

WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCyny LABORATORYJNEJ

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY



Joanna Raczak-Gutknecht

Ocena farmakologiczna udziału receptorów α_2 -adrenergicznych
w efektach mydriatycznych pochodnych imidazoliny w oparciu o
analizę ilościowych zależności struktura-aktywność (QSAR)

Praca doktorska wykonana w Katedrze
Biofarmacji i Farmakodynamiki GUMed

Promotor:

Prof. dr hab. Roman Kaliszan,

czł. rzecz. PAN, czł. koresp. PAU

Promotor pomocniczy:

Prof. dr hab. Antoni Nasal

Gdańsk 2017

I. STRESZCZENIE

Związki imidazolinowe, pochodne klonidyny – znanego leku obniżającego ciśnienie tętnicze krwi podane dożylnie szczurom, powodują rozszerzenie źrenicy. Działanie to jest związane z pobudzeniem postsynaptycznych receptorów α_2 -adrenergicznych w obrębie jądra Edingera-Westfala w mózgu. Eksperyment przeprowadzono wg zmodyfikowanej metody Kossa, polegającej na badaniu wpływu związków imidazolinowych na zmiany szerokości źrenicy u szczurów. Doświadczenia przeprowadzane były na całych zwierzętach in vivo podając zwierzętom dożylnie szeroki zakres skumulowanych dawek poszczególnych ligandów i porównując siłę działania mydriatycznego (wyrażoną jako efekt maksymalny, E_{max}) oraz powinowactwo tych związków do ośrodkowych receptorów α_2 -adrenergicznych (przedstawionych jako wartości dawek równoefektywnych, ED_{50}). Do badań wybrano dziewiętnaście pochodnych imidazolin, które w badaniach radioizotopowych wykazywały się zróżnicowanym powinowactwem do receptorów α_2 -adrenergicznych w mózgu. Seria badanych związków składała się z: klonidyny, rilmanidyny, moksonidyny, p-aminoklonidyny, brimonidyny, ST 91, gunfacyny, ksylazyny, RWJ 44408, oksymetazolin, brimonidyny, tizanidyny, guanabenzu, cirazolin, agmatyny, detomidyny, lofeksydyny, deksmedetomidyny marsandyny i 7-metylomaryzonidyny - dwóch nowych imidazolin wykazujących w badaniach in vitro znaczne powinowactwo do receptorów α_2 -adrenergicznych mózgu, o działaniu hipotensyjnym oraz bradykardię u szczurów. BU224 - analog imidazolin, określany jako selektywny ligand receptorów I2-imidazolinowych, zastosowano jako kontrolę negatywną.

Celem pracy było porównanie działania mydriatycznego grupy związków imidazolinowych. Druga część badania miała na celu potwierdzenie udziału receptorów α_2 -adrenergicznych (z uwzględnieniem ich podtypów, zwłaszcza α_2D) w efekcie rozszerzania źrenicy u szczurów, wywoływanym przez badane ligandy. W tej części eksperymentu, efekt mydriatyczny związków był badany w obecności antagonistów receptora α_2 -adrenergicznego: johimbiny, BRL44408, ARC 239, JP-1302, RX 821002, a także selektywnego antagonisty receptora II-imidazolinowego - AGN 192403. Potwierdzono w ten sposób brak udziału receptorów imidazolinowych w mechanizmie rozszerzania źrenicy. Kolejnym celem badania było znalezienie ilościowej zależności

między strukturą chemiczną a aktywnością mydriatyczną w grupie imidazolin. Podczas analizy QSAR brano pod uwagę związane z wartością ED50. Struktury związków zostały poddane modelowaniu molekularnemu.

Eksperymenty farmakologiczne potwierdziły zależną od dawki aktywność mydriatyczną ligandów receptora α_2 -adrenergicznego. Spośród dwudziestu badanych pochodnych, 18 wykazało zróżnicowane zależne od dawki rozszerzenie źrenicy. Zarówno agmatyna, jak i BU224 nie wywołały rozszerzenia źrenicy u szczurów. Eksperymenty z użyciem antagonistów wykazały, że za działanie mydriatyczne wywołane pochodnymi imidazolin odpowiedzialny jest najprawdopodobniej podtyp α_2D -receptora adrenergicznego.

