Streszczenie pracy doktorskiej w języku polskim

Katarzyna Hałdys

„Tiosemikarbazony jako inhibitory tyrozynazy”

Tyrozynaza jest enzymem katalizującym dwie reakcje: utlenianie monofenoli do *o*-chinonów (aktywność monofenolazowa) oraz utlenianie difenoli do odpowiednich *o*-chinonów (aktywność difenolazowa). Kiedy substratami reakcji katalizowanej przez tyrozynazę są L-tyrozyna lub L-dopa, produktem jest dopachinon, intermediat biosyntezy melanin.

Melaniny są naturalnie występującymi pigmentami, odpowiedzialnymi za barwę skóry i włosów u ssaków. Nadmierna produkcja tego barwnika i jego gromadzenie się w skórze prowadzi do licznych schorzeń dermatologicznych takich jak piegi, przebarwienia, ostuda czy jednego z najniebezpieczniejszych raków skóry, czerniaka złośliwego. Niestety większość opisanych w literaturze inhibitorów tyrozynazy jest zbyt toksyczna lub niestabilna aby mogła być stosowana na skórę lub jako dodatki do żywności.

Tiosemikarbazony są interesującą grupą ligandów o licznych właściwościach biologicznych i farmakologicznych.

Głównym celem badań było przebadanie oddziaływań pomiędzy tyrozynaza i grupą jej potencjalnie silnych inhibitorów – arylowych pochodnych tiosemikarbazonu. W ramach pracy doktorskiej wyizolowano i oczyszczono enzym z *Agaricus bisporus*. Następnie przetestowano wpływ 53 pochodnych tiosemikarbazonu na aktywność grzybowej tyrozynazy, wykorzystując w tym celu spektrofotometryczny test enzymatyczny (wyznaczenie IC50). Przeprowadzono także analizę kinetyki enzymatycznej tyrozynazy hamowanej wybranymi tiosemikarbazonami (mechanizm i typ hamowania oraz wyznaczenie stałych hamowania). Ponadto, posłużono się dokowaniem molekularnym w celu wyjaśnienia natury oddziaływań enzym-inhibitor. Określono związek pomiędzy strukturą badanych inhibitorów i ich aktywnością biologiczną względem tyrozynazy (SAR) . Dodatkowo, wyniki badan hamowania wyizolowanego enzymu pieczarkowego porównano ze zdolnością hamowania całego procesu melanogenezy w liniach komórkowych B16F10.

Prawie wszystkie badane związki wykazały aktywność hamującą względem tyrozynazy. IC50 inhibitorów wyniosło od 0.3 do 800 µM. Siedem z testowanych związków osiągnęło wartość IC50 poniżej 1 µM, co plasuje je wśród najlepszych opisanych inhibitorów tyrozynazy.

Analiza SAR wykazała, że pochodne acetofenononu z podstawionymi bromem, chlorem, fluorem, grupą aminową lub hydroksylową w pozycji *para* pierścienia aromatycznego pozwalają osiągnąć IC50 poniżej 1 µM.

Tiosemikarbazony są odwracalnymi inhibitorami tyrozynazy, w większość typu mieszanego, co wskazuje na ich powinowactwo zarówno do wolnej formy enzymu, jak i kompleksu enzym-substrat. Kilka związków wykazało kompetycyjny typ hamowania.

Dokowanie molekularne wykazało, że badane tiosemikarbazony oddziałują z tyrozynazą poprzez ugrupowanie mocznikowe. Siarka tego ugrupowania chelatuje jony miedzi w centrum aktywnym enzymu.

Wszystkie badane związki hamują melanogenezę na poziomie milimolowym.

4-fluoroacetofenon tiosemikarbazonu osiągający IC50 równe 0.8 µM dla hamowania tyrozynazy oraz 1.7 µM dla hamowania melanogenezy wydaje się być najbardziej obiecującym inhibitorem w kontekście zastosowania go jako kosmeceutyk.