

# **Új szomatosztatin 4 receptor agonista vegyületek hatástani jellemzése különböző fájdalommodellekben**

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Dr. Kántás Boglárka**



**Gyógyszertudományok Doktori Iskola, iskolavezető: Prof. Dr. Pintér Erika**  
**Neuroimmun interakciók szerepe fájdalomban és gyulladásban, programvezető:**

**Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna**

**Témavezetők:**

**Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna**

**Dr. Borbély Éva**

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar**  
**Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet &**  
**Szentágothai János Kutatóközpont**

**Pécs, 2022.**

# **I. ÁLTALÁNOS BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

## **I.1. Neuropátiás fájdalom**

A neuropátiás fájdalom a központi vagy a perifériás idegrendszer károsodása vagy működészavara következtében kialakuló szubjektív szenzoros tünet, melynek a szervezet szempontjából nincs hasznos védő funkciója, valamint kialakulásának pontos patomechanizmusa sem tisztázott. Az alapvetően nem fájdalmas inger (pl. tapintás) hatására kialakuló fájdalomérzetet allodyniának, míg az mérsékeltén fájdalmas inger hatására fokozott fájdalomérzetet hiperalgéziának nevezzük <sup>1</sup>. A neuropátia kialakulásának hátterében számos etiológiai tényező állhat, így nagy létszámú, heterogén betegcsoportot érint.

A neuropátiás fájdalom kezelésében a konvencionális fájdalomcsillapítók nem (NSAID) vagy csak korlátozottan hatékonyak (ópioidok). Gyógyszeres terápiájában az úgynevezett adjuváns analgetikumokat alkalmazzák, melyek közé egyaránt tartoznak antidepresszáns (pl. amitriptilin, nortriptilin, dezipramin, duloxetin, venlafaxin) és antiepileptikus (pl. gabapentin, pregabalin) szerek. Lokális készítmény formájában a lidokain és kapszaicin is képes enyhíteni a neuropátia okozta fájdalmat, azonban egyes betegeknél komoly bőrirritációt okoznak. Terápiás kihívást jelent, hogy sokszor az adjuváns analgetikumok fájdalomcsillapító hatása sem kielégítő a betegek számára, nem ritkák terápiaerezisztens esetek, emellett számos kellemetlen mellékhatásuk korlátozza használatukat. A betegek együttműködését jelentősen rontja az adjuváns analgetikumok fájdalomcsillapító hatásának kialakulásához szükséges több hetes látencia idő, miközben a kellemetlen mellékhatások a terápia megkezdését követően szinte azonnal megjelennek. E terápiás nehézségek szükségessé teszik új hatásmechanizmusú fájdalomcsillapító kifejlesztését <sup>2</sup>.

## **I.2. Neurogén gyulladás**

A perifériás idegrendszerben a fájdalomérző idegek gyulladásban részvevő csoportját a kapszaicin szelektíven izgatja, valamint nagyobb dózisban alkalmazva deszenzibilizálja, ezek az úgynevezett kapszaicin-érzékeny afferensek <sup>3</sup>. A kapszaicin aktiválja a Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) nem szelektív kationcsatornát, melyet a kapszaicinen kívül a 43 °C feletti hőinger <sup>4</sup>, a 6 alatti pH, valamint egyéb exogén irritáló hatású anyagok (pl. reziniferatoxin (RTX), piperin) és endogén mediátorok (pl. anandamid, lipoxigenáz-termékek) is képesek aktiválni. A receptor

aktivációja során konformációváltozás jön létre és a csatorna megnyílik,  $\text{Na}^+$  és  $\text{Ca}^{2+}$  ionok áramlanak be, mely az idegvégződés depolarizációjához, valamint akciós potenciál kialakulásához vezet. Az idegvégződésből a  $\text{Ca}^{2+}$  ionok beáramlásának hatására az ott tárolt neuropeptidok exocitózissal ürülnek, ezen felül a  $\text{Ca}^{2+}$  ionok fontos szerepet játszanak a neuron esetleges későbbi deszenzibilizációjában <sup>5</sup>.

A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végzések aktivációja során számos neuropeptid szabadul fel, melynek következtében értágulat és plazmaextravazáció jön létre <sup>6</sup>. Ezt a jelenséget nevezzük neurogén gyulladásnak <sup>7</sup>. Ugyanezen idegvégzések aktivációjakor a gyulladáskeltő neuropeptidok (P anyag, neurokinin A és B) mellett gyulladásgátló hatású neuropeptidok (szomatosztatin, galanin, PACAP-38) is felszabadulnak.

A neurogén gyulladás fontos szerepet játszik számos betegség kialakulásában, melyek neurogén gyulladással komponensére a konvencionális nem szteroid gyulladáscsökkentők nincsenek hatással <sup>8</sup>, így a neuropátiás fájdalomhoz hasonlóan a neurogén gyulladás kezelése is nagy kihívás az orvosi gyakorlatban.

### **1.3. Szomatosztatin és receptorai**

A szomatosztatin a szervezet számos területén expresszálandó, 14 és 28 aminosavas biológiailag aktív formában előforduló ciklikus neuropeptid <sup>9</sup>. Gátolja számos hipofízis (szomatotropin, prolactin, tireotropin) és perifériás (pl. inzulin, glükagon, gastrin, szekretin, motilin, kolecisztokinin) hormon szekrécióját. A szomatosztatin a GABA-erg interneuronok egy jelentős populációjában kimutatható, ahonnan a GABA-val együtt szabadul fel és gátló neuromodulátorként fejt ki hatását a központi idegrendszer neuronjaira <sup>10</sup>. A gátló neurotranszmisszió csökkenése – így a szomatosztatin hiánya – fontos szerepet játszik a hangulatzavarok (pl. major depresszió, bipoláris zavarok) és a szorongás kialakulásában <sup>11</sup>. A szomatosztatin szerteágazó hatásait saját heptahelikális membránhoz kötött  $G_i$ -protein kapcsolt receptorain keresztül fejt ki (SST<sub>1</sub> - SST<sub>5</sub>), melyek közül a SST<sub>1</sub> és SST<sub>4</sub> receptorok felelősek a gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásokért <sup>12</sup>.

A natív szomatosztatin széles hatásspektruma, valamint rövid plazma eliminációs féleletideje miatt terápiásan nem alkalmazható <sup>13</sup>, így receptorszelektív, stabil agonistái jelenthetnek új terápiás perspektívát.

