

Katarzyna Szczepańska

The search for novel histamine H₃ receptor ligands in the group of piperazine derivatives

Proteins belonging to G-protein coupled receptors (GPCR) superfamily are one of the most often explored therapeutic target in drug design and discovery process. Up to date, at least 40% of drugs available on pharmaceutical market are GPCR ligands. Significance of research on this target is still increasing. Undoubtedly, one of the GPCR receptors – histamine H₃ receptor serves as an interesting research object. This relatively new biological target was discovered in the early eighties of the last century and its importance in the pathogenesis of central and peripheral nervous system diseases has not been fully explained yet.

The overall aim of this work was to obtain a series of novel, active and selective, histamine H₃ receptor ligands, whilst maintaining a favorable physicochemical properties and ADMET parameters. Two previously described compounds from the H₃R ligands library obtained in the Department of Technology and Biotechnology of Drugs – **DL76** and **DL77**, were selected as lead structures for further modifications. Considered compounds represented very promising, high H₃R antagonist potency and selectivity towards H₃R, as well as promising anticonvulsant and pro-cognitive pharmacological profile in several rodents models. Planned structural modifications included: 1) replacement of the piperidine ring with different 4*N*-heterocyclic substituted piperazine groups so as to modify the basic structural part of the molecule, 2) extension of the alkyl chain length to include 2–8 methylene groups and 3) introduction of various moieties (methyl, ethyl, phenyl, benzoyl) to the aromatic ring in eastern part of compounds.

As a result of this work, a total of eighty new piperazine derivatives were synthesized. Structure–activity studies allowed for the establishment of the 4-pyridylpiperazine moiety as a new bioisosteric piperidine replacement in H₃R ligands. The results of the *in vitro* tests proved this scaffold being a crucial element for high hH₃R affinity. Global analysis of collected data referring to influence of alkyl linker length, allowed for the selection of three methylene homologues, due to their highest H₃R affinity values among all described 4-pyridylpiperazine derivatives. Interestingly, benzophenone derivative **65** (KSK63) showed the highest affinity among all tested compounds (hH₃R K_i = 3.12 nM). Moreover, the most promising compounds exhibited anticonvulsant activity in the maximal electroshock-induced seizure (MES) model in mice. Additional, pro-cognitive properties of compound **9** (KSK19) were confirmed in the passive avoidance test. Consequently, **9** has been chosen as a new lead structure and therefore proceeded to further studies, including its potential anti-obesity activity. Animals fed with high-fat diet and treated with **9** showed significantly less weight gain, in comparison with the control group.

Katarzyna Szczepańska

Poszukiwanie nowych ligandów receptorów H₃ histaminowych w grupie pochodnych piperazyny

Receptory GPCR to jedna z najważniejszych klas białek stanowiących cel terapeutyczny w procesie projektowania leków. Obecnie co najmniej 40% leków dostępnych na rynku farmaceutycznym stanowią ligandy tych białek, a znaczenie badań prowadzonych w tym kierunku nadal wzrasta. Interesującym obiektem badań jest bez wątpienia jeden z receptorów GPCR – receptor H₃ histaminowy. Został on odkryty w latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku a jego znaczenie w patogenezie schorzeń ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego nie zostało jeszcze dokładnie wyjaśnione.

Nadrzędnym celem niniejszej pracy było uzyskanie serii nowych, aktywnych i selektywnych ligandów receptora H₃ histaminowego, z zachowaniem korzystnych właściwości fizykochemicznych oraz parametrów ADMET. Jako struktury wiodące do dalszych modyfikacji, wybrano dwa związki spośród biblioteki ligandów otrzymanych w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych - **DL76** oraz **DL77**. Związki te charakteryzują się wysokim powinowactwem i selektywnością względem receptora H₃ oraz obiecującymi właściwościami przeciwpadaczkowymi oraz prokognitywnymi w badaniach *in vivo*. Planowane modyfikacje strukturalne obejmowały: 1) zastąpienie pierścienia piperydynowego różnymi hetero(cykliczno)aromatycznymi ugrupowaniami piperazyny w części zasadowej cząsteczki, 2) wydłużenie łańcucha alifatycznego od 2 do 8 atomów węgla i 3) wprowadzanie różnych ugrupowań (metylowego, etylowego, fenyłowego, benzoilowego) do pierścienia aromatycznego w części lipofilowej związków.

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano 80 związków finalnych. Analiza zależności struktura-aktywność pozwoliła na wyłonienie ugrupowania 4-pirydylopiperazyny jako kluczowego elementu strukturalnego zapewniającego wysokie powinowactwo związków do H₃R. Analiza danych dotyczących wpływu długości łącznika alkilowego pozwoliła na wyselekcjonowanie trójwęglowych homologów, ze względu na ich najwyższe powinowactwo do celu biologicznego w grupie pochodnych 4-pirydylopiperazyny. Co ciekawe, pochodna benzofenonu **65** (KSK63) charakteryzowała się najwyższym powinowactwem spośród wszystkich otrzymanych związków (hH₃R K_i = 3.12 nM). Ponadto, najbardziej aktywne ligandy wykazały właściwości przeciwdrgawkowe, a związek **9** (KSK19) dodatkowy profil prokognitywny w mysich modelach zwierzęcych. W związku z powyższym, ligand **9** został wybrany jako nowa struktura wiodąca do dalszych badań, gdzie oceniano jego wpływ na masę ciała w modelu nadmiernego objadania się. Zwierzęta karmione dietą wysokotłuszczową i otrzymujące związek **9** miały znacznie mniejszy przyrost masy ciała, w porównaniu z grupą kontrolną.