



POLITECHNIKA KRAKOWSKA

im. Tadeusza Kościuszki

Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Katedra Chemii i Technologii Organicznej

Rozprawa doktorska

mgr inż. Przemysław Zaręba

**Synteza, właściwości oraz analiza konformacyjna nowych
N-heksyloarylopiperazyn jako ligandów receptorów
aminergicznych**

Promotor: dr hab. inż. Izabela Czekaj, prof. PK

Promotor pomocniczy: dr inż. Jolanta Jaśkowska

Kraków 2022

Podziękowania

Składam podziękowania wszystkim osobom zaangażowanym w powstanie niniejszej pracy doktorskiej oraz związanych z nią publikacji:

*Pani **dr hab. inż. Izabeli Czekaj, prof. PK**, za poświęcony czas, opiekę merytoryczną oraz wsparcie w obszarze modelowania molekularnego.*

*Pani **dr inż. Jolancie Jaśkowskiej**, za cierpliwość, opiekę merytoryczną i pomoc w aspektach naukowych oraz organizacyjnych.*

*Panu **dr inż. Pawłowi Śliwie**, za wprowadzenie w obszar modelowania molekularnego, a także nieocenioną pomoc w rozwiązywaniu napotkanych problemów i współpracę badawczą.*

*Panu **prof. dr hab. Pawłowi Zajdłowi**, za poświęcony czas, cierpliwość oraz cenne uwagi, dotyczące sposobu prezentacji uzyskanych wyników badań.*

*Zespołowi Zakładu Chemii Leków, Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja, kierowanemu przez **prof. dr hab. Andrzeja Bojarskiego**, w szczególności **dr Grzegorzowi Satale** za przeprowadzenie testów radioreceptorowych oraz funkcjonalnych.*

*Panu **dr. hab. Gniewomirowi Lataczowi**, za przeprowadzenie badań ADMET.*

*Całemu zespołowi **Chemii i Technologii leków**, Katedry Chemii i Technologii Organicznej, za pomoc, wzajemne wsparcie oraz pozytywną atmosferę.*

Dziękuję mojej Żonie Karolinie oraz Rodzicom za ciągłe wsparcie i wyrozumiałość.

Pracę dedykuję mojej Córcie Zosi.

Wykaz publikacji i patentów w ramach pracy doktorskiej:

- D1.** Zaręba P., Jaśkowska J., Czekaj I., Satała G., *Design, synthesis and molecular modelling of new bulky Fananserin derivatives with altered pharmacological profile as potential antidepressants*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2019**, 27(15), 3396–407, (IF = 3.073)*.
- D2.** Zaręba P., Jaśkowska J., Śliwa P., Satała G., *New dual ligands for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors from the group of 1,8-naphthyl derivatives of LCAP*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2019**, 29(16), 2236–42, (IF = 2.572)*.
- D3.** Zaręba P., Jaśkowska J., Satała G., *Nowe N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów oraz sposób wytwarzania nowych N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów*, **PL240473B1, 2022.**
- D4.** Zaręba P., Drabczyk A.K. Jaśkowska J., Satała G., *Chemical puzzles in the search for new, flexible derivatives of lurasidone as antipsychotic drugs*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2020**, 28(10), 15,115459, (IF = 3.641)*.
- D5.** Zaręba P., Śliwa P., Satała G., Zajdel P., Latacz G., Jaśkowska J., *New N-aryl-N'-aryl/(thio)ureido-/sulfamoylamino-derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines: Effect of structural modifications on selectivity over 5-HT_{1A} receptor*, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2022**, 235, 114319, (IF = 7.088)*.

*Impact Factor w roku wydania publikacji

Źródła finansowania

Prace syntetyczne oraz badania powinowactwa receptorowego zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, projekt LIDER VI, „*Synteza i ocena aktywności nowych ligandów działających na receptory ośrodkowego układu nerwowego (oun)*” (LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015).

Badania parametrów farmakokinetycznych oraz toksykologicznