakce proběhla ve specifické oblasti substrátu. Hovoří se potom o tzv. regiospecifitě. Dále musí být dodržen stereospecifický průběh. Tato třetí úroveň se nazývá stereospecifita (Vodrážka, 1992; Hui, 2006)

Pojem stereospecifita lze charakterizovat tak, že enzym je vybudován z chirálních monomerních jednotek, a tím pádem je chirální jako celek a je schopen rozpoznat jeden z enantiomerů v racemické směsi a pouze ten přeměnit. (Kodíček, 2007)

1.3 Aktivní místo

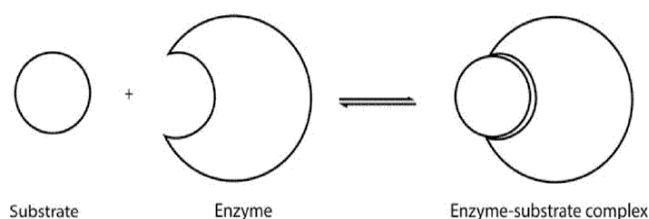
Aktivní centrum je prostorově vymezená oblast enzymu, obsahující přesně rozmístěné funkční skupiny. Tyto skupiny jsou součástí postranních řetězců aminokyselinových zbytků, které se nacházejí v polypeptidových řetězcích na různých a od sebe vzdálených místech. Následným svinutím řetězce se dostávají do bezprostřední blízkosti. Na skladbě aktivních center se účastí několik skupin. Jsou to katalyticky aktivní skupiny tvořící katalytické centrum, dále skupiny, jejichž úkolem je vázat substrát (skupiny tvořící vazebné centrum) a řada skupin vytvářejících vhodné chemické prostředí a vhodnou prostorovou strukturu aktivního centra. (Vodrážka, 1992; Hui, 2006)

Kromě aktivního centra se nachází v molekulách enzymů další oblasti, které jsou důležité pro správnou funkci. Jsou to místa, na která se vážou různé látky mající schopnost modifikovat katalytickou funkci enzymů. Příkladem mohou být ionty kovů, které se mohou podílet na stabilizaci struktury nebo na její změně za účelem zvýšení aktivity enzymu. Tato vazebná místa bývají označována jako stabilizační neboli aktivační místa. (Vodrážka, 1992)

Dále aktivitu enzymů nacházejících se na důležitých místech metabolických drah ovlivňují tzv. allosterické efekторы, což jsou látky se schopností vyvolat jemné konformační změny, které následně mění aktivitu enzymu. Tato místa jsou označována jako allosterická centra. (Vodrážka, 1992; Roehm, a další, 2005)

1.4 Mechanismus působení

Představu o mechanismu působení lze vysvětlit pomocí teorie zámku a klíče, kdy substrát zapadá přímo do aktivního místa enzymu jako klíč do zámku. Toto schéma můžeme vidět na obrázku 1. V dnešní době je již známo, že se nejedná pouze o geometrickou komplementaritu, ale že je nutné také perfektní sladění vazebných podmínek. Do kontaktu spolu musí přijít donory a akceptory vodíkových můstků, negativně a pozitivně nabitě skupiny, které umožňují elektrostatické interakce, nebo nepolární povrchy zprostředkovávající hydrofobní interakce a spousta dalších. (Kodíček, a další, 2015)



Obrázek 1 – Schéma teorie zámku a klíče
(Hames, a další, 2011)

Tato teorie vystihuje neochotu enzymů přeměňovat substrát, který do aktivního místa přesně nezapadá. Z tohoto důvodu se začala využívat teorie indukovaného přizpůsobení, která vychází z představy, že substrát během vazby přizpůsobuje svoji prostorovou strukturu aktivnímu místu. Následně vazbou substrátu se dotváří prostorová struktura aktivního místa a může dojít k reakci. (Kodíček, a další, 2015)

Předchozí teorie slouží především pro vysvětlení jednosubstrátových reakcí. Těchto reakcí však není mnoho, většina enzymových reakcí je dvousubstrátová popřípadě vícesubstrátová. Z hlediska mechanismu rozdělujeme dva základní modely těchto reakcí. (Liu, 2020)

Podle pingpongového modelu dochází k reakci mezi látkou A a enzymem E tak, že vznikne modifikovaná forma enzymu E* a zároveň dojde k oddělení prvního produktu. Poté E* reaguje s látkou B a vzniká druhý produkt za současné modifikaci enzymu na původní formu. Tento mechanismus předpokládá časové oddělení dvou reakcí s přeměnou enzymu mezi dvěma formami. Enzymy působící podle sekvenčního modelu mají v daném okamžiku na sebe navázány oba substráty v aktivním místě. K výměně elektronů, atomů a podobně dochází mezi oběma molekulami substrátu (Kodíček, a další, 2015)

2 Klasifikace enzymů

Klasifikace enzymů je založena na nomenklaturickém rozdělení dle EC čísel (Enzyme Commission number) do 7 hlavních kategorií dle popisu reakcí, které katalyzují. Každému enzymu je přiřazen čtyřmístný kód. První číslo označuje příslušnost k jedné ze sedmi hlavních tříd, druhé označuje podtřídu, třetí číslo zahrnuje skupinu a poslední číslice označuje, kam enzym v dané skupině patří. (Roehm, a další, 2005; Hardin, a další, 2013)

2.1 EC 1 Oxidoreduktasy

Oxidoreduktasy jsou nejpočetnější třídou a svou chemickou povahou jsou to složené bílkoviny katalyzující intermolekulární oxidačně redukční přeměny. Schéma vystihující reakce katalyzované oxidoreduktasami je uvedeno na obrázku 2. V rámci této třídy rozlišujeme několik podtříd podle toho, jak tyto přeměny uskutečňují. Dehydrogenasy a transhydrogenasy přenášejí vodíkové atomy mezi substráty. Oxidasy přenášejí elektrony na molekulový kyslík, zatímco oxygenasy využívají kyslík jako oxidační činidlo. (Kodíček, a další, 2015; Ledvina, a další, 2004)



Obrázek 2 – Schéma oxidoreduktas

(Štosová, 2013)

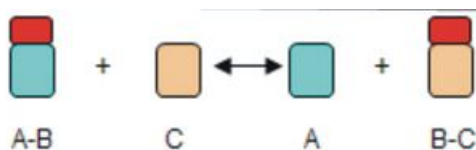
2.1.1 Kofaktory oxidoreduktas

Mezi kofaktory oxidoreduktas patří zejména pyridinové (di)nukleotidy, jejichž molekula obsahuje nikotinamidový a adeninový nukleosid propojené pomocí kyseliny difosforečné a také deriváty vitamínu skupiny B. Jsou využívány jako transportéry vodíkových iontů. Flavinové nukleotidy jsou využívány k redoxním reakcím s přenosem vodíkových, popřípadě i kyslíkových atomů. Dalšími kofaktory jsou biopterin, α -lipoát a hem, který je součástí molekul oxidoreduktas přenášejících elektrony (Wiley, a další, 1999)

2.2 EC 2 Transferasy

Transferasy jsou třída enzymů povahy složených bílkovin účastníci se biosyntetických dějů. Katalyzují přenos skupin v aktivované formě z jejich donoru na akceptor. Schéma vystihující katalytické reakce transferas je uvedeno na obrázku 3. Na jednotlivé podtřídy se rozdělují podle typu přenášených skupin. Příkladem mohou být aminotransferasy přenášející

aminoskupinu z aminokyseliny na oxokyselinu, kinasy, které přenáší fosfátovou skupinu, a methyltransferasy přenášející methylovou skupinu. (Vodrážka, 1992; Kodíček, a další, 2015)



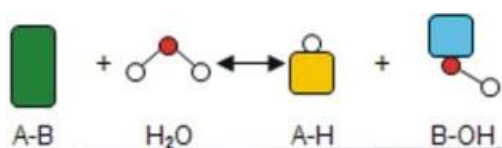
Obrázek 3 – Schéma transferas
(Štosová, 2013)

2.2.1 Kofaktory transferas

Adenosintrifosfát (ATP) je kofaktorem tranferas označovaných triviálním názvem kinasy. Nejčastěji dochází k přenosu PO_3^{2-} na hydroxylové skupiny alkoholů, na acyly nebo na skupiny guanidinové. Aktivní sulfát realizuje přenos zbytku kyseliny sírové na fenoly nebo alkoholy za vzniku jejich esterů. Dalšími kofaktory jsou kofaktory přenášející jedno nebo dvou uhlíkaté štěpy (např. koenzym A). (Vodrážka, 1992; Wiley, a další, 1999)

2.3 EC 3 Hydrolasy

Hydrolasy katalyzují hydrolytické štěpení vazeb, které vznikly kondenzací jednotlivých molekul za odštěpení vody. Schéma vystihující katalytické reakce tranferas je uvedeno na obrázku 4. Tuto skupinu enzymů můžeme na podtřídy dělit podle typu štěpených vazeb. Například peptidasy a proteasy štěpí peptidové vazby v molekulách bílkovin, glykosidasy štěpí vazby glykosidové. Svou strukturou odpovídají hydrolasy ve většině případů jednoduchým bílkovinám. (Hardin, a další, 2013; Klouda, 2005)

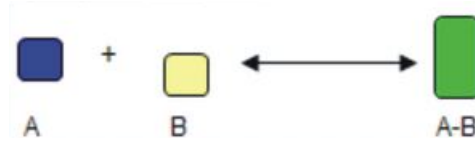


Obrázek 4 – Schéma hydrolas
(Štosová, 2013)

2.4 EC 4 Lyasy

Lyasy neboli syntasy katalyzují štěpení, popřípadě vznik vazeb bez dodání energie. Dochází k tomu tak, že do substrátu buď vnášejí anebo z něj odštěpují malé molekuly bez pomoci dalších reaktantů. Malými molekulami jsou H_2O , NH_3 , CO_2 a další, které jsou buď odštěpovány za vzniku dvojně vazby nebo naopak adovány na dvojnou vazbu. Schéma vystihující katalytické reakce tranferas je uvedeno na obrázku 5. Na podtřídy se rozdělují podle

typu štěpených (př. dekarboxylyasy) nebo syntetizovaných (př. karboxylyasy) vazeb. (Kodíček, a další, 2015; Klouda, 2005)



Obrázek 5 – Schéma lyas
(Štosová, 2013)

2.5 EC 5 Isomerasy

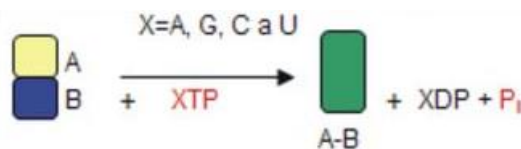
Isomerasy mají většinou povahu jednoduchých bílkovin a do podtříd jsou rozdělovány podle typu isomerie. To znamená, že realizují přesuny atomů nebo skupin uvnitř molekul a dochází k isomeraci. Schéma vystihující katalytické reakce tranferas je uvedeno na obrázku 6. Příkladem mohou být intramolekulární oxidoreduktasy které přeměňují aldosity na ketosy a naopak. (Kodíček, a další, 2015; Vodrážka, 1992)



Obrázek 6 – Schéma isomerasy
(Štosová, 2013)

2.6 EC 6 Ligasy

Ligasy katalyzují vznik energeticky náročných vazeb za štěpení látek, jejichž rozkladem dojde k uvolnění energie, např. ATP. Schéma vystihující katalytické reakce ligasy je uvedeno na obrázku 7. Mají povahu složených bílkovin a dělí se na podtřídy podle typu vytvářených vazeb. Příkladem je pyruvátkarboxylasa, která katalyzuje zabudování molekuly CO₂ do molekuly pyruvátu za vzniku oxalacetátu. (Vodrážka, 1992; Hardin, a další, 2013)



Obrázek 7 – Schéma ligasy
(Štosová, 2013)

2.7 EC 7 Translokasy

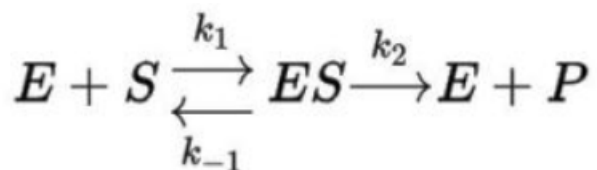
Translokasy jsou enzymy, které katalyzují antiport, popřípadě symport částic přes membránu. Transportovanými částicemi mohou být H⁺, sacharidy, aminokyseliny (AMK) a

další. K nejznámějším patří ATP translokasa zajišťující transport ATP přes membránu mitochondrie a cytosolu. (Kodíček, 2019)