A SST<sub>4</sub> egyaránt előfordul a perifériás és a központi idegrendszerben, melynek perifériás aktivációjához fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő hatás köthető endokrin mellékhatások nélkül <sup>14</sup>, így gyógyszerfejlesztési szempontból ígéretes célpont. Agyi lokalizációját tekintve immunhisztokémiával kimutatható többek között az agykéregben, a striátumban, a hippocampusban és az amigdalában <sup>15</sup>. Szerepet játszik a lokomotoros aktivitás <sup>16</sup> és a tanulási folyamatok szabályozásában <sup>17</sup>, a memória kialakulásában <sup>18</sup>, valamint a hangulatszabályozásban <sup>19</sup>.

Az elmúlt évtizedek során munkacsoportunk SST<sub>4</sub> receptortt aktiváló vegyületek hatástani vizsgálatára fókuszált. A TT-232 egy ciklikus heptapeptid, mely a szomatosztatin többi receptorához viszonyítva nagyobb affinitással kötődik a SST<sub>4</sub>/SST<sub>1</sub> receptorokhoz. A vegyülettel végzett kísérletek során jelentős antiproliferatív hatás igazolódott <sup>20</sup>, valamint gátolta az akut nocicepciót és gyulladáscsökkentő hatást mutatott patkánymodellekben. Toxikus mellékhatás a gyulladáscsökkentő hatáshoz elegendőnél jóval nagyobb dózis adása esetén sem volt kimutatható, valamint a központi idegrendszerre sem volt hatással <sup>21</sup>. Későbbi vizsgálatok során kiderült, hogy növeli a hőtoleranciát, illetve javítja a diabétesz okozta neuropátiás hiperalgéziát <sup>12</sup>. Szemben a nem szelektív szomatosztatin agonistákkal, a gasztrin és a növekedési hormon szekrécióját nem befolyásolja.

### **I.5. Jelen vizsgálataink közvetlen előzményei**

A Pécsi Tudományegyetem szabadalma alatt álló pirrolo-pirimidin vázas, per os akív vegyületeket (C1-C6) az Avicor Kft. szintetizálta. A kiindulási 4-klór-pirrolo-pirimidinek kereskedelmi forrásokból származnak, melyeket N-benzilezés után különböző fenil-etil-aminokkal kapcsoltak össze.

A TT-232 SST<sub>1</sub>/SST<sub>4</sub> receptor agonista peptidet a Tocris Bioscience-től rendeltük (Cat. No. 4639) és felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

Dr. Börzsei Rita és Dr. Hetényi Csaba modellezték a SST<sub>4</sub> receptor szerkezeti felépítését a Maestro program segítségével, majd különböző ligandum struktúrákat dokkoltak a SST<sub>4</sub> receptor extracelluláris régiójára az AutoDock 4.2.6 programmal. A strukturális számítások alapján a C1-6 elnevezésű molekulák hasonló interakciós energiával kötődnek ( $-8,24 \pm 0,41$  kcal/mol) a SST<sub>4</sub> receptor azonos, nagy affinitású kötőhelyéhez. A TT-232 az SST<sub>4</sub> receptor mély kötőzsebéhez illeszkedik, interakciós energiája alapján ( $-11,03$  kcal/mol) pedig kötődési erőssége hasonló vagy jobb, mint a szuperagonista J-2156 kötődési erőssége<sup>22</sup>.

Az *in silico* vizsgálatok alapján ígéretes C1-6 vegyületekkel Dr. Szőke Éva végzett G-protein aktivációs tesztek, melyek során mind a hat molekula G-protein aktivációt indított el a stabilan SST<sub>4</sub> receptort expresszáló sejten. A vegyületek a SST<sub>4</sub> receptor potens és effektív agonistáinak bizonyultak.

A  $\beta$ -arresztin halmozódás vizsgálatát Dr. Asghar Junaid és Lina Hudhud végezték, melynek során a G-protein kapcsolt receptorok deszenzibilizációjára utaló  $\beta$ -arresztin felhalmozódás nem volt detektálható.

Dr. Szőke Éva vizsgálta a TT-232 SST<sub>4</sub> receptorhoz való kötődését [<sup>125</sup>I-Tyr11]szomatosztatin-14 jelenlétében a receptort stabilan expresszáló sejten. A vizsgálat eredményeként a TT-232 koncentráció függő módon képes leszorítani a szomatosztatint a SST<sub>4</sub> receptorról.

## I. CÉLKITŰZÉSEK

PhD munkám célja új, potenciális SST<sub>4</sub> receptor agonista, pirrolo-pirimidin vázas, per os aktív vegyületek, valamint az intraperitoneálisan adható peptid természetű TT-232 SST<sub>1</sub>/SST<sub>4</sub> receptor agonista vegyület antihiperalgetikus hatásának vizsgálata különféle mechanizmusú fájdalommodellek segítségével:

- I. C1-C6 vegyületek és a TT-232 vizsgálata neuropátiás fájdalom egérmodelljében
- II. C5, C6 vegyületek vizsgálata neurogén gyulladás egérmodelljében
- III. C2 vegyület tesztelése viselkedés vizsgálatokban

### **III. KÍSÉRLETI MODELLEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK**

#### **III.1. Kísérleti állatok**

A neuropátiás fájdalom és neurogén gyulladás modellezésére 8-12 hetes hím NMRI egereket használtunk, melyek más egértörzsekhez viszonyítva a legmagasabb fájdalomküszöbvel rendelkeznek. A neuropátiás fájdalommodellben továbbá C57Bl/6J alapon előállított 8-12 hetes hím *Sstr4* génhíányos (*Sstr4<sup>-/-</sup>*) és vad típusú (*Sstr4<sup>+/+</sup>*) egereket is használtunk. A viselkedésvizsgálatokat az e célra leggyakrabban alkalmazott 12-16 hetes hím C57Bl/6 egereken végeztük.

#### **III.2. Etikai vonatkozások**

Vizsgálati módszereink és eljárásaink minden tekintetben megfelelnek az állatkísérletek végzéséről szóló 1998/XXVIII. számú kormányrendelet előírásainak, valamint az Európai Parlament irányelveinek (2010/63). A Pécsi Tudományegyetem állatkísérletekkel foglalkozó Etikai Bizottsága a kísérleti protokollokat jóváhagyta (Engedélyszám: BA1/35/51-123/2016; BA02/2000-23/2017). Munkánk során mindent megtettünk a felhasznált állatok számának és szenvedésének minimalizálása érdekében.

