

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Különböző újonnan kifejlesztett opioid receptor ligandok
összehasonlító biokémiai és farmakológiai vizsgálata**

Szűcs Edina

Témavezető:

Dr. Benyhe Sándor



**Szegedi Biológiai Kutatóközpont,
Biokémiai Intézet**

**Szegedi Tudományegyetem,
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola**

SZEGED

2020

BEVEZETÉS

Opioid gyógyszerek, kábítószeres és jelenkori kihívások

A morfin az opioid agonisták prototípusa, mely a MOR fehérjéhez kötődik és máig nélkülözhetetlen gyógyszer az erős fájdalmak kezelésében. Analgetikus hatása mellett súlyos mellékreakciókat okozhat, amelyek közül a belégzési reflex gátlása (légzésdepresszió), a vékonybél motilitásának csökkentése (konstipáció), valamint a drog abúzzsal kapcsolatos mellékhatások, mint a tolerancia, pszichikai és szomatikus dependencia, továbbá a megvonási tünetek a legjelentősebbek. Az opiát gyógyszerek akut túladagolása és a drog-függőség (addikció) fennállása esetén történő drog elvonás is az életfunkciókat közvetlenül veszélyeztető, akár halálos kimenetelű lehet. Ezért nagyon fontos olyan új hatóanyagok kutatás-fejlesztése, amelyek további, a morfinénál kedvezőbb hatásspektrummal rendelkező, hatékony, de káros mellékhatásokat nem- vagy kevésbé mutató gyógyszerekké válhatnak.

A 21. században újra erőre kapott opioid krízis elsősorban az addiktív opioid gyógyszerekkel kapcsolatos túlhasználat következménye, amely jelentős egészségügyi-, társadalmi- és gazdasági terheket is jelent. Az "Opioid-krízist" az USA tisztifőorvosa hirdette ki, elsősorban az opiát tartalmú gyógyszerek receptre felírásának meredek és ijesztő emelkedése miatt. A műtét utáni vagy egyéb erős fájdalmak kezelése (égési-, szülési-, vagy daganatos betegségek által okozott fájdalom) céljából beadott opioidok egyben a jelenkori drog visszaélések (abúzus) egyik vezető okozójává váltak. Az amerikai Center for Disease Control (CDC) és az Egészségügyi Világszervezet adatai szerint pl. 2016-ban a fentanil és analógjai voltak a túladagolások halálesetek leggyakoribb okozói az Egyesült Államokban (a kb. 20000 személyt érintő, opioidokkal összefüggő halálozások mintegy fele kötődött fentanil származékokhoz). Nem tűnt el a sokáig "piacvezető" utcai heroin használata sem. A legújabb "slágerkészítmények" pedig illegálisan előállított fentanil-szerű vegyületek "ráadás" heroinnal vagy kokainnal kombinálva.

Az opioid túladagolás és toxicitás három fontos tünete a légzésdepresszió, öntudatvesztés és a túhegynyire szűkült pupillák (miózis). A naloxon terápia (pl. Narcanti injekció) az opioid toxicitás alapvető kezelési módszere. Opioidok, amelyek nagyobb naloxon dózist igényelnek a következők: kodein, metadon, difenoxilát, propoxifén, pentazocin, butorfanol és nalbufin. A naloxon enyhítheti az elvonási tüneteket, így a szorongást, ingerlékenységet és nyugtalanságot,

libabőrösséget, izzadást, izom-, csont- és ízületi fájdalmakat, remegést, hányingert, hányást, hasmenést, valamint a megnövekedett nyugalmi pulzusszámot (tachycardia).

Az opioidok és nem opioid gyógyszerek kombinációja a tolerancia és a függőség kockázatát csökkentő mérsékelt és súlyos fájdalom kezelésének másik módja (például Perkodán: oxikodon/aszpirin, Percocet: oxikodon/paracetamol, Vicodin: hidrokodon/paracetamol, Vicoprofen: hidrokodon/ibuprofen).

