

BADANIA SAR NOWYCH LIGANDÓW 5-HT₇R Z RÓŻNYMI ŁĄCZNIKAMI ALKILOWYMI MIĘDZY ARYLOWYM I AMINOWYM FRAGMENTEM

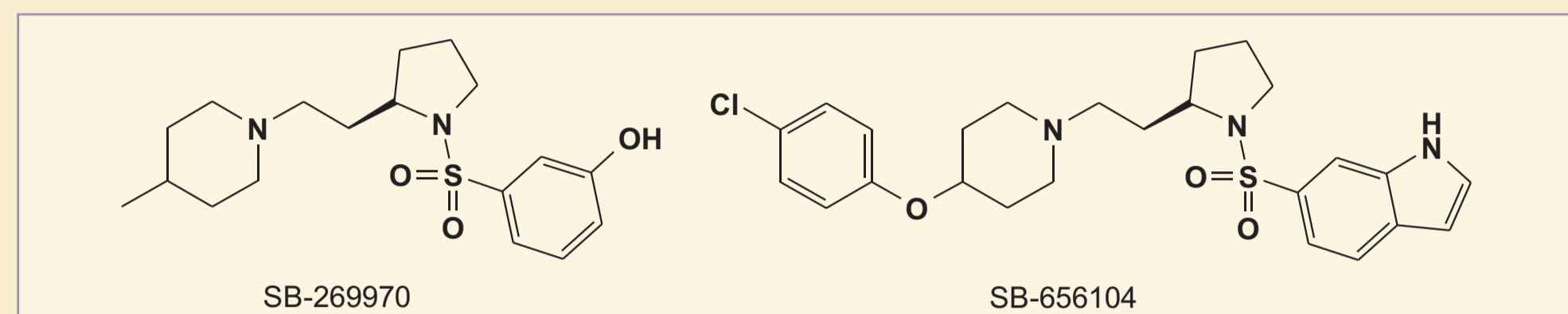


Ryszard Bugno, Andrzej J. Bojarski, Krystyna Nędza, Jan Boksa

Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków. E-mail: bugno@if-pan.krakow.pl

Wstęp

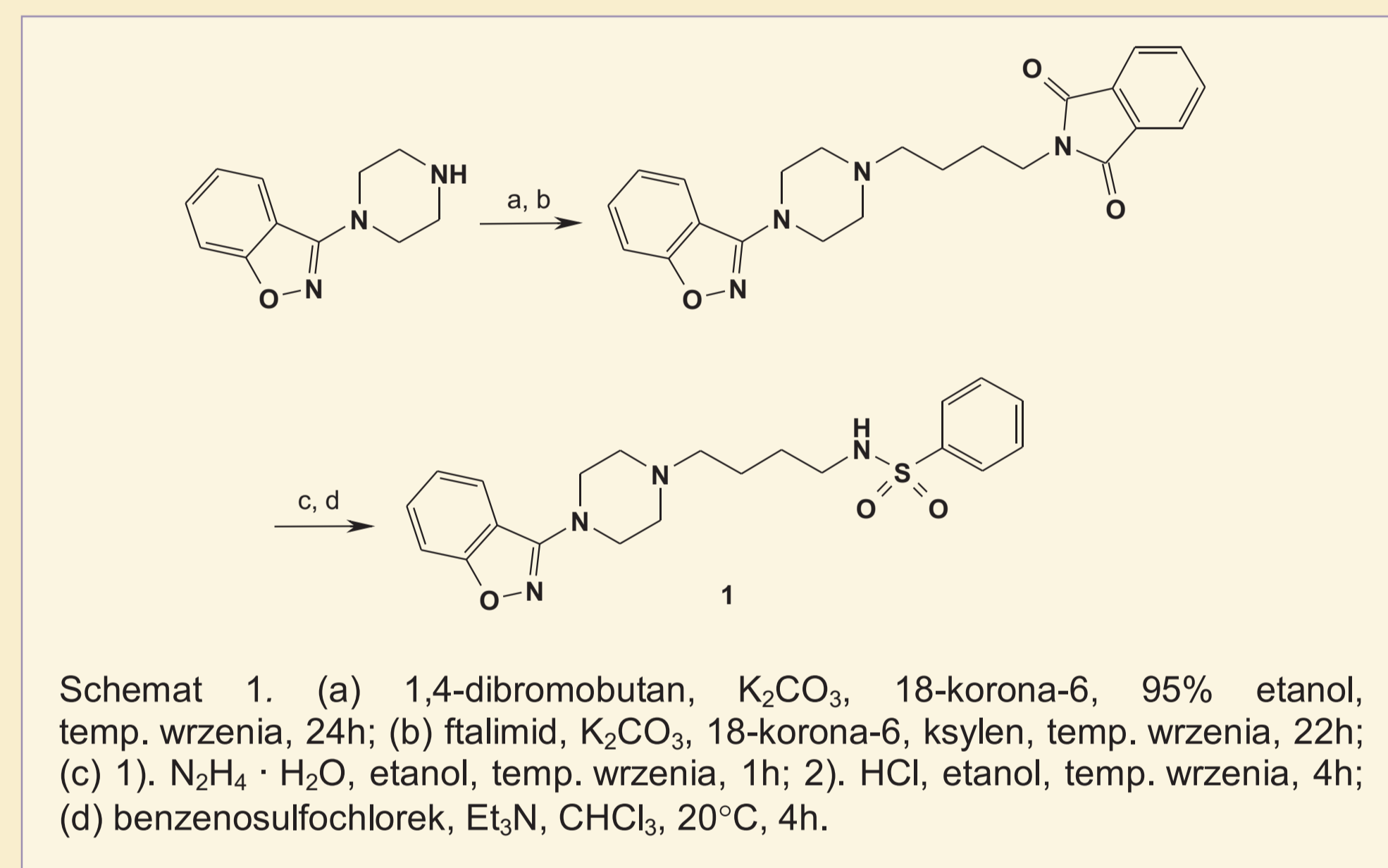
Odkrycie receptorów 5-HT₇R i rezultaty badań ich potencjalnego zastosowania w terapii przede wszystkim chorób OUN (depresja, lęk, zaburzenia nastroju)¹ zapoczątkowało poszukiwanie aktywnych i selektywnych ligandów. W wyniku ponad 10 lat intensywnych badań prowadzonych w firmach farmaceutycznych i różnych ośrodkach badawczych (między innymi w naszym Zakładzie) znaleziono wiele ligandów 5-HT₇R; niektóre z nich, jak SB-269970 i SB-656104, charakteryzują się wysoką selektywnością.²