#### **III.3. Kezelési protokollok**

A pirrolo-pirimidin vázas vegyületek 1 mg-ját 1 ml 1,25%-os metilcellulózból szuszpendálva opálosan áttetsző törzsoldatokat kaptunk. A törzsoldatokból 1,25%-os metilcellulózzal 1, 5, 25, 50 és 100 µg/ml-es mikroszuspenziók készültek, melyekkel az állatokat kezeltük. A kísérleti állatok 20 ml/kg szuszpenziót kaptak tápszonda segítségével, tehát 20, 100, 500, 1000 és 2000 µg/kg-os dózisokkal lettek kezelve. A kontrollcsoport 20 ml/kg 1,25%-os metilcellulózt kapott tápszondán keresztül. A per os kezelések a kísérleti méréseket megelőzően 60 perccel történtek.

A TT-232-ből 1 mg/ml-es töménységű oldatot készítettünk acetát-puffer (pH 3,5) segítségével, majd a további hígításokat foszfát-pufferrel (PBS - pH 7,3) végeztük. Az alkalmazott dózisok 100 µg/kg és 200 µg/kg voltak, melyek intraperitoneális úton kerültek beadásra a kísérleti méréseket

megelőzően 30 perccel. A kontrollcsoport az acetát- és foszfát-puffer keverékét, tehát az oldószert kapta ugyanebben az időpontban szintén intraperitonálisan.

### **III.4. *In vivo* modellek, módszerek**

#### **III.4.1. Neuropátiás fájdalommodell**

A traumás szenzoros mononeuropátiát a Seltzer-műtét<sup>23</sup> segítségével idéztünk elő, melynek során a jobb oldali n. ischiadicus kerül részleges lekötésre. A műtétet ketamin (100 mg/kg i.p.) és xilazin (10 mg/kg i.p.) kombinációjával altatott állatokon végeztük. A jobb oldali n. ischiadicus izolálását követően szorosan leköttük annak dorzális 1/3–1/2-át 8-0-as fel nem szívódó fonallal, majd 6-0-as varróanyaggal zártuk a sebet.

A kontroll mérések során és 7. posztoperatív napon meghatároztuk az állatok mechanikai fájdalomküszöbét dinamikus plantáris eszteziométerrel (DPA, Ugo Basile, Comerio, Olaszország), majd a kontroll mérések átlagával összehasonlítva kizártuk azokat az egereket, melyeknél a műtét következtében nem alakult ki minimum 20%-os mechanikai fájdalomküszöb csökkenés. A sikeres műtéten átesett állatokat vegyületeink különböző dózisaival, valamint azok oldószerével bekezeltük. A C1-6 vegyületek esetén a kezelést követően 60 perccel, a TT-232 esetén pedig 30 perccel ismételtük a mechanikai fájdalomküszöb meghatározását.

#### **III.4.2. RTX indukálta akut neurogén gyulladás modell**

Ebben a kísérletben azt vizsgáltuk, hogy a C5 és C6 vegyületeink milyen mértékben képesek meggátolni az RTX által kiváltott akut neurogén gyulladás kialakulását, így a p.o. kezelés 60 perccel az RTX adását megelőzően történt.

Az RTX egy ultrapotens kapszaicin analóg, tehát Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) nem szelektív kationcsatornát aktiválja. A csípősség mértékét egységekben meghatározó Scovill-skála alapján az RTX 1000-szer erősebb hatást vált ki, mint a paprika csípősségéért felelős kapszaicin. RTX (Sigma, St. Louis, MO, USA) intraplantáris injektálásával (20 µl, 0.1 µg/ml) idéztünk elő az állatok jobb hátsó lábán akut neurogén gyulladásos reakciót, melynek hatására

perceken belül termális allodynia alakult ki perifériás szenzitizációs mechanizmusoknak köszönhetően, ezt követően centrális szenzitizáció révén mechanikai hiperalgéria volt megfigyelhető<sup>24</sup>.

Egy szoktató és a két kontroll mérés során meghatároztuk az állatok talpának mechanikai fájdalomküszöbét DPA-val, valamint hőküszöbét emelkedő hőmérsékletű forró lap, Hot plate (IITC Life Science, Woodland Hills, CA, USA) segítségével, mely 25 °C-ról 12 °C/perces sebességgel melegszik fel maximum 50°C-ig. A mérés során az állatok fájdalomreakciókat (láb elrántása, rázása, talp megnyalása) mutatva jelzik, ha a Hot plate elérte a számukra fájdalmas hőmérsékletet, ekkor a mérés azonnal véget ér és a vizsgálószemély feljegyzi a pontos hőmérsékletet °C-ban. A kísérlet napján az RTX kezelést követően 10., 20. és 30. percben határoztuk meg az állatok hőküszöbét, a 30. 60. és 90. percben pedig a mechanikai fájdalomküszöbét, melyeket a kontroll mérések eredményeivel hasonlítottunk össze.

#### **III.4.3. Open field teszt (OFT)**

A spontán lokomotoros aktivitás és a szorongásszint meghatározására OFT-et használtunk, melynek során a kezelést követően 60 perccel az állatokat egyesével egy 39 cm × 39 cm × 39 cm-es fehér padlójú és szürke falú, felül nyitott dobozba helyeztük az 5 perces megfigyelés idejére<sup>25</sup>. A dobozt minden állat után megtisztítottuk 70%-os etanollal<sup>26</sup>. Az állatok mozgásáról videófelvétel készült, melyet az EthoVision XT 8.0 (Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands) mozgáselemző szoftverrel értékeltünk ki.

#### **III.4.4. Emelt keresztpalló teszt (EPM)**

A rágszálók szorongásszintjének meghatározására széles körben használt vizsgálat az EPM. A földtől 1 m magasságban elhelyezkedő kereszt alakú palló karjai 5 cm szélesek és 30 cm hosszúak, két szemközti karja három oldalról zárt, a másik kettő pedig nyitott. A kezelést követően 60 perccel az egereket egyesével a kereszt közepére helyeztük orrukkal az egyik nyitott kar felé. A kísérlet 5 perces megfigyelési ideje alatt mozgásukat videófelvételen rögzítettük, elemzésükkor azt az időt mértük, melyet az állatok a palló nyitott karjain töltöttek, ez az idő fordítottan arányos az állatok szorongásszintjével. Az apparátust minden kísérlet után 70%-os etanollal megtisztítottuk<sup>27</sup>.



