

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Růžena Špinarová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Thiolová skupina cysteinu jako cíl kovalentních inhibitorů proteinkináz
Růžena Špinarová

Bakalářská práce
2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Růžena Špinarová**
Osobní číslo: **C15278**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Thiolová skupina cysteinu jako cíl kovalentních inhibitorů protein kináz**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proteinové kinázy - význam, role v organismu, vznik onemocnění jejich deregulací.
2. Význam inhibitorů proteinových kináz při léčbě nekontrolovatelného růstu buněk a dalších onemocnění, principy inhibice a příklady konkrétních inhibitorů.
3. Inhibitory protein kináz využívající thiolovou skupinu cysteinu k blokaci jejich funkce, z řad akrylamidů, sulfonamidů, vinylsulfonů případně dalších skupin organických molekul. Popis principu účinku a struktury těchto sloučenin, účinnost na protein kinázy a význam v klinické praxi.
4. Použití vybraných inhibitorů v léčbě konkrétních onemocnění.
5. Výsledky zpracujte formou bakalářské práce.

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

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Aleš Imramovský, Ph.D.**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

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

V Pardubicích dne 28. února 2019

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., autorský zákon, 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. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 8.7.2020

Růžena Špinarová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Aleši Imramovskému, Ph.D. za jeho ochotu, vstřícný přístup, cenné rady a trpělivost při zpracovávání této práce.

Dále bych chtěla poděkovat rodině, která mě během studia podporovala a velké poděkování patří Květě Vackové, mému příteli a synovi za podporu a umožnění dopsání bakalářské práce.

ANOTACE

Bakalářská práce se zaměřuje na proteinové kinázy, popis jejich funkcí v organismu, onemocnění, které mohou vzniknout jejich deregulací, a na jejich inhibitory. Konkrétně se zabývá inhibitory, které cílí na thiolovou skupinu cysteinu proteinkináz a mechanismem jejich účinku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Proteinkináza, deregulace, inhibitor, cystein, zhoubné bujení.

TITLE

Cysteine thiol group as a target of covalent protein kinase inhibitors.

ANNOTATION

This bachelor thesis aims at protein kinases, a description of their function in organism, an illnesses, which can be caused by their deregulation, and at their inhibitors. It particularly deals with inhibitors which targets the thiol group of cysteine in protein kinases and with mechanism of their effect.

KEYWORDS

Protein kinase, deregulation, inhibitor, cysteine, malignancy.

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| Seznam obrázků | 8 |
| Seznam tabulek | 9 |
| Seznam zkratk | 10 |
| Úvod | 14 |
| 1 Proteinové Kinázy | 15 |
| 1.1 Nadrodina protein kináz..... | 16 |
| 1.2 Příčiny onemocnění | 18 |
| 1.2.1 Kardiovaskulární onemocnění | 18 |
| 1.2.2 Nemoci CNS | 20 |
| 1.2.3 Virová onemocnění..... | 22 |
| 1.2.4 Imunitní onemocnění | 23 |
| 1.2.5 Onkologická onemocnění | 25 |
| 1.3 Inhibitory proteinkináz | 27 |
| 1.4 Organické látky se zaměřením na cysteinový zbytek v ATP-vazebné kapse..... | 31 |
| 1.4.1 Neratinib (HKI-272) | 32 |
| 1.4.2 Afatinib (BIBW-2992)..... | 34 |
| 1.4.3 Dacomitinib (PF-00299804)..... | 35 |
| 1.4.4 Rociletinib (CO 1686, AVL-301)..... | 36 |
| 1.4.5 Ibrutinib (PCI-32765) | 38 |
| 1.4.6 Spebrutinib (AVL-292)..... | 39 |
| 1.4.7 Acalabrutinib (ACP-196)..... | 41 |
| 1.4.8 Osimertinib (AZD-9291) | 42 |
| 1.4.9 Olmutinib (HM-61713)..... | 44 |
| 1.4.10 Canertinib (CI-1033)..... | 45 |
| 1.4.11 WZ-4002 | 47 |
| 1.4.12 BLU-9931 | 48 |
| Závěr | 49 |
| Použitá literatura | 50 |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Příklad fosforylace a defosforylace serinu. (Upraveno z [1])..... | 15 |
| Obrázek 2: Schéma účinku cAMP prostřednictvím proteinkináz. (upraveno z [2]) | 16 |
| Obrázek 4: Způsob vazby inhibitoru: znázornění vazebného místa ATP a rozčlenění do subregionů. [18]..... | 28 |
| Obrázek 5: Způsob vazby inhibitoru: schématické znázornění alosterického vazebného místa. [18]..... | 29 |
| Obrázek 6: Příklad nevratné Michaelovy reakce: reakce akrylamidu s thiolovou skupinou cysteinu. (Upraveno z [61]) | 31 |
| Obrázek 7: Strukturní vzorec neratinibu. | 32 |
| Obrázek 8: Strukturní vzorec afatinibu. | 34 |
| Obrázek 9: Strukturní vzorec dacomitinibu..... | 35 |
| Obrázek 10: Strukturní vzorec rociletinibu. | 36 |
| Obrázek 11: Strukturní vzorec ibrutinibu..... | 38 |
| Obrázek 12: Strukturní vzorec spebrutinibu..... | 39 |
| Obrázek 13: Strukturní vzorec acalabrutinibu..... | 41 |
| Obrázek 14: Strukturní vzorec osimertinibu. | 42 |
| Obrázek 15: Strukturní vzorec olmutinibu. | 44 |
| Obrázek 16: Strukturní vzorec canertinibu..... | 45 |
| Obrázek 17: Strukturní vzorec WZ-4002. | 47 |
| Obrázek 18: Strukturní vzorec BLU-9931. | 48 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| Tabulka 1: Rozčlenění nadrodiny ePK do skupin. | 17 |
| Tabulka 2: Účinky proteinkináz při zvýšené aktivaci nebo nadměrné expresi. [5] | 19 |
| Tabulka 3: Důsledky dysfunkce PK centrálního nervového systému. | 20 |
| Tabulka 4: Proteinkinázy které hrají roli při virové infekci. | 22 |
| Tabulka 5: Mutace a deficity PK způsobující imunitní onemocnění. | 23 |
| Tabulka 6: Dysfunkce PK způsobující zhoubné bujení. | 25 |
| Tabulka 7: Srovnání obecných vlastností inhibitorů I a II typu. [18] | 30 |

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|------------|--|
| ABL | Abelson |
| ADP | Adenosindifosfát |
| AGC | Skupina proteinkinázových rodin A, G a C |
| ALPK1 | Alpha-protein kinase 1 |
| AML | Akutní myeloblastická leukémie |
| AMPK | Adenosine monophosphate-activated protein kinase |
| ApoB | Apolipoprotein B |
| ApoE | Apolipoprotein E |
| ATP | Adenosintrifosfát |
| BCR-ABL | Breakpoint cluster region-Abelson |
| B-NHL | B-buněčný non-Hodgkinův lymfom |
| BTK | Brutonova tyrosinkináza |
| BTK1 | Brutonova tyrosinkináza 1 |
| BTKi | Inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy |
| C797 | Cystein 797 |
| c-AKT | Proteinkináza B |
| CAMK | Skupina Calcium and calmodulin-regulated kinases |
| CAMKII | Multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase II |
| cAMP | Cyklický adenosinmonofosfát |
| CD86, CD69 | Proteiny exprimované na buňkách prezentujících antigen |
| CDK | Cyclin-dependentní kináza |
| cGVHD | Chronické onemocnění štěp vs hostitel |
| CHK2 | Checkpoint kinase 2 |
| CK1 | Kaseinová kináza 1 |
| CK2 | Kaseinová kináza 2 |
| C- koncová | Zakončení peptidu karboxylovou skupinou |
| CLL | Chronická lymfocytární leukémie |
| CMGC | Zkratka pro 4 skupiny kináz (CDK, MAPK, GSK3, CLK) |
| CML | Chronická myeloidní leukémie |
| CRC | Kolorektální karcinom |
| Cys | Aminokyselina cystein |

| | |
|-----------------------------|--|
| DAPK1 | Death-associated protein kinase 1 |
| DCM | Dilated cardiomyopathy |
| DFG (DFG-out) | Konformace kináz |
| DLBCL | Difúzní velkobuněčný B lymfom |
| Dráha PI3K/Akt/mTOR | Intracelulární signální dráha (Phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin) |
| EGFR (ErbB1) | Receptor epidermálního růstového faktoru, humánní epidermální receptor 1 |
| ePK | Eukaryotická proteinkináza |
| ERK | Extracellular signal–regulated kinase |
| ERK1 | Extracellular-signaling-related kinase 1 |
| ERK2 | Extracellular-signaling-related kinase 2 |
| ERK3 | Extracellular-signaling-related kinase 3 |
| ERK5 | Extracellular-signaling-related kinase5 |
| ERK7 | Extracellular-signaling-related kinase 7 |
| FAK | Focal adhesion kinase |
| FDA | Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration) |
| FGFR4 | Lidský fibroblastický růstový faktor 4 |
| FLT-3 | FMS-like tyrosine kinase 3 |
| G1 fáze | Fáze buněčného cyklu, postmitotická fáze |
| GCSF (α , β) | Granulocyte colony-stimulating factor (α , β) |
| GPCR | Receptory sdružené s G-proteinem |
| GSK3 | Glycogen synthase kinase |
| HCV | Hepatitida typu C |
| HER2 (ErbB2) | Humánní epidermální receptor 2 |
| HER2mut | Mutace HER2 |
| HER4 (ErbB4) | Humánní epidermální receptor 4 |
| HIV-1 | Virus lidské imunodeficiency typu 1 |
| HSV | Herpes simplex virus |
| IFN | Interferony |
| IGFR1 | Insulin-like growth factor 1 receptor |
| Ig izotop | Imunoglobulinový izotop |
| IL-1 | Interleukin-1 |

| | |
|------------------|---|
| IL-2 | Interleukin-2 |
| IL-6 | Interleukin-6 |
| IL-8 | Interleukin-8 |
| IL-33 | Interleukin-33 |
| IRAK1 | Interleukin-1 receptor-associated kinase 4 |
| IRAK4 | Interleukin-1 receptor-associated kinase 1 |
| ITK | IL2-inducible T-cell kinase |
| JAK1 | Janus kináza 1 |
| JAK2 | Janus kináza 2 |
| JAK3 | Janus kináza 3 |
| JAK/STAT | Janus kinase/Signal transducers and activators of transcription- signální dráha |
| JNK | c-Jun N-terminal kinase |
| L858R | Záměna leucinu za arginin v poloze 858 (mutace EGFR) |
| Li | Lithium |
| LISK | Rodina kináz obsahující 2 podrodiny: LIMK a TESK |
| LRRK2 | Leucine rich-repeat kinase |
| LVAD | Left ventricular assist device |
| M502 | Metabolit rociletinibu |
| MAPK | Mitogen-activated protein kinases |
| MCL | Lymfom z plášťových buněk |
| Met | Aminokyselina methionin |
| Mg ²⁺ | Hořčnatý kationt |
| MLCK | Myosin light chain kinase |
| MLK | Mixed lineage kinase |
| NK-buňka | Natural killer cell |
| N- koncová | Zakončení peptidu amino skupinou |
| NSCLC | Nemalobuněčný karcinom plic |
| PAK | Proteinkináza A |
| PAK1 | p21-activated kinase 1 |
| Pan-ErbB | Všichni čtyři členové rodiny receptorů ErbB |
| PDGRF | Platelet-derived growth factor receptor |
| PI3Kδ | Fosfatidylinositol-3-kináza δ |
| PK | Proteinkináza |

| | |
|-------------|--|
| PKC | Proteinkináza C |
| PKC β | Proteinkináza C β |
| PRRSV | Virus reprodukčního a respiračního syndromu prasat |
| PSAE | Pseudomonas aeruginosa |
| QTc | Správný interval QT |
| Raf | Rapidly accelerated fibrosarcoma |
| RGC | Receptor guanylate cyclases |
| RIPK | Receptor-interacting protein kinase |
| ROCK1 | Rho-associated protein kinase 1 |
| SCC | Spinocelulární karcinom plic |
| S fáze | Fáze buněčného cyklu, fáze replikace DNA |
| SLE | Systémový lupus erythematoses |
| SLL | Malý lymfocytární lymfom |
| SRC | Rodina tyrosinových proteinkináz |
| STAU | Staphylococcus aureus |
| STE | Homolog kvasinkových kináz Sterile 7, Sterile 11, Sterile 20 |
| STK | Serin/threonin kináza |
| STPN | Streptococcus pneumoniae |
| T790M | Záměna threoninu za methionin v poloze 790 |
| TBB | 4,5,6,7-tetrabromonebzotriazol (inhibitor) |
| TBK1 | TANK-binding kinase 1 |
| TK | Tyrosinkináza |
| TKL | Tyrosine kinase-like |
| TLR | Toll-like receptor |
| TLR3 | Toll-like receptor 3 |
| TTRK | Tau tubulin kinase |
| TYK2 | Tyrosinkináza 2 |
| VEGFR | Vascular endothelial growth factor receptor |
| VRK | Vaccinia-related kinase |
| WM | Waldenstromova makroglobulinémie |
| ZAP70 | Zeta Chain Of T Cell Receptor Associated Protein Kinase 70 |