Kinurénsav (KYNA), kinureninek és a fájdalom

A kinureninek manapság a tudományos érdeklődés középpontjában állnak, mivel számos fiziológiás és patológias folyamatban részt vevő biológiailag aktív természetes molekulák. Az esszenciális triptofán aminosav (Trp, W) elsősorban a kinurenin-útvonalon keresztül metabolizálódik. Az enzimatis lebontás során kinurenin-aminotranszferázok segítségével keletkezik az egyik fontos köztes termék, a kinurénsav (KYNA). A KYNA endogén excitatorikus receptorok ligandja, pontosabban antagonistája és neuroprotektív tulajdonságú. A KYNA szintjének abnormális csökkenése vagy növekedése a neurotranszmitter-rendszerek egyensúlyának felborulásához vezethet, és ez többféle neurodegeneratív és neuropszichiátriai betegségben is szerepet játszhat. Az L-kinurenin (kyn) a triptofán anyagcsere egy kevésbé ismert közti terméke, amely ugyancsak több idegrendszeri kórkép kialakulásában működhet közre. A KYNA kynből történő szintézisét a kinurenin aminotranszferáz enzim (KAT; E.C.2.6.1.7.) végzi. Ez az enzim az agyban is megtalálható. A kyn útvonal másik metabolikus terméke a kvinolinsav viszont excitatoros receptor agonista ligandnak mutatkozik. A formalinnal kiváltott arcfájdalom patkányokon végzett állatmodelljében különféle NMDA ioncsatorna receptor kötőhelyeket vizsgáltak. Kimutatták, hogy a kinurenin származékok gátolták a nociceptív viselkedési válaszokat kölcsönhatva az NR2 alegységekkel, vagyis a kynurenineknek szerepük lehet a gyulladással járó betegségekben. Az intraciszternálisan bejuttatott KYNA enyhítette az állatokban a formalin által okozott nocicepciót, valamint az NMDA glicinkötő helyének aktivitását is. Perifériásan a KYNA csökkentette a nociceptív válasz reflexeket a "tail flick" és "hot plate" teszteken. A Kyn és a probenecid beadása a KYNA analógokkal együtt gátolta az NMDA receptorokat a trigeminális aktivációs és szenzibilizációs állatmodellekben.

Laboratóriumunk negyedik éve vesz részt egy a kynureninokkal kapcsolatos konzorcialis GINOP kutatás-fejlesztési pályázatban, amelyet Vécsei László akadémikus, egyetemi tanár

irányít. Mivel csoportunk egyik érteklődési területe a bifunkcionális receptor ligandok kutatása, a mi részfeladatunk kinurenin molekularészleteket (alegység, oldallánc) is tartalmazó módosított szerkezetű opioid ligandok megalkotása és hatástani vizsgálata volt biokémiai és farmakológiai kísérletekben.

Bentley analógok

A természetes morfin-alkaloidák (pl. morfin, kodein, tebain, neopin, oripavin) kémiai módosításokkal különféle, farmakológiai szempontból előnyösebb vegyületekké alakíthatók, ezeket az analógokat félszintetikus opioidoknak vagy opiátoknak nevezik. Ilyenek például az úgynevezett nal-vegyületek (naloxon, naltrexon, nalbufin), vagy a morfin ciklohexén szerkezetű C-gyűrűjén módosított származékok (6,14-etenomorfinánok vagy Bentley-vegyületek, például etorfin [9], buprenorfin, diprenorfin). Doktori munkám során kilenc korábban szintetizált orvinol, illetve tevinol típusú MOR-szelektív ligandot vizsgáltam (**1e**, **1f**, **2a**, **2b**, **2d**, **4**, **5**, **7**, **8** [3-metoxi-etorfin]). A hatóanyagok többsége ismert kémiai szerkezetű, már publikált származék volt, azonban ezek szélesebb körű hatástani vizsgálata csak a **8**-as jelű analóg esetében történt meg. A 6-*O*-dezmetil-dihydroetorfin (**2c**) egy újonnan fejlesztett ligandanalóg, amelyet jelen vizsgálathoz szintetizáltak együttműködő kémikus partnereink.

