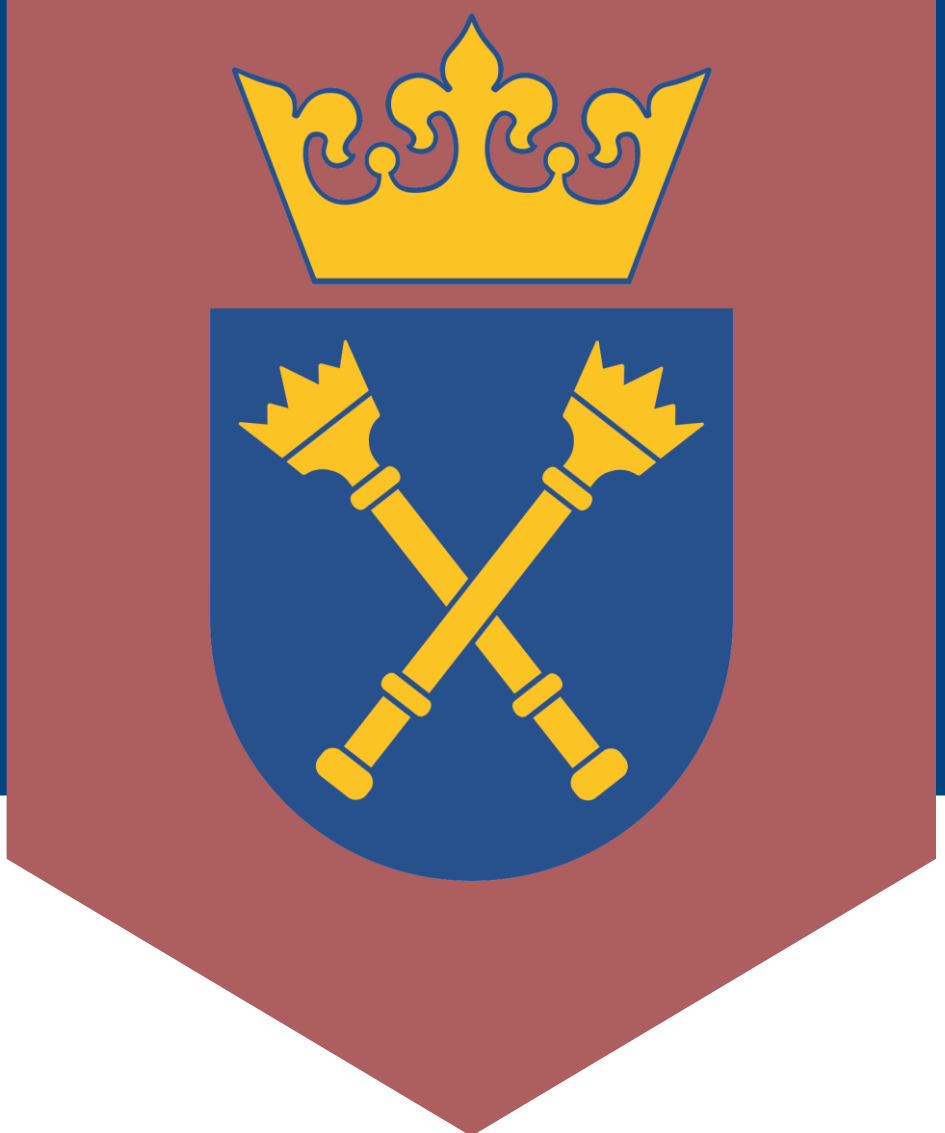


OPRACOWANIE NOWEGO, SELEKTYWNEGO INHIBITORA TRANSPORTERA KWASU γ -AMINOMASŁOWEGO GAT3 JAKO NARZĘDZIA FARMAKOLOGICZNEGO ORAZ SZANSA NA NOWE TERAPIE CHOROBY ZWIĄZANYCH Z PRZEKAŹNICTWEM GABAERGICZNYM

Eliza Barańska^a, Milena Gawlińska^a, Dawid Panek^{a*}, Anna Pasięka^a, Georg Höfner^b, Klaus Wanner^b, Kinga Sałat^a, Barbara Malawska^a, Anna Więckowska^a



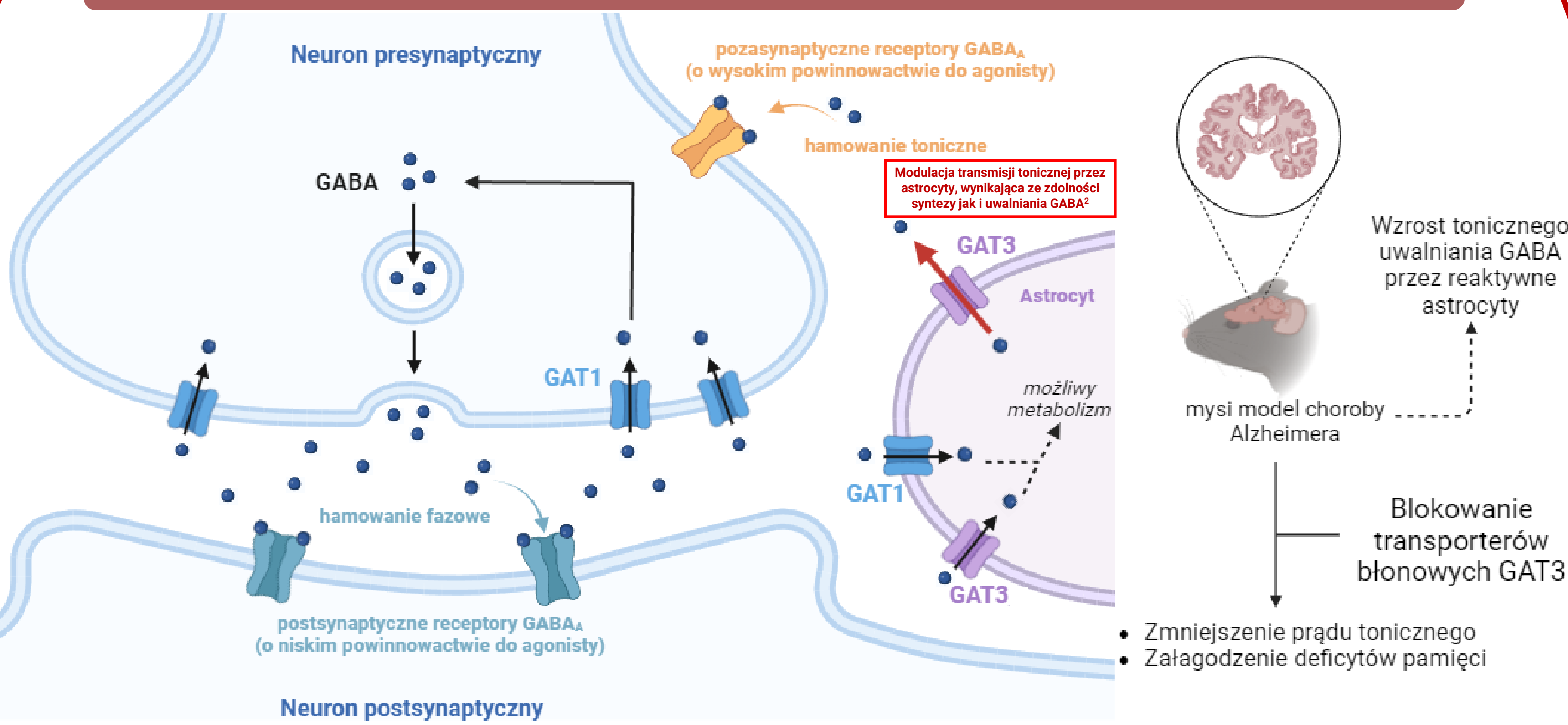
^aWydział Farmaceutyczny UJCM, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

^bWydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Ludwika-Maksymiliana w Monachium, Butenandtstr., 5-13, 81377, Monachium, Niemcy

*autor korespondujący, e-mail: dawid.panek@uj.edu.pl

Wprowadzenie

Toniczne uwalnianie GABA przez GAT3 w mysich modelach choroby AD¹



Porównanie błonowych transporterów GABA Ośrodkowego Układu Nerwowego: GAT1 i GAT3³

GAT1

Najlepiej poznany GAT

- w 2023 roku wyznaczono wysokorozdzielcze struktury kriogenicznej mikroskopii elektronowej (cryoEM) ludzkiego GAT1, pozwalając na dokładne określenie struktury przestrzennej białka wraz z potencjalnym mechanizmem transportu⁴
- dla GAT1 otrzymano wysoce selektywny inhibitor **TIAGABINĘ** (lek przeciwpadaczkowy zatwierdzony przez FDA w 1997 r.), ponadto zdeponowano również strukturę transportera związaną z inhibitorem (PDB ID: 7Y7Z, rozdzielczość: 3,20 Å)⁴
- po wychwycie zwrotnym przez GAT1 do neuronu, GABA jest ponownie wykorzystywany

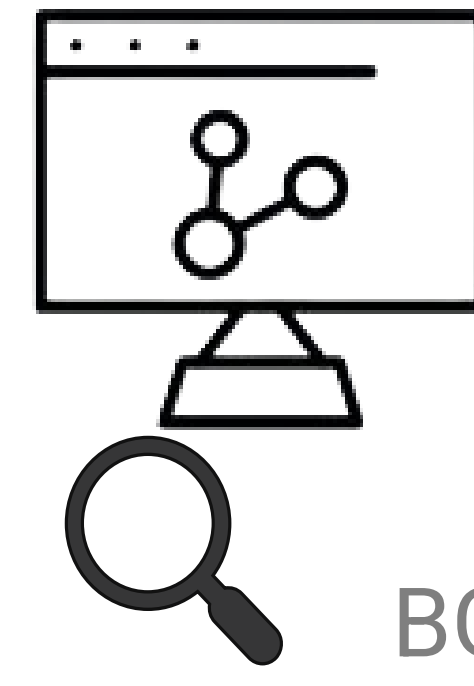
GAT3

- brak zdeponowanych struktur w PDB
- brak odpowiednich inhibitorów umożliwiających określenie potencjału terapeutycznego GAT3**
- po wychwycie zwrotnym GABA do komórek glejowych głównie przez GAT3 (rzadziej astrocytarne GAT1) następuje metabolizm, prowadzący do eliminacji pewnej puli neuroprzekaźnika



