

VU Research Portal

Design and Synthesis of New Histamine H4 Receptor Ligands

Smits, R.A.

2009

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Smits, R. A. (2009). *Design and Synthesis of New Histamine H4 Receptor Ligands*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING (SUMMARY IN DUTCH)

Ontwerp en synthese van nieuwe histamine H₄ receptor liganden

Histamine is een belangrijke chemische boodschapper bij een verscheidenheid aan fysiologische processen. Dit imidazool ligand sorteert zijn effect door te binden aan een groep G-eiwit gekoppelde receptoren (GPCRs), deze receptoren heten de histamine H₁ receptor (H₁R), H₂R, H₃R en H₄R en zijn vernoemd naar de volgorde waarin ze zijn ontdekt. Een overzicht van het belang van deze histamine receptoren wordt gegeven in hoofdstuk 1, samen met een selectie uit de reeds bekende liganden die aan deze GPCRs binden. De aminozuurvolgorde van de H₃R heeft de grootste overeenkomst met die van de H₄R en veel van de imidazool bevattende liganden die oorspronkelijk voor de H₃R zijn ontworpen hebben ook affiniteit voor de H₄R. Door het verschil in structuur en functie is het evenwel duidelijk dat deze meest recent ontdekte histamine receptor farmacologisch gezien uniek is met een geheel verschillend expressiepatroon in het lichaam. In de laatste jaren is er aanzienlijke vooruitgang geboekt op het gebied van de ontwikkeling van nieuwe H₄R liganden. Farmacochemisch onderzoek heeft ertoe geleid dat onderzoekers de beschikking kregen over verschillende farmacologisch actieve H₄R liganden om het belang van de H₄R in de biologische processen te kunnen bestuderen (voorbeelden zijn de H₄R agonist 4-methylhistamine en de H₄R antagonist JNJ7777120). Het gebruik van H₄R liganden in studies met onder andere proefdieren, heeft duidelijk gemaakt dat de H₄R een belangrijke rol speelt bij ontstekingsprocessen en allergische aandoeningen, alsmede het ontstaan van pijn en pruritis (jeuk). De reeds bekende liganden voor de H₄R hebben verschillende eigenschappen die ze ongeschikt maken voor het beantwoorden van specifieke onderzoeksvragen. Zo is bijvoorbeeld de antagonist JNJ7777120 door zijn korte *in vivo* halfwaardetijd in proefdieren ongeschikt voor het bestuderen van chronische ontstekingsprocessen of andere langdurige *in vivo* studies. Hoewel het H₄R onderzoek zich nog in de preklinische ontwikkelingsfase bevindt, kunnen nieuwe liganden mogelijk leiden tot innovatieve toepassingen om een aantal slecht of onbehandelbare H₄R gerelateerde aandoeningen te behandelen.

Het werk in dit proefschrift had als doel nieuwe chemische verbindingen te ontwikkelen die gebruikt kunnen worden voor het karakteriseren van de farmacologie van de H₄R door het uitvoeren van *in vitro* en *in vivo* experimenten. Zo kan een bijdrage geleverd worden aan het begrijpen van de rol van deze receptor in fysiologische processen. Het uitgangspunt voor dit project was het antipsychoticum clozapine, waarvan bekend is dat het aan zeer veel GPCRs bindt. Het optimaliseren van de structuur van clozapine voor een hoge H₄R

affiniteit, zoals is beschreven in hoofdstuk 2, leidde tot de ontdekking van de potente H₄R agonist VUF6884 (H₄R, pK_i=7.60). Farmacologische experimenten toonden aan dat zowel VUF6884 en de antagonist JNJ7777120 aan de orthostere bindingsplaats (de plek waar ook histamine de receptor bindt) van de H₄R binden. Er is aangetoond dat beide verbindingen [³H]histamine op een competitieve manier van de receptor kunnen verdringen. Ook is aangetoond dat de effecten van VUF6884 competitief worden geremd door de antagonist JNJ7777120, dit suggereert een aanzienlijke overlap van de plaatsen waar beide verbindingen de receptor binden. Op basis van de structuur-activiteits relatie (SAR) studie van de clozapine analoga, is een 'flexible alignment' model ontwikkeld met als doel dit te gebruiken voor het ontwerp van nieuwe H₄R liganden.

Op basis van het model is er, zoals beschreven in hoofdstuk 3, een serie kleine verbindingen (fragmenten) ontworpen, gesynthetiseerd en getest op de H₄R. Deze serie bevatte onder andere 2-(4-methyl-1-piperazinyloxy)-quinoxaline (VUF10050, pK_i=6.05). Deze verbinding is geselecteerd als een nieuw startpunt voor de ontwikkeling van quinoxaline H₄R liganden. Vervolgens werd er een onderzoek naar de SAR van deze quinoxaline verbinding gedaan met behulp van molecular modeling en parallele synthese. Deze strategie resulteerde in twee nieuwe zeer potente H₄R liganden; 6,7-dichloro-3-(4-methylpiperazin-1-yl)quinoxalin-2(1*H*)-one (VUF 10214, pK_i=8.25) en 2-benzyl-3-(4-methylpiperazin-1-yl)quinoxaline (VUF 10148, pK_i=7.40). *In vivo* studies toonden aan dat VUF10214 significante ontstekingsremmende eigenschappen heeft in een model voor acute ontstekingen in de rat.