Kinurenin egységet tartalmazó opioid oligopeptidok

Kinurenin szerkezetek előfordulnak egyes természetes fehérjékben és peptidokban is. Ennek gyakori oka a Trp (W) oldalláncokat érintő enzimatis, vagy oxidatív poszttranszlációs fehérje módosítás folyamata. Kinurenineket tartalmaznak egyes peptid vázas antibiotikumok is, mint a daptomicin vagy a ciklomontanin B. Egy ausztráliai békafaj (*Litoria rubella*) bőréből izolált FP-kyn-NH₂ szerkezetű tetrapeptidnek enyhe opioid hatását is közölték. Mindezek alapján olasz együttműködő partnerek bevonásával (vezető kutató prof. Adriano Mollica, Dipartimento Farmacia, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti – Pescara, Olaszország) hat közösen tervezett új opioid oligopeptid analógot állítottunk elő olasz vegyész kollégáinkkal. Abból indultunk ki, hogy az kyn alkalmas lehet az ugyancsak aromás fenilalanin (Phe) helyettesítésére, míg a savas karakterű KYNA pl. C-terminálisként építhető be a peptid vázba. A hat új, kinurenin motívumokat tartalmazó opioid peptid *in vitro* biokémiai-farmakológia vizsgálata szegedi

laboratóriumunkban történt, míg az olasz együttműködők a kémiai szintézis mellett *in vivo* farmakológiai kísérletekkel egészítették ki megfigyeléseinket.

A **KA1** peptid részben megőrizte a MOR agonista DAMGO primer szekvenciáját (Tyr-D-ala-Gly-_{NMe}Phe-Gly-ol), de a C terminálist KYNA-val észterezték. A **K2** és a **K3** peptid olyan endomorfín-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe) analógok, amelyekben a 3. és 4. helyzetben lévő Phe-oldalláncokat L-kinureninnel és/vagy L-kinurenin C-terminális amidokkal helyettesítették. A **K4**, **K5** és **K6** peptidek enkefalin-szerű peptidek (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu/Met), amelyek az 5. helyzetben L-kinurenin szubsztitúciót tartalmaznak, C-terminálisként pedig a metilészter-, sav- vagy amid-csoportot hordozzák.

CÉLKITŰZÉSEK

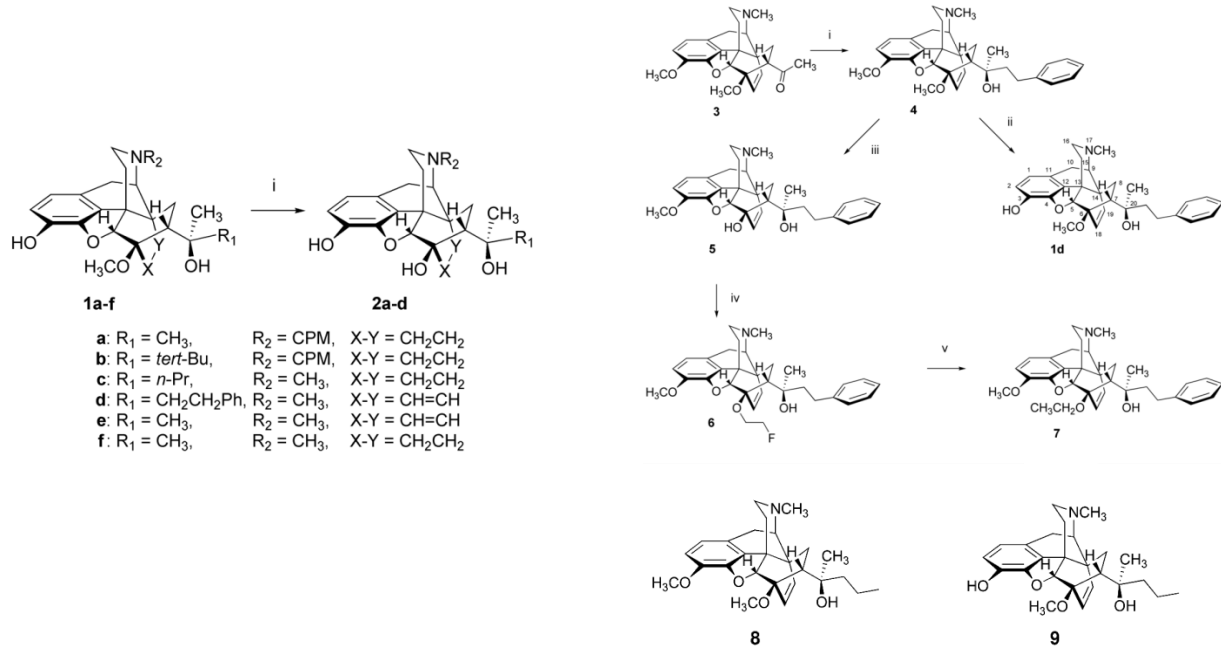
Az ismert opioid gyógyszer hatóanyagok többsége, de az egyéb opioid ligandok jelentős hányada is fontos szerepet töltött és tölt be jelenleg is az opioid receptor típusok működésének jobb megértésében valamint nagyobb szelektivitású, potens, ugyanakkor veszélytelenebb gyógyszerjelöltek kifejlesztése során. PhD ösztöndíjas hallgatóként 9 már ismertetett, de részletesen nem vizsgált és 1 új, eredeti szerkezetű Bentley analógot, valamint 6 újonnan szintetizált kinurenin oldalláncot is tartalmazó opioid oligopeptidet tanulmányoztam doktori cselekményem kísérletes részeként.

