

Marcin Drop

**Flow chemistry methods in the search for new 2-arylpyrrole derivatives
as 5-HT₆ receptor ligands**

**Synteza metodami chemii przepływowej w poszukiwaniu nowych
pochodnych 2-arylopirolu jako ligandów receptora 5-HT₆**

Promotorzy:

Prof. dr hab. Paweł ZAJDEL

Dr Frédéric LAMATY

Abstract

Green chemistry and continuous flow represent ideal partners for establishing efficient synthetic tools that provide access to novel chemical spaces. The application of these approaches has attracted particular attention for drug discovery and process development in both academia and the pharmaceutical industry.

Extending the concepts of sustainable medicinal chemistry, a new series of serotonin type 6 receptor (5-HT₆R) antagonists, based on a 2-arylpyrrole central core, was developed. This new scaffold was obtained from the degradation of 1*H*-pyrrolo[3,2-*c*]quinoline, a structural framework for previously reported 5-HT₆R neutral antagonists. The key step in the synthesis of the central 2-arylpyrrole core, ring-closing metathesis, was optimized under green chemistry and continuous flow concepts. Furthermore, 75 final compounds were designed, synthesized, and biologically evaluated for systematic structure-activity relationship studies. These provided the original templates for developing 5-HT₆R antagonists which differently impact 5-HT₆R-operated Gs signaling: compounds built up on 2-phenyl-1*H*-pyrrole-3-carboxamide behaved as inverse agonists, while 3-unsubstituted 2-phenyl-1*H*-pyrrole derivatives were classified as neutral antagonists. In addition, the impact of selected compounds on 5-HT₆R-operated non-canonical signaling pathways, Cdk5 and mTOR, was determined.

The studies identified several potent and selective 5-HT₆R inverse agonists at Gs and Cdk5 signaling pathways, with high metabolic stability, no cytotoxicity, and favorable brain penetration. Among them, (*R*)-2-(4-fluorophenyl)-1-[(3-chlorophenyl)sulfonyl]-*N*-(pyrrolidin-3-yl)-1*H*-pyrrole-3-carboxamide, reversed drug-induced memory impairments in novel object recognition test and exhibited pro-cognitive activity in attentional set-shifting tasks in rats. In turn, 2-(4-fluorophenyl)-1-[(3-chlorophenyl)sulfonyl]-*N*-(piperidin-4-yl)-1*H*-pyrrole-3-carboxamide, which additionally suppressed mTOR kinase, produced an anti-allodynic effect in spinal nerve ligation-induced neuropathy in rats.

Finally, a new eco-friendly synthetic route, combining both batch and flow chemistry approaches, was established for the preparation of a representative of 2-phenyl-1*H*-pyrrole-3-carboxamide derivatives. The optimized process limited the number of synthetic steps, replaced toxic chemicals and solvents with green alternatives, improved the work-up, decreased the time and costs of the synthesis, and significantly increased the total yield of the process.

Streszczenie

Koncepcja tzw. zielonej chemii oraz metody chemii przepływowej, poprzez tworzenie przyjaznych dla środowiska i wydajnych narzędzi syntetycznych, otwierają możliwość eksplorowania nowej przestrzeni chemicznej. Zastosowanie tych podejść przyciąga uwagę w procesie opracowywania nowych leków, zarówno w środowisku akademickim, jak i w przemyśle farmaceutycznym.

W ramach koncepcji zrównoważonej chemii medycznej, opracowano nową serię antagonistów receptora serotoninowego typu 6 (5-HT₆R), opartą na centralnym rdzeniu 2-arylopirolu. Związki powstały w wyniku degradacji 1*H*-pirolo[3,2-*c*]chinoliny, stanowiącej szkielet wcześniej opisanych neutralnych antagonistów 5-HT₆R. Kluczowy etap syntezy rdzenia 2-arylopirolowego, metateza z zamknięciem pierścienia, został zoptymalizowany łącząc koncepcje zielonej chemii i chemii przepływowej. Ponadto zaprojektowano, zsyntetyzowano i poddano ocenie biologicznej 75 cząsteczek w celu analizy zależności pomiędzy ich strukturą a aktywnością. Wyniki badań wskazały na dwa oryginalne układy umożliwiające opracowanie antagonistów 5-HT₆R, wpływających w różny sposób na zależny od receptora szlak Gs: 2-fenilo-1*H*-pirolo-3-karboksamid dla odwrotnych agonistów oraz 2-fenilo-1*H*-pirol dla neutralnych antagonistów. Ponadto określono wpływ wybranych związków na alternatywne szlaki sygnalizacji zależne od 5-HT₆R, kinazy Cdk5 i mTOR.

Rezultatem badań było zidentyfikowanie kilku związków o cechach silnych i selektywnych odwrotnych agonistów 5-HT₆R w szlakach Gs i Cdk5. Wybrane związki charakteryzowały się wysoką stabilnością metaboliczną, brakiem cytotoksyczności oraz przenikały do mózgu. Wśród najbardziej obiecujących połączeń, (*R*)-2-(4-fluorofenilo)-1-[(3-chlorofenilo)sulfonylo]-*N*-(pirolidyn-3-ylo)-1*H*-pirolo-3-karboksamid, odwracał zaburzenia pamięci wywołane podaniem skopolaminy w teście rozpoznawania nowego obiektu i wykazywał aktywność pro-kognitywną w teście przerzutności uwagi u szczurów. 2-(4-fluorofenilo)-1-[(3-chlorofenilo)sulfonylo]-*N*-(piperidyn-4-ylo)-1*H*-pirolo-3-karboksamid, który dodatkowo hamował zależny od 5-HT₆R szlak kinazy mTOR, łagodził allodynię mechaniczną wywołaną podwiązaniem nerwu rdzeniowego u szczurów. Związek ten wskazuje potencjalne zastosowanie w terapii bólu neuropatycznego.

Ponadto, dla jednego ze związków wiodących, opracowano nowy, ekologiczny szlak syntezy łączący podejście klasycznej chemii organicznej i chemii przepływowej. Proces optymalizacji ograniczył liczbę etapów syntezy, zastąpił toksyczne substancje chemiczne i rozpuszczalniki „zielonymi” alternatywami, poprawił proces oczyszczania, skrócił czas i koszt syntezy oraz znacznie zwiększył całkowitą wydajność procesu.