Cel: projektowanie selektywnych inhibitorów GAT3

Własna biblioteka związków⁵



GAT3

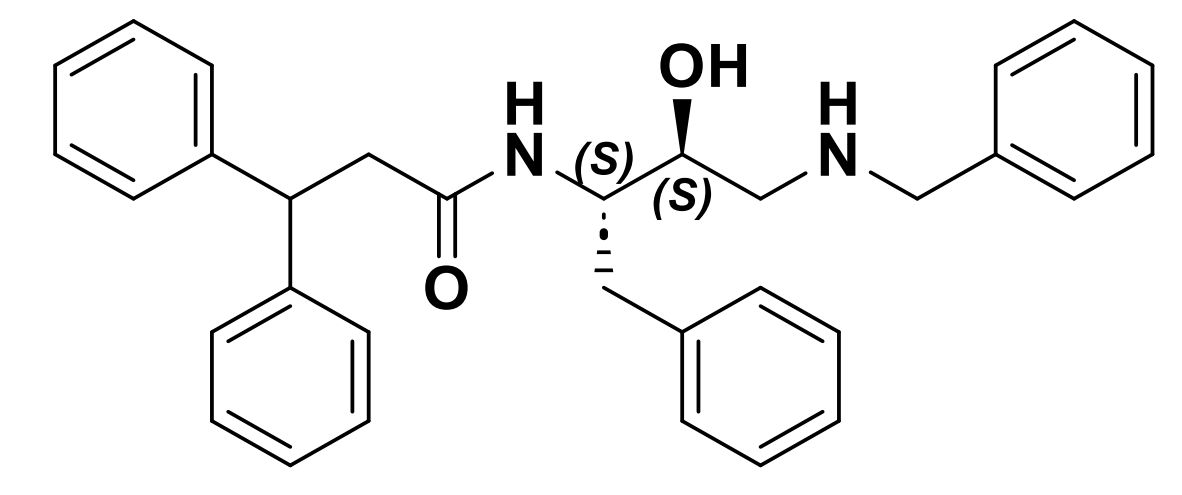
GAT2

BGT1

GAT1

Adresowane badania biologiczne wobec GAT3

struktura wiążąca



1 najsilniejszy znany dotychczas wysoce selektywny inhibitor GAT3

GAT	IC ₅₀ [μM]*/%hamowania wychwyty zwrotnego GABA**
GAT1	61%
BGT1	74%
GAT2	76%
GAT3	5,30
hGAT3***	5,53

*Wartości IC₅₀ określone dla mysich podtypów GAT, wyznaczono dla związków hamujących wychwyty przynajmniej w 50%
**W stężeniu przesiewowym 100 μM
***Wartości IC₅₀ określone dla ludzkiego podtypu GAT3

optymalizacja struktury wiążącej

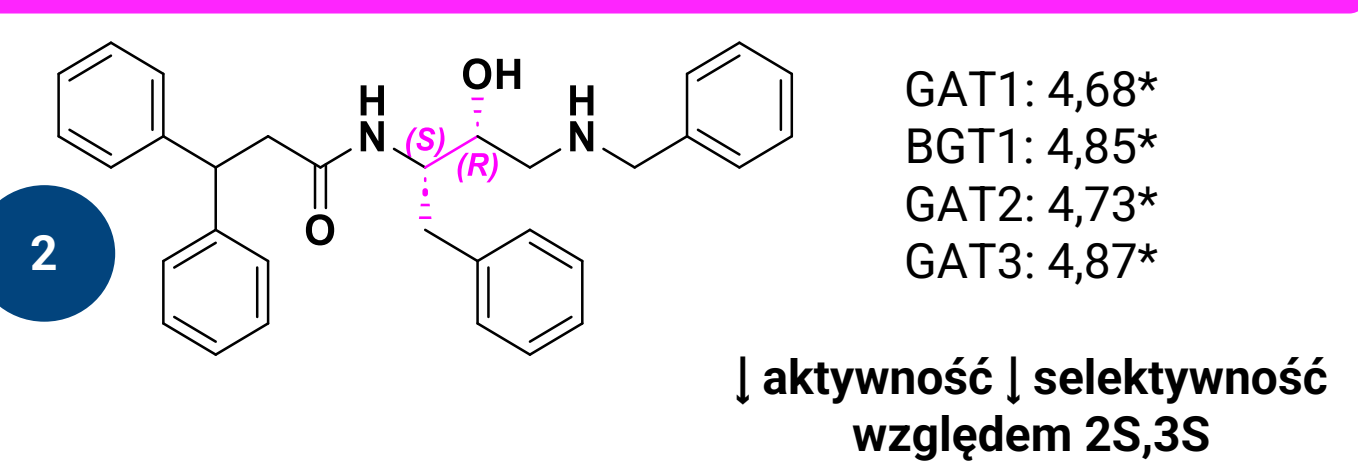
Optymalizacja właściwości fizykochemicznych