ÚVOD

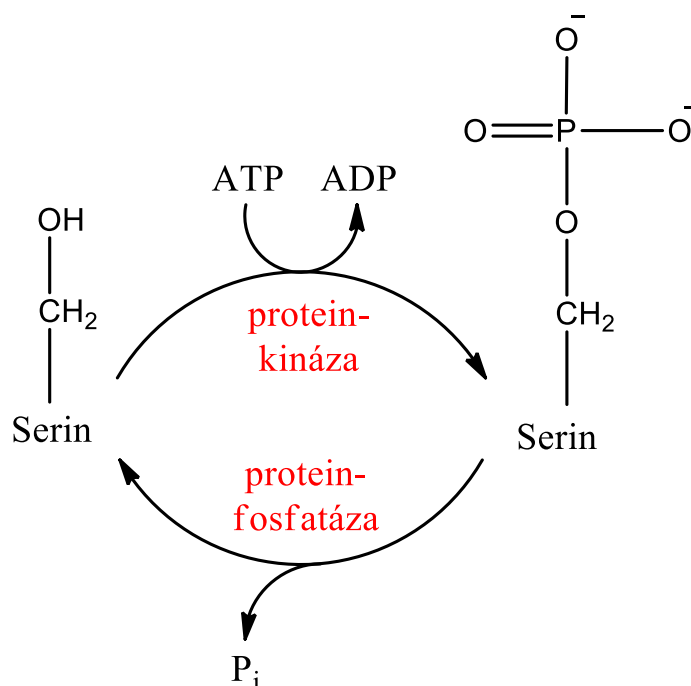
Lidské tělo je nesmírně složité a pro jeho fungování je zapotřebí mnoho látek a sloučenin, které určité funkce zajišťují. Negungují-li však správně, mohou mít za následek rozvinutí nějakého onemocnění. Takovými látkami jsou proteinové kinázy. Mají v lidském organismu důležité a nenahraditelné role, například přenos signálů, kontrola buněčných procesů, nebo správné fungování nervového a imunitního systému. Dojde-li k deregulaci jejich aktivity, následkem vznikají onemocnění kardiovaskulárního systému, centrálního nervového systému, zhoubná bujení a další. Z proteinkináz to dělá příčinu onemocnění, ale zároveň cíl pro léčbu.

Výzkumů cílených na inhibici proteinkináz je velké množství a na trhu najdeme i mnoho léčiv, zejména na rakovinu. Ve vývoji se však stále pilně pokračuje, jelikož některé již dosud vyvinuté inhibitory jsou buď málo specifické, nebo vůči nim vzniká rezistence.

Bakalářská práce je zaměřena na inhibitory s malou molekulou, které jsou cílené na cysteiny přítomné v proteinových kinázách. Inhibitory cílené na thiolovou skupinu cysteinu se zaměřují na určitou proteinkinázu, případně na úzký okruh podobných PK, jsou tedy specifičtější, jsou účinnější a pojí se s tím i méně nežádoucích účinků. Práce obsahuje popis několika takto specifických inhibitorů, z nichž některé jsou již schválené pro oficiální léčbu.

1 PROTEINOVÉ KINÁZY

Proteinové kinázy jsou důležitá skupina kináz (enzymů), které katalyzují navázání fosforylové skupiny na postranní řetězec aminokyseliny proteinu (neboli fosforylace proteinu). Při fosforylaci se kovalentně naváže fosforylová skupina z ATP na hydroxylovou skupinu postranního řetězce threoninu, serinu, nebo tyrosinu, čímž dochází k regulaci funkce proteinů. Opačnou reakcí je defosforylace, neboli odstranění fosforylové skupiny za katalýzy proteinfosfatázou (Obrázek 1). [1][2]

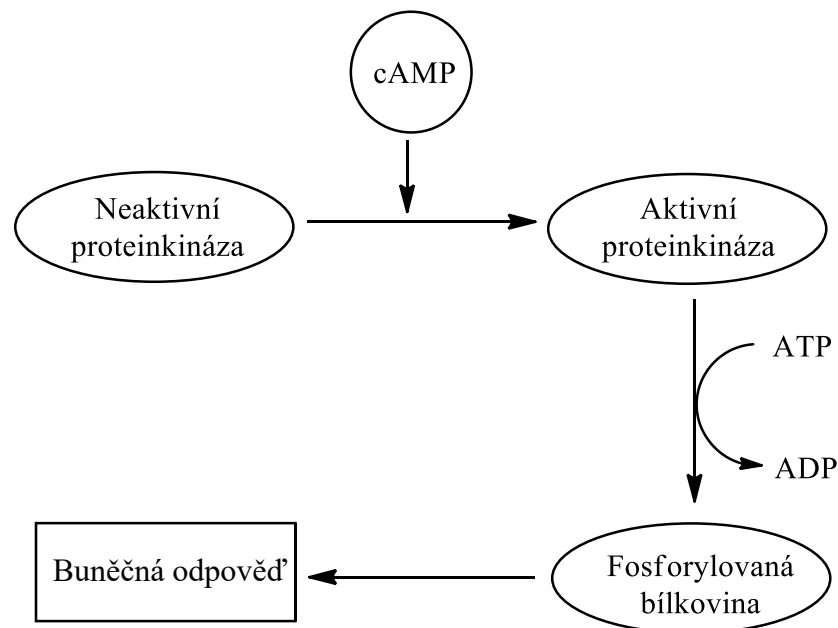


Obrázek 1: Příklad fosforylace a defosforylace serinu. (Upraveno z [1])

Proteinkinázy jsou zprostředkovatelé většiny signální transdukce v eukaryotických buňkách. Dále kontrolují mnoho buněčných procesů modifikací aktivity substrátu, jedná se o metabolismus, transkripci, progresi buněčného cyklu, apoptózu, přeskupení cytoskeletu a pohybu buněk, a diferenciaci. Zásadní roli také hrají v mezibuněčné komunikaci během vývoje, ve fyziologických reakcích, v homeostáze a ve fungování nervového a imunitního systému. [3]

Příkladem uplatnění proteinkináz je při aktivaci molekulových přepínačů, což jsou intracelulární signální proteiny, které se proteinkinázami aktivují a tím dochází k převodu vstupního signálu. Molekulové přepínače mohou v mnoha případech být sami

proteinkinázami a jsou uspořádány do fosforylačních kaskád, což znamená že jedna proteinkináza aktivovaná fosforylací fosforyluje další proteinkinázu, tím se signál neustále předává, zesiluje, rozděluje či moduluje. Příkladem může být zprostředkování regulačních účinků cAMP proteinkinázami. Cyklický AMP aktivuje mechanismem alosterického efektu katalytické podjednotky (neaktivní proteinkinázu). Aktivovaná proteinkináza poté přenáší fosforylovou skupinu na zbytky serinu nebo threoninu bílkovin regulovaných hormonem. Přenosem fosforylové skupiny dochází k aktivaci, či inaktivaci těchto bílkovin a ty působí modulačně na různé biochemické reakce. [2] Zjednodušené schéma je uvedené na Obrázku 2.



Obrázek 2: Schéma účinku cAMP prostřednictvím proteinkináz. (upraveno z [2])

1.1 Nadrodina protein kináz

Proteinkinázy patří mezi největší genové rodiny, výzkumem z roku 2002 bylo identifikováno 518 lidských proteinkináz, které tvoří zhruba 1,7 % všech lidských genů. [3] Dalšími výzkumy se rodina proteinkináz rozšiřuje, v článku z roku 2013 počet vzrostl na 530. [4] Kompletní dendrogram viz Příloha A.

Rozdělení nadrodiny ePK dle Hanks a Hunter je do pěti skupin: AGC, CAMK, CMGC, konvenční tyrosinové kinázy a ostatní. Manning et al. rozšířili klasifikaci o dalších 5 skupin (z toho 4 nové), o 44 rodin a 51 podrodin právě přidáním nových skupin. Přehled rozdělení skupin je v Tabulce 1. Nová skupina STE se skládá z MAPK kaskád. Do skupiny CK1 spadají rodiny CK1, TTBK a rodiny VRK. Skupina TKL je rozmanitá, kinázy řadící se do této

skupiny jsou podobné tyrosinovým i serin-threoninovým kinázám. Do této skupiny patří MLK, LISK, IRAK, Raf, RIPK. Poslední novou skupinou je RGC, jejíž zástupci jsou podobní tyrosinovým kinázám. [3]

Tabulka 1: Rozčlenění nadrodiny ePK do skupin.

| | Skupiny nadrodiny ePK |
|---|----------------------------------|
| Rozčlenění dle Hanks a Hunter | AGC |
| | CAMK |
| | CMGC |
| | Konvenční tyrosinové kinázy (TK) |
| | Ostatní |
| Rozšíření klasifikace dle Manning et al. | STE |
| | CK1 |
| | TKL (tyrosine kinase-like) |
| | RGC |
| | Atypické |

1.2 Příčiny onemocnění

Znalost genetické informace může být přínosná při určování genů v lokusech, které jsou spojeny s určitými chorobami. Při porovnání s chromozomální mapou kináz zjistíme, že 164 kináz mapuje amplikony, které jsou často pozorovány v nádorech, a dalších 80 kináz mapuje lokusy, které se podílejí na dalších závažných onemocněních spojených s metabolismem, vývojem, imunologií a infekčními nemocemi. Onemocnění však nezpůsobují přímo proteinkinázy, ale deregulace jejich aktivity. [6] Tyto údaje se stávají důležitými při zkoumání principů těchto onemocnění a hlavně činí z kináz cíle pro jejich léčbu. [3][4]

1.2.1 Kardiovaskulární onemocnění

Zvýšenou aktivací nebo nadměrnou expresí některých proteinkináz dochází k chorobným stavům kardiovaskulárního systému. V Tabulce 2 jsou uvedené proteinkinázy, které mohou mít nežádoucí účinek na kardiovaskulární systém při vyšší aktivitě.

Tabulka 2: Účinky proteinkináz při zvýšené aktivaci nebo nadměrné expresi. [5]

| Proteinkináza | Změna v postižené tkáni | Důsledek nadměrné exprese nebo zvýšené aktivace |
|----------------------|---|---|
| PKA | Zvýšená aktivita | Hypertrofie, dysfunkce, náhlá smrt |
| CaMKII | Zvýšená exprese | Hypertrofie, dysfunkce, náhlá smrt |
| PKC | Zvýšená aktivita a exprese | Zlepšení funkce PKC β po ischemii |
| ERK | Beze změny v aktivitě u ischemické myopatie | Aktivita ERK1/2 způsobuje hypertrofii a zvýšené kontrakce |
| p38 MAPK | Zvýšená aktivita u ischemické myopatie a po podpoře LVAD | Fibróza, dysfunkce, náhlé úmrtí bez hypertrofie |
| JNK | Zvýšená aktivita u ischemické myopatie a snížení při podpoře LVAD | Rozšíření síní |
| JAK/STAT | Nárůst JAK1 a snížení JAK2 aktivací v DCM | Aktivace pomocí GCSF podporuje přežití buňky |
| c-AKT | Snížená aktivita po LVAD | Aktivovaná c-AKT zachovává funkci po ischemické reperfusi, ale s nárůstem infarktu myokardu |

Proteinkinázy mohou být regulovány druhými posly (cyklické AMP a vápník). Hladiny druhých poslů jsou však řízené GPCR (receptory sdružené s G-proteinem), které reagují na extracelulární signály, jako jsou hormony, neurotransmitery a růstové faktory. GPCR stojí na vrcholku přenosu signálu, tudíž jeden druh GPCR může měnit více druhů poslů a každý z poslů může aktivovat více mediátorů. Tudíž inhibice na úrovni GPCR nedokáže ovlivnit pouze projevy nemoci. Nabízí se tedy inhibice na úrovni proteinových kináz, která vyvolá vysoce selektivní biologické účinky ve srovnání s léky cílené na GPCR, které brání aktivaci celé signalizační sítě. Příkladem může být žádoucí efekt umožnění inotropní odezvy na stimulaci β -adrenergních agonistů při srdečním selhání u pacientů, zatímco se eliminují proarytmické, hypertrofické a apoptotické důsledky. [5]

GPCR receptory se neúčastní pouze přenosu signálů v srdci, umožňují regulaci pochodů řízených hormony, vnímání pachů, ovlivňují buněčný růst a i přenos nervových impulsů. [7]

1.2.2 Nemoci CNS

Výzkum léků, resp. inhibitorů proteinkináz, pro onemocnění CNS zaostává oproti jiným oblastem, jako je například výzkum léků proti rakovině. Navíc asi 25% publikací souvisejících s poruchami CNS, se zabývá právě rakovinou CNS. Problém vývoje kinázových inhibitorů cílených na CNS je v podstatě malé molekuly, která by byla schopna proniknout hematoencefalitickou bariérou v mozku. V Tabulce 3 jsou příklady proteinových kináz pro cílení inhibitorů.