## IV. STATISZTIKA

A vizsgált vegyületek mechanikai fájdalomküszöbökből kiszámított antihiperalgetikus hatását két mintás t-próba segítségével hasonlítottuk össze a kontrollcsoport eredményeivel. A viselkedésvizsgálatok kiértékeléséhez szintén két mintás t-próbát használtunk, kivéve az ágasodások számánál, ahol Mann-Whitney-próbát alkalmaztuk, mely a két mintás t-próba nem parametrikus megfelelője. A TT-232 esetén antihiperalgetikus hatás mellett a mechanikai fájdalomküszöbök is ábrázolásra kerültek, mely értékeket páros t-próba segítségével hasonlítottuk össze.

Az RTX által kiváltott mechanikai fájdalomküszöb és hőküszöb változásait két utas varianciaanalízis (ANOVA), valamint Bonferroni posztteszt segítségével értékeltük ki.

Az egyes csoportok eredményeit összevetve a \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  és \*\*\*\* $p < 0,0001$  értékeket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai analízist a GraphPad Prism 8 statisztikai programmal végeztük.

## V. EREDMÉNYEK

### V.1. Pirrolo-pirimindin vázas vegyületek hatása neuropátiás fájdalommodellben

A Seltzer-műtétet követő 7. posztoperatív napra a kísérleti állatok mechanikai fájdalomküszöbe átlagosan  $37,3 \pm 13,4\%$ -kal csökkent a kiindulási értékhez képest. Szignifikáns antihiperalgetikus hatást mutatott a C1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C1:  $52,1 \pm 5,4\%$  vs. Oldószer:  $14,7 \pm 6,1\%$ ), a C2 100 és 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C2:  $64,4 \pm 14,3\%$ ;  $54,6 \pm 13,7\%$  vs. Oldószer:  $7,8 \pm 8,1\%$ ), a C3 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C3:  $57,0 \pm 16,1\%$  vs. Oldószer:  $12,0 \pm 7,2\%$ ), a C4 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C4:  $57,2 \pm 14,6\%$  vs. Oldószer:  $10,0 \pm 7,6\%$ ), a C5 100, 500 és 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C5:  $46,7 \pm 9,5\%$  ;  $57,6 \pm 10,8\%$ ;  $48,1 \pm 7,2\%$  vs. Oldószer:  $8,1 \pm 6,0\%$ ), valamint a C6 500 és 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisa (C6:  $44,7 \pm 8,3\%$ ;  $45,0 \pm 13,2$  vs. Oldószer:  $16,6 \pm 7,8\%$ ).

### V.2. A C5-ös és C6-os molekula hatása RTX indukálta akut neurogén gyulladás modelljében

Neurogén gyulladás egérmodelljében a C5-ös és C6-os molekulák hatását vizsgáltuk 500 µg/kg-os dózisban. Az RTX (20 µl, 0.1 µg/ml) intraplantáris injektálását követően az állatok hőküszöbe  $46,1 \pm 0,4$  °C-ról a 10., 20. és 30. percben  $34,7 \pm 1,5$ ;  $41,2 \pm 2,3$  és  $41,1 \pm 1,7$  °C-ra csökkent ( $-24,6 \pm 3,5\%$ ;  $-10,4 \pm 5,2\%$  és  $-10,7\% \pm 4,1\%$ ), valamint a mechanikai fájdalomküszöbük  $9,7 \pm 0,1$ g-ról a 30., 60. és 90. percben  $5,1 \pm 0,4$ ;  $6,6 \pm 0,3$  és  $6,7 \pm 0,3$  g-ra csökkent, tehát  $47,3\% \pm 4,4\%$ ;  $31,5\% \pm 2,9\%$ , majd  $31,4\% \pm 3,6\%$ -os mechanikai hiperalgéria alakult ki. A vegyületekkel való orális előkezelést követően a C5 szignifikánsan gátolta az akut neurogén gyulladás okozta hőküszöbcsökkenést a 10. és a 30.percben (C5:  $43,0 \pm 1,0$  °C;  $48,5 \pm 0,9$  °C vs. Oldószer:  $41,0 \pm 1,7$  °C), valamint mechanikai hiperalgéria kialakulását a 30. percben (C5:  $24,6 \pm 4,5\%$  vs. Oldószer:  $47,2 \pm 4,4\%$ ), ezzel szemben a C6-nak nem volt kimutatható hatása a vizsgált dózisban.

### **V.3. A C2-es molekula hatása viselkedésvizsgálatokban**

Nem volt szignifikáns különbség a C2-vel kezelt és a kontrollcsoportba tartozó egerek között az EPM nyitott karjain töltött időben (C2:  $52,8 \pm 7,4$  s vs. Oldószer:  $51,0 \pm 8,5$  s), valamint a nyitott karok külső 1/3-án töltött időben (C2:  $9,1 \pm 3,1$  s vs. Oldószer:  $6,2 \pm 2,8$  s).

Az OFT során vizsgált paramétereket, azaz a megtett utat, (C2:  $1798 \pm 180,8$  cm vs. Oldószer:  $1824 \pm 130,2$  cm), a sebességet (C2:  $6,0 \pm 0,6$  m/s vs. Oldószer:  $6,1 \pm 0,4$  m/s), a mozgással töltött időt (C2:  $56,0 \pm 5,2$  s vs. Oldószer:  $56,3 \pm 3,7$  s), a középső zónában töltött időt (C2:  $59,8 \pm 8,7$  s vs. Oldószer:  $59,5 \pm 4,0$  s), és az ágaskodások számát (C2:  $31,1 \pm 4,1$  vs. Oldószer:  $30,6 \pm 3,2$ ) a C2 a vizsgált dózisban nem befolyásolta.

### **V.4. A TT-232 hatása neuropátiás fájdalommodellben**

A Seltzer-műtétet követően a kísérleti állatoknak átlagosan  $37,3 \pm 1,0\%$ -kal csökkent a mechanikai fájdalomküszöbe. A vad típusú egerek esetén a TT-232 szignifikánsan mérsékelte a mechanikai fájdalomküszöb csökkenését 100 és 200 µg/kg-os dózisban (TT-232:  $24,9 \pm 3,4\%$ ;  $19,6 \pm 3,2\%$  vs. Oldószer:  $38,2 \pm 2,3\%$ ), ezzel szemben a génihiányos egerek mechanikai fájdalomküszöbére egyik dózis sem volt hatással (TT-232:  $34,2 \pm 1,9\%$ ;  $35,8 \pm 1,4\%$  vs. Oldószer:  $35,8 \pm 1,6\%$ ).

