

**Tytuł rozprawy doktorskiej wykonanej w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk**

**„Charakterystyka farmakodynamiczna nowych modulatorów allosterycznych
receptorów metabotropowych grupy III dla glutaminianu”.**

Promotorzy

Prof. dr hab. Andrzej Pilc

Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Prof. dr hab. Barbara Rys

Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Recenzenci

Prof. dr hab. Marta Dziedzicka-Wasylewska

Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

Prof. dr hab. Ewa Poleszak

Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Receptory metabotropowe dla glutaminianu (mGlu) wchodzą w skład głównego układu pobudzającego w ośrodkowym układzie nerwowym, pełniąc funkcję neuromodulacyjną na obszarze całego mózgu (Nakanishi, 1992). Rodzinę receptorów mGlu podzielono na trzy grupy ze względu na podobieństwo sekwencji, typ szlaku przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, oraz profil farmakologiczny. Grupa I zawiera receptory mGlu1 i mGlu5, grupę II reprezentują receptory mGlu2 i mGlu3, natomiast do grupy III należą receptory mGlu4, mGlu6, mGlu7, oraz mGlu8. W odróżnieniu od receptorów jonotropowych (iGlu) odpowiedzialnych za szybkie efekty pobudzenia, receptory mGlu należą do receptorów związanych z białkami G, odpowiadających za modulację wolniejszego przekazywania synaptycznego (Conn & Pin, 1997). Dlatego ligandy receptorów mGlu uważane są za potencjalnie bezpieczniejsze od ligandów iGlu w terapii wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Na przestrzeni ostatnich lat ligandy receptorów mGlu grupy III, a szczególnie receptora mGlu4, wzbudziły ogromne zainteresowanie środowiska naukowego w kontekście ich potencjalnego wykorzystania w terapii chorób neurodegeneracyjnych (choroba

Parkinsona) oraz psychicznych (lęk, schizofrenia) (Célanire & Campo, 2012; Flor & Acher, 2012). Wiedza na temat roli receptorów mGlu w ośrodkowym układzie nerwowym, a w konsekwencji ich potencjału terapeutycznego, pochodzi przede wszystkim z badań prowadzonych na zwierzętach z wyłączoną ekspresją tych receptorów, oraz badań wykorzystujących ich specyficzne ligandy.

Na przestrzeni ostatnich dwóch dekad jesteśmy świadkami ogromnej rewolucji w badaniach nad poszukiwaniami nowych ligandów dla receptorów związanych z białkami G, do której należą badane w niniejszej pracy receptory mGlu (Heng, Aubel, & Fussenegger, 2014). Szczególny rozwój dotyczy związków modulujących funkcję receptorów, poprzez oddziaływanie z miejscem topograficznie odmiennym od miejsca wiązania ligandów ortosterycznych. Ten nowy mechanizm farmakologiczny dostarcza możliwości precyzyjnej regulacji procesów sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, a tym samym posiada ogromny potencjał terapeutyczny (Kenakin, 2004a; Gregory & Conn, 2015). Dowodem na to jest CinacalcetTM pierwszy wprowadzony na rynek farmaceutyczny związek o allosterycznym działaniu względem receptora CaS (ang. Calcium-Sensing receptor) należącego do klasy C GPCRs (Nemeth, et al., 2003).

Dlatego głównym celem niniejszej pracy była próba stworzenia platformy przesiewowej do identyfikacji i charakterystyki farmakodynamicznej nowych ligandów allosterycznych receptorów mGlu grupy III, a następnie wykorzystanie jej do badania aktywności biologicznej nowo zsyntetyzowanych związków.

W ramach niniejszej pracy otrzymano linie komórkowe z wydajną i kontrolowaną ekspresją funkcjonalnych receptorów metabotropowych dla glutaminianu, które w połączeniu z czułą metodą oznaczania poziomu wtórnego przekaźnika informacji wewnątrzkomórkowej cAMP, stanowią precyzyjny system do prowadzenia badań przesiewowych nowych związków. Z wykorzystaniem linii komórkowej z indukowalną ekspresją receptora mGlu4, wykazano aktywność biologiczną nowych pochodnych 1,2,4-oksadiazolowych, jako potencjalnych aktywatorów tego receptora. Potwierdzono również oddziaływanie pochodnych 1,2,4-oksadiazolowych z domeną przezbłonową receptora mGlu4, za pomocą skonstruowanej chimery białka receptorów mGlu2 i mGlu4. Wyniki te pozwoliły na zakwalifikowanie związków Sas270, Sas291 i Sas292 wykazujących pozytywną kooperatywność z kwasem L-glutaminowym, jako pozytywnych allosterycznych modulatorów receptora mGlu4. Natomiast związki Sas266, Sas267 i Sas308 charakteryzujące się dodatkowo aktywnością agonistyczną

względem tego receptora, można porównać do działania ligandów o charakterze ago-PAM. Ponadto wykazano oddziaływanie badanych związków z receptorami mGlu7 i mGlu8, oraz brak ich aktywności w komórkach z ekspresją receptora mGlu2, co może sugerować selektywność tych związków względem III grupy receptorów mGlu. Aktywność biologiczną nowych pochodnych 1,2,4-oksadiazolowych zweryfikowano również w badaniach na zwierzętach. Związki te wywołały, charakterystyczny dla aktywatorów receptorów mGlu4, efekt przeciwlękowy w teście hypertermii indukowanej stresem, przeciwpsychotyczny w teście potrząśnięć głową wywołanych podaniem DOI, oraz brak aktywności przeciwdepresyjnej w teście zawieszenia za ogon.