

Piotr Kowalski

Zakład Chemii Organicznej, Instytut Chemii i Technologii Organicznej, Politechnika  
Krakowska, ul. Warszawska 24, 31–155 Kraków; e-mail: [kowapi@usk.pk.edu.pl](mailto:kowapi@usk.pk.edu.pl)

## ARYLOPIPERAZYNY – LIGANDY RECEPTORÓW SEROTONINOWYCH 5-HT<sub>1A</sub>

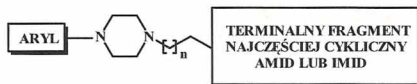
**Streszczenie:** Arylopiperazyny należą do jednej z grup ligandów receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub>. Serotonina (5-hydroksytryptamina) jest neurotransmiterem, odgrywającym ważną rolę w Ośrodkowym Układzie Nerwowym (OUN). Zależność struktura-aktywność syntezowanych ligandów receptorów serotoninowych analizowana jest na podstawie testów *in vitro* i *in vivo*. Aktywność *in vitro*, najważniejsze źródło informacji o aktywności liganda do danego typu receptora, oceniana jest na podstawie stopnia wypierania selektywnie wiążącego się z nim radioliganda (np. [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT dla receptorów 5-HT<sub>1A</sub>). Wytypowane na podstawie badań *in vitro* ligandy (o powinowactwie do 50 nM) poddawane są z kolei testom behawioralnym (*in vivo*) na zwierzętach (myszach i szczurach), co pozwala na funkcjonalną charakterystykę (agonizm, antagonizm) ich oddziaływania z pre- i postsynaptycznymi receptorami OUN.

Zrozumienie mechanizmu działania liganda z receptorem na poziomie molekularnym wymaga znajomości przestrzennej struktury liganda, receptora oraz kompleksu aktywnego ligand-receptor. Przestrzenna budowa receptora jest jednak wciąż nieznana. Nieznana więc jest także struktura kompleksu aktywnego ligand-receptor, chociaż eksperymenty mutagenetyczne pozwalają na określenie natury pewnych oddziaływań związku z biocząsteczką. Tak więc obecny stan wiedzy pozwala jedynie na tworzenie hipotetycznych modeli, tak receptora jak i jego kompleksu z ligandem.

Jednym z najbardziej znanych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> jest buspiron, charakteryzujący się wysokim powinowactwem i znaczną selektywnością w stosunku do innych podtypów receptorów serotoninowych. Elementy strukturalne buspironu znajdują się we wszystkich syntezowanych i analizowanych przez nas związkach. Aktywność otrzymanych połączeń do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oceniano w testach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Strukturę przestrzenną analizowano w oparciu o wyniki badań krystalograficznych, a konformacje w rozтворach na podstawie pomiarów NMR. Efekty steryczne, które mogą mieć znaczenie dla zdolności wiązania liganda z receptorem, oceniano na podstawie wyników ESI-MS. W ostatnim czasie zsyntezowano połączenia z ograniczoną swobodą konformacji łańcucha alkilowego, które stanowią cenne narzędzia w modelowaniu oddziaływań ligand-receptor.

## Wprowadzenie

Arylopiperazyny o ogólnym wzorze przedstawionym na Rys. 1 należą do jednej z grup ligandów receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> [1–5].



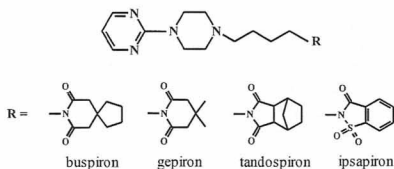
**Rys. 1.** Ogólna struktura ligandów receptorów serotoninowych z grupy ariopiperazyn

Związki te, oddziałując z receptorami, wpływają na poziom serotoniny w mózgu. Serotonina (5-hydroksytryptamina) jest neurotransmiterem, który odgrywa znaczącą rolę w Ośrodkowym Układzie Nerwowym (OUN), m.in. w procesach emocjonalnych i wyższych czynnościach nerwowych oraz w regulacji rytmu sen–czuwanie [6, 7]. Niskie jej stężenia wiąże się z depresją, bezsennością, zachowaniami samobójczymi, wysokie – z pobudzeniem maniakalnym. Zaburzenia wydzielania serotoniny występują również w chorobach psychicznych przebiegających z lękiem i natręctwami. Jakkolwiek etiologia zaburzeń psychicznych jest skomplikowana i wiele układów neuroprzekaznikowych jest zaangażowanych w ich powstawanie (serotoninowy, dopaminowy, adrenergiczny), to receptory 5-HT<sub>1A</sub> stanowią jeden z ważniejszych punktów uchwytu leków psychotropowych.

Wg badań Amerykańskiego Stowarzyszenia Psychiatrycznego w ostatnich latach depresja stale się rozpowszechnia. W USA oszacowano na przykład, że 5–12% mężczyzn i 10–20% kobiet w pewnym momencie życia będzie cierpiało z powodu depresji. Statystyki wskazują, że rokrocznie aż 15% pacjentów z depresją lub chorobą maniakalno-depresyjną popełnia samobójstwo. Coraz więcej danych przemawia za tym, że głęboka depresja zwiększa też ryzyko śmierci na atak serca lub udar. Często także pogarsza jakość i skraca czas życia chorych na raka [8, 9].