A dolgozatban ismertetett munka közvetlen céljai a következők voltak:

- A vizsgálatunkba vont Bentley-vegyületek MOR, DOR és KOR, valamint a 6 új kinurenines opioid oligopeptid MOR, DOR, KOR és NMDA receptorhoz való kötődésének szisztematikus mérése patkány és tengerimalac agyi membránfrakcióin receptor típus-specifikus radioligandok jelenlétében végrehajtott *in vitro* egyensúlyi kompetíciós kötési tesztekben.
- Viszonylag gyorsan elvégezhető, kis anyagigényű *in vitro* [³⁵S] GTPγS kötési módszerekkel akartuk meghatározni a kísérletekben részt vevő ligandok G-fehérje aktivációs mintázatait, ami mintegy előre jelzi (jelezheti) az adott hatóanyag funkcionalitását, azaz agonista, vagy éppen antagonistá jellegét.
- Az *in vitro* kísérleteinkben ígéretesnek talált Bentley analógok és a bifunkciós ligandoknak remélt oligopeptidek fájdalomcsillapító (antinociceptív) hatásait — elsősorban együttműködő partnereink révén — kívántuk tovább vizsgálatni gyulladáshoz kapcsolatos *in vivo* állatmodellben.

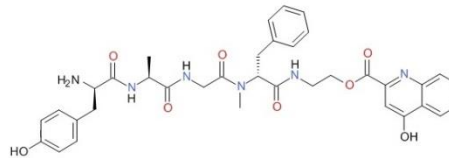
A doktori munkában vizsgált opioid ligandok kémiai szerkezetei

Bentley molekulák:

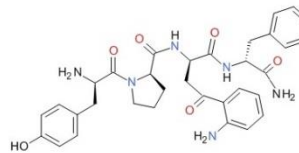


Kinunerinekkel szubsztituált oligopeptid ligandok:

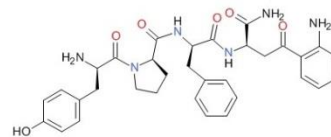
KA1



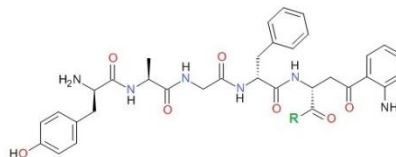
K2



K3



K4: R = OCH₃
K5: R = OH
K6: R = NH₂



MÓDSZEREK

Receptor preparátumok azokkal kölcsönható ligandok *in vitro* vizsgálataihoz

A különböző opioid receptor készítményeket CO₂ atmoszférában elkábított, majd dekapitált kísérleti állatok frissen eltávolított agyaiból homogenizálás és differenciál-centrifugálás módszereivel állítottuk elő. A szöveti membránpreparátumok aliquotjainak tárolása –80 °C-on történt felhasználásuk napjáig.