A mechanikai fájdalomküszöb változásából antihiperalgetikus hatást számolva a TT-232 átlagosan  $35,7 \pm 8,3\%$ -os antihiperalgetikus hatással bír  $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisban, valamint  $50,4 \pm 8,4\%$ -os antihiperalgetikus hatást mutatott  $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ -os dózisban a vad típusú egerek esetén.

## VI. MEGBESZÉLÉS

A neuropátiás fájdalom különösen rezisztens a hagyományos fájdalomcsillapító kezeléssel szemben: az opioidok és NSAID-ok szinte teljesen hatástalanok neuropátiás állapotokban <sup>28</sup>, az adjuváns analgetikumok (például antiepileptikumok, antidepresszánsok) hatása pedig sok esetben limitált, ezen felül számos súlyos mellékhatásuk korlátozza használatukat <sup>29</sup>.

Az általam vizsgált 6 új pirrolo-pirimidin vázas vegyület (C1-6) előzetes *in silico* és *in vitro* vizsgálatok alapján került kiválasztásra, mint potenciális SST<sub>4</sub> receptor agonista. Az *in silico* modellezés eredményeként mind a 6 molekula kötődést mutatott a SST<sub>4</sub> receptor nagy affinitású kötőzsebéhez hasonló interakciós energiával, valamint az *in vitro* vizsgálatok során G-protein aktivációt indítottak el és mindemellett  $\beta$ -arresztin felhalmozódás nem volt kimutatható, mely a receptor deszenzibilizációjára utalna <sup>30</sup>.

A SST<sub>1</sub>/SST<sub>4</sub> agonista TT-232 *in silico* kötődést mutatott a SST<sub>4</sub> receptor mély kötőzsebéhez a J-2156 szuperagonistához hasonló interakciós energiával <sup>22</sup>, valamint *in vitro* koncentráció függő módon szorította le a szomatosztatint a SST<sub>4</sub> receptorról (nem publikált eredmények közlésre előkészítve).

A Seltzer-műtét következményeként jelentős károsodás alakul ki a vékony mielinizált és nem mielinizált idegrostokban, mely kóros szenzoros funkció kialakulásához, hiperalgéziához és allodyniához vezet a motoros funkciók károsodása nélkül <sup>31</sup>. Munkacsoportunk korábbi kísérletekben igazolta a kapszaicin-érzékeny érzőidegek szerepét krónikus neuropátiával járó fájdalommodellek segítségével. A vizsgálatok során a TRPV1 receptorról rendelkező vad típusú egerekben szignifikánsan kisebb mechanikai fájdalomküszöb csökkenés alakult ki, mint a TRPV1 génhiányos állatok esetén, plazmájukban pedig a szomatosztatin szignifikánsan magasabb koncentrációban volt jelen a génhiányos állatok plazmakoncentrációjához viszonyítva <sup>32</sup>. Az

eredmények alátámasztják, a TRPV1-függő szomatosztatin felszabadulásnak fontos szerepe van a krónikus neuropátiás állapotokban fellépő antinociceptív mechanizmusokban, továbbá feltételezhetjük, hogy a szomatosztatin bizonyos receptorain ható vegyületek, tehát kiválasztott vegyületeink is antihiperalgetikus hatással rendelkeznek.

A pirrolo-pirrimidin vázas vegyületek 500 µg/kg-os egyszeri orális dóziséval való előkezelést követően a vegyületek mindegyike szignifikánsan emelte a mechanikai fájdalomküszöböt, valamint mindegyikük hasonló, maximálisan 50-60%-os antihiperalgetikus hatást eredményezett. Érdekes módon ezek a vegyületek hagyományos dózis-hatás összefüggést nem mutattak, harang alakú dózis-hatás görbék határozhatók meg minden vegyületre, ahol a két kisebb és két nagyobb dózis hatástalan volt. A C2 vegyület a többivel ellentétben már 100 µg/kg-os dózisban is hatásosnak bizonyult. Ezen új vegyületek hatékony antihiperalgetikus dózisa meglehetősen alacsony, ami a vegyületek nagy hatásereőségét jelzi. Jelenleg nem ismerjük harang alakú dózis-hatás összefüggés hátterében álló okokat, valamint az sem, hogy a hatás mennyiben centrális, illetve perifériás komponensekből tevődik össze. Munkacsoportunk ultraszenzitív RNAscope technika segítségével szolgáltatott adatokat a SST<sub>4</sub> receptor központi idegrendszeri lokalizációjáról, melyek alapján a receptor jelen van több, a fájdalom-, valamint hangulatszabályozásban fontos szerepet játszó agyi régióban, mint pl. prelimbikus kéreg, hippocampus, habenula, amygdala, pirmer szomatoszenzoros kéreg<sup>33</sup>. A receptor szerteágazó agyi lokalizációja lehet a harang alakú dózis-hatás görbék egyik lehetséges magyarázata, melynek következtében a szomatosztatin agonista vegyületek magasabb dózisban adva az általuk fájdalom pályákra kifejtett gátló hatás gátlását is előidézhetik közvetlen vagy akár közvetett módon, ugyanakkor az is elképzelhető, hogy nagyobb dózisban egyéb receptorokat is aktiválnak. Nem zárható ki az SST<sub>4</sub> agonisták potenciális gátló hatása az endogén gátló mediátorok, például a szomatosztatin és az opioid peptidek felszabadulására, mely magyarázhatja a dózis-hatás összefüggés hiányát avagy a harang alakú dózis-hatás görbéket.