Jednym z odkryć stanowiących postęp w farmakoterapii chorób psychicznych było znalezienie dowodów na zależność pomiędzy depresją a niskim stężeniem serotoniny w mózgu, szczególnie wśród pacjentów ze skłonnością do samobójstw. Okazało się bowiem, że w tych przypadkach obserwuje się zredukowaną ilość głównych metabolitów serotoniny, co oznacza spadek poziomu samej serotoniny. Dodatkowo, u pacjentów z depresją liczba receptorów serotoninowych w OUN jest mniejsza niż u osób zdrowych [10].

Burzliwy rozwój badań nad ligandami receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub>, jaki miał miejsce w latach 80., był wynikiem poszukiwań nowych leków o działaniu przeciwlękowym. Rezultatem tych badań było wprowadzenie na rynek buspironu [11,12] i jego 1-(2-pirymidylo)piperazynowych analogów o działaniu anksjolitycznym (Rys. 2).



**Rys. 2.** Buspiron i jego strukturalne analogi

Z farmakologicznego punktu widzenia buspiron jest częściowym agonistą receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, a dokładniej, jest agonistą receptorów pre- i postsynaptycznych, posiadając jednocześnie cechy wskazujące na częściową blokadę tych ostatnich. Z klinicznego punktu widzenia buspiron jest jednym z nielicznych leków anksjolitycznych. Z chemicznego punktu widzenia należy on do pochodnych arylopiperazyny, które tworzą dużą grupę intensywnie badanych (również przez nas) ligandów receptorów 5-HT<sub>1A</sub>.

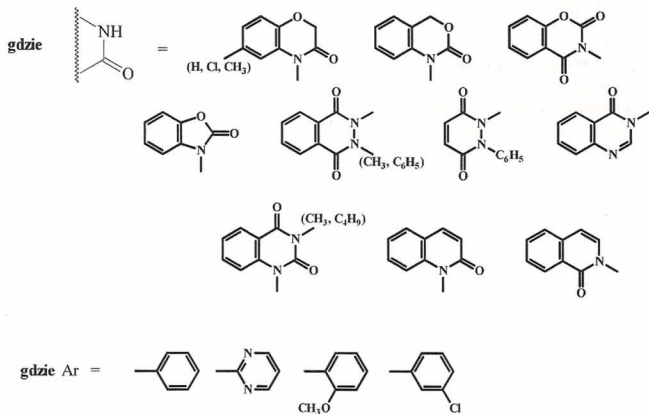
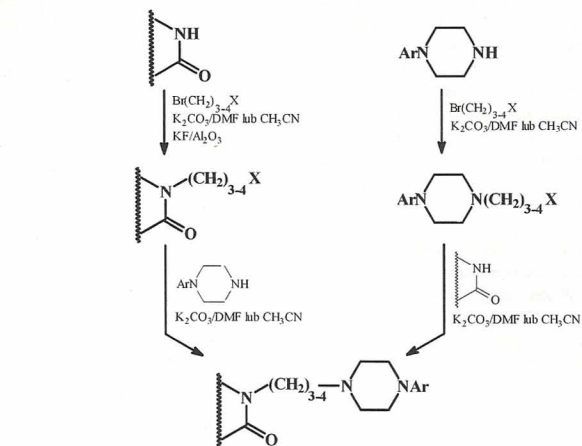
Jednym z ośrodków w Polsce, który prowadzi badania nad ligandami receptorów serotoninowych (m.in. analiza zależności struktura–aktywność), jest Instytut Farmakologii PAN w Krakowie. W Zakładzie Chemii Leków, kierowanym przez wiele lat przez profesora Stanisława Misztalę, badania w tym kierunku zostały zainicjowane przez przedwcześnie zmarłego profesora Jerzego Mokrosza, a następnie kontynuowane przez docent Marię Mokrosz. Obecnie synteza i badania aktywności *in vitro* związków o tym profilu działania stanowią nadal jeden z głównych tematów badawczych realizowanych w tym zespole. W Zakładzie Badań Nowych Leków IF PAN w Krakowie, kierowanym przez profesor Ewę Chojnąką-Wójcik, wytypowane na podstawie badań *in vitro* ligandy poddaje się testom behawioralnym na myszach lub szczurach.

Z Zakładem Chemii Leków oraz Zakładem Badań Nowych Leków IF PAN w Krakowie Zakład Chemii Organicznej Politechniki Krakowskiej współpracuje od ponad 20 lat. W niniejszej pracy przedstawiono główne kierunki tych badań i uzyskane w ostatnim czasie rezultaty.

## Synteza ligandów receptorów serotoninowych

Wzorując się na podanym przez Hiberna modelu farmakoforowym receptora 5-HT<sub>1A</sub> [13] oraz strukturze buspironu, zsyntezowano w naszym zespole szereg pochodnych alkiloarylopiperazyny. Zgodnie z powyższym oczekiwano, że czynność biologiczna tych połączeń będzie wyznaczona przez obecność w cząsteczce układu arylopiperazyny połączonego z terminalnym fragmentem amidowym lub imidowym, trój- lub czterowęglowym łańcuchem alkilowym.