***In vitro* equilibrium kompetíciós kötési tesztek, “leszorítási” (displacement) görbék**

A radioligand kompetíciós kötési kísérletek során radiojelzett primer ligandot (esetünkben trícium- [³H]-jelölés) igen alacsony (nM !), de állandó koncentrációban inkubáljuk a vizsgálandó jelöletlen ligand növekvő koncentrációinak (hígítási sorozat) jelenlétében. A kötődési reakciót speciális, a receptor kötési kísérletekhez kifejlesztett üvegszálás filter korongokon való nagyon gyors vákuum szűréssel és pufferes mosással állítjuk le (Whatman GF filter, Brandel Cell Harvester). A receptor-ligand komplex (bound) és a “szabad” (free) ligand szűrési szeparációja után a receptorhoz kötött radioligand mennyiségét folyadékszintillációs módszerrel mérjük (Packard LSC counter). Az egyensúlyi kompetíciós görbék számítógépes elemzésével a receptor kötés jellemző paramétereit, pl. az IC₅₀ értéket, vagy az inhibíciós affinitási állandót (K_i) határozhatjuk meg.

G-protein aktiváció elemzése funkcionális [³⁵S]GTPγS kötési tesztekben, *in vitro*

A [³⁵S]GTPγS kötési vizsgálatokban elsősorban az agonista ligandok által kiváltott G-protein stimulációt mérjük, mint a ligand kötődést követő funkcionális elváltozást, a Gα fehérje alegységen zajló GDP → GTP nukleotid csere kvantitatív nyomon követése révén. A módszer kulcsszereplője egy β-sugárzó [³⁵S] kénizotóppal jelzett nem hidrolizáló guanin-nukleotid származék, a [³⁵S]GTPγS. A módszer alkalmas teljes (full) vagy parciális agonisták és neutrális, vagy akár inverz antagonisták elkülönítésére is. A többnyire szigmoid dózis-hatás görbék számítógépes analízise után meghatározhatjuk a ligand-indukált és receptor-közvetített G-fehérje aktiváció jellemző paramétereit, amelyek közül a maximális stimuláció (E_{max} vagy efficacy), illetve az aktiváló ligand “félérték koncentrációjával” kapcsolatos hatáserősség (EC₅₀, vagy

pEC₅₀, vagy potency). A jelzett ligand nagy specifikus aktivitása miatt (többnyire > 1000 Ci/mmol) ennek a mérésnek fehérje igénye, vagyis a kísérletben használandó szövetminta (membránpreparátum) mennyisége alacsony.

***In vivo* kísérletek a ligandok antinociceptív hatásainak jellemzésére**

A Bentley analógokat hím Wistar patkányokon tanulmányozták monojódd ecetsavnak (MIA, 1 mg/30 ml) a jobb hátsó láb tibiotarsalis ízületébe történő injektálásával (2 egymást követő napon) kiváltott csontizületi gyulladás (osteoarthritis) állatmodelljében (SZTE ÁOK Élettani Intézet). Az oligopeptideket CD-1 törzsbe tartozó hím egereken elemezték egymásmilyen, az úgynevezett formalin-tesztben (olasz partnereink vizsgálták). A mérés során a formalin híg oldatának (1%, 20 µl/talp) injekciózása az egér hátsó talpának hátulsó felületébe kétfázisú viselkedési válaszokat váltott ki.

EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Bentley analógok

In vitro kompetíciós kötési kísérletekben az összes származék alacsony, szubnanomólos ($K_i < 1$ nM) affinitási értékeket mutatott a MOR kölcsönhatásban, vagyis hatáserősségük a morfin receptorán extrém mértékben nagy. A DOR esetében a ligandok kisebb, de még mindig jelentős kötési affinitást eredményeztek, nagyobb, mint a szelektív DOR agonista Ile^{5,6}-deltorfin II peptid, amit referencia ligandként mértem meg. Kivétel volt a **8**-as vegyület, amelynek affinitása a mikromólos sávba tartozott ($K_i > 3000$ nM). A KOR kötési vizsgálatokban az analógok nanomoláris affinitást mutattak. Az affinitási sorrend ezért MOR > KOR \geq DOR formulával írható le.