A fent említett vegyületekhez hasonlóan a SST<sub>4</sub> receptor agonista heptapeptid TT-232 szintén traumás szenzoros mononeuropátia egérmodelljében került tesztelésre, melynek eredményeként a vad típusú egerekben 36 és 50%-os antihiperalgetikus hatást mutatott 100, valamint 200 µg/kg-os dózisban, azonban a SST<sub>4</sub> KO egerek fájdalomküszöbét nem befolyásolta. Ezzel nem csupán a TT-

232 antihiperalgikus hatását bizonyítottuk, hanem azt is, hogy az antihiperalgikus hatás az SST<sub>4</sub> receptor aktivációján keresztül valósul meg<sup>34</sup>. Munkacsoportunk korábbi eredményei ugyancsak bizonyították a TT-232 mechanikai allodynia kialakulását gátló hatását sztreptozotocin indukálta diabétesz patkánymodelljében<sup>12</sup>.

Az RTX a TRPV1 kapszaicin receptor szelektív, ultrapotens agonistája, melynek intraplantáris injekciója akut neurogén gyulladáshoz vezet, melyet túlnyomórészt perifériás szenzitizációs mechanizmusok közvetítenek. Az RTX proinflammatorikus neuropeptideket, például P-anyagot és calcitonin gén-rokon peptidet szabadít fel a beidegzett területen, melyek helyi gyulladáshoz vezetnek el és a nociceptív idegvégződések perifériás szenzitizációjához vezetnek<sup>35</sup>. A termális allodyniát mechanikai hiperalgéria követi, melyet perifériás mechanizmusok mellett központi szenzitizációs folyamatok is közvetítenek a gerincvelőben és a különböző fájdalomfeldolgozó agyi régiókban<sup>36</sup>.

Az akut neurogén gyulladás egérmodelljében vizsgált C5 gátolta az RTX intraplantáris injekciója okozta termális allodynia és mechanikai hiperalgéria kialakulását, ezzel szemben a szintén vizsgált C6 hatástalannak bizonyult.

Fiziko-kémiai tulajdonságai és a Lipinsky-féle RO5 eredményei alapján, amely alkalmas a központi idegrendszerre ható gyógyszerek kinetikai paramétereinek becslésére, a C5 valószínűleg átjut a vér-agy gáton. Feltételezhető, hogy a C5 mechanikai hiperalgériára kifejtett gátló hatása nem csak a perifériás mechanizmusoknak, hanem a csökkent központi fájdalomérzékenységnek is köszönhető. Ezt alátámasztja az SST<sub>4</sub> receptorok lokalizációja<sup>33</sup>, mely a fentiekben részletezésre került. A két vegyület e modellben tapasztalt hatásbeli különbségének hátterében nem zárhatók azonban ki farmakodinámiai, hatásmechanizmusbeli eltérések sem (pl: a C5 esetében SST<sub>1</sub> vagy opioid receptor agonista hatása és/vagy a kináz gátlása).

Az OFT eredményeiből számos következtetés vonható le az alapján, hogyan változott az állatok spontán lokomotoros aktivitása. A teszt során vizsgált paraméterek a következők: megtett távolság, sebesség, mozgással töltött idő, középső zónában töltött idő és az ágaskodások száma, melyek információt szolgáltatnak nem csak a spontán lokomotoros aktivitásról, hanem a felderítő viselkedésről, a szorongásszintről valamint a teszt esetleges szedatív mellékhatások kimutatására

is alkalmas <sup>17</sup>, míg az EPM az állatok szorongásszintjét vizsgálja <sup>25</sup>, melyet vegyületeink potenciálisan befolyásolhatnak.

Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy az antihiperalgetikus hatással bíró dózisban a C2-nek nincs hatása az állatok viselkedésre, így szedatív mellékhatással sem kell számolnunk. Lehetséges, hogy a C2 szelektíven a fájdalom pályákon hat, tehát a fájdalom- és hangulatszabályozásban résztvevő közös agyi struktúrákra nincs hatással, azonban az is elképzelhető, hogy az állatok viselkedésnek befolyásolásához jóval nagyon dóziszra lenne szükség, mint az antihiperalgetikus hatás eléréséhez. A kísérlet során teljesen intakt egereket használtunk, melyek semmilyen módon nem voltak stresszelve a vizsgálatokat megelőzően, azonban az, hogy a C2 nem javított az egerek alaphangulatán, nem zárja ki, hogy stresszhatást követően hangulatjavító vagy szorongáscsökkentő hatással bírjon.

A stabil, orálisan aktív, nem peptid SST<sub>4</sub> agonisták egyértelműen jelentős széles spektrumú antihiperalgetikus hatással rendelkeznek mind a gyulladáson, mind a neuropátiás fájdalom modelljében. Hatásmechanizmusuk hasonló az opioid fájdalomcsillapítókéhoz, melyek ugyancsak G<sub>i</sub>-proteinhez kapcsolt, jellemzően preszinaptikusan/prejunkciósan elhelyezkedő receptorokat aktiválnak, melyek között a primer szenzoros neuronok perifériás és centrális végződéseiből számos proinflammatorikus és/vagy pronociceptív mediátor felszabadulását eredményezheti. Ez a gátló hatásokat erősítő mechanizmus feltehetően hatékonyabb lehet, mint a serkentő mediátorok pl. glutamát receptorainak antagonizmusa. Mivel a SST<sub>4</sub> receptor nem vesz részt a szomatosztatin (SST<sub>2</sub>, SST<sub>3</sub> és SST<sub>5</sub> receptorok által közvetített) számtalan endokrin hatásában, így várhatóan vegyületeink a hormonális szabályozást nem befolyásolják.

Jelen felfedező vizsgálataink jó alapot biztosítanak a preklinikai gyógyszerfejlesztés kezdeti lépéseire, melynek során feladatunk a vezérmolekula kiválasztása, majd optimalizálása ipari partnerünkkel való közös fejlesztés keretében.

## VII. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A PhD munkám során végzett *in vivo* kísérletek segítségével elsőként bizonyítottuk:

I. A szabadalmaztatott C1-C6 pirrolo-pirimidin vázas vegyületeink alacsony dózisú (100, 500 vagy 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) egyszeri orális adagolást követően, valamint a TT-232 heptapeptid szomatosztatin analóg szintén alacsony dózisú (200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), egyszeri intraperitoneális adagolást követően jelentős antihiperalgikus hatást fejtenek ki neuropátiás fájdalom egérmodelljében.

II. A C5 vegyület alacsony dózisú (500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) egyszeri orális adagolást követően egérben gátolja a neurogén gyulladás során a termális allodynia és mechanikai hiperalgézia kialakulását.

III. A C2 vegyület neuropátiás fájdalomban hatásos dózisa (500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) nincs hatással az állatok spontán lokomotoros aktivitására és szorongásszintjére.