Syntezę ligandów receptorów serotoninowych wykonywano stosując dwie metody [14–20] (Schemat 1). W jednej z nich, do komercyjnie dostępnej odpowiedniej arylopiperazyny wprowadzano na drodze alkilowania za pomocą 1,4-dibromobutanu lub 1-bromo-3-chloropropanu łańcuch odpowiednio bromobutylo- lub chloropropylo-owy, a tak otrzymaną pochodną poddawano kondensacji z odpowiednim laktamem (amidem lub imidem). Druga metoda syntezy ligandów polegała pierwotnie na kondensacji laktamu z odpowiednią dihalogenopochodną butylo- lub propylo-ową, a następnie uzyskane połączenia kondensowano z arylopiperazynami. W reakcji kondensacji laktamów nie stosowano cytowanych w literaturze procedur związanych z ich aktywacją, na drodze reakcji z amidkiem lub wodorkiem sodu czy potasu. Reakcje kondensacji prowadzono w obecności K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> w temp. pokojowej (DMF) lub w temp. 60–80°C (acetonitryl). W niektórych przypadkach obserwowano N- i O-alkilowanie laktamu (co związane jest z możliwą ich tautomerią) i w tych przypadkach izomery rozdzielano na drodze chromatograficznej lub frakcjonowanej krystalizacji.



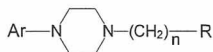
**Schemat 1.** Metodyka syntezy ligandów serotoninowych [14–20]

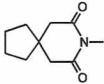
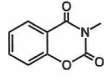
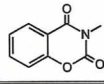
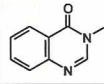
## Badania aktywności *in vivo* i *in vitro*

Aktywność biologiczna zsintezowanych połączeń była oceniana standardowo w dwóch etapach. Pierwszym etapem były badania *in vitro*, w których wyznaczano powinowactwo (wiązalność) danego liganda (związku) do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> (wiązalność do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> [nM] *in vitro*, określa stopień wypierania przez dany związek z homogenatu hipokampu mózgu szczura [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT - 8-hydroksy-2-(di-*n*-propyloamino)-tetraliny, liganda selektywnie wiążącego się z tym receptorem) [21]. Wyznaczone metodami radioizotopowymi powinowactwo ma głęboki sens fizyczny, zawiera bowiem informacje o zdolności tworzenia kompleksu ligand-receptor. Powinowactwo lub stała wiązania traktowane są niemal powszechnie jako proste, liczbowe wskaźniki aktywności biologicznej na molekularnym poziomie oddziaływań ligand-receptor. Dla wybranych, zsintezowanych przez nas związków podano w Tabeli 1 wyznaczone wiązalności do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>.

Związki o dobrej wiązalności do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> (< 50 nM) były następnie badane *in vivo* w testach behawioralnych na szczurach (testy behawioralne na szczurach, np. opadania dolnej wargi, drgań kończyn przednich itp., pozwalają określić ich aktywność funkcjonalną, tj. pre- i postsynaptyczną jako agonistów lub antagonistów receptorów 5-HT<sub>1A</sub>) [22, 23].

**Tabela 1.** Właściwości wybranych ligandów receptorów serotoninowych



| n | Ar                                                                                  | R                                                                                   | Wiązanie do receptorów 5-HT <sub>1A</sub> [nM] | Wzór sumaryczny chlorowodoru     | Nominalna masa ESI-MS kompleksów 2(MH) <sup>+</sup> Cl <sup>-d,e</sup> |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| 4 |   |   | 20 <sup>a)</sup>                               | M • HCl                          | 807                                                                    |
| 3 |  |  | 127 ± 5 <sup>b)</sup>                          | M • 2 HCl • 0,5 H <sub>2</sub> O | —                                                                      |
| 4 |  |  | 1,25 ± 0,3 <sup>b)</sup>                       | M • HCl                          | 863                                                                    |
| 3 |  |  | 100 ± 3 <sup>c)</sup>                          | M • HCl • H <sub>2</sub> O       | —                                                                      |

|   |                                                                                   |                                                                                   |                |                                     |     |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------|-----|
| 4 |  |  | $3,6 \pm 1^c$  | $M \cdot HCl$                       | 821 |
| 3 |  |  | $7,5 \pm 3^b$  | $M \cdot HCl$                       | —   |
| 4 |  |  | $15 \pm 0,4^b$ | $M \cdot HCl$<br>( $M \cdot 2HCl$ ) | 835 |
| 3 |  |  | $81 \pm 0,3^b$ | $M \cdot HCl$                       | —   |
| 4 |  |  | $15 \pm 1^b$   | $M \cdot HCl$                       | 739 |

<sup>a)</sup> lit. [24]; <sup>b)</sup> lit. [16]; <sup>c)</sup> lit. [20]; <sup>d)</sup> lit. [25]; <sup>e)</sup> lit. [26]

Z porównania wyznaczonych *in vitro* wiążalności wybranych ligandów (Tabela 1) wynika, że generalnie większe powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> posiadały połączenia:

- z łańcuchem czterowęglowym w porównaniu do ich analogów z łańcuchem trójwęglowym,
- z atomem azotu w położeniu „beta” względem pierścienia arylowego w terminalnych laktamach w porównaniu do ich analogów, gdzie amidowy atom azotu był w położeniu „alfa”,
- z ugrupowaniem imidowym w porównaniu do połączeń amidowych.

