

## Abstrakt v českém jazyce

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Studentka: Anežka Sladká

Školitel: Mgr. Pavel Bárta, Ph.D.

Název diplomové práce: *In vitro* saturační studie radioaktivně značené monoklonální protilátky carotuximab

Angiogeneze neboli tvorba nových cév z již existujících je v současné době jedním z procesů, na které cílí onkologická léčba, protože vznik nových cév je podmínkou pro úspěšný růst nádoru a případnou expanzi v organismu v podobě metastáze. Jeden z receptorů, který se účastní signalizace vedoucí k angiogenezi, je endoglin (CD105). Na tento receptor cílí i chimérická monoklonální protilátka carotuximab.

Cílem této diplomové práce bylo provést nepřímé značení monoklonální protilátky carotuximab radionuklidem galium-67 pomocí bifunkčního chelátoru 1-glytaryl-4,7-diacetyl-1,4,7-triazocyclononanu (NODAGA). V rámci procesu konjugace byla provedena optimalizace molárního poměru NODAGA:carotuximab (1:20, 1:50 a 1:100). U připraveného radiofarmaka [<sup>67</sup>Ga]Ga-NODAGA-carotuximab byla následně zjištěna jeho radiochemická čistota pomocí HPLC s radiometrickou detekcí. Následovaly *in vitro* vazebné experimenty na buněčné kultuře lidských ledvinných nádorových buňkách zahrnující internalizační, saturační a kompetitivní studii. Vyhodnocoval se především kinetický parametr velikosti rovnovážné disociační konstanty ( $K_D$ ), která vyjadřuje afinitu protilátky k receptoru CD105. Dále byla zjištěna hodnota inhibiční koncentrace ( $IC_{50}$ ), které také nepřímo určuje afinitu ligandu k receptoru.

Optimalizací molárního poměru chelátoru NODAGA konjugovaného s protilátkou byl zjištěn nejvíce vyhovující poměr 1:20. Výsledky analýzy radiochemické čistoty po následujícím radioaktivním značení potvrdily vhodnost použitého chelátoru a metody konjugace a radioaktivního značení protilátky pro

přípravu diagnostického radioimunokonjugátu [<sup>67</sup>Ga]Ga-NODAGA-carotuximab v lékopisem požadované čistotě (≥ 95 %). Připravené radiofarmakum se následně testovalo v *in vitro* studiích. Při internalizaci byl zjištěn nejvýhodnější čas inkubace (150 až 180 minut) a dále byla zjištěna i nižší míra internalizace <sup>67</sup>Ga-značeného carotuximabu, protože na buněčných receptorech zůstala vázaná větší část, než byla internalizována. Z *in vitro* saturační studie byla stanovena rovnovážná disociační konstanta  $K_D = 225 (\pm 6,6)$  nM, která je oproti neznačené protilátce výrazně nižší, ale stále významná. V kompetitivní studii byla stanovena hodnota  $IC_{50} = 140,4 (\pm 0,4)$  nM, která opět potvrdila významnou afinitu značeného carotuximabu k receptoru CD105.

Závěrem lze shrnout, že se podařilo připravit potenciální diagnostické radiofarmakum [<sup>67</sup>Ga]Ga-NODAGA-carotuximab, které si sice uchovalo afinitu k cílovému receptoru, ale ta byla ve srovnání s nativní formou protilátky nižší. Potenciálním důvodem tohoto stavu může být zjištěný vyšší počet chelátorů vázaných na protilátku (5,4 molekul NODAGA na molekule carotuximabu). Vazba <sup>67</sup>Ga-značené protilátky na CD105 je ale stále dostatečná, a proto by se v další fázi preklinického testování mohlo přistoupit k *in vivo* biodistribučním studiím s myšími xenografty.