A G-protein aktivitás mérések alapján az **1f**, **2a**, **2b** vegyületek neutrális antagonisták, az **1e**, **2c**, **8** parciális agonisták, míg a **2d**, **4**, **5**, **7** tiszta agonisták hatásának bizonyultak. Az orvinol és a tevinol-származékokban található egyes funkcionális csoportok jelenlétét vagy hiányát nem tudtuk egyértelműen összefüggésbe hozni a megfigyelt biokémiai farmakológiai mintázattal. Például a 17-*N*-szubsztituens minősége mintegy válaszként működik a morfinan-vázis agonisták és az antagonisták között, attól függően, hogy kis térkitöltésű pl. H- (normorfin), metil- (CH₃-, morfin), avagy nagyobb helyet elfoglaló ('bulky substituens') csoportot (pl. allil-, vinil-, ciklopropilmetil-, stb.) tartalmaz. Az opioidok most vizsgált analógjain azonban ez nem érvényesült, mivel a 17-*N*-ciklopropilmetil-származékok között is találtunk jó agonista ligandokat. Az osteoarthritis gyulladásszerű modelljében végzett *in vivo* tesztek során a tevinol-származékok szignifikáns fájdalomcsökkentő hatást váltottak ki, míg az orvinol származékok nem, talán a **2c** kivételével. Megjegyzendő itt az a megfigyelésünk is, hogy az *in vitro* mérésekben kimagasló affinitású Bentley ligandok nem múlták felül a referencia hatóanyagként vizsgált etorfin *in vivo* mutatott hatását.

Oligopeptidek

A kompetitív receptor kötési vizsgálatokban a KYNA-tartalmú peptid, a **KA1** szelektíven kötődött a MOR-hoz, alacsony K_i értékkel és magas szelektivitási aránnyal, a többi oligopeptid szintén MOR szelektivitást mutatott a **K3** ligandanalóg kivételével, amelyik közel azonos affinitással kötődött a MOR-hoz és a DOR-hoz is.

A G-fehérje aktivációs tesztekben az endomorfín-2 alapszerkezetű új ligandok, így a **K2** és **K3** kis mértékben stimulálták a G-proteint (parciális agonista hatás), a **KA1**, **K4**, **K5** vegyület többé-kevésbé tiszta agonistaként viselkedett, míg a **K6** közvetítette stimuláció mértéke még magasabb is volt, mint a DAMGO referencia vegyületé.

A funkcionális kötési tesztekben az összes oligopeptidünk gátolhatónak bizonyult referencia antagonisták, így a MOR szelektív ciprodim (Cyp) és a DOR szelektív naltrindol (NTI) jelenlétében a patkány agyi membrán preparátumokban. A tengerimalac agyi sejtmembrán frakcióban a **K4** és a **K6** is aktiválta a membrán-kapcsolt regulációs G-fehérjéket; míg a **K4** stimulációt a KOR referencia inhibitora, a szelektív antagonistá norbinaltorfimin (nor-BNI) gátolta, ugyanakkor a **K6** hatását nem.

Az egerekben végzett *in vivo* tesztekben a **K6** peptid számottevő antinociceptív hatást mutatott.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

A doktori munka alapját képező közlemények:

I. **Edina Szűcs, János Marton, Zoltán Szabó, Sándor Hosztafi, Gabriella Kékesi, Gábor Tuboly, László Bánki, Gyöngyi Horváth, Pál T. Szabó, Csaba Tömböly, Zsuzsanna Varga, Sándor Benyhe, Ferenc Ötvös (2020) Synthesis, biochemical, pharmacological characterization and in silico profile modelling of highly potent opioid orvinol and thevinol derivatives. EUR. J. MED. CHEM., 191:1121-45.**

(5,572 impakt faktor, Q1)

II. **Edina Szűcs, Azzurra Stefanucci, Marilisa Pia Dimmito, Ferenc Zádor, Stefano Pieretti, Gokhan Zengin, László Vécsei, Sándor Benyhe, Adriano Mollica (2020) Discovery of Kynurenines containing oligopeptides as potent opioid receptor agonists. BIOMOLECULES, 10:1-18.**

(4,082 impakt faktor, Q1)

Összegzett impakt faktor: 9,654

Egyéb, a disszertációban nem tárgyalt közlemények:

1. **Szűcs, E., Büki, A., Kékesi, G., Horváth, G., Benyhe, S. (2016) Mu-Opioid (MOP) receptor mediated G-protein signaling is impaired in specific brain regions in a rat model of schizophrenia. NEUROSCI. LETTERS, 619: 29-33.**

