

3 Pharmakologischer Teil

3.1 Allgemeine Angaben und Definitionen der pharmakologischen Parameter

HABERMANN^[404] hat *Pharmakologie* als eine „trickreiche Anwendung des Massenwirkungsgesetzes“ charakterisiert. Insofern kann die Bestimmung der Bindungs- oder Affinitätskonstanten neuer Wirkstoffe für Neurotransmitter-Rezeptoren auch als physikalisch-chemisches Experiment angesehen werden, ähnlich der Ermittlung einer Säurekonstanten. Augenfälliger Unterschied zu derartigen Experimenten ist die Verwendung *in vitro* überlebender Organe oder Zellverbände als wesentlicher Bestandteil der Messapparatur. Dies erfordert hinsichtlich der Interpretation der Versuchsergebnisse eine besonders sorgfältige Berücksichtigung der biologischen Variabilität von Individuen und individuellen Organpräparationen und damit eine intensive Betrachtung statistischer Aspekte.

Konzentrationsangaben für Wirkstoffe sind auf Stoffmengen bezogen ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Die Angabe von Gleichgewichtskonstanten (Wirkstoff-Rezeptor-Dissoziationskonstanten) und Stoffmengenkonzentrationen erfolgt zum Teil in logarithmischer Form (e.g. $\text{pK} = -\log_{10} K$ oder $-\log_{10} c(5\text{-HT}) = 7$ für $c(5\text{-HT}) = 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$). In Anlehnung an Empfehlungen der IUPHAR^[405] werden Referenzsubstanzen und neu dargestellte Wirkstoffe mit den in Tab. 3-1 erläuterten pharmakologischen Parametern charakterisiert.

Tab. 3-1. Definitionen der pharmakologischen Parameter nach Empfehlungen der IUPHAR [Lit. 405]

Agonisten, Partielle Agonisten	
EC_{50} $\text{pEC}_{50} = -\log_{10} EC_{50}$	Stoffmengenkonzentration des Agonisten, die 50 % des maximal möglichen Effektes (Kraftzunahme, -abnahme, Längenänderung, Frequenzänderung o.ä.) verursacht. EC_{50} ist nur für partielle Agonisten ein ungefähres Maß für die Agonist-Rezeptor-Dissoziationskonstante K_A . Durch das Phänomen der Rezeptorreserve ^[406] unterscheidet sich bei vollen Agonisten K_A und EC_{50} häufig beträchtlich ($K_A > EC_{50}$).
E_{max}	Maximal beobachteter Effekt eines (partiellen) Agonisten A, ausgedrückt in Prozent des maximal beobachteten Effektes eines vollen Referenzagonisten A_{Ref} am selben (oder gleichen) Präparat.
α intrinsische Aktivität	Maximal beobachteter Effekt eines (partiellen) Agonisten A, ausgedrückt in Relation zum maximal beobachteten Effekt eines vollen Referenzagonisten A_{Ref} am selben (oder gleichen) Präparat. Wird auch als <i>intrinsische Aktivität</i> bezeichnet.

$$\alpha = E_{\text{max}}(A) / E_{\text{max}}(A_{\text{Ref}})$$

Tab. 3-1. Definitionen der pharmakologischen Parameter (Fortsetzung)

Rel. Pot. Relative Potenz	Verhältnis der Konzentrationen von (partiell) Agonist A und Referenzagonist A_{Ref} , die jeweils 50 % des für beide Wirkstoffe maximal möglichen Effektes erzeugen ($10^{\Delta pEC_{50}}$).
$\text{Rel. Pot. (A)} = EC_{50}(A_{\text{Ref}}) / EC_{50}(A)$	
Partielle Agonisten	
K_P $pK_P = -\log_{10} K_P$	Scheinbare Dissoziationskonstante des Komplexes aus partiellem Agonist P und Rezeptor.
Antagonisten (kompetitive und nichtkompetitive)	
r (früher CR) concentration ratio	Verhältnis der Agonist-Konzentrationen $c(A)^*$ in <i>Anwesenheit</i> und $c(A)$ in <i>Abwesenheit</i> des Antagonisten B, die zur Erzielung des jeweiligen halbmaximalen Effektes notwendig sind [$EC_{50}(A)^*$ resp. $EC_{50}(A)$].
$r = EC_{50}(A)^* / EC_{50}(A)$	
„Apparent“ pA_2	Scheinbare Dissoziationskonstante des Antagonist-Rezeptor-Komplexes, ermittelt bei <i>einer</i> Konzentration des Antagonisten B, gemäß der Gleichung:
$pA_2 = -\log_{10} c(B) + \log_{10}(r - 1) \quad \text{mit } r = 10^{\Delta pEC_{50}}$	
„Full“ pA_2	Liegen für einen Antagonisten B experimentelle Daten über einen größeren Konzentrationsbereich vor (idealerweise ≥ 2 Zehnerpotenzen), so kann aus der graphischen Darstellung $\log(r - 1)$ gegen $-\log c(B)$ der pA_2 -Wert (Nullstelle der Ausgleichsgeraden des <i>Schild</i> -Plots) als Maß für die Rezeptoraffinität entnommen werden. ^[407] Ist die Steigung m der Ausgleichsgeraden nur zufällig von Eins verschieden, so wird $m = 1$ als Steigung festgelegt (kompetitiver Antagonismus).
pD'_2	Dient zur Charakterisierung von Antagonisten, die eine konzentrationsabhängige Depression der Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Referenzagonisten A verursachen (nichtkompetitiver Antagonismus, <i>insurmountable antagonism</i>). Die Berechnung erfolgt anhand der Maximaleffekte in <i>Abwesenheit</i> ($E_{\text{max}}(A) = 100\%$) und in <i>Anwesenheit</i> ($E_{\text{max}}(A)^*$) des Antagonisten B. ^[408]
$pD'_2 = -\log_{10} c(B) + \log_{10} [E_{\text{max}}(A) / E_{\text{max}}(A)^* - 1]$	

3.2 Funktionelle *in vitro*-Testmodelle

3.2.1 5-HT_{2A}-Rezeptor-Standardtestmodell: Isolierte Rattenschwanzarterie

Als Standardtestsystem zur pharmakologischen Charakterisierung der in dieser Arbeit entwickelten Liganden des 5-HT_{2A}-Rezeptors (vgl. Kap. 2, S. 33 – 133) diene das funktionelle *in vitro*-Testmodell der isolierten Rattenschwanzarterie. Das Organsegment, das 5-HT_{2A}-Rezeptoren in hoher Dichte aufweist, reagiert dabei auf Serotonin (5-HT) bzw. einen 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten mit einer optisch nicht wahrnehmbaren Kontraktion. Diese Kraft steigt abhängig von der zugegebenen Agonisten-Konzentration und erreicht schließlich einen Maximalwert, der auch bei weiterer Zugabe des Agonisten nicht weiter ansteigt ($\rightarrow \alpha, E_{max}$). Der Maximaleffekt des endogenen Rezeptoragonisten Serotonin wird willkürlich gleich 100 % gesetzt.

3.2.1.1 5-HT_{2A}-Agonismus-Experiment

Zur Bestimmung der **5-HT_{2A}-agonistischen** Aktivität der neu synthetisierten Verbindungen werden zylindrische Organsegmente von 3 – 4 mm Länge in Organbäder von 20 mL Fassungsvermögen eingehängt, die mit einer modifizierten *Krebs-Henseleit*-Lösung gefüllt sind. Die Lösung wird kontinuierlich mit O₂/CO₂ (95/5, V/V) begast und auf eine konstante Temperatur von 37 °C erwärmt. Nach Vorspannung und Vorstimulation der Präparate werden die Organbäder zunächst mit steigenden Konzentrationen von Serotonin versetzt. Bei dieser kumulativen Technik^[408a] wird die isometrische Kraftentwicklung (Kontraktion) in Abhängigkeit von der Zeit gemessen, bis der Maximaleffekt erreicht ist (siehe Abb. 3-1).

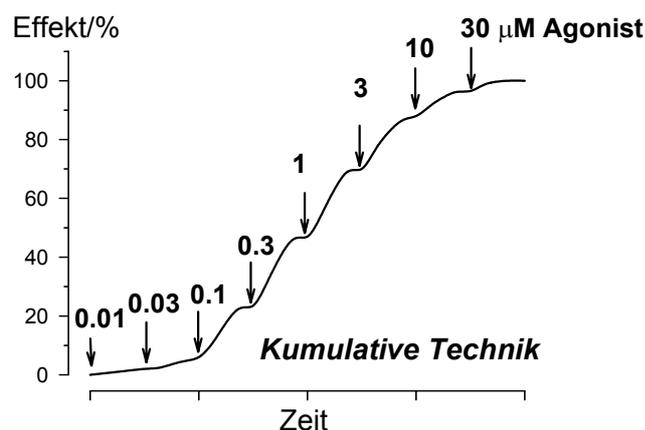


Abb. 3-1. Aufnahme der Zeit-Effekt-Kurve von Serotonin an der isolierten Rattenschwanzarterie in kumulativer Technik: Gemessen wird die Kraftentwicklung (isometrisch, d.h., ohne merkliche Längenänderung des Organs) in Abhängigkeit von der Zeit. Der Agonist (hier 5-HT) wird in steigenden Konzentrationen in das Organbad gegeben (0.01 – 30 µmol · L⁻¹, Markierung durch Pfeile). Es wird stets abgewartet bis das jeweilige Plateau erreicht ist, erst dann erfolgt die Zugabe der nächst höheren Konzentration. Bei 5-HT als Agonist wird das Plateau nach ca. 2 – 5 min erreicht (schnelle Kinetik), bei einigen der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten partiellen Agonisten wurde erheblich mehr Zeit benötigt (langsame Kinetik).

Die in Abb. 3-1 dargestellte Originalregistrierung wird in eine semilogarithmische Konzentrations-Effekt-Kurve überführt (ohne Abbildung). Die Kraft, mit der sich ein Organsegment bei Agonistenzugabe kontrahiert, wird in Prozent der an diesem Organ beobachteten maximalen Kraftzunahme angegeben. Jeder Punkt entspricht der nach Agonistenzugabe beobachteten Kraftzunahme (Plateau) gegenüber der basalen Kraft, die vor Erstellen der Konzentrations-Effekt-Kurve an dem selben Segment gemessen wurde. Nach der Aufnahme der ersten Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Referenzagonisten Serotonin („interner Standard“, Referenz-Kurve) folgt eine Spülung des Organbades (10 – 15 min) und eine kurze Ruhephase (10 min). Nach einer weiteren kurzen Spülung (2 – 3 min) werden eine zweite und eine dritte kumulative Kurve des (partiellen) Prüfagonisten erstellt. Die Aufnahme der dritten Kurve erfolgt in Gegenwart geeigneter Konzentrationen des selektiven 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonisten Ketanserin. Über das Verhältnis der Agonist-Konzentration $c(A)^*$ in Anwesenheit und $c(A)$ in Abwesenheit von Ketanserin, die zur Erzielung des jeweiligen halbmaximalen Effektes notwendig sind, und der Auftragung der Ergebnisse im *Schild-Plot*^[407] ergibt sich eine Regressionsgerade der Steigung Eins, deren Nullstelle den Wert des Affinitätsparameters pA_2 für Ketanserin angibt. Eine aus diesem Experiment ermittelte Rezeptor-Ligand-Dissoziationskonstante für Ketanserin im nanomolaren Konzentrationsbereich (0,3 – 1.0 nmol · L⁻¹) liefert schließlich den Beweis für einen 5-HT_{2A}-rezeptorvermittelten Effekt des untersuchten (partiellen) Prüfagonisten.

Wenigstens ein Organ wurde über die gesamte Versuchsdauer nur mit 5-HT behandelt (erste Kurve als Referenzkurve, zweite Kurve als Kontrollkurve), um zeitabhängige Änderungen hinsichtlich der Sensitivität der Organe im Laufe des Experiments zu registrieren, insbesondere bei langsam äquilibrierenden Substanzen (e.g. Phenylethylamin-Derivate), bei denen die Aufnahme der Konzentrations-Wirkungs-Kurve mehr als 60 min beträgt. Die gemittelte Linksverschiebung (Sensibilisierung des Organsegments) bzw. Rechtsverschiebung (Desensibilisierung) der 5-HT-Kontrollkurve wird anschließend bei der Bestimmung der pEC_{50} -Werte der Prüfagonisten berücksichtigt. Im Mittel wurde während der Agonisten-Experimente der Verbindungen vom Phenylalkylamin-Typ eine zeitabhängige Sensibilisierung der Organsegmente gegenüber Agonisten beobachtet (Linksverschiebung der 5-HT-Kontroll-Kurve um ca. 0.2 logarithmische Einheiten). Bei Experimenten mit Chinazolindion- und Indolyethylamin-Derivaten, die nur eine kurze Äquilibrierungsphase benötigen (schnelle Kinetik), spielten die oben erwähnten Phänomene keine Rolle.

Alle Experimente werden in ständiger Gegenwart des Uptakeblockers Cocain (6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und des α_1 -Adrenozeptorantagonisten Prazosin (30 nmol · L⁻¹) durchgeführt. Dabei verhindert Cocain die Aufnahme von Aminen in das Neuronalgewebe der Arterie (relativer Agonistenmangel am Rezeptor), und Prazosin blockiert kontraktile Effekte am Gefäß, die bei der Freisetzung von Katecholaminen aus dem Neuronalgewebe auftreten würden.

Zur Charakterisierung der untersuchten Agonisten wird aus mehreren Konzentrations-Wirkungs-Kurven (zweite Kurven) die für den halbmaximalen Effekt verantwortliche Konzentration EC_{50} bzw. deren negativer dekadischer Logarithmus pEC_{50} bestimmt (vgl. Tab. 3-1, S. 137). Die pEC_{50} -Werte werden angegeben als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (*SEM, standard error of the mean*) und sind bezüglich der registrierten Sensitivitätsveränderung der Organsegmente korrigiert. Die relative agonistische Aktivität (relative Potenz, *Rel. Pot.*) ergibt sich aus dem Quotienten der EC_{50} -Werte des Prüfagonisten (zweite Kurve) und des Referenzagonisten Serotonin (erste Kurve), bzw. aus der Rechts- oder Linksverschiebung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Prüfagonisten gegenüber der Referenzkurve für 5-HT (ΔpEC_{50}):

$$Rel. Pot. (A) = EC_{50}(5\text{-HT})/EC_{50}(A) \equiv 10^{\Delta pEC_{50}}$$

3.2.1.2 5-HT_{2A}-Antagonismus-Experiment

Zur Bestimmung der **5-HT_{2A}-antagonistischen** Aktivität von Verbindungen *ohne* intrinsische Aktivität (stiller Antagonist, $E_{max} = 0$) wird analog zum Agonisten-Experiment (Abschn. 3.2.1.1) zunächst eine kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Serotonin ($0.01 - 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) aufgenommen. Nach Spülung des Organbades werden weitere kumulative Kurven für 5-HT in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Prüfantagonisten im Abstand von *ca.* 60 min erstellt. Die Inkubationszeit der Antagonisten liegt in der Regel bei 30 min, sie kann jedoch in Einzelfällen – bei lang äquilibrierenden Verbindungen – auch mehr als 120 min betragen. Die Spülzeit zwischen den Aufnahmen der einzelnen Kurven beträgt mindestens 15 min. Alle Antagonisten-Experimente werden ebenfalls in Gegenwart des Uptakeblockers Cocain ($6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und des α_1 -Antagonisten Prazosin ($300 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) durchgeführt. Als Maß für die Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptor wird die scheinbare Antagonist-Dissoziations-Konstante ausgedrückt als pA_2 -Wert angegeben. Die pA_2 -Werte werden nach folgender Gleichung berechnet (vgl. Tab. 3-1, S. 137):

$$pA_2 = -\log_{10} c(B) + \log_{10}(r - 1) \quad \text{mit } r = 10^{\Delta pEC_{50}}$$

3.2.2 Weitere 5-HT_{2A}-Rezeptor-Testmodelle

Für das Chinazolindion-Derivat **169** und das Phenylethylamin **231** wurden die an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie erhaltenen pharmakologischen Ergebnisse zusätzlich durch *in vitro*-Untersuchungen an der Rattenaorta und Rattenjugularvene überprüft. Ähnlich wie beim Standardmodell der isolierten Rattenschwanzarterie wird auch beim Rattenaorta- sowie beim Jugularvenen-Testmodell eine isometrische Kraftzunahme (Kontraktion) in Abhängigkeit der zugegebenen Konzentration eines Agonisten in kumulativer Technik gemessen. Experimentelle Details sind der in Tab. 3-2 (S. 142) angegebenen Literatur zu entnehmen.

