

**„Ocena aktywności analgetycznej oraz wstępnego profilu bezpieczeństwa związku hybrydowego opioid-neurotensyna”**

**mgr farm. Karolina Frączek**

Promotor: prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Magdalena Bujalska-Zadrozny

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. i n. o zdr. inż. Patrycja Kleczkowska

**STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

Ból to zjawisko o niezwykle skomplikowanym patomechanizmie, a jego leczenie nadal w wielu przypadkach pozostaje niesatysfakcjonujące. Przekazywanie i modulowanie bodźca bólowego odbywają się na poziomie obwodowego oraz ośrodkowego układu nerwowego (OUN) z udziałem licznych układów receptorowych i neuroprzekazników (m.in. endogennych opioidów, kanabinoidów, substancji P, neurotensyny). Korzystnym rozwiązaniem wydaje się zatem stosowanie analgetyków oddziałujących jednocześnie na więcej niż jeden cel molekularny. W ideę terapii wielokierunkowej doskonale wpisują się związki hybrydowe, określane również jako wielofunkcyjne czy biwalentne.

Obiektem badań wykonywanych w ramach pracy był związek hybrydowy o budowie peptydowej (PK23), powstały w wyniku połączenia fragmentu „opiodowego” z analogiem neurotensyny. Co istotne, neurotensyna wykazuje efekt antynocyceptywny niezależny od aktywacji układu opiodowego, a profil jej działań niepożądanych różni się od opioidów. Celem pracy było określenie aktywności farmakologicznej hybrydy PK23 szczególnie pod kątem jej potencjału analgetycznego, ale także wstępnego profilu działań niepożądanych z wykorzystaniem badań *in vivo*, jak i *in vitro*. Ponadto, z uwagi na peptydowy charakter związku, przeprowadzono ocenę jego przenikania przez barierę krew-mózg (BBB) oraz określenie stabilności enzymatycznej w osoczu szczurzym (*in vitro*).

Wyniki badań funkcjonalnych GTP $\gamma$ S wykazały agonistyczny charakter badanej hybrydy zarówno względem receptorów opiodowych MOP, jak i neurotensynowych NTS1. Zdolność aktywacji wymienionych układów receptorowych potwierdziły obserwacje *in vivo* w szczurzym modelu ostrego bólu nocyceptywnego. Co istotne, poziom analgezji po nardzeniowym (*i.t.*) podaniu hybrydy PK23 był zbliżony do morfiny, stanowiącej związek referencyjny. W kolejnym etapie pracy sprawdzano skuteczność hybrydy opioid-neurotensyna w łagodzeniu bólu w teście formalinowym u zwierząt. Badania własne wykazały znaczącą redukcję reakcji bólowych u zwierząt w obu fazach testu (ostrej i tonicznej), co potwierdza nie tylko aktywność przeciwbólową związku PK23, ale również i przeciwzapalną.

Biorąc pod uwagę peptydową strukturę oraz stosunkowo wysoką masę cząsteczkową hybrydy opioid-neurotensyna, zaskakującym wynikiem okazał się wyraźny efekt analgetyczny obserwowany po jej podaniu dożylnym (*i.v.*), wskazujący na możliwość przenikania cząsteczki przez barierę krew-mózg (BBB). Istotnie, przeprowadzone analizy chromatograficzne potwierdziły, iż związek PK23 jest identyfikowany w homogenacie mózgu szczura.

Jak dobrze wiadomo wielokrotne podawanie klasycznych leków opiodowych wiąże się z rozwojem tolerancji na ich działanie analgetyczne. W badaniach własnych wykazano, iż pomimo

obecności farmakoforu opioidowego w strukturze hybrydy PK23, rozwój tolerancji na jej działanie był opóźniony w porównaniu do morfiny. Co więcej, wielokrotne podania hybrydy opioid-neurotensyna (*i.t.*) skutkowały stopniowym i stosunkowo łagodnym obniżaniem progów czucia bodźca nocycyptywnego. W grupie zwierząt otrzymujących morfinę, po kilku dniach obserwowano zaś nie tylko całkowity zanik aktywności analgetycznej, ale także rozwój hiperalgezji, tj. spadek progów bólowych poniżej wartości kontrolnych.

Wyniki kolejnych badań określających wstępny profil bezpieczeństwa hybrydy PK23 potwierdziły brak wpływu jej jednorazowego, nardzeniowego podania (*i.t.*) na zaburzenia koordynacji ruchowej u zwierząt (test Rota-Rod). Co ważne, nie stwierdzono także istotnych zmian parametrów krążeniowo-oddechowych, takich jak wentylacja minutowa, ciśnienie tętnicze, na które wpływać mogą opioidy (depresja oddechowa) oraz neurotensyna (hipotensja).

Podsumowując, przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania dostarczyły cennych danych dotyczących aktywności farmakologicznej nowej hybrydy peptydowej opioid-neurotensyna. Biorąc pod uwagę wykazany potencjał antynocycyptywny w warunkach *in vivo*, a także korzystny profil działań niepożądanych związku PK23 wydaje się uzasadnione, aby podejmować kolejne kroki w kierunku projektowania i badania potencjalnych analgetyków, które jednocześnie modulują układ opioidergiczny oraz neurotensynergiczny.