3 Enzymová kinetika

Enzymy stejně jako ostatní katalyzátory urychlují průběh reakce tím, že snižují tzv. aktivační energii. Díky tomu, že reakce probíhají uvnitř aktivního centra, dochází ke snížení této energie. Významný vliv na účinnost enzymu má jeho schopnost vázat reagující substráty ve velmi těsné blízkosti jeden ke druhému a ke katalytickým skupinám aktivního centra neboli efekt přiblížení. K aktivnímu centru je substrát upoután pomocí nekovalentních interakcí na velmi malou vzdálenost a na přesné umístění. V důsledku těsného přiblížení nezbude pro molekulu vody mezi substrátem a centrem žádný prostor. Uvnitř aktivního centra vzniká specifické „mikroprostředí“. Dále během přechodu z vodného prostředí substrát ztrácí hydratační obal a díky tomu je reaktivnější. Při vazbě na centrum se substrát koncentruje a jeho koncentrace může být až $10^5 \times$ větší než v okolí. Rychlost katalýzy je přímo úměrná koncentraci reaktantů, a díky tomuto koncentračnímu efektu je mnohonásobně zvýšena. Při vazbě substrátu v aktivním centru se jak reaktivní oblast, tak katalytické skupiny nastaví optimálně, tak, že jejich vazebné orbitály jsou v přímé interakci a tím se reakce usnadní. Tento efekt se nazývá efekt orientace substrátu (Vodrážka, 1992; Klouda, 2005)

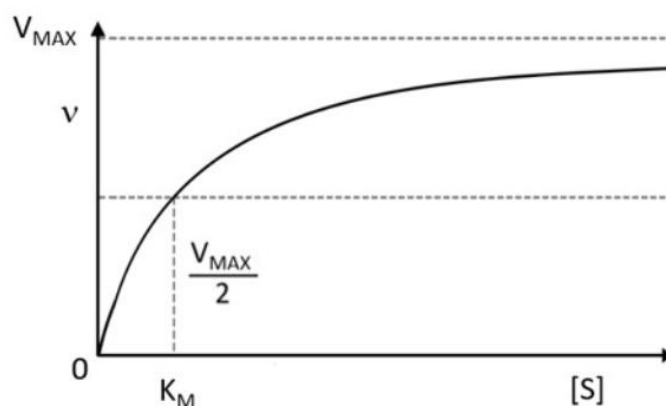
Při nejjednodušších enzymových reakcích se přeměňuje jeden substrát na jeden produkt a jedná se tedy o tzv. jednosubstrátové reakce. Častější jsou reakce dvousubstrátové. Kinetikou enzymových reakcí se zabývali Michaelis a Mentenová a navrhli schéma pro jednosubstrátové reakce, za předpokladu, že během reakce vzniká komplex enzym-substrát, který můžeme vidět na obrázku 8. (Ledvina, a další, 2004)



Obrázek 8 – Schéma jednosubstrátové reakce (Maňasková, 2018)

Na obrázku 9 je znázorněna saturační křivka, která zobrazuje závislost rychlosti (v) reakce na koncentraci substrátu $[S]$. Z této křivky můžeme odečíst Michaelisovu konstantu (K_M), mezní rychlost (V_{MAX}) nebo polovinu mezní rychlosti ($\frac{V_{MAX}}{2}$). Tyto parametry obsahuje rovnice Michaelis a Mentenové, která vypadá následovně:

$$v = \frac{V_{MAX} * [S]}{K_M + [S]}$$



Obrázek 9 – Schéma saturační křivky
(Klouda, 2005)

Michaelisova konstanta charakterizuje vlastnosti enzymu k substrátu, čím je nižší, tím je vyšší afinita a její obvyklé hodnoty odpovídají 10^{-1} až 10^{-6} mol.dm⁻³. (Ledvina, a další, 2004; Kotyza, 2007)

3.1 Aktivační energie

Aktivační energie je využívána pro překonání energetické bariéry, která brání samovolnému přechodu reaktantů na produkty. Aktivační energie je tedy energie, která je do systému dodávána pro překonání energetické bariéry. Jelikož reakce probíhá uvnitř aktivního centra, nelze energii získat z kinetické energie pohybu jako je tomu během reakcí v roztoku. Zdrojem této energie tedy musí být přímo molekula enzymu. Molekuly substrátu, které jsou vázané k enzymu, mohou vyměňovat energii se strukturami, ke kterým přiléhají. Enzym funguje jako reservoár a převodník energie. (Vodrážka, 1992)

3.2 Inhibice

Enzymy mohou být inhibovány pomocí specifických látek, molekul či iontů. Inhibice je definována jako snížení aktivity enzymů způsobené specifickou vazbou inhibitoru na enzym, a to buď přímo do aktivního místa, nebo do místa regulačního. Samotná inhibice se dá dělit dle několika hledisek na kompetitivní, akompetitivní, a nekompetitivní nebo na reverzibilní a ireverzibilní. (Kotyza, 2007; Bisswanger, 2017; Maňasková, 2018)

Kompetitivní inhibitory brání substrátu v navázání na aktivní místo a ovlivňují rychlost reakce tím, že snižují počet molekul enzymu, které vážou substrát. Během akompetitivní inhibice se inhibitor váže na komplex enzym-substrát a zamezuje jeho přeměně na produkt. Při nekompetitivní inhibici dochází k vazbě inhibitoru mimo vazebné místo substrátu. Toto místo se nazývá modulační a díky této vazbě dochází ke změně konformace aktivního místa a tím

dojde k zabránění vazby substrátu na enzym. Tuto inhibici lze zrušit pouze odstraněním inhibitoru z vazby na modulační místo. Při ireverzibilní inhibici je inhibitor na molekulu enzymu připoután pomocí kovalentních nebo jinak pevných vazeb tak, že disociace inhibitoru od enzymu je velmi malá. Naproti tomu se reverzibilní inhibice vyznačuje rovnováhou mezi volným enzymem a inhibitorem a komplexem enzym-inhibitor. Speciálním typem inhibice je tzv. allosterická, kdy enzymy kromě aktivního místa obsahují také místo allosterické, přes které může být enzym ovlivněn pomocí aktivátorů nebo inhibitorů. Vazba na allosterické místo způsobí konformační změnu molekuly enzymu a tato změna následně vede k rozdílné afinitě pro substrát. (Bisswanger, 2017; Kotyza, 2007; Maňasková, 2018)

4 Enzymy jako léčiva

Enzymy se od ostatních typů léčiv liší svou specifíčností, afinitou, vysokou katalytickou účinností a schopností přeměnit více cílových molekul na požadované produkty. Terapie pomocí enzymů jsou stále častější. Terapeutické enzymy lze využívat k léčbě buď samostatně, nebo v kombinaci s jinými terapiemi. Tyto enzymy lze obecně rozdělit do čtyř kategorií, kterými jsou: enzymy podílející se na fibrinolýze, léčbě rakoviny, enzymové substituční terapii a léčbě dalších vzácných i běžných onemocnění. K neúspěšnějším aplikacím enzymů patří odstraňování cytotoxických látek a léčba poruch v krevním oběhu. Enzymy a produkty generované enzymy se pacientům podávají ve velmi malých dávkách a měly by mít vysokou čistotu. Perorální podávání trávicích enzymů vhodně chráněných před denaturací způsobenou žaludeční kyselinou pomáhá k rozvoji normálního trávení. V současné době jsou enzymy snadno dostupné i ve formě doplňků stravy, tablet, kapslí a prášků. Doplňky stravy se mohou skládat z kombinace několika různých enzymů. (Cherry, 2003; Vellard, 2003; Tandon, a další, 2021)

Enzymy hrají významnou roli při účinné a jednoznačné katalýze několika biochemických reakcí v lidském těle. Nedostatek některého enzymu nebo snížení jeho aktivity vede k různým zdravotním potížím. Terapeutické enzymy jsou biokatalyzátory používané k léčbě takových zdravotních stavů a onemocnění. Terapeutické enzymy se používají jako onkolytika, enzymová substituční terapie (ERT) u onemocnění lysozomálního skladování (LSD), antikoagulancia, trombololytika, protizánětlivé látky, fibrinolytika, mukolytika, antimikrobiální látky a pomocné látky při trávení. Proteolytické enzymy se používají při gastrointestinálních poruchách a jako protizánětlivé látky. Enzymy mají potenciál k léčbě mnoha onemocnění, která se znovu objevují po získání rezistence vůči antibiotikům. Enzymy v kombinacích s léčivy mají schopnost vyvolat synergické účinky a působit proti vedlejším účinkům určitých léčiv při léčbě různých onemocnění. (Kaur, a další, 2012; Tandon, a další, 2021; Meletis, a další, 2005)

Zdrojem terapeutických enzymů jsou živočichové, rostliny, bakterie, ale i houby. Mikrobiální enzymy jsou upřednostňovány, protože jejich výroba je levnější a množství enzymů se dá předvídat. Rostlinné a živočišné zdroje obsahují více škodlivých látek než mikrobiální, což zahrnuje především fenolické sloučeniny (z rostlin), endogenní inhibitory enzymů a proteázy. (Sabu, a další, 2000; Babashamsi, a další, 2009)

Trávicí enzymy štěpí potravu a pomáhají jejímu vstřebávání do krve. Dále bývají prospěšné při zmírňování příznaků a obnově životosprávy. Metabolické enzymy se podílejí na

všech procesech v lidském těle a napomáhají budovat strukturu a vytvářet nové buňky. Ve skutečnosti i trávicí enzymy začínají jako metabolické enzymy a opravují poškozené buňky ve tkáních a orgánech. Například enzymy přijímané s potravou šetří metabolické enzymy, které by se musely přeměnit na trávicí enzymy. (Kaur, a další, 2012)

Pro velkoobjemovou produkci terapeutických enzymů v komerčním měřítku se využívají různé metody fermentace, jako je fermentace v pevném stavu, imobilizace a fermentace na inertních pevných nosičích. Rozvoj technologie rekombinantní DNA umožnil výrobu velkého množství terapeutických enzymů. Výroba rekombinantních lidských enzymů probíhá ve třech hlavních fázích. První fáze zahrnuje růst a sklizeň kultur, po níž následuje purifikace ve druhé fázi. Třetí fáze zahrnuje plnění a konečnou úpravu. Vyrobený enzym se plní do lahvíček za sterilních podmínek. Poté se lahvíčky uzavřou, označí a zkontrolují. U vzorků hotových produktů se provádí testování kontroly kvality na vzhled, účinnost, čistotu a sterilitu. (Hatti, 2011)

4.1 Terapeutické enzymy

Terapeutické enzymy se dají rozdělit dle typu léčby, ke které jsou určeny, původu a jejich specifčnosti. Mezi čtyři hlavní terapeutické enzymy patří kolagenasa, 1-asparaginasa, streptokinasa a urikasa díky jejich specifické funkci v léčbě subkutánních a intramuskulárních onemocnění, léčbě rakoviny a leukémie, kardiovaskulárních onemocnění a onemocnění spojených s akumulací kyseliny močové. (Tandon, a další, 2021; Vasina, a další, 2022)

4.1.1 Kolagenasa

Kolagenasa je terapeutický enzym zodpovídající za štěpení peptidových vazeb v kolagenu. Extrahuje se především za zásaditých a kyselých podmínek z mikroorganismů jako jsou *Vibrio*, *Clostridium* a *Pseudomonas*. Kolagenasy jako terapeutického enzymu se využívá při léčbě mnoha onemocnění a zdravotních stavů, jako je Dupuytrenova choroba, glaukom, oprava chrupavky nebo léčba celulitidy. Tato onemocnění se ve většině případů vyskytují v důsledku nadprodukce nebo naopak nedostatku kolagenasy v těle. (Tandon, a další, 2021)