3.2.3 Testmodelle weiterer Neurotransmitter-Rezeptoren

Einige ausgewählte Wirkstoffe, die innerhalb ihrer Substanzklasse eine hohe 5-HT_{2A}-agonistische Aktivität aufweisen, wie das Chinazolindion **169**, das 2,5-Dimethoxyphenylethylamin **231** sowie das (Tetrahydrobenzodifuranyl)ethylamin **271**, wurden zudem an funktionellen *in vitro*-Testmodellen weiterer 5-HT-Rezeptoren und anderer Neurotransmitter-Rezeptoren hinsichtlich ihrer Rezeptorselektivität untersucht. Innerhalb der 5-HT-Rezeptorfamilie standen dabei Testmodelle für 5-HT_{1B}- (Meerschweinchen, Arteria iliaca), 5-HT₃- (Meerschweinchenileum) und 5-HT₄-Rezeptoren (Rattenösophagus) zur Verfügung. Desweiteren wurden Untersuchungen an Muskarin-M₃-Rezeptoren (Meerschweinchenileum), Histamin-H₁- (Meerschweinchenileum), Histamin-H₂- (Meerschweinchen, rechter Vorhof) und Histamin-H₃- (Meerschweinchenileum) sowie an α_{1D} - (Rattenaorta) und β_1 -Adrenozeptoren (Meerschweinchen, rechter Vorhof) durchgeführt. Eine Übersicht aller verwendeten funktionellen *in vitro*-Testmodelle gibt Tab. 3-2.

Tab. 3-2. Übersicht der verwendeten funktionellen *in vitro*-Testmodelle

Rezeptor	Spezies	Organ	gemessener Effekt	Lit.
5-HT _{2A}	Ratte	Schwanzarterie	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	[410]
	Ratte	Jugularvene	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	[59]
	Ratte	Thorakale Aorta	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	^{a)}
5-HT _{1B}	Meerschweinchen	Arteria iliaca	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	[410]
5-HT ₃	Meerschweinchen	Ileum	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	[409]
5-HT ₄	Ratte	Ösophagus	Relaxation (Kraft, isometrisch)	[409]
M ₃	Meerschweinchen	Ileum	Kontraktion (Weg, isotonisch)	[410]
H ₁	Meerschweinchen	Ileum	Kontraktion (Weg, isotonisch)	[410]
H ₂	Meerschweinchen	Rechter Vorhof	Frequenzzunahme (isometrisch)	[410]
H ₃	Meerschweinchen	Ileum	Relaxation (Kraft, isometrisch)	[410]
α_{1D}	Ratte	Thorakale Aorta	Kontraktion (Kraft, isometrisch)	[410]
β_1	Meerschweinchen	Rechter Vorhof	Frequenzzunahme (isometrisch)	[410]

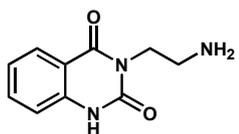
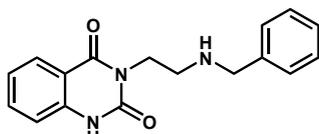
^{a)} adaptiert an das *in vitro*-Testmodell der Rattenschwanzarterie

3.3 Pharmakologische Ergebnisse und Diskussion der Struktur-Wirkungsbeziehungen

3.3.1 Pharmakologische Charakterisierung der Leitstrukturen **93** und **94**

Das vom selektiven 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonisten Ketanserin abgeleitete 3-(2-Aminoethyl)-2,4-(1*H*,3*H*)chinazolindion **93** und sein *N*-Benzyl-Analogon **94** dienen in der vorliegenden Arbeit als Leitstrukturen für die Entwicklung neuartiger 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten in der Substanzklasse der Chinazolindione. Im funktionellen *in vitro*-Testmodell der Rattenschwanzarterie (vgl. Abschn. 3.2.1, S. 139) zeichnen sich beide Verbindungen durch einen deutlichen Partialagonismus an vaskulären 5-HT_{2A}-Rezeptoren aus ($E_{max} = 46\%$ resp. 33%). Die Bindungsaffinität für das *N*-benzylierte Derivat **94** liegt dabei eine log-Einheit höher als für das unsubstituierte primäre Amin **93** ($pK_P = 4.97$ resp. 3.83).^[165,166] Bei den Chinazolindionen **93** und **94** handelt es sich um schwach wirksame 5-HT_{2A}-Rezeptorpartialagonisten, die im Vergleich zum Referenzagonisten Serotonin ($pEC_{50} = 7.00$) eine mehr als 650fach resp. 140fach geringere agonistische Aktivität aufweisen ($Rel. Pot. = 0.15$ resp. 0.7 bezogen auf $Rel. Pot._{(5-HT)} = 100$). Eine Übersicht der pharmakologischen Parameter von **93** und **94** gibt Tab. 3-3.

Tab. 3-3. Partieller 5-HT_{2A}-Rezeptoragonismus der Leitverbindungen **93** und **94** gemessen an Rezeptoren der Rattenschwanzarterie [Lit. 165, 166]

Verb.	$pEC_{50} \pm SEM$	Rel. Pot.	$E_{max} \pm SEM$	$pK_P \pm SEM$	N
93 	4.18 ± 0.09	0.15	46 ± 4	3.83 ± 0.11	10
94 	4.84 ± 0.06	0.70	33 ± 3	4.97 ± 0.04	12
5-HT (Referenzagonist)	7.00	100	100	–	> 100

Die kontraktile Effekte der Partialagonisten **93** und **94** konnten von *ELZ* und *PERTZ*^[165,166] durch die folgenden drei Kriterien eindeutig als 5-HT_{2A}-rezeptorvermittelt charakterisiert werden: 1) Die kontraktile Effekte an der Rattenschwanzarterie wurden in Gegenwart des α_1 -Adrenozeptorblockers Prazosin ($30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) untersucht, wodurch ein Effekt infolge der Freisetzung von Katecholaminen aus dem Organsegment durch derart hohe Wirkstoff-Konzentration auszuschließen ist. 2) Die Konzentrations-Effekt-Kurven lassen sich durch *niedrige* Konzentrationen des selektiven 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonisten Ketanserin, die noch keine α_1 -Adrenozeptorblockade verursachen, nach rechts ver-

schieben. 3) Aus der gemessenen Rechtsverschiebung der Konzentrations-Effekt-Kurven von **93** und **94** in Gegenwart von Ketanserin ergibt sich eine subnanomolare Rezeptoraffinität von Ketanserin ($pA_2 = 9.53$ resp. 9.42). Die Konzentrations-Effekt-Kurven der Leitstrukturen **93** und **94**, jeweils in Abwesenheit (\blacktriangledown) und in Anwesenheit (∇) des 5-HT_{2A}-Antagonisten Ketanserin ($3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), sind in Abb. 3-2 und Abb. 3-3 dargestellt.

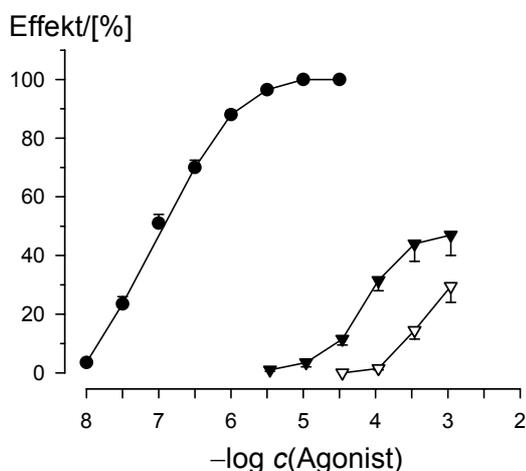
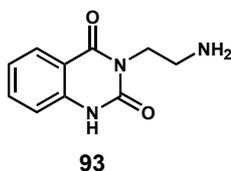


Abb. 3-2. Konzentrations-Effekt-Kurve von 5-HT (●) sowie von **93** an Segmenten der Rattenschwanzarterie in Abwesenheit (\blacktriangledown) und in Anwesenheit von 3 nmol/L Ketanserin (∇).

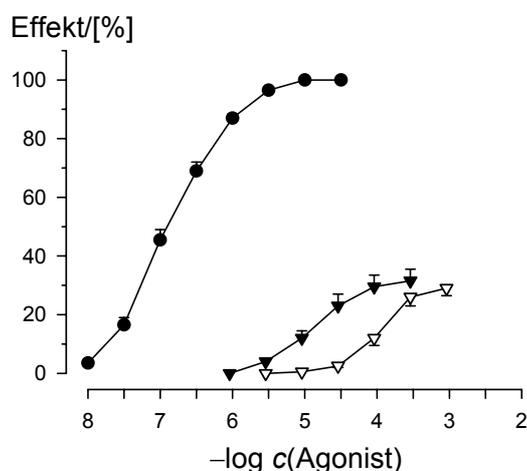
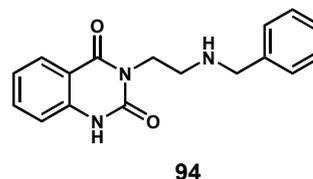


Abb. 3-3. Konzentrations-Effekt-Kurve von 5-HT (●) sowie von **94** an Segmenten der Rattenschwanzarterie in Abwesenheit (\blacktriangledown) und in Anwesenheit von 3 nmol/L Ketanserin (∇).

3.3.2 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1H,3H)chinazolindion-Derivate

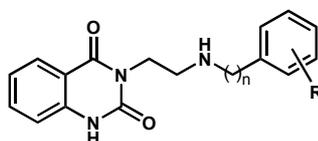
3.3.2.1 Homologe der Leitstruktur 94:

Kettenverlängerung zwischen Aminfunktion und aromatischem π -System

Aufgrund der höheren 5-HT_{2A}-Rezeptor-Bindungsaffinität von **94** im Vergleich zum unsubstituierten primären Amin **93** schien die *N*-Benzyl-Partialstruktur ein vielversprechendes Variationsareal für die Optimierung dieser Leitstrukturen darzustellen. Grundlegende Erkenntnisse über die Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser neuartigen Partialagonisten aus der Substanzklasse der Chinazolindione sollten zunächst durch die Verlängerung der Alkylkette zwischen der sekundären Aminfunktion und dem aromatischen π -Elektronensystem gewonnen werden. Die Ergebnisse in Tab. 3-4 (S. 145) zeigen, daß eine derartige Kettenverlängerung zwar eine Affinitätssteigerung zur Folge hat, allerdings mit einem kompletten Verlust der partiell agonistischen Wirkung dieser Verbindungen einher-

geht. Schon das nächst höhere Homologe **110** zeigt im funktionellen Standardtestmodell der isolierten Rattenschwanzarterie nur noch einen Maximaleffekt von $< 3\%$ im Vergleich zum Referenzagonisten 5-HT (vgl. Tab. 3-4). Bei den höheren Homologen **111** – **113** handelt es sich um reine Antagonisten *ohne* intrinsische Aktivität ($E_{max} = 0$, stiller Antagonist, *silent antagonist*) an vaskulären 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Ratte. Das *N*-Phenylbutyl-Derivat **112**, besitzt mit $pA_2 = 6.88$ die höchste Affinität an der 5-HT_{2A}-Rezeptorbindungsstelle. Das Einführen einer weiteren Methyleneinheit in den Alkylspacer (\rightarrow **113**) bewirkt dagegen einen Affinitätsverlust um eine halbe logarithmische Einheit ($pA_2 = 6.31$).

Tab. 3-4. Auswirkung einer Alkylkettenverlängerung im Benzylteil der Leitstruktur **94** auf die pharmakologische Wirkung an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie



Verb.	<i>n</i>	<i>R</i>	$E_{max} \pm SEM$	$pK_P \pm SEM$	$pA_2 \pm SEM$	<i>N</i>
94	1	H	33 ± 3	4.97 ± 0.04	–	12
110	2	H	< 3	–	5.32 ± 0.06	4
115	2	4-Cl	0	–	5.99 ± 0.07	5
117	2	2-OCH ₃	0	–	5.52 ± 0.05	5
111	3	H	0	–	6.30 ± 0.04	8
112	4	H	0	–	6.88 ± 0.09	11
113	5	H	0	–	6.31 ± 0.06	6

Diese ersten Ergebnisse lassen die Schlußfolgerung zu, daß neben der primären Aminstruktur **93** nur das *N*-Benzyl-Analogon **94** in der Lage ist, einen deutlichen Partialagonismus an 5-HT_{2A}-Rezeptoren auszulösen. Desweiteren bewirkt eine Verlängerung der Alkylkette zwischen Aminfunktion und aromatischem π -Elektronensystem eine Affinitätszunahme bis zu zwei Zehnerpotenzen (**112**, $pA_2 = 6.88$) bei gleichzeitigem Übergang des beobachteten partiellen Agonismus in einen stillen Antagonismus. Demnach ist ein C₁-Alkylspacer zwischen Phenylring und basischem Zentrum der Leitstruktur **94** von entscheidender Bedeutung für die partiell agonistische Aktivität dieser Verbindung.

3.3.2.2 Substitution des Phenylringes der Leitstruktur **94** durch aromatische, heteroaromatische und alicyclische Ringsysteme

Nachdem der Abstand von einer Methylengruppe (C_1 -Spacer) zwischen Phenylring und basischem Zentrum als essentiell für eine 5-HT_{2A} -agonistische Wirkung erkannt wurde, erschien es interessant, wie sich ein Austausch des benzoiden aromatischen Systems gegen andere aromatische, heteroaromatische sowie alicyclische Ringsysteme auf die Affinität und insbesondere auf die Wirkqualität dieser Verbindungen an 5-HT_{2A} -Rezeptoren auswirkt. Die erzielten Ergebnisse sind in Tab. 3-5 zusammengefaßt.

Tab. 3-5. Austausch des Phenylringes in **94** durch aromatische, heteroaromatische sowie alicyclische Ringsysteme: Auswirkung auf die Affinität und Wirkqualität an 5-HT_{2A} -Rezeptoren der Rattenschwanzarterie

Verb.	R	$E_{max} \pm SEM$	$pK_P \pm SEM$	$pA_2 \pm SEM$	N
94		33 ± 3	4.97 ± 0.04	–	12
181		22 ± 2	5.47 ± 0.03	–	8
182		4 ± 1	4.40 ± 0.06	–	9
180		0	–	3.79 ± 0.02	7
185		0	–	4.50 ± 0.06	6
186		0	–	4.51 ± 0.08	4
188		0	–	6.67 ± 0.06	17

Wie aus Tab. 3-5 ersichtlich, zeigt lediglich das 2-Thienyl-Derivat **181** eine mit der Leitstruktur **94** vergleichbare, partiell agonistische Wirkung an 5-HT_{2A} -Rezeptoren. Der gemessene kontraktile Effekt von **181** liegt mit einem Wert von $E_{max} = 22\%$ des Maximaleffektes von 5-HT nur ca. 10 % unter dem beobachteten Wert für **94**. Die Rezeptoraffinität ist dabei leicht erhöht und liegt bei einem pK_P -Wert von 5.47 vs. 4.97 für **94**. Beim Ersatz des Schwefelatoms in **181** gegen ein elektro-

negativeres Sauerstoffatom (\rightarrow **182**) wird ein deutlicher Abfall sowohl des partiell agonistischen Effektes ($E_{\max} = 4\%$ vs. 22%) als auch der 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität ($pK_P = 4.40$ vs. 5.47) beobachtet. Beim 2-Pyridinyl-Derivat **180** wird *kein* partiell agonistischer Effekt mehr beobachtet ($E_{\max} = 0$) und auch die gemessene Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptor geht stark zurück ($pA_2 = 3.79$), so daß hier ein wenig affiner, stiller Antagonist vorliegt. Auch bei den Verbindungen **185** – **188** handelt es sich um stille 5-HT_{2A}-Antagonisten *ohne* intrinsische Aktivität. Das 1-Naphthyl-Derivat **188** zeigt unter den in Tab. 3-5 aufgeführten, antagonistisch wirkenden Verbindungen mit $pA_2 = 6.67$ die höchste Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein.

