

3 PHARMAKOLOGISCHER TEIL

3.1 Allgemeine Angaben

3.1.1 Reagenzien

Tabelle 3.1 Übersicht über die verwendeten Chemikalien und Stammlösungen

Substanz	Firma	Lösemittel	c [mmol/L]	β (mg/mL)
Cocain x HCl	Merck	H ₂ O	10	3.398
Indometacin	Sigma	EtOH	3.2	1.132
Prazosin x HCl	RBI	H ₂ O/EtOH	3.2	1.341
Serotonin-Kreatininsulfat x H ₂ O	Janssen	H ₂ O	31.6	12.82
Bradykinin	RBI	EtOH	1	1.185
FUB – 101 x 2 HCl	S. Grassmann*	H ₂ O	10	2.552

* = Substanzspende

Die Antagonisten werden in einer Mischung von H₂O/EtOH (50/50) gelöst zu einer Konzentration von 10⁻² mol/L und im Eisschrank aufbewahrt. Falls die Oxalsäure-Salze schlecht löslich sind, wird versucht, sie durch Zusatz äquivalenter Mengen Salzsäure zu lösen. Funktioniert dieses auch nicht, wird durch Zusatz einer gleichvolumigen Menge DMSO die Stammlösung 1:2 verdünnt, so dass eine Konzentration von 10^{-2.3} mol/L resultiert.

3.1.2 Pharmakologische Parameter [182]

Tabelle 3.2 Parameter zur pharmakologischen Charakterisierung von Substanzen

EC ₅₀ , pEC ₅₀	Stoffmengenkonzentration, bzw. deren negativer dekadischer Logarithmus, des Agonisten, die 50 % des maximalen, beobachteten Effekts (hier: Kontraktion) verursacht, früher als pD ₂ bezeichnet
pK _B [183]	Scheinbare Dissoziationskonstante des Antagonist - Rezeptor-komplexes, berechnet nach der Methode von <i>Furchgott</i> .

$$pK_B = -\log c(B) + \log (CR - 1) \quad \text{Gleichung 1}$$

$$\text{(mit } CR = \frac{EC_{50}^*}{EC_{50}} \text{ (* = in Anwesenheit des Antagonisten))}$$

pA ₂ [184]	Ein Maß für die Rezeptoraffinität. Es ist der negative dekadische Logarithmus derjenigen Konzentration des Antagonisten, die die Konzentrations-Wirkungskurve des Agonisten um den Faktor 2 rechtsverschiebt. Nullstelle der Ausgleichsgeraden des <i>Schild</i> -Plots, ermittelt aus der graphischen Darstellung von log(CR-1) gegen -log c(B), (siehe oben) im Idealfall über einen Konzentrationsbereich von mindestens 2 logarithmischen Einheiten berechnet. Der funktionale Zusammenhang muss auf Linearität geprüft werden. Ergibt sich eine Steigung m der Geraden, die nur zufällig von 1 verschieden ist, kann m = 1 angenommen werden und der Antagonist als kompetitiver charakterisiert werden. Dann ist pA ₂ = pK _B , unterscheidet sich aber im Standardfehler und hat ein asymmetrisches Vertrauensintervall
pK _P [185, 186]	Scheinbare Dissoziationskonstante aus partiellem Agonist und Rezeptor, berechenbar aus Experimenten, in denen der Partialagonist entweder als Agonist selbst oder ein voller (Referenz-)Agonist in Gegenwart des Partialagonisten getestet wird

3.2 Tiere

3.2.1 Schwanzarterie der Ratte

Es handelt sich um männliche Wistar-Ratten (280 – 320 g vorzugsweise, teilweise bis 420 g) der Versuchstierzuchtanlage des Bundesinstituts für Risikobewertung (ehemals Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin), der Tierzucht Schönwalde GmbH sowie um weibliche (260 – 300 g) der zentralen Tierhaltungseinrichtung der Universität Regensburg. Die Tiere werden nach Geschlecht getrennt in einem vollklimatisierten Tierstall gehalten (22 °C, 60 % Luftfeuchte). Sie erhalten Trinkwasser und Standardfutter (Altromin[®]) nach Belieben.

3.2.2 Schweinekoronararterie

Schweineherzen werden von der Lehr- und Versuchsanstalt Teltow-Ruhlsdorf bezogen und in eiskalter, mit 95% O₂/5% CO₂ durchperlter *Krebs-Henseleit*-Lösung (siehe 3.2.2)

transportiert und aufbewahrt. Eine Lagerung bis zu 4 Tagen im Kühlschrank ist unschädlich für die freipräparierten Koronararterien [187].

3.3 Präparation und Versuchsaufbau

3.3.1 Schwanzarterie der Ratte [33]

Die Ratte wird in einem 2 L Becherglas, welches 2 min mit CO₂ vorgesättigt worden ist, getötet und anschließend mit einer Tischguillotine geköpft, um sie ausbluten zu lassen. Darauf wird sofort die Schwanzarterie (*A. caudalis*) herauspräpariert und grob von anhaftendem Fett und Gewebe befreit. Sie wird in 2 – 3 Teile gleicher Länge geteilt und jeder Abschnitt auf einen stumpfen Edelstahldraht ($d = 0.3 \text{ mm}$) aufgezogen, um das Endothel zu entfernen. Nach einer abschließenden gründlichen Reinigung wird das Gefäß in zylindrische Segmente geteilt, in die 2 stumpfe L-förmige Edelstahlhäkchen geführt werden. Diese werden in einem 20 mL Organbad fixiert mittels Faden und Schlinge. Die Temperatur beträgt 37 °C. Die Organe werden auf 5 mN vorgespannt. Bei der Nährlösung handelt es sich um Altura-Lösung folgender Zusammensetzung (in mmol/L): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25 und *D*-Glucose x H₂O 10. Die Lösung wird kontinuierlich mit Carbogen[®] (CO₂/O₂ 5/95) begast. Es folgt eine Ruhephase von 63 min, bei der die Organe zweimal nachgespannt werden ($t = 20, 40 \text{ min}$) und einmal ($t = 40 \text{ min}$) ein Wechsel der Nährlösung erfolgt (3 min Spülung) mit Zusatz von $10^{-5.2} \text{ mol/L Cocain}^1$ und $10^{-7.5} \text{ mol/L Prazosin}^2$. Es folgt ($t = 63 \text{ min}$) die erste Vorstimulation mit 10^{-6} und $10^{-5} \text{ mol/L 5-HT}$ (submaximale und maximale isometrische Kontraktion, Dauer ca. 5 min). Nach 8 minütiger Spülung, 10 minütiger Ruhephase, 3 minütiger Spülung erfolgt wiederum der Zusatz von Cocain/Prazosin (siehe oben) und nach Inkubation (20 min) die erste Konzentrations – Wirkungskurve von 5-HT (10^{-8} bis $10^{-4.5} \text{ mol/L}$, Dauer ca. 15 min). Es folgen wie nach der Vorstimulation Spülungs- und Ruhephase und nach der letzten kurzen Spülung die Inkubation mit Antagonisten (hier 4 h) und Cocain/Prazosin (siehe oben). Dann wird die letzte Konzentrations – Wirkungskurve von 5-HT aufgenommen.

3.3.2 Isolierte Koronararterie des Schweins: 5-HT_{2A}-Rezeptor [2]

Der absteigende Ast der vorderen Koronararterie (*Ramus interventricularis anterior*) wird freipräpariert, von Fett und anhaftendem Bindegewebe befreit und in Ringe von 2 – 3 mm äußerem Durchmesser und 3 – 4 mm Länge geschnitten. Das Endothel wird durch vorsichtiges Hin- und Herrollen mit einer in das Lumen der Ringe eingeführten Pinzette zerstört. Zwei triangelförmige Edelstahlhäkchen ($d = 0,3 \text{ mm}$) werden zwischen die Ringe

¹ Zur neuronalen Reuptakehemmung, um den Abbau von 5-HT zu verhindern und die Empfindlichkeit zu erhöhen.

geschoben, so dass diese horizontal positioniert sind. Die Häkchen werden in 20 mL Organbäder eingehängt, die mit *Krebs-Henseleit*-Lösung gefüllt sind. Die *Krebs-Henseleit*-Lösung hat folgende Zusammensetzung (in mM): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 1.6, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25 und *D*-Glucose x H₂O 10. Die Lösung wird kontinuierlich mit 95% O₂/5% CO₂ begast und auf eine konstante Temperatur von 37 °C erwärmt. Die Registrierung isometrischer Spannungsänderungen erfolgt wie unter 3.3.1 beschrieben. Die Ruhekraft zu Beginn des Experiments beträgt 20 mN.

