

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Dalekosiężnym celem projektu jest opracowanie modeli receptorów histaminowych, które mogłyby być stosowane jako alternatywne testy w badaniach nad poszukiwaniem nowych leków. Przedstawiony cel projektu zostanie osiągnięty poprzez racjonalne zaprojektowanie i syntezę macierzy receptorów molekularnych zbudowanych z *N*-lipidowanych peptydów immobilizowanych na podłożu celulozowym zawierających reszty aminokwasowe, które swoją funkcją i strukturą mimikować będą kluczowe fragmenty naturalnych receptorów histaminowych (H1-H4). Macierze te zostaną wykorzystane do badań oddziaływań wyselekcjonowanych związków o udokumentowanej aktywności agonistycznej i antagonistycznej z wnękami wiążącymi receptorów molekularnych. Badania powinny skutkować poznaniem zależności rządzących siłą oddziaływania farmakologicznie aktywnych związków z modelem wnęki wiążącej receptorów, a tym samym określeniem zależności pomiędzy strukturą receptora molekularnego (gospodarz) – strukturą substancji aktywnej farmakologicznie (gość) – trwałością kompleksu molekularnego gość-gospodarz oraz aktywnością biologiczną gościa. Skorelowanie tych wszystkich zmiennych powinno skutkować możliwością zaprojektowania i otrzymania receptorów molekularnych zdolnych do precyzyjnego zidentyfikowania związków działających na receptory histaminowe i nawet wskazania czy ich aktywność będzie mieć charakter agonistyczny czy antagonistyczny. Cel nadrzędny projektu – uzyskanie **zbioru danych** o oddziaływaniach pomiędzy wnękami wiążącymi receptorów a farmakologicznie aktywnymi związkami zrealizowany zostanie poprzez racjonalne projektowanie struktur receptorów molekularnych tworzących macierz. W ramach projektu planowana jest synteza i wykorzystanie w eksperymentach dokowania 5 macierzy receptorów molekularnych: Macierz I –permutacja reszt aminokwasowych: D, (S, D, T, A) F, obecnych w receptorach H1-H4 i biorących udział w wiązaniu zarówno histaminy jak i jej agonistów/antagonistów, Macierz II –permutacja stałego dla receptorów związanych z białkiem G motywu D(E)RY obecnego w transmembranowej helisie III, Macierz III –permutacja stałego dla receptorów H1-H4 motywu CWxP z helisy VI, Macierz IV –permutacja stałego dla receptorów H1-H4 motywu NPxxY z helisy VII. Ostatni etap badań obejmował będzie zaprojektowanie oraz syntezę Macierzy V, która stanowić będzie uproszczony model naturalnych receptorów H1-H4. Wybór reszt aminokwasowych oraz transmembranowych fragmentów obszarów helikalnych wynika z faktu, że właśnie te obszary zaangażowane są w wiązanie zarówno agonistów jak i antagonistów receptorów H1-H4. Typowa procedura dokowania ligandów do wnęk wiążących receptorów molekularnych obejmuje przeprowadzenie równoległe dwóch eksperymentów: (1) dokowanie związku reporterowego; (2) dokowanie bezbarwnego ligandu i następcze kompetycyjne dokowanie związku reporterowego. Wiadome jest, że oddziaływania pomiędzy wnęką wiążącą a ligandem są wysoce selektywne oraz, że receptory molekularne są zdolne do rozróżnienia nawet minimalnych różnic w strukturach wiązanych ligandów (atom fluoru *vs* atom wodoru, enancjomery, diastereomery). Wyniki wstępnych badań z użyciem randomizowanej macierzy receptorów molekularnych wskazują na ich zdolność w rozróżnieniu agonistów od antagonistów działających na receptory histaminowe. Wysoka selektywność oddziaływań receptor molekularny – ligand, w przypadku badań nad potencjalnymi lekami, jest niezwykle istotna, gdyż o aktywności biologicznej wobec danego receptora mogą decydować nawet minimalne zmiany w strukturze ligandów. Macierze receptorów molekularnych otrzymane zostaną automatyczną metodą SPOT (zgodnie z opracowanym protokołem automatycznej SPOT syntezy *N*-lipidowanych peptydów), co gwarantuje powtarzalność wyników syntezy. W syntezie wykorzystane zostaną wysoce efektywne triazynowe odczynniki kondensujące, gwarantujące nie tylko wysoką efektywność i powtarzalność syntezy lipopeptydów, ale również brak depozytów produktów ubocznych na matrycy celulozowej.

Zaproponowane podejście, w żaden sposób nie umniejsza znaczenia stosowanych metod badania związków aktywnych farmakologicznie obejmujących modelowanie molekularne (komputerowe dopasowanie badanego związku do struktury receptora/enzymu) oraz hodowle tkankowe. Zaproponowane podejście stanowić będzie metodykę uzupełniającą, która może się lokować pomiędzy typowymi badaniami *in silico* a badaniami *in vitro*, rozszerzając zatem zestaw alternatywnych metod badawczych. Oprócz wartości poznawczej i przyspieszenia tempa badań nad nowymi lekami, opracowane rozwiązanie zapewnia pełną standaryzację i tym samym powtarzalność wyników. Opracowane macierze receptorów molekularnych mogą stanowić wariant nowego modelu badawczego, który uprości i obniży koszty wstępnej fazy poszukiwań nowych leków zaś pomiary oddziaływań gość-gospodarz zredukują zakres badań prowadzonych na zwierzętach laboratoryjnych. Najważniejszym jednak wydaje się być fakt, że udoskonalanie modeli badawczych w badaniach przedklinicznych zwiększa szansę powodzenia badań klinicznych, przyspiesza fazę poszukiwań, zmniejsza jej koszty i jak obniża ryzyko niepowodzenia badań.