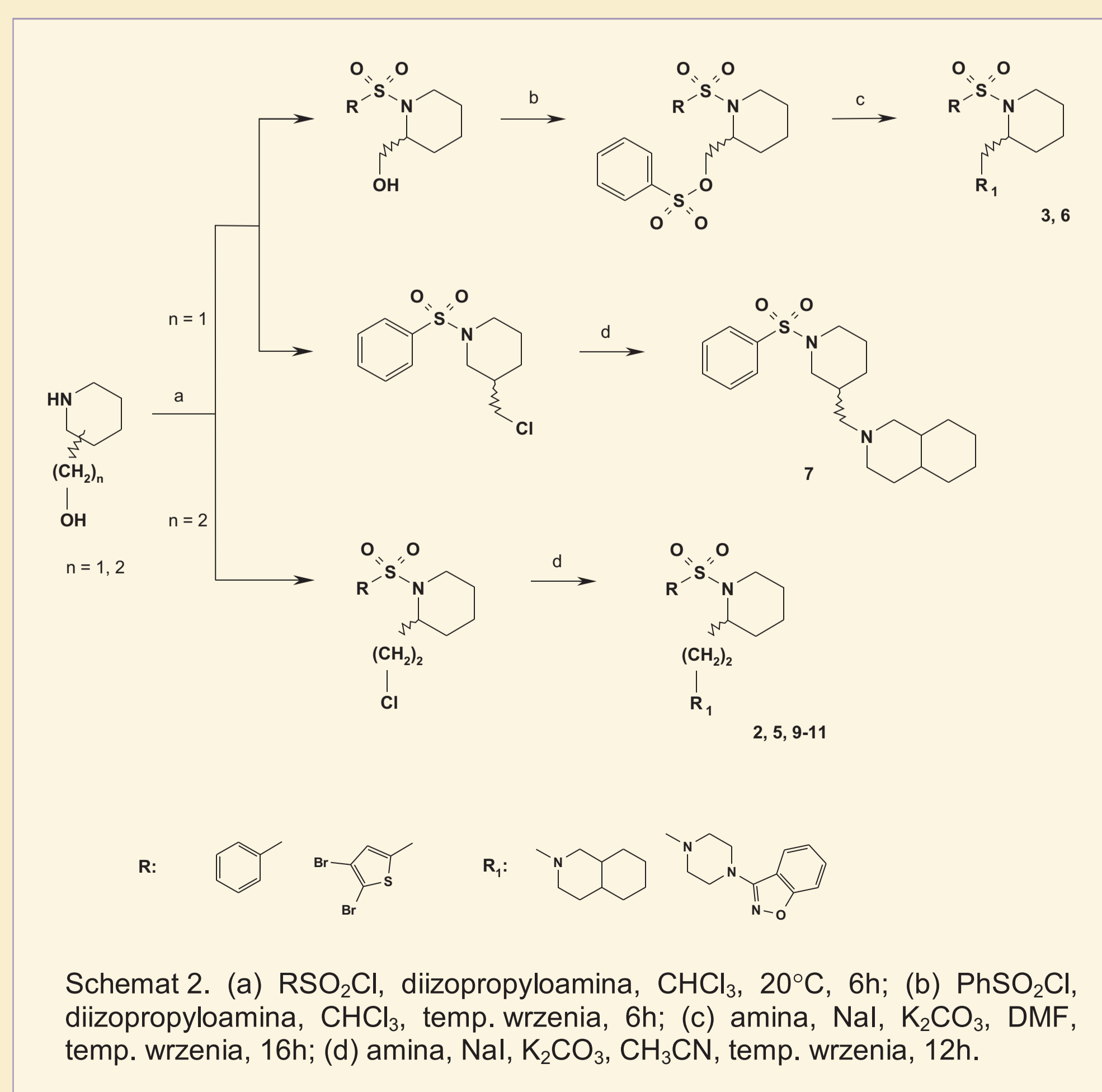
Podczas realizacji naszego programu badawczego obejmującego projektowanie i syntezę aktywnych i selektywnych ligandów 5-HT₇R otrzymaliśmy nową serię związków z fleksyjnymi i częściowo usztywnionymi łącznikami alkiłowymi między arylowym i aminowym fragmentem.