Nach einer Äquilibrierungsphase von 1 h, während der die Badflüssigkeit nach jeweils 20 min erneuert wird (3 min Spülung), werden die Gewebe zweimal mit KCl (50 mM) depolarisiert. Die Kontraktion durch KCl dauert bis zu 30 min, der Abstand zwischen den Kontraktionen beträgt 1 h. Um zu überprüfen, ob das Endothel zerstört ist, wird im Anschluss an die zweite Stimulation mit KCl versucht, die Ringe mit Bradykinin (0.1 µM) zu relaxieren (5 min). Nur solche Ringe werden verwendet, die nach dieser Behandlung nicht relaxieren. Nach einer Inkubationsphase (hier: 3 h) folgt die Aufnahme einer kumulativen Konzentrations-Wirkungskurve für 5-HT in Abwesenheit (Kontrollorgane) oder Anwesenheit des Testantagonisten. Die Kontraktion wird als prozentualer Effekt der Kontraktion berechnet (siehe auch Tabelle 3.12), die durch die zweite Stimulation mit KCl (50 mM) verursacht wurde. Alle Experimente werden in ständiger Anwesenheit von Cocain (6 µM), Prazosin (0.1 µM) und Indometacin (5 µM) durchgeführt.

² Zur Blockade von α₁-Rezeptoren

3.4 Auswertung und Statistik [188]

Tabelle 3.3 Zur Auswertung und Statistik verwendete Größen

F	Zahl der Freiheitsgrade
KI	Konfidenzintervall, Bereich in dem mit zu erwartender Wahrscheinlichkeit sich der wahre Wert befindet. Hier benutzt bei Angabe der eudismischen Quotienten
	$(x_1 - x_2) \cdot t \sqrt{\quad}$ <p style="text-align: right;"><i>Gleichung 2</i></p> <p>der Wurzelterm ist derjenige aus Gleichung 3</p>
N	Stichprobenumfang
P	Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanzniveau, α), mit der die Nullhypothese abgelehnt wird
R	Spannweite ($x_{\max.} - x_{\min.}$)
s	Standardabweichung der Stichprobe
SEM	Standardfehler des Mittelwertes, $SEM = s / \sqrt{n}$
T	Prüfgröße des t-Tests
	a) zur Signifikanz des Unterschieds zweier Enantiomere (für $n_1 \neq n_2$):
	$t = \frac{x_1 - x_2}{\sqrt{\left[\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2} \right] \cdot \left[\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \right]}}$ <p style="text-align: right;"><i>Gleichung 3</i></p>
u	Prüfgröße des Tests nach Lord [189] (alternativ zum t-Test für kleine Stichprobenumfänge und $n_1 = n_2 \leq 20$)
	$u = \frac{ x_1 - x_2 }{(R_1 - R_2)/2}$ <p style="text-align: right;"><i>Gleichung 4</i></p>

Für alle Substanzen wird eine Werteanzahl $n = 6$ angestrebt. Dabei wird nach Möglichkeit randomisiert: aus praktischen Gründen werden oftmals zwei Werte pro Substanz pro Tier gemessen aufgrund der apparativen Ausstattung. In aller Regel werden also drei Tiere pro Substanz benötigt, für $n > 6$ also mehr Tiere. Wegen Organversagens

(Herausrutschens der Häkchen aufgrund Erschlaffung bei vier h Inkubationszeit) kann der Stichprobenumfang < 6 sein. Gerade bei den stärkeren Antagonisten werden mehrere Testkonzentrationen verwendet um Effekte wie Depression der maximalen Kontraktion beobachten bzw. beurteilen zu können (ohne dass dabei unbedingt die Aufnahme eines Schild-Plots angestrebt wird). Parallel zu den Antagonisten werden Kontrollorgane ($n = 1 - 3$) getestet in Abhängigkeit der pro Tag verfügbaren Organe ($8 - 20$). Die Behandlung der Kontrollorgane erfolgt analog zu den Testorganen bis auf die Inkubation der zu testenden Antagonisten. Die Auswertung erfolgte bis auf wenige Ausnahmen graphisch mit einem Lineal anhand der erhaltenen Plots. Zur Erstellung der Graphen wird GraphPadPrism®-Software benutzt bis auf den Schild-Plot von *rac-7C*. (SigmaPlot®). Ausreißervedächtige Werte werden nach zwei Methoden geprüft:

a) Ausreißertest nach Dixon

$$\left| \frac{x_1 - x_2}{x_1 - x_k} \right| = \text{Prüfgröße} \quad (x_1 = \text{Ausreißervedächtiger Wert, } x_2 = \text{nächstgrößerer/kleinerer Wert, } x_k = \text{größter/kleinsten Wert; für } n < 8, \text{ für } n \geq 8 \text{ ist im Nenner } x_k \text{ gegen } x_{k-1} \text{ zu ersetzen}$$

b) nach $\left| \frac{(x_1 - \bar{x})}{s} \right| = \text{Prüfgröße T und Vergleich mit tabelliertem Wert aus: [190]}$

$$\bar{x} = \text{Mittelwert der Stichprobe}$$

Die 4σ -Regel ($\bar{x} \pm 4\sigma$ beinhaltet 99.99 % der Werte) wird nicht angewendet, weil der Stichprobenumfang dafür im Prinzip zu klein ist.

Bei beiden Prüfverfahren ist vorher auf Normalverteilung zu prüfen. Aufgrund der geringen Werteanzahl wird der einfache Test nach *David* vorgenommen, der Quotient aus Spannweite und Standardabweichung gebildet und mit tabellierten Werten verglichen. Für aufwändigere Tests (χ^2 -Test oder *Kolmogoroff – Smirnow* – Test) ist der Stichprobenumfang zu klein und Klassenbildung wenig sinnvoll). Identifizierte Ausreißer werden in Klammern nach der Anzahl der gemessenen validen Werte angegeben.

Bei der Prüfung, ob die Werte eines Enantiomerenpaars signifikant unterschiedlich sind, wird die einseitige Fragestellung ($H_0 := \text{Enantiomer a} \leq \text{Enantiomer b}$; $H_A := \text{Enantiomer a} > \text{Enantiomer b}$) bevorzugt, weil die einseitige Fragestellung robuster ist mit $P \geq 0.95$ und $\alpha < 0.05$.

3.5 Pharmakologie von ICI 169369/ICI 170.809

Tabelle 3.4 Übersicht über pharmakologische Daten von **ICI** in der Literatur

Substanz	pA ₂	SP*	Lit.	Modell	Agonist
ICI 169.369	7.57	0.63	[191]	Humane arteria temporalis	5-HT
	8.18 ± 0.5	1.08	[192]	Arteria caudalis (Ratte)	5-HT
	8.47 ± 0.19	0.99	[193]	Uterus (Ratte)	5-HT
	7.99 ± 0.27	1.24	[193]	Uterus (Ratte)	Ergometrin
	8.92 ± 0.23	≅ 1	[194]	Portalvene (Ratte)	5-HT
	8.59 ± 0.14	-	[194]	V. mesenterica	5-HT
	8.79 ± 0.05	1	[195]	A. caudalis (Ratte)	5-HT
	9.10 ± 0.05	1	[195]	A. coronaria (Kalb)	5-HT
ICI 170.809	10.04 ± 0.06	-	[41]	A. caudalis (Ratte)	5-HT
	10.4	-	[41]	A. coronaria (Kalb)	5-HT

* Steigung des *Schild*-Plot

ICI 169.369 wurde an zehn Migränepatienten in Einzeldosen von 30 mg getestet und sehr gut vertragen. Allerdings war auch die Wirksamkeit nicht besser als unter Placebo [196].

3.6 Ergebnisse

3.6.1 Rattenschwanzarterie

3.6.1.1 *n*-Alkylderivate

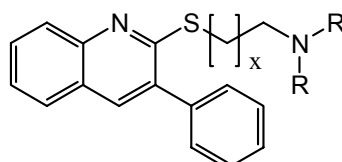


Abbildung 3.1

ICI 169.369 und 4C, 8 + 12

Tabelle 3.5 pA_2 – Werte am 5-HT_{2A}-Rezeptor von *n*-Alkylderivaten von ICI 169.369

Substanz	X	R	$pA_2 \pm SEM$	<i>n</i>
ICI 169.369	1	CH ₃	8.81 ± 0.03	16
4C	2	CH ₃	7.54 ± 0.06	6
8A	3	H	6.91 ± 0.09	4
8C	3	CH ₃	7.83 ± 0.06	6
12A	4	H	6.67 ± 0.07	5
12C	4	CH ₃	7.20 ± 0.03	6

Der gefundene Wert für die Leitstruktur **ICI 169.369** stimmt gut mit den Literaturwerten überein (Tabelle 3.4), das heißt, dass die im Rahmen dieser Arbeit folgenden Werte aussagekräftig und vergleichbar sein werden. Aus den gefundenen Werten ist ersichtlich, dass die antagonistische Potenz der Substanzen mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Nur **8C** sticht heraus, so dass man nicht mit Sicherheit von einer stetigen Abnahme sprechen kann. Weiterhin bestätigen **8A + C** sowie **12A + C** die in [110] sich abzeichnende Tendenz, dass der Antagonismus am 5-HT_{2A}-Rezeptor mit dem Methylierungsgrad zunimmt. Dies ist eine Feststellung, die auch für andere Gruppen von 5-HT_{2A}-Antagonisten gilt [52], so dass vermutet werden kann, dass die Substanzen ähnliche Rezeptorareale besetzen.

3.6.1.2 In 1-Position verzweigte Sulfane

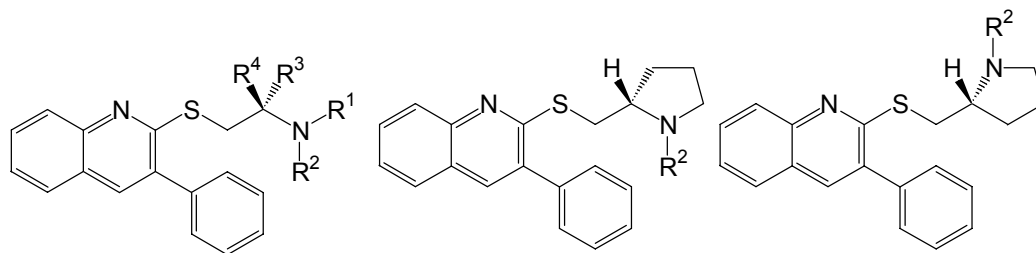


Abbildung 3.2 6, 7,

(S)-14B + C

(R)-15B + C

Tabelle 3.6 Antagonistische Aktivität der in 1-Position alkylierten Derivate

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	pA ₂ ± SEM	n	EV [#]
(R)-6A	H	H	H	C ₂ H ₅	7.14 ± 0.05	10	$\frac{2}{1}$ *
(S)-6A	H	H	C ₂ H ₅	H	6.88 ± 0.07	8	
(R)-6B	CH ₃	H	H	C ₂ H ₅	7.98 ± 0.10	5	1
(S)-6B	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H	8.01 ± 0.06	6	
rac-6C	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅ /H		8.83 ± 0.02	6	-
(R)-6C	CH ₃	CH ₃	H	C ₂ H ₅	8.79 ± 0.04	6	$\frac{2}{1}$
(S)-6C	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	H	8.41 ± 0.05	7	
rac-7A	H	H	CH ₃ /H		7.38 ± 0.03	5	-
(R)-7A	H	H	H	CH ₃	7.55 ± 0.03	9	$\frac{3}{1}$
(S)-7A	H	H	CH ₃	H	7.04 ± 0.04	9	
(R)-7B	CH ₃	H	H	CH ₃	8.96 ± 0.05	7	$\frac{6}{1}$
(S)-7B	CH ₃	H	CH ₃	H	8.20 ± 0.06	7	
rac-7C	CH ₃	CH ₃	CH ₃ /H		9.47 ± 0.04	17	-
(R)-7C	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	9.65 ± 0.08	12	$\frac{5}{1}$
(S)-7C	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	8.93 ± 0.05	9	
(S)-14B	-	H	-	-	7.92 ± 0.06	7	$\frac{2}{1}$ °
(R)-15B	-	H	-	-	7.72 ± 0.06	7 (1)	$\frac{1}{1}$

(S)- 14C	-	CH ₃	-	-	8.63 ± 0.07	9	$\frac{3}{1}$
(R)- 15C	-	CH ₃	-	-	8.14 ± 0.05	10	1

* = signifikant (t-Test) ° = signifikant nach Lord # Enantiomerenverhältnis

Es zeigt sich in dieser Position, dass ein Alkylsubstituent zu einer höheren Affinität zum 5-HT_{2A} Rezeptor führt, deutlich erkennbar am Vergleich **ICI 169.369** – (*R*)-**7C** – **ICI 170.809**, von dem allerdings nur die Literaturwerte als Vergleich dienen. (*R*)-**6C** ist immerhin äquipotent mit **ICI 169.369**. Weiterhin wird gefunden, dass bei den acyclischen Derivaten das (*R*)-konfigurierte Enantiomer das Eutomer ist, also der stärkere Antagonist ist. Eine Ausnahme bildet das Paar (*R*)- und (*S*)-**6B**, die identisch sind. Soweit sich an den in ihrem Umfang begrenzt darstellbaren Verbindungen ablesen lässt, ist der eudismische Quotient auch größer, je kleiner der Alkylsubstituent ist. Dies wird durch den Vergleich (*R*)-**7C** und (*S*)-**7C** sowie (*R*)-**6C** und (*S*)-**6C** deutlich und wird durch die anderen Enantiomerenpaare bestätigt. Die Folge ist, dass der Antagonismus der (*S*)-Enantiomere mit der Größe des Alkylsubstituenten nicht so stark abnimmt wie bei den (*R*)-Enantiomeren.

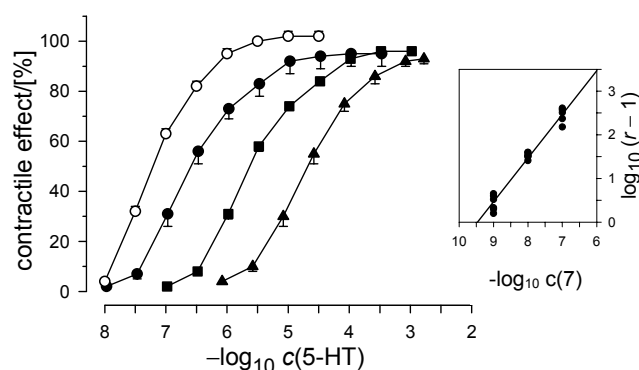
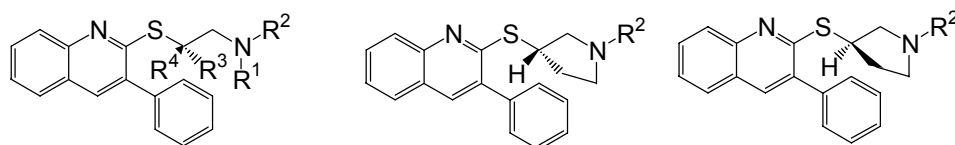


Abbildung 3.3 Kontraktion ± SEM durch 5-HT in Ab- (o, $n = 6$) und Anwesenheit von *rac*-**7C**: 1 (●, $n = 5$), 10 (■, $n = 6$) und 100 (▲, $n = 5$). Nur 2. Kurven von 3 Ratten sind abgebildet.

