

ABSTRAKT

N-metyl-*D*-aspartátové (NMDA) receptory jsou glutamátem aktivované iontové kanály propustné pro vápníkové ionty, které hrají klíčovou roli při excitačním synaptickém přenosu a plasticitě a jejich dysfunkce se podílí na patologii řady neuropsychiatrických onemocnění. Nadměrná aktivace NMDA receptorů prostřednictvím tonicky zvýšené hladiny glutamátu v okolí neuronů může vést k excitotoxicitě, spojené s různými akutními a chronickými neurologickými poruchami, jako je například ischemie, Alzheimerova a Parkinsonova choroba, epilepsie nebo deprese. Naproti tomu, v případě hypofunkce NMDA receptorů se předpokládá, že může být podkladem pro poruchy autistického spektra, schizofrenii, či mentální retardaci. Nedávná analýza DNA u neurologických a psychiatrických pacientů odhalila četné mutace v genech kódujících podjednotky NMDA receptorů. Aktivita NMDA receptorů je ovlivněna širokou škálou alosterických modulátorů, včetně neurosteroidů, které mohou jak inhibovat, tak potencovat aktivitu NMDA receptorů, což z nich činí slibný terapeutický cíl. V této dizertační práci popisujeme nové skupiny neurosteroidních analogů, které mají strukturální modifikace na uhlících v pozici C3 a C17 steroidního jádra, a analogy postrádající D-kruh (perhydrofenanthreny). Hodnotili jsme vztah mezi strukturou a aktivitou (SAR, z angl. Structure-Activity Relationship) pro jejich modulační účinek na rekombinantních GluN1/GluN2B receptorech. Naše výsledky ukazují, že: (i) endogenní neurosteroid pregnanolon sulfát (**PA-S**) a jeho analogy, substituované na C3 karboxylovými kyselinami s různou délkou řetězce, jsou účinnými inhibitory tonicky aktivovaných NMDA receptorů, přičemž vykazují minimální nebo žádný účinek na fazicky aktivované NMDA receptory. Rozdíl v účinnosti mezi tonickou a fazickou inhibicí se zvyšuje s rostoucí délkou substituentu na C3. (ii) Dále jsme prokázali, že všechny testované analogy **PA-S** s modifikací na C17 (látky **3.1-51.1**) jsou účinnějšími inhibitory NMDA receptorů (hodnoty IC_{50} , které odpovídají koncentraci látky vyvolávající 50 % inhibici, se pohybují od 84,0 nM do 5,4 μ M) než endogenní **PA-S** ($IC_{50} = 24,6 \mu$ M). (iii) Pro perhydrofenantrenové analogy (látky **1.2-10.2**) jsme ukázali, že působí jako inhibitory NMDA receptorů a látku **9.2** ($IC_{50} = 15,6 \mu$ M) jsme vyhodnotili jako účinnější inhibitor NMDA receptorových proudů ve srovnání s endogenním **PA-S**. (iv) Testovali jsme také analogy **PA-S** a pregnanolon glutamátu (**PA-G**) s C3-substituentem napojeným na steroidní kostru pomocí amidu (látky **1.3-4.3**). Zjistili jsme, že inhibiční účinek sloučenin **3.3** a **4.3** na NMDA receptorech byl významně zlepšen ($IC_{50} = 1,0$ a $1,4 \mu$ M, respektive) v porovnání s endogenním **PA-S** a jeho neuroprotektivním analogem **PA-G** ($IC_{50} = 51,7 \mu$ M). (v) Následně jsme testovali citlivost mutovaných lidských

NMDA receptorů vůči steroidům s potenciačním účinkem na NMDA receptorech. Ukázali jsme, že odpovědi mutovaných hGluN1/hGluN2B(V558I, W607C; V618G a L825V) receptorů (s přibližně desetinásobně sníženou pravděpodobností otevření iontového kanálu) byly v přítomnosti endogenního pregnenolon sulfátu (**PE-S**) a jeho analogu androsten hemisukcinátu potencionovány z 59-197 % a 406-1647 %, respektive. (vi) V případě analogů **PE-S** (látky **2.4-24.4**) jsme zjistili, že všechny testované analogy potencují aktivitu NMDA receptorů (hodnoty EC_{50} , odpovídající koncentraci látky vyvolávající polovinu maximální potenciace (E_{max}), se pohybují od 1,8 μ M do 151,4 μ M a hodnoty E_{max} se pohybují od 48 % do 452 %), a 10 z nich vykazovalo vyšší zdánlivou afinitu pro GluN1/GluN2B receptory ve srovnání s endogenním **PE-S** ($EC_{50} = 21,7 \mu$ M). Navíc, SAR studie odhalila vztah mezi délkou zbytku na C3 steroidní molekuly a potenciačním účinkem na GluN1/GluN2B receptorech pro různé modifikace na D-kruhu. Dané výsledky by mohly pomoci při vývoji nových terapeutik na bázi neurosteroidů, které mohou být případně využity při léčbě neuropsychiatrických onemocnění, podmíněných hyperfunkcí nebo hypofunkcí NMDA receptorů.

KLÍČOVÁ SLOVA: NMDA receptor, neurosteroid, strukturně-aktivitní vztah, pregnanové analogy, pregnenové analogy, lidské mutace