Tabulka 3: Důsledky dysfunkce PK centrálního nervového systému.

| Proteinkináza | Důsledky změny funkce PK |
|---------------|---|
| GSK3 | Diabetes, hypertrofie svalů, rakovina, Alzheimerova choroba, neuropsychiatrické poruchy, mrtvice, poruchy spánku, afektivní poruchy |
| DAPK1 | Náchylnost k Alzheimerově chorobě |
| P38 | Alzheimerova choroba, Downův syndrom, Parkinsonova nemoc, cerebrální ischemie a neuropatické bolesti |
| JNK | Cerebrální ischemie, subarachnoidální krvácení, nemoc motorického neuronu, Huntingtonova a Parkinsonova choroba |
| ROCK1 | Cerebrální vazospasmus a mikrovaskulární poruchy |
| MLCK | Roztroušená skleróza, mrtvice nebo traumatická poranění mozku |
| LRRK2 | Parkinsonova choroba |
| PAK1 | Neurodegenerativní onemocnění |
| CK1 | Alzheimerova nemoc |

GSK3 (*Glycogen synthase kinase-3*) je serin-treoninová PK, která má 2 izoformy (GSK3 α , +GSK3 β). Tato kináza reguluje mnoho funkcí, jako metabolismus glukózy, genovou expresi, organizaci cytoskeletu, vezikulární transport, buněčný růst, diferenciaci a přežití buněk, skrze různé substráty a signalizační cesty. Zvýšená regulace aktivity GSK3 je spojena

s patologickými stavy jako diabetes, hypertrofie svalů, rakovina, Alzheimerova choroba a jiné neuropsychiatrické poruchy, mrtvice, poruchy spánku, či afektivní poruchy. Deregulace GSK3 byla studii spojena s Alzheimerovou chorobou, inhibítorem zde může být lithium, které se používá při léčbě bipolárních poruch. Lithium zřejmě snižuje aktivitu GSK3 jak inhibicí enzymové aktivity, tak i konkurencí s ionty Mg^{2+} , bohužel ovlivňuje i další enzymy a proto není inhibice prostřednictvím GSK3 potvrzena a kvůli svým nežádoucím účinkům není léčba lithiem vhodná. Přesto studie s lithiem vyvolaly zájem o vývoj více selektivních inhibitorů GSK3, například lithiová mimetika založená na maleimidu. [6]

DAPK1 (Death-associated protein kinase 1) je serin-threoninová PK, která se uplatňuje při apoptóze buněk. Podílí se na synaptické dysfunkci při akutním i trvalém poranění mozku a způsobuje náchylnost k Alzheimerově chorobě. Při správné inhibici však může mít DAPK1 fyziologické funkce, může podpořit buněčnou smrt a inhibovat synaptickou dysfunkci. Dosud však nebyly zveřejněny žádné klinicky vhodné inhibitory DAPK1. [6]

MAPK (Mitogen-activated protein kinase). Jedná se o serin-threoninové proteinové kinázy, které zpracovávají extracelulární podněty prostřednictvím sérií intracelulárních signalizačních komplexů a fosforylačních kaskád. Do této rodiny patří podrodiny ERK1, ERK3, ERK5, ERK7, JNK, p38. Například dráha p38 MAPK je aktivovaná v mozku při některých poruchách jako je Alzheimerova choroba, Downův syndrom, Parkinsonova nemoc, cerebrální ischemie a neuropatické bolesti. Dále inhibice dráhy JNK je účinná při neurodegenerativních poruchách jako je cerebrální ischemie, subarachnoidální krvácení, nemoc motorického neuronu, Huntingtonova a Parkinsonova choroba, či ztráta sluchu v závislosti na věku. [6]

ROCK1 (Rho-associated protein kinase 1) a **MLCK (Myosin light-chain kinase)** jsou aktomyosin-asociované serin-threoninové proteinkinázy. Roli hrají v dysfunkci tkáňové bariéry zvýšením fosforylace lehkého řetězce myosinu a zprostředkováním následných cytoskeletárních změn, nebo při mikrovaskulární dysfunkci. Inhibítorem ROCK1 je fasudil, nyní klinicky testován ve Spojených státech, jeho schválená indikace je pro cerebrální vazospasmus a mikrovaskulární poruchy. Ve vyšších dávkách (mikromoly) může fasudil fungovat i jako inhibitor MLCK, což je testováno prozatím na zvířecích modelech. Inhibice MLCK může mít vliv na léčbu poruch CNS s dysfunkcí tkáňové bariéry jako je roztroušená skleróza, mrtvice nebo traumatická poranění mozku. [6]

Dalšími kandidáty na terapeutické cíle může být například LRRK2 (Leucin-rich repeat kinase 2), který se může lokalizovat v Lewyho tělískách v mozkové tkáni při Parkinsonově

chorobě. Dále PAK1 (z kinázové rodiny PAK) jehož exprese je změněná u neurodegenerativních onemocnění, CK1 (Kaseinová kináza 1) jejíž exprese je zvýšená u Alzheimerovy choroby a může fosforylovat presenilin (protein spojený s Alzheimerovou chorobou). [6]

1.2.3 Virová onemocnění

Virová replikace a patogeneze zahrnuje mnoho buněčných proteinkináz. Inhibicí těchto kináz lze zastavit virovou replikaci v kultivovaných buňkách a lze tím léčit onemocnění vyvolaná virem. [8]

Tabulka 4: Proteinkinázy které hrají roli při virové infekci.

| Proteinkináza | Virus |
|---------------|--|
| GSK3- β | Hepatitida C |
| CDK | Herpes simplex, HIV-1 |
| PI3K/Akt | Ebola, virus chřipky A, vakcínie, PRRSV |
| ErbB1 | Pravé neštovice, hepatitida B, virus Epstein-Barrové |

GSK3- β (glykogen synthase kinase- β) hraje důležitou roli při sestavování viru hepatitidy C (HCV) a uvolňování virových částic s pomocí apolipoproteinů (ApoE a ApoB). K inhibici slouží lithium a AR-A014418 a cílí se na hostitelské proteiny jako cyklophilin, fosfatidylinositol 4-kináza alfa a proteiny tepelného šoku. Li i AR-A014418 zesilují fosforylaci GSK3- β , inhibují syntézu ApoB a zadržují ApoE v buňce, čímž nedochází k sestavování virových částic HCV a k jejich uvolňování. Inhibitory Li a AR neovlivňují životaschopnost buněk, ani jejich další funkce. [9]

CDK (Cyklindependentní kináza) hraje důležitou roli při replikaci viru herpes simplex (HSV) a HIV-1. Inhibicí CDK lze zablokovat replikaci virů. [58]

Hostitelskou cestou PI3K/Akt je možno aktivovat více virů, například vstup viru Ebola, translace a transkripce virových genů chřipky A, dále virus vakcínie nebo PRRSV. [8]

Receptor ErbB1 hraje důležitou roli ve zprostředkování virové signální sítě viru pravých neštovic, viru hepatitidy B a viru Epstein-Barrové. [59]

1.2.4 Imunitní onemocnění

Tabulka 5: Mutace a deficity PK způsobující imunitní onemocnění.

| Proteinkináza | | Typ onemocnění |
|---------------------|------|--|
| IRAK4 | | Autozomální recesivní onemocnění s malou produkcí IL-6 a IL-8 |
| JAK (JAK 1-3, TYK2) | JAK2 | Myeloproliferativních onemocnění, primární polycytémie, primární trombocytémie a primární myelofibróza |
| | JAK3 | Těžká kombinovaná imunodeficience s deficitem T- nebo NK-buněk |
| | TYK2 | Revmatoidní artritida |
| BTK | | X-vázaná agamaglobulinémie |
| ZAP70 | | Autoimunitní artritida |
| TBK1 | | Možnost nákazy herpetickou encefalitidou, glaukom s normální tenzí |
| PI3K δ | | Kombinovaná imunodeficience |
| ALPK1 | | Faktor citlivosti na Dnu |
| IRAK1 | | Systémový lupus erythematodes |

IRAK4 (*IL-1R-associated kinase 4*) je zásadní pro signální síť spuštěnou ligandy TLR a receptory IL-1, IL-18, IL-33. Deficit IRAK4 je autozomální recesivní onemocnění, kdy se produkuje jen malé množství IL-6 nebo IL-8 v reakci na agonisty IL-1 nebo TLR. Lidé s tímto deficitem jsou vysoce citliví na pyogenní bakterie (STPN, STAU, PSAE), způsobující meningitidu, sepsi, artritidu a hluboké vnitřní abscesy.

Rodina JAK zahrnuje JAK1, JAK2, JAK3 a TYK2. Mutace Val617 v JAK2 je příčinou myeloproliferativních onemocnění (například CML) a mutace Val617F způsobuje primární polycytémii, primární trombocytémii a primární myelofibrózu. Deficitem JAK3, nebo mutací v receptoru IL-2 (se kterým se asociuje) vzniká těžká kombinovaná imunodeficience, při níž chybí T-buňky nebo NK-buňky. Nedostatek TYK2 je spojen s citlivostí na virové infekce a jiné patogeny. Mutace P1104A TYK2 je spojena s revmatoidní artritidou.

BTK (Brutonova tyrosinkináza) je rozhodující pro zrání B-buněk a aktivaci žírných buněk. Gen kódující BTK je na chromozomu X a mutace v tomto genu je důvodem většiny X-vázaných agamaglobulinémií. Účinným inhibítorem je ibrutinib (Imbruvica®).

Proteinkináza ZAP70 je důležitá pro funkci T-buněk. Dojde-li k mutaci v ZAP70, znamená to těžký deficit T-buněk a už od narození se pacient potýká s opakujícími se infekcemi. Mutace v C-terminální SH2 doméně ZAP70 způsobuje autoimunitní artritidu. Autoimunitní onemocnění způsobuje i mutace v substrátu LAT ZAP70.

Proteinkináza TBK1 se účastní signální sítě TLR3. Při deficitu proteinů účastnících se této signální sítě dochází k onemocnění encefalitidou způsobenou virem Herpes simplex (HSE), jelikož signální síť TLR3 (a následná produkce IFN) je důležitá pro ochranu imunitu v dětství proti infekci CNS způsobené HSV1. Jiným případem onemocnění je duplikace TBK1 (zvýšená aktivita) u pacientů s glaukomem s normální tenzí.

PI(3)K δ (Phosphatidylinositol 3-OH kinase- δ) je exprimován pouze v imunitních buňkách a při mutaci v aktivační dráze dochází ke kombinované imunodeficienci, kdy B-buňky mají sníženou sekreci Ig izotopů a nefungují paměťové buňky T-lymfocytů.

ALPK1 (Alpha-protein kinase 1) pomáhá zvyšovat produkci protizánětlivých cytokinů v monocytech po vystavení urátovým krystalům a je identifikován jako faktor citlivosti na Dnu.

Polymorfismus IRAK1 je spojen se SLE (systémový lupus erythematoses). [60]

1.2.5 Onkologická onemocnění

Proteinkinázy kódují asi 50 ze 100 známých onkogenů, zbytek těchto genů specifikuje proteiny, které kinázy aktivují nebo jsou jimi fosforylovány. Přehled proteinkináz je uveden v Tabulce 6.