Synteza

Benzenesulfonamid **1** otrzymano w wyniku kilkusetapowej syntezy przedstawionej na schemacie 1. 3-(Piperazyn-1-yl)benzo[d]izoksazol w reakcji z 1,4-dibromobutanem w obecności katalitycznej ilości eteru 18-korona-6 utworzył bromek 8-benzo[d]izoksazol-3-yl-8-aza-5-azoniaspiro[4.5]dekanu. W kolejnym etapie bromek czwartorzędowej soli amoniowej przekształcono metodą Gabriela w 4-(4-benzo[d]izoksazol-3-yl-piperazyn-1-yl)butyloaminę, która potraktowana chlorkiem benzenosulfonowym w obecności trójetyloaminy prowadziła do produktu końcowego **1**. Wyjściowy 3-(piperazyn-1-yl)benzo[d]izoksazol otrzymano według wcześniej opublikowanych procedur.^{3,4}

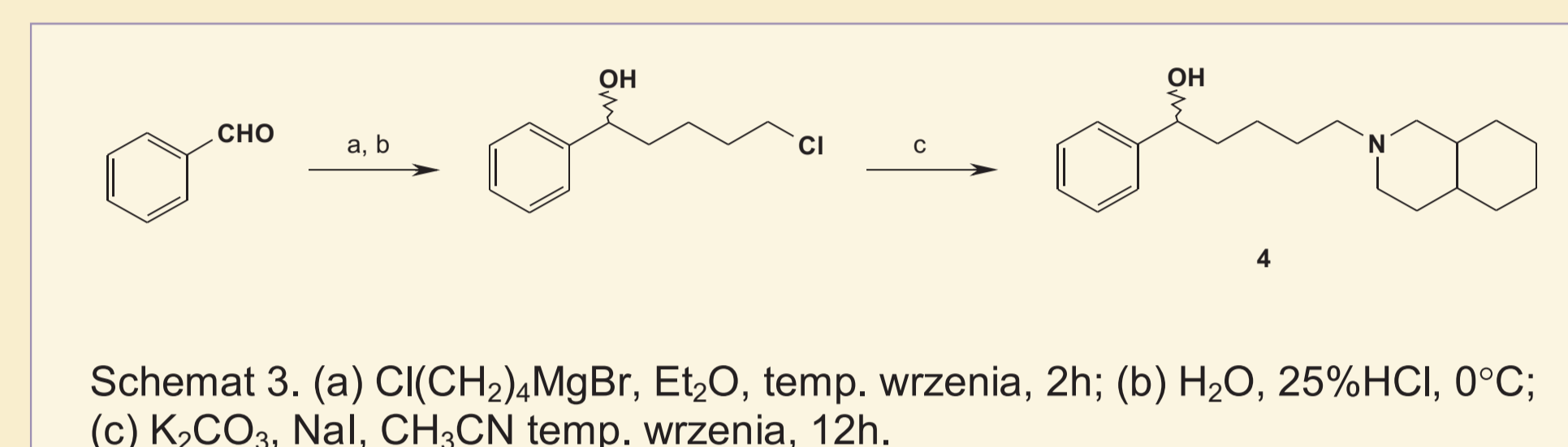


Syntezę pochodnych **2**, **5**, **7**, **9-11** rozpoczęto od reakcji piperidyno-2-etanolu lub piperidyno-3-metanolu z dwukrotnym nadmiarem molowym odpowiednich pochodnych chlorków kwasów sulfonowych. Następnie otrzymane chlorki alkiłowe poddano reakcji z *trans*-perhydroizochinoliną lub 3-piperazyn-1-ylbenzo[d]izoksazolem w środowisku zasadowym w obecności jodku sodu jako katalizatora. Otrzymane docelowe sulfonamidy wyizolowano jako mieszaniny racemiczne. Dla ligandu **9** o wysokim powinowactwie i selektywności względem 5-HT₇R, w celu otrzymania poszczególnych izomerów osobno, przeprowadzono analogiczny ciąg reakcji, używając jako substraty wyjściowe *R*- i *S*-piperidyno-2-etanol. Piperidyno-2-metanol w reakcji z chlorkami kwasów sulfonowych nie tworzył chlorków alkiłowych, dlatego powyższą procedurę zmodyfikowano. Pochodne 2-metylopiperidyny **3** i **6** otrzymano w trój etapowej sekwencji reakcji (schemat 1).