Poprawa aktywności biologicznej

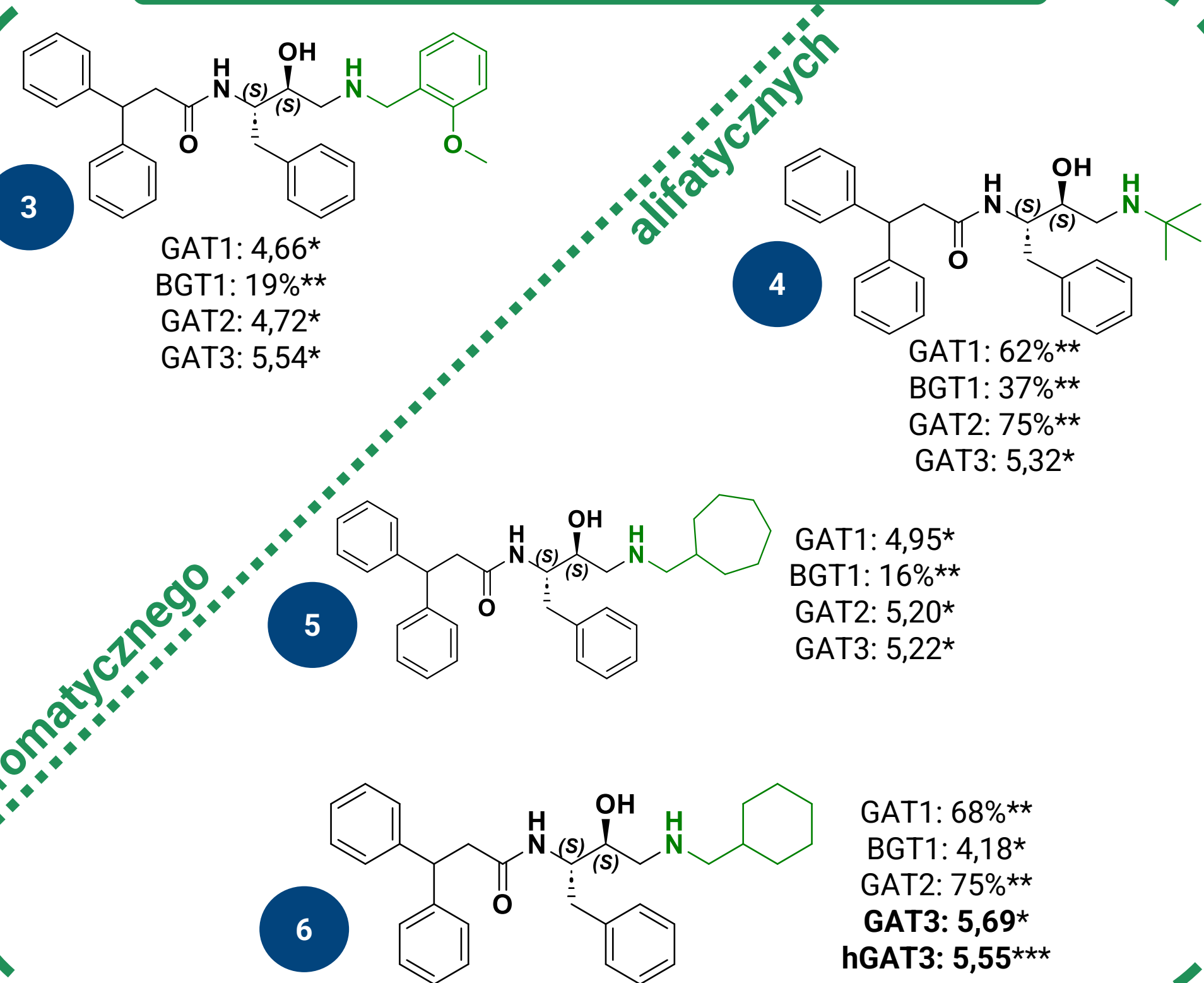
Zachowanie selektywności wobec innych podtypów GAT

Wyniki in vitro

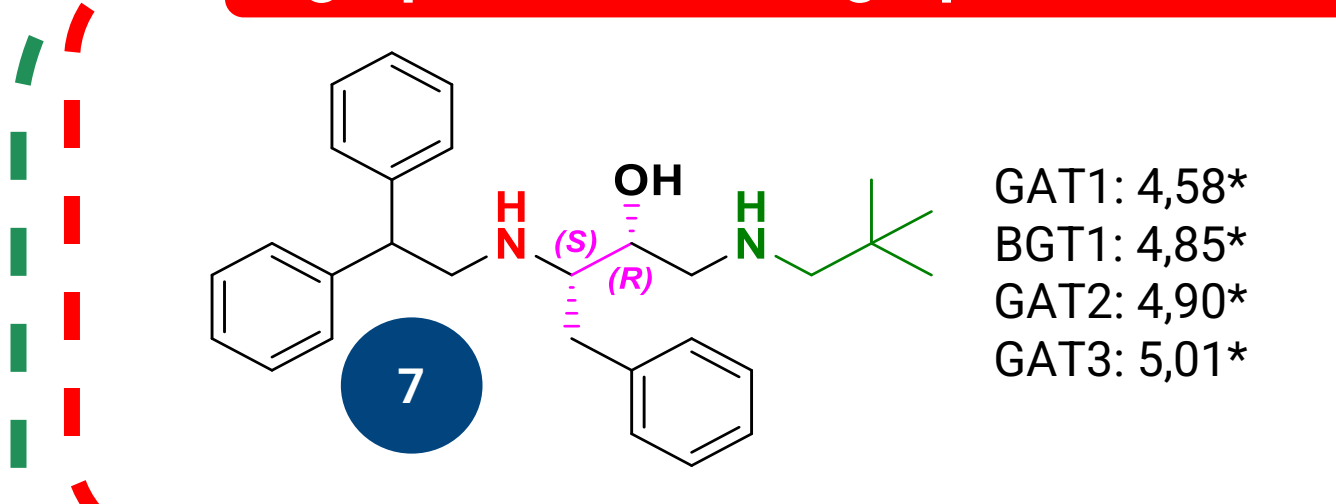
sprawdzenie konfiguracji absolutnej: 2S,3R