Tabulka 6: Dysfunkce PK způsobující zhoubné bujení.

| Proteinkináza | Typ rakoviny |
|---------------------|--|
| TK | Karcinom prsu, NSCLC, CRC |
| STK | Rakovina plic, prostaty, prsu, tlustého střeva a konečníku, rakovina vaječníků a pankreatu |
| AMPK | Rakovina prostaty, děložního hrdla, karcinom plic |
| FLT-3 | Akutní myeloblastická leukémie |
| BCR-ABL | Chronická myeloidní leukémie |
| Dráha PI3K/AKT/mTOR | Rakovina prsu, ledvin, plic, gastrointestinálního traktu, pankreatu, jater, neuroendokrinní tumory |

TK (Tyrosinkinázy) jsou enzymy, které katalyzují fosforylaci vybraných tyrosinových zbytků v cílových proteinech s použitím ATP. Dělí se na receptorové proteinové TK a nereceptorové proteinové TK. Regulace aktivity TK řídí základní buněčné procesy, např. buněčný cyklus, proliferaci, diferenciaci, motilitu a buněčnou smrt nebo naopak přežití. Dysregulace může probíhat různě, jedním z mechanismů je mutace (delece, bodové mutace nebo translokace), čímž se stává TK aktivní i bez přítomnosti ligandu a dochází k nekontrolované buněčné proliferaci. Dalším mechanismem je aktivace TK důsledkem fúze receptoru nebo nereceptorového TK s partnerským proteinem, což vede k oligomeraci TK bez přítomnosti ligandu a podpoře autofosforylace. Třetí metodou je dysregulace autokrinní-parakrinní stimulace, k tomu dochází při nadměrné expresi receptoru TK, jeho ligandu, nebo obou. [10]

Látky cílené na TK mohou být monoklonální protilátky, inhibitory angiogeneze, inhibitory s malou molekulou. Monoklonální protilátky mohou přerušit signalizaci TK neutralizací

ligandu, blokováním vazby ligandu nebo internalizací receptoru. Patří k nim například Herceptin (k léčbě karcinomu prsu s nadměrnou expresí HER-2), Erbitux (cílený na EGFR, léčba nemalobuněčného karcinomu plic a kolorektálního karcinomu) nebo Panitumumab (cílený na EGFR, léčba metastatického kolorektálního karcinomu). Angiogenezi podporuje zejména VEGFR, což je cílem při rakovinou stimulované patologické angiogenezi. Inhibitory mohou být bevacizumab, semaxanib nebo vatalanib. Inhibitory s malou molekulou působí dvojitým způsobem, buď se váží na místo enzymu vázajícího substrát, nebo na vazebné místo ATP. Avšak inhibitory cílené na vazebné místo ATP vykazují vyšší cytotoxicitu a nespecifickou inhibici serin/threoninových kináz. Mezi inhibitory s malou molekulou patří například imatinib (cílený na BCR-ABL kinázu), nebo erlotinib a gefitinib (cílené proti EGFR). [10]

STK (Serin/threonin kinase) se podílejí na signálních drahách a jsou důležité při buněčné proliferaci a apoptotických procesech. [10] Do této rodiny patří CK2. Tato kináza mění morfolonii buněk, zvyšuje růst a přežití buněk, zvyšuje buněčnou proliferaci a transformaci, a podporuje angiogenezi. Ovlivňování signálních transdukčních cest může indukovat rakovinu. CK2 je spojována s rakovinou plic, prostaty, prsu, tlustého střeva a konečníku, rakovinou vaječníků a pankreatu. Inhibitory této kinázy jsou například TBB, Quinalizarin, hematein, CIGB-300, CX-4945, emodin, z čehož CIGB-300 a CX-4945 již prošly klinickými studii. [11]

AMPK (5'-AMP-aktivovaná proteinkináza) je hlavním regulátorem buněk homeostázy a je nezbytná pro embryonální růst a vývoj. AMPK je dysregulována při obezitě, zánětu, diabetu a rakovině. Tato kináza hraje roli v rakovině prostaty, děložního hrdla a u karcinomu plic. Možné inhibitory jsou aspirin a metformin. [12, 13]

FLT-3 (FMS-like tyrosine kinase 3), kináza, jejíž genová mutace má za následek vznik akutní myeloblastické leukémie. Léčba tohoto druhu AML probíhá standardní chemoterapií s podáváním midostaurinu [14]. Mutace kinázy JAK-2 se vyskytuje až u 50% pacientů s primární myelofibrózou. [15]

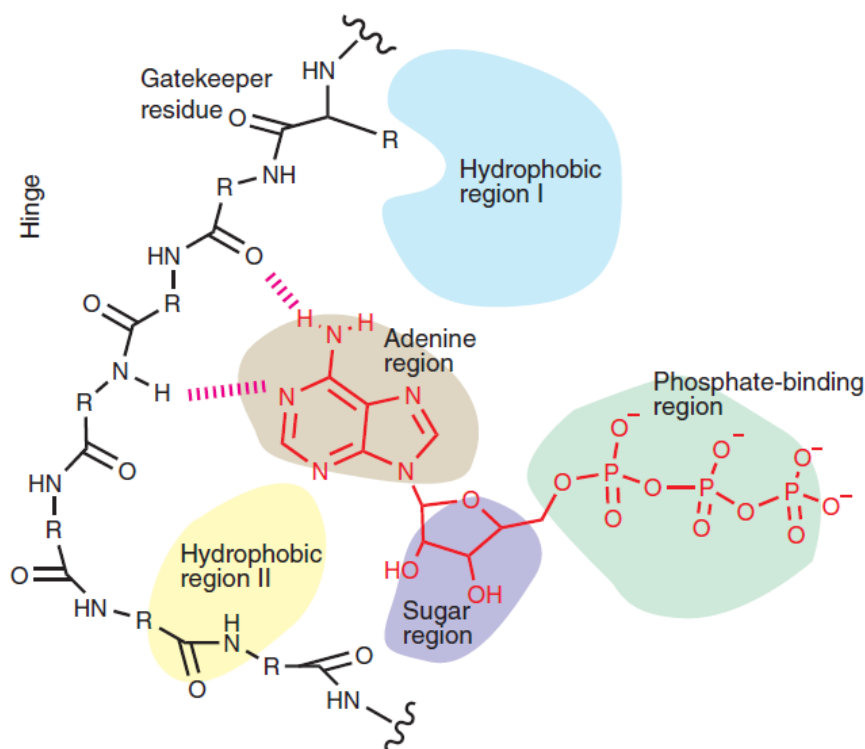
Kináza BCR-ABL řídí signální dráhy pro zprostředkování růstu a přežití rakoviny a způsobuje chronickou myeloidní leukémii. Schváleným inhibitorem BCR-ABL kinázy je Imatinib, který se váže na neaktivní konformaci ABL a zabraňuje přepnutí na aktivní formu. [16]

Dráha PI3K/AKT/mTOR je klíčová při přežívání a proliferaci rakoviny. Aktivace této dráhy probíhá kaskádovitě, takže lze inhibovat jednotlivé části dráhy. Tato dráha může způsobovat rakovinu prsu, ledvin, plic, gastrointestinálního traktu, pankreatu, jater a neuroendokrinní tumory. [17]

1.3 Inhibitory proteinkináz

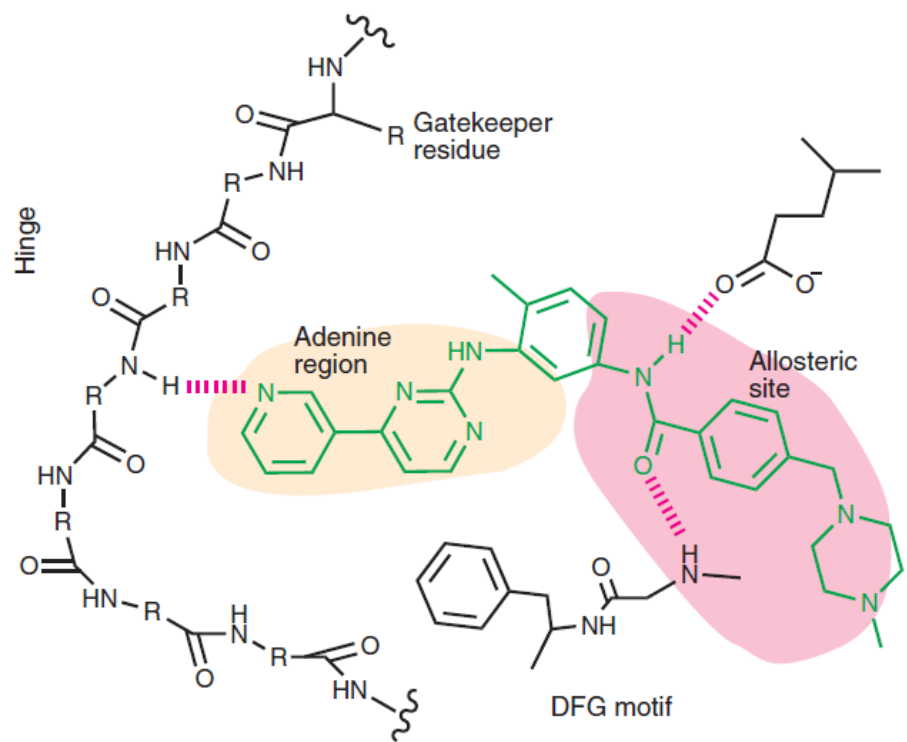
Inhibitory můžeme rozřadit do dvou skupin, podle způsobu navázání.

První typ inhibitorů, kterých je většina, se zaměřuje na vazebné místo ATP a kináza přijímá identickou konformaci jako po navázání ATP (aktivní konformaci). Tyto inhibitory se váží vodíkovými vazbami na pantové zbytky kinázy a prostřednictvím hydrofobních interakcí v oblasti a kolem oblasti obsazené adeninovým kruhem ATP (neboli adeninová oblast). Inhibitory typu I obvykle tvoří 1 až 3 vodíkové vazby s kinázovými pantovými zbytky spojující N- a C-koncové domény kinázy. Oblast obsazenou inhibitorem můžeme rozdělit do subregionů: hydrofobní oblast I a II, adeninová oblast, ribozóvá oblast a fosfátová vazebná oblast (Obrázek 3). Adeninová oblast je obsazena vždy, ale schopnost prezentace různorodé funkčnosti v ostatních oblastech (subregionech) může tvořit základ pro selektivitu inhibitorů mezi různými kinázami. [18]



Obrázek 3: Způsob vazby inhibitoru: znázornění vazebného místa ATP a rozčlenění do subregionů. [18]

Inhibitory druhého typu se přednostně váží na neaktivní konformaci kinázy a tím brání aktivaci. K vazbě využívají vazebné místo ATP a sousední hydrofobní kapsu tvořenou aktivační smyčkou, využitím vodíkových vazeb a hydrofobních interakcí prostřednictvím DFG zbytků aktivační smyčky. Inhibitory II typu zabírají hydrofobní místo sousedící s kapsou vázající se na ATP. Konformace DFG-out vytváří další hydrofobní kapsu, označovanou jako alosterické místo (Obrázek 5), a protože aminokyseliny obklopující tuto kapsu jsou méně konzervativní oproti aminokyselinám ve vazebné kapse ATP, je snazší dosáhnout selektivity inhibitoru II typu. Tato skupina inhibitorů je nepřímo kompetitivní s ATP a také má hydrofobní skupinu, umístěnou za párem donor-akceptor vodíkové vazby, která tvoří Van der Waalsovy interakce s alosterickým místem. Obsazení alosterického místa je pro inhibitory II typu charakteristické, ale interakce se mohou rozšířit i do adeninové oblasti a vytvořit jednu nebo dvě vodíkové vazby s pantovými zbytky kinázy (jako inhibitory I typu). [18]



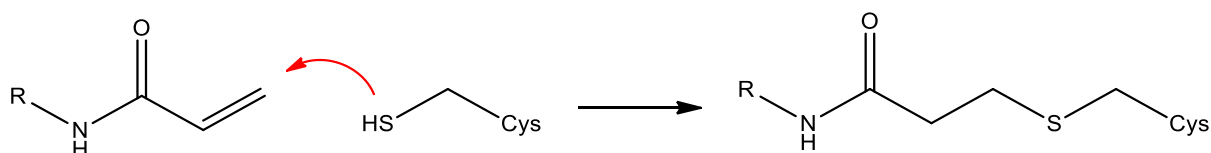
Obrázek 4: Způsob vazby inhibitoru: schématické znázornění alosterického vazebného místa. [18]