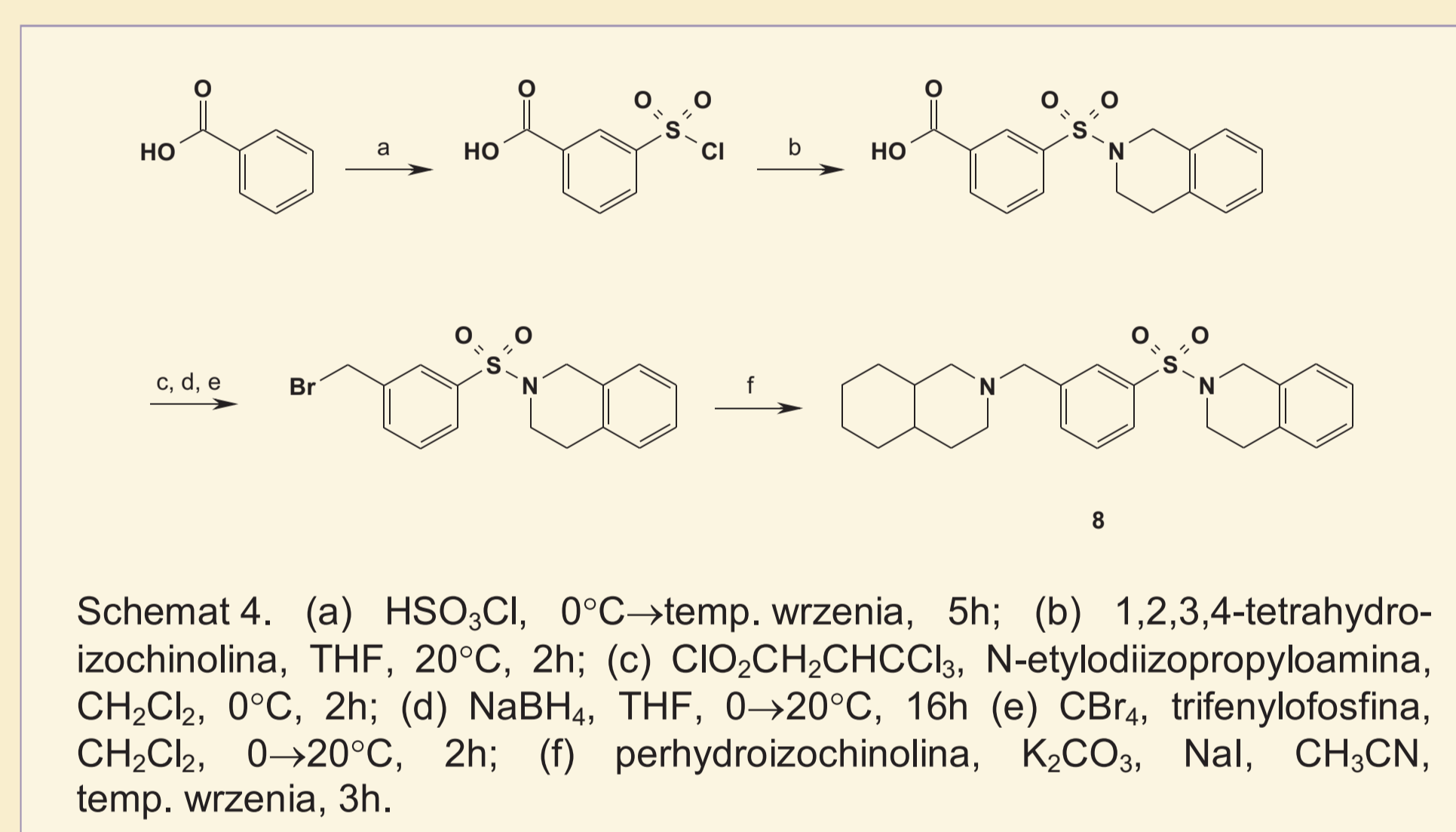


Syntezę rozpoczęto od reakcji piperidyno-2-metanolu z równomolową ilością odpowiednich pochodnych chlorków kwasów sulfonowych. Następnie bez wyizolowywania otrzymanego alkoholu, do mieszaniny reakcyjnej dodano równomolową ilość benzenosulfochloru. Otrzymane estry kwasu benzenosulfonowego poddano reakcji z odpowiednimi drugorzędowymi aminami w obecności jodku sodu jako katalizatora. Otrzymane docelowe sulfonamidy wyizolowano jako mieszaniny racemiczne.

Do syntezy układu 1-fenylpentan-1-olu wykorzystano reakcję związków magnezooorganicznych Grignarda z aldehydami. W pierwszym etapie w roztworze suchego eteru wygenerowany *in situ* bromek 4-chlorobutyloaminy poddano oddziaływaniu z odpowiednimi pochodnymi benzaldehydu. Następnie w wyniku kwaśnej hydrolyzy powstałych soli magnezowych uzyskano chlorki alkiłowe jako mieszaniny racemiczne. Produkty końcowe otrzymano w reakcji N-alkilowania *trans*-perhydroizochinolinoliny odpowiednimi chlorkami alkiłowymi w środowisku zasadowym w obecności jodku sodu jako katalizatora.



Pochodną tetrahydroizochinolinoliny **8** otrzymano w sześciopiętowej sekwencji reakcji (schemat 3). Na początku, za pomocą kwasu chlorosulfonowego podstawiono w pozycję *meta* pierścienia aromatycznego kwasu benzoowego grupę chlorosulfonową, którą następnie poddano reakcji w łagodnych warunkach z 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliną. W kolejnym etapie zredukowano grupę karboksylową borowodorkiem sodu a powstały alkohol poddano bromowaniu przy udziale czterobromku węgla. Końcowy produkt uzyskano na drodze N-alkilowania *trans*-perhydroizochinolinoliny otrzymanym w poprzednim etapie bromkiem alkiłu w środowisku zasadowym w obecności jodku sodu jako katalizatora.



Struktura nowych związków została potwierdzona widmami ¹H NMR, a wolne zasady zostały przeprowadzone w chlorowodorki (**1-3**) lub fumarany (**4-11**) i w tej postaci użyte do badań *in vitro*. Masa cząsteczkowa soli została ustalona na podstawie analizy elementarnej.

Badania farmakologiczne *in vitro*

Powinowactwo związków do receptorów wyznaczono metodą wypierania specyficznego radioliganda z materiału biologicznego przez badaną substancję w stężeniach od 10⁻³ do 10⁻¹¹ M.