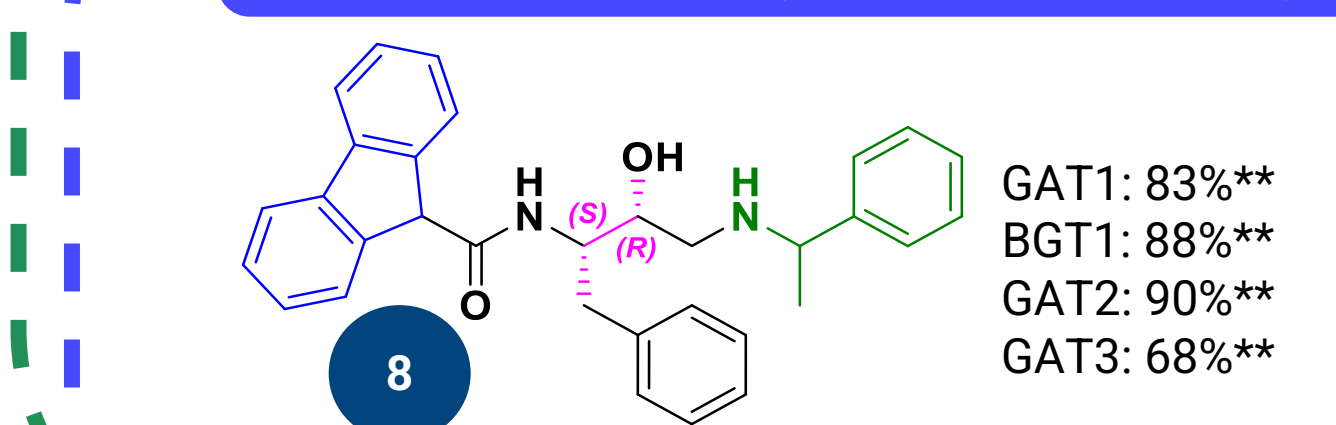
wprowadzenie ugrupowań aminowych



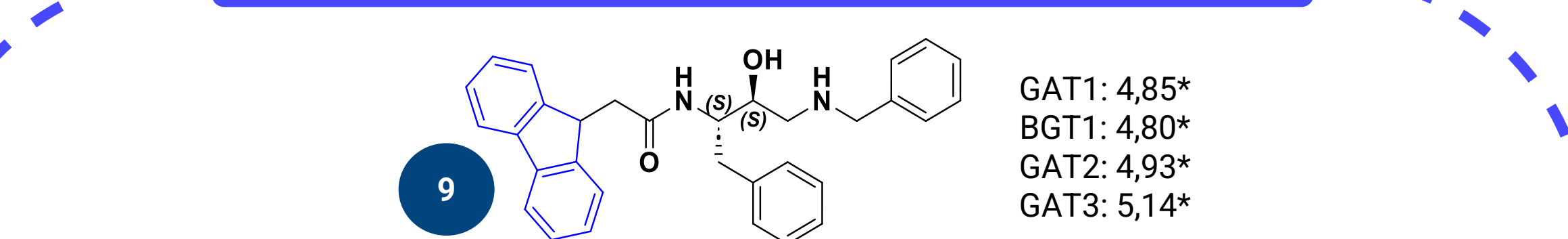
grupa amidowa → grupa aminowa



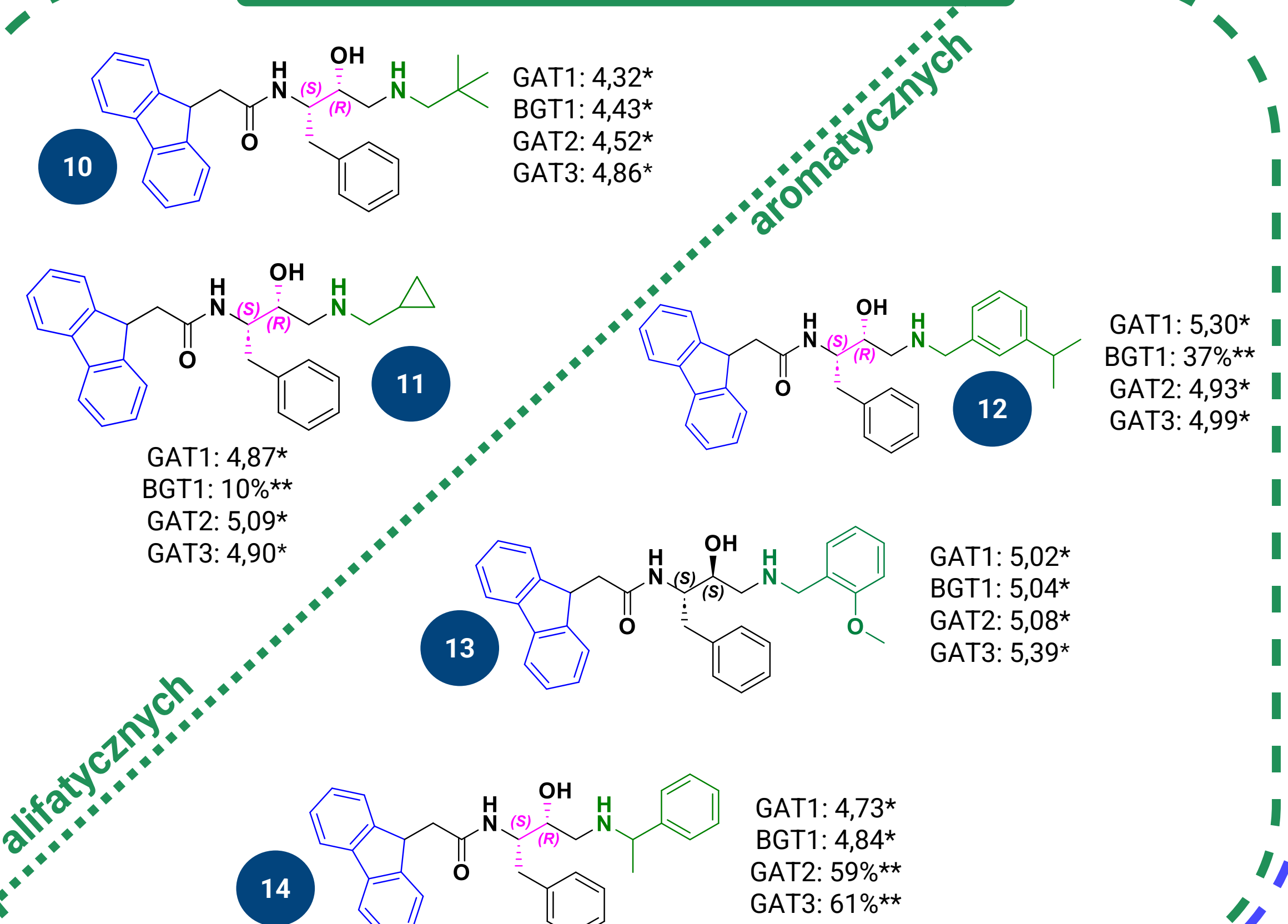