4.1.2 1-asparaginasa

Katalyzuje hydrolýzu asparaginu a glutaminu. Pomáhá při deaminaci 1-asparaginu na 1-aspartát za uvolnění amoniaku, což nakonec vede ke smrti nádorových buněk. Využívá se k chemoterapeutické aplikaci při léčbě lymfosarkomu, akutní myelomonocytární leukémie, kritické lymfoblastické leukémie a tak dále. Zatímco normální buňky jsou schopny syntetizovat

asparagin, nádorové buňky nikoli a v přítomnosti tohoto enzymu degradujícího asparagin odumírají. Krom toho také léčí infekční onemocnění způsobené patogeny jako je *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, popřípadě *Listeria monocytogenes*. Dále má i imunosupresivní a protizánětlivé vlastnosti. (Vimal, a další, 2018; Baruch, a další, 2014; Ensor, a další, 2002; Kurre, a další, 2002)

4.1.3 Streptokinasa

Streptokinasa je terapeutický enzym nezbytný pro rozklad krevních sraženin. Tento terapeutický enzym, chemickou strukturou polypeptid s jedním řetězcem, tvoří komplex s aktivátorem plazminogenu, který přeměňuje prekurzor (plazminogen) na plazmin, který dále degraduje fibrin a probíhá fibrinolýza. Streptokinasa má v terapii různé aplikace, mezi něž patří medikace u zdravotních stavů, jako je infarkt myokardu, hluboká žilní a arteriální trombóza. Je součástí léků známých jako fibrinolytika. (Tandon, a další, 2021)

4.1.4 Urikasa

Urikasa je terapeutický enzym, který má čtyři identické podjednotky obsahující aktivní místa. Metabolizuje kyselinu močovou za vzniku peroxidu vodíku a alantoinu, který je rozpustný a snadno se vylučuje. Akumulací kyseliny močové vzniká bolestivé zánětlivé onemocnění kloubů dna. Ke zvýšení hladiny kyseliny močové v krvi vedou také onemocnění jako diabetes mellitus, hypertenze nebo kardiometabolická onemocnění. Využití tohoto enzymu je tedy považováno za nejzdatnější možnost léčby. (Tandon, a další, 2021)

4.1.5 Serratiopeptidasa

Využívá se jako protizánětlivé činidlo a vykazuje výjimečnou schopnost rozpouštět mrtvou a poškozenou tkáň bez poškození živé. Také podporuje hojení ran a může obnovit a opravit zanícenou oblast kůže. Dále je schopna regulovat migraci imunitních buněk z lymfatických uzlin do poškozené tkáně. Tento jedinečný mechanismus účinku v kombinaci s jeho širokou substrátovou specificitou jasně ukazuje, že tato jedinečná serinová proteáza je schopna udržovat homeostázu. V neposlední řadě se uplatňuje buď sám, nebo v kombinaci při léčbě aterosklerózy, bronchitidy, revmatoidní artritidy, syndromu karpálního tunelu a dalších autoimunitních poruch. (Tiwari, 2017; Jadhav, a další, 2020)

4.1.6 Superoxiddismutasa

Aerobní organismy produkují jako vedlejší produkty aerobního metabolismu reaktivní formy kyslíku, a to peroxid vodíku, superoxidové anionty a hydroxylové radikály. Ty jsou

schopny působit jako mediátory oxidačního stresu, což může vést až k zánětům, karcinogenezi a neurodegenerativním poruchám. Superoxiddismutasa (SOD) je jedním z nejvýznamnějších obraných mechanismů. SOD narušuje zánětlivou kaskádu tím, že odstraňuje škodlivé volné radikály, a tím omezuje progresi onemocnění. SOD je zahrnuta v léčivých přípravcích pro ischemii myokardu, Peyronieho chorobu, kolitidu, roztroušenou sklerózu a rakovinu prsu. Dále jsou součástí kosmetických přípravků, aby se snížilo poškození pokožky volnými radikály. (Griess, a další, 2017; El-Shafey, a další, 2008)

4.1.7 Aktivátor tkáňového plazminogenu

Aktivátor tkáňového plazminogenu (tPA) je serinová proteasa, která je vylučována do krevního oběhu pomocí endotelových buněk. Má schopnost degradace krevní sraženiny, a proto se využívá jako lék při léčbě akutního infarktu myokardu, cerebrovaskulární trombotické cévní mozkové příhody a plicní embolie. tPA je obvykle upřednostňován před streptokinázou pro léčbu akutních infarktů myokardu a přeměňuje plazminogen na plazmin, což je další enzym, který degraduje síť fibrinu v trombinu, čímž rozkládá sraženiny (Khasa, a další, 2017; Majidzadeh, a další, 2010)

4.1.8 Arginindeiminasa

Arginindeiminasa (ADI) je enzym katalyzující hydrolýzu L-argininu na citrulin a amoniak, který je u lidí syntetizován pomocí argininosukcinatsyntasy (ASS) a argininosukcinatlyasy (ASL). Nejdříve ASS katalyzuje konverzi citrulinu a aspartátu na argininsukcinát, poté ASL katalyzuje štěpení argininsukcinátu na L-arginin a fumarát. Karcinomy typu hepatocelulárního a melanomy vykazují auxotrofii argininu v důsledku snížené ASS. ADI může být použita jako antikancerózní terapeutické činidlo, protože může degradovat exogenní dodávku argininu do nádorových buněk. Zdravé buňky se mohou tomuto mechanismu vyhnout díky schopnosti syntetizovat arginin. Léčba pomocí ADI také zahrnuje snížení hladiny syntetázy NO v nádorových buňkách, protože arginin je potřebný pro jeho syntézu. NO je významný pro biosyntézu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru, což je nepostradatelný faktor potřebný pro angiogenezi nádorových buněk. Takže při absenci NO se nádorové buňky nemohou množit. (Xiong, a další, 2016; Han, a další, 2016; You, a další, 2012)

4.1.9 Chondroitinasy a hyalurodinasy

Chondroitinasy se používají při léčbě poranění páteře, kde podporují regeneraci poškozené míchy. Enzym působí tak, že odstraňuje v gliové jizvě nahromaděný chondroitin

sulfát, který brzdí růst axonů. Hyaluronidasa má podobnou hydrolytickou aktivitu na chondroitin sulfát a může také pomáhat při regeneraci poškozené nervové tkáně. (Kaur, a další, 2012)

4.1.10 Lysozym a chitinasy

Lysozym se využívá jako přirozená antibakteriální látka v potravinách díky schopnosti rozbít sacharidové řetězce v buněčné stěně bakterií. Bylo prokázáno, že lysozym je schopen působit proti HIV a rozkládat virovou RNA. Dalšími vyskytujícími se antimikrobiálními enzymy jsou chitinasy. Chitin jako součást buněčné stěny různých patogenních organismů, včetně hub a prvoků je dobrým cílem pro antimikrobiální látky. Buněčné stěny *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis* a *Clostridium perfringens* byly cíleně zasaženy pomocí lytických enzymů, které byly odvozeny od bakteriofágů. (Vellard, 2003)

4.1.11 Fenylalaninhydroxylasa

Fenylketonurie (PKU) je geneticky podmíněná porucha, která vyžaduje přísné dodržování specializované diety. PKU je způsobena nízkou nebo neexistující fenylalaninhydroxylasou, která katalyzuje konverzi fenylalaninu na tyrosin. Perorální léčba pomocí přípravku FenylázaTM, je vyvíjena na základě použití rekombinantní kvasinkové fenylalanin amoniakální lyasy (PAL). Bylo prokázáno, že PAL rozkládá fenylalanin v gastrointestinálním traktu (Schibli, a další, 2002)

4.1.12 Sakrosidasa

Vrozený nedostatek sacharasy-isomaltasy neboli intolerance sacharózy, je dědičná porucha způsobující vážné gastrointestinální potíže. Je charakterizována nedostatkem enzymu sakrosidasy, což vede k poruše trávení škrobu a sacharózy. Sakrosidasa může být využita jako lék podávaný perorálně. Tento enzym hydrolyzuje sacharózu, což umožňuje normální konzumaci stravy bohaté na sacharózu. (Treem, a další, 1999)

4.1.13 Prolylendopeptidasa

Celiakie je pozorována u lidí, kteří jsou geneticky citliví na neznámé faktory prostředí, což vede k rozvoji imunitní odpovědi způsobené poruchou trávení lepku. Mají neustálou nesnášenlivost pšeničného lepku a analogických bílkovin ječmene a žita a musí dodržovat dietu, která má omezený obsah lepku. Prolylendopeptidasy katalyzují hydrolýzu vnitřních peptidových vazeb s účastí prolinu na jeho C-konci. Tento enzym se doporučuje jako perorální enzymový doplněk pro lidi s celiakií a k detoxikaci lepku v potravinách. Prolylendopeptidasa,

kteřá byla vyizolována z plísně *Aspergillus niger*, je schopna degradovat lepek v žaludku předtím, než se dostane do tenkého střeva, protože je odolná vůči působení žaludečních šťáv. (Salden, a další, 2015; Brown, a další, 2019)

4.1.14 β -galaktosidasa

β -galaktosidasa hydrolyzuje laktózu na glukózu a galaktózu. Intolerance laktózy je geneticky podmíněné onemocnění, které je dáno nedostatkem tohoto enzymu. V potravinářství se využívá β -galaktosidasa k výrobě produktů s hydrolyzovanou laktózou pro osoby s intolerancí laktózy. Exogenní laktasa má terapeutický účinek, podává se s mlékem a jeho výrobky jsou ve formě tablety. (Saqib, a další, 2017; Biller, a další, 1987)

4.1.15 Fibrinolyzin

Fibrinolyzin pomáhá při léčbě rány rozpuštěním fibrinu, inhibuje srážení krve a rozšiřuje cévy. Po rozpuštění ve vodném roztoku ztrácí svou aktivitu do 8 hodin. (Nikkhoy, a další, 2019)

4.1.16 Trypsin

Trypsin je endopeptidasa vylučována pankreatem za účelem trávení bílkovin. Kromě trávení bílkovin má trypsin další využití, a to v lokální aplikaci pro hojení ran. Dále je mírně znecitlivující látka a urychluje hojení ran. Různá poranění jsou často doprovázena krvácením a následným srážením krve. Trypsin štěpí albumin, který následně iniciuje diferenciaci fibrocytů, a tím usnadňuje hojení rány. (White, a další, 2013)

4.1.17 Serrapeptasa

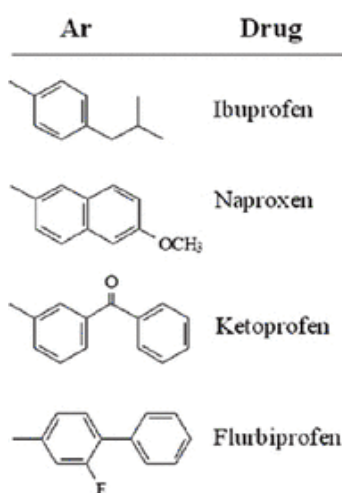
Serrapeptasa je terapeutický enzym s celou řadou klinických aplikací. Redukci zánětu pomáhá tím, že je schopna zředit a odvádět tekutinu z postiženého místa. Rozkládá odumřelou tkáň v okolí poranění. Díky této schopnosti se využívá k léčbě sportovních a pooperačních zánětů. Její další vlastností je její analgetický účinek. Inhibuje bradykinin vyvolávající bolest v zanícených tkáních (Bhagat, a další, 2013)

5 Inhibitory enzymů s terapeutickým účinkem

Se zvyšující se kvalitou zdravotní péče se rozvíjí poptávka po nových způsobech léčby různých onemocnění jako jsou rakovina, demence, neurodegenerativní onemocnění a podobně. Enzymy zůstávají jako primární cíl léčiv, protože změna jejich aktivity má okamžité a jasné definovatelné účinky. I když se stále častěji využívají léky působící na receptory, 47 % všech současných léků inhibuje enzymové cíle. Vazba inhibitorů je buď reverzibilní nebo ireverzibilní. Obvykle při ireverzibilní inhibici reagují inhibitory s enzymem a chemicky jej mění. Při reverzibilní inhibici se inhibitory vážou nekovalentní vazbou a vytvářejí různé typy inhibic v závislosti na tom, zda se tyto inhibitory vážou na volný enzym, komplex enzym-substrát nebo na substrát. (Hopkins, a další, 2002)