Tabulka 7: Srovnání obecných vlastností inhibitorů I a II typu. [18]

| | Inhibitory I typu | Inhibitory II typu |
|--|--|---|
| Stav kinázy při inhibici | Aktivovaná nebo neaktivovaná | Neaktivovaná |
| Vyžadují specifickou konformaci DFG-out? | Ne | Ano |
| Citlivé na fosforylační stav? | Většinou ne | Většinou ano |
| Lze vztahovat na každou kinázu? | Ano | Ne, pouze na ty, které mají k dispozici konformaci DFG-out |
| Oblast vázající kinázu | Vazebné místo ATP | Vazebné místo ATP a alosterické místo |
| Vodíková vazba v pantové oblasti | Ano, téměř všechny inhibitory | Není vyžadována, ale obvykle je |
| Kompetitivní s ATP | Ano | Ano, ale nepřímě |
| Selektivita | Obvykle nízká, ale jsou i velmi selektivní inhibitory | Výhoda: alosterické místo poskytuje další možnost pro ladění selektivity kinázy |
| Odpor inhibitoru | Ano, obvykle se ve vazebném místě ATP vyskytují mutace | Ano, mutace se vyskytují jak ve vazebném místě ATP tak i mimo |
| Možnosti dalšího vývoje | Nevýhoda, přeplněné patentové vlastnictví | Výhoda, více chemických možností |

1.4 Organické látky se zaměřením na cysteinový zbytek v ATP-vazebné kapse

Cystein je jedinečný díky alifatické thiolové skupině. V proteinkinázách není zapojen do katalýzy, ale do regulačních funkcí jako je sulfenylace nebo oxidace. Cysteinové zbytky v ATP vazebném místě a kolem něj jsou cílem kovalentních inhibitorů. Kovalentní inhibitory se nejprve váží nekovalentně a při vhodné trajektorii reaktivní skupiny dochází ke vzniku kovalentní vazby a zablokování enzymatické aktivity. Nejčastěji používanou reakcí pro vznik nevratné vazby je Michaelova adice. (Obecně je Michaelova reakce nukleofilní adiční reakce nukleofilu s nenasycenou karbonylovou sloučeninou. Viz Obrázek 6.) Tímto způsobem reagují akrylamidy, vinyl sulfonáty, chinony, alkynylové amidy. Další možností navázání je nukleofilní substituce nebo adice. Tento způsob je vhodný pro α -halogenketony, nitrily, epoxidy, sulfonylfluoridy, alkyne nebo thiole. [4, 61]



Obrázek 5: Příklad nevratné Michaelovy reakce: reakce akrylamidu s thiolovou skupinou cysteinu.

(Upraveno z [61])

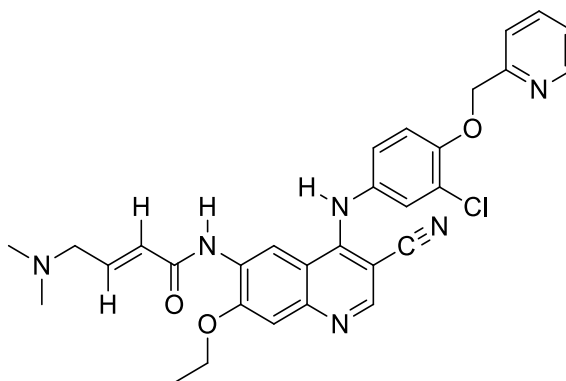
1.4.1 Neratinib (HKI-272)

Číslo CAS: 698387-09-6

Obchodní název: Nerlynx® [19]

Sumární vzorec: C₃₀H₂₉ClN₆O₃ [19]

Strukturní vzorec:



Obrázek 6: Strukturní vzorec neratinibu.

Systematický název:

N-[4-[3-chlor-4-(pyridin-2-ylmethoxy)anilino]-3-kyano-7-ethoxychinolin-6-yl]-4-(dimethylamino)but-2-enamid

Stručný popis:

Neratinib je inhibitor tyrosinkinázy, vykazující protinádorový účinek proti receptorům epidermálního růstového faktoru (EGFR), HER2 a receptoru lidského epidermálního růstového faktoru 4 (HER4). [20]

Neratinib je schválen a klinicky používán (i v České republice).

Mechanismus účinku:

Neratinib se nevratně váže na receptor HER2, cíleně na cysteinový zbytek ATP, čímž snižuje autofosforylaci v buňkách. Dochází k inhibici aktivace signálních transdukčních drah a regulačních drah buněčného cyklu (zastavuje přechod G1-S v buněčném dělení) a tím snižuje buněčnou proliferaci. [19]

Neratinib také inhibuje kinázu receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) a proliferaci buněk závislých na EGFR. [19]

Použití k léčbě:

- Časného stádia karcinomu prsu s nadměrnou expresí HER2 (samostatně, nebo v kombinaci s Transtuzumabem)
- Pokročilého karcinomu prsu HER2+ a metastazujícího karcinomu prsu HER2+ (v kombinaci s látkou Paclitaxel)
- Pokročilého karcinomu prsu HER2mut, HER2mut karcinomu děložního čípku, žlučových cest a slin
- Nemalobuněčného karcinomu plic
- Kolorektálního karcinomu (v kombinaci s Cetuximabem) [20]

Nežádoucí účinky:

Neratinib způsobuje zvýšení hladiny aminotransferázy, což může mít dopad na funkci jater. Zatím nebylo prokázáno, zda způsobuje zjevné poškození jater.

Mezi další nežádoucí účinky patří průjemy, které mohou způsobit odvodnění organismu a ztrátu iontů. Dále zvracení, dehydratace, selhání ledvin, únava a bolesti břicha. [20]

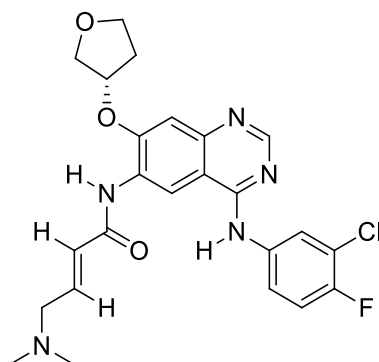
1.4.2 Afatinib (BIBW-2992)

Číslo CAS: 439081-18-2

Obchodní název: Gilotrif[®], Giotrif[®] [25]

Sumární vzorec: C₂₄H₂₅ClFN₅O₃ [25]

Strukturní vzorec:



Obrázek 7: Strukturní vzorec afatinibu.

Systematický název:

(*E*)-*N*-[4-(3-chlor-4-fluoranilino)-7-[(3*S*)-oxolan-3-yl]oxychinazolin-6-yl]-4-(dimethylamino)but-2-enamid

Stručný popis:

Afatinib je inhibitor receptoru tyrosinkinázy, který se používá při léčbě vybraných forem metastatického nemalobuněčného karcinomu plic. Afatinib je schopen kovalentně a ireverzibilně blokovat kinázy EGFR, HER2, HER4. [24]

Afatinib je schválen a klinicky používán (i v České republice).

Mechanismus účinku:

Afatinib je účinný a selektivní ireverzibilní blokátor rodiny ErbB. Kovalentně se váže na kinázové domény EGFR (ErbB1), HER2 (ErbB2) a HER4 (ErbB4) a ireverzibilně inhibuje tyrosinkinázovou aktivitu těchto receptorů, což má za následek sníženou autofosforylaci a transfosforylaci uvnitř dimérů ErbB a inhibici důležitých kroků v signální transdukci všech ErbB receptorů. [22, 23]

Použití k léčbě:

- Metastatického NSCLC (nemalobuněčný karcinom plic) s mutacemi EGFR
- Spinocelulárního karcinomu plic (SCC) [24]

Nežádoucí účinky:

Může dojít ke zvýšení aminotransferáz a možné hepatotoxicitě (několik případů selhání jater). Mezi další nežádoucí účinky patří průjem, vyrážka, suchá kůže, infekce nehtů, snížené močení, otoky končetin, dušnost nebo potíže s dýcháním. [25, 35]

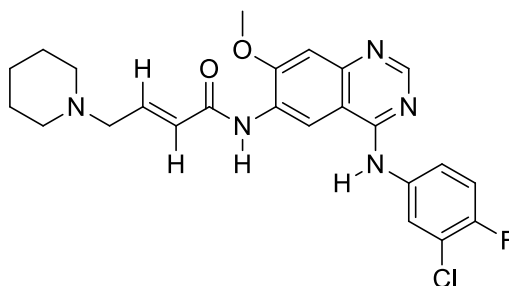
1.4.3 Dacomitinib (PF-00299804)

Číslo CAS: 1110813-31-4

Obchodní název: Vizimpro® [27]

Sumární vzorec: C₂₄H₂₅ClFN₅O₂ [27]

Strukturní vzorec:



Obrázek 8: Strukturní vzorec dacomitinibu.

Systematický název:

(*E*)-*N*-[4-(3-chlor-4-fluoranilino)-7-methoxychinazolin-6-yl]-4-piperidin-1-ylbut-2-enamid

Stručný popis:

Dacomitinib je indikován k léčbě metastazujícího NSCLC (nemalobuněčný karcinom plic) s aktivačními mutacemi v EGFR (delece exonu 19 nebo substituční mutace L858R exonu 21). [26]

Dacomitinib je schválen a klinicky používán (i v České republice).

Mechanismus účinku:

Dacomitinib je ireverzibilní inhibitor rodiny tyrosinkináz, EGFR, HER2 a HER4. Váže se kovalentně na cysteinové zbytky v katalytických doménách receptorů HER, což má za následek inhibici proliferace a apoptózu nádorových buněk, které jsou receptory nadměrně exprimovány. [27]

Použití k léčbě:

- Metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) s mutacemi EGFR

Nežádoucí účinky:

Průjemy, kožní vyrážky, stomatitida, snížená chuť k jídlu, dušnost, kašel a horečka, bolesti na hrudi. [36]

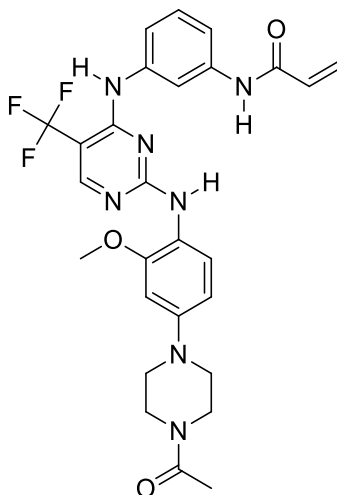
1.4.4 Rociletinib (CO 1686, AVL-301)

Číslo CAS: 1374640-70-6

Obchodní název: Xegafri® [28]

Sumární vzorec: C₂₇H₂₈F₃N₇O₃ [28]

Strukturní vzorec:



Obrázek 9: Strukturní vzorec rociletinibu.

Systematický název:

N-[3-[[2-[4-(4-acetylpiperazin-1-yl)-2-methoxyanilino]-5-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl]amino]phenyl]prop-2-enamid

Stručný popis:

Rociletinib je ireverzibilní inhibitor receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) s potenciální antineoplastickou aktivitou. V porovnání s jinými inhibitory rociletinib inhibuje mutantní formy EGFR, včetně mutace T790M (což je sekundárně získaná rezistenční mutace). [28]

V roce 2016 byl ukončen klinický vývoj a není schválen FDA, avšak může být poskytován pacientům u kterých lékař doporučí pokračovat v terapii. [29]

Mechanismus účinku:

Rociletinib je 2,4-disubstituovaný pyrimidin a váže se kovalentně na metakrylamidovou skupinu C797 EGFR. [30] Inhibuje také proteinkinázy FAK, CHK2, ErbB4 a JAK3. [31]

Léčba:

- Metastatického nemalobuněčného karcinomu plic EGFR^{T790M} (NSCLC) [30]

Nežádoucí účinky:

Nejčastěji hyperglykémie (metabolit M502 rociletinibu váže a inhibuje IGFR1), prodloužení intervalu QTc, nevolnosti, průjem, únava, snížená chuť k jídlu, svalové křeče, úbytek hmotnosti. [29]

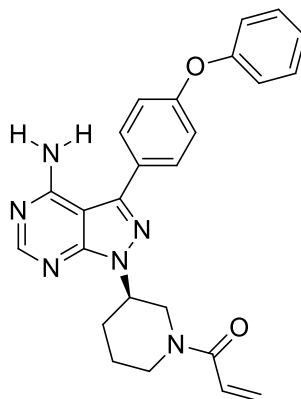
1.4.5 Ibrutinib (PCI-32765)

Číslo CAS: 936563-96-1

Obchodní název: Imbruvica[®], Ibrutix[®] [32]

Sumární vzorec: C₂₅H₂₄N₆O₂ [32]

Strukturní vzorec:



Obrázek 10: Strukturní vzorec ibrutinibu.

Systematický název:

1-[(3*R*)-3-[4-amino-3-(4-phenoxyphenyl)pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]piperidin-1-yl]prop-2-en-1-on

Stručný popis:

Ibrutinib je inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy (BTK), který se používá při léčbě refrakterní chronické lymfocytární leukémie (CLL) a lymfomu z pláštěvých buněk (MCL). [32]

Ibrutinib je schválen a klinicky používán (i v České republice).