De serie fragmenten bevatte ook een tweede verbinding met een quinazoline groep, deze verbinding was het startpunt voor de studie die beschreven staat in hoofdstuk 4. Door een 'scaffold hopping' strategie toe te passen en met behulp van de SAR die tijdens de quinoxaline was bestudeerd, is ook het quinazoline fragment geoptimaliseerd voor H₄R affiniteit. Deze aanpak leidde tot de ontdekking van 6-chloro-*N*-(furan-3-ylmethyl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)quinazolin-4-amine (VUF10499, pK_i=8.12) en 6-chloro-2-(4-methylpiperazin-1-yl)-*N*-(thiophen-2-ylmethyl)quinazolin-4-amine (VUF10497, pK_i=7.57) als potente histamine H₄R inverse agonisten. Beide verbindingen bezitten eveneens aanzienlijke affiniteit voor de H₁R en zijn mogelijk een uitgangspunt voor de ontwikkeling van een nieuwe klasse antihistaminica die twee receptoren kunnen bezetten. H₁/H₄ antagonisme gecombineerd in een molecuul kan mogelijk toegevoegde klinische waarde hebben in ontstekingsprocessen en allergische aandoeningen. De verbindingen uit deze serie gedragen zich als antagonist op de rat H₄R en hebben een ontstekingsremmende werking *in vivo* in de rat.

Omdat de thiofeen en furaan groepen van respectievelijk verbindingen VUF10497 en VUF10499 vrij lipofiel zijn is er getracht om deze groepen voor meer polaire groepen te vervangen teneinde de wateroplosbaarheid te verhogen. Deze strategie leidde tot de serie zeer potente sulfonamide gesubstitueerde quinazolines in hoofdstuk 5. De nieuwe zijketen wordt verondersteld een interactie aan te kunnen gaan met een pocket van de receptor die eerder gedefinieerd is op basis van een flexible alignment model (hoofdstuk 3).

Door het introduceren van verschillende substituenten op de sulfonamide stikstof is de affiniteit voor de H₄R geoptimaliseerd. De interactie van de sulfonamide quinazolines en een aantal eerder ontwikkelde quinazolines is beschreven met een 'qualitative structure-activity relationship' (QSAR) vergelijking.

De sulfonamide analoga hebben hoge affiniteit voor de humane H₄R en gedragen zich op deze receptor als inverse agonisten. *In vivo* onderzoek met 2-(6-chloro-2-(4-methylpiperazin-1-yl)quinazoline-4-amino)-*N*-phenylethanesulfonamide (VUF10519, pK_i= 8.31), toonde aan dat deze verbinding een significante ontstekingsremmende werking had in een proefdier model voor acute ontstekingsreacties.

De twee potente H₄R liganden (5-chloro-1*H*-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanone (JNJ7777120) ontwikkeld door Johnson & Johnson en 2-(6-chloro-2-(4-methylpiperazin-1-yl)quinazoline-4-amino)-ethanesulfonamide (VUF10558, beschreven in hoofdstuk 5) zijn geselecteerd om verder te ontwikkelen tot potentiële radioliganden. Deze radioliganden zouden gebruikt kunnen worden om ontstekingsprocessen waar te nemen door middel van positron emissie tomografie (PET). In hoofdstuk 6, staat beschreven hoe de twee geselecteerde verbindingen succesvol gelabeld zijn met een [¹¹C]isotoop met hoge radiochemische opbrengst. Na het bestuderen van de distributie van de radioliganden in de rat, werden twee zeer verschillende distributiepatronen waargenomen. [¹¹C]JNJ7777120 passeerde snel de bloed-hersen barrière (BHB) en werd vastgehouden in de hippocampus en de bulbus olfactorius. Deze waarneming doet vermoeden dat er H₄R receptoren aanwezig zijn in deze specifieke hersengebieden. In tegenstelling tot [¹¹C]JNJ7777120 leek [¹¹C]10558 de BHB niet te passeren en de distributie van dit radioligand leek zich dus te beperken tot de periferie. Beide liganden in deze studie kunnen door het verschil in distributiepatroon beschouwd worden als complementaire stoffen die gebruikt kunnen worden voor onderzoek aan de H₄R

Gedurende een screen van een serie verbindingen uit onze eigen database, werd *S*-(2-guanidylethyl)-isothiourea ontdekt als een potente H₄R agonist. Deze verbinding heeft een hoge H₄R affiniteit en een 33-voudige selectiviteit voor de H₄R over de H₃R, terwijl de affiniteit voor de andere histamine receptoren nagenoeg verwaarloosbaar is. In hoofdstuk 7 wordt deze verbinding geïntroduceerd als een nuttig en complementair farmacologisch hulpmiddel dat gebruikt kan worden bij het doorgronden van de fysiologische rol van de H₄R. Een nieuwe synthese procedure voor VUF8430 is eveneens ontwikkeld, zodat deze verbinding snel en eenvoudig gesynthetiseerd kan worden. Door het gebruik van microwave chemie in de laatste stap en het uitkristalliseren van de eindverbinding in het reactievat kan VUF8430 in grote hoeveelheden en hoge zuiverheid worden verkregen.