5.1 Inhibitory cyklooxygenas

Profeny (2-aryl propionové kyseliny) jsou považovány za jedny z nejdůležitějších nesteroidních protizánětlivých léčiv, která se využívají při léčbě zánětu spojeného s poškozením tkáně. Ačkoli je protizánětlivá aktivita profenů především dána schopností jejich (*S*)-enantiomeru inhibovat cyklooxygenasu, jsou tato léčiva dodávána komerčně jako racemáty. Mezi tato léčiva patří ibuprofen, naproxen, ketoprofen, flurbiprofen a další. Jejich aryle můžeme vidět na obrázku 10. (Sikora, a další, 2014; Qin, a další, 2013)

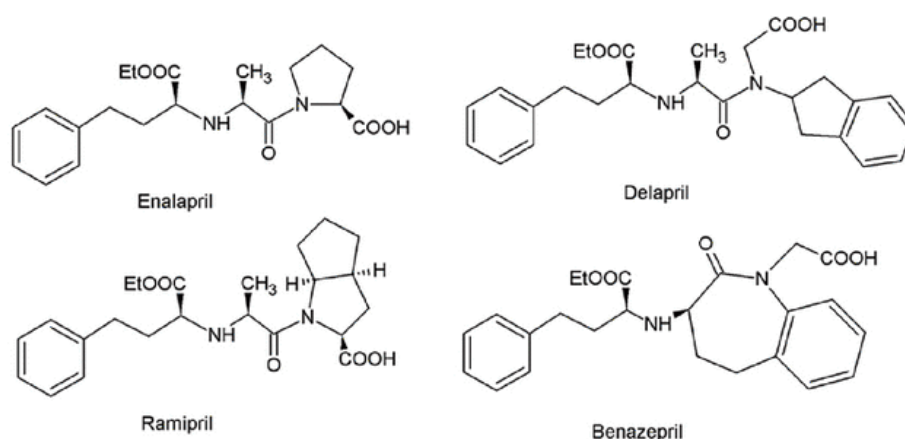


Obrázek 10 – Aryly léčiv
(Brahmachari, a další, 2016)

5.2 Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu

Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE) se široce využívají k léčbě hypertenze a městnavého srdečního selhání. Ethyl(*R*)-2-hydroxy-fenylbutyrát a (*R*)-2-hydroxy-

4-fenylmásečná kyselina jsou důležité chirální prekurzory při výrobě mnoha důležitých inhibitorů ACE, jako mohou být například benazepril, delapril, enalapril a ramipril, jejichž chemickou strukturu můžeme vidět na obrázku 11. Tyto meziprodukty byly úspěšně připraveny pomocí několika metod. Příkladem může být asymetrická redukce 2-oxo-4-fenylmásečné kyseliny pomocí *E. coli*. Kyselina D- β -acetylthioisomásečná, jejíž syntézu lze provést enzymatickým rozkladem methyl(D,L)- β -acetylthioisobutyátu, je klíčovým meziproduktem pro syntézu dalších inhibitorů ACE, jako jsou kaptopril a alacepril. (Sheng, a další, 2014; Shaw, a další, 2006)



Obrázek 11 – Chemické složení léčiv
(Brahmachari, a další, 2016)

5.3 Inhibitory HMG-CoA reductasy

3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) reductasa je klíčový enzym syntézy cholesterolu, katalyzující vznik mevalonátu, z něž se postupnými reakcemi stává cholesterol. Pravastatin je lék, který je vysoce účinný inhibitor HMG-CoA reductasy, a tím napomáhá snížení hladiny cholesterolu. Pravastatin se také dále využívá jako lék ke snížení rizika mrtvice a srdečního infarktu. Jeho výrobu lze uskutečnit hydroxylací kompaktinu v kmenech aktinomycet. Příkladem výroby je provedení u *Streptomyces carbophilus*, u kterého byla monooxygenasa cytochromu P450 schopna katalyzovat hydroxylaci kompaktinu. (Štefánek, 2011; Watanabe, a další, 1995)

5.4 Inhibitory aromatasy

Závěrečným krokem syntézy estrogenu je aromatizace androgenů na estrogény. Tento metabolismus probíhá v premenopauzálním období ve vaječnících, u žen po menopauze v periferní tkáni jako jsou svaly, tuk, játra. U pacientek s karcinomem prsu bylo prokázáno, že k syntéze estrogenu dochází v nádorové tkáni přeměnou estron sulfátu na estron a estradiol.

Inhibice aromatasové dráhy je efektivním způsobem, jak snížit syntézu estrogenu a tím potlačit růst karcinomu. Účinnost se projevila již po podání prvního podaného léku aminoglutetimidu. Dále se ukázaly účinné léky, jako je formestan, inhibitor druhé generace a inhibitory třetí generace, jejichž zástupci jsou anastrozol, letrozol nebo exemestan. Tyto léky jsou u pacientek s karcinomem prsu silnější, specifitější a účinnější. (Bonneterre, 2003)

Inhibitory aromatasu třetí generace lze rozdělit do dvou skupin dle struktury a mechanismu účinku. Anastrozol a letrozol jsou nesteroidní inhibitory, které se reverzibilně vážou na enzym, zatímco exemestan se ireverzibilně váže na aktivní místo aromatasu a konkuruje ligandu. Obě tyto třídy jsou velmi aktivní v potlačování enzymatické aktivity *in vivo* z 97–99 %. (Bonneterre, 2003)

5.5 Inhibitory 14 α -demetylasu

Antimykotika vykazují omezenou účinnost při léčbě invazivních a systémových houbových infekcí z důvodu jejich toxicity a rezistence. Předpokládá se, že léky jako flukonazol a itrakonazol inhibují 14 α -demetylasu, což je jeden z klíčových enzymů, které se podílejí na biosyntéze houbového ergosterolu. (Brahmachari, a další, 2016)

5.6 Fosfomycin

Peptidoglykan je klíčovou součástí buněčné stěny bakterií. Enzym UDP-*N*-acetylglukosamin enolpyruvyltransferáza (MurA) katalyzuje přenos enolpyruvátu z fosfoenolpyruvátu na uridindifosfát-*N*-acetylglukosamin. Tato cesta je nezbytná pro růst jednotlivých bakterií. Fosfomycin je širokospektrální antibakteriální látka ireverzibilně inhibující MurA. Tato inhibice následně vede k buněčné smrti bakterií. (Sonkar, a další, 2017; Mihalovits, a další, 2019)

5.7 Inhibitory anhydrasy kyseliny uhličitě

Anhydrasa kyseliny uhličitě je enzym řadící se mezi metaloenzymy a katalyzující přeměnu oxidu uhličitěho a vody na hydrogenuhličitan a H⁺ a naopak za účelem udržování acidobazické rovnováhy v krvi a dalších tkáních. Tato reakce je reverzibilní ovšem bez využití enzymů probíhá velmi pomalu. Inhibitory karboanhydrasy mohou být dlouhodobě užívány u lidí s intolerancí na oční kapky. Dále se využívají v případě neúspěšné léčby vysokého nitroočního tlaku a glaukomu. (Riordan-Eva, a další, 2007)

5.8 Inhibitory topoisomeras

Topoisomerasy I a II jsou enzymy regulující změny struktury DNA. Katalyzují rozpad a opětovné spojení fosfodiesterových vazeb v molekule DNA během normálního buněčného cyklu. Inhibitory topoisomeras jsou sloučeniny zasahující do účinku enzymu, a předpokládá se, že blokují krok vazby v buněčném cyklu, čímž vznikají jednovláknové a dvouvláknové zlomy poškozující integritu genomu. Díky těmto zlomům následně dochází k apoptóze. Tyto inhibitory dále mohou fungovat jako látky s antibakteriálním účinkem, příkladem tohoto léčiva může být ciprofloxacin. Inhibitory se klasifikují podle toho, kterou z topoisomeras inhibují. Inhibitory topoisomerasy I jsou rivotekan, topotekan, kamptothecin a lamelarin D. Inhibitory topoisomerasy II jsou etoposid, teniposid a kyselina aurintrikarboxylová. (Chen, a další, 1994; Benchokroun, a další, 1995)

5.9 Inhibitory cyklooxygenasy

Cyklooxygenasy jsou enzymy generující prostaglandin H₂ z kyseliny arachidonové prostřednictvím biogeneze prostaglandinů a jsou cílem nesteroidních protizánětlivých léčiv. Nedávno bylo zjištěno, že nový inhibitor cyklooxygenasy FK881 je využitelný k léčbě příznaků revmatoidní artritidy a osteoartritidy. Účinek FK881 je velmi silný a selektivní pro cyklooxygenasu typu 1. (Imanishi, a další, 2011)

5.10 Inhibitory arginasy

Arginasa je všudypřítomný enzym, který je regulátorem vaskulárních funkcí vyžadující polyamid a oxid dusnatý. Je známo, že zvýšená aktivace arginasy přispívá k endoteliální dysfunkci, což je charakteristickým znakem kardiovaskulárních onemocnění. Terapeutický potenciál inhibitorů byl zjišťován *ex vivo* experimenty s vaskulární reaktivitou. Izolované cévy pacientů s dysfunkcí cév jako jsou tepny kuřáků, arterioly diabetiků a mezenterické tepny obézních pacientů vykazovaly relaxaci, která byla závislá na endotelu po inkubaci s různorodými inhibitory arginasy. Příkladem inhibitoru může být N^ω-hydroxy-L-arginin, který je také stabilním meziproduktem syntézy oxidu dusnatého, a na enzym působí kompetitivní inhibicí. (Moretto, a další, 2021)

5.11 Inhibitory kinasy AKT

Kinasa AKT má důležitou úlohu v signální transdukcii, díky níž dochází k řízení biologické odpovědi buňky na aktivaci receptoru. Kinasa AKT se vyskytuje fyziologicky ve 3

izoformách a podílí se na řízení vývoje, proliferace a života buněk, dále na řízení homeostázy a novotvorbě cév. Hyperaktivace AKT samotná nezpůsobuje karcinogenezi, ale pokud se nachází v buňce mutace, vznik karcinomu výrazně podporuje, díky své schopnosti stimulovat růst a přežívání nádorových buněk, změny v metabolismu a zároveň potlačuje apoptózu. Inhibitory kinas jsou v kompetitivní inhibici s ATP. Při inhibici je enzym bez ATP a nedochází k fosforylaci a enzym se stává inaktivním. Příkladem inhibitoru může být lék ipatasertib, který je selektivní pro kinasu a inhibuje všechny její 3 izoformy. Využívá se v kombinaci s jinými protinádorovými léčivými k léčbě karcinomu prostaty a prsu. (Brown, a další, 2017)

5.12 Inhibitory Janusových kinas

Při objevení cytokinů a jejich receptorů se staly léčebným cílem pomocí protilátek a rekombinantních proteinů. Jejich zavedení do klinické praxe se začalo uplatňovat v léčbě revmatoidních onemocnění, konkrétně revmatoidní artritidy (RA). I přes veškerou snahu v diagnostice a léčbě RA, existuje určitá část pacientů, kteří neodpovídají adekvátně na léčbu nebo dojde ke ztrátě účinku terapie. Z tohoto důvodu je neustálá potřeba individuálního přístupu a hledání nových léčebných postupů. Janusovy kinas (JAK) jsou skupina enzymů tyrosinkinas, které jsou spojovány s receptory a obstarávají kaskádu cytokinů jako je například interleukin-6 nebo interleukin-12. Tato skupina obsahuje JAK1, JAK2 JAK3 a TKI2. Poté co se navážou cytokiny na receptory dochází k fosforylaci JAK. Díky tomu může dojít k navázání proteinů skupiny STAT (signal transducer and activator of transcription), které se translokují do buněčného jádra. Výsledkem je párování JAK a aktivace STAT po navázání cytokinů, které vedou ke specifickým buněčným funkcím. (Filková, 2018)