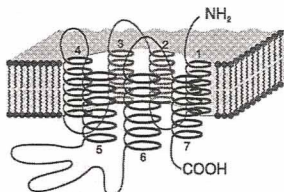
Z badań ligandów *in vivo* wynika, że w wielu przypadkach nie obserwuje się oczekiwanego efektu behawioralnego. Wiązać to należy z faktem, że poddawany testom ligand napotyka w ustroju szczura na bariery związane z jego transportem lub że przed dotarciem do receptora ulega metabolizmowi do innych (nieaktywnych) połączeń, lub w końcu, że jego struktura przestrzenna nie przyjmuje konformacji aktywnej.

## Budowa receptora serotoninowego

Aby zrozumieć i przybliżyć naturę oddziaływań, które mają wpływ na powinowactwo ligandów do receptorów serotoninowych, trzeba wiedzieć, że receptory te należą do receptorów związanych z białkiem G; określa się je mianem receptorów błonowych, gdyż są one zlokalizowane w błonach komórkowych [27] (Rys. 3). Informacje o ich strukturze są ciągle ograniczone. Znana jest zazwyczaj ich pierwszorzędowa struktura, którą dla receptorów 5-HT<sub>1A</sub> tworzy 422 aminokwasów i jest ona taka sama zarówno u człowieka, jak i u szczura.

Chociaż pełna struktura receptora jest nieznaną, to jednak pewne elementy jego budowy, określające sposób ułożenia w błonie komórkowej, zostały już udokumentowane

doświadczalnie, głównie przy pomocy wysokorozdzielczej kriomikroskopii elektronowej [28, 29]. W dużym uproszczeniu – hydrofobowa część białka receptora przenika kilkakrotnie błonę komórkową, tworząc 7 transmembranowych helis, a jej hydrofilowa część pozostaje na zewnątrz. Grupie karboksylowej z reszty kwasu asparaginowego znajdującego na 3 helisie, przypisuje się kluczową rolę w mechanizmie oddziaływania ligand-receptor, a jego pierwszym etapem jest wytworzenie wiązania jonowego z protonowanym atomem azotu liganda. W następstwie utworzenia kompleksu aktywnego występują lokalne zaburzenia konformacyjne receptora, które są przenoszone na białko G, co w konsekwencji wpływa na aktywność wewnętrzną.



Rys. 3. Schemat rozlokowania receptora 5-HT<sub>1A</sub> w błonie komórkowej [27]

Przewidywanie właściwości danego związku chemicznego, czy też zadanie przeciwnie, zaprojektowanie związku posiadającego określone właściwości, opiera się na założeniu, że budowa przestrzenna cząsteczki determinuje jej efekt biologiczny. W przypadku ligandów z grupy arylopiperazyn istotnymi elementami strukturalnymi, które określają ich „aktywną formę” są:

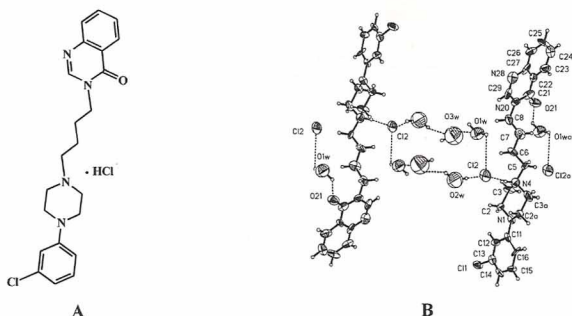
- atom (atomy) odpowiedzialny za tworzenie wiązania jonowego ligand/receptor,
- położenie (planarne, koplanarne bądź pośrednie) grupy arylowej względem płaszczyzny pierścienia piperazynowego,
- struktura (zgięta bądź rozciągnięta) łańcucha alkilowego,
- rodzaj (budowa) terminalnego amidu (imidu) oraz podstawnika arylowego we fragmencie arylopiperazynowym cząsteczki.

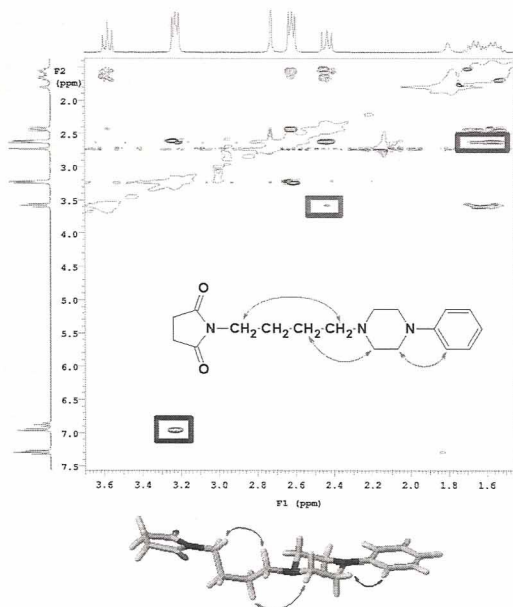
## Badania krystalograficzne

Jedną z metod określenia przestrzennej budowy związku jest metoda krystalograficzna. Należy jednak pamiętać, że metoda dyfrakcyjna monokryształu (krystalograficzna) pozwala na ustalenie jednej z konformacji analizowanej substancji, która niekoniecznie musi być zgodna z konformacją dominującą w innym stanie skupienia. W wielu przypadkach ten sam związek może występować w różnych formach (polimorfizm), a zmiana warunków krystalizacji prowadzi do inaczej uporządkowanych cząsteczek (inna symetria kryształu) lub innego rozłożenia atomów (np. inny tautomer). Stąd też uzyskane z tej metody wyniki jedynie zbliżają nas do ustalenia „aktywnej formy” liganda przy założeniu, że konformacja krystalograficzna jest podobna do konformacji jej „aktywnej formy”.

