

## AYUDAS ECONÓMICAS PARA EL DESARROLLO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN SOBRE DROGODEPENDENCIAS EN EL AÑO 2015.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Gonzalo Herradón Gil-Gallardo

**Número de expediente:** 2015I001

**Entidad:** FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN PABLO- CEU

**Tipo de investigación:** Básica

**Nombre del proyecto:** *Desarrollo preclínico de fármacos antagonistas del receptor PTPRZ1 para la prevención del consumo abusivo de alcohol*

**Número de anualidades:** 3

**1ª anualidad:** 34.950€

**2ª anualidad:** 7.000€

**3ª anualidad:** 15.000€

**Total concedido:** 56.950€

### RESUMEN DEL PROYECTO:

La PTN es un factor neurotrófico importante para las neuronas dopaminérgicas cuya expresión se encuentra aumentada significativamente en la corteza frontal de pacientes alcohólicos. Nuestro grupo también ha observado que la expresión de PTN aumenta en la corteza prefrontal de ratones tratados con alcohol, lo que nos llevó a estudiar una posible modulación de los efectos del alcohol por parte de la PTN. En estos estudios demostramos que los ratones knockout de PTN (PTN<sup>-/-</sup>) son más vulnerables a los efectos reforzadores del alcohol mientras que los efectos reforzadores y sedantes del alcohol se encuentran disminuidos o incluso ausentes en el ratón transgénico que sobre-expresa PTN en la corteza e hipocampo (PTN-Tg) (Vicente-Rodríguez y col. *J Neurochem*, 131: 688-95, 2014). Esto nos lleva a hipotetizar que la potenciación farmacológica de la vía de señalización de la PTN podría constituir un nuevo tratamiento para limitar los efectos del alcohol.

La PTN se une al receptor de membrana Proteína Fosfatasa de Tirosinas Z1 (siglas del inglés: PTPRZ1), inactiva su actividad fosfatasa y, como resultado, incrementa los niveles de fosforilación de los sustratos de PTPRZ1. La PTN administrada de forma sistémica no puede atravesar la barrera hematoencefálica. Sin embargo, nuestra hipótesis es que podemos reproducir los efectos de la PTN con inhibidores selectivos del receptor PTPRZ1 obtenidos a través de un programa de diseño racional de fármacos. El 4-trifluorometilsulfonilbenzil 4-trifluorometilsulfonilfenil éter es el único inhibidor de PTPRZ1 descrito que presenta un cierto grado de selectividad por esta fosfatasa y una estructura no peptídica y suficientemente lipófila para poder atravesar las membranas celulares. Por ello hemos seleccionado este compuesto para llevar a cabo su síntesis, y la de análogos estructurales diseñados utilizando técnicas computacionales. Puesto que la estructura tridimensional del sitio activo de PTPRZ1 es conocida, es posible llevar a cabo un diseño racional basado en la estructura, tanto para mejorar la potencia, selectividad y propiedades farmacocinéticas del inhibidor descrito, como para buscar nuevos hits mediante experimentos de cribado virtual (virtual screening).

Estudiaremos la selectividad y la potencia farmacológica de los nuevos inhibidores mediante estudios in vitro diseñados para medir la capacidad inhibidora de estos compuestos sobre la actividad fosfatasa de PTPRZ1 y otras fosfatasas estructuralmente relacionadas. Estos estudios nos llevarán a elegir el compuesto líder que será el que presente la IC<sub>50</sub> más baja para PTPRZ1 y menor actividad residual sobre las otras fosfatasas. En una estancia avalada por el NIDA, estudiaremos los efectos moduladores del compuesto seleccionado sobre la señalización inducida por el alcohol en células IMR-32 y SH-SY5Y antes

de llevar a cabo el estudio de los efectos del tratamiento con el inhibidor de PTPRZ1 seleccionado sobre los efectos reforzadores del alcohol en estudios de condicionamiento preferencial al sitio (CPP), con el fin de poder comparar los resultados obtenidos con los estudios previos del grupo en ratones PTN-/- y PTN-Tg (Vicente-Rodríguez y col. *J Neurochem*, 131: 688-95, 2014). Estos estudios se llevarán a cabo en ratones control (wild type, WT) y en ratones PTN-/- con el fin de estudiar la posibilidad de “rescatar” a estos ratones de los efectos reforzadores exacerbados del alcohol en este test, ya que los ratones deficientes en PTN tienen una actividad fosfatasa de PTPRZ1 muy aumentada al carecer del inhibidor endógeno (PTN).

Si nuestra hipótesis es correcta, al término del presente proyecto habremos demostrado que el receptor PTPRZ1 es una nueva diana farmacológica en la prevención del consumo abusivo de alcohol, y habremos obtenido un inhibidor selectivo de PTPRZ1 con eficacia farmacológica probada en ensayos pre-clínicos. Este nuevo compuesto presentaría un uso potencial en reducción del consumo de alcohol y prevención de recaídas en su consumo, y también se podría utilizar como líder en el descubrimiento de nuevos fármacos con estas indicaciones.

### **HIPÓTESIS:**

Los resultados previos de nuestro grupo, apoyados en resultados obtenidos por otros, nos llevan a la hipótesis de que fármacos que actúen mediante el mismo mecanismo de acción que la PTN, limitarían al igual que ésta los efectos reforzadores del alcohol contribuyendo así a la prevención del consumo abusivo de alcohol.

Esta hipótesis está basada en que los ratones carentes de PTN endógena (PTN-/-) y de MK endógena (MK-/-) son más vulnerables a los efectos reforzadores del alcohol mientras que los ratones que sobre-expresan PTN en corteza e hipocampo (PTN-Tg) son significativamente resistentes a los efectos reforzadores y sedantes del alcohol. Además, hemos demostrado que estas diferencias no se deben a posibles diferencias en el metabolismo y excreción del alcohol en los diferentes genotipos por lo que tienen que estar relacionadas con mecanismos farmacodinámicos.

### **OBJETIVOS:**

El objetivo general de este proyecto es reproducir los efectos moduladores de la PTN y la MK sobre los efectos farmacológicos del alcohol mediante inhibidores selectivos del receptor PTPRZ1, ya que la PTN y la MK son inhibidores endógenos de la actividad fosfatasa de dicho receptor.

Los objetivos específicos son:

- 1) Diseño racional, síntesis y evaluación in vitro, de nuevos inhibidores potentes y selectivos del receptor PTPRZ1. Identificación del compuesto líder.
- 2) Evaluación in vitro de los efectos reguladores del compuesto líder, inhibidor de PTPRZ1, sobre las cascadas de señalización activadas por etanol.
- 3) Evaluación de los efectos del compuesto líder sobre el condicionamiento preferencial al sitio inducido por el alcohol en ratones control (WT) y ratones knockout de PTN.