## VIII. KÖVETKEZTETÉSEK

Új vegyületeink egyszeri orális adagolást követően neuropátiás fájdalommal egyértelmű fájdalomcsillapító hatással bírnak, ezen felül pedig gátolják a neurogén gyulladás okozta mechanikai hiperalgéziát, valamint termális allodyniát, így ígéretes hatóanyagjelöltek lehetnek egy teljesen új típusú fájdalomcsillapító gyógyszer kifejlesztésére, melyre nagy szükség van a neuropátiás fájdalommal járó állapotok hatékony kezelésében.

## IX. IRODALOMJEGYZÉK

1. Komoly S, Palkovits M. *Gyakorlati Neurológia És Neuroanatómia*. Medicina Könyvkiadó Zrt.; 2015.
2. Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, Bramanti P, Mazzon E. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019;33:205873841983838. doi:10.1177/2058738419838383
3. Szolcsányi J. Capsaicin Type Pungent Agents Producing Pyrexia. In: Milton AS, ed. *Pyretics and Antipyretics*. Vol 60. Handbook of Experimental Pharmacology. Springer Berlin Heidelberg; 1982:437-478. doi:10.1007/978-3-642-68569-9\_14
4. Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, et al. The Cloned Capsaicin Receptor Integrates Multiple Pain-Producing Stimuli. *Neuron*. 1998;21(3):531-543. doi:10.1016/S0896-6273(00)80564-4
5. Koplas PA, Rosenberg RL, Oxford GS. The Role of Calcium in the Desensitization of Capsaicin Responses in Rat Dorsal Root Ganglion Neurons. *J Neurosci*. 1997;17(10):3525-3537. doi:10.1523/JNEUROSCI.17-10-03525.1997
6. Lundberg JM, Brodin E, Hua X, Saria A. Vascular permeability changes and smooth muscle contraction in relation to capsaicin-sensitive substance P afferents in the guinea-pig. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1984;120(2):217-227. doi:10.1111/j.1748-1716.1984.tb00127.x
7. Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. DIRECT EVIDENCE FOR NEUROGENIC INFLAMMATION AND ITS PREVENTION BY DENERVATION AND BY PRETREATMENT WITH CAPSAICIN. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. 1967;31(1):138-151. doi:10.1111/j.1476-5381.1967.tb01984.x
8. Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. Neurogenic Inflammatory Responses. *J Dent Res*. 1972;51(2):264-269. doi:10.1177/00220345720510020901
9. Brazeau P. Somatostatin: A peptide with unexpected physiologic activities. *The American Journal of Medicine*. 1986;81(6):8-13. doi:10.1016/0002-9343(86)90580-2
10. Schmechel DE, Vickrey BG, Fitzpatrick D, Elde RP. GABAergic neurons of mammalian cerebral cortex: Widespread subclass defined by somatostatin content. *Neuroscience Letters*. 1984;47(3):227-232. doi:10.1016/0304-3940(84)90518-4
11. Lin LC, Sibille E. Reduced brain somatostatin in mood disorders: a common pathophysiological substrate and drug target? *Front Pharmacol*. 2013;4. doi:10.3389/fphar.2013.00110
12. Szolcsányi J, Bölcskei K, Szabó Á, et al. Analgesic effect of TT-232, a heptapeptide somatostatin analogue, in acute pain models of the rat and the mouse and in streptozotocin-induced diabetic mechanical allodynia. *European Journal of Pharmacology*. 2004;498(1-3):103-109. doi:10.1016/j.ejphar.2004.07.085
13. ten Bokum AM, Hofland LJ, van Hagen PM. Somatostatin and somatostatin receptors in the immune system: a review. *Eur Cytokine Netw*. 2000;11(2):161-176.



14. Helyes Z, Pinter E, Sandor K, et al. Impaired defense mechanism against inflammation, hyperalgesia, and airway hyperreactivity in somatostatin 4 receptor gene-deleted mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(31):13088-13093. doi:10.1073/pnas.0900681106
15. Selmer IS, Schindler M, Humphrey PPA, Waldvogel HJ, Faull RLM, Emson PC. First localisation of somatostatin sst4 receptor protein in selected human brain areas: an immunohistochemical study. *Molecular Brain Research*. 2000;82(1-2):114-125. doi:10.1016/S0169-328X(00)00186-8
16. Santis S, Kastellakis A, Kotzamani D, Pitarokoili K, Kokona D, Thermos K. Somatostatin increases rat locomotor activity by activating sst2 and sst4 receptors in the striatum and via glutamatergic involvement. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*. 2009;379(2):181-189. doi:10.1007/s00210-008-0346-z
17. Szentes N, Tékus V, Mohos V, Borbély É, Helyes Z. Exploratory and locomotor activity, learning and memory functions in somatostatin receptor subtype 4 gene-deficient mice in relation to aging and sex. *GeroScience*. 2019;41(5):631-641. doi:10.1007/s11357-019-00059-1
18. Gastambide F, Lepousez G, Viollet C, Loudes C, Epelbaum J, Guillou JL. Cooperation between hippocampal somatostatin receptor subtypes 4 and 2: Functional relevance in interactive memory systems. *Hippocampus*. Published online 2009:NA-NA. doi:10.1002/hipo.20680
19. Scheich B, Csekő K, Borbély É, et al. Higher susceptibility of somatostatin 4 receptor gene-deleted mice to chronic stress-induced behavioral and neuroendocrine alterations. *Neuroscience*. 2017;346:320-336. doi:10.1016/j.neuroscience.2017.01.039
20. Kéri G, Erchegeyi J, Horváth A, et al. A tumor-selective somatostatin analog (TT-232) with strong in vitro and in vivo antitumor activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(22):12513-12518. doi:10.1073/pnas.93.22.12513
21. Helyes Z, Pintér E, Németh J, et al. Anti-inflammatory effect of synthetic somatostatin analogues in the rat. *British Journal of Pharmacology*. 2001;134(7):1571-1579. doi:10.1038/sj.bjp.0704396
22. Szőke É, Bálint M, Hetényi C, et al. Small molecule somatostatin receptor subtype 4 (sst4) agonists are novel anti-inflammatory and analgesic drug candidates. *Neuropharmacology*. 2020;178:108198. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108198
23. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury: *Pain*. 1990;43(2):205-218. doi:10.1016/0304-3959(90)91074-S
24. Pan HL, Khan GM, Alloway KD, Chen SR. Resiniferatoxin Induces Paradoxical Changes in Thermal and Mechanical Sensitivities in Rats: Mechanism of Action. *J Neurosci*. 2003;23(7):2911-2919. doi:10.1523/JNEUROSCI.23-07-02911.2003
25. Borbély É, Hajna Z, Nabi L, et al. Hemokinin-1 mediates anxiolytic and anti-depressant-like actions in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2017;59:219-232. doi:10.1016/j.bbi.2016.09.004
26. He T, Guo C, Wang C, Hu C, Chen H. Effect of early life stress on anxiety and depressive behaviors in adolescent mice. *Brain Behav*. 2020;10(3). doi:10.1002/brb3.1526
27. Scheich B, Gaszner B, Kormos V, et al. Somatostatin receptor subtype 4 activation is involved in anxiety and depression-like behavior in mouse models. *Neuropharmacology*. 2016;101:204-215. doi:10.1016/j.neuropharm.2015.09.021