Mit Hilfe der pharmakologischen Ergebnisse aus Tab. 3-5 (S. 146) lassen sich bis zu diesem Zeitpunkt die folgenden Struktur-Wirkungsbeziehungen für *N*-substituierte 3-(2-Aminoethyl)-2,4-(1*H*,3*H*)chinazolindion-Derivate erkennen:

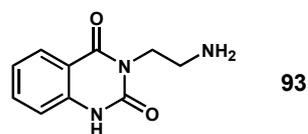
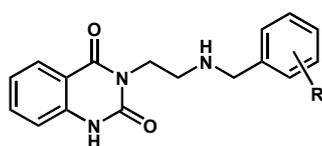
1. Die Substitution des Phenylringes der Leitstruktur **94** durch elektronenreiche Heterocyclen wie Thiophen (\rightarrow **181**) oder Furan (\rightarrow **182**) geht mit einer Abnahme der partiell agonistischen Wirkung dieser Verbindungen einher. Die beobachtete Abnahme des kontraktiven Effektes ist beim 2-Furanyl-Derivat **182** erheblich stärker ausgeprägt als beim 2-Thienyl-Analogon **181**.
2. Der Ersatz des Phenylringes durch einen π -Elektronen-defizienten Heteroaromaten wie Pyridin (\rightarrow **180**) hat zum einen den kompletten Verlust der agonistischen Wirkung und zum anderen einen deutlichen Affinitätsverlust von *ca.* einer log-Einheit zur Folge.
3. Beim Austausch des 6- π -Elektronensystems gegen das sterisch anspruchsvollere 10- π -Elektronensystem Naphthalin (\rightarrow **188**) wird ein Anstieg der 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität um 1.5 log-Einheiten bei gleichzeitigem Wechsel des partiellen Agonismus zum stillen Antagonismus beobachtet.
4. Der Verlust der Aromatizität im Benzylteil von **94** bewirkt ebenfalls einen Wechsel vom Partialagonismus zum stillen Antagonismus (\rightarrow **186**).

3.3.2.3 Einführung diverser Substituenten im Benzylteil von **94** und systematische Variation des aromatischen Substitutionsmusters

Nach den bis dahin vorliegenden pharmakologischen Ergebnissen erschien die *N*-Benzyl-Partialstruktur der Leitverbindung **94** das bevorzugte Strukturelement zu sein, daß einerseits in der Lage ist, die 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität des primärenamins **93** maßgeblich zu erhöhen und andererseits die partiell agonistische Wirkung in ähnlicher Größenordnung beizubehalten. Mit dem Ziel, zu affineren Derivaten mit höherer intrinsischer Aktivität zu gelangen, erfolgte nun die Einführung diverser Substituenten im Benzylteil der Leitstruktur **94** und die systematische Variation des aromatischen

Substitutionsmusters. Die pharmakologischen Ergebnisse sind in Tab. 3-6 zusammengefasst. Die Einführung elektronenziehender Substituenten wie Fluor (\rightarrow **156**) oder Chlor (\rightarrow **159**) in *para*-Position bewirkt einen kompletten Verlust der agonistischen Wirkung dieser Verbindungen und zudem einen Affinitätsverlust von *ca.* 0.5 log-Einheiten im Vergleich zum unsubstituierten *N*-Benzyl-Derivat **94**. Einen ähnlich drastischen Rückgang der kontraktile Effekte wird auch für das *para*-Brom-Analogon **162** beobachtet. Hier beträgt die Kontraktion der Rattenschwanzarterie nur noch weniger als 2 % des für den Referenzagonisten 5-HT beobachteten Maximaleffektes.

Tab. 3-6. Rezeptoraffinität und Wirkqualität substituierter *N*-Benzyl-3-(2-aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindion-Derivate an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie. Zum Vergleich sind die Leitstrukturen **93** und **94** mit aufgeführt.



Verb.	R	$pEC_{50} \pm SEM$	Rel. Pot.	$E_{max} \pm SEM$	$pK_p \pm SEM$	N
93	–	4.18 ± 0.09	0.15	46 ± 4	3.83 ± 0.11	10
94	H	4.84 ± 0.06	0.70	33 ± 3	4.97 ± 0.04	12
156	4-F	–	–	0	$4.48 \pm 0.10^{a)}$	9
157	2-Cl	5.08 ± 0.05	1.20	15 ± 2	4.95 ± 0.12	8
159	4-Cl	–	–	0	$4.52 \pm 0.09^{a)}$	9
160	2-Br	5.05 ± 0.03	1.10	16 ± 1	5.10 ± 0.08	16
161	3-Br	–	–	3 ± 1	5.57 ± 0.09	11
162	4-Br	–	–	< 2	5.25 ± 0.09	10
163	2-I	–	–	9 ± 1	4.53 ± 0.13	8
166	2-CH ₃	5.52 ± 0.13	3.30	22 ± 3	5.57 ± 0.10	8
167	3-CH ₃	–	–	< 5	6.27 ± 0.07	6
168	4-CH ₃	–	–	< 2	4.82 ± 0.07	7
169	2-OCH₃	6.58 ± 0.06	38	49 ± 4	6.48 ± 0.04	12
170	3-OCH ₃	–	–	10 ± 2	5.75 ± 0.09	6
171	4-OCH ₃	–	–	4 ± 1	4.40 ± 0.13	6
172	2-OC ₂ H ₅	6.05 ± 0.05	11	34 ± 1	6.23 ± 0.03	10
173	2-NH ₂	5.05 ± 0.05	1.10	54 ± 2	4.99 ± 0.05	8
177	2-OH	6.38 ± 0.09	24	51 ± 3	5.84 ± 0.04	9
175	2,6-(OCH ₃) ₂	–	–	0	$4.55 \pm 0.05^{a)}$	6
5-HT	–	7.00	100	100	–	> 100

^{a)} pA₂-Wert als Affinitätsmaß für einen Antagonisten

Die Rezeptoraffinität von **162** liegt in einem zu **94** vergleichbaren Konzentrationsbereich ($pK_P = 5.25$ vs. 4.97). Wie den Ergebnissen aus Tab. 3-6 weiterhin zu entnehmen ist, wird ein ähnlich drastischer Rückgang der agonistischen Wirkung auch durch elektronenschiebende Substituenten wie eine Methyl- (\rightarrow **168**) oder Methoxygruppe (\rightarrow **171**) in *para*-Position verursacht ($E_{max} < 2\%$ resp. 4%). Diese Befunde deuten darauf hin, daß neben einem elektronischen Einfluß, wie er für das 4-Fluorbenzyl-Derivat **156** beobachtet wird, hauptsächlich sterische Effekte für den starken Rückgang der agonistischen Wirkung durch *para*-Substituenten verantwortlich sind.

Ähnlich der *para*-Substitution wird auch für die Substitution in *meta*-Stellung sowohl durch Elektronenakzeptor- als auch durch Elektronendonator-Substituenten ein dramatischer Rückgang der agonistischen Wirkung dieser Verbindungen verursacht. Die beobachteten partiell agonistischen Effekte des 3-Brombenzyl- (**161**) resp. 3-Methylbenzyl-Derivates **167** liegen bei Werten $\leq 3\%$ des Maximaleffektes von 5-HT. Im Unterschied zum Substituenteneinfluß in *para*-Position bewirkt jedoch die Methylgruppe – ein Elektronendonator-Substituent – in der *meta*-Position (\rightarrow **167**) einen Affinitätsanstieg um mehr als eine log-Einheit im Vergleich zum unsubstituierten **94** ($pK_P = 6.27$ vs. 4.97).

Im Gegensatz zu den *para*- und *meta*-substituierten *N*-Benzyl-3-(2-aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolidinon-Derivaten zeigen alle *ortho*-substituierten Analoga einen deutlich ausgeprägten partiellen 5-HT_{2A}-Agonismus. Für das 2-Chlorbenzyl- (**157**) und das 2-Brombenzyl-Derivat **160** liegen die beobachteten Maximaleffekte bei Werten von $E_{max} \approx 15\%$. Die Rezeptoraffinitäten finden sich im mikromolaren Konzentrationsbereich und sind mit der unsubstituierten Leitverbindung **94** vergleichbar ($pK_P = 4.95$ resp. 5.10 vs. 4.97). Das 2-Iodbenzyl-Analogon **163** besitzt eine etwas geringere intrinsische Aktivität ($E_{max} = 9\%$) und eine gegenüber **157** und **160** leicht verminderte Affinität ($pK_P = 4.53$), wofür vor allem sterische Gründe verantwortlich sein sollten. Eine leichte Steigerung sowohl der intrinsischen Aktivität ($E_{max} = 22\%$) als auch der Rezeptoraffinität ($pK_P = 5.57$) ist für Verbindung **166** zu verzeichnen, die eine elektronenschiebende Methylgruppe als *ortho*-Substituenten trägt. Einen sprunghaften Anstieg der intrinsischen Aktivität und der Rezeptoraffinität wird durch die Einführung einer *ortho*-Methoxyfunktion im Benzylteil von **94** erreicht. Das resultierende 2-Methoxybenzyl-Derivat **169** zeigt im funktionellen *in vitro*-Testmodell der Rattenschwanzarterie einen im Vergleich zur Leitstruktur **94** um 16% erhöhten Maximaleffekt von $E_{max} = 49\%$. Auch die Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein ist gegenüber **94** um 1.5 log-Einheiten erhöht und liegt bei einem Wert von $pK_P = 6.48$ (vs. 4.97 für **94**). Dies entspricht einer Rezeptor-Ligand-Dissoziationskonstanten von $K_P = 0.33 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Aus der Linksverschiebung der Konzentrations-Wirkungskurve von **169** im Vergleich zu der von **94** resp. **93** ($\Delta pEC_{50} = +1.74$ resp. $+2.40$) ergibt sich eine 55fache Steigerung der partiell agonistischen Aktivität des 2-Methoxybenzyl-Derivates **169** gegenüber der Leitstruktur **94** und eine mehr als 250fache Steigerung gegenüber der Leitverbindung **93** mit primärer Aminfunktion (siehe Abb. 3-4, S. 150). Bei Substitution der *ortho*-Methoxy- durch eine sterisch anspruchsvollere Ethoxygruppe (\rightarrow **172**) wird eine Abnahme des partiell agonistischen

Effektes um 15 % auf $E_{\max} = 34\%$ beobachtet. Die Stoffmengenkonzentration von **172**, die den halbmaximalen, kontraktile Effekt auslöst, liegt bei $0.89 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\text{pEC}_{50} = 6.05$), woraus sich für das 2-Ethoxy-Derivat **172** nur noch etwa ein Drittel der Wirkstärke des 2-Methoxy-Analogons **169** ergibt (Rechtsverschiebung der Konzentrations-Effekt-Kurve von **172** in Abb. 3-4 um 0.53 log-Einheiten gegenüber der Kurve von **169**). Der Austausch der *ortho*-Methoxygruppe gegen eine Hydroxyfunktion im Benzylteil hat nur einen relativ geringen Einfluß auf die pharmakologische Wirkung an der 5-HT_{2A}-Rezeptorbindungsstelle. Das 2-Hydroxybenzyl-Derivat **177** zeigt im verwendeten 5-HT_{2A}-Standardtestmodell einen zu **169** gleich starken kontraktile Effekt, der bei 51 % des Maximaleffektes von 5-HT liegt. Der gemessene pEC_{50} -Wert für **177** beträgt 6.38 und rangiert damit nur geringfügig unter dem des 2-Methoxy-Derivates **169** ($\text{pEC}_{50} = 6.58$). Im Vergleich zur *o*-Methoxy- und *o*-Hydroxy-Substitution geht der Einbau einer primären Aminfunktion in *ortho*-Position (\rightarrow **173**) mit einem starken Affinitätsverlust ($\text{pK}_p = 4.99$ vs. 6.48 resp. 6.23) einher. Trotz der zu beobachtenden Abnahme der Affinität ist das 2-Aminobenzyl-Derivat **173** dennoch in der Lage, einen Maximal-effekt von $E_{\max} = 54\%$ auszulösen. Aus der in Abb. 3-4 gezeigten Rechtsverschiebung der Konzentrations-Effekt-Kurve von **173** ($\Delta\text{pEC}_{50} = -1.53$) ergibt sich für diese Verbindung eine mehr als 30fach geringere relative Wirkstärke (*Rel. Pot.* = 1.10) im Vergleich zum *o*-Methoxybenzyl-Analoga **169** (*Rel. Pot.* = 38).

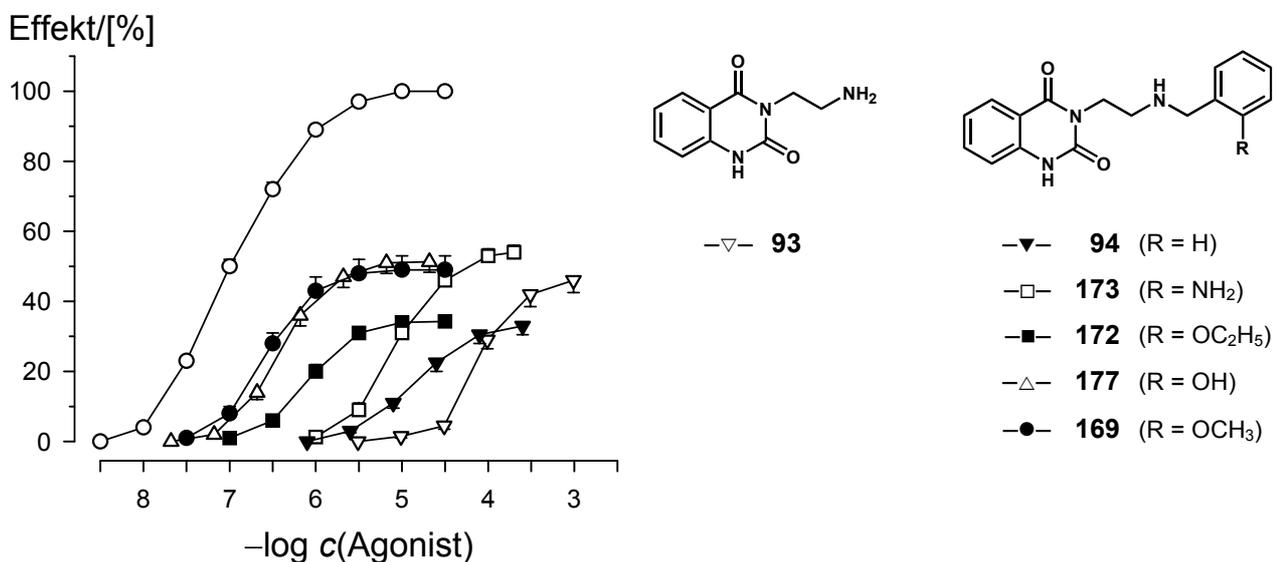


Abb. 3-4. Partieller 5-HT_{2A}-Rezeptoragonismus ausgewählter *ortho*-substituierter *N*-Benzyl-3-(2-aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolinon-Derivate. Die erste Konzentrations-Effekt-Kurve zeigt die isometrische Kontraktion von Segmenten der Rattenschwanzarterie durch den Referenzagonisten 5-HT ($-\circ-$, pEC_{50} normiert auf 7.00, $E_{\max} = 100\%$). Das 2-Methoxy- (**169**, $-\bullet-$) und das 2-Hydroxy-Derivat **177** ($-\triangle-$) stellen mit pEC_{50} -Werten von 6.58 resp. 6.38 und mit einer kontraktile Effektivität von $E_{\max} \approx 50\%$ die beiden potentesten 5-HT_{2A}-Partialagonisten aus dieser Serie dar. Aus der Linksverschiebung der Kurve für **169** ($-\bullet-$, $\Delta\text{pEC}_{50} = +1.74$ resp. $+2.40$) ergibt sich eine mehr als 50fach stärkere partiell agonistische Wirkung dieser Substanz im Vergleich zum unsubstituierten *N*-Benzyl-Derivat **94** ($-\blacktriangledown-$) und eine mehr als 250fache Wirkstärke gegenüber dem primären Amin **93** ($-\nabla-$).