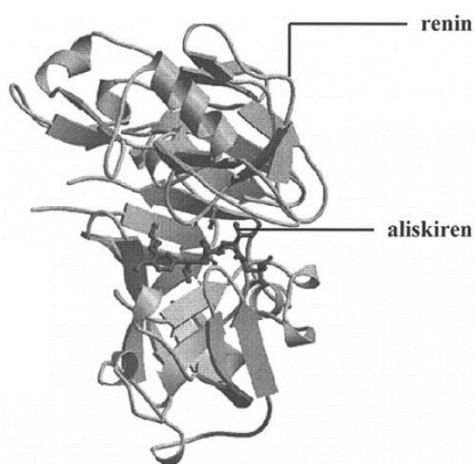
Inhibitory JAK jsou syntetické malé molekuly, které se podávají perorálně. Interferují s nitrobuněčnou signalizací pomocí inhibice JAK enzymů. Tofacitinib inhibuje signalizaci cytokinovými inhibitory asociující s JAK3 anebo JAK1. Baricitinib je reverzibilní inhibitor JAK1 a JAK2 a jeho účinnost byla doložena u pacientů se střední a vysokou aktivitou RA. (Filková, 2018)

5.13 Inhibitory reninu

Renin-angiotenzinový systém má významnou roli v řízení krevního oběhu, ledvinných funkcí zajišťujících homeostázu elektrolytů a vody, dále se účastní patogeneze arteriální hypertenze, srdečního chronického selhání a v neposlední řadě závažných onemocnění ledvin. Renin je aspartylproteasa tvořící se v juxtaglomerulárním aparátu kůry ledvin. Renin v renin-angiotenzinovém systému odštěpuje z angiotenzinogenu angiotenzin I díky čemuž

vzniká angiotenzin II. Sekrece reninu je řízená několika vzájemně se ovlivňujícími mechanismy jako je tlak v arteriolách, sympatický nervový systém a koncentrace angiotenzinu II v plazmě. (Slabý, a další, 2010)

Inhibitor aliskiren byl syntetizován podle výsledků krystalografických analýz, svou strukturou přesně odpovídá aktivnímu místu pro angiotenzinogen a má vysokou afinitu. Toto navázání můžeme vidět na obrázku 12. Díky vazbě aliskirenu na renin dochází ke snížení plazmatické koncentrace angiotenzinu II a zlepšení stavu pacienta s hypertenzí. (Slabý, a další, 2010)



Obrázek 12 – Stužkový model reninu s navázaným aliskirenem (Slabý, a další, 2010)

5.14 Inhibitory 5 α -reduktasy

Redukcí testosteronu působením steroidní 5 α -reduktasy (5 α -RD) vzniká dihydrotestosteron (DHT). Ten má u člověka neopomenutelnou roli v diferenciaci zevního genitálu. Maskulinizace zevního genitálu, uretry a prostaty je pod vlivem DHT, dále má významnou funkci při sestoupení varlat. Koncentrace DHT je v prostatě 5–10 \times větší než u testosteronu. Pro léčbu určitých onemocnění, ve kterých se vyskytuje zvýšená hladina DHT, byly registrovány léky s inhibičním účinkem 5 α -RD a to Propecia, Proscar, Penester, Avodart. Mezi tato onemocnění patří karcinom prostaty, benigní hyperplazie prostaty, hirsutismus, akné a androgenní alopecie. (Stárka, 2007)

5.15 Inhibitory tyrosinkinas

Inhibitory tyrosinkinas (TKI) se staly nedílnou součástí léčby chronické myeloidní leukémie (CML) a tím zlepšily prognózu onemocnění a prodloužily přežití pacientů. Čím dál větší pozornost je věnována optimalizaci dlouhodobého hlediska užívání tak, že dochází k redukcí dávek TKI nebo k přerušovanému podávání, které mají za cíl zlepšení tolerance léčby a udržení účinnosti na vysoké úrovni. Léčba a prognóza CML zaznamenaly za posledních několik let výrazné zlepšení díky zavedení TKI, a to konkrétně pomocí přípravků dasatinib, nilotinib, bosutinib, které v kombinaci s imatinibem vedly k rychlejšímu a významnějším léčebným odpovědím. Imatinib působí na enzym jako selektivní kompetitivní inhibitor, který je podáván perorálně a rychle se vstřebává v rozmezí jedné až tří hodin, jeho působení se pohybuje mezi 13 a 20 hodinami. Nilotinib působí na mutace, které jsou rezistentní na imatinib. Dasatinib působí jako multikinasový inhibitor působící jak na mutované, tak na nemutované tyrosinkinasy a snáze proniká hemato-encefalickou membránou. (Žáčková, a další, 2021)

Inhibitory tyrosinkinas se dále využívají k léčbě karcinomů z ledvinných buněk, které zaujímají 3 % z celkového počtu karcinomů. Nejčastějším typem je karcinom z jasných buněk. Mezi ostatní typy patří papilární, chromofóbní a ze sběrného tubulu. Tyto typy se liší genetikou a biologickou funkcí a tím pádem mají různou odpověď na léčbu. Karcinom z renálních buněk je velice rezistentní k chemoterapeutickým léčebným postupům. Sunitinib malát je inhibitor tyrosinových kinas mající protinádorovou aktivitu. Tato aktivita nejspíše vyplývá jak z inhibice angiogeneze, tak z antiproliferativních účinků. Sorafenib tosylát se podává po selhání předešlé léčby. Je to nízkomolekulární TKI, který inhibuje receptory pro vaskulární endoteliální růstový faktor. (Kirkali, 2010)

5.16 Inhibitory cyklin-dependentních kinas

Cyklin dependentní kinasy (CDK) mají důležitou úlohu v řízení buněčného cyklu. K jejich aktivaci dochází tak, že se na ně naváže molekula z řady cyklinů. Při inhibici CDK je zablokováno dělení buňky a následně dochází k buněčné smrti. Tohoto se využívá při léčbě pokročilého karcinomu prsu při nálezů s pozitivními hormonálními receptory a negativními receptory pro lidský epidermální růstový faktor v buňce. U tohoto onemocnění je primární léčbou hormonální terapie a inhibitory CDK jsou využity při zjištěné rezistenci jako další účinná léčba. Mezi tyto inhibitory patří abemaciclib, ribociclib a palbociclib, který je specifický inhibitor CDK a využívá se pro léčbu lokálního, popřípadě metastazujícího karcinomu prsu

v kombinaci s hormonální terapií. Palbociklib zabraňuje přechodu z G1 fáze na S fázi buněčného cyklu a tím inhibuje růst nádorových buněk. (Sammons, a další, 2017)

5.17 Inhibitory γ -sekretasy

Alzheimerova choroba (AD) je neurodegenerativní onemocnění s charakteristickými znaky jako je ztráta kognitivních funkcí, popřípadě poruchy chování. AD je nejčastějším typem demence, která je zapříčiněna degenerací neuronů. Změny v mozkové kůře jsou spojeny s objevem amyloidních plaků jejichž hlavní složkou jsou peptidy obsahující 40 nebo 42 aminokyselinových zbytků a ty jsou označovány jako beta-amyloidní plaky ($A\beta$). Tento peptid je produkován pomocí proteolytického štěpení prekurzoru β -amyloidu enzymy β - a γ -sekretasou. Inhibice γ -sekretasy je jasným cílem léčebné strategie z důvod toho, že je posledním krokem vzniku $A\beta$. Příkladem inhibitoru může být PF-3084014 (derivát aminotetralinu) jakožto nekompetitivní, reverzibilní inhibitor, který je schopen proniknout hematoencefalickou membránou a má dlouhodobý účinek na snížení hladiny $A\beta$. Tricyklické sulfony patří mezi další inhibitory, které jsou schopny snížit hladinu $A\beta$. Zajímavé hodnoty vykazují ve studiích ty tricyklické sulfony, jejichž substituenty byly navázány na C-6. Nicméně však zatím žádný z testovaných inhibitorů nebyl zaveden do klinické praxe k léčebnému využití. Pozitivním faktem je to, že tricyklické sulfony a další vyvíjené látky jako jsou například deriváty aminokaprolaktamu, jsou součástí klinického testování. (Špilovská, a další, 2012)

5.18 Inhibitory dipeptidyl peptidas IV

Mezi inhibitory dipeptyl peptidas IV patří sitagliptin, který se využívá k léčbě diabetu mellitu druhého typu. Dipeptyl peptidasy IV jsou důležitým regulátorem inkretinových hormonů. Sitagliptin je kompetitivní a reverzibilní inhibitor, který je schopen zlepšovat celkový stav, a to tak že, zvyšuje hladinu inzulínu, snižuje hladinu glukagonu a snižuje postprandiální hladiny glykemií. Při léčbě samotným stigliptinem se zlepšila citlivost buněk na inzulín, dále se využívá v kombinaci s metforminem, který zvyšuje citlivost tkání na inzulín, snižuje tvorbu cukru v játrech a v trávicím traktu snižuje jeho vstřebávání. Stigliptin je podáván jednou denně jako perorální antidiabetikum s minimálním množstvím vedlejších účinků. (Perušičová, 2007)

5.19 Inhibitory cholinesteras

Nejčastější formou demence je AD projevující se poruchou paměti a ztrátou kognitivních funkcí. Mezi patofyziologické znaky AD patří amyloidní plaky, neurofibrilární klubka, a především ztráta cholinergních neuronů. Kognitivní poruchy, pokles pozornosti,

rychlost zpracování informací a poruchy chování jsou zapříčiněny cholinergním nedostatkem. Všechny části cholinergního systému v mozku pacientů jsou zasaženy a to tak, že se v mozku nachází snížené množství acetylcholinu, deficit cholinacetyltransferasy a acetylcholinesterasy a zvýšené množství butyrylcholinesterasy. Terapie pomocí inhibitorů cholinesteras (IChE) je upřednostňována z důvodu zesilování přirozeného uvolňování acetylcholinu v kontrastu globální tonické stimulace nikotinových a muskarinových receptorů. IChE jsou schopny oddálit vývin symptomů AD, dochází ke zlepšení denní aktivity, neuropsychiatrických symptomů a během jejich užívání došlo ke stabilizaci funkcí u pacientů s lehkou a střední formou AD po dobu minimálně šesti měsíců. V praxi dochází k tomu, že jednotlivé typy IChE mají rozdílnou efektivitu a také znatelné rozdíly v oddálení a v rychlosti progresu symptomů AD. Dále pacienti reagují na léčbu jednotlivými typy IChE rozdílně. Rozdíly v jednotlivých inhibitech jsou obzvláště v jejich působení na dané enzymy. Léky donepezil a galantamin projevují selektivitu k acetylcholinesterase, oproti tomu takrin a rivastigmin koinhibují jak acetylcholinesterasu tak i butyrylcholinesterasu. Efektivita, bezpečnost, tolerance a oddálení progresu symptomů AD jsou závislé na farmakologických profilech jednotlivých inhibitorů, a především na individuálním zastoupení odlišných patofyziologických změn v mozku pacientů. (Brunovský, 2007)

5.20 Inhibitory monoaminoxidasy

Parkinsonova choroba (PD) je onemocnění spojené s progresivním nedostatkem dopaminu, který je zapříčiněn degenerací dopaminergních neuronů v substantia nigra. To následně vede k vážným motorickým potížím, mimovolným pohybům, ztuhlosti a křečím v končetinách, můžou také následovat psychické potíže a podobně. Etiologie toho, proč dochází k úbytku dopaminergních neuronů, není zcela objasněna. Příčinami se zdají být jak genetické předpoklady, tak vystavení endogenním nebo exogenním toxinům. Monoaminoxidasa (MAO) je protein vnější mitochondriální membrány vyskytující se ve dvou izoformách MAO-A nacházející se v serotoninerghních, noradrenerghních a dopaminergních nervových zakončeních a MAO-B, která je součástí mikroglíí, astrocytů a bazálních gangliích. Obě tyto izoformy stejně dobře metabolizují dopamin a už i inhibice jedné z nich snižuje degradaci dopaminu. V praxi se daleko častěji setkáváme s inhibitory MAO-B. Celosvětově nejpoužívanějším inhibitorem MAO-B je selegilin využíván jako selektivní a ireverzibilní inhibitor, který je účinný jako monoterapie v rané fázi PD, v pokročilejší fázi se využívá jako doplněk. Dalším lékem je silný selektivní a ireverzibilní inhibitor rasagilin, který má až 10× větší účinnost než selegilin. Toho

se využívá u léčby pokročilé PD, kde studie ukázaly zlepšení kvality každodenního života při dávce 0,5 mg rasagilinu. (Henchcliffe, a další, 2007)

