

AKTYWNOŚĆ NEUROPROTEKCYJNA LIGANDÓW RECEPTORA GPR18



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

Ewelina Honkisz-Orzechowska^{1,*}, Lidia Grzegorzczak¹, Katarzyna Kieć-Kononowicz¹

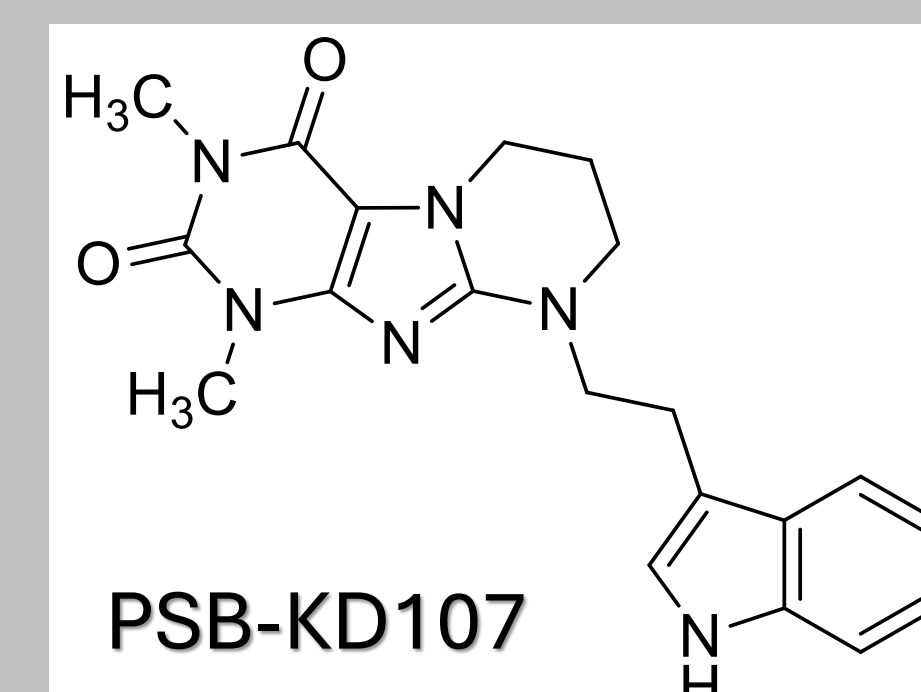
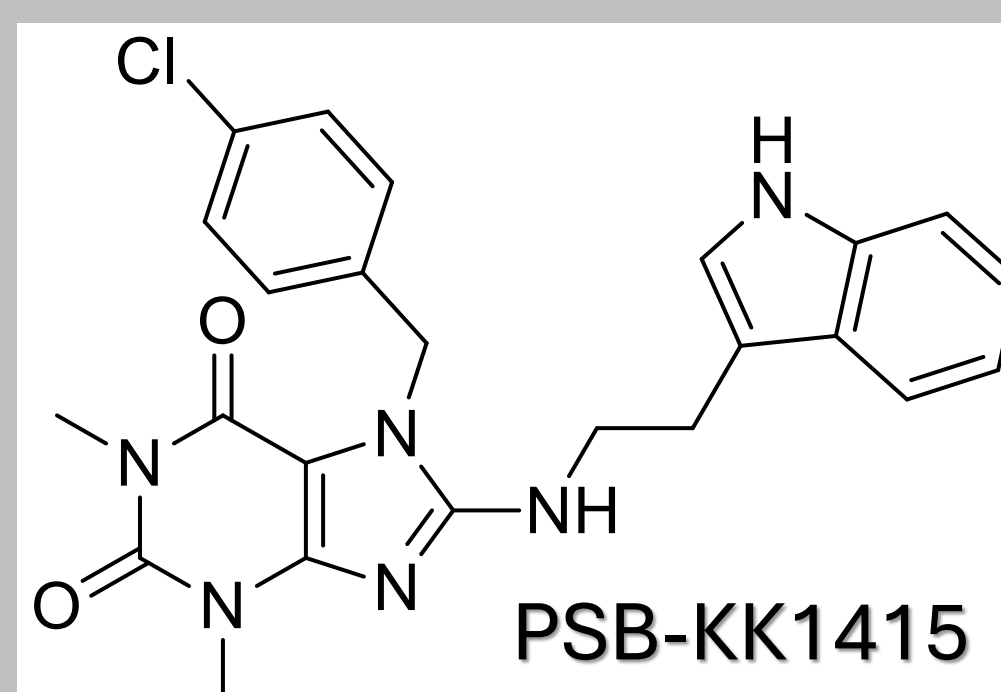
¹Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