Mechanismus účinku:

Ibrutinib je inhibitor BTK s potenciální antineoplastickou aktivitou. Váže se na cysteinový zbytek C481 v aktivním místě BTK a ireverzibilně inhibuje aktivitu BTK, čímž brání aktivaci B-buněk a signalizaci zprostředkovanou B-buňkami. Tím dochází k inhibici růstu maligních B-buněk, které nadměrně exprimují BTK. [32, 33]

Léčba:

- Lymfom pláštěvých buněk (MCL)
- Chronická lymfocytární leukémie (CLL), malý lymfocytární lymfom (SLL)
- Waldenstromova makroglobulinémie (WM)
- Lymfom v marginální zóně
- Chronické onemocnění štěp vs hostitel (cGVHD, komplikace transplantace krvetvorných kmenových buněk) [34]

Nežádoucí účinky:

Nejčastěji průjem, cytopenie, nevolnost, únava, svalové křeče nebo myalgie, vyšší riziko infekcí, pyrexie, vyrážky, bolesti hlavy, nebo krvácení. Při dlouhodobém pozorování se objevila v několika procentech případů hypertenze, pneumonie, sepse nebo fibrilace síní. [33, 34]

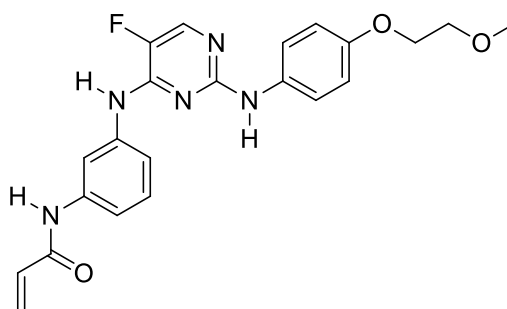
1.4.6 Spebrutinib (AVL-292)

Číslo CAS: 1202757-89-8

Obchodní název: —

Sumární vzorec: C₂₂H₂₂FN₅O₃ [37]

Strukturní vzorec:



Obrázek 11: Strukturní vzorec spebrutinibu.

Systematický název:

N-[3-[[5-fluor-2-[4-(2-methoxyethoxy)anilino]pyrimidin-4-yl]amino]fenyl]prop-2-enamid

Stručný popis:

Spebrutinib je kovalentní inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy (BTK) a na rozdíl od ibrutinibu neinhibuje kinázu rodiny SRC ani ITK. Byl první BTKi v klinických studiích. [37, 39]

Spebrutinib byl použit v klinických studiích, které však byly ukončeny. Není schválen.

Mechanismus účinku:

Spebrutinib je silný, ne zcela specifický BTKi. Kovalentně se váže na C481 Brutonovy tyrosinkinázy a dochází k inhibici signalizace receptoru B-buněk a může inhibovat buněčnou proliferaci maligních B-buněk. [38, 40]

Léčba (použit ve studiích na léčbu):

- Revmatoidní artritida
- Difúzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL)
- Chronická B-lymfocytární leukémie (CLL)
- B-buněčný non-Hodgkinův lymfom (B-NHL)
- Waldenströмова makroglobulinémie (WM) [37]

Nežádoucí účinky:

Nejčastěji šlo o neutropenii, trombocytopenii, pneumonii a anémii. [37]

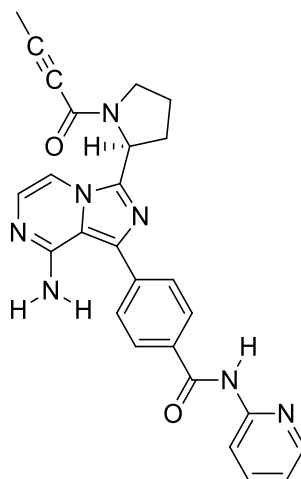
1.4.7 Acalabrutinib (ACP-196)

Číslo CAS: 1420477-60-6

Obchodní název: Calquence® [42]

Sumární vzorec: C₂₆H₂₃N₇O₂ [42]

Strukturní vzorec:



Obrázek 12: Strukturní vzorec acalabrutinibu.

Systematický název:

4-[8-amino-3-[(2*S*)-1-but-2-ynoylpyrrolidin-2-yl]imidazo[1,5-*a*]pyrazin-1-yl]-*N*-pyridin-2-ylbenzamid

Stručný popis:

Acalabrutinib je inhibitor BTK druhé generace. Má vyšší selektivitu pro BTK, tudíž necílí na jiné kinázy, například MEC, PDGRF, EGFR, ITK, JAK3 a další. Oproti ibrutinibu má menší inhibici mimo BTK a měl by mít méně vedlejších účinků. [38, 39]

Acalabrutinib je schválen FDA v USA i v Evropě, nikoliv zatím v České republice.

Mechanismus účinku:

Acalabrutinib tvoří kovalentní vazbu s C481 v kinázové doméně BTK, čímž inhibuje aktivaci downstream signalizačních proteinů CD86 a CD69 zprostředkovanou Brutonovou tyrosinkinázou. Dochází k inhibici proliferace a přežití maligních B-lymfocytů. [38, 42]

Léčba:

- Lymfom z pláštěvých buněk (MCL)
- Chronická lymfocytární leukémie (CLL)
- Malý lymfocytární lymfom (SLL) [41]

Nežádoucí účinky:

Nejčastěji se jedná o bolesti hlavy, průjem, nárůst tělesné hmotnosti, zvracení, bolesti břicha, bolesti kloubů. Mezi závažné patří horečka, kašel, krev ve stolici, fibrilace síní, nebo vznik krvácení. [41]

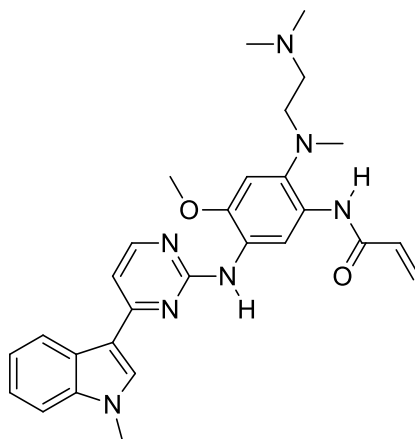
1.4.8 Osimertinib (AZD-9291)

Číslo CAS: 1421373-65-0

Obchodní název: Tagrisso® [43]

Sumární vzorec: C₂₈H₃₃N₇O₂ [43]

Strukturní vzorec:



Obrázek 13: Strukturní vzorec osimertinibu.

Systematický název:

N-[2-[2-(dimethylamino)ethylmethylamino]-4-methoxy-5-[[4-(1-methylindol-3-yl)pyrimidin-2-yl] amino] fenyl]prop-2-enamid

Stručný popis:

Osimertinib je ireverzibilní, mutantně selektivní inhibitor receptoru epidermálního růstového faktoru EGFR třetí generace. Inhibuje aktivitu mutantních forem EGFR, včetně mutace T790M. [43]

Osimertinib je schválen a klinicky používán (i v České republice).

Mechanismus účinku:

Osimertinib se váže na určité mutantní formy EGFR (delece T790M, L858R a exon 19), které jsou časté u nemalobuněčných karcinomů plic (NSCLC) po léčbě nádoru inhibitory EGFR první generace. Osimertinib je specifický pro mutaci T790M, která zvyšuje vazebnou aktivitu ATP k EGFR a vede ke špatné prognóze pro pozdní stádium onemocnění. [43]

Léčba:

- Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC) s mutacemi na EGFR, včetně mutace T790M [44]

Nežádoucí účinky:

Nejčastěji jde o průjem, vyrážku, ekzém, nevolnost a zvracení, bolesti zad, dušnost, potíže s dýcháním, bolesti na hrudi. [44]

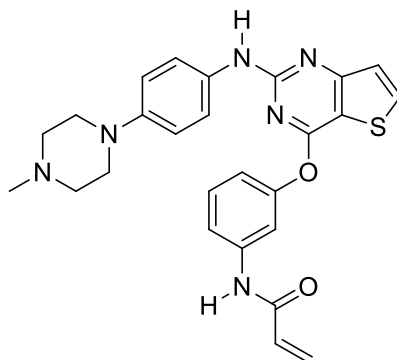
1.4.9 Olmutinib (HM-61713)

Číslo CAS: 1353550-13-6

Obchodní název: Olita[®] [46]

Sumární vzorec: C₂₆H₂₆N₆O₂S [46]

Strukturní vzorec:



Obrázek 14: Strukturní vzorec olmutinibu.

Systematický název:

N-[3-[2-[4-(4-methylpiperazin-1-yl)anilino]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-yl]oxyfenyl]-prop-2-enamid

Stručný popis:

Olmutinib je inhibitor tyrosinkinázy receptoru epidermálního růstu (EGFR TKI) třetí generace. Je účinný nejen proti mutaci T790M, ale i proti delecii exonu 19 a mutaci L858R EGFR. Tyto mutace vznikají po léčbě EGFR TKI první generace a dochází k rezistenci vůči těmto látkám. [45]

Olmutinib je schválen FDA.

Mechanismus účinku:

Olmutinib se ireverzibilně a kovalentně váže na cysteinový zbytek v kinázové doméně mutantního EGFR, čímž zabrání fosforylaci receptoru a dojde k inhibici signalizace receptoru. [46, 47]

Léčba:

- Pokročilý nebo metastatický NSCLC s mutací EGFR T790M [45]

Nežádoucí účinky:

Časté nežádoucí účinky jsou průjem, svědění, vyrážka a nevolnost. Dále méně časté problémy jsou bolesti břicha a zvracení. [45]

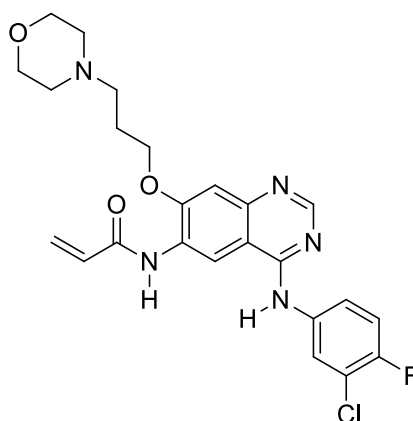
1.4.10 Canertinib (CI-1033)

Číslo CAS: 267243-28-7

Obchodní název: ———

Sumární vzorec: C₂₄H₂₅ClFN₅O₃ [49]

Strukturní vzorec:



Obrázek 15: Strukturní vzorec canertinibu.

Systematický název:

N-[4-(3-chlor-4-fluoranilino)-7-(3-morfolin-4-ylprooxy)chinazolin-6-yl]prop-2-enamid

Stručný popis:

Canertinib je inhibitor pan-ErbB tyrosinkinázy, tudíž inhibuje všechny čtyři členy rodiny receptorů ErbB a je schopen blokovat signalizaci prostřednictvím všech členů rodiny ErbB, je tedy účinnější než inhibitory bránící signalizaci z jednoho z receptorů. [48]

Canertinib v kombinaci s cytotoxickými činidly inhibuje nadměrnou expresi EGFR a výrazně zvyšuje citlivost některých cytotoxických léčiv v buňkách rakoviny prsu rezistentních na tamoxifen. [48]

Canertinib je prozatím ve fázi studií.

Mechanismus účinku:

Canertinib je nevratný inhibitor, který se kovalentně váže na cysteinové zbytky v kapse vázající ATP, konkrétně C773 EGFR, C784 ErbB2 a C778 ErbB4, čímž se zablokuje vazebné místo ATP v kinázové doméně ErbB proteinů, brání tak jejich kinázové aktivitě a downstream signalizaci a zabraňuje transmodulaci ErbB2. [48]

Léčba:

- Spinocelulární karcinom jícnu [49]
- Rakovina prsu (potenciál v kombinaci s dalšími látkami)

Nežádoucí účinky:

Canertinib může působit ototoxicky, což bylo prokázáno na myších modelech. Jelikož stále probíhají klinické studie, nebyly sepsány další konkrétní nežádoucí účinky. Dá se předpokládat, že nežádoucí účinky budou podobné jako u jiných inhibitorů TK jako je průjem, hypertenze, nevolnost, anorexie a zvracení. [50, 51]

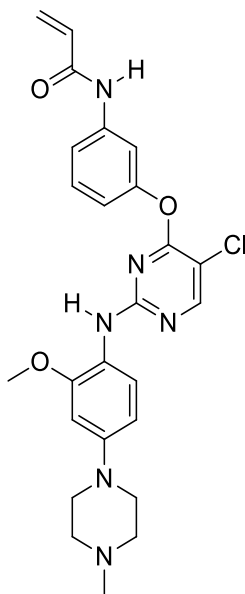
1.4.11 WZ-4002

Číslo CAS: 1213269-23-8

Obchodní název: ———

Sumární vzorec: C₂₅H₂₇ClN₆O₃ [53]

Strukturní vzorec:



Obrázek 16: Strukturní vzorec WZ-4002.