Receptor	Materiał biologiczny	Radioligand	Wiązanie niespecyficzne
5-HT _{1A}	Hipokamp	[³ H]-8-OH-DPAT (170 Ci/mmol, NEN Chemicals)	5-HT
5-HT _{2A}	Kora	[³ H]-ketanseryna (60 Ci/mmol, NEN Chemicals)	Metysergid
h5-HT _{7(b)}	HEK-293	[³ H]-5-CT (102.0 Ci/mmol, Amersham)	5-HT
D ₂	Prążkowie	[³ H]-spiperone (15.0 Ci/mmol, Perkin-Elmer)	Butaklamol

Stałą powinowactwa (*K*) obliczono z równania Chenga i Prusoffa. Wartości przedstawione w tabeli stanowią średnią wyznaczoną z przynajmniej trzech niezależnych eksperymentów.

Piśmiennictwo:

- Wesołowska A. et al. *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, 555(1), 43-7. 2. Pittalà V. et al. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2007, 7, 945-60. 3. Friary R. et al.; *J. Heterocyclic Chem.* **1979**, 16, 1277-8.
- Yevich J. P. et al.; *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 359-69. 5. Kolaczowski M. et al. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6732-41. 6. Lovell P. J. et al. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 342-45.

Nr	R	K _i [nM]			
		5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₇	D ₂
1		300	44	13	691
2		105	19	11	12
3		1356	85	143	624
4		2671	NT	637	NT
5		2966	6000	44	6970
6		1995	4280	1225	NT
7		1154	1810	720	NT
8		295	NT	307	NT
9		886	4606	175	NT
10		886	4606	175	NT
11		509	23200	8	NT

NT – nie testowano

Dyskusja wyników

- Zarówno związek **1**, jak i jego usztywniony analog **2**, charakteryzuje się podobnie wysokim powinowactwem do receptorów 5-HT_{2A} i 5-HT₇. Co ciekawe, labilny związek wykazuje wyższą selektywność względem receptorów 5-HT_{1A} i D₂.
- Struktury z łącznikiem 2-etylopiperidynowym specyficznie oddziałują z 5-HT₇R, tylko gdy w terminalnej części aminowej cząsteczki znajduje się fragment PHIQ (związki **5**, **9-11**). Efekt znacznego wzrostu selektywności w wyniku usunięcia aromatycznych grup znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie protonowanego atomu azotu jest zgodny z wynikami badań *in silico* modeli farmakoforowych, wygenerowanych ostatnio w naszym Zakładzie.⁵
- Związki **3** i **6** z łącznikiem 2-metylopiperidynowym cechuje znacznie niższe powinowactwo do wszystkich badanych receptorów niż ich etylowe analogi **2** i **5**. Tylko związek **3** z fragmentem 3-piperazyn-1-ylbenzo[d]izoksazolu wykazał umiarkowane powinowactwo do 5-HT_{2A}R (85 nM).
- Analog związku **5** o uproszczonej strukturze (związek **4**), posiadający labilny *n*-butylowy łącznik i grupę hydroksylową w miejscu sulfonamidowej, charakteryzuje się znacznie niższym powinowactwem do 5-HT₇R.
- W wyniku zastosowania łączników 3-metylopiperidynowego (związek **7**) i 3-metylofenyloowego (związek **8**) nie uzyskano wymaganego, dla ligandów o wysokim powinowactwie do wszystkich badanych receptorów, rozmieszczenia przestrzennego grup farmakoforowych.
- Związek **11** z łącznikiem *R*-2-etylopiperidynowym wykazuje prawie 22-krotnie wyższe powinowactwo do 5-HT₇R niż jego izomer *S* (**10**). W badaniach radioreceptorowych wartość *K_i* wyznaczona zarówno dla racematu **9**, jak i dla izomeru *R* **11**, była identyczna.

Wnioski

W otrzymanej serii związków przeanalizowano wpływ struktury łącznika alkiłowego między arylowym i aminowym fragmentem na powinowactwo do receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT₇, 5-HT_{2A} i D₂.

Wśród przetestowanych łączników, właściwe ułożenie w przestrzeni grup farmakoforowych do wzajemnego oddziaływania ligand - 5-HT₇R zapewnia fragment 2-piperidynoetanolowy oraz *n*-butanolowy, ale tylko przy jednoczesnej obecności grupy amidowej.

Konformacja łącznika 2-etylopiperidynowego wyraźnie wpływa na wysokość powinowactwa do 5-HT₇R. Podobną zależność opisano we wcześniejszych badaniach związków należących również do pochodnych sulfonamidowych -pierwszej poznanej klasy selektywnych ligandów 5-HT₇R.⁶

W prezentowanej serii związków selektywność do 5-HT₇R silnie zależy od struktury terminalnej grupy aminowej, a nie typu zastosowanego łącznika alkiłowego.