*Ewelina Honkisz-Orzechowska, ewelina.honkisz@uj.edu.pl



V SYMPOZJUM
„Szkoła Chemii
Medycznej”
16-18 września 2024 r.,
Gdańsk, Polska

STRUKTURY



NEUROTOKSYCZNOŚĆ

PROFIL BEZPIECZEŃSTWA LIGANDÓW RECEPTORA GPR18

- ✓ linia komórkowa: komórki neuroblastoma SH-SY5Y (ATCC® CRL2266™)
- ✓ gęstość komórek: 8 000 komórek/dotek/plytka 96-dotkowa
- ✓ czas inkubacji: 48 h
- ✓ zakres stężeń: 0,098-100 μM
- ✓ żywotność komórek: test MTS -komercyjnie dostępny zestaw CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega)

Wartości IC₅₀ badanych związków wyznaczone na podstawie testu MTS.

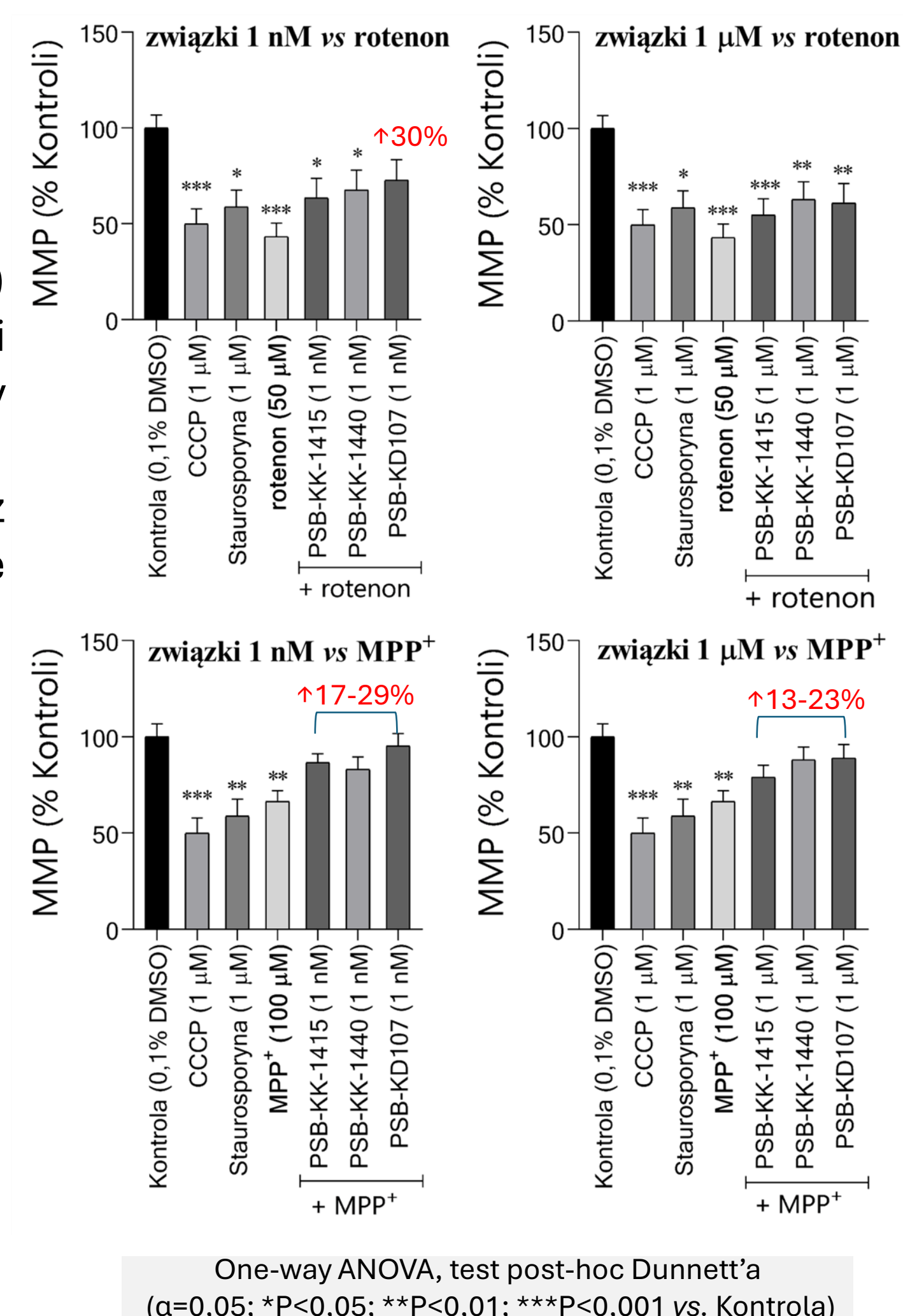
L.p.	Nazwa związku	^a IC ₅₀ $\bar{x} \pm SEM$ (μM)
1.	PSB-KK1415	38,00 ± 9,86
2.	PSB-KK1440	38,90 ± 8,22
3.	PSB-KD107	68,60 ± 14,90