ugrupowanie 3,3-difenyloetylowe → układ fluorenu (skrócenie linkera)



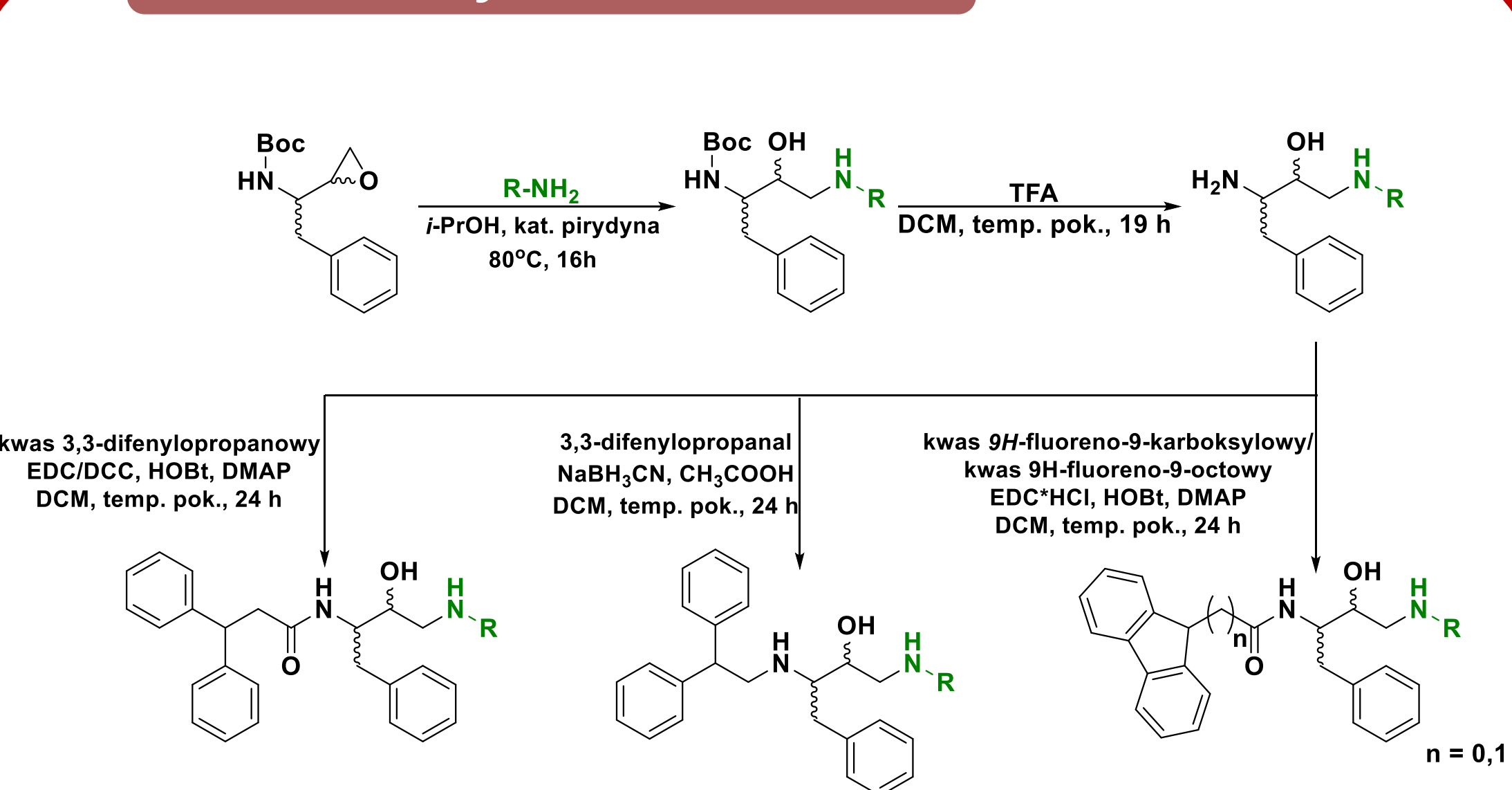
ugrupowanie 3,3-difenyloetylowe → układ fluorenu