Zu einem kompletten Verlust der 5-HT_{2A}-agonistischen Wirkung ($E_{\max} = 0$) und einem starken Rückgang der Affinität von ca. zwei log-Einheiten kommt es, wenn *beide ortho*-Positionen im Benzylteil durch Methoxygruppen substituiert sind (\rightarrow **175**). Beim 2,6-Dimethoxybenzyl-Derivat **175** handelt es sich demnach um einen wenig affinen, stillen 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonisten *ohne* intrinsische Aktivität ($pA_2 = 4.55$, vgl. Tab. 3-6, S. 148).

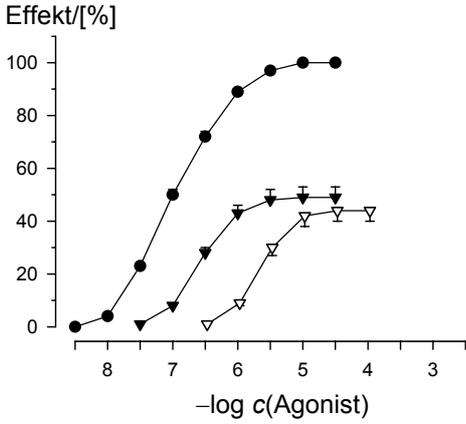
Die sprunghaft ansteigende, partiell agonistische Wirkung sowie die stark verbesserte Affinität des 2-Methoxybenzyl-Derivates **169** im Vergleich zur unsubstituierten Leitverbindung **94** lassen sich mit der zusätzlichen Möglichkeit zur Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zum 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein – über das Methoxy-Sauerstoffatom als Wasserstoff-Akzeptor – erklären. Ebenso kann auch die vergleichbar hohe Potenz des 2-Hydroxybenzyl-Derivates **177** über eine solche Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung zum Rezeptor erklärt werden. Aus den pharmakologischen Ergebnissen in Tab. 3-6 (S. 148) kann ebenfalls geschlossen werden, daß das Wasserstoffatom der *ortho*-Hydroxygruppe *nicht* an der Ausbildung einer Wasserstoffbrücken-Bindung zum Rezeptorprotein beteiligt ist. Der schwächer ausgeprägte Partialagonismus und die geringfügig niedrigere Affinität des 2-Ethoxybenzyl-Derivates **172** hätten demnach ihre Ursache in einer nicht optimalen Geometrie der zwischen dem Ethoxy-Sauerstoff und dem Wasserstoffdonorareal der Rezeptorbindungsstelle ausgebildeten Wasserstoffbrücken-Bindung infolge der höheren sterischen Belastung durch die Ethoxy- im Vergleich zur Methoxygruppe. Auch der komplette Verlust der agonistischen Wirkung des 2,6-Dimethoxybenzyl-Derivates **175** sowie dessen geringe Affinität stehen mit der Annahme, daß es sich bei der *o*-Methoxygruppe um ein mögliches Wasserstoffbrücken-Donorareal handelt, in Einklang. Infolge der zusätzlichen sterischen Belastung durch die zweite *o*-Methoxygruppe wäre eine Konformationsänderung des *N*-2,6-Dimethoxybenzylrestes während der Bindung zum Rezeptor denkbar, so daß die zur Ausbildung der Wasserstoffbrücken-Bindung notwendige Geometrie innerhalb der Rezeptor-Bindungsstelle nicht mehr gewährleistet wäre.

3.3.2.4 ***N*-2-Methoxybenzyl-3-(2-aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindion (169): 5-HT_{2A}-Partialagonist mit optimiertem Wirkprofil**

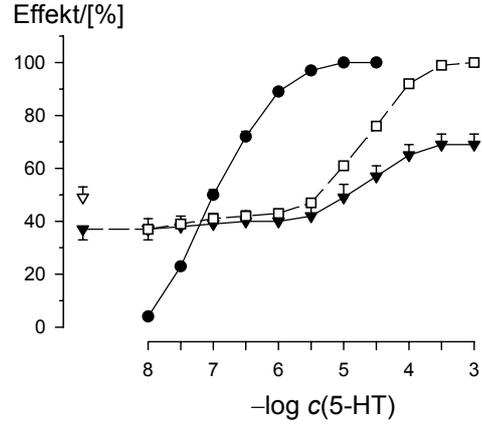
Wie die Ergebnisse der Struktur-Wirkungsuntersuchungen im vorangegangenen Abschnitt zeigen, hat die Einführung einer Methoxygruppe in *eine* der beiden *ortho*-Positionen im Benzylteil der Leitverbindung **94** sowohl eine Steigerung der intrinsischen Aktivität ($E_{\max} = 49\%$ vs. 33%) als auch eine Affinitätssteigerung ($pK_P = 6.48$ vs. 4.97) an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie zur Folge. Somit stellt das *N*-2-Methoxybenzyl-Derivat **169** innerhalb der Substanzklasse der 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindione den 5-HT_{2A}-Partialagonisten mit optimiertem Wirkprofil dar. Um die an der Rattenschwanzarterie gefundene 5-HT_{2A}-Aktivität zu untermauern, wurde **169** zusätzlich an zwei weiteren funktionellen *in vitro*-5-HT_{2A}-Rezeptor-Testmodellen – der Rattenjugularvene und der Rattenaorta – untersucht. Die aus den verschiedenen Testmodellen erhaltenen Konzentrations-Effekt-Kurven und die davon abgeleiteten pharmakologischen Parameter für **169** zeigt Abb. 3-5.

Rattenschwanzarterie

$pEC_{50} = 6.58 \pm 0.06$
 $E_{max} = 49 \pm 4 \%$

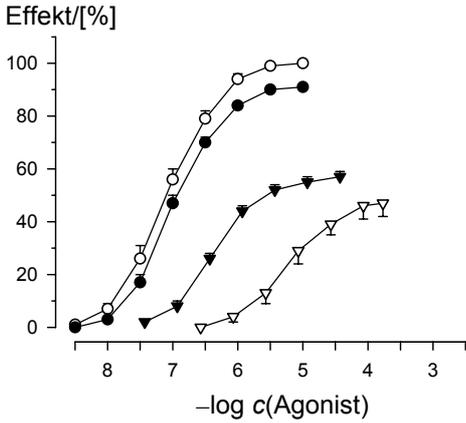


$pK_P = 6.48 \pm 0.04$

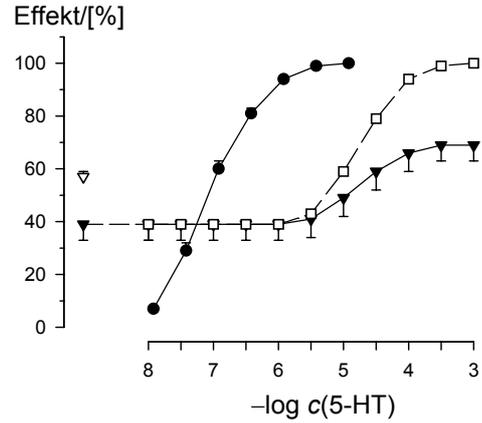


Rattenjugularvene

$pEC_{50} = 6.35 \pm 0.03$
 $E_{max} = 63 \pm 2 \%$

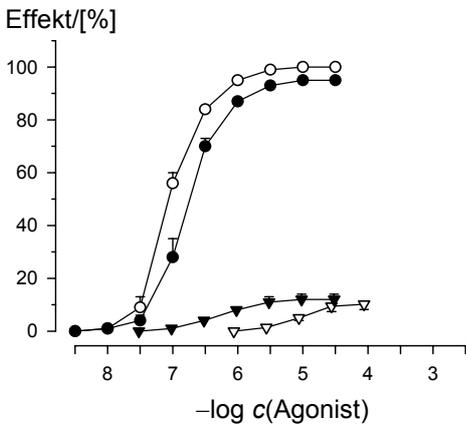


$pK_P = 6.48 \pm 0.16$



Rattenaorta

$pEC_{50} = 6.46 \pm 0.05$
 $E_{max} = 13 \pm 2 \%$



$pK_P = 6.77 \pm 0.09$

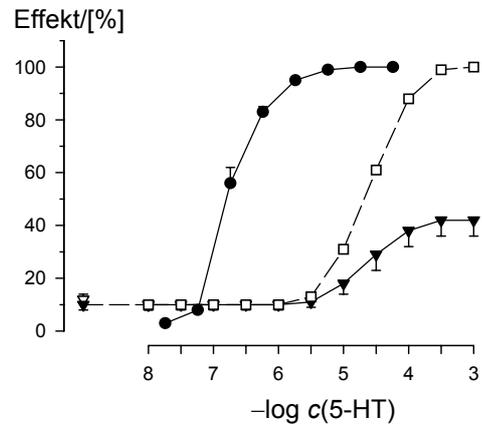


Abb. 3-5. Links: Konzentrations-Effekt-Kurven von 5-HT (○, erste Kurve; ●, zweite Kurve bei Kontrollorganen) sowie von 169 in Abwesenheit (▼) und Anwesenheit von 3, 5 und 5 nmol/L Ketanserin (▽). Im Testmodell der Rattenschwanzarterie sind beide 5-HT-Kurven deckungsgleich.

Rechts: Konzentrations-Effekt-Kurven von 5-HT in Abwesenheit (●) und Anwesenheit von 30 μmol/L des 5-HT_{2A}-Partialagonisten 169 (▼). Zur Bestimmung der pK_P-Werte wurden die 5-HT-Kurven in Gegenwart des partiellen Agonisten auf E_{max} = 100 % normiert (□).

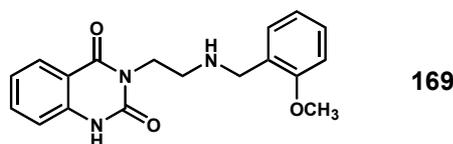
Auf der linken Seite in Abb. 3-5 (S. 152) ist für die einzelnen Testmodelle jeweils als erste Kurve die Konzentrations-Effekt-Kurve des Referenzagonisten Serotonin (5-HT) dargestellt. An Organsegmenten der Rattenjugularvene sowie an der Rattenaorta beobachtet man eine zeitabhängige Rechtsverschiebung und eine gleichzeitige Depression der 5-HT-Kontrollkurve (●) gegenüber einer ersten – zu Beginn des Experiments aufgenommenen – 5-HT-Kurve (○) infolge einer Desensibilisierung der Organsegmente mit fortschreitender Versuchsdauer. Im 5-HT_{2A}-Standard-Testmodell der Rattenschwanzarterie sind dagegen die beiden 5-HT-Kurven – erste Kurve (○) und Kontrollkurve (●) – deckungsgleich. Die zweite Kurve zeigt jeweils die Konzentrations-Effekt-Kurve des untersuchten Partialagonisten **169** (▼). Aufgrund der oben genannten experimentellen Befunde sind die an der Rattenjugularvene und -aorta ermittelten pEC₅₀-Werte für **169** um den Wert der beobachteten Rechtsverschiebung korrigiert. Ebenso sind die an diesen Organsegmenten beobachteten kontraktile Maximaleffekte um den Wert der Depression der 5-HT-Kontrollkurve korrigiert. Die für **169** erhaltenen Konzentrations-Effekt-Kurven (▼) lassen sich, wie für einen 5-HT_{2A}-rezeptorvermittelten Effekt erwartet, durch niedrige Konzentrationen des selektiven Referenzantagonisten Ketanserin (3 bzw. 5 nmol · L⁻¹) nach rechts verschieben (▽, dritte Kurve).

Die scheinbare Dissoziationskonstante K_P des Komplexes aus partiellem Agonist **169** und Rezeptor wird bestimmt, indem die Konzentrations-Effekt-Kurve von 5-HT in Abwesenheit (●) und in Anwesenheit von **169** (▼, 30 μmol · L⁻¹) ermittelt wird. Der partielle 5-HT_{2A}-Rezeptoragonist fungiert in diesem Experiment als Antagonist der 5-HT-induzierten Kontraktion und bewirkt somit eine Rechtsverschiebung der Konzentrations-Effekt-Kurve von 5-HT (Abb. 3-5, rechte Hälfte). Die in Gegenwart des partiellen Agonisten **169** ermittelten 5-HT-Kurven erreichen dabei nicht mehr den für Serotonin erwarteten Maximaleffekt von 100 %. Um die Ermittlung der pK_P-Werte zu ermöglichen, werden die 5-HT-Kurven in Gegenwart des partiellen Agonisten (▼) auf $E_{max} = 100\%$ normiert (□). Aus der 5-HT-Referenzkurve (●) und der in Anwesenheit von **169** ermittelten, normierten zweiten 5-HT-Kurve (□) werden anschließend äquieffektive Konzentrationspaare bestimmt. Aus diesen Wertepaaren ergibt sich mittels gewichteter linearer Regression nach MARANO und KAUMANN^[411] der pK_P-Wert als Affinitätsmaß für den 5-HT_{2A}-Partialagonisten **169**. Die Symbolpaare links der Konzentrations-Effekt-Kurven markieren den durch Zugabe des partiellen Agonisten **169** beobachteten Maximaleffekt (▽) und den nach 10 min Inkubationszeit beobachteten Wert (▼, „Fading“), von dem ausgehend die abschließende 5-HT-Kurve erstellt wurde.

Wie aus Abb. 3-5 (S. 152) hervorgeht, konnten die an der Rattenschwanzarterie gefundenen pharmakologischen Parameter für den partiellen 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten **169** auch an Rezeptoren der Rattenjugularvene und Rattenaorta bestätigt werden. In allen drei verwendeten Testmodellen korrelieren zudem die pK_P-Werte sehr gut mit den pEC₅₀-Werten. Auffällig ist die deutlich geringere intrinsische Aktivität von **169** an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenaorta ($E_{max} = 13\%$ vs. 49 resp. 63 %). Dies hat seinen Grund in der niedrigeren Ca²⁺-Ionen-Konzentration der Organbad-Lösung in diesem Testmodell. Bei Verwendung höherer Ca²⁺-Ionen-Konzentrationen, analog der beiden anderen

Testmodelle, werden während der kumulativen Aufnahme der Zeit-Effekt-Kurve störende, rhythmische Kontraktionen der Organsegmente beobachtet, die das genaue Erkennen der jeweiligen maximalen Kraftzunahme (Plateau) erschweren. Durch eine geringere Ca^{2+} -Ionen-Konzentration können diese rhythmischen Kontraktionen unterdrückt werden, jedoch auf Kosten eines abgeschwächten kontraktile Maximaleffektes. Die aus den verschiedenen funktionellen *in vitro*-Testmodellen erhaltenen pharmakologischen Parameter des 5-HT_{2A}-Partialagonisten **169** sind abschließend nochmals in Tab. 3-7 zusammengefasst.

Tab. 3-7. Pharmakologische Charakterisierung des partiellen 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten **169** an drei verschiedenen funktionellen *in vitro*-Testmodellen

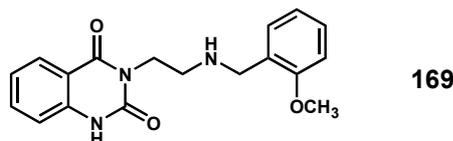


5-HT _{2A} -Testmodell	pEC ₅₀ ± SEM	Rel. Pot.	E _{max} ± SEM	pK _P ± SEM	N
Rattenschwanzarterie	6.58 ± 0.06	38	49 ± 4	6.48 ± 0.04	12
Rattenjugularvene	6.35 ± 0.03	22	63 ± 2	6.48 ± 0.16	5
Rattenaorta	6.46 ± 0.05	29	13 ± 2	6.77 ± 0.09	6

3.3.2.5 Untersuchungen zur Rezeptorselektivität von 169

Aufgrund der herausragenden 5-HT_{2A}-Aktivität in der Stoffklasse der 3-(2-Aminoethyl)-2,4-(1*H*,3*H*)-chinazolindione wurde für Verbindung **169** ein funktionelles Rezeptorselektivitätsprofil erstellt. Innerhalb der Serotonin-Rezeptorfamilie wurden hierzu *in vitro*-Untersuchungen an 5-HT_{1B}, 5-HT₃ und 5-HT₄-Rezeptoren durchgeführt. Zudem wurde die Aktivität von **169** an weiteren, ausgewählten Neurotransmitter-Rezeptoren (α_{1D} , β_1 , H₁, H₂, und M₃) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 3-8 zusammengefasst.