^aWartości IC₅₀ określono poprzez dopasowanie sigmoidalnej krzywej dawka-odpowiedź do danych przy użyciu programu GraphPad Prism w wersji 8.0.1. (równanie: log(inhibitor) vs. znormalizowane nachylenie zmiennej odpowiedzi) z testu MTS w komórkach SH-SY5Y po 48 h ekspozycji na badane związki.

NEUROPROTEKCJA

POTENCJAŁ BŁONY MITOCHONDRIALNEJ (MMP)

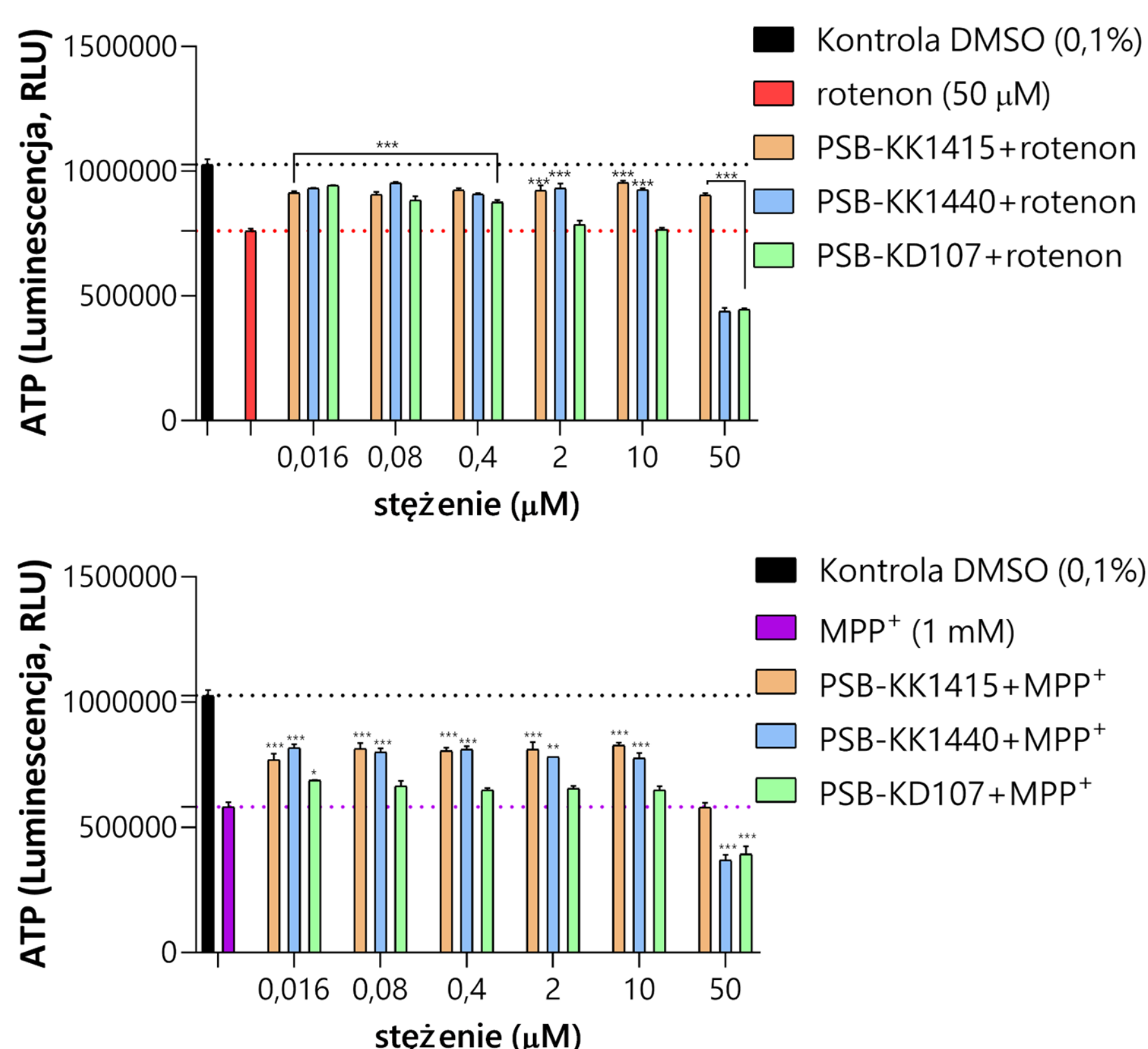
- ✓ test fluorescencyjny (MAK159, Sigma Aldrich)
- ✓ komórki prawidłowe-barwnik JC-10 gromadzi się w mitochondriach i tworzy agregaty wykazujące czerwoną fluorescencję
- ✓ komórki apoptotyczne-JC-10 „ucieka” przez otwarte mitochondrialne pory i wykazuje zieloną fluorescencję