Z przedstawionego na Rys. 4 monokryształu jednego z syntezowanych połączeń w formie chlorowodoru wynika, że:

- w wiązaniu jonowym (wodorowym) uczestniczy atom azotu N-4 pierścienia piperazynowego, którego zasadowość jest większa od atomu azotu związanego z pierścieniem arylowym,
- łańcuch butylowy posiada rozciągniętą konformację *trans-trans-trans-trans*,
- pierścień aryłowy arylopiperazyny oraz układ chinazolinonu są względem siebie prawie koplanarne,
- dodatkowo, co nie ma bezpośredniego wpływu na „aktywną formę” cząsteczki, analizowany ligand krystalizuje z trzema cząsteczkami wody.





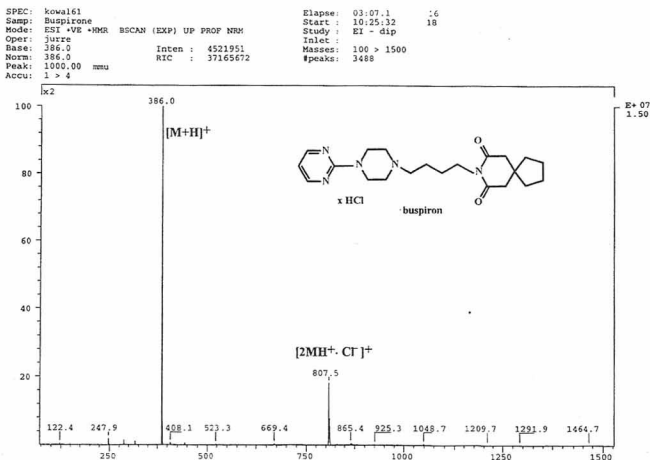
**Rys. 5.** Dwuwymiarowe widmo (2D NOESY) *o*-metoksyfenylopiperazynylobutyłowej pochodnej imidu kwasu bursztynowego w formie zasady w CDCl<sub>3</sub> [31]

W widmie NMR liganda strukturalnie zbliżonego do analizowanego powyżej (chlorowodorek *o*-metoksyfenylopiperazynylobutyłowej pochodnej imidu kwasu bursztynowego) oddziaływań takich nie obserwuje się, co sugeruje inną jego konformację, którą charakteryzuje „rozciągnięty” łańcuch alkilowy oraz „skręcone” położenie pierścienia aryłowego względem płaszczyzny pierścienia piperazynowego.

## Widma masowe +ES

Kolejną metodą określenia struktury liganda w jego „aktywnej formie” jest metoda bazująca na wynikach uzyskanych z pomiarów ESI-MS. Technikę „electrospray” (ES), nazywaną miękką techniką jonizacji, stosuje się głównie do wyznaczenia mas cząsteczkowych substancji nawet do kilku tysięcy Da, co ma duże znaczenie przy ustalaniu struktury białek. Technika ta pozwala także na ustalenie budowy związków, które tworzą niekowalencyjne kompleksy w wyniku oddziaływań jonowych [32, 33].

Widma masowe zsyntezowanych ligandów, wykonane w dodatniej jonizacji (+ES), dowodzą, że widma ligandów w formie zasady są różne od ich widm w formie chlorowodoroków. W widmach masowych ligandów w formie zasady, bez względu na ich budowę, obserwuje się jedynie jony odpowiadające ich nominalnym masom cząsteczkowym ( $MH^+$ ). W widmach ligandów w formie chlorowodoroków zauważono, że w niektórych przypadkach detektuje się również jony, o masach zdecydowanie większych od ich mas cząsteczkowych. I tak np. w widmie buspironu (Rys. 6) oprócz jonu  $MH^+$  ( $m/z$  386), odpowiadającemu masie cząsteczkowej zasady buspironu, obecny jest jon o  $m/z$  807. Na podstawie analizy widma kolizyjnego (MS/MS) oraz intensywności względnej pików izotopowych jonu o  $m/z$  807 ustalono, że w skład tego jonu wchodzi jeden atom chloru oraz że masa 807 odpowiada jonowi kompleksowemu o składzie  $2(MH)^+Cl^-$ . Naturę tworzenia się takich jonów wiązano z możliwością występowania wiązania jonowego pomiędzy dwoma sprotonowanymi zasadami buspironu ( $MH^+$ ) a anionem  $Cl^-$ . Nie wszystkie jednak analizowane ligandy w formie chlorowodoroków tworzyły takie kompleksy. Z przedstawionych w Tabeli 1 przykładów wynika, że ligandy z czterowęglowym łańcuchem alifatycznym tworzyły kompleksy, w odróżnieniu od połączeń z łańcuchem węglowym o trzech atomach węgla. Z wykonanych pomiarów wynika również, że skład (masa) kompleksu nie zależy od tego, czy cząsteczka jest mono-, czy dichlorowodorokiem, jak również od warunków wykonania analizy, tj. rodzaju rozpuszczalnika zastosowanego w pomiarze. Takie same bowiem kompleksy obserwowano w metanolu jako rozpuszczalniku jak również w jego mieszaninie z wodą czy acetonitrylem.

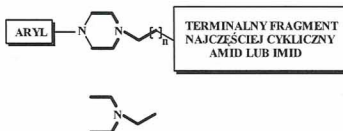


Rys. 6. Widmo masowe (+ES) chlorowodoroku buspironu

Efekt tworzenia lub nietworzenia kompleksów przez analizowane ligandy w formie chlorowodorków wiązano w głównej mierze z efektami sterycznymi wywołanymi przez obecny w cząsteczce układ amidowy (imidowy) związany z krótszym (trójczłonowym) lub dłuższym (czteroczłonowym) łańcuchem alkilowym. Aczkolwiek efektu tworzenia kompleksów nie należy przekładać wprost na efekt wiązalności do receptorów badanych ligandów, daje się jednak zauważyć, że ligandy „czterowęglowe” wiążą się lepiej od ich analogów „trójwęglowych” (Tabela 1), co można tłumaczyć tym, że efekty, które determinują obserwację zjawisk w widmach ESI-MS badanych ligandów mogą wywierać również pewien wpływ na ich zróżnicowanie powinowactwo do receptorów.

Z prezentowanych powyżej badań krystalograficznych wynika, że wodór (proton) wiąże się w ligandzie z atomem azotu N-4 piperazyny i taką też strukturę ma prawdopodobnie fragment  $MH^+$  w kompleksie  $2(MH)^+Cl^-$  obserwowanym w widmie masowym. Mając na uwadze fakt, że rdzeń alkiloarylopiperazyny w ligandach można odnieść do trietyloaminy oraz że sole (HCl, HBr, HI) trietyloaminy tworzą kompleksy o identycznych składach jak chlorowodorki ligandów, wpływ i rodzaj wiązania jonowego na strukturę i efekt stabilizacji kompleksów  $2(MH)^+Cl^-$  w ligandach odniesiono do analiz wykonanych dla chlorowodorku trietyloaminy. Z wykonanych obliczeń (DFT) wartości ciepła tworzenia strukturalnie różnych kompleksów  $2(MH)^+Cl^-$  chlorowodorku trietyloaminy (Tabela 2) wynika, że najniższą energię posiada kompleks z zaangażowanymi dwoma wiązaniami wodorowymi w cząsteczce (**1a**) w porównaniu do struktur o innym oddziaływaniu jonowym [26].

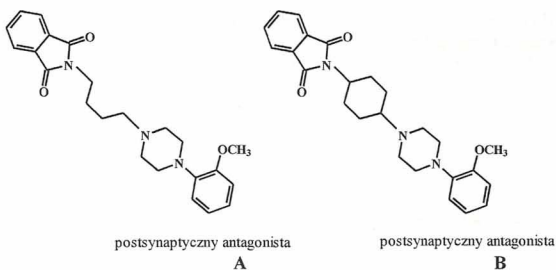
**Tabela 2.** Wartości ciepła tworzenia strukturalnie różnych kompleksów  $2(MH)^+Cl^-$  chlorowodorku trietyloaminy obliczone metodą DFT [26]



|           | Struktura kompleksu |  | $\Delta H$ [kcal/mol] |
|-----------|---------------------|--|-----------------------|
| <b>Ia</b> |                     |  | -34.408               |
| <b>Ib</b> |                     |  | -24.588               |
| <b>Ic</b> |                     |  | -11.276               |

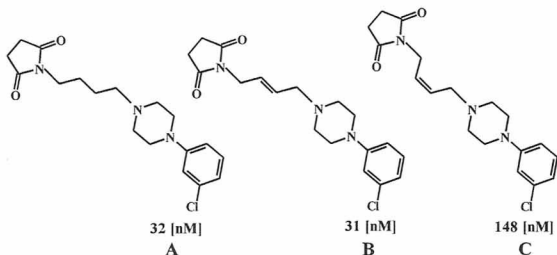
## Konformacje giętkkie i usztywnione

Do najnowszych badań, które zbliżają nas do oznaczenia konfiguracji cząsteczki o określonym profilu działania, są badania na związkach o ograniczonej swobodzie konformacyjnej łańcucha węglowodorowego, łączącego amid (imid) z arylopiperazyną. Na Rys. 7 przedstawiono ligand z łańcuchem butylovym (**A**) oraz jego strukturalny analog z pierścieniem cykloheksylowym (**B**), w których ilości atomów węgla dzielące ugrupowanie imidowe od arylopiperazynowego są takie same i wynoszą cztery atomy. Postsynaptyczny antagonizm obserwowany dla obydwu połączeń sugeruje, że konformacją wywołującą ten efekt przez ligand **A** jest jego konformacja „zgięta”, zbliżona strukturalnie do **B**.



