

## Samenvatting

Een belangrijke onderzoekslijn binnen de werkgroep Farmacochemie is de bestudering van de relatie tussen de structuur en de activiteit (SAR) van verbindingen die werkzaam zijn op het centrale zenuwstelsel. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift spitst zich vooral toe op de synthese en farmacologische evaluatie van verbindingen werkzaam op het dopaminerge en serotonerge systeem. Dopamine is een belangrijke neurotransmitter in de hersenen. De pathofysiologie van een aantal ziektebeelden wordt in verband gebracht met afwijkingen in het functioneren van het dopaminerge systeem. Farmaca met dopaminerge activiteit zouden toepassing kunnen vinden bij de ziekte van Parkinson, schizofrenie, endocrinische storingen en hypertensie. De op de markt zijnde middelen voor de behandeling van deze ziekte van Parkinson, zoals L-DOPA, veroorzaken diverse ongewenste neveneffecten en er bestaat dan ook een grote behoefte aan nieuwe dopamine agonisten. Van het serotonerge systeem is bekend dat het betrokken is bij o.a. angst, agressie, stress, depressief en seksueel gedrag en bij het reguleren van de lichaamstemperatuur.

De hoofdstukken 1 en 2 geven de noodzakelijke achtergrondinformatie voor de hoofdstukken 3 tot en met 9. Hoofdstuk 1 kan opgedeeld worden in drie onderdelen. In het eerste deel wordt een inleiding gegeven over de structuur en werking van met G-eiwit gekoppelde receptoren. Deze G-eiwitten zijn betrokken bij de signaaloverdracht van de receptor naar de "second messengers". De receptoren die met deze G-eiwitten gekoppeld zijn blijken alle zeven transmembrane helices te bezitten en blijken vooral in deze transmembrane gebieden een opmerkelijke gelijkenis te vertonen wat betreft de aminozuurvolgorde. De overeenkomst is het grootst tussen subtypes van eenzelfde receptor. De 5-HT<sub>1A</sub> receptor vormt echter een uitzondering. Deze receptor heeft een grotere gelijkenis met dopaminerge en adrenerge receptoren dan met andere serotonerge subtypes. Het tweede deel behandelt dopamine, het dopaminerge systeem, de pathologie en geeft een overzicht van de tot nu toe geïsoleerde dopamine receptoren. Het derde deel behandelt hetzelfde voor de serotonine receptoren.

Hoofdstuk 2 geeft een verhandeling over de structuur-activiteit relaties van dopamine en serotonine agonisten. Dit overzicht is beperkt tot de 2-aminotetralines en daaraan gerelateerde verbindingen. Het receptormodel van McDermed, de basis voor de ontwikkeling van de meeste in deze dissertatie beschreven verbindingen, wordt besproken en vergeleken met andere in de literatuur verschenen receptormodellen.

Hoofdstuk 3 beschrijft de synthese en de farmacologische effecten van mono- en di-gehydroxyleerde N-methyl-N-propargylaminotetralines. De verbindingen bezitten

zowel dopamine agonistische als monoamine oxidase (MAO) inhiberende activiteiten. De MAO remmende activiteiten domineren vooral in de monohydroxy-verbindingen, terwijl de catecholen de potentere dopamine agonisten zijn. De 5,6-dihydroxy isomeer heeft in verschillende modellen een activiteit vergelijkbaar met apomorfine, een dopamine agonist die herontdekt is en tesamen met de perifeer werkzame dopamine antagonist domperidon opnieuw klinisch toegepast wordt in relatie met de ziekte van Parkinson. De verbinding is vooral effectief tijdens de "off" perioden. Een andere verbinding vooral toegepast bij "nieuwe" Parkinson patiënten is de selectieve MAO-B remmer Selligiline®. Daar bij Parkinson patiënten niet alleen het dopamineniveau, maar ook de concentraties van andere neurotransmitters zoals serotonine en noradrenaline verlaagd zijn, kan een verbinding die tevens de concentraties van deze neurotransmitters verhoogt klinisch interessant zijn. Het 5,6-dihydroxy-2-(N-methyl-N-propargylamino)tetraline combineert zowel dopamine-agonistische en MAO-A/B-remmende activiteiten in één en hetzelfde molecuul en kan aan deze eigenschappen voldoen.

In hoofdstuk 4 wordt dit principe van twee activiteiten in een molecuul toegepast op een derivaat van het 8-OH-DPAT, het prototype van een 5-HT<sub>1A</sub> agonist. Daarvoor is het 8-hydroxy-2-(N-methyl-N-propargylamino)tetraline gesynthetiseerd. Met de microdialyse-techniek is het effect van deze verbinding in het striatale systeem getest. Na i.p. toediening veroorzaakte deze verbinding een verhoging in de afgifte van serotonine en in iets mindere mate van dopamine, terwijl de afgifte van de metabolieten DOPAC en 5-HIAA sterk afnam. Dit patroon is vergelijkbaar met dat van de MAO-A remmer clorgyline. Er heeft echter een verschuiving plaats gevonden ten gunste van de remming van de neurotransmitter serotonine. De verbinding geeft het serotonine syndroom en is dus nog steeds een 5-HT<sub>1A</sub> agonist. Ook de affiniteit voor de 5-HT<sub>1A</sub> bindingsplaatsen is hoog (10 nM). De verbinding kan evenals clorgyline van nut zijn in studies naar de bruikbaarheid van MAO-remmers tijdens depressies.