Die Pyrrolidinderivate **14/15B + C** verhalten sich anders als die acyclischen Substanzen. **14** und **15B** sind als ringgeschlossene Analoga von (*S*)- und (*R*)-**6B** anzusehen und sind als solche deswegen am besten mit diesem Paar zu vergleichen: Bei **14/15C** ist das (*S*)-Enantiomer das Eutomer. Bei **14/15B** ist der Unterschied, der sich zugunsten des (*S*)-Enantiomers andeutet, statistisch signifikant, bei (*R*)- und (*S*)-**6B** wird eine Äquipotenz der Enantiomere gefunden. Eine Umkehr des eudismischen Quotienten wird auch bei den analogen Etherverbindungen (*R*)-**26** und (*S*)-**28** gefunden (siehe Tabelle 3.8), die damit dieses unregelmäßige Verhalten von **14/15** und (*R*)- und (*S*)-**6B** in puncto Stereoselektivität

des Rezeptors bestätigen. Weiterhin ist festzuhalten, dass die Rigidisierung zu einem deutlichen Verlust des 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonismus führt. Ein Schild-Plot ist nur für *rac-7C* gemacht worden ($pA_2 = 9.47 \pm 0.04$ (95% Konfidenz-intervall 9.39 – 9.55), $m = 1.01 \pm 0.05$, $P > 0.50$, die Steigung ist nicht signifikant von 1 verschieden). Damit wird das kompetitiv antagonistische Verhalten der Substanzen am 5-HT_{2A}-Rezeptor demonstriert. Das Substanzpaar (*R*)- und (*S*)-**6A** verursacht in einer Testkonzentration von $10^{-5.5}$ mol/L eine signifikante Depression der 2. 5-HT Kurve (61 ± 5 % ($n = 6$) und 72 ± 3 % ($n = 5$) respektive; Kontrollen 95 ± 4 % ($n = 12$)). Dieser Effekt ist nicht mehr vorhanden bei einer Testkonzentration von 10^{-6} mol/L (93 ± 2 % ($n = 4$) und 97 ± 2 % ($n = 3$)). Für die anderen in Tabelle 3.6 genannten Substanzen wird keine regelmässig wiederkehrende Depression oder Zunahme der Kontraktionskraft der Rattenschwanzarterie gefunden, die von den Werten der jeweiligen Kontrollen abweichen, so dass auch für diese Substanzen ein rein kompetitives Verhalten postuliert wird. Für sämtliche Derivate in dieser Position wird aber gefunden, dass die antagonistische Potenz mit dem Alkylierungsgrad (am Amin) zunimmt.

3.6.1.3 In 2-Position verzweigte Sulfane

Abbildung 3.4 (R)/(S)-5B + C,
11/13

(S)-16A + C

(R)-17A + C

Tabelle 3.7 Antagonistische Aktivität der 2-Alkyl-Derivate

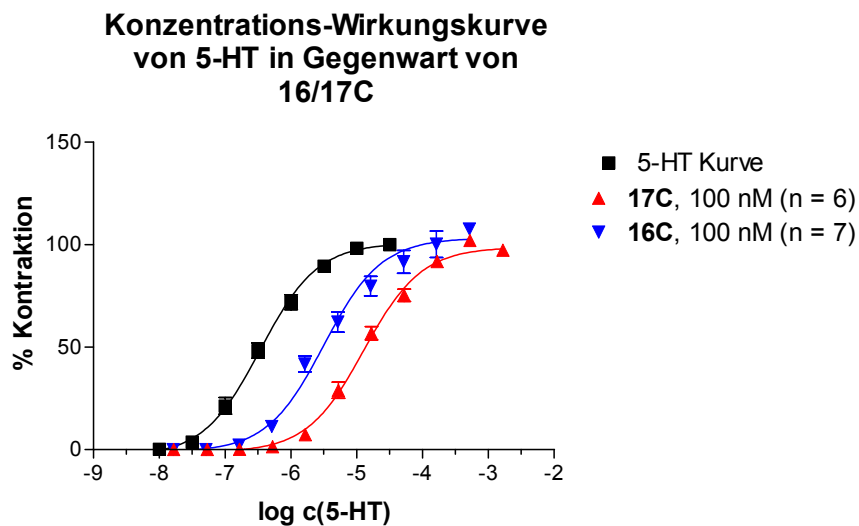
Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	pA ₂ ± SEM	n	EV [#]
(R)-5B	H	CH ₃	H	CH ₃	7.79 ± 0.12	10	$\frac{4}{1}$
(S)-5B	H	CH ₃	CH ₃	H	7.14 ± 0.08	10	
(R)-5C	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	7.13 ± 0.05	9	$\frac{1}{2}$ *
(S)-5C	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	7.36 ± 0.05	6	
13	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	7.14 ± 0.05	18	-
rac-11	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅ /H		7.11 ± 0.05	10	-
(S)-16A	-	H	-	-	7.46 ± 0.09	9	1
(R)-17A	-	H	-	-	7.69 ± 0.10	7	
(S)-16C	-	CH ₃	-	-	8.27 ± 0.04	7	$\frac{1}{3}$
(R)-17C	-	CH ₃	-	-	8.74 ± 0.06	6	

* = signifikant (t-Test) # Enantiomerenverhältnis

Das Verhalten der in 2-Position alkylierten Verbindungen ist grundsätzlich anders als das der in 1-Position alkylierten: sowohl chemisch (siehe Chemischer Teil) als auch pharmakologisch (Tabelle 3.6 und Tabelle 3.7). Die Alkylierung in der Kette führt hier zu einem drastischen Abfall des Antagonismus am 5-HT_{2A}-Rezeptor, am besten zu sehen an **13** versus **ICI 170.809** oder auch im Fall der *N*-dimethylierten Verbindungen (*R*)-**5C** und (*R*)-**7C**. Es lässt sich innerhalb der tertiären acyclischen Amine praktisch kein Unterschied des 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonismus feststellen. Das in der Seitenkette dimethylierte Derivat **13** ist hier gleich oder nur minimal schlechter als die Enantiomere von **5C**, während bei der Dimethylierung in 1-Position eine weitere Zunahme gegenüber der Monomethylierung (**7C**) auftritt und die potenteste Verbindung überhaupt resultiert. Auch hier scheint nach der

begrenzten Datenlage das (*R*)-Enantiomer das Eutomer zu sein, einzige Ausnahme ist hier das Enantiomerenpaar (*R*)- und (*S*)-**5C**.

Die eudismischen Quotienten sind von der gleichen Größenordnung wie im Fall der in 1-Position alkylierten Derivate, die Selektivität des Rezeptors ist also gleich in beiden Positionen. Hier findet sich auch im Fall von (*R*)-**5B + C** eine Ausnahme von den bisher etablierten Struktur-Wirkungsbeziehungen: die antagonistische Aktivität nimmt hier mit dem Methylierungsgrad zu. Das sekundäre Amin ist um den Faktor 4 – 5 potenter. Das wird durch die analogen Etherverbindungen **29** und **30B** bestätigt. Die Pyrrolidinderivate verhalten sich gleich den acyclischen Verbindungen darin, dass das (*R*)-Enantiomer das Eutomer zu sein scheint, auch nimmt - wie zu erwarten - der Antagonismus mit dem Methylierungsgrad am Stickstoff zu. Unerwartet ist, dass **16** und **17C**, die als ringgeschlossenes (*S*)- und (*R*)-**5C** angesehen werden, um den Faktor 8 und 40 stärker antagonistisch wirksam sind. Das ist genau entgegengesetzt der Beobachtung in 1-Position, wo die Rigidisierung zu einem Abfall des 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonismus führt.



Die in 2-Position alkylierten Derivate sind kompetitive Antagonisten, wie Abbildung 3.5 verdeutlicht. Für keine der Substanzen aus Tabelle 3.7 wird eine signifikante Depression des Maximal-effektes gefunden.

Abbildung 3.5 Rechtsverschiebung der 5-HT Kurve durch **16/17C**

3.6.1.4 In 1-Position verzweigte Ether

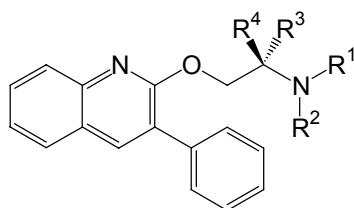


Abbildung 3.6 20, 23, 25, 26, 28 A - C

Tabelle 3.8 Antagonistische Aktivität der in 1-Position alkylierten Ether

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	pA ₂ ± SEM	n	EV [#]
(R)-26A	H	H	H	C ₂ H ₅	6.67 ± 0.08	7	1
(S)-28A	H	H	C ₂ H ₅	H	6.64 ± 0.06	7	
(R)-26B	CH ₃	H	H	C ₂ H ₅	7.72 ± 0.03	6	$\frac{1}{3}^{\circ}$
(S)-28B	CH ₃	H	C ₂ H ₅	H	8.21 ± 0.03	6	
(R)-26C	CH ₃	CH ₃	H	C ₂ H ₅	7.98 ± 0.06	8	1
(S)-28C	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	H	7.89 ± 0.06	8	
(R)-23A	H	H	H	CH ₃	7.07 ± 0.06	6	$\frac{2}{1}^*$
(S)-25A	H	H	CH ₃	H	6.85 ± 0.06	5	1
(R)-23B	CH ₃	H	H	CH ₃	7.54 ± 0.06	6	1
(S)-25B	CH ₃	H	CH ₃	H	7.69 ± 0.04	4	
(R)-23C	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	8.12 ± 0.07	8	$\frac{2}{1}$
(S) 25C	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	7.82 ± 0.03	7	
20A	H	H	CH ₃	CH ₃	6.97 ± 0.07	7	
20C	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	8.26 ± 0.06	5 (1)	

* = signifikant (*t*-Test) ° = signifikant nach *Lord* # Enantiomerenverhältnis

Die Etherverbindungen sind deutlich schwächer antagonistisch wirksam als die analogen Sulfane. Der Differenz zwischen Ethern und Sulfanen in der Wirksamkeit steigt mit dem Methylierungsgrad am Stickstoff. Die Daten dieser Etherverbindungen bestätigen die Ergebnisse der Sulfane – auch die Ausnahmen (Äquipotenz von (*R*)/(*S*)-6B und Umkehrung der bevorzugten Konfiguration bei (*S*)-14B/(*R*)-15B im Vergleich mit (*S*)-28B/(*R*)-26B). In der Reihe der 1-Methyl-derivate 23/25 ist das (*R*)-Enantiomer das wirksamere mit Ausnahme von 23/25B. Die eudismischen Quotienten sind hier jedoch geringer als bei den Sulfanen, wobei

der wahrscheinlich geringere Enantiomerenüberschuss in Betracht gezogen werden muss, der durch die Drehwerte angedeutet wird, aber nicht durch die Kapillarelektrophorese bestätigt werden konnte. Ein Enantiomerenunterschied der pA_2 -Werte verschwindet in der Reihe der Ether **26/28**, deren gefundene Drehwerte jedoch auch nicht auf Enantiomerenreinheit schliessen lassen. Die antagonistische Aktivität von **26/28A** und **C** ist demnach gleich. Der Unterschied in der antagonistischen Aktivität ist für **26/28B** jedoch signifikant und auch hier ist das (*S*)-Enantiomer das wirksamere.

3.6.1.5 In 2-Position verzweigte Ether

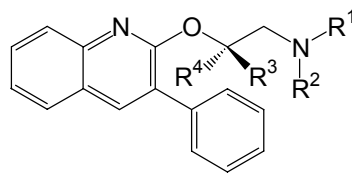


Abbildung 3.7

29/30 A - C

Tabelle 3.9 Antagonistische Aktivität von 29/30 A - C

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	$pA_2 \pm SEM$	<i>n</i>	EV [#]
(<i>R</i>)-29A	H	H	CH ₃	H	7.36 ± 0.03	6	$\frac{10}{1}$
(<i>S</i>)-30A	H	H	H	CH ₃	6.34 ± 0.05	5	$\frac{1}{1}$
(<i>R</i>)-29B	CH ₃	H	CH ₃	H	8.18 ± 0.04	6	$\frac{33}{1}$
(<i>S</i>)-30B	CH ₃	H	H	CH ₃	6.66 ± 0.04	6	$\frac{1}{1}$
(<i>R</i>)-29C	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	7.75 ± 0.08	8	$\frac{15}{1}$
(<i>S</i>)-30C	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	6.56 ± 0.10	9 (1)	$\frac{1}{1}$

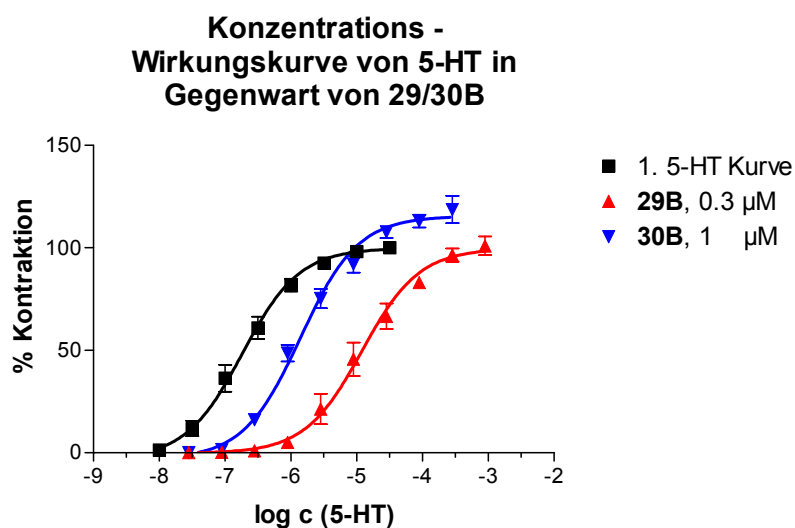


Abbildung 3.8 Rechtsverschiebung der 5-HT Kurve durch 29/30B

[#]Enantiomerenverhältnis

Auch diese Etherverbindungen bestätigen die Ergebnisse der analogen Sulfane **5**, **11**, **13**. Das (*R*)-Enantiomer ist das Eutomer.

Mit den Aminen (*R*)-**29B** + **C** werden hier die stärksten Antagonisten gefunden, die sogar wirksamer sind als die Sulfane (*R*)-**5B** + **C**. Damit verhält sich die 2-Position auch wieder anders als die 1-Position, in der die potenteren Verbindungen jeweils die Sulfane sind. Das Substanzpaar **29** und **30B** weist den im Rahmen dieser Arbeit gefundenen größten eudismischen Quotienten auf mit 33 zu 1 (KI: 42 bis 26 zu 1) und dokumentiert den rein kompetitiven Antagonismus. Die Ergebnisse der primären Amine innerhalb dieser Reihe bestätigen, dass die primären Amine generell die am schwächsten wirksamen Verbindungen sind.

3.6.1.6 Ketanserin verwandte Strukturen

Struktur – Wirkungsbeziehungen von Ketanserin und seinen Derivaten sind en detail von *Elz* [42] untersucht worden an der Rattenschwanzarterie. Außerdem wurde von *Höltje* und *Jendretzki* [53] ein Modell für die Ligandenbindung an den 5-HT_{2A} Rezeptor erarbeitet. Von *Elz* wurde gezeigt, dass – unter Beibehaltung der C₂-Kette - der 4-(4-Fluorbenzoyl)-piperidinrest (Tabelle 3.10) die optimale Passform haben muss für die Rezeptorbindung. Reduktion der Carbonylgruppe oder ein verändertes Substitutionsmuster am Phenyrling führen zu einem Verlust an antagonistischer Potenz.

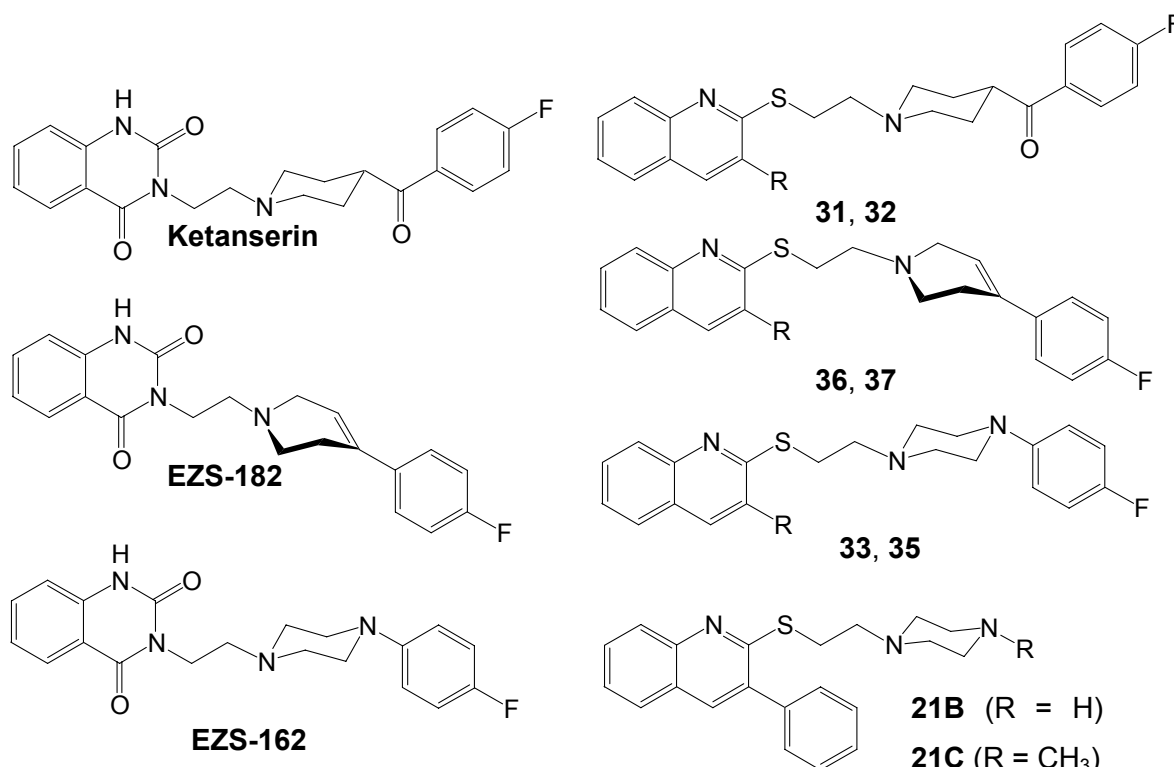


Abbildung 3.9 Ketanserin-verwandte Strukturen und **31, 32, 33, 35 - 37**

Bei Verlängerung der C₂-Kette um 1 Kohlenstoffatom und Austausch des 4-(4-Fluorbenzoyl)piperidinrestes gegen 4-(4-Fluorphenyl)piperazin wird das 4-F-Pelanserin erhalten (pA₂-Wert = 9.74, ohne Abb.). Das Pelanserinanaloge, welches 4-(4-Fluorphenyl)-

1,2,3,6-tetrahydropyridin enthält (ohne Abb.), ist mit einem pA_2 von 10.12 ± 0.02 [42] ein ausserordentlich potenter achiraler Antagonist. Unter den Variationen am 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolindion ist der Wegfall der 1-*N*-H Einheit (resultierend in einem Phthalimidderivat) erwähnenswert – dies führt zu einem Abfall des pA_2 Wertes von 3 log-Einheiten. Das Chinazolindion lässt sich bioisoster unter anderem durch 2,4(1*H*,3*H*)-Thieno[2,3-*d*]pyrimidindion ersetzen [43].

Tabelle 3.10 Antagonistische Aktivität von **31, 32, 33, 35, 36, 37**

Substanz	$pA_2 \pm SEM$	<i>n</i>	Kontraktion $\pm SEM$, relativ zu 1. Kurve in %	Kontraktion $\pm SEM$ der Kontrollen, 2. Kurve
Ketanserin	9.55 ± 0.03 [42]	-	-	-
EZS-162	7.16 ± 0.10 [42]	-	-	-
EZS-182	7.34 ± 0.08 [42]	-	-	-
31 (R = H)	9.13 ± 0.06	7	101 ± 3	112 ± 4 (7)
32 (R = Phenyl)	8.30 ± 0.07	8	81 ± 2	114 ± 4 (8)
33 (R = H)	8.14 ± 0.03	6	107 ± 5	108 ± 5 (8)
35 (R = Phenyl)	6.83 ± 0.05	8	112 ± 5	109 ± 3 (8)
36 (R = H)	7.78 ± 0.04	5 (1)	105 ± 11	99 ± 3 (6)
37 (R = Phenyl)	6.52 ± 0.06	7	102 ± 3	104 ± 4 (8)
21B	6.90 ± 0.05	5 (1)	83 ± 4	111 ± 5 (8)
21C	7.01 ± 0.09	9	107 ± 4	107 ± 3 (10)

Schließlich steigt mit der Größe des Substituenten in 2-Position die Affinität zum Rezeptor. Innerhalb dieser Reihe stört generell eine weitere Substitution mit dem Phenylrest und führt zu einem Aktivitätsverlust um den Faktor 7 - 18. Das ist bemerkenswert, weil dies die Schlussfolgerung zulässt, dass das **ICI 169369** und **Ketanserin** unterschiedlich binden. Nach den gängigen Rezeptormodellen [63, 64, 112] kann man vermuten, dass die aliphatische Aminbindungsstelle der Antagonisten identisch ist und sich die Bindungsareale einerseits für tricyclische Antagonisten und „andere 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonisten“ und

andererseits für das Chinazolindion des Ketanserins gegenüberliegen. Durch Substitution des **ICI 169.369** mit potenten Partialstrukturen der Ketanserin-verwandten Substanzen wird nun das 3-Phenylchinolin in die Position des 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolindions gebracht. In dieser Position wirkt sich der Phenylring deswegen nachteilig aus im Gegensatz zu der ursprünglichen Position, in der ein Weglassen des Phenylrings bzw. der Ersatz gegen eine Methylgruppe zu einem Abfall der antagonistischen Stärke führt. Bekanntermaßen soll eine Phenylsubstitution im Bereich des 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolindions jedoch noch toleriert werden, deswegen ist der Abfall des Antagonismus nicht noch stärker.

Innerhalb dieser Gruppe ragen die Substanz **32** und **21B** heraus, die eine signifikante Depression der Kontraktion verursachen (siehe Tabelle 3.10 und **Abbildung 3.10**). Dies wird bei **32** auf langsame Dissoziation des Antagonisten-Rezeptor Komplexes zurückgeführt. Bei **32** handelt es sich um eine lipophile Substanz, so dass deswegen die Dissoziation von der Biophase sehr langsam sein könnte. Zwischen **21B + C** ist der Unterschied bezüglich der Depression schlecht zu erklären.

Der Vergleich von **31**, **32**, **33** und **35 – 37** mit den Ketanserinderivaten fällt nicht ganz

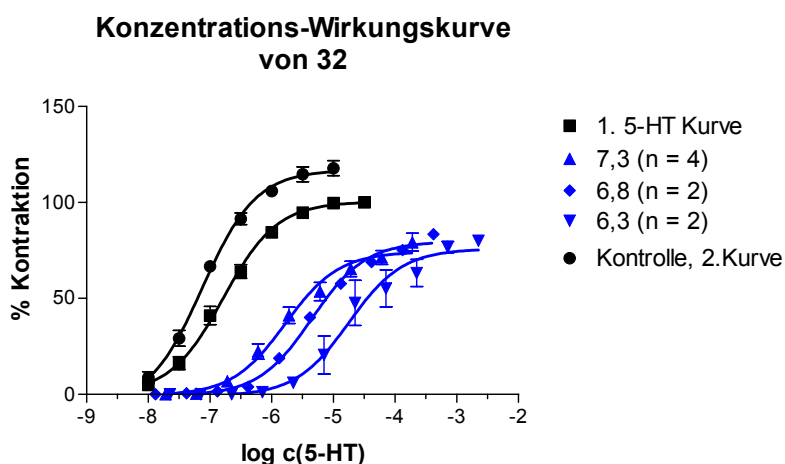
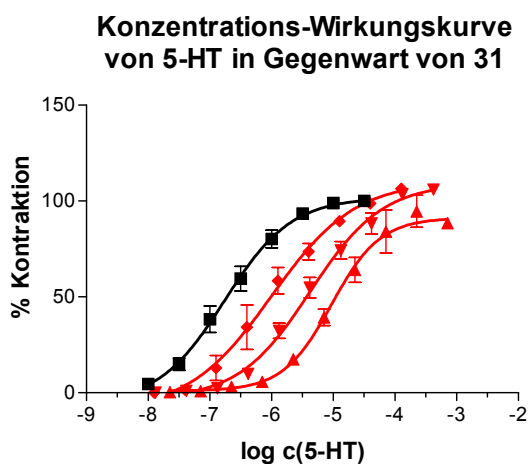


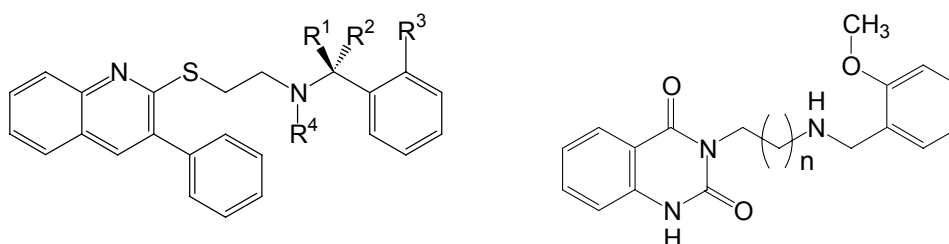
Abbildung 3.10 Konzentrations-Wirkungskurven von 5-HT in Gegenwart von **31/32**

schlüssig aus: Vergleicht man sie mit den Derivaten mit C₂-Kette, sind die Abstände der Heterozyklen und dem Piperidin nicht gleich sind durch den Einschub des Schwefels. Möglicherweise können aufgrund der längeren Kette und andere Faltung das Chinolin bzw. das 3-Phenylchinolin in die gleiche Position wie das 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolindion gelangen. Dabei wäre es plausibel, wenn das N1 (der Chinoline) die gleiche Position wie die C4 Carbonylgruppe einnahme, da beide Gruppen als Wasserstoffbrückenakzeptoren fungieren können.

Der Austausch des 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolindions gegen ein unsubstituiertes Chinolin bei **31** führt zu einer Verbindung mit einem pA_2 -Wert von über 9. Diese Verbindung ist aber schwächer wirksam als Ketanserin. Bei den Chinolinderivaten **33** und **36** kommt es dagegen zu einer Erhöhung der Wirkstärke im Vergleich zu **EZS-182** und **162**, und zu einem Abfall der Wirkstärke bei Phenylsubstitution.

Vergleicht man **31**, **32**, **33** und **35** – **37** mit Homoketanserin, 4-F-Pelanserin und dem entsprechenden 4-(4-Fluorphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridinderivat, weil die Kettenlängen in diesem Fall gleich sind, resultiert gegenüber Homoketanserin eine Zunahme des Antagonismus bei **31**, in allen anderen Fällen aber ein deutlicher Wirkverlust.

3.6.1.7 Benzylierte Amine

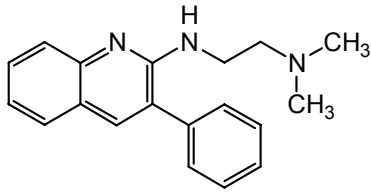
Abbildung 3.11 **22/27B** und **39B + C**n = 1: **RH-169**, $pK_p = 6.48 \pm 0.06$ n = 2: **RH-312**; $pA_2 = 4.93 \pm 0.07$ [50]Tabelle 3.11 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonismus von **22/27B** und **39B + C**

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	$pA_2 \pm SEM$	n
(<i>R</i>)- 27B	H	CH ₃	H	H	< 5.00	6
(<i>S</i>)- 22B	CH ₃	H	H	H	6.12 ± 0.06	6
39B	H	H	OCH ₃	H	6.83 ± 0.05	5
39C	H	H	OCH ₃	CH ₃	6.79 ± 0.13	6

Ein Benzylrest wirkt sich als Substituent am Stickstoff negativ auf die antagonistische Aktivität am 5-HT_{2A}-Rezeptor aus, erkennbar an einer Abnahme des pA_2 -Wertes um 2 logarithmische Einheiten. Die Substanzen wirken aber weiterhin rein antagonistisch (keine Depression) bei Testkonzentrationen von $10^{-5.5} - 10^{-6}$ mol/L. Völlig unwirksam ist (*R*)-**27B**, welches selbst bei einer Testkonzentration von 10 μ mol/L nicht zu einer messbaren Rechtsverschiebung der 1. Kurve von 5-HT führt und darauf nicht weiter getestet wird. Die Daten lassen darauf schließen, dass in dieser Position eine (*S*)-konfigurierte Substanz das Eutomer wäre. Eudismische Quotienten lassen sich nicht genau berechnen und wären nicht aussagekräftig aufgrund der zu vermutenden Verunreinigung der Enantiomere untereinander, jedenfalls anhand der gemessenen spezifischen Drehung. In dieser Serie scheint dann auch eine Methylierung am Stickstoff unwesentlich zu sein und führt zu keiner deutlichen Erhöhung des 5-HT_{2A}-Rezeptorantagonismus (**39B** zu **39C**). Die Ergebnisse überraschen etwas, wenn man (*S*)-**22B**, (*R*)-**27B**, **39B + C** mit den von Heim bearbeiteten Substanzen vergleicht. Geht man davon aus, dass die Substanzen an einem ähnlichem Areal des Rezeptors binden – weil die Benzylsubstituenten identisch sind, ebenso wie die bevorzugte Konfiguration der Enantiomere –, dann ist die Affinität zum Rezeptor noch überraschend hoch (**39B** vs **RH-312**). Ob der Phenylsubstituent stört oder nicht, lässt sich nicht beurteilen.

3.6.1.8 Amidin-haltige Strukturen

Die Substanz **24** weist einen $pA_2 = 7.58 \pm 0.06$ ($n = 6$) auf. Das ist um den Faktor 17 schlechter als der eigene Testwert von **ICI 169.369**.



Dieser Abfall dokumentiert damit sowohl den Verlust der konformativen Flexibilität durch den Ersatz des Schwefels durch den Stickstoff als auch eine möglicherweise schlechtere Penetration zum Rezeptor.

Abbildung 3.12
Substanz **24**

3.6.1.9 Sonstige

Die Substanz **FUB 101**, welche ein um zwei seiner Aromaten abgespecktes **ICI 169.369** darstellt, wird einmal in einer Testkonzentration von $10^{-4.5}$ mol/L angetestet und ergibt einen pK_B von etwa 4.9.

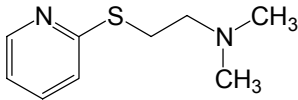


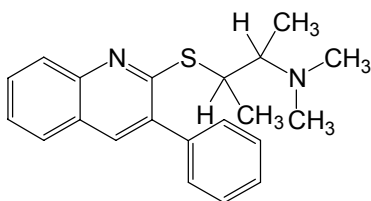
Abbildung 3.13
FUB-101

Darauf wird von weiterer Testung abgesehen aufgrund mangelnder Potenz der Substanz. Das Ergebnis kann nicht weiter überraschen, gibt es doch keinen 5-HT_{2A}-

Antagonisten ähnlicher karger Struktur, mit nur einem aromatischen Ring und einem basischen Stickstoff im Abstand von 3 Atomen ohne irgendeine weitere Funktionalität, die die Rezeptorbindung ermöglicht. Geht man davon aus, dass das **ICI** ähnlich den atypischen Neuroleptika bindet und vergleicht man es mit dem **R-96544** (Abbildung 1.16), fehlen genau die beiden aromatischen Ringsysteme, die für eine hochaffine Rezeptorbindung notwendig sind.

3.6.1.10 In 1 und 2-Position methylierte Derivate

Das erythro-konfigurierte Racemat ((1*R*,2*R*)-**10** und sein Enantiomer) zeigt einen pA_2 von 8.94 ± 0.07 ($n = 8$).



Offensichtlich kann der Affinitätsverlust durch Substitution in 2-Position durch die Affinitätserhöhung durch Substitution in 1-Position ausgeglichen bzw. leicht überkompensiert werden.