Tab. 3-8. Funktionelles Rezeptorselektivitätsprofil des partiellen 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten **169**^{a)}



5-HT _{1B}	5-HT ₃	5-HT ₄	α_{1D}	β_1	H ₁	H ₂	M ₃
4.73 ± 0.09	< 4.3	5.20 ± 0.05	5.44 ± 0.06	< 4.5	4.99 ± 0.07	< 4.3	4.23 ± 0.06

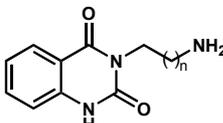
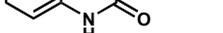
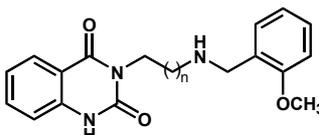
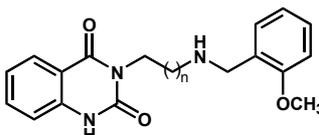
^{a)} **169** zeigt an allen getesteten Rezeptoren antagonistische Wirkung. Die Rezeptoraffinitäten sind als pA₂-Werte angegeben.

Im Gegensatz zu seiner partiell agonistischen Wirkung an 5-HT_{2A}-Rezeptoren zeigt **169** an allen weiteren getesteten Neurotransmitter-Rezeptoren eine rein antagonistische Wirkung *ohne* intrinsische Aktivität. Vergleicht man die gefundenen pA₂-Werte (Affinitätsmaß für Antagonisten) mit dem an 5-HT_{2A}-Rezeptoren ermittelten pK_P-Wert für **169** (pK_P = 6.48, Affinitätsmaß für partielle Agonisten), so ergeben sich innerhalb der 5-HT-Rezeptorfamilie Selektivitäten von 5-HT_{2A}/5-HT₃ > 150 : 1 sowie 5-HT_{2A}/5-HT_{1B} > 50 : 1 und 5-HT_{2A}/5-HT₄ ≈ 20 : 1. Auch die an Histamin-H₁-/H₂-, Muskarin-M₃- und β₁-Rezeptoren gemessenen Rezeptor-Bindungsaffinitäten liegen eineinhalb bis zwei Zehnerpotenzen niedriger als die 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität von **169** (pA₂ = 4.23 – 4.99 vs. pK_P = 6.48). Die höchste, im Screening mit anderen Neurotransmitter-Rezeptoren gefundene Rezeptoraffinität zeigt der 5-HT_{2A}-Partialagonist **169** an α_{1D}-Adrenozeptoren der Rattenaorta. So bindet **169** an diesem isolierten Organpräparat ca. 20fach stärker an 5-HT_{2A}- als an α_{1D}-Rezeptoren (pA₂ = 6.77 vs. pK_P = 5.44). In Radioligand-Verdrängungsstudien zeigt **169** ebenfalls nur sehr geringe Rezeptoraffinitäten zu humanen D₂- und D₃-Rezeptoren (pK_i = 4.73 resp. 5.03).

3.3.2.6 3-[3-(2-Methoxybenzyl)aminopropyl]-2,4(1H,3H)chinazolindion (**312**)

Aus der Arbeit von ELZ^[165] war bekannt, daß die Verlängerung der Ethylamin-Seitenkette der Leitverbindung 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1H,3H)chinazolindion (**93**) um eine Methylengruppe, trotz erhöhter Affinität, einen nahezu kompletten Verlust der intrinsischen Aktivität dieser Verbindung zur Folge hat. So zeigte das Homologe **308** im funktionellen 5-HT_{2A}-Rezeptor-Testmodell der Rattenschwanzarterie nur noch einen kontraktile Maximaleffekt von E_{max} = 4 %. Im Vergleich hierzu lag der beobachtete Maximaleffekt von **93** bei E_{max} = 46 % (siehe Tab. 3-9).

Tab. 3-9. Pharmakologische Parameter der 5-HT_{2A}-Partialagonisten **93** und **169** sowie der Homologen **308** und **312**, untersucht am Testmodell der Rattenschwanzarterie. Die Daten für die Verbindungen **93** und **308** wurden von ELZ *et al.* übernommen [Lit. 165, 166].

Struktur	Verb.	n	E _{max} ± SEM	pEC ₅₀ ± SEM	pA ₂ ± SEM	N
	93	1	46 ± 4	4.18 ± 0.09	–	10
	308	2	4 ± 1	–	4.82 ± 0.15	6
	169	1	49 ± 4	6.58 ± 0.06	–	12
	312	2	4 ± 1	–	4.93 ± 0.07	6

Die von ELZ für die primären Amine gemachten Beobachtungen konnten für die hier untersuchten sekundären Amine bestätigt werden. Auch das höhere Homologe des optimierten Partialagonisten **169** (→ **312**) ist nicht mehr in der Lage, einen nennenswerten agonistischen Effekt am 5-HT_{2A}-

Rezeptor auszulösen. Der für **312** gemessene Maximaleffekt liegt ebenfalls nur noch bei 4 % des für 5-HT beobachteten Effektes. Zudem zeigt Verbindung **312**, im Unterschied zu **308**, zusätzlich einen drastischen Rückgang der Rezeptoraffinität am genannten Rezeptor im Vergleich zu **169** ($pA_2 = 4.93$ vs. $pEC_{50} = 6.58$).

Die pharmakologischen Resultate aus Tab. 3-9 belegen sehr deutlich, daß für Verbindungen vom 3-(2-Aminoalkyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindion-Typ eine Ethylamin-Seitenkette das Optimum darstellt, um einen nennenswerten agonistischen Effekt an 5-HT_{2A}-Rezeptoren auszulösen. Bei einer weiteren Verlängerung der Alkylamin-Seitenkette sollte der Partialagonismus weiter zurückgehen, bis er schließlich in einen stillen Antagonismus *ohne* intrinsische Aktivität übergeht (*silent antagonism*). Da das vorrangige Ziel dieses Projektes die Entwicklung neuer, potenter 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten war, wurde der Beweis hierfür nicht geführt.

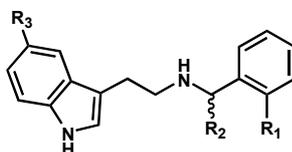
3.3.3 Die *N*-2-Methoxybenzyl-Partialstruktur als neues Struktur-Wirkungskonzept für 5-HT_{2A}-Rezeptor-Partialagonisten

Nach der Identifizierung der im millimolaren Konzentrationsbereich partiell 5-HT_{2A}-agonistisch wirkenden Leitverbindung 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindion (**93**) durch ELZ^[165,166] kann nun mit dem 2-Methoxybenzyl-Derivat **169** erstmals ein potenter 5-HT_{2A}-Partialagonist aus dieser – auf dem Gebiet der 5-HT_{2A}-Agonisten neuen – Substanzklasse bereitgestellt werden. Die pharmakologischen Ergebnisse und Diskussion der Struktur-Wirkungsbeziehungen aus den beiden vorangegangenen Abschnitten machen deutlich, daß dabei die *N*-2-Methoxybenzyl-Partialstruktur ein entscheidendes Wechselwirkungsareal für die Interaktion mit dem 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein darstellt. Die mehr als 250fache Steigerung der partiell agonistischen Aktivität des *N*-2-Methoxybenzyl-Derivates **169** gegenüber der primären Aminstruktur **93**, unter gleichzeitigem Erhalt der intrinsischen Aktivität in der Größenordnung um 50 % des Maximaleffektes von 5-HT, wirft nun die Frage auf, ob dieses Struktur-Wirkungskonzept auch bei primären Indolyethyl- und Phenylethylaminen – den derzeit potentesten 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten – zum Tragen kommt. Bei einem ähnlichen Einfluß der *N*-2-Methoxybenzyl-Partialstruktur auf die pharmakologische Wirkung auch in diesen beiden Substanzklassen sollte es möglich sein, mit dieser Strategie neue potente 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten zu entwickeln (vgl. auch Abschn. 2.3, S. 53). Die notwendigen biologischen Untersuchungen wurden zunächst an Indolyl- und 5-Methoxyindolyethylaminen durchgeführt. Im weiteren Verlauf dieses Projektes sollte dann das in der Stoffklasse der Chinazolindione neu gefundene Struktur-Wirkungskonzept auch auf Phenylethylamine vom DOB- und DOI-Typ ausgeweitet werden.

3.3.4 *N*-Benzyl-2-(1*H*-indol-3-yl)ethylamin-Derivate

Aufgrund der 5-Hydroxytryptamin-Struktur des endogenen Rezeptorliganden Serotonin (**1**) und der wohl bekannten (partiell) agonistischen 5-HT_{2A}-Aktivität einer Vielzahl von Tryptamin- und 5-Methoxytryptamin-Derivaten (vgl. Abb. 1-2, S. 8 und Abb. 1-3, S. 9) schien es naheliegend, die bei den Chinazolindionen gefundenen Struktur-Wirkungsbeziehungen zunächst an Tryptamin-Derivaten zu überprüfen. Die 5-HT_{2A}-Aktivität der hierzu synthetisierten *N*-benzylierten Tryptamin- (**199** – **203**) sowie 5-Methoxytryptamin-Derivate **204** – **207** wurde am Standard-Testmodell der Rattenschwanzarterie untersucht. Die pharmakologischen Daten sind in Tab. 3-10 zusammengefasst.

Tab. 3-10. 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität der *N*-Benzyl-2-(1*H*-indol-3-yl)ethylamin-Derivate **199** – **207**, untersucht an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der isolierten Rattenschwanzarterie



Verb.	R ₃	R ₂	R ₁	pEC ₅₀ ± SEM	Rel. Pot.	E _{max} ± SEM	pK _p ± SEM	N
199	H	H	H	6.39 ± 0.07	24	26 ± 3	–	8
200	H	H	OH	6.87 ± 0.08	100	47 ± 3	6.63 ± 0.09	8
201	H	H	OCH ₃	6.81 ± 0.06	65	44 ± 2	6.77 ± 0.05	9
202	H	H	OC ₂ H ₅	6.06 ± 0.08	11	19 ± 1	–	8
203	H	CH ₃	OCH ₃	6.20 ± 0.10	16	27 ± 4	6.58 ± 0.06	4
204	OCH ₃	H	H	7.00 ± 0.07	100	30 ± 3	7.29 ± 0.06	8
205	OCH₃	H	OH	7.50 ± 0.07	318	38 ± 2	7.51 ± 0.06	11
206	OCH ₃	H	OCH ₃	7.08 ± 0.03	121	54 ± 2	7.56 ± 0.06	10
207	OCH ₃	H	OCF ₃	–	–	4 ± 1	6.65 ± 0.05	7
5-HT	–	–	–	7.00	100	100	–	> 100

Das unsubstituierte *N*-Benzyltryptamin (**199**) zeigt mit einem pEC₅₀-Wert von 6.39 eine 35fach höhere partialagonistische 5-HT_{2A}-Aktivität als das *N*-Benzyl-Analogon **94** aus der Chinazolindionreihe (*Rel. Pot.* = 24 % vs. 0.7 %). Bei Substitution der 2,4(1*H*,3*H*)Chinazolindion-Partialstruktur in **94** durch eine 5-Methoxyindolyl-Struktur (→ **204**) wird eine weitere Steigerung der partiell agonistischen Wirkung auf mehr als das 140fache beobachtet (pEC₅₀ = 7.00, *Rel. Pot.* = 100 %). Die für **199** und **204** gemessenen Maximaleffekte (E_{max} = 26 % resp. 30 %) liegen in der selben Größenordnung wie der für **94** beobachtete (E_{max} = 33 %, vgl. Tab. 3-3, S. 143). Das *N*-Benzyl-5-methoxyindolyethylamin-Derivat **204** ist somit äquipotent zum endogenen Liganden Serotonin, ist diesem jedoch hinsichtlich der kontraktilen Effektivität deutlich unterlegen. In der Indolyethylamin-Serie

wird bei der Einführung einer *ortho*-Hydroxy- (\rightarrow **200**) bzw. Methoxygruppe (\rightarrow **201**) im Benzylteil eine Steigerung der partiell agonistischen 5-HT_{2A}-Aktivität um ca. 0.5 log-Einheiten beobachtet ($pEC_{50} = 6.87$ resp. 6.81 vs. 6.39 für **199**). Die intrinsische Aktivität liegt mit 47 % resp. 44 % ca. 20 % über der des unsubstituierten *N*-Benzyl-Analogons **199** ($E_{max} = 26$ %). Im Vergleich zu den entsprechenden Chinazolindionen **177** (R = OH) und **169** (R = OCH₃) liegen die pEC_{50} -Werte der Indolyl-Derivate **200** und **201** 0.2 – 0.5 log-Einheiten höher (*Rel. Pot.* = 100 % resp. 68 % vs. 24 % resp. 38 %). Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, ist die Steigerung der relativen 5-HT_{2A}-Aktivitäten der *ortho*-Methoxy- und Hydroxybenzyl-Derivate im Vergleich zu den unsubstituierten *N*-Benzyl-Derivaten innerhalb der Chinazolindion-Serie größer als bei den Indolyethylaminen (35 – 55fach vs. 3 – 4fach). Die Zunahme der kontraktile Maximaleffekte um ca. 20 % ist in beiden Substanzklassen vergleichbar. Die gleichzeitige Abnahme der relativen Potenz und des beobachteten Maximaleffektes beim Übergang von einer *ortho*-Methoxy- zu einer sterisch anspruchsvolleren Ethoxygruppe (\rightarrow **202**) kann, wie schon bei den Chinazolindion-Derivaten beobachtet, auch in der Stoffklasse der Indolyethylamine bestätigt werden ($pEC_{50} = 6.06$, $E_{max} = 19$ %, vgl. Tab. 3-10). Die Einführung einer Methylverzweigung in der Benzylposition des *ortho*-Methoxy-Derivates **201** (\rightarrow **203**) geht ebenfalls mit dem Verlust der 5-HT_{2A}-Aktivität, bei gleichzeitiger Abnahme der Organkontraktion, einher ($pEC_{50} = 6.20$, $E_{max} = 27$ %, vgl. Tab. 3-10).

In der Reihe der 5-Methoxyindolyethylamine zeigt das *ortho*-Hydroxybenzyl-Derivat **205** mit einem pEC_{50} -Wert von 7.50 die höchste Aktivität an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie. Aus der Linksverschiebung der Konzentrations-Effekt Kurve von **205** im Vergleich zur 5-HT-Referenzkurve ($\Delta pEC_{50} = +0.50$) ergibt sich für diesen 5-HT_{2A}-Partialagonisten eine Potenz von 318 % relativ zu Serotonin (*Rel. Pot.* = 100 %). Die intrinsische Aktivität von **205** liegt bei $E_{max} = 38$ % des für 5-HT beobachteten Maximaleffektes und ist damit 5 – 10 % niedriger als bei den *ortho*-hydroxy- resp. methoxysubstituierten Indol- und Chinazolindion-Analoga. Anders als bei den Chinazolindionen besitzt das *ortho*-Methoxy-Derivat **206** einen um 0.42 log-Einheiten geringeren pEC_{50} -Wert als das *ortho*-Hydroxy-Analogon **205** ($pEC_{50} = 7.08$ vs. 7.50, *Rel. Pot.* = 121 %), jedoch eine um 15 % höhere partiell agonistische Effektivität ($E_{max} = 54$ % vs. 38 %). Werden die für **205** und **206** ermittelten pK_P -Werte verglichen, ergeben sich für beide Partialagonisten etwa die gleichen 5-HT_{2A}-Rezeptor-Bindungsaffinitäten ($pK_P = 7.51$ vs. 7.56). Die daraus abgeleiteten Rezeptor-Ligand-Dissoziationskonstanten liegen im nanomolaren Konzentrationsbereich ($K_P \approx 30$ nmol \cdot L⁻¹).