**Rys. 7.** Właściwości behawioralne strukturalnie zbliżonych ligandów **A** i **B**

Natomiast badania wiązalności do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> liganda z łańcuchem butylovym (**A**) (Rys. 8) i jego strukturalnych analogów „trans” (**B**) i „cis” (**C**) sugerują, że dobry efekt wiązalności liganda **A** (32 nM) wywołany jest przez jego konformację „rozciągniętą”, zbliżoną do struktury „trans” (**B**) (31 nM). Badania nad zależnością konformacja–aktywność ligandów receptorów 5-HT<sub>1A</sub> są przedmiotem realizowanego obecnie grantu, przyjętego do finansowania przez KBN w latach 2002–2004 (nr rej. 3 P05F 012 23).

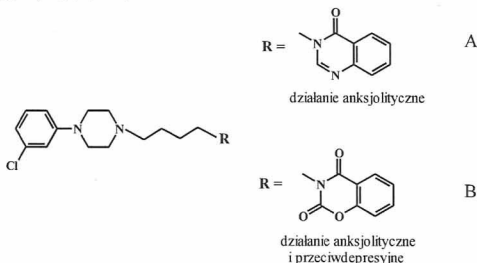


**Rys. 8.** Wiązalność do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> strukturalnie zbliżonych ligandów **A**, **B** i **C**

## Podsumowanie

Przedstawione w pracy metody i sposoby ustalenia „aktywnej formy” arylopiperazynowych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT<sub>1A</sub> w wielu przypadkach dają niejednoznaczne, a czasami wręcz sprzeczne wyniki. Problemy w ustaleniu „aktywnej formy” ligandów z tej grupy związków są przedmiotem wielu prac naukowych, o czym szeroko traktuje praca przeglądowa López-Rodríguez [1]. Głównym problemem, jaki napotyka się w tym przypadku, jest brak wiedzy o strukturze 3D receptora 5-HT<sub>1A</sub>.

Aczkolwiek celem naszych badań nie było znalezienie nowego leku, badania behawioralne na szczurach wybranych związków pozwoliły ustalić, że np. *m*-chlorofenylpiperazynylobutylowa pochodna chinazolinonu (A) posiada działanie przeciwlękowe zbliżone do diazepamu [20], a pochodna benzoksazynonu (B) działanie przeciwlękowe i przeciwdepresyjne [16] (Rys. 9).



Rys. 9. Aktywność farmakologiczna wybranych ligandów [16,20]

## Podziękowanie

Dziękuję Panu doktorowi Andrzejowi J. Bojarskiemu za pomoc i cenne wskazówki udzielone mi podczas opracowywania publikacji.

## Literatura źródłowa

1. M. L. López-Rodríguez, D. Ayala, B. Benhamú, M.J. Morcill, A. Viso, *Current Med. Chem.*, 2002, **9**, 443.
2. S.J. Peroutka, *Serotonin Receptor Subtypes: Basic and Clinical Aspects*, John Wiley and Sons, New York 1991.
3. J.L. Herndon, R. A. Glennon, In *Drug Design for Neuroscience*; A.P. Kozikowski, Ed.; Raven, New York 1993.
4. H.G. Baumgarten, M. Gother, *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS, Handb. Exp. Pharm.*, vol. 129; Springer-Verlag, Berlin 1997.
5. E. Chojnacka-Wójcik, *Wiad. Chem.*, 2001, **55**, 751.
6. W.C. Brawn, M.J. Rand, *Textbook of Pharmacology*, Blackwell Scientific, Oxford 1980.