2. **Monti, L., Stefanucci, A., Pieretti, S., Marzoli, F., Fidanza, L., Mollica, A., Mirzaie, S., Carradori, S., De Petrocellis, L., Schiano Moriello, A., Benyhe, S., Zádor, F., Szűcs, E., Ötvös, F., Erdei, A.I., Samavati, R., Dvorácskó, S., Tömböly, C., Novellino, E. (2016) Evaluation of the analgesic effect of 4-anilidopiperidine scaffold containing ureas and carbamates. J. ENZYME INHIB. MED. CHEM., 31: 1638-47.**

3. **Szűcs, E., Dvorácskó, S., Tömböly, C., Büki, A., Kékesi, G., Horváth, G., Benyhe, S. (2016) Decreased CB receptor binding and cannabinoid signaling in three brain regions of a rat model of schizophrenia. NEUROSCI. LETTERS, 633: 87-93.**

4. Mollica, A., Pelliccia, S., Famiglini, V., Stefanucci, A., Macedonio, G., Chiavaroli, A., Orlando, G., Brunetti, L., Ferrante, C., Pieretti, S., Novellino, E., Benyhe, S., Zador, F., Erdei, I.A., **Szűcs, E.**, Samavati, R., Dvoráckó, S., Tömböly, C., Ragno, R., Patsilnakos, A., Silvestri, R. (2017) **Exploring the first Rimonabant analog-opioid peptide hybrid compound, as bivalent ligand for CB1 and opioid receptors.** J. ENZYME INHIB. MED. CHEM., 32: 444-451.
5. Zádor F, Balogh M, Váradi A, Zádori S Z, Király K, **Szűcs E**, Varga B, Lázár B, Hosztafi S, Riba P, Benyhe, S, Fürst S, Al-Khrasani M. (2017) **14-O-Methylmorphine: A Novel selective mu-opioid receptor agonist with high efficacy and affinity.** EUR. J. PHARMACOL., 814: 264-273.
6. Samavati, R., Zádor, F., **Szűcs, E.**, Tuka, B., Martos, D., Veres, G., Gáspár, R., Mándity, I.M., Fülöp, F., Vécsei, L., Benyhe, S., Borsodi, A. (2017) **Kynurenic acid and its analogue can alter the opioid receptor G-protein signaling after acute treatment via NMDA receptor in rat cortex and striatum.** J. NEUROL. SCI., 376: 63-70.
7. Stefanucci, A., Novellino, E., Mirzaie, S., Macedonio, G., Pieretti, S., Minosi, P., **Szűcs, E.**, Erdei, A.I., Zádor, F., Benyhe, S., Mollica, A. (2017) **Opioid receptor activity and analgesic potency of DPDPE peptide analogues containing a xylene bridge.** AMER. CHEM. SOC. MED. CHEM. LETTERS, 8: 449-454.
8. Stefanucci A, Carotenuto A, Macedonio G, Novellino E, Pieretti S, Marzoli F, **Szűcs E**, Erdei AI, Zádor F, Benyhe, S., Mollica A. (2017) **Cyclic biphalin analogues incorporating a xylene bridge: Synthesis, characterization, and biological profile.** AMER. CHEM. SOC. MED. CHEM. LETTERS, 8: 858-863.
9. Erdei, A.I., Borbély, A., Magyar, A., Taricska, N., Perczel, A., Zsíros, O., Garab, G., **Szűcs, E.**, Ötvös, F., Zádor, F., Balogh, M., Al-Khrasani, M., Benyhe, S. (2018) **Biochemical and pharmacological characterization of three opioid-nociceptin hybrid peptide ligands reveals substantially differing modes of their actions.** PEPTIDES, 99: 205-216.
10. Dadam F, Zádor F, Caeiro X, **Szűcs E**, Erdei AI, Samavati R, Gáspár R, Borsodi A, Vivas L. (2018) **The effect of increased NaCl intake on rat brain endogenous μ -opioid receptor signalling.** J. NEUROENDOCRINOL., 30: e12585