Der Austausch der *ortho*-Methoxy- durch eine Trifluormethoxygruppe in **206** (\rightarrow **207**) hat einen drastischen Rückgang der agonistischen Wirkung dieser Verbindung ($E_{max} = 4$ % vs. 54 %) und zudem einen Verlust der 5-HT_{2A}-Bindungsaffinität von ca. einer Zehnerpotenz zur Folge ($pK_P = 6.65$ vs. 7.56). Dieses Ergebnis unterstreicht sehr deutlich die in Abschnitt 3.3.2.3 (S. 147) postulierte Funktion des *ortho*-Methoxy- resp. Hydroxy-Sauerstoffatoms als Wasserstoff-Akzeptorareal für die Ausbildung einer Wasserstoffbrücken-Bindung zum 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein. Durch den starken elektronenziehenden, induktiven Effekt der Trifluormethylgruppe wird die Elektronendichte am Trifluor-

methoxy-Sauerstoffatom erheblich verringert, wodurch dessen – für die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke unerlässliche – Eigenschaft als Elektronendonator (bzw. Wasserstoffakzeptor), entscheidend abgeschwächt wird. Aufgrund der sehr ähnlichen räumlichen Ausdehnung der Methoxy- und Trifluormethoxygruppe können sterische Effekte als Grund für die beobachteten Auswirkungen der *ortho*-Trifluormethoxygruppe auf die 5-HT_{2A}-Aktivität ausgeschlossen werden.

Die in Tab. 3-10 (S. 157) zusammengefaßten pharmakologischen Daten der *N*-benzylierten Indolyl- und 5-Methoxyindolylolethylamine zeigen, daß die in der Stoffklasse der 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindione gefundenen Struktur-Wirkungsbeziehungen auch bei den Indolylolethylaminen bestätigt werden können. Durch die erfolgreiche Übertragung dieses neuen Struktur-Wirkungskonzepts ist es darüber hinaus gelungen, weitere neuartige, potente 5-HT_{2A}-Partialagonisten bereitzustellen. Die potenteste Verbindung aus der Reihe der 5-Methoxyindolylolethylamine – das *ortho*-Hydroxybenzyl-Derivat **205** – zeigt im verwendeten Rattenschwanzarterien-Testmodell eine ca. 10fach höhere 5-HT_{2A}-Aktivität als das potenteste Chinazolindion-Derivat **169** (pEC₅₀ = 7.50 vs. 6.58) und ist sogar um den Faktor drei stärker wirksam als der endogene Rezeptorligand Serotonin (pEC₅₀ = 7.00).

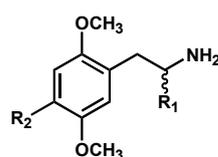
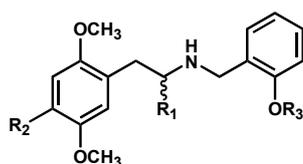
3.3.5 *N*-Benzyl-1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-aminoalkan-Derivate

4-Halogensubstituierte 2,5-Dimethoxyphenylisopropylamine wie DOB (**35**) und DOI (**36**) stellen die bislang stärksten 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten mit primärer Aminfunktion dar. Beide Verbindungen zeigen in [³H]-Ketanserin-Bindungsstudien an 5-HT_{2A}-Rezeptoren des Rattenhirns (*frontal cortex*) Rezeptorbindungsaffinitäten im nanomolaren Konzentrationsbereich ($K_i = 41$ nM *resp.* 19 nM, Werte für Racemate).^[104] Die in der vorliegenden Arbeit am funktionellen *in vitro*-Testmodell der Rattenschwanzarterie ermittelten EC₅₀-Werte für (±)-DOB und (±)-DOI liegen bei Stoffmengenkonzentrationen von 10.2 nM *resp.* 7.41 nM (pEC₅₀ = 7.99 *resp.* 8.13, Tab. 3-11, S. 160). Die ausgelösten kontraktile Effekte erreichen dabei etwa 70 % des für 5-HT beobachteten Maximaleffektes. Das mit DOB (**35**) eng verwandte, achirale 4-Brom-2,5-dimethoxyphenylethylamin (**41**) – ohne α -Methylverzweigung – weist mit einem pEC₅₀-Wert von 7.20 und einem Maximaleffekt von 58 % eine signifikant geringere 5-HT_{2A}-Aktivität auf (*Rel. Pot.* = 1.59 vs. 9.77), ist jedoch immer noch etwas potenter als der Referenzagonist Serotonin (*Rel. Pot.* = 1.00). Dagegen zeigt das in 4-Position unsubstituierte Analogon **211** eine mehr als 600fach geringere 5-HT_{2A}-Aktivität (pEC₅₀ = 4.41; *Rel. Pot.* = 0.0026), was die – schon früher durch GLENNON *et al.*^[104,105] gezeigte – besondere Funktion eines 4-Halogensubstituenten eindrucksvoll bestätigt.

Die Anwendung des im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten Struktur-Wirkungskonzepts auf das primäre 2,5-Dimethoxyphenylethylamin (**211**) – durch Einführung der *N*-2-Methoxybenzyl-Struktur – hat einen bemerkenswerten Anstieg der 5-HT_{2A}-Aktivität des resultierenden sekundären Amins **229** um den Faktor 2046 zur Folge (pEC₅₀ = 7.73 vs. 4.41; *Rel. Pot.* = 5.32 vs. 0.0026). Ein weiterer Wirkanstieg (72fach) – jedoch geringer als bei den entsprechenden primären Amin-

derivaten (**211** → **41**) beobachtet – ergibt sich, wenn im Phenylethylamin-Teil des sekundären *N*-2-Methoxybenzyl-Derivates **229** ein Bromsubstituent in 4-Position eingeführt wird (→ **231**, $pEC_{50} = 9.58$; *Rel. Pot.* = 384). Damit besitzt der neuartige, im subnanomolaren Konzentrationsbereich wirkende Partialagonist **231** eine 384fach stärkere Wirkung an vaskulären 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie als Serotonin. Die mehr als 240fache Steigerung der partiell agonistischen Aktivität des *o*-methoxybenzylierten **231** relativ zum primären Phenylethylamin **41** (*Rel. Pot.* = 384 vs. 1.59) liegt etwa in der gleichen Größenordnung wie der für das Chinazolidion **169** relativ zu **93** beobachtete (253fach, vgl. Tab. 3-6, S. 148). Die intrinsische Aktivität beträgt ca. 40 % des Maximaleffektes von Serotonin. Dies bedeutet eine Abnahme der agonistischen Effektivität um 20 % im Vergleich zu **41** ($E_{max} = 38\%$ vs. 58 %).

Tab. 3-11. 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität *N*-benzylierter 1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-aminoalkan-Derivate, untersucht an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der isolierten Rattenschwanzarterie. Zum Vergleich sind die ermittelten pharmakologischen Parameter der primären Amine **211**, **41**, **35** und **36** mit aufgeführt.



211
41
35 (DOB)
36 (DOI)

Verb.	R ₂	R ₁	R ₃	$pEC_{50} \pm SEM$	<i>Rel. Pot.</i> ^{a)}	$E_{max} \pm SEM$	$pK_P \pm SEM$	N
211	H	H	–	4.41 ± 0.22	0.0026	47 ± 2	–	3
41	Br	H	–	7.20 ± 0.03	1.59	58 ± 3	–	5
35	Br	CH ₃	–	7.99 ± 0.06	9.77	71 ± 3	–	3
36	I	CH ₃	–	8.13 ± 0.05	13.5	68 ± 1	–	3
229	H	H	CH ₃	7.73 ± 0.03	5.32	40 ± 2	8.35 ± 0.04	8
230	Br	H	H	9.66 ± 0.09	459	35 ± 3	9.37 ± 0.18	6
231	Br	H	CH₃	9.58 ± 0.05	384	38 ± 2	9.69 ± 0.07	17
232	Br	H	CF ₃	–	–	6 ± 1	7.93 ± 0.14	6
234	Br	CH ₃	CH ₃	8.10 ± 0.06	12.6	20 ± 3	–	8
235	I	H	H	10.13 ± 0.07	1350	29 ± 4	–	9
236	I	H	CH₃	10.09 ± 0.08	1240	30 ± 5	–	8
239	CF ₃	H	H	9.13 ± 0.08	136	28 ± 4	–	9
240	CF ₃	H	CH ₃	9.02 ± 0.09	107	36 ± 3	–	8
5-HT	–	–	–	7.00	1.00	100	–	> 100

^{a)} Um sehr hohe Zahlenwerte bei der Angabe der relativen Potenzen zu vermeiden wird hier, im Gegensatz zu den Übersichtstabellen der Chinazolidion- (Tab. 3-6, S. 148) und Indol-Derivate (Tab. 3-10, S. 157), die relative Potenz (*Rel. Pot.*) des Referenzagonisten 5-HT gleich Eins gesetzt.

Wird das Bromatom in der 4-Position in **231** durch ein Iodatomb ersetzt, geht dies mit einer weiteren Steigerung der 5-HT_{2A}-Aktivität des resultierenden 4-Iod-Analogons **236** einher. Mit einem pEC₅₀-Wert von 10.09 (EC₅₀ = 81.3 pM) ist dieser partielle 5-HT_{2A}-Rezeptoragonist 1240mal potenter als der volle Referenzagonist Serotonin (*Rel. Pot.* = 1240), bei einer intrinsischen Aktivität von 30 %. Übereinstimmend mit den pharmakologischen Ergebnissen aus der Serie der 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindione und der Indolyethylamine zeigen auch die *ortho*-hydroxybenzylierten Phenylethylamine **230** (R₂ = Br) und **235** (R₂ = I) eine mit ihren Methoxy-Analoga vergleichbar hohe Wirkstärke und partiell agonistische Effektivität (pEC₅₀ = 9.66 *resp.* 10.13; E_{max} = 30 – 35 %, siehe Tab. 3-11). Die entscheidende Rolle der *ortho*-Methoxy- bzw. *ortho*-Hydroxygruppe als Wasserstoffakzeptorareal bei der Interaktion mit dem 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein kann – wie schon beim 5-Methoxyindol-Derivat **207** – auch am Beispiel von **232** durch den fast vollständigen Verlust des Agonismus und den drastischen Rückgang der 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität infolge der Einführung einer *ortho*-Trifluormethoxygruppe unter Beweis gestellt werden (E_{max} = 6 %; pK_P = 7.93).

Radioligand-Bindungsstudien der Gruppe um NICHOLS^[234] zeigen, daß das in 4-Position trifluormethylierte 2,5-Dimethoxyphenylethylamin **228** eine zu seinem 4-Iod-Analogon **42** vergleichbar hohe Affinität an 5-HT_{2A}-Rezeptoren des Rattenhirns (*frontal cortex*) aufweist (K_i = 74.5 nM vs. 80.9 nM). Im Falle der hier untersuchten *N*-2-methoxy- bzw. hydroxybenzylsubstituierten Phenylethylamine geht dagegen der Austausch des 4-Iod- und 4-Brom-Substituenten gegen eine Trifluormethylgruppe mit einem signifikanten Rückgang der 5-HT_{2A}-Aktivität an vaskulären Rezeptoren der Rattenschwanzarterie einher. So zeigt das 4-trifluormethylierte *N*-2-Methoxybenzyl-Derivat **240** eine um eine Zehnerpotenz geringere Wirkstärke als das 4-Iod-Analogon **236** und eine um eine halbe log-Einheit geringere als das 4-Brom-Analogon **231** (pEC₅₀ = 9.02 vs. 10.09 *resp.* 9.58). Für das *N*-2-Hydroxybenzyl-Derivat **239** liegen die Verhältnisse ähnlich (vgl. Tab. 3-11, S. 160). Trotz ihrer etwas geringeren 5-HT_{2A}-Aktivität zählen die beiden trifluormethylierten Derivate **239** und **240** mit EC₅₀-Werten von 0.7 *resp.* 0.9 nmol · L⁻¹ – neben den 4-Iod- und 4-Brom-Analoga **235**, **236** *resp.* **230**, **231** – zu den derzeit potentesten 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten und sind immer noch 136fach *resp.* 107fach potenter als der Referenzagonist Serotonin.

Im Unterschied zum primären 4-Brom-2,5-Dimethoxyphenylethylamin (**41**) bewirkt eine α -Methylverzweigung im (*N*-2-Methoxybenzyl)phenylethylamin-Derivat **231** eine Verringerung der 5-HT_{2A}-Aktivität des resultierenden Phenylisopropyl-Analogons **234** um 1.5 log-Einheiten auf pEC₅₀ = 8.10 (vs. 9.58 für **231**). Auch die beobachtete agonistische Wirkung an 5-HT_{2A}-Rezeptoren geht beim Übergang von **231** nach **234** von E_{max} = 40 % auf E_{max} = 20 % zurück. Im Vergleich hierzu wird bei der Einführung einer α -Methylgruppe innerhalb der primären Amine (**41** → **35**) eine sechsfache Steigerung der 5-HT_{2A}-Aktivität und ein ca. 10%iger Anstieg der intrinsischen Aktivität registriert. Offensichtlich übt die Methylgruppe in α -Position zur sekundären Aminfunktion im *N*-2-Methoxybenzyl-Derivat **234** einen erheblich größeren sterischen Einfluß auf dieses potentielle kationische Wechselwirkungsareal aus, als dies bei der primären Aminfunktion in **35** der Fall ist. Eine mögliche

Erklärung für diese experimentellen Befunde könnte die stark eingeschränkte konformative Flexibilität der Phenylisopropyl-Seitenkette innerhalb der Rezeptorbindungsstelle infolge der zusätzlichen Wechselwirkung des 2-Methoxybenzylrestes liefern.

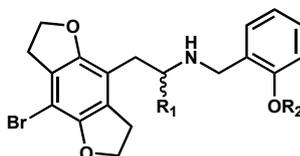
Diese Ergebnisse bestätigen besonders eindrucksvoll das neu entwickelte Struktur-Wirkungskonzept für partielle 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten, denen eine *N*-2-Methoxybenzyl-Funktionalität als zusätzliche pharmakophore Gruppe eine im Vergleich zu den entsprechenden primären Aminen besonders hohe Wirkstärke verleiht. Die erfolgreiche Anwendung dieses Konzeptes auf die *per se* sehr potenten Phenylalkylamine vom DOB- bzw. DOI-Typ führt zu hochpotenten 5-HT_{2A}-Rezeptor-Partialagonisten, die bereits im nano- bis picomolaren Konzentrationsbereich ihre Wirkung entfalten. Die beiden potentesten Wirkstoffe in dieser Serie sind die in 4-Position iodierten Phenylethylamin-Derivate **235** und **236**, die mit pEC₅₀-Werten von 10.13 (74 pmol · L⁻¹) *resp.* 10.09 (81 pmol · L⁻¹) die derzeit potentesten 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten darstellen. Die Wirkstärke dieser beiden Verbindungen liegt damit 1240 – 1350fach höher als die des Referenzagonisten Serotonin und sogar mehr als 3000fach höher als die von **169**, der potentesten Verbindung aus der Reihe der 3-(2-Aminoethyl)-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindione (*Rel. Pot.* = 1350 *resp.* 1240 vs. 0.38). Eine ähnlich hohe 5-HT_{2A}-Aktivität zeigen die 4-Brom-Analoga **230** und **231** mit pEC₅₀-Werten von 9.66 (0.22 nmol · L⁻¹) *resp.* 9.58 (0.26 nmol · L⁻¹). Hieraus ergibt sich für diese Partialagonisten immer noch eine 384 – 459fach höhere Wirkstärke gegenüber Serotonin und eine mehr als 1000fach höhere gegenüber dem Chinazolindion-Derivat **169**.