NEUROPROTEKCJA

POZIOM ATP

- ✓ test bioluminescencyjny - CellTiter-Glo® 2.0 Assay (Promega)
- ✓ poziom luminescencji jest wprost proporcjonalny do ilości ATP, a tym samym do ilości aktywnych metabolicznie komórek. Im wyższa luminescencja, tym więcej aktywnych metabolicznie komórek



CEL PROJEKTU

Ocena ligandów receptora GPR18 (PSB-KK1415, PSB-KK1440, PSB-KD107) będących agonistami pod kątem:

- ✓ profilu bezpieczeństwa względem komórek nerwowych
- ✓ aktywności neuroprotekcji w chorobach neurodegeneracyjnych

↑ ATP (20-25%) vs. rotenon [PSB-KK-1415: 0,016-10 μM]

↑ ATP (20-25%) vs. rotenon [PSB-KK-1440: 0,016-10 μM]

↑ ATP (20-25%) vs. rotenon [PSB-KD107: 0,016-0,4 μM]

↑ ATP (32-42%) vs. MPP⁺ [PSB-KK-1415: 0,016-10 μM]

↑ ATP (32-42%) vs MPP⁺ [PSB-KK-1440: 0,016-10 μM]

↑ ATP (32-42%) vs MPP⁺ [PSB-KD107: 0,016 μM]

↓ H₂O₂ (28%) vs. rotenon [PSB-KK1440: 0,016-0,4 μM]

↓ H₂O₂ (26%) vs. rotenon [PSB-KD107: 0,016-10 μM]