11. Ewelina Rojewska, Agnieszka Wawrzczak-Bargiela, **Edina Szűcs**, Sándor Benyhe, Joanna Starnowska, Joanna Mika, Ryszard Przewlocki, Barbara Przewlocka (2018) **Alterations in the Activity of Spinal and Thalamic Opioid Systems in a Mice Neuropathic Pain Model.** NEUROSCIENCE, 390: 293-302.
12. Anna I Erdei, Adina Borbély, Anna Magyar, **Edina Szűcs**, Ferenc Ötvös, Dávid Gombos, Mahmoud Al-Khrasani, Azzurra Stefanucci, Marilisa Pia Dimmito, Grazia Luisi, Adriano Mollica, Sándor Benyhe (2019) **Biochemical and pharmacological investigation of novel nociceptin/OFQ analogues and N/OFQ-RYYRIK hybrid peptides.** PEPTIDES, 112: 106-113.
13. Piotr F. J. Lipiński, **Edina Szűcs**, Małgorzata Jarończyk, Piotr Kosson, Sándor Benyhe, Aleksandra Misicka, Ján Cz. Dobrowolski, Joanna Sadlej (2019) **Affinity of fentanyl and its derivatives for the σ_1 receptor.** MED. CHEM. COMM., 10: 1187 –1191.
14. Ferenc Zádor, Gábor Nagy-Grócz, Gabriella Kékesi, Szabolcs Dvorácskó, **Edina Szűcs**, Csaba Tömböly, Gyöngyi Horváth, Sándor Benyhe, László Vécsei (2019) **Kynurenines and the Endocannabinoid System in Schizophrenia: Common Points and Potential Interactions.** MOLECULES, 24: 3709.
15. Ferenc Zádor, Gábor Nagy-Grócz, Szabolcs Dvorácskó, Zsuzsanna Bohár, Edina Katalin Cseh, Dénes Zádori, Árpád Párdutz, **Edina Szűcs**, Csaba Tömböly, Anna Borsodi, Sándor Benyhe, László Vécsei (2020) **Long-term systemic administration of kynurenic acid brain region specifically elevates the abundance of functional CB1 receptors in rats.** NEUROCHEM. INT., 138:1047-52.
16. **Edina Szűcs**, Eszter Ducza, Alexandra Büki, Gabriella Kékesi, Sándor Benyhe, Gyöngyi Horváth (2020) **Characterization of dopamine D2 receptor binding, expression and signaling in different brain regions of control and schizophrenia-model Wistar rats.** BRAIN RESEARCH, 1748:147-74.

Összes impakt faktor: 50,037

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Tanulmányomat csodálatos kollégánk, a néhai professzor, Wollemann Mária, MD, PhD, DSc (1923-2019), az intézet korábbi igazgatója, az Opioid Receptor Csoport alapítója és vezetője emlékének szenteltem a Biokémiai Intézet Biológiai Kutatóközpontjában Magyar Tudományos Akadémia, Szeged, Magyarország.

Nagyon hálás vagyok Borsodi Anna professzorasszonynak, aki lehetőséget adott nekem, hogy elkezdjem munkámat ebben a csoportban.

Őszinte köszönetet mondok Dr. Benyhe Sándor témavezetőmnek doktori tanulmányaim során nyújtott támogatásáért és tanácsaiért.

Nagyon köszönöm Dr. Ötvös Ferencnek a vizsgált ligandokkal kapcsolatos *in silico* dokkolási számítások elvégzését.

Nagyon hálás vagyok Dr. Zádor Ferencnek a tanácsaiért és azért, hogy segítséget nyújtott nekem a kísérletek elvégzésében.

Hálás vagyok Dr. Tömböly Csabának és Dr. Dvorácskó Szabolcsnak a radiojelzett és a jelöletlen opioid ligandok szintetizálásáért és biztosításáért.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Marton Jánosnak, Dr. Hosztafi Sándornak és laboratóriumi kollégáinknak a Bentley analógok szintetizálásáért.

Szeretnék köszönetet mondani Horváth Gyöngyi professzorasszonynak és csoportja tagjainak a Bentley analógok *in vivo* hatásvizsgálataiért.

Hálás vagyok Dr. Adriano Mollica-nak és kollégáinak az oligopeptidek szintéziséért és az *in vivo* kísérletek elvégzéséért.

Köszönöm szeretett fiamnak, Viktornak és a családomnak a türelmét és támogatását.