3.3.6 *N*-Benzyl-1-(2,3,6,7-tetrahydrobenzo[1,2-*b*:4,5-*b'*]difuran-4-yl)-2-aminoalkane: Rigidisierte 1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-aminoalkan-Analoga

Aus zahlreichen pharmakologischen Untersuchungen geht hervor, daß die beiden aromatischen Methoxygruppen in 2- und 5-Position der Phenylalkylamine vom DOB-/DOI-Typ sowohl bei der Aktivierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren *in vitro*, als auch beim Auslösen von Halluzinationen über den gleichen Rezeptorsubtyp *in vivo*, eine dominierende Rolle spielen.^[329,330] Als entscheidende Wechselwirkungen mit der 5-HT_{2A}-Rezeptorbindungsstelle werden Wasserstoffbrücken-Bindungen der beiden Methoxy-Sauerstoffatome zu den Hydroxy-Protonen zweier Serin-Reste der Transmembranhelices TMH-4 und TMH-5 angenommen.^[331] Weitere Untersuchungen ergaben, daß die 1-(Tetrahydrobenzodifuranyl)-2-aminoalkane **249** und **250** – rigidisierte 1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-aminoalkan-Analoga (vgl. Abb. 2-49, S. 89) – ebenfalls sehr potente, in nanomolarer Konzentration wirkende 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten darstellen. Hieraus läßt sich ableiten, daß die Tetrahydrobenzodifuran-Struktur – mit den beiden freien Elektronenpaaren des *ortho*-Sauerstoffatoms in *syn*- und denen des *meta*-Sauerstoffatoms in *anti*-Stellung zur Alkylamin-Seitenkette – die „aktive Bindungskonformation“ der beiden 2- und 5-Methoxygruppen widerspiegelt (vgl. Abschn. 2.6, S. 88).^[329]

Mit Blick auf die Entwicklung neuer effektiver „pharmakologischer Werkzeuge“ zur Untersuchung und zum besseren Verständnis der 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivierung auf molekularer Ebene erschien es besonders interessant, wie sich eine derartige Rigidisierung der 2- und 5-Methoxygruppen auf die biologische Wirkung der im vorherigen Abschnitt vorgestellten, sekundären, *N*-2-Methoxybenzyl-substituierten 1-(2,5-Dimethoxyphenyl)alkylamine auswirkt. Die 5-HT_{2A}-Aktivität der hierzu synthetisierten 1-(2,3,6,7-Tetrahydrobenzo[1,2-*b*:4,5-*b'*]difuran-4-yl)-2-aminoalkan-Analoga **270**, **271** und **273** wurde wiederum am Standard-Testmodell der Rattenschwanzarterie untersucht. Die pharmakologischen Ergebnisse sind in Tab. 3-12 zusammengefaßt.

Tab. 3-12. 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität *N*-benzylierter 1-(2,3,6,7-Tetrahydrobenzo[1,2-*b*:4,5-*b'*]difuran-4-yl)-2-aminoalkane, untersucht an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der isolierten Rattenschwanzarterie



Verb.	R ₁	R ₂	pEC ₅₀ ± SEM	Rel. Pot.	E _{max} ± SEM	N
270	H	H	9.87 ± 0.09	738	34 ± 2	6
271	H	CH ₃	10.15 ± 0.07	1410	27 ± 3	11
273	CH ₃	CH ₃	8.33 ± 0.05	21	17 ± 3	8
5-HT	–	–	7.00	1.00	100	> 100

Die Auswirkungen einer Rigidisierung wurden exemplarisch an den 4-Brom-substituierten Derivaten untersucht. Das rigidisierte *N*-2-Hydroxybenzyl-Derivat **270** zeigt gegenüber der konformativ flexiblen 2,5-Dimethoxy-Verbindung **230** eine leicht erhöhte 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität (pEC₅₀ = 9.87 vs. 9.66) bei gleichem Maximaleffekt beider Wirkstoffe (E_{max} = 34 % vs. 35 %). Im Falle der *N*-2-Methoxybenzyl-Derivate ist das rigidisierte Tetrahydrobenzodifuran **271** etwa vierfach stärker wirksam als sein nichtrigidisiertes Pendant **231** (Rel. Pot. = 1410 vs. 384), besitzt jedoch einen um 10 % verringerten Maximaleffekt (E_{max} = 27 % vs. 38 %). Somit stellen auch die 1-(2,3,6,7-Tetrahydrobenzo[1,2-*b*:4,5-*b'*]difuran-4-yl)-2-aminoalkane **270** und **271** hochpotente partielle 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten dar, deren *in vitro*-Aktivität im subnano- bis picomolaren Konzentrationsbereich liegt. Mit einem pEC₅₀-Wert von 10.15 (EC₅₀ = 71 pmol · L⁻¹) ist das *N*-2-Methoxybenzyl-Derivat **271** – zusammen mit den beiden nichtrigidisierten 4-Iod-Derivaten **235** und **236** – der derzeit potenteste 5-HT_{2A}-Rezeptor-Partialagonist, der eine 1410fache Wirkstärke im Vergleich zum endogenen Rezeptor-Liganden Serotonin aufweist. Diese Ergebnisse zeigen sehr eindrucksvoll, daß die in die Tetrahydrobenzodifuran-Partialstruktur eingebundenen Sauerstoffatome auch bei

den neu entwickelten, sekundären *N*-2-Methoxy- bzw. Hydroxybenzyl-substituierten Phenylethylaminen die „aktive Bindungskonformation“ der beiden 2- und 5-Methoxygruppen modellieren.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen in der Reihe der nichtrigidisierten 2,5-Dimethoxyphenylethylamine (**231** → **234**, vgl. Tab. 3-11, S. 160), führt die Einführung einer α -Methylverzweigung auch im Fall der Tetrahydrobenzodifuran-Analoga (**271** → **273**, Tab. 3-12) zu einem drastischen Rückgang der 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität um 1.82 log-Einheiten von pEC₅₀ = 10.15 nach 8.33. Der Abfall des beobachteten Maximaleffektes liegt in der Größenordnung von 10 % und ist somit etwas geringer als bei den nichtrigidisierten Analoga.

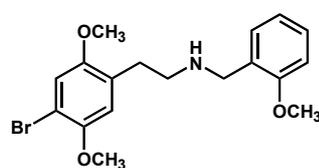
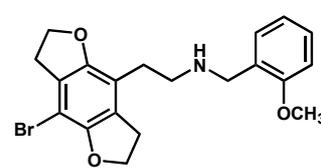
3.3.7 Rezeptorselektivitäten der hochpotenten 5-HT_{2A}-Partialagonisten **231** und **271**

Zu den potentesten, im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten 5-HT_{2A}-Rezeptorliganden zählt das 2,5-Dimethoxyphenylethylamin-Derivat **231** und sein rigidisiertes Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **271**. Die außergewöhnlich hohen Bindungsaffinitäten, zusammen mit ihrer Eigenschaft als partielle 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten, machen diese beiden Wirkstoffe zu interessanten Kandidaten für „pharmakologische Werkzeuge“ zur Untersuchung 5-HT_{2A}-rezeptorvermittelter Effekte. Ein entscheidendes Kriterium solcher Substanzen ist neben einer hohen Rezeptoraffinität auch eine genügend hohe Selektivität für den gewünschten Rezeptor. Um ihre Eignung als pharmakologische Werkzeuge zu überprüfen, wurden deshalb die beiden 5-HT_{2A}-Rezeptor-Partialagonisten **231** und **271** auf ihre Rezeptorselektivität hin untersucht. Die an weiteren Neurotransmitter-Rezeptoren gemessenen Affinitäten sowie die hieraus resultierenden 5-HT_{2A}-Rezeptorselektivitäten für **231** und **271** sind in Tab. 3-13 (S. 165) zusammengefaßt. Mit Ausnahme der Dopamin-D₂- und -D₃-Rezeptoraffinitäten (pK_i-Werte), die aus Radioligand-Bindungsstudien ermittelt wurden, handelt es sich bei allen anderen Rezeptoren um Affinitätswerte aus funktionellen *in vitro*-Testmodellen. Als Affinitätsmaß für kompetitive Rezeptorantagonisten sind pA₂-Werte, für nichtkompetitive Antagonisten sind pD'₂-Werte angegeben.

Beide 5-HT_{2A}-Partialagonisten zeigen an allen weiteren untersuchten, funktionellen *in vitro*-Testmodellen eine rein antagonistische Wirkung *ohne* intrinsische Aktivität. Innerhalb der 5-HT-Rezeptorfamilie weisen **231** und **271** bestenfalls mikromolaren Affinitäten zu 5-HT₃- sowie 5-HT₄-Rezeptoren auf. Hieraus ergeben sich 5-HT_{2A}-Rezeptorselektivitäten von mindestens 1900 – 14000 : 1 gegenüber dieser 5-HT-Rezeptorsubtypen. Das in picomolarer Konzentration am 5-HT_{2A}-Rezeptor wirkende Tetrahydrobenzodifuran-Derivat **271** (pEC₅₀ = 10.15) besitzt die höchsten Affinitäten zu α_{1D} -Adrenozeptoren und H₁-Rezeptoren (pA₂ = 7.01 *resp.* 6.90), woraus sich auch hier noch ausgezeichnete 5-HT_{2A}-Rezeptorselektivitäten von 1380 : 1 *resp.* 1778 : 1 ableiten lassen. An allen übrigen Rezeptoren (H₂, M₃, β_1 , D₂ und D₃) werden für Verbindung **271** um mindestens vier Zehnerpotenzen geringere Affinitäten als am 5-HT_{2A}-Rezeptor gemessen. Hieraus ergibt sich eine mehr als 10000fache Selektivität für **271** gegenüber diesen Rezeptoren. Die Rezeptoraffinitäten von **231**

sind in etwa mit denen von **271** zu vergleichen. Bedingt durch die um eine halbe log-Einheit geringere 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität sind die resultierenden Selektivitäten für Verbindung **231** zwar etwas geringer als für **271**, sie liegen jedoch auch hier in der Größenordnung von 2000 – 50000 : 1. Mit einer H₁-Rezeptoraffinität von pA₂ = 6.64 besitzt **231** selbst gegenüber diesem Rezeptor eine beachtliche Selektivität von 5-HT_{2A}/H₁ = 871 : 1. Ähnlich wie für das rigidisierte Analogon **271** wird auch für **231** – neben der H₁-Rezeptor-Affinität – eine moderate Affinität zu α_{1D}-Adrenozeptoren beobachtet (pA₂ = 6.30). Das Selektivitätsverhältnis liegt hier bei 5-HT_{2A}/α_{1D} = 1905 : 1.

Tab. 3-13. Rezeptoraffinitäten der 5-HT_{2A}-Partialagonisten **231** und **271** zu weiteren Neurotransmitter-Rezeptoren und hieraus abgeleitete 5-HT_{2A}-Rezeptorselektivitäten

**231****271**

Rezeptor ^{a)}	Affinität ^{b)}	5-HT _{2A} -Selektivität	Affinität ^{b)}	5-HT _{2A} -Selektivität
5-HT _{2A}	9.58 ± 0.05	–	10.15 ± 0.07	–
5-HT ₃	< 6.3	> 1900	< 6.0	> 14000
5-HT ₄	< 6.0	> 3800	< 6.2	> 8900
H ₁	6.64 ± 0.06	871	6.90 ± 0.02	1778
H ₂	5.64 ± 0.05 ^{c)}	8710	5.16 ± 0.07 ^{c)}	> 97000
H ₃	< 6.0	> 3800	< 6.3	> 7000
M ₃	4.88 ± 0.10 ^{c)}	> 50000	4.93 ± 0.06 ^{c)}	> 165000
α _{1D}	6.30 ± 0.07	1905	7.01 ± 0.04	1380
β ₁	5.14 ± 0.03 ^{c)}	> 27500	4.96 ± 0.14 ^{c)}	> 154000
D ₂ ^{d)}	5.79 ^{e)}	6166	5.64 ^{e)}	> 32000
D ₃ ^{d)}	5.75 ^{e)}	6760	5.52 ^{e)}	> 42000

^{a)} Die pharmakologischen Untersuchungen erfolgten, wenn nicht besonders gekennzeichnet, an funktionellen *in vitro*-Testmodellen verschiedener Spezies (vgl. Tab. 3-2, S. 142). ^{b)} Bei der Angabe der Rezeptoraffinitäten handelt es sich, wenn nicht anders vermerkt, um pA₂-Werte, als Affinitätsmaß für kompetitive Antagonisten. ^{c)} pD₂-Wert als Affinitätsmaß für einen nichtkompetitiven Antagonisten. ^{d)} Radioligand-Bindungsstudie an humanen Dopamin-Rezeptoren. ^{e)} pK_i-Wert aus Radioligand-Bindungsstudien.

Die pharmakologischen Daten aus Tab. 3-13 zeigen sehr deutlich, daß es mit der Entwicklung der neuartigen 5-HT_{2A}-Partialagonisten vom Phenylethylamin-Typ in Form von **231** und **271** gelungen ist, Agonisten zur Verfügung zu stellen, die nicht nur aufgrund ihrer außergewöhnlich hohen Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptor brillieren, sondern auch durch bemerkenswerte Selektivität gegenüber anderen serotoninerger (e.g. 5-HT₃, 5-HT₄) und nichtserotoninerger Rezeptor-Bindungsstellen (e.g. H₁, H₂, H₃, M₃, α_{1D}, β₁, D₂, D₃), an denen sie zudem durchweg Antagonismus zeigen.

Affinitätsdaten für weitere Rezeptoren aus der 5-HT-Familie (e.g. 5-HT₁, 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇) stehen derzeit noch nicht zur Verfügung. Insbesondere die Frage nach der Selektivität innerhalb der 5-HT₂-Familie (5-HT_{2B}- und 5-HT_{2C}-Subtyp) ist von großem Interesse. Es besteht allerdings die berechtigte Hoffnung einer deutlichen Präferenz der neu entwickelten Partialagonisten des Typs **231** resp. **271** zugunsten des 5-HT_{2A}-Subtyps, konnten doch GLENNON *et al.* in [¹²⁵I]-DOI-Bindungsstudien zeigen, daß die *N*-Benzylierung von DOB (**35**) und des verwandten α-demethylierten Phenylethylamins **41** mit einer Erhöhung der 5-HT_{2A}-Rezeptoraffinität und einer gleichzeitigen Verringerung der Bindungsaffinität am 5-HT_{2C}-Subtyp einhergeht. Insbesondere für das *N*-Benzyl-Analogon des Phenylethylamins **41** resultiert hieraus eine 300fache Selektivität zugunsten des 5-HT_{2A}- gegenüber des 5-HT_{2C}-Rezeptorsubtyps.^[208] Bei einem zur *N*-Benzylgruppe vergleichbaren Effekt der *N*-2-Methoxybenzylgruppe der Partialagonisten **231** und **271** auf die Rezeptoraffinität am 5-HT_{2C}-Subtyp (ca. dreifache Verringerung)^[208] erscheint eine Selektivität dieser Verbindungen in der Größenordnung 5-HT_{2A}/5-HT_{2C} ≈ 500 – 1000 : 1 durchaus im Bereich des möglichen. In diesem Falle wären **231** und **271**, in [³H]- oder [¹²⁵I]-markierter Form, sehr attraktive Kandidaten als Radioliganden für Verdrängungsstudien oder auch, in [¹⁸F]- oder [¹¹C]-markierter Form, als PET-Liganden für die Positronen-Emissions-Tomographie.

