
**STUDY AND DISCOVERY OF TASK–POTASSIUM CHANNEL MODULATORS:
A THEORETICAL AND EXPERIMENTAL APPROACH****DAVID MAURICIO RAMÍREZ SÁNCHEZ
DOCTORADO EN CIENCIAS APLICADAS****RESUMEN**

Los canales de potasio de dos dominios de poro (K2P) son responsables de fugas de corrientes en células de mamíferos. Estos canales se pueden categorizar en seis subfamilias basados en su estructura y función. Los canales sensibles a pH, TASK-1 y TASK-3 pertenecen a la familia TASK; estos canales contribuyen a la quimiosensibilidad y son relevantes en la excitabilidad neuronal. TASK-3, particularmente, es un oncogén y se encuentra sobre-expresado en cáncer de seno y de ovario. El desarrollo de nuevos compuestos que modulen selectivamente canales K2P como TASK-1 y TASK-3 es fundamental para evaluar la eficacia de las terapias dirigidas a estas interesantes proteínas. En el presente trabajo se emplearon múltiples metodologías computacionales como modelamiento por comparación, simulaciones de dinámica molecular, cribado virtual, acoplamiento molecular, cálculo de energía libre, etc.; así como también técnicas experimentales (electrofisiología) para: 1) comprender por qué ciertos bloqueadores de canales de potasio dependientes de voltaje (Kv1.5) inhiben preferencialmente los canales TASK-1. Nuestros resultados describen cómo los bloqueadores de Kv1.5, como AVE0118 y AVE1231, los cuales son potenciales fármacos contra fibrilación atrial o apnea obstructiva del sueño, son potentes bloqueadores de canales TASK-1. Por consiguiente, el bloqueo de TASK-1 por estos compuestos podría contribuir en la mejora de la efectividad clínica de estos fármacos. 2) Estudiar el rol de las fenestraciones (cavidades laterales hacia la membrana) en el modo de unión del bloqueador A1899 en canal de potasio TASK-1; nuestros resultados mostraron que A1899 se une fuertemente a estructuras con las fenestraciones abiertas, también revelan que A1899 no accede al sitio de unión desde la membrana por medio de las fenestraciones. Finalmente, 3) desarrollar nuevos moduladores de TASK-3 basados en la estructura de bloqueadores reportados; nuestros resultados nos permitieron identificar dos ligandos con actividad inhibitoria de $40.6 \mu\text{M}$ y $43.1 \mu\text{M}$ contra TASK-3. El farmacóforo conservado descrito en este trabajo, y las características químicas de estos

nuevos compuestos los convierten en buenos candidatos para el futuro desarrollo de potentes moduladores de TASK-3 mediante optimización usando química medicinal. En este trabajo se presentan resultados que permiten la comprensión del mecanismo estructural del bloqueo de canales TASK mediante una aproximación teórico-experimental. Este conocimiento permite proponer nuevos moduladores que podrían ayudar a entender las funciones fisiológicas de estos canales en sus sitios de expresión en órganos y células.

ABSTRACT

Two-pore domain potassium (K2P) channels underlie the background K⁺ currents in mammalian cells; these can be segregated into six subfamilies based on their structure and functional properties. The acid-sensitive TASK-1 and TASK-3 channels belong to the TASK subfamily. TASK channels contribute to the central respiratory chemosensitivity and are also relevant for neuronal excitability. TASK-3 is an oncogenic potassium channel and it is overexpressed in breast and ovarian tumors. Development of compounds that selectively modulate K2P channels such as TASK-1 and TASK-3 is crucial to assess the efficacy of therapies targeting these interesting proteins. In the present work several computational methodologies such as homology modeling, molecular dynamics simulations, virtual screening, docking, binding free energy calculation, etc.; as well as electrophysiological techniques like such as two electrode voltage clamp (TEVC) and Fluorometric imaging plate reader – Membrane potential assay (FLIPR–MPA) were employed to: 1) understand why potassium voltage-gated channel (Kv1.5) blockers preferentially inhibit TASK-1 channels. Our results described how Kv1.5 blockers, like AVE0118 and AVE1231, which are promising drugs against atrial fibrillation or obstructive sleep apnea, are in fact potent TASK-1 blockers. Accordingly, the TASK-1 channels blockage by these compounds might contribute to the clinical effectiveness of these drugs. 2) To study the role of the fenestrations (side-opening facing the membrane) in the binding of A1899 to TASK-1 potassium channel; our results showed that A1899 binds tightly to structures with open fenestrations and demonstrated that A1899 cannot travel from the membrane through the fenestrations to reach the binding site. Finally, 3) to structure-based discovered novel TASK-3 modulators; our results allowed the identification of two lead ligands showing inhibition of 40.6 μ M and 43.1 μ M against TASK-3. For this reason, the conserved pharmacophore described in this work, and the novel chemical characteristics of this chemical class makes them good candidates for future development into highly potent TASK-3 modulators through medical chemistry optimization. In this work we present findings regarding the understanding of the structural mechanism of TASK channels blockage through a theoretical-experimental approach. This gained knowledge will allow us to propose

novel modulators that might aid unraveling the physiological functions of TASK channels in their sites of expression in native organs and cells.