28. Moore RA, Chi CC, Wiffen PJ, Derry S, Rice ASC. Oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for neuropathic pain. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(10):CD010902. doi:10.1002/14651858.CD010902.pub2
29. Botz B, Bölcskei K, Helyes Z. Challenges to develop novel anti-inflammatory and analgesic drugs. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol.* 2017;9(3). doi:10.1002/wnan.1427
30. Shenoy SK, Lefkowitz RJ.  $\beta$ -arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2011;32(9):521-533. doi:10.1016/j.tips.2011.05.002
31. Botz B, Imreh A, Sándor K, et al. Role of Pituitary Adenylate-Cyclase Activating Polypeptide and Tac1 gene derived tachykinins in sensory, motor and vascular functions under normal and neuropathic conditions. *Peptides.* 2013;43:105-112. doi:10.1016/j.peptides.2013.03.003
32. Bölcskei K, Helyes Z, Szabó Á, et al. Investigation of the role of TRPV1 receptors in acute and chronic nociceptive processes using gene-deficient mice: *Pain.* 2005;117(3):368-376. doi:10.1016/j.pain.2005.06.024
33. Kecskés A, Pohóczky K, Kecskés M, et al. Characterization of Neurons Expressing the Novel Analgesic Drug Target Somatostatin Receptor 4 in Mouse and Human Brains. *IJMS.* 2020;21(20):7788. doi:10.3390/ijms21207788
34. Shenoy PA, Kuo A, Khan N, et al. The Somatostatin Receptor-4 Agonist J-2156 Alleviates Mechanical Hypersensitivity in a Rat Model of Breast Cancer Induced Bone Pain. *Front Pharmacol.* 2018;9:495. doi:10.3389/fphar.2018.00495
35. Almási R, Pethő G, Bölcskei K, Szolcsányi J. Effect of resiniferatoxin on the noxious heat threshold temperature in the rat: a novel heat allodynia model sensitive to analgesics: Effect of RTX on the noxious heat threshold. *British Journal of Pharmacology.* 2003;139(1):49-58. doi:10.1038/sj.bjp.0705234
36. Meyer RA, Campbell JN. Myelinated Nociceptive Afferents Account for the Hyperalgesia That Follows a Burn to the Hand. *Science.* 1981;213(4515):1527-1529. doi:10.1126/science.7280675

## X. PUBLIKÁCIÓK

### X.1. PhD munkához kapcsolódó publikációk

**Kántás Boglárka**, Börzsei Rita, Szőke Éva, Bánhegyi Péter, Horváth Ádám, Hunyady Ágnes, Borbély Éva, Hetényi Csaba, Pintér Erika, Helyes Zsuzsanna. Novel drug-like somatostatin receptor 4 agonists are potential analgesics for neuropathic pain. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(24), 6245. doi:10.3390/ijms20246245

IF: 4,56

**Kántás Boglárka**, Szőke Éva, Börzsei Rita, Bánhegyi Péter, Asghar Junaid, Hudhud Lina, Steib Anita, Hunyady Ágnes, Horváth Ádám, Kecskés Angéla, Borbély Éva, Hetényi Csaba, Pethő Gábor, Pintér Erika, Helyes Zsuzsanna. In Silico, In Vitro and In Vivo Pharmacodynamic Characterization of Novel Analgesic Drug Candidate Somatostatin SST4 Receptor Agonists. *Frontiers in Physiology*. 11:601887 (2021). doi: 10.3389/fphar.2020.601887

IF: 5,33

### X.2. Egyéb, PhD munkához nem kapcsolódó közlemények

Horváth Ádám, Biró-Sütő Tünde, **Kántás Boglárka**, Payrits Maja, Skodáné-Földes Rita, Szánti-Pintér Eszter, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva. Antinociceptive effects of lipid raft disruptors, a novel carboxamido-steroid and methyl  $\beta$ -cyclodextrin, in mice by inhibiting Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Ankyrin 1 ion channel activation. *Frontiers in Physiology*. 11, 559109 (2020) DOI: 10.3389/fphys.2020.559109

IF: 4,14

Horváth Ádám, Payrits Maja, Steib Anita, **Kántás Boglárka**, Biró-Sütő Tünde, Erostyák János, Makkai Géza, Sággy Éva, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva. Analgesic effects of lipid raft disruption by sphingomyelinase and myriocin via Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Transient Receptor Potential Ankyrin 1 ion channel modulation. *Frontiers in Pharmacology*. 11, 593319 (2021) DOI: 10.3389/fphar.2020.593319

IF: 5,33

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának és Dr. Borbély Évának a PhD munkám során nyújtott segítségükért, rengeteg hasznos szakmai tanácsukért és támogatásukért.

Hálás vagyok Prof. Dr. Pintér Erikának, a Gyógyszertudományok Doktori Iskola vezetőjének munkám támogatásáért.

Köszönettel tartozom a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársainak, különösen Dr. Horváth Ádámnak és Önböli Gyulánének a kísérletekben való együttműködésükért, illetve Bagoly Teréznek a technikai segítségért.

Köszönet illeti az Avicor Kft-t, amiért a Pécsi Tudományegyetemmel közös szabadalom alatt álló vizsgálati anyagokat biztosították.

Végezetül pedig szeretnék köszönetet mondani a Richter Gedeon Talentum Alapítványnak a PhD képzésem során nyújtott támogatásért.