5.21 Inhibitory fosfodiesterasy

Z epidemiologických dat vyplývá že výskyt erektilní dysfunkce (ED) je daleko častější. Tato porucha je definována jako dočasná nebo trvalá neschopnost dosáhnout a udržet erekci pro uskutečnění pohlavního styku. Mezi příčiny ED se řadí stres, deprese, obezita, kouření, nedostatek pohybu, ale také farmakologická léčba jiných onemocnění, AD, PD, diabetes mellitus a další. Prvním krokem v léčbě je zbavení se rizikových faktorů a zdravý životní styl. Základem farmakologické léčby jsou preparáty zvyšující přívod krve do topořivých těles pomocí rozšíření cév. Dilatace hladké svaloviny a vazodilatace cév v penisu jsou regulovány pomocí oxidu dusnatého a guanylátcyklasy. Inhibitory fosfodiesterasy podporují erekci pomocí zvyšování hladiny cyklického guanosin monofosfátu, který výrazně podporuje relaxaci hladké svaloviny. Mezi tyto inhibitory patří sildenafil, jehož aktivní metabolit *N*-desmethyl je zodpovědný za 20 % jeho farmakologické aktivity. Účinnost tohoto inhibitoru byla prokázána ve studii, kdy u dobrovolníků došlo ke zlepšení dosáhnutí a udržení erekce o 60 % a více v porovnání s původním stavem. Vardenafil je svou chemickou strukturou velmi podobný sildenafilu, avšak jeho účinnost a selektivita jsou daleko vyšší a jeho účinek přetrvává přibližně 6 až 8 hodin. Doporučovaným inhibitorem první volby je tadalafil, který se svou chemickou strukturou od předchozích dvou liší a zároveň u něj nebyl zaznamenán větší výskyt vedlejších účinků. Jeho účinek trvá po dobu 24–36 hodin a zároveň byl schválen pro každodenní použití s dávkováním mezi 2,5 až 5 mg na den. (Hakky, a další, 2013)

5.22 Inhibitory poly(ADP-ribóza)polymeras

Ovariální karcinom se řadí mezi 8 nejzastoupenějších maligních nádorů, které jsou zodpovědné za úmrtí žen. Poly(ADP-ribóza)polymerasy (PARP) je skupina enzymů které jsou potřebné na opravu jednovláknových zlomů v DNA. Díky inhibitoru olaparib dochází v mnohých se buňkách k inhibici PARP a dochází ke vzniku dvouvláknových zlomů DNA. Zmutované nádorové buňky tyto zlomy nedokážou opravit a dochází k jejich odumírání. Studie potvrdily, že u pacientek, které měly pokročilé stádium karcinomu ovarií s mutací pomohla terapie s olaparibem významně prodloužit dobu bez progresu onemocnění, a to až o 67 %. Olaparib se dále testuje, zda by mohl být využit i při léčbě karcinomu prsu, metastazujícího karcinomu pankreatu, či mutovaného rezistentního karcinomu prostaty. (Moore, a další, 2018)

5.23 Inhibitory α -glukosidas

Inhibitory α -glukosidas dokážou zpomalit štěpení sacharidů, pomáhají snižovat množství vstřebaných monosacharidů, konkrétně glukózy, a prodlužují čas jejich vstřebávání. Jako inhibitor se využívá reverzibilní akarbóza, která je svou strukturou pseudotetrasacharid. Po podání nedochází k jejímu vstřebávání, ale váže se na enzymy α -glukosidas. Akarbóza díky své struktuře nepodléhá enzymatické přeměně, ale zároveň má velmi vysokou afinitu ke střevním glukosidasám, a tím blokuje navázání a následnou enzymatickou přeměnu polysacharidů, které pak odcházejí přes střevní lumen. Díky inhibici α -glykosidas dochází ke zpomalení štěpení sacharidů, sníží se množství vstřebané glukózy a prodlouží se doba její absorpce. To vede k tomu, že se sníží postprandiální hyperglykemie a dojde ke snížení sekrece inzulínu indukovaného glukózou, a tím primárně ovlivňuje glykémii po jídle. Akarbóza se podává k léčbě diabetu druhého typu, který byl doposud léčen dietou nebo perorálními antidiabetiky. Akarbóza se dá kombinovat s antidiabetiky popřípadě při léčbě inzulínem. Indikací k nasazení akarbózy jsou kontrola glykemie po jídle, nízké riziko hypoglykemie, snížení rezistence na inzulín, snížení kardiovaskulárního rizika a snížení tělesné hmotnosti. Studie ukázaly pozitivní vývoj u posledních 3 jmenovaných indikací. (Rybka, 2011)

5.24 Inhibitory proprotein konvertasy subtilizin/kexin typu 9

Zvýšené hladiny cholesterolu nízko-denzitního lipoproteinu (LDL-c) mají v dnešní době za následek mnoho onemocnění jako jsou ateroskleróza, infarkt myokardu, cévní mozková příhoda nebo angina pectoris. Za nefarmakologickou léčbu se dá považovat správně vyvážená strava se sníženým příjmem živočišných tuků, vyšší příjem nenasycených mastných kyselin, vitamínů, vlákniny a dostatek pohybu. Spousta pacientů však potřebuje farmakoterapii k dosažení cílových hodnot. Zásadními léky v léčbě hypercholesterolemie jsou statiny, které jsou schopny zablokovat tvorbu cholesterolu a jeho koncentrace začne klesat. Díky zvyšujícímu se výskytu statinové intolerance se začali do praxe zavádět inhibitory proprotein konvertasy subtilizin/kexin typu 9 (PCSK9). Mezi inhibitory patří evolocumab a alirocumab, které jsou lidské monoklonální protilátky vážící se na enzym PCSK9 a tím mu zabrání v odbourávání LDL-c. Oba tyto inhibitory prokázaly svou účinnost, kdy v klinických studiích léčba statiny v kombinaci s evolocumabem vedla ke snížení hladiny LDL-c až o 75 % ve srovnání s léčbou samotnými statiny. Léčba pomocí statinů a alirocumabu vedla ke snížení hladiny LDL-c až o 58 %. Z dlouhodobého hlediska mají PCSK9 slibný potenciál díky tomu, že napomáhají

nejenom snižovat hladiny LDL-c, ale také přispívají ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění. (Blaha, a další, 2019)

5.25 Inhibitory hexokinasy

Pro získání energie a potřebných látek využívají nádorové buňky takzvaný Warburgův efekt, který říká, že buňky při metabolismu glukózy preferují glykolýzu před aerobním dýcháním, a to i za aerobních podmínek. Výsledným produktem glykolýzy je kyselina mléčná se schopností podporovat proliferaci nádorových buněk, metastazování nádoru, angiogenezi nádorové tkáně a může ovlivňovat účinek chemoterapie. Prvním krokem glykolýzy, který se dá limitovat, je fosforylace glukózy za vzniku glukóza-6-fosfátu za účasti ATP. Tuto reakci katalyzuje právě enzym hexokinasa. U rychle rostoucích nádorů hraje významnou roli hexokinasa typu II (HKII) a to při iniciaci a udržování katabolismu glukózy. Maligní buňky vykazují vysokou expresi HKII, což vede ke zvýšené glykolýze a získání potřebné energie. Mezi nejběžnější inhibitory patří kyselina 3-brompyrohroznová (3-BrPA) 1, metformin 2, methyljasmonát, které se liší svou chemickou strukturou. 3-BrPA 1 je tradiční inhibitor schopný snížit produkci ATP a tím indukovat apoptózu. Nevýhodou však je jeho cytotoxicita při podání ve vysokých dávkách a to, že není schopen procházet přes hematoencefalickou bariéru. Metformin 2 je lékem první volby při léčbě diabetu. Ukázalo se ale, že má také protinádorové účinky a využívá se v léčbě karcinomu prsu, u hepatocelulárního karcinomu je schopen inhibovat tumorigenezi a zvyšuje buněčnou smrt. Methyljasmonát a jeho deriváty jsou schopny opět po inhibici HKII indukovat apoptózu. Jejich primární využití je při léčbě karcinomu plic a vaječnicků. Syntéza derivátů methyljasmonátu neustále rozšiřuje molekulární knihovnu s protinádorovými účinky a tím rozšiřuje možnosti léčby. (Sun, a další, 2021)

5.26 Inhibitory fosfofruktokinasy

Fosfofruktokinasa (PFK) je součástí Warburgova efektu popsaného v předchozí kapitole. PFK je také důležitým enzymem regulujícím rychlost glykolýzy a má několik izoform. Izoforma PFKFB3 je rozhodujícím regulátorem vysokého glykolytického toku díky tomu, že katalyzuje syntézu fruktóza 1,6-bisfosfatázy, která následně aktivuje PFK1. PFKFB3 je nadměrně exprimována při nádorech vaječnicků, prsu, prostaty a tlustého střeva. Díky její zvýšené expresi dochází ke zvyšování toku glukózy a glykolýze. Inhibitory PFKFB3 jsou novou metodou, díky které dojde k nádorové nekróze. Mezi tyto inhibitory patří benzopyranony, dihydropyrrolopyrimidinon, deriváty pyridazinonu, narylové

6-aminochinoxaliny a chalkony. Všechny jsou schopny inhibovat PFKFB3, což vede ke snížení rychlosti glykolýzy a následně ke smrti nádorových buněk. (Sun, a další, 2021)

5.27 Inhibitory pyruvátkinas

V posledním kroku glykolýzy je hlavním regulátorem enzym pyruvátkinasa, která katalyzuje přeměnu adenosindifosfátu a fosfoenolpyruvátu na ATP a pyruvát. Existují čtyři izoformy, z toho pyruvátkinasa typu 2 je mnohonásobně zvýšená v nádorových buňkách a má kritickou úlohu v regulaci glykolýzy. Cílené působení inhibitorů na tuto izoformu zvyšuje terapeutický účinek v léčbě rakoviny. Jako potencionální inhibitory jsou studovány deriváty flavonu a naftochinonu. Shikonin 9 je aktivní formou naftochinonu a pomocí inhibice pyruvátkinasy typu 2 je schopen blokovat proliferaci a glykolýzu a následně dochází k apoptóze nádorových buněk. Deriváty flavonoidů byly použity při inhibici hepatocelulárního karcinomu opět pomocí inhibice pyruvátkinasy, což mělo za následek apoptózu nádorových buněk, pro které jsou tyto deriváty vysoce toxické. Jeho výhodou je to, že nejsou výrazně toxické pro hlavní orgány. (Babu, a další, 2018; Guo, a další, 2019)

5.28 inhibitory kinasy B – RAF

Maligní melanom je velmi zhoubné onemocnění vznikající primárně z pigmentových buněk, konkrétně derivátů neutrální lišty. V prvotních stádiích dosahuje chirurgická léčba skvělých výsledků. U více než 80 % diagnostikovaných melanomů se objevuje mutace v dráze RAS/RAF/MEK//ERK a z toho je přes 60 % mutace kinasy B – RAF, která způsobuje vyšší agresivitu a tvorbu metastáz. Mezi inhibitory kinasy B – RAF patří vemurafenib, jehož účinek překonává klasickou chemoterapii, avšak doba přežití pacientů se prodloužila v řádech několika měsíců, kdy celkové přežití se prodloužilo v průměru o 5,3 měsíce a přežití bez progresu onemocnění o 1,6 měsíce. Účinnějším inhibitorem je dabrafenib, jehož účinek spočívá v kompetici o vazebné místo kinasy B – RAF s molekulou ATP. Tato inhibice je vratná. Výsledkem je zastavení buněčné proliferace ve fázi G1 a indukce apoptózy. (Heneberg, 2012)

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo zpracovat teoretickou rešerši o možnostech léčby onemocnění pomocí enzymů a jejich inhibitorů.

Úvodní část patří obecným informacím týkajících se enzymů, jejich struktury, mechanismu působení, klasifikace a enzymové kinetiky.

Terapeutické enzymy se staly součástí léčby mnoha onemocnění ať už v samostatné aplikaci anebo v kombinaci s jinými typy léčby. Výše zmiňované enzymy jsou využívány k léčbě fibrinolýzy, rakoviny, infekčních onemocnění, zánětů, dny, aterosklerózy, autoimunitních onemocnění, infarktu myokardu, celiakii a dalších. Tyto enzymy jsou podávány v malých dávkách. V současnosti jsou také využívány jako doplňky stravy, které jsou volně prodejné.