Hoofdstuk 5 beschrijft de 8-staps synthese en de farmacologische evaluatie van de tricyclische 4-propyl-hexahydronaftoxazines (PHNO). Deze moleculen bevatten het dopamine deel in een starre conformatie. Het 9-OH-PHNO blijkt één van de potentste dopamine D<sub>2</sub> agonisten te zijn die ooit gemaakt is. De verbinding is bovendien selectief en heeft bijna geen affiniteit voor serotonerge en adrenerge receptoren.

De resolutie van het 9-OH-PHNO is beschreven in hoofdstuk 6. De resolutie is uitgevoerd op het secundaire amine en met het phencyphos en het chlocyphos als splitsingsreagentia. Een kristallisatie was voldoende om optisch zuivere producten te verkrijgen. Na testen van de beide enantiomeren in het microdialyse-model, bleek de (+)-enantiomeer voornamelijk de D<sub>2</sub> activiteit te bevatten. Het (+)-PHNO heeft de klinische fase bereikt, maar door toxische eigenschappen is het onderzoek in deze fase

stopgezet.

**Hoofdstuk 7** beschrijft in de hexahydronaftoxazines de isostere vervanging van een methyleengroep door een zuurstofatoom. Deze verbindingen, de tetrahydrobenzopyranoxazines, vertonen echter een onverwacht lage activiteit. Deze lage activiteit was niet verwacht, daar de verbindingen qua structuur namelijk een bijzonder grote overeenkomst met het PHNO bezitten. Het meten van de verdelingscoëfficiënten toonde bovendien aan dat de verbindingen voldoende lipofiel zijn om de bloed-hersen-barrière te passeren. De gevonden waarden voor de ionisatieconstante ( $pK_a$ ) van het stikstofatoom geven aan dat er een correlatie bestaat tussen de dopaminerge activiteit en deze  $pK_a$  waarden. De conclusie van dit onderzoek is dat dopaminerge agonisten in de geprotoneerde vorm de receptor activeren. Door de verlaagde intrinsieke activiteit is de verbinding echter selectief geworden voor de meer gevoelige dopamine-autoreceptoren. Verlaging van de  $pK_a$ -waarde is dus een bruikbare methode om de selectiviteit voor DA autoreceptoren te vergroten.

In **hoofdstuk 8** wordt een bruikbare 1-staps reactie beschreven voor de chlorering van 5-hydroxy-2-aminotetralines. Met behulp van het chloreringsreagens 2,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexadienone wordt selectief de para-isomeer verkregen. Hoewel de regioselectiviteit van de reactie erg hoog is, wordt een niet verwachte isomeer verkregen. Verder worden de mogelijkheden en de beperkingen van deze reactie besproken. Tenslotte wordt er een voorstel gedaan voor het reactiemechanisme van deze chlorerings reactie. Het mechanisme is speculatief. Volgens het voorgestelde mechanisme verloopt de chlorering via de vorming van een lage steady-state concentratie van moleculair chloor. Verder lijkt het polaire oplosmiddel een grote invloed te hebben op deze selectiviteit.

**Hoofdstuk 9** beschrijft de farmacologische evaluatie van de para gechloroerde dialkylaminotetralines. De invloed van deze kleine veranderingen in de structuur op de biologische activiteit is aanzienlijk. De gechloroerde verbindingen vertonen een afgenomen affiniteit voor de  $D_1$  en de  $D_2$  receptor vergeleken met de niet gechloroerde verbindingen. In het hersen-microdialyse-model is vooral het resultaat verkregen met het 8-Cl-N-0434 opmerkelijk. In dit presynaptische model gedraagt het N-0434 zich als een potente  $D_2$  agonist terwijl het 8-Cl-N-0434 een DA antagonist blijkt te zijn. De scheiding van de verbindingen in hun optische antipoden is ook in dit hoofdstuk beschreven. Deze enantiomeren zijn getest in het microdialyse-model. We hebben gevonden dat het (R)-(+)-8Cl-N-0434 de antagonistische activiteit bezit, terwijl de (S)-(-)-enantiomeer een lagere agonistische activiteit heeft dan het N-0434 op de DA autoreceptoren. Verder zijn de gechloroerde verbindingen en hun enantiomeren getest op hun affiniteit voor de  $5-HT_{1A}$  receptor. De gechloroerde verbindingen blijken alle

een aanzienlijke affiniteit te bezitten voor de 5-HT<sub>1A</sub> receptor. Het is opmerkelijk dat de affiniteit van de enantiomeren niet significant verschillend is. Alleen in het geval 8-Cl-N-0434 is er een verschil in affiniteit waargenomen. De verschuiving van affiniteit voor de dopamine-receptor naar affiniteit voor de 5-HT<sub>1A</sub> receptor is verrassend. Blijkbaar is de aanwezigheid, in de 8-positie van de 2-aminotetralines, van een groep die een waterstofbrug kan aangaan met bijvoorbeeld een threonine-residu, voldoende om affiniteit voor dit receptor subtype te verkrijgen. De conclusie van dit hoofdstuk is dan ook dat er een delicaat evenwicht blijkt te bestaan tussen de affiniteit van de verbindingen voor dopamine D<sub>2</sub> receptor en de 5-HT<sub>1A</sub> receptor. Op zich is dit niet verwonderlijk gezien de grote gelijkheid tussen deze receptoren wat betreft de structuur en de aminozuurvolgorde.