Systematický název:

N-[3-[5-chlor-2-[2-methoxy-4-(4-methylpiperazin-1-yl)anilino]pyrimidin-4-yl]oxyfenyl]prop-2-enamid

Stručný popis:

WZ-4002 je inhibitor tyrosinkinázy, který je schopný cílit na mutace EGFR (T790M) a je tedy potenciálním lékem NSCLC s mutacemi EGFR. [52]

WZ-4002 je prozatím ve fázi studií.

Mechanismus účinku:

WZ-4002 se kovalentně váže na C797 EGFR v ATP vazebné kapse. Chlorový substituent na pyrimidinovém kruhu interaguje s mutantním zbytkem Met 790, čímž se stává účinný při mutaci EGFR T790M. [52]

Potenciál v léčbě:

- Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC) s mutacemi na EGFR (T790M, L858R) [54]

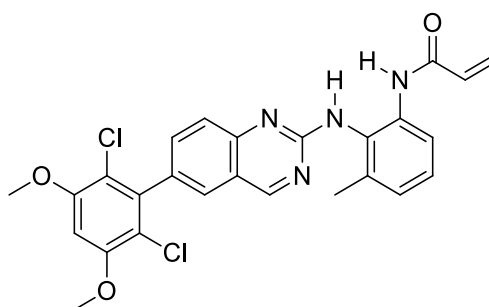
1.4.12 BLU-9931

Číslo CAS: 1538604-68-0

Obchodní název: —

Sumární vzorec: C₂₆H₂₂Cl₂N₄O₃ [56]

Strukturní vzorec:



Obrázek 17: Strukturní vzorec BLU-9931.

Systematický název:

N-[2-[[6-(2,6-dichlor-3,5-dimethoxyfenyl)chinazolin-2-yl]amino]-3-methylfenyl]prop-2-enamid

Stručný popis:

BLU-9931 je selektivní inhibitor lidského fibroblastového růstového faktoru 4 (FGFR4) s potenciální antineoplastickou aktivitou. [55]

BLU-9931 je prozatím ve fázi studií.

Mechanismus účinku:

BLU-9931 se váže na cysteinový zbytek C552 v aktivním místě FGFR4, čímž blokuje autofosforylaci FGFR4 a aktivaci receptorové tyrosinkinázové aktivity a vede k inhibici proliferace nádorových buněk. [55]

Potenciál k léčbě:

- Kolorektální karcinom (CRC) [57]

ZÁVĚR

Proteinové kinázy jsou slibné cíle pro léčbu rakoviny i jiných onemocnění, které jejich prostřednictvím vznikají. Vývoj inhibitorů je však náročný a zdlouhavý. Častými problémy inhibitorů jsou nežádoucí účinky, s čímž souvisí i účinnost a selektivita. Jestliže je inhibitor účinný i proti jiným proteinkinázám, které nesouvisí s léčeným onemocněním, ovlivňuje normální chod organismu a vznikají zdravotní problémy, mnohdy velmi závažné. Proto se při vývoji klade velký důraz na inhibici pouze určité kinázy.

Bakalářská práce obsahuje výčet několika inhibitorů, působících vazbou na cystein proteinkinázy, čímž se zúží jejich pole působnosti. Část těchto inhibitorů byla vyvinuta jako náhrada již schválených inhibitorů, kvůli vznikající rezistenci po předešlé léčbě (například dojde k mutaci v PK). Právě vznik rezistence je jeden z hlavních důvodů vývoje nových inhibitorů, hlavně v odvětví onkologie pro léčbu rakoviny.

Pro úspěšný vývoj nového inhibitoru je nutné se zaměřit na zkoumání mechanismu proteinkináz. V posledních letech bylo také zjištěno, že je nezbytné se zaměřit na rizika spojená s imunitními reakcemi na inhibitor, jedná se zejména o riziko hapténizace a následnou imunitní reakci jako je idiosynkratická reakce. Další zkoumání mechanismů spojených s odpovědí organismu na inhibitor je správná cesta k úspěšnějšímu vývoji nových inhibitorů.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ALBERTS, Bruce. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. 2. vyd. Přeložil Arnošt KOTYK, přeložil Bohumil BOUZEK, přeložil Pavel HOZÁK. Ústí nad Labem: Espero, c1998. ISBN 80-902906-2-0.
- [2] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.
- [3] MANNING, G. The protein kinase complement of the human genome. *Science [online]*, 2002, vol. 298, no. 5600, p. 1912–1934 [cit. 2020-03-15]. ISSN 00368075. DOI: 10.1126/science.1075762.
Dostupné z: <<https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1075762>>
- [4] LIU, Q., SABNIS, Y., ZHAO, Z., ZHANG, T., BUHRLAGE, S. J., JONES, L. H., GRAY, N. S. Developing Irreversible Inhibitors of the Protein Kinase Cysteinome. *Chemistry & Biology [online]*, 2013, vol. 20, no. 2, p. 146–159 [cit. 2020-03-15]. ISSN 10745521. DOI: 10.1016/j.chembiol.2012.12.006.
Dostupné z: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074552112004875>>
- [5] ANDERSON, M. E., HIGGINS, L. S., SCHULMAN, H. Disease mechanisms and emerging therapies: protein kinases and their inhibitors in myocardial disease. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine [online]*, 2006, vol. 3, no. 8, p. 437–445 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1743-4297. DOI: 10.1038/ncpcardio0585.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/ncpcardio0585>>
- [6] CHICO, L. K., VAN ELDIK, L. J., WATTERSON, M. D. Targeting protein kinases in central nervous system disorders. *Nature Reviews Drug Discovery [online]*, 2009, vol. 8, no. 11, p. 892–909 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1474-1776. DOI: 10.1038/nrd2999.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/nrd2999>>
- [7] KING, Robert C., William D. STANSFIELD a Pamela Khipple MULLIGAN. *A Dictionary of Genetics [online]*. New York: Oxford University Press, 2007 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1093/acref/9780195307610.001.0001. ISBN 9780195307610.
Dostupné také z: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fon.12.66>>

- [8] SCHANG, L. M. First demonstration of the effectiveness of inhibitors of cellular protein kinases in antiviral therapy. *Expert Review of Anti-infective Therapy [online]*, 2014, vol. 4, no. 6, p. 953–956 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1478-7210. DOI: 10.1586/14787210.4.6.953.
Dostupné z: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14787210.4.6.953>>
- [9] SARHAN, M. A., ABDEL-HAKEEM, M. S., MASON, A. L., TYRRELL, D., HOUGHTON, M. Glycogen synthase kinase 3 β inhibitors prevent hepatitis C virus release/assembly through perturbation of lipid metabolism. *Scientific Reports [online]*, 2017, vol. 7, no. 1 [cit. 2020-03-15]. ISSN 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-017-02648-6. Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-02648-6>>
- [10] GIAMAS, G., STEBBING, J., VORGIAS, C. E., KNIPPSCHILD, U. Protein kinases as targets for cancer treatment. *Pharmacogenomics [online]*, 2007, vol. 8, no. 8, p. 1005-1016 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1462-2416. DOI: 10.2217/14622416.8.8.1005.
Dostupné z: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/14622416.8.8.1005>>
- [11] CHUA, M. M. J., ORTEGA, C. E., SHEIKH, A., LEE, M., ABDUL-RASSOUL, H., HARTSHORN, K. L., DOMINGUEZ, I. CK2 in Cancer: Cellular and Biochemical Mechanisms and Potential Therapeutic Target. *Pharmaceuticals [online]*, 2017, vol. 10, no. 4 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1424-8247. DOI: 10.3390/ph10010018.
Dostupné z: <<http://www.mdpi.com/1424-8247/10/1/18>>
- [12] KHAN, A. S., FRIGO, D. E. A spatiotemporal hypothesis for the regulation, role, and targeting of AMPK in prostate cancer. *Nature Reviews Urology [online]*, 2017, vol. 14, no. 3, p. 164–180 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1759-4812. DOI: 10.1038/nrurol.2016.272.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/nrurol.2016.272>>
- [13] JEON, S. Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. *Experimental & Molecular Medicine [online]*, 2016, vol. 48, no. 7, p. e245–e245 [cit. 2020-03-15]. ISSN 2092-6413. DOI: 10.1038/emm.2016.81.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/emm201681>>

- [14] STONE, R. M. Acute Myeloid Leukemia; Experimental drug is first targeted therapy to improve survival in high-risk AML patients. *Biotech Week [online]*, 2015, p. 332 [cit. 2020-03-15]. ISSN 15352757.
Dostupné z: <<https://search.proquest.com/docview/1749673415?accountid=17239>>
- [15] DARAWSHY, F., BEN-YEHUDA, A., ATLAN, K., RUND, D. Chronic Lymphocytic Leukemia and Myelofibrosis. *Case Reports in Hematology [online]*, 2018, p. 1–5 [cit. 2020-03-15]. ISSN 2090-6560. DOI: 10.1155/2018/7426739.
Dostupné z: <<https://www.hindawi.com/journals/crnhem/2018/7426739/>>
- [16] WEI, Y. Novel Platinum (Pt)-imatinib Hybrid Compounds for Circumventing Resistance to Molecular Targeted Anticancer Drugs in Treating Leukemia. Ph.D. Thesis, The Chinese University of Hong Kong, 2015. ISSN 2090-6560. DOI: 10.1155/2018/7426739.
Dostupné z: <<https://search.proquest.com/docview/1846508882?accountid=17239>>
- [17] LI, X., DAI, D., CHEN, B., TANG, H., XIE, X., WEI, W. Efficacy of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors for the treatment of advanced solid cancers: A literature-based meta-analysis of 46 randomised control trials. *Plos One [online]*, 2018, vol. 13, no. 2 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0192464.
Dostupné z: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0192464>>
- [18] LIU, Y., GRAY, N. S. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nature Chemical Biology [online]*, 2006, vol. 2, no. 7, p. 358–364 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1552-4450. DOI: 10.1038/nchembio799.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/nchembio799z>>
- [19] Neratinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2006 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Neratinib>>
- [20] DEEKS, E. D. Neratinib: First Global Approval. *Drugs [online]*, 2017, vol. 77, no. 15, p. 1695–1704 [cit. 2020-03-15]. ISSN 0012-6667. DOI: 10.1007/s40265-017-0811-4.
Dostupné z: <<http://link.springer.com/10.1007/s40265-017-0811-4>>

- [21] LÓPEZ-TARRUELLA, S., JEREZ, Y., MÁRQUEZ-RODAS, I., MARTÍN, M., et al. Neratinib (HKI-272) in the treatment of breast cancer. *Future Oncology [online]*, 2012, vol. 8, no. 6, p. 671–681 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1479-6694. DOI: 10.2217/FON.12.66. Dostupné z: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fon.12.66>>
- [22] XU, Y., DING, V. W., ZHANG, H., ZHANG, X., JABLONS, D., HE, B. Spotlight on afatinib and its potential in the treatment of squamous cell lung cancer: the evidence so far. *Therapeutics and Clinical Risk Management [online]*, 2016, vol. 12, p. 807–816 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1178-203X. DOI: 10.2147/TCRM.S92996. Dostupné z: <<https://www.dovepress.com/spotlight-on-afatinib-and-its-potential-in-the-treatment-of-squamous-c-peer-reviewed-article-TCRM>>
- [23] WIND, S., SCHNELL, D., EBNER, T., FREIWALD, M., STOPFER, P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Afatinib. *Clinical Pharmacokinetics [online]*, 2017, vol. 56, no. 3, p. 235–250 [cit. 2020-03-15]. ISSN 0312-5963. DOI: 10.1007/s40262-016-0440-1. Dostupné z: <<http://link.springer.com/10.1007/s40262-016-0440-1>>
- [24] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. NCBI [online]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548772/>>
- [25] Afatinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2006 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Afatinib>>
- [26] LAVACCHI, D., MAZZONI, F., GIACCONE, G. Clinical evaluation of dacomitinib for the treatment of metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): current perspectives. *Drug Design, Development and Therapy [online]*, 2019, vol. 13, p. 3187–3198 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1177-8881. DOI: 10.2147/DDDT.S194231. Dostupné z: <<https://www.dovepress.com/clinical-evaluation-of-dacomitinib-for-the-treatment-of-metastatic-non-peer-reviewed-article-DDDT>>