Se zvyšující se kvalitou života a dostupnosti zdravotní péče se zvýšila i poptávka po nových možnostech léčby, což inhibitory enzymů nabízí. Jejich využití je širokospektré, a to v konkrétních případech jako je zánět, kardiovaskulární onemocnění, snížení hladin cholesterolu, regulace glykémie, různých typů karcinomů, glaukomu, Alzheimerovy choroby, diabetu mellitu a dalších.

Léčba pomocí enzymů a jejich inhibitorů je a stále bude předmětem výzkumů a klinických studií, protože nabízí velké uplatnění v mnoha oblastech. V budoucnu bude třeba možné pomocí enzymů nebo jejich inhibitorů vyléčit dosud nevyléčitelná onemocnění.

Reference

Babashamsi, Mohamad; Razavian, Mohammad a Nejadmoghaddam, Mohammad. 2009. Production and Purification of Streptokinase by Protected Affinity Chromatography. *US National Library of Medicine*. [Online] duben 2009. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3558118/>.

Babu, Mani, a další. 2018. Lapachol inhibits glycolysis in cancer cells by targeting pyruvate kinase M2. *PLOS ONE*. [Online] 2. únor 2018. [Citace: 18. květen 2022.] <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0191419>.

Baruch, Moshe, a další. 2014. An Extracellular Bacterial Pathogen Modulates Host Metabolism to Regulate Its Own Sensing and Proliferation. *ScienceDirect*. [Online] 16. leden 2014. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867413015390>.

Benchokroun, Youssef; Couprie, Jeannine a Larsen, Annette K. 1995. Aurintricarboxylic acid, a putative inhibitor of apoptosis, is a potent inhibitor of DNA topoisomerase II in vitro and in Chinese hamster fibrosarcoma cells. *ScienceDirect*. [Online] 31. leden 1995. [Citace: 24. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/000629529400465X?via%3Dihub>.

Bhagat, Shivani; Agarwal, Monika a Roy, Vandana. 2013. Serratiopeptidase: A systematic review of the existing evidence. *ScienceDirect*. [Online] duben 2013. [Citace: 20. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919113000265?via%3Dihub>. 1743-9191.

Biller, Jeffrey, a další. 1987. Efficacy of lactase-treated milk for lactose-intolerant pediatric patients. *ScienceDirect*. [Online] The Journal of Pediatrics, 1987. [Citace: 20. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347687803517>. 0022-3476.

Bisswanger, Hans. 2017. *Enzyme Kinetics, Principles and Methods, 3rd, Enlarged and Improved Edition*. Weinheim, : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2017. 978-3-527-80649-2.

Blaha, Vladimír a Víšek, Jakub. 2019. PCSK9 inhibitory v klinické praxi – update. *Pro lékaře*. [Online] 9. červenec 2019. [Citace: 16. květen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2019-3-13/pcsk9-inhibitory-v-klinicke-praxi-update-115147>.

Bonnerterre, Jacques. 2003. Aromatase inhibitors as first line treatment: Treatment cascade after failure of aromatase inhibitors. *ProQuest*. [Online] 2003. [Citace: 13. březen 2022.]

2022.]

<https://www.proquest.com/docview/212462046/B051B44DDA9549E1PQ/10?accountid=17239>.

Brahmachari, Goutam; Demain, Arnold a Adrio, Jose. 2016. Biotechnology of Microbial Enzymes - Production, Biocatalysis and Industrial Applications. *Knovel*. [Online] 28. říjen 2016. [Citace: 14. březen 2022.] https://app.knovel.com/kn/resources/kpBMEPBIA2/toc?b-q=therapeutic%20enzyme&include_synonyms=no&issue_id=kt0112S17A&hierarchy=undefined.978-0-12-803746-1.

Brown, Jeremy a Singh, Prashant. 2019. Coeliac disease. *Taylor and Francis Online*. [Online] 13. srpen 2019. [Citace: 20. únor 2022.] <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20469047.2018.1504431>.

Brown, Jessica a Banerji, Udai. 2017. Maximising the potential of AKT inhibitors as anti-cancer treatments. *ScienceDirect*. [Online] duben 2017. [Citace: 25. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725816302443?via%3Dihub>.

Brunovský, Martin. 2007. Přehledové články. *INHIBITORY CHOLINESTERÁZ HIBITORY CHOLINESTERÁZ*. [Online] 2007. [Citace: 9. květen 2022.] <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2007/02/12.pdf?msckid=9eba0718cf6311ec90e837cb7a98d139>.

El-Shafey, Mohamed, a další. 2008. Corynebacterium glutamicum superoxide dismutase is a manganese-strict non-cambialistic enzyme in vitro. *ScienceDirect*. [Online] 15. leden 2008. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501306000486>.

Ensor, Charles, a další. 2002. Pegylated arginine deiminase (ADI-SS PEG20,000 mw) inhibits human melanomas and hepatocellular carcinomas in vitro and in vivo. *PubMed*. [Online] 1. říjen 2002. [Citace: 18. únor 2022.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12359751/>.

Filková, Mária. 2018. Inhibitory Janusových kináz v terapii revmatoidní artritidy. *pro lékaře*. [Online] 2018. [Citace: 27. březen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-revmatologie/2018-3-29/inhibitory-janusovych-kinaz-v-terapii-revmatoidni-artritidy-107645>.

Fontana, Josef; Trnka, Jan a Peter, Ivák. 2018. Enzymy. *Funkce buněk a lidského těla*. [Online] Word Press, 2018. [Citace: 7. února 2022.] <http://fbtl.cz/skripta/ii-premena-latek-a-energie-v-bunce/6-enzymy/>.

Griess, Brandon, a další. 2017. Extracellular superoxide dismutase and its role in cancer. *ScienceDirect*. [Online] listopad 2017. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584917307293#!>.

Guo, Chuanjie, a další. 2019. Pharmacological properties and derivatives of shikonin—A review in recent years. *ScienceDirect*. [Online] listopad 2019. [Citace: 18. květen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661819313167>. 1043-6618.

Hakky, Tariq, a další. 2013. Využití inhibitorů fosfodiesterázy v urologii při léčbě erektilní dysfunkce. *ProLékaře*. [Online] 2013. [Citace: 11. květen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/urologicke-listy/2013-1/vyuziti-inhibitoru-fosfodiesterazy-v-urologii-pri-lecbe-erektilni-dysfunkce-40546?msclkid=fbac0163d07311ec94683dc2dc504b1c>.

Hames, David a Hooper, Nigel. 2011. *Biochemistry*. New York : Garland Science, 2011. 978--0-4156-60845-9.

Han, Rui-Zhi, a další. 2016. Arginine deiminase: recent advances in discovery, crystal structure, and protein engineering for improved properties as an anti-tumor drug. *SpringerLink*. [Online] 18. duben 2016. [Citace: 19. únor 2022.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-016-7490-z>.

Hardin, Charles a Knopp, James. 2013. *Biochemistry - Essential Concepts*. Oxford : Oxford University Press, 2013. 978-1-62870-176-0.

Hatti, Rajnni. 2011. Enzyme production. *UNESCO - ENCYCLOPEDIA OF LIFE SUPPORT SYSTEMS (EOLSS)*. [Online] Unesco - Eolss, 2011. [Citace: 15. únor 2022.] <https://www.eolss.net/sample-chapters/c17/E6-58-05-01.pdf>.

Heneberg, Petr. 2012. Dabrafenib: nový inhibitor hyperaktivní kinázy B-RAF. *Pro Lékaře*. [Online] 22. srpen 2012. [Citace: 21. květen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/klinicka-onkologie/2012-5-1/dabrafenib-novy-inhibitor-hyperaktivni-kinazy-b-raf-38976>.

Henchcliffe, Claire; Schumacher, Christian a Burgut, Tuna. 2007. Recent advances in Parkinson's disease therapy: use of monoamine oxidase inhibitors. *ProQuest*. [Online] listopad 2007. [Citace: 10. květen 2022.] <https://www.proquest.com/docview/889780623/abstract/FE9D90D059CB4890PQ/1?accountid=17239&parentSessionId=asa%2FfxvnGS2Gg88GDOLo%2FmYHe6g%2BQjfsF5zRhNRR1xcw%3D>. 1473-7175.

Hopkins, Andrew a Groom, Colin. 2002. The druggable genome. *Nature Reviews Drug Discovery*. [Online] 1. září 2002. [Citace: 9. březen 2022.] <https://www.nature.com/articles/nrd892#citeas>.

Hui, Yiu. 2006. *Food Biochemistry and Food Processing*. Ames : Blackwell Publishing Professional, 2006. 9780470277577.

Chen, Allan a Leroy, Liu. 1994. DNA Topoisomerases: Essential Enzymes and Lethal Targets. *ANNUAL REVIEWS*. [Online] 1994. [Citace: 24. březen 2022.] <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pa.34.040194.001203>.

Cherry, Joel. 2003. Directed evolution of industrial enzymes: an update. *Current Opinion in Biotechnology*. 4, 2003, 14.

Imanishi, Junko, a další. 2011. Pharmacological profile of FK881(ASP6537), a novel potent and selective cyclooxygenase-1 inhibitor. *ScienceDirect*. [Online] 1. říjen 2011. [Citace: 24. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295211004199?via%3Dihub>.

Jadhav, Swati, a další. 2020. Serratiopeptidase: Insights into the therapeutic applications. *ScienceDirect*. [Online] prosinec 2020. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X20307128>.

Kaur, Ramandeep a Sekhon, Bhupinder. 2012. Enzymes as drugs: An overview. *Proquest*. [Online] Journal of Pharmaceutical Education and Research, 3(2), 29-41, Prosinec 2012. [Citace: 14. únor 2022.] <https://www.proquest.com/scholarly-journals/enzymes-as-drugs-overview/docview/1321121197/se-2?accountid=17239>.

Khasa, Yogender Pal a Yougander, Adivitiya. 2017. The evolution of recombinant thrombolytics:. *Bioengineered*. [Online] 2017. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/21655979.2016.1229718?src=getftr>. 2165-5987.

Kirkali, Ziya. 2010. Nové trendy v systémové léčbě karcinomu ledviny. *Pro Lékaře*. [Online] 2010. [Citace: 17. duben 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/urologickelisty/2010-2/nove-trendy-v-systemove-lecbe-karcinomu-ledviny-32225>.

Klouda, Pavel. 2005. *Základy biochemie*. Ostrava : nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 2005. 80-8669-11-0.

Kodíček, Milan. 2007. Biochemické pojmy: výkladový slovník. *Enzymy - stereospecifita*. [Online] Vydavatelství VŠCHT Praha, 2007. [Citace: 7. únor 2022.] https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=enzymy_-_stereospecifita.

—, 2019. Malá říjnová enzymová revoluce. *Chemické listy*. [Online] 2019. [Citace: 30. březen 2022.] <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/download/3284/3247/>.

Kodíček, Milan; Valentová, Olga a Hynek, Radovan. 2015. *Biochemie chemický pohled na biologický svět*. Praha : VŠCHT Praha, 2015. 978-80-7080-927-3.

Kotýza, Jaromír. 2007. *Úvod do klinické biochemie a enzymologie ro studující lékařství*. Praha : Nakladatelství Karolinum, 2007. 978-80-246-1350-5.

Kurre, Helen, a další. 2002. A pharmaco-economic analysis of pegaspargase versus native *Escherichia coli* L-asparaginase for the treatment of children with standard-risk, acute lymphoblastic leukemia: the Children's Cancer Group study (CCG-1962). *PubMed*. *PubMed*. [Online] březen 2002. [Citace: 18. únor 2022.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11990302/>.

Ledvina, Miroslav; Stoklasová, Alena a Cerman, Jaroslav. 2004. *Biochemie pro studující medicíny 1. díl*. Hradec Králové : Univerzita Karlova v Praze - Nakladatelství Karolinum, 2004. 80-246-0849-9.

Liu, Shijie. 2020. *Bioprocess Engineering - Kinetics, Sustainability, and Reactor Design (3rd Edition)*. místo neznámé : Elsevier, 2020. 978-0-12-821012-3.

Majidzadeh, Keivan, a další. 2010. Cloning and Expression of Functional Full-Length Human Tissue Plasminogen Activator in *Pichia pastoris*. *SpringerLink*. [Online] 9. květen 2010. [Citace: 19. únor 2022.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-010-8979-z>.