3.3.8 *N*-2-Hydroxybenzyl-1-(benzo[1,2-*b*:4,5-*b'*]difuran-4-yl)-2-aminoethan-Derivat **283**

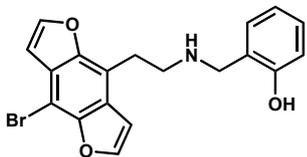
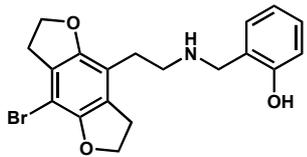
Die Gruppe um NICHOLS berichtete von einer 12 – 64fachen Affinitätssteigerung des voll aromatisierten 1-(Benzo[1,2:4,5-*b'*]difuran)-2-aminopropan-Derivates **281** an 5-HT_{2A}-Rezeptoren im Vergleich zum Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **249** (vgl. auch Kapitel 2.7, S. 97).^[346] Die aus Radioligand-Verdrängungsstudien erhaltenen *in vitro*-Daten konnten auch *in vivo* bestätigt werden.^[346] Basierend auf diesen Ergebnissen sollte im Rahmen dieses Projektes am Beispiel von **283** untersucht werden, ob eine derartige Affinitätssteigerung beim Gang von den Tetrahydro- zu den Benzodifuran-Derivaten auch bei den neu entwickelten *N*-2-Methoxy- resp. Hydroxybenzyl-substituierten, sekundären Phenylethylaminen beobachtet werden kann. Einen Vergleich der pharmakologischen Parameter des aromatisierten Benzodifuran-Derivates **283** mit seinem Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **270** zeigt Tab. 3-14 (S. 167).

Im Gegensatz zu den von NICHOLS *et al.*^[346] bei den primären Phenylisopropylamin-Derivaten beobachteten Ergebnissen zeigt das aromatisierte, sekundäre 1-(Benzodifuran)phenylethylamin-

Derivat **283** im Vergleich zum Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **270** keine signifikante Affinitätssteigerung an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie ($pEC_{50} = 9.94$ vs. 9.87). Der Maximal-effekt von **283** liegt mit einem Wert von $E_{max} = 24 \%$ um 10% niedriger als bei Verbindung **270**. Somit zählt auch das Benzodifuran-Derivat **283** – wie schon das Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **270** – zu den derzeit potentesten 5-HT_{2A}-Partialagonisten ($EC_{50} = 0.11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $Rel. Pot. = 871$).

Dieses Ergebnis zeigt, daß die Veränderung der elektronischen Konstellation innerhalb der Tetrahydrobenzodifuran-Partialstruktur beim Gang von **270** zum voll aromatisierten Benzodifuran-System **283** nur einen sehr geringen Einfluß auf die 5-HT_{2A}-Wirkung dieser Verbindungen hat.

Tab. 3-14. Gegenüberstellung der pharmakologischen Parameter des aromatisierten Benzodifuran-Derivates **283** mit dem Tetrahydrobenzodifuran-Analogon **270**, untersucht an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der isolierten Rattenschwanzarterie

Verb.	Struktur	$pEC_{50} \pm SEM$	Rel. Pot.	$E_{max} \pm SEM$	N
283		9.94 ± 0.08	871	24 ± 4	4
270		9.87 ± 0.09	738	34 ± 2	6
5-HT	(Referenzagonist)	7.00	1.00	100	>100

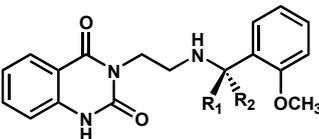
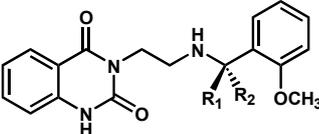
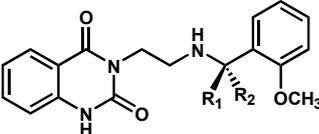
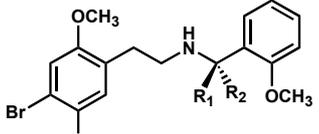
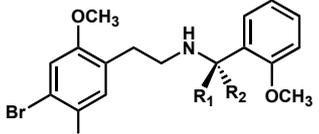
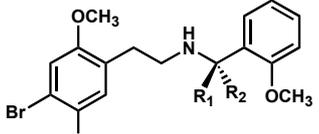
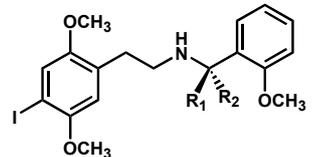
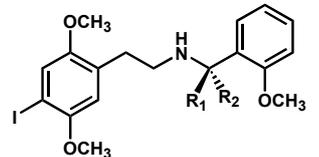
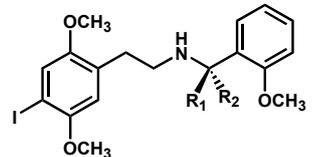
3.3.9 Optisch aktive 1-(2-Methoxyphenyl)ethylamin-Derivate

Einfluß eines Chiralitätszentrums im 2-Methoxybenzyl-Strukturareal

Die pharmakologischen *in vitro*-Untersuchungen der Enantiomere (**S**)- und (**R**)-**192** am funktionellen 5-HT_{2A}-Rezeptor-Testmodell der Rattenschwanzarterie haben gezeigt, daß die Einführung einer α -Methylgruppe im Benzylteil der Leitstruktur **94** für beide Enantiomere eine geringe Affinitätssteigerung zur Folge hat ($pK_p = 4.97 \rightarrow 5.57$ resp. 5.31). Desweiteren war ein entscheidender Einfluß auf die Wirkqualität beider Enantiomere zu beobachten. So besitzt (**S**)-**192** mit einem Maximal-effekt von $E_{max} = 19 \%$ noch einen deutlichen Partialagonismus, wohingegen das (**R**)-Enantiomer kaum noch eine agonistische Wirkung am 5-HT_{2A}-Rezeptor zeigt ($E_{max} = 4 \%$, vgl. Kap. 2.8, S. 100). Nach diesem ersten Hinweis auf eine Stereoselektion an der 5-HT_{2A}-Rezeptor-Bindungsstelle sollte nun untersucht werden, wie sich die Einführung einer α -Methylgruppe in die optimierte 2-Methoxybenzyl-Partialstruktur auf die Rezeptoraffinität und die Wirkqualität der resultierenden Enantiomere auswirkt. Hierzu wurden entsprechende Struktur-Wirkungsuntersuchungen am 3-{2-[1-(2-Methoxy-

phenyl)ethylamino]ethyl}-2,4(1*H*,3*H*)chinazolindion (**298**) – als Vertreter der Chinazolindion-Serie – und an den beiden typischen Vertretern der erheblich potenteren Partialagonisten aus der Phenylethylamin-Serie (**304** und **305**) durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse sind in Tab. 3-15 zusammengefaßt. Zum besseren Vergleich sind jeweils die α -demethylierten, achiralen Analoga **169**, **231** und **236** mit aufgeführt.

Tab. 3-15. Rezeptoraffinität, Wirkqualität und Stereoselektion optisch aktiver 1-(2-Methoxyphenyl)ethylamin-Derivate (**298**, **304**, **305**) im Vergleich zu ihren achiralen, α -demethylierten Analoga **169**, **231** und **236**

Struktur	Verb.	R ₁	R ₂	pEC ₅₀ ± SEM	Rel. Pot.	(S)/(R)	E _{max} ± SEM	N
	169	H	H	6.58 ± 0.06	0.38		49 ± 4	12
	(S)-298	H	CH ₃	6.26 ± 0.07	0.18	22 : 1	41 ± 3	10
	(R)-298	CH ₃	H	4.93 ± 0.08	0.0085		11 ± 1	8
	231	H	H	9.58 ± 0.05	384		38 ± 2	17
	(S)-304	H	CH ₃	9.32 ± 0.04	209	12 : 1	26 ± 2	11
	(R)-304	CH ₃	H	8.24 ± 0.16	17.4		29 ± 3	9
	236	H	H	10.09 ± 0.08	1240		30 ± 5	8
	(S)-305	H	CH ₃	9.21 ± 0.06	162	6 : 1	29 ± 4	10
	(R)-305	CH ₃	H	8.41 ± 0.07	25.7		28 ± 4	12

Die Einführung einer α -Methylverzweigung im 2-Methoxybenzyl-Strukturareal des Chinazolindion-Derivates **169** führte im Falle des (*S*)-Enantiomers (**S**)-**298** zu einer geringfügig schwächeren, aber dennoch mit der achiralen Verbindung vergleichbaren Affinität am 5-HT_{2A}-Rezeptor (pEC₅₀ = 6.26 vs. 6.58). Das (*R*)-Enantiomer weist dagegen mit einem pEC₅₀-Wert von 4.93 eine um 1.65 log-Einheiten geringere Aktivität als das achirale **169** auf (\Rightarrow Rel. Pot. = 0.0085 vs. 0.38). Aus der Differenz der Δ pEC₅₀-Werte ($\Delta\Delta$ pEC₅₀) errechnet sich für das Enantiomerenpaar **298** eine Stereoselektion von (S)/(R) = 22 : 1. Übereinstimmend mit den Resultaten des chiralen Chinazolindion-Derivates **192** (siehe Abb. 2-60, S. 100) zeigt auch hier das (*S*)-Enantiomer (**S**)-**298** einen deutlich stärkeren Partialagonismus (intrinsische Aktivität) als das (*R*)-Enantiomer (E_{max} = 41 % vs. 11 %).

Im Gegensatz zum optisch aktiven Chinazolindion-Derivat **298** liegen im Falle der 2,5-Dimethoxyphenylethylamin-Derivate **304** und **305** die jeweils beobachteten Maximaleffekte *beider* Enantiomere in der selben Größenordnung (E_{max} = 26 – 29 %). Bezüglich der Rezeptoraffinitäten sind die Ergebnisse vergleichbar. Die Einführung einer α -Methylgruppe im 2-Methoxybenzyl-Strukturareal

von **231** (\rightarrow **304**) und **236** (\rightarrow **305**) hat auch in diesen Fällen eine Abnahme der Affinität zum 5-HT_{2A}-Rezeptor zur Folge. Die höheren Affinitäten zeigen wiederum die (S)-Enantiomere (**S**)-**304** und (**S**)-**305** mit pEC₅₀-Werten von 9.32 resp. 9.21 vs. 8.24 resp. 8.41 für die jeweiligen (R)-Enantiomere. Die aus der Differenz der Δ pEC₅₀-Werte ($\Delta\Delta$ pEC₅₀) abgeleiteten Stereoselektionen sind mit Werten von (S)/(R) = 12 : 1 für **304** und (S)/(R) = 6 : 1 für das Enantiomerenpaar **305** geringer als die für das chirale Chinazolindion-Derivat **298** beobachtete.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Einführung einer α -Methylverzweigung im neu entwickelten 2-Methoxybenzyl-Strukturelement bei allen untersuchten Verbindungen mit einem Affinitätsverlust an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie einhergeht. Die Eutomere bilden in allen Fällen die (S)-konfigurierten Enantiomere. Die beobachteten Stereoselektionen sind moderat, mit dem höchsten eudismischen Verhältnis von (S)/(R) = 22 : 1 für das Chinazolindion-Derivat **298**. Ein Unterschied zwischen dem Chinazolindion **298** und den beiden Phenylethylamin-Derivaten **304** und **305** ist bezüglich der Wirkqualität der einzelnen Enantiomere festzustellen. Im Falle von **298** zeigt das (S)-Enantiomer einen deutlich stärkeren Partialagonismus im Vergleich zu seinem (R)-Enantiomer (E_{\max} = 41 % vs. 11 %), wohingegen für **304** und **305** für beide Enantiomere Maximaleffekte in der selben Größenordnung beobachtet werden (E_{\max} = 26 – 29 %). Dies deutet darauf hin, daß für das Chinazolindion **298** und die Phenylethylamine **304** und **305** ein leicht unterschiedlicher Bindungsmodus an der 5-HT_{2A}-Rezeptor-Bindungsstelle vorliegt.

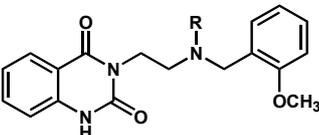
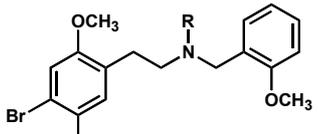
3.3.10 N-methylierte, tertiäre Amin-Derivate **306** und **307**

Unter physiologischen Bedingungen (pH = 7.4)^[206,207] liegt die sekundäre Aminfunktion der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten N-2-methoxybenzylierten 5-HT_{2A}-Rezeptor-Partialagonisten nahezu vollständig in protonierter Form vor. Sie stellt somit ein potientes, kationisches Wechselwirkungsareal für eine Ion-Ion- bzw. Ion-Dipol-Wechselwirkung mit dem 5-HT_{2A}-Rezeptorprotein dar. Am Beispiel des Chinazolindion-Derivates **169** und des Phenylethylamin-Derivates **231** sollte durch N-Methylierung (\rightarrow **306** resp. **307**) die Interaktion dieses basischen Zentrums mit dem Rezeptorprotein näher untersucht werden. Im Vordergrund stand dabei die Frage, welche Rolle das N-H-Proton bei der Wechselwirkung mit der Rezeptor-Bindungsstelle einnimmt, und ob es ein notwendiges Kriterium für einen 5-HT_{2A}-Agonismus darstellt, oder ob auch die entsprechenden Verbindungen vom tertiären Amintyp in der Lage sind, einen (partiell) agonistischen Effekt auszulösen. Die pharmakologischen Daten der N-methylierten, tertiären Amine **306** und **307**, im Vergleich zu ihren demethylierten, sekundären Analoga **169** und **231**, zeigt Tab. 3-16 (S. 170).

Die N-Methylierung des Chinazolindion-Derivates **169** führt zum kompletten Verlust der agonistischen Wirkung des entsprechenden N-Methyl-Analogons **306** (E_{\max} = 49 % \rightarrow 0 %). Zudem wird für **306** eine 22fach geringere Affinität an 5-HT_{2A}-Rezeptoren der Rattenschwanzarterie beobachtet (pA_2 = 5.23 vs. pEC₅₀ = 6.58 für **169**). Im Gegensatz hierzu zeigt das N-methylierte, tertiäre Phenyl-

ethylamin-Derivat **307** eine deutliche partiell agonistische Wirkung im selben 5-HT_{2A}-Rezeptor-Testmodell, die lediglich um ca. 10 % geringer ist als die des sekundären Analogons **231** ($E_{max} = 27\%$ vs. 38 %). Obgleich das *N*-Methyl-Derivat **307** in der Lage ist, einen partiell agonistischen Effekt am 5-HT_{2A}-Rezeptor auszulösen, so hat doch die Einführung der *N*-Methylgruppe auch hier einen Affinitätsverlust von mehr als zwei Zehnerpotenzen zur Folge ($pEC_{50} = 7.41$ vs. 9.58). Dies bedeutet eine Abnahme der relativen Wirkpotenz beim Übergang vom sekundären Amin **231** zum *N*-methylierten, tertiären Amin **307** um den Faktor 150.

Tab. 3-16. 5-HT_{2A}-Rezeptoraktivität der *N*-methylierten, tertiären Amine **306** und **307** im Vergleich zu ihren demethylierten, sekundären Analoga **169** und **231**

Struktur	Verb.	R	$E_{max} \pm SEM$	$pEC_{50} \pm SEM$	$pA_2 \pm SEM$	N
	169	H	49 ± 4	6.58 ± 0.06	–	12
	306	CH ₃	0	–	5.23 ± 0.06	6
	231	H	38 ± 2	9.58 ± 0.05	–	17
	307	CH ₃	27 ± 3	7.41 ± 0.09	–	6

Die Ergebnisse aus Tab. 3-16 stehen in Einklang mit den im vorherigen Abschnitt (3.3.9, S. 167) beobachteten Effekten bei der Einführung einer Methylverzweigung in α -Position zur sekundären Aminfunktion. Auch dort hatte die zusätzliche Methylgruppe einen erheblich stärkeren Einfluß auf die intrinsische Aktivität des Chinazolindion-Derivates **298** als bei den Phenylethylamin-Derivaten **304** und **305** (vgl. Tab. 3-15, S. 168). Zusammen mit den in diesem Abschnitt beschriebenen Ergebnissen läßt dies den Schluß zu, daß der *N*-2-methoxybenzylierte Partialagonist **169** aus der Serie der Chinazolindione innerhalb der 5-HT_{2A}-Rezeptoragonisten-Bindungsstelle eine zu den Phenylethylamin-Derivaten (e.g. **231**, **236**) unterschiedliche Orientierung einnimmt.