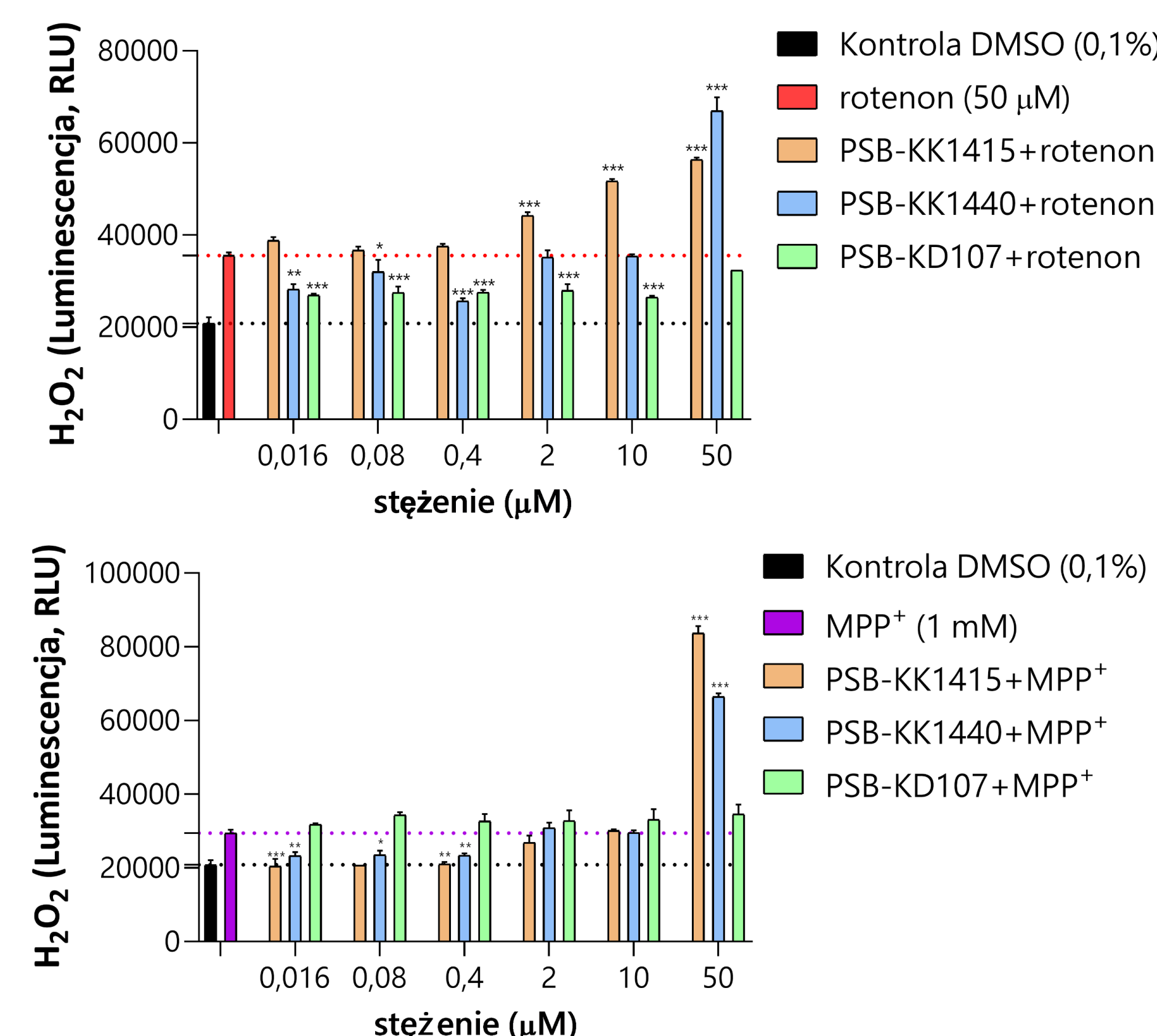
↓ H₂O₂ (31%) vs. MPP⁺ [PSB-KK1415: 0,016 μM; 0,4 μM]

↓ H₂O₂ (21%) vs. MPP⁺ [PSB-KK1440: 0,016-0,4 μM]

NEUROPROTEKCJA

STRES OKSYDACYJNY

- ✓ test bioluminescencyjny - ROS-Glo™ H₂O₂ Assay (Promega)
- ✓ im wyższa luminescencja, tym większy poziom stresu oksydacyjnego w komórkach



PODSUMOWANIE

Szczególnie obiecujące wyniki badań uzyskano dla PSB-KD107

- najwyższy profil bezpieczeństwa spośród badanych związków
- aktywność neuroprotekcji względem rotenonu w 3 testach, a względem MPP⁺ w 2 testach
- wysoka selektywność względem receptora GPR18
- PSB-KD107 może być wytypowany do dalszych bardziej szczegółowych badań nad aktywnością neuroprotekcji

LITERATURA

- [1] Honkisz-Orzechowska, E. et al. *Molecules* **2024**, *12*; 29(6).
- [2] Mahardhika, A.B. et al. *J Med Chem.* **2024** Jun 27;67(12).
- [3] Schoeder, C.T. et al. *ACS Med Chem Lett.* **2020** Jun 17;11(10).

PODZIĘKOWANIE

Badania finansowane z grantu NCN: UMO-2021/43/D/NZ3/01440 i UMO-2021/43/B/NZ7/01938

NARODOWE CENTRUM NAUKI