Maňasková, Dana. 2018. Popis enzymatické reakce. *Medicinman*. [Online] 17. březen 2018. [Citace: 26. únor 2022.] <http://medicinman.cz/?p=leky-latky/enzymy/popis-enzymaticke-reakce>.

Maňasková, MUDr. Dana. 2018. Inhibitory enzymů. *medicinman.cz*. [Online] 17. březen 2018. [Citace: 26. únor 2022.] <http://medicinman.cz/?p=leky-latky/enzymy/inhibitory-enzymu>.

Meletis, Chris a Barker, Jason. 2005. Therapeutic Enzymes: Using the Body's Helpers as Healers. *Mary Ann Liebert, Inc. publisher*. [Online] 20. duben 2005. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/act.2005.11.74>.

Mihalovits, Levente; Ferenczy, György a Keserű, György. 2019. Catalytic Mechanism and Covalent Inhibition of UDP-N-Acetylglucosamine Enolpyruvyl Transferase (MurA): Implications to the Design of Novel Antibacterials. *ACS Publications. Most Trusted. Most Cited. Most Read*. [Online] 12. listopad 2019. [Citace: 18. březen 2022.] https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.9b00691?casa_token=fPpermElegIAAAAA%3

AWnkiOS_gVGxFrIWJ5BasUWWLm1k9LcS7WNd0N57dWAJreCXgw_HndEnbn-nO-x662IL9htmpGd1B0Zg&#.

Mikkelsen, Susan a Cortó, Eduardo. 2004. *BIOANALYTICAL CHEMISTRY*. New Jersey : John Wiley & Sons, 2004. 9780471623625.

Moore, Kathleen, a další. 2018. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *PubMed*. [Online] 21. říjen 2018. [Citace: 11. květen 2022.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30345884/>.

Moretto, Johnny; Pudlo, Marc a Demougeot, Céline . 2021. Human-based evidence for the therapeutic potential of arginase inhibitors in cardiovascular diseases. *ScienceDirect*. [Online] 1. leden 2021. [Citace: 24. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644620304700#!>. 1359-6446.

Nikkhoy, Zahra a Motamedi, Hossein . 2019. Fibrinolysin production by *Alcaligenes faecalis* strain 26 isolated from environment. *National Library of Medicine*. [Online] srpen 2019. [Citace: 30. březen 2022.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6829113/>.

Perušičová, Jindřiška. 2007. Inkretinová strategie léčby diabetes mellitus 2. typu - inhibitor DPP-IV sitagliptin. *Pro lékaře*. [Online] 17. srpen 2007. [Citace: 15. duben 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2007-10/inkretinova-strategie-lecby-diabetes-mellitus-2-typu-inhibitor-dpp-iv-sitagliptin-56977>.

Qin, Bin, a další. 2013. Directed evolution of *Candida antarctica* lipase B for kinetic resolution of profen esters. *SciencDirect*. [Online] 5. srpen 2013. [Citace: 12. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1566736713001246>.

Riordan-Eva, Paul a Witcher, John P. 2007. *Vaughan & Asbury's General Ophthalmology*. místo neznámé : McGraw Hill Professional, 2007. 0071593209.

Roehm, Klaus-Heinrich a Koolman, Jan. 2005. *Color Atlas of Biochemistry, second edition*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2005. 3-13-100372-3.

Rybka, Jaroslav. 2011. Analoga amylinu, inhibitory α -glukosidáz a trávicí systém v regulaci homeostázy. *Pro Lékaře*. [Online] 24. březen 2011. [Citace: 14. květen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2011-4/analog-a-amylinu-inhibitory-a-glukosidaz-a-travici-system-v-regulaci-homeostazy-35464>.

Sabu, Abdulhameed; Chandrasekaran , Muthusamy a Pandey, Ashok. 2000. Biopotential of microbial glutaminases. *Chemistry Today*. 2000, 11/12.

Salden, Bouke, a další. 2015. Randomised clinical study: *Aspergillus niger*-derived enzymedigests gluten in the stomach of healthy volunteers. *Alimentary Pharmacology &*

Therapeutics. [Online] John Wiley & Sons, 4. červen 2015. [Citace: 20. únor 2022.] <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/apt.13266?src=getftr>.

Sammons, Sarah; Topping, Donna a Blackwell, Kimberly. 2017. HR+, HER2–Advanced Breast Cancer and CDK4/6 Inhibitors: Mode of Action, Clinical Activity, and Safety Profiles. *Betham Science*. [Online] 13. březen 2017. [Citace: 10. duben 2022.] <http://www.eurekaselect.com/article/82571.1873-5576>.

Saqib, Shaima, a další. 2017. Sources of β -galactosidase and its applications in food industry. *SpringerLink*. [Online] 12. květen 2017. [Citace: 20. únor 2022.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-017-0645-5>.

Shaw, Shyh-Yu, a další. 2006. Enzymatic resolution of methyl DL- β -acetylthioisobutyrate and DL- β -acetylthioisobutyramide using a stereoselective esterase from *Pseudomonas putida* IFO12996. *SciencDirect*. [Online] 15. březen 2006. [Citace: 12. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117706000130>.

Sheng, Binbin, a další. 2014. Efficient Production of (R)-2-Hydroxy-4-Phenylbutyric Acid by Using a Coupled Reconstructed d-Lactate Dehydrogenase and Formate Dehydrogenase System. *PLOTS ONE*. [Online] 4. srpen 2014. [Citace: 12. březen 2022.] <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104204>.

Schibli, Susanne; Durie, Peter a Tullis, Elizabeth. 2002. Proper usage of pancreatic enzymes. *Curr Opin Pulm Med*. 2002, 8.

Sikora, Adam; Siódma, Tomasz a Marzall, Michal. 2014. Kinetic Resolution of Profens by Enantioselective Esterification Catalyzed by *Candida antarctica* and *Candida rugosa* Lipases. *Academia*. [Online] 2014. [Citace: 12. březen 2022.] https://www.academia.edu/29078979/Kinetic_Resolution_of_Profens_by_Enantioselective_Esterification_Catalyzed_by_Candida_antarctica_and_Candida_rugosa_Lipases?pop_sutd=false.

Slabý, Adolf a Žák, Aleš. 2010. Renin, prorenin a přímý inhibitor reninu aliskiren. *Pro Lékaře*. [Online] 2010. [Citace: 27. březen 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/casopis-lekaru-ceskych/2010-2-1/renin-prorenin-a-primy-inhibitor-reninu-aliskiren-31265>.

Sonkar, Amit, a další. 2017. UDP-N-Acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) of *Acinetobacter baumannii* (AbMurA): Structural and functional properties. *ScienceDirect*. [Online] duben 2017. [Citace: 18. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016324904?via%3Dihub>.

Stárka, Luboslav. 2007. Dihydrotestosteron a inhibitory steroidní 5α -reduktázy. *Pro Lékaře*. [Online] 2007. [Citace: 27. březen 2022.]

<https://www.prolekare.cz/casopisy/urologicke-listy/2007-3/dihydrotestosteron-a-inhibitory-steroidni-5a-reduktazy-49580>.

Sun, Xueyan, a další. 2021. Discovery and development of tumor glycolysis rate-limiting enzyme inhibitors. *ScienceDirect*. [Online] červenec 2021. [Citace: 18. květen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045206821002686#s0085>.

Špilovská, Katarína, a další. 2012. Inhibitory gamma-sekretázy v terapii Alzheimerovy choroby. *Pro lékaře*. [Online] 28. kěten 2012. [Citace: 10. duben 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-slovenska-farmacie/2012-3-10/inhibitory-gamma-sekretazy-v-terapii-alzheimerovej-choroby-38551>.

Štefánek, Jiří. 2011. HMG-CoA reduktáza. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK*. [Online] 2011. [Citace: 13. březem 2022.] <https://www.stefajir.cz/hmg-coa-reduktaza>.

Štosová, Taťána. 2013. Inovace profesní přípravy budoucích učitelů chemie. *PDF Free Download. Documents Professional Platform*. [Online] 2013. [Citace: 7. únor 2022.] <https://adoc.pub/download/text-zpracovala-mgr-taana-tosova-phd-pirodu-latky.html>.

Tandon, Siddhi, a další. 2021. Therapeutic enzymes: Discoveries, production and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021, 63.

Tiwari, Manju. 2017. The role of serratiopeptidase in the resolution of inflammation. *ScienceDirect*. [Online] květen 2017. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S181808761630160X>.

Treem, William R, a další. 1999. Sacrosidase Therapy for Congenital Sucrase-Isomaltase Deficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. [Online] únor 1999. [Citace: 20. únor 2022.] https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/1999/02000/Sacrosidase_Therapy_for_Congenital.8.aspx#:~:text=Sacrosidase%20is%20a%20safe%2C%20effective%2C%20well-accepted%20treatment%20to,intermittent%20watery%20diarrhea%20in%20afflicted%20infants%20and%20children.

Vasina, Michal, a další. 2022. Tools for Computational Design and High-Throughput Screening of Therapeutic Enzymes. *ScienceDirec*. [Online] únor. 12 2022. [Citace: 19. únor 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X22000333>.

Vellard, Michael. 2003. The enzyme as drug: application of enzymes as pharmaceuticals. *Current Opinion in Biotechnology*. 2003, Sv. 4, 14.

Vimal, Archana a Kumar, Awanish. 2018. L-Asparaginase: a feasible therapeutic molecule for multiple diseases. *SpringerLink*. [Online] 28. květen 2018. [Citace: 19. únor 2022.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-018-1282-3>.

Vodrážka, Zdeněk. 1992. *Biochemie I*. Praha : Academia, 1992. 80-200-0438-6.

Watanabe, Ichiro; Nara, Futoshi a Serizawa, Nobufusa. 1995. Cloning, characterization and expression of the gene encoding cytochrome P-450sca-in2 from *Streptomyces carbophilus* involved in production of pravastatin, a specific HMG-CoA reductase inhibitor. *SciencDirect*. [Online] 22. září 1995. [Citace: 13. březen 2022.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037811199500394L?via%3Dihub>.

White, Michael; Glenn, Melissa a Gomer, Richard. 2013. Trypsin Potentiates Human Fibrocyte Differentiation. *PLOS ONE*. [Online] 7. srpen 2013. [Citace: 20. únor 2022.] <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0070795>.

Wiley, John, a další. 1999. *Fundamentals of biochemistry*. New York : John Wiley, 1999. 0-471-58650-1.

Xiong, Lifeng, a další. 2016. Arginine Metabolism in Bacterial Pathogenesis and. *International Journal of Molecular Sciences*. [Online] 11. březen 2016. [Citace: 19. únor 2022.] [https://com-mendeley-prod-publicsharing-pdfstore.s3.eu-west-1.amazonaws.com/16c1-PUBMED/10.3390/ijms17030363/ijms_17_00363_pdf.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEMH%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCWV1LXdlc3QtMSJGMEQCIBSYVETWBUI0wnnlZyZkLBuiOdfQJ9D](https://com-mendeley-prod-publicsharing-pdfstore.s3.eu-west-1.amazonaws.com/16c1-PUBMED/10.3390/ijms17030363/ijms_17_00363_pdf.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEMH%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCWV1LXdlc3QtMSJGMEQCIBSYVETWBUI0wnnlZyZkLBuiOdfQJ9D).

Xu, G a McLeod, H. 2001. Strategies for enzyme/prodrug cancer therapy. *PubMed*. *PubMed*. [Online] 7. listopad 2001. [Citace: 18. únor 2022.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11705842/>.

You, Min, a další. 2012. TRAIL induces autophagic protein cleavage through caspase activation in melanoma cell lines under arginine deprivation. *SpringerLink*. [Online] 20. listopad 2012. [Citace: 19. únor 2022.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s11010-012-1518-1>.

Žáčková, Daniela, a další. 2021. Jaké dávky inhibitorů tyrozinkináz jsou v léčbě pacientů s chronickou myeloidní leukémií optimální? *Pro Lékaře*. [Online] 2021. [Citace: 8. duben 2022.] <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2021-1-8/jake-davky-inhibitoru-tyrozinkinaz-jsou-v-lecbe-pacientu-s-chronickou-myeloidni-leukemii-optimalni-126223>.