W odniesieniu do pełnej serii 18 pochodnych imidazolin, nie stwierdzono istotnej korelacji między ich wartościami ED50 a obliczonymi parametrami lipofilności (CLOGPHYP i CLOGPACD). Uzyskano natomiast istotną korelację między ED50 a log kw dla podgrupy ośmiu związków z tej grupy.

Powodem braku istotnej zależności QSAR może być złożony mechanizm interakcji receptora α_2 -adrenergicznego. Ze względu na specyficzny polarny charakter oddziaływań, mogą być one trudne do określenia ilościowego a pomocą znanych deskryptorów strukturalnych.

II. ABSTRACT

Imidazoline derivatives, having the chemical structure similar to well-known hypotensive drug - clonidine produce pupillary dilation after systemic application to the rats. This action is assumed to be connected with the stimulation of postsynaptic α_2 -adrenoceptors within the Edinger-Westphal nucleus in the brain. The eye pupil dilatory effects of the compounds were determined in anaesthetized male Wistar rats according to Koss method. Applying this model, experiments were carried out *in vivo* in the whole animal with testing a series of well-known and newly synthesized imidazoline agents in a wide range of doses, assessing comparatively the strength of mydriatic action (expressed as maximum effects, E_{max}) and the affinity of these compounds towards central α_2 -adrenergic receptors (reflected by values of equieffective doses, ED_{50}). Nineteen imidazolines were chosen showing in radioligand binding studies diverse affinity to brain α_2 -adrenoceptors. A series of the compounds tested was composed of: clonidine, rilmenidine, moxonidine, p-aminoclonidine, brimonidine, ST 91, guanabenz, xilazine, RWJ 44408, oxymetazoline, brimonidine, tizanidine, guanabenz, cirazoline, agmatine, detomidine, lofexidine, dexmedetomidine, marsanidine and 7-methylmarsanidine – two new imidazolines exerting marked *in vitro* affinity for brain α_2 -adrenergic receptors and producing hypotensive and bradycardic effects in anaesthetized rats were also included. BU224 – imidazoline analog classified as selective ligand for I_2 -imidazoline receptors was applied as negative control.

The aim of this study was to comparatively determine the mydriatic effect in rats of a group of the imidazoline compounds. The second part of the study was to confirm the contribution of α_2 -adrenoceptors (and their subtypes, especially α_{2D}), in the effect evoked by the ligands tested. The animals were pretreated with the following α_2 -adrenoceptor antagonists: yohimbine, BRL44408, ARC 239, JP-1302, RX 821002 and also a selective I_1 -imidazoline receptor antagonist – AGN 192403 to confirm that imidazoline receptors are not involved in mechanism of pupil dilation. The another aim of the study was to find quantitative relationship between the chemical structure and mydriatic activity in a group of imidazolines.

In QSAR analysis half maximum mydriatic effect (ED_{50}) was considered. All structures were submitted to molecular modeling.

The pharmacological experiments, confirmed the dose-dependent mydriatic activity of α_2 -adrenoceptor ligands. Among twenty imidazol(in)e derivatives studied, 18 produced varied dose-dependent pupil dilatory effects. For both agmatine as well as BU224 no dilatory effect on the rats pupil was observed. The experiments with use of antagonists showed that mydriatic effect caused by imidazoline derivatives is mediated probably by α_{2D} -adrenoceptor subtype.

For the full series of imidazol(in)e derivatives considered 18 compounds, no significant correlation was found between their ED_{50} values and the calculated lipophilicity parameters, ($CLOGP_{HYP}$ and $CLOGP_{ACD}$). A significant correlation between ED_{50} and $\log k_w$ was obtained for a subgroup of eight imidazol(in)es.

The reason of lack of significant QSAR may be a complex mechanism of drug- α_2 -adrenergic receptor interactions. Because of their predominantly specific polar nature it may be difficult to quantify with the known structural descriptors contrary to specific molecular bulkiness-related interactions.