Abbildung 3.14
Substanz **10**

3.6.2 Schweinekoronararterie

Die pA_2 -Werte einiger interessanter Substanzen werden exemplarisch an einem Organ des Schweins getestet, weil an 5-HT_{2A}-Rezeptoren des Schweins gefundene Affinitäten denen des Menschen ähnlicher sein sollten [197, 198] aufgrund der größeren Ähnlichkeit der Aminosäuresequenz. Weiterhin geht es um die Untersuchung der Vergleichbarkeit der Werte von Ratte und Schwein untersucht.

Die Koronararterie des Schweins ist aufgrund seiner Größe angenehm zu präparieren und das Schweineherz billig zu beziehen. Sowohl der absteigende Ast der linken Koronararterie als auch der umlaufende Teil (Ramus circumflexus) liefern identische Werte. Schild-Plots von Referenzantagonisten (gegen 5-HT) sind nicht veröffentlicht.

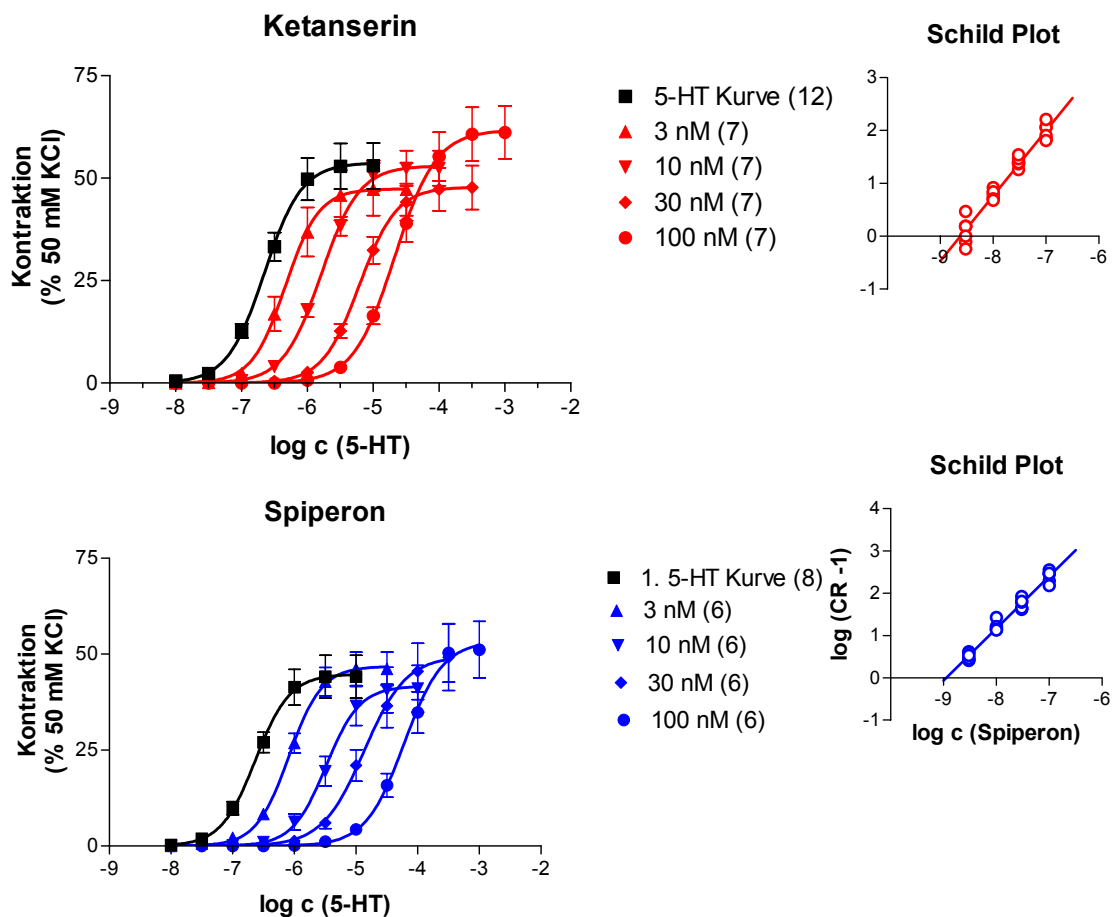


Abbildung 3.15 Konzentrations-Wirkungskurven für 5-HT in Gegenwart von 5-HT_{2A}-Referenzantagonisten mit Schild-Plots

Der Schild-Plot für **Ketanserin** an der Koronararterie liefert einen pA_2 -Wert von 8.82 ± 0.04 , $m = 1.23 \pm 0.05$ ($n = 28$), für **Spiperon** von 9.22 ± 0.04 , $m = 1.23 \pm 0.04$ ($n = 24$). Diese Steigungen sind signifikant von 1 verschieden und deuten auf ein nicht-kompetitives Verhalten hin, auf die Beteiligung anderer Rezeptoren oder auf Diffusionsprobleme zum Rezeptor [199].

Wichtig ist auch in diesem Modell die Entfernung des Endothels, weil 5-HT aufgrund endothelial vorkommender 5-HT_{2B}-Rezeptoren zu einer Relaxation des Organs führen würde (via Freisetzung von NO). Die Kontrolle, ob das Endothel entfernt worden ist, ist alternativ zu Bradykinin mit Substanz P erfolgreich durchgeführt worden.

Die pEC₅₀-Werte der Kontrollen von 5-HT betragen 6.75 ± 0.02 (10), die durchschnittliche Kontraktion 77 ± 3 % derjenigen, die durch KCl hervorgerufen worden ist. Die Spannweite reicht von 6.6 – 6.8 in Abhängigkeit der Güte der Präparation. Diese Schwankung ist deutlich geringer als bei der Rattenschwanzarterie (7.3 – 6.5). Es werden pA₂-Werte erhalten, die im Vergleich zu den pA₂-Werten, die an der Ratten-schwanzarterie erhalten werden, um ca. 0.7 logarithmischen Einheiten verschoben sind. Dieser Unterschied in den pA₂-Werten wird auch für den Referenzantagonisten **Ketanserin** gefunden. Bei (*R*)- und (*S*)-**7C** bleibt der eudismische Quotient gleich im Rahmen des 95 % Konfidenzintervalls (11 bis 4 zu 1 (Schwein) gegenüber 8 bis 3 zu 1 (Ratte)), bei (*R*)-**29B** und (*S*)-**30B** unterscheidet er sich (KI: 27 bis 15 zu 1, gegenüber 42 bis 26 zu 1 (Ratte)). Es wird beobachtet, dass die Werte anscheinend stark von der Testkonzentration des Antagonisten abhängen (Pipettier- bzw. Dosierfehler werden als unbedeutend erachtet).

Tabelle 3.12 Testwerte an der Schweinekoronararterie und Vergleich mit der Rattenschwanzarterie

Substanz	pA ₂ (PCA)	N	EV [#]	5-HT		n
				% Kontraktion	pA ₂ (RTA)	
ICI 170.809 (9C)	9.07 ± 0.11	7		52 ± 5	10.04 ± 0.06 [41]	-
(<i>R</i>)- 7C	9.02 ± 0.09	8 (2)	$\frac{7}{1}$	75 ± 6	9.65 ± 0.08	12
(<i>S</i>)- 7C	8.18 ± 0.02	8		68 ± 7	8.93 ± 0.05	9
(<i>R</i>)- 29B	7.60 ± 0.05	6	$\frac{20}{1}$	79 ± 2	8.18 ± 0.04	6
(<i>S</i>)- 30B	6.30 ± 0.04	6		60 ± 6	6.66 ± 0.04	6

Enantiomerenverhältnis

Die Abhängigkeit der pA₂-Werte von der Testkonzentration ist erkennbar an der deutlich höheren Standardabweichung von **ICI 170.809 (9C)** als bei den anderen Substanzen und an zwei Ausreißern bei 10 Werten von (*R*)-**7C**.

(*R*)-**7C** und **ICI 170.809 (9C)** werden bei verschiedenen Konzentrationen gemessen ($10^{-7.5}$ – $10^{-8.5}$) und es werden bei Erniedrigung der Testkonzentration deutlich (0.3 – 0.5 logarithmische Einheiten) niedrigere Werte gefunden. Dies passt zu dem Schild-Plot von

Ketanserin, bei dem es bei niedrigen Testkonzentrationen zu einer größeren Streuung mit niedrigeren pA_2 -Werten und demzufolge einer Steigung > 1 kommt.