- [27] Dacomitinib monohydrate. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2013 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dacomitinib-monohydrate>>
- [28] Rociletinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2012 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rociletinib>>
- [29] BRODERICK, J. M. Clinical Development of Rociletinib in Lung Cancer Ends. Targeted Oncology [online]. USA: Targeted Healthcare Communications, 2016 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://www.targetedonc.com/news/clinical-development-of-rociletinib-in-lung-cancer-ends>>
- [30] VAN DER STEEN, N., CAPARELLO, C., ROLFO, C., PAUWELS, P., PETERS, G. J., GIOVANNETTI, E. New developments in the management of non-small-cell lung cancer, focus on rociletinib: what went wrong? *OncoTargets and Therapy [online]*, 2016, vol. 9, p. 6065–6074 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1178-6930. DOI: 10.2147/OTT.S97644.
Dostupné z: <<https://www.dovepress.com/new-developments-in-the-management-of-non-small-cell-lung-cancer-focus-peer-reviewed-article-OTT>>
- [31] LIAO, B., LIN, Ch., LEE, J., YANG, J. Ch. Update on recent preclinical and clinical studies of T790M mutant-specific irreversible epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Journal of Biomedical Science [online]*, 2016, vol. 23, no. 1 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1423-0127. DOI: 10.1186/s12929-016-0305-9.
Dostupné z: <<http://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12929-016-0305-9>>
- [32] Ibrutinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2008 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibrutinib>>
- [33] KAUR, V., SWAMI, A. Ibrutinib in CLL: a focus on adverse events, resistance, and novel approaches beyond ibrutinib. *Annals of Hematology [online]*, 2017, vol. 96, no. 7, p. 1175–1184 [cit. 2020-03-15]. ISSN 0939-5555. DOI: 10.1007/s00277-017-2973-2.
Dostupné z: <<http://link.springer.com/10.1007/s00277-017-2973-2>>

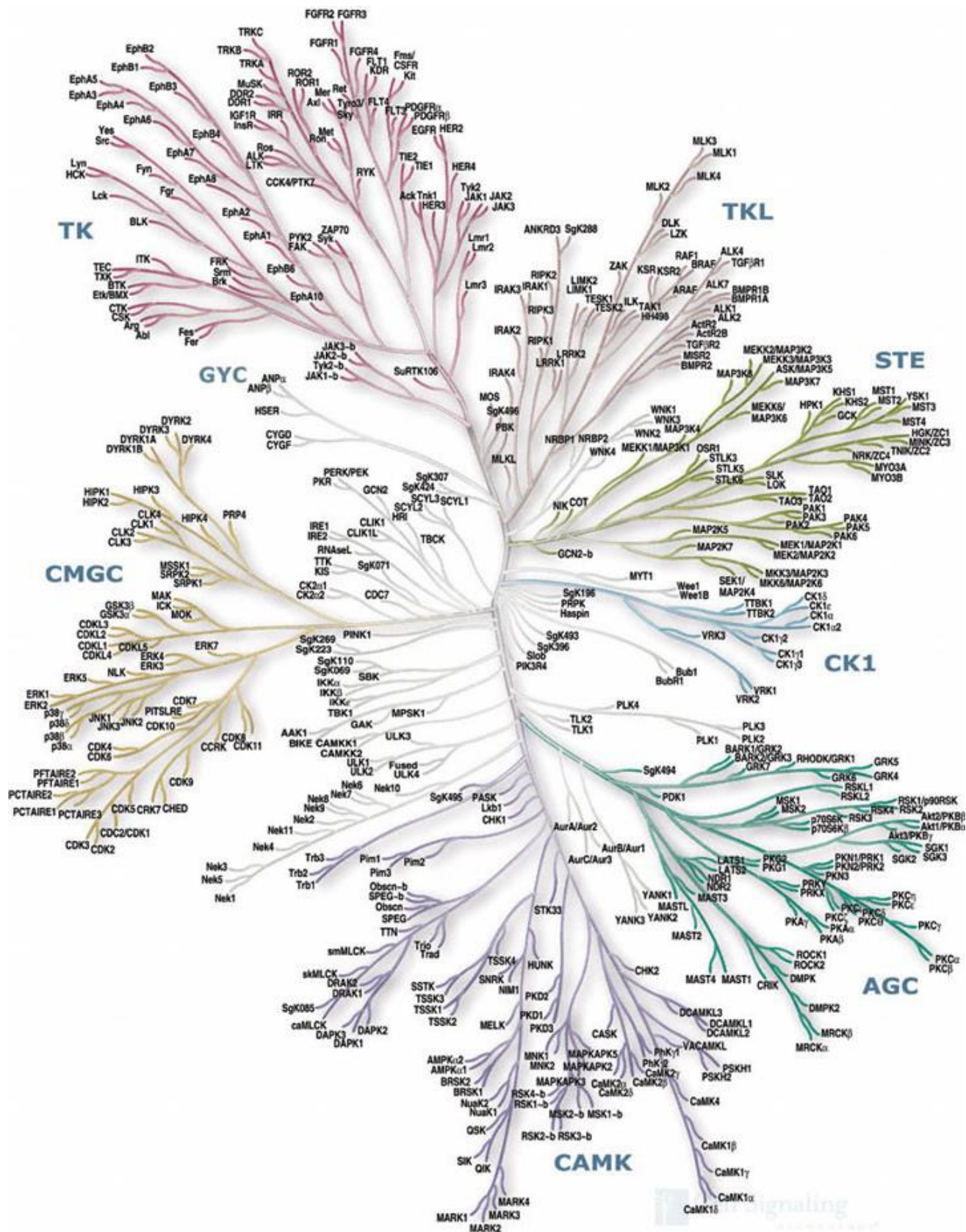
- [34] Ibrutinib. MedlinePlus [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2019 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a614007.html>>
- [35] Afatinib. MedlinePlus [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2017 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a613044.html>>
- [36] Dacomitinib. MedlinePlus [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2018 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a618055.html>>
- [37] Spebrutinib. Drugbank [online]. Alberta: Educe Design & Innovation, 2016 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB11764>>
- [38] GIRARD, J., RENEAU, J., DEVATA, S., WILCOX, R. A., KAMINSKI, M., MERCER, J., CARTY, S., PHILLIPS, T. J. Evaluating Acalabrutinib In The Treatment Of Mantle Cell Lymphoma: Design, Development, And Place In Therapy. *OncoTargets and Therapy [online]*, 2019, vol. 12, p. 8003–8014 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1178-6930. DOI: 10.2147/OTT.S155778. Dostupné z: <<https://www.dovepress.com/evaluating-acalabrutinib-in-the-treatment-of-mantle-cell-lymphoma-desi-peer-reviewed-article-OTT>>
- [39] FRANIAK-PIETRYGA, I., BRYSZEWSKA, M. New and repositioning approaches to the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Cancer Research and Prevention*, 2017, vol. 10, no. 1, p. 63–95 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1554-1134. Dostupné z: <<https://search.proquest.com/docview/2191284755?accountid=17239>>
- [40] Spebrutinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2012 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Spebrutinib>>
- [41] Acalabrutinib. MedlinePlus [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2020 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a618004.html>>
- [42] Acalabrutinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2013 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acalabrutinib>>

- [43] Osimertinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2013 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71496458>>
- [44] Osimertinib. MedlinePlus [online]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine, 2018 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a616005.html>>
- [45] KIM, E. S. Olmutinib: First Global Approval. *Drugs [online]*, 2016, vol. 76, no. 11, p. 1153–1157 [cit. 2020-03-15]. ISSN 0012-6667. DOI: 10.1007/s40265-016-0606-z.
Dostupné z: <<http://link.springer.com/10.1007/s40265-016-0606-z>>
- [46] Olmutinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2012 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54758501>>
- [47] Olmutinib. Drugbank [online]. Alberta: Educe Design & Innovation, 2017 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB13164>>
- [48] GOMAA, H. A. M., ALI, A. T., GABBAR, M. A., KANDEIL, M. A. The Effect of Canertinib on Sensitivity of Cytotoxic Drugs in Tamoxifen-Resistant Breast Cancer Cells In Vitro. *International Journal of Genomics [online]*, 2018, vol. 2018, p. 1–10 [cit. 2020-03-15]. ISSN 2314-436X. DOI: 10.1155/2018/7628734.
Dostupné z: <<https://www.hindawi.com/journals/ijg/2018/7628734/>>
- [49] Canertinib. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2005 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/156414>>
- [50] TANG, J., YI, Q., LI, H., KOPECKY, B. J., DING, D., OU, H. C., DECOOK, R., CHEN, X., SUN, Z., KOBEL, M., BAO, J. Canertinib–Induces Ototoxicity in Three Preclinical Models. *Hearing Research [online]*, 2015, vol. 328, p. 59–66 [cit. 2020-03-15]. ISSN 03785955. DOI: 10.1016/j.heares.2015.07.002.
Dostupné z: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378595515001422>>

- [51] KHURANA, V., MINOCHA, M., PAL, D., MITRA, A. K. Inhibition of OATP-1B1 and OATP-1B3 by tyrosine kinase inhibitors. *Drug Metabolism and Drug Interactions [online]*, 2014, vol. 29, no. 4, p. 249–259 [cit. 2020-03-15]. ISSN 2191-0162. DOI: 10.1515/dmdi-2014-0014.
Dostupné z: <<https://www.degruyter.com/view/j/dmdi.2014.29.issue-4/dmdi-2014-0014/dmdi-2014-0014.xml>>
- [52] ZHOU, W., ERCAN, D., CHEN, L., YUN, C., et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M. *Nature [online]*, 2009, vol. 462, no. 7276, p. 1070–1074 [cit. 2020-03-15]. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/nature08622.
Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/nature08622>>
- [53] WZ4002. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2010 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44607530>>
- [54] WZ4002. Creative Enzymes [online]. Shirley, NY: Creative Enzymes, 2019 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <https://www.creative-enzymes.com/product/%20WZ4002%20_1971.html>
- [55] FGFR4 Inhibitor BLU 9931 (Code C162342). NCIthesaurus [online]. USA: NCIthesaurus, 2018 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C162342>
- [56] N-[2-[[6-(2,6-Dichloro-3,5-dimethoxyphenyl)quinazolin-2-yl]amino]-3-methylphenyl]prop-2-enamide. Pubchem [online]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2014 [cit. 2020-03-15].
Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/72710839>>
- [57] JIANG, D., LI, J., ZHAO, Ch., LI, J., WANG, M., HAN, Ch., WANG, X., YE, Y. Combination of FGFR4 inhibitor Blu9931 and 5-fluorouracil effects on the biological characteristics of colorectal cancer cells. *International Journal of Oncology [online]*, 2017, vol. 51, no. 5, p. 1611–1620 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1019-6439. DOI: 10.3892/ijo.2017.4143.
Dostupné z: <<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2017.4143>>

- [58] TAN, S., GANJI, G., PAEPER, B., PROLL, S., KATZE, M. G. Systems biology and the host response to viral infection. *Systems biology and the host response to viral infection [online]*, 2007, vol. 25, no. 12, p. 1383–1389 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1087-0156. DOI: 10.1038/nbt1207-1383. Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/nbt1207-1383>>
- [59] YANG, H., KIM, S., KIM, M., RECHE, P. A., MOREHEAD, T. J., DAMON, I. K., WELSH, R. M., REINHERZ, E. L. Antiviral chemotherapy facilitates control of poxvirus infections through inhibition of cellular signal transduction. *Journal of Clinical Investigation [online]*, 2005, vol. 115, no. 2, p. 379–387 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <<https://search.proquest.com/docview/200506358?accountid=17239>>
- [60] COHEN, P. Immune diseases caused by mutations in kinases and components of the ubiquitin system. *Nature Immunology [online]*, 2014, vol. 15, no. 6, p. 521–529 [cit. 2020-03-15]. ISSN 1529-2908. DOI: 10.1038/ni.2892. Dostupné z: <<http://www.nature.com/articles/ni.2892>>
- [61] CHAIKUAD, A., KOCH, P., LAUFER, S. A., KNAPP, S. The Cysteinome of Protein Kinases as a Target in Drug Development. *Angewandte Chemie International Edition [online]*, 2018, vol. 57, no. 16, p. 4372–4385 [cit. 2020-06-08]. ISSN 14337851. DOI: 10.1002/anie.201707875. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201707875>>

PŘÍLOHA A – Dendrogram lidských proteinkináz



Dendrogram lidských proteinkináz s vyznačenými 8 hlavními skupinami. [3]