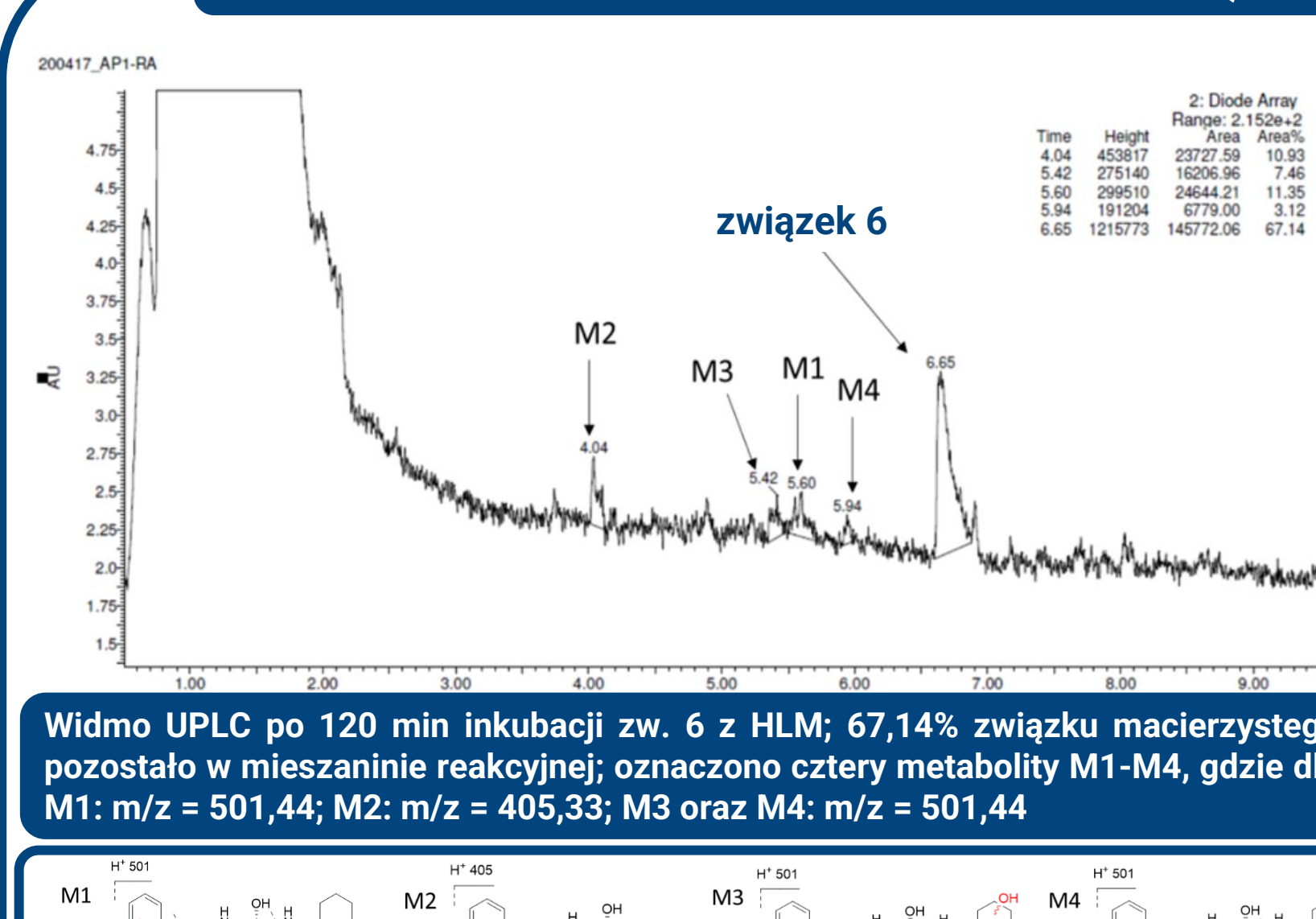
wprowadzenie ugrupowań aminowych



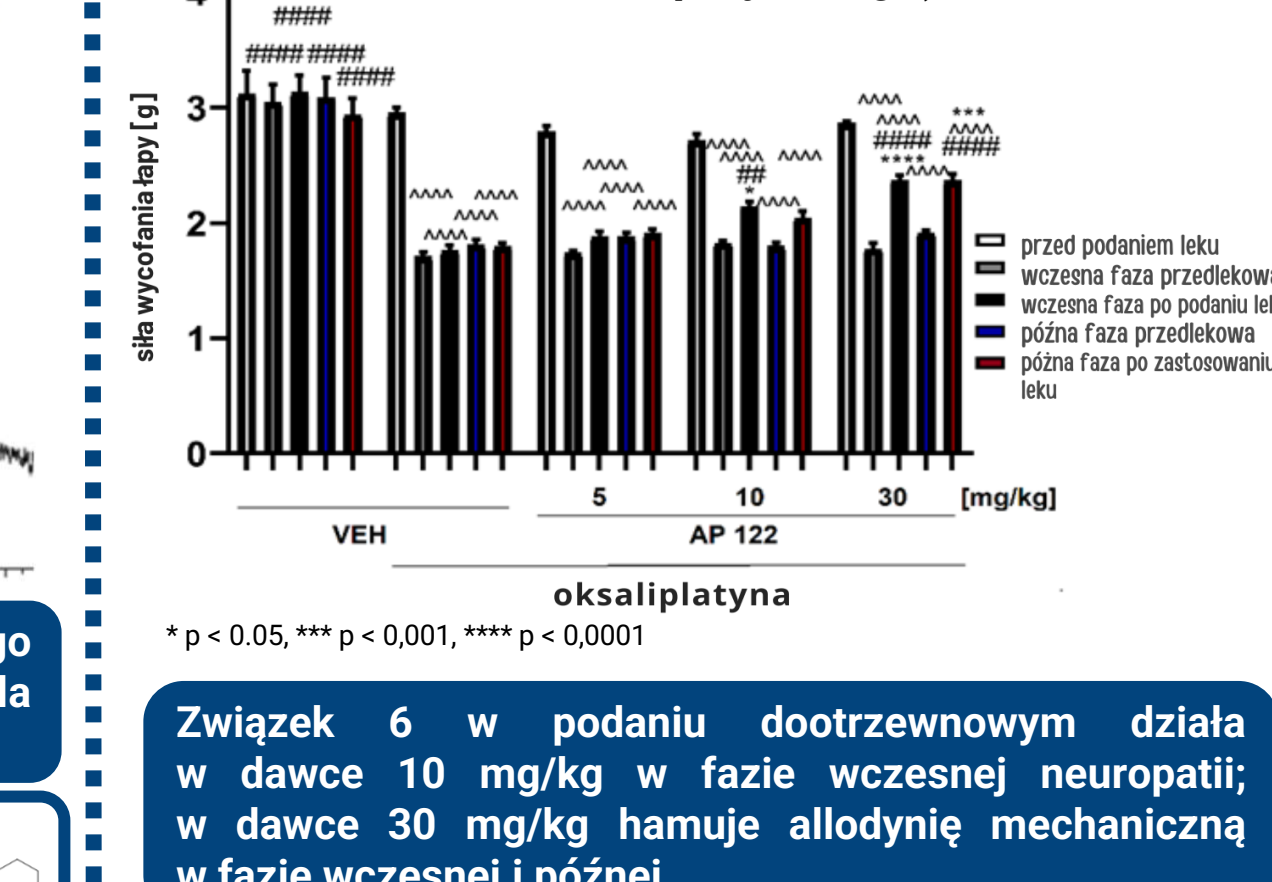
Synteza



Badanie stabilności/ in vitro (test von Freya) związku 6



Test von Freya (działanie analgetyczne w modelu bólu neuropatycznego)



Podsumowanie

- Badania pozwoliły ustalić znaczenie dwóch centrów stereogenicznych, których specyficzna konfiguracja absolutna (2S, 3S) zapewnia wysoką aktywność i selektywność względem GAT3
- Zamiana ugrupowania amidowego na aminowe skutkowałą utratą selektywności
- Zastąpienie grupy 3,3-difenyloetylowej układem fluorenu wiązało się ze zwiększeniem aktywności kosztem utraty selektywności
- Spośród otrzymanych związków wyselekcjonowano związek 6 jako wysoce aktywny i selektywny inhibitor GAT3
- Stabilność metaboliczna związku 6 została potwierdzona poprzez widmo UPLC
- Związek 6 zmniejsza próg bólu w mysim modelu bólu neuropatycznego wywołanego oksalipatyną w teście von Freya

Literatura:
[1] Wu Z. et al. Nat. Commun. 5, (2014) 1-13
[2] Liu J. et al. Front. Cell. Neurosci. 16, (2022) 892497
[3] Zaręba P. et al. Curr. Med. Chem. 28, (2021) 750-776
[4] Zhu A. et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 30, (2023) 1012-1022

[5] Pasięka A. et al. Eur. J. Med. Chem. 218, (2021) 113397
[6] Rudnick G. et al. Pflugers Arch. Eur. J. Physiol. 466, (2014) 25-42

Podziękowania:
Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki, grant Opus numer: 2021/41/B/NZ7/02825