7. C. Mazuki, M. Spatz, Y. Ueki, I. Nagatsu, J. Bembry, *Neurochem.*, 1984, **43**, 316.
8. M.J. Owens, C.B. Nemeroff, *Clinical Chem.*, 1994, **40**, 288.
9. K.I. Nathan, D.L. Musselman, A.F. Schatzberg, C.B. Nemeroff, *Biology of Mood Disorder*, APA, Washington 1995.
10. J.J. Mann, D.J. Kupfer, *Biology of Depressive Disorder: Parts A and B*, Plenum Press, 1993.
11. J. Bockaert, A. Dumuis, R. Bouhelal, M. Sebben, R. N. Cory, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm.*, 1987, **335**, 588.
12. B. Fulton, R. N. Brodgen, *CNS Drugs*, 1997, **7**, 68.
13. M.F. Hibert, I. McDermott, D.N. Middlemiss, A.K. Mir, J.R. Fozard, *Eur. J. Med. Chem.*, 1989, **24**, 31.
14. M.J. Mokrosz, J.L. Mokrosz, B. Duszyńska, A. Dereń-Wesołek, A. Kłodzińska, P. Kowalski, S. Charakchieva-Minol, E. Tatarczyńska, T. Kowalska, Z. Majka, E. Chojnacka-Wójcik, S. Misztal, *Pharmazie*, 1997, **52**, 423.
15. M.J. Mokrosz, P. Kowalski, T. Kowalska, Z. Majka, B. Duszyńska, S. Charakchieva-Minol, A. Szaro, E. Tatarczyńska, E. Chojnacka-Wójcik, *Pol.J.Pharmacol.*, 1998, **50**, 333.
16. M.J. Mokrosz, P. Kowalski, T. Kowalska, Z. Majka, B. Duszyńska, A.J. Bojarski, A. Fruziński, J. Karolak-Wojciechowska, A. Wesołowska, A. Kłodzińska, E. Tatarczyńska, E. Chojnacka-Wójcik, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 1999, **332**, 373.
17. P. Kowalski, M. J. Mokrosz, Z. Majka, T. Kowalska, B. Duszyńska, *J.Heterocyclic Chem.*, 2000, **37**, 187.
18. M.J. Mokrosz, S. Charakchieva-Minol, P. Kowalski, *Arch.Pharm.(Weinheim)*, 2001, **334**, 25.
19. P. Kowalski, T. Kowalska, M. J. Mokrosz, A. J. Bojarski, S. Charakchieva-Minol, *Molecules*, 2001, **6**, 784.
20. A.J. Bojarski, P. Kowalski, T. Kowalska, B. Duszyńska, S. Charakchieva-Minol, E. Tatarczyńska, A. Kłodzińska, E. Chojnacka-Wójcik, *Bioorg.Med.Chem.*, 2002, **10**, 3817.
21. A.J. Bojarski, M.T. Cegła, S. Charakchieva-Minol, M.J. Mokrosz, M. Maćkowiak, S. Misztal, J.L. Mokrosz, *Pharmazie*, 1993, **48**, 289.
22. A. Fletcher, I.A. Cliffe, C.T. Dourish, *Trends Pharmacol. Sci.*, 1993, **14**, 441.
23. R.J. Blanchard, J.K. Shepherd, J. Armstrong, S.F. Tsuda, D.C. Blanchard, *Psychopharmacology (Berl.)*, 1993, **112**, 55.
24. M.L. López-Rodríguez, M.J. Morcillo, M.L. Rosado, B. Benhamú, A.M. Sanz, *Bioorg. Med. Chem.*, 1996, **6**, 689.
25. P. Kowalski, P. Suder, T. Kowalska, J. Silberring, B. Duszyńska, A.J. Bojarski, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2003, **17**, 2139.
26. A.J. Bojarski, P. Kowalski, P. Suder, T. Kowalska, J. Sikorska-Jarosz, J. Silberring, B. Duszyńska, M. Nowak, *Ann. Pol. Chem. Soc.*, 2003, **2**, 13.
27. J.L. Mokrosz, Modelowanie cząsteczkowe w chemii leków, III Krakowska Konferencja Chemii Leków, Kraków 1995.
28. R.B. Westkaemper, R.A. Glennon, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1991, **40**, 1019.

29. F.G. Boess, I.L. Martin, *Neuropharmacology*, 1994, **33**, 275.
30. J. Karolak-Wojciechowska, A. Fruziński, T. Kowalska, P. Kowalski, *Z. Kristallogr. NCS*, 2003, **218**, 191.
31. M. Żylewski, M.T. Cegła, P. Kowalski, T. Kowalska, M. Paluchowska, R. Bugno, A.J. Bojarski, Polish-Austrian-German-Hungarian-Italian Joint Meeting on Medicinal Chemistry, Kraków, October 2003, Session A, Poster 31; Book of Abstract 65.
32. J.A. Loo, *Mass Specrom. Rev.*, 1997, **16**, 1.
33. R. Bakhtiar, C.E. Hop, *J. Phys. Org. Chem.*, 1999, **12**, 511.

Piotr Kowalski

## ARYLPIPERAZINES – LIGANDS OF SEROTONIN RECEPTORS 5-HT<sub>1A</sub>

**Abstract:** Arylpiperazines belong to one of the groups of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands. Serotonin (5-hydroxytryptamine), is a neurotransmitter which plays an important role in the Central Nervous System. Structure-activity relationship studies of synthesized serotonin receptor ligands are based on results of *in vitro* and *in vivo* activities. *In vitro* activity, the most important source of the information, is the measure of ligands affinity for a target receptor, evaluated in the displacement experiments with specific radioligands (e.g. [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT for 5-HT<sub>1A</sub> sites). Based on the *in vitro* results, selected ligands (with affinity up to 50 nM) are tested *in vivo* in mice and rats, what allows their functional characteristics (agonistic and antagonistic properties) at pre- and postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors.

The understanding of the mechanism of ligand-receptor interaction at the molecular level requires the knowledge about ligand's bioactive conformation, 3-dimensional structure of the receptor and ligand-receptor complex. Although the 3-dimensional structure of the receptor, and its complex with ligand are still unknown, mutagenic experiments provided some information about possible mode of ligand-receptor interactions. Generally, the present state of science in this field allows us to form the hypothetical models only.

Buspirone is one of the most thoroughly investigated 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligand, which possesses a high affinity and selectivity for the other subtypes of serotonin receptors. Thus, a majority of the new ligands, synthesized in our laboratory were based on the buspirone structure. Activity of those compounds was evaluated in *in vitro* and *in vivo* tests. The 3-dimensional structures in solid state were obtained from the crystallographic data, whereas NMR methods were used to study conformations in the solution. The steric effects that may be important for the ligands affinity were analyzed using ESI-MS. Recently, ligands with the limited conformational freedom were synthesized and pharmacologically evaluated. Ligands of this type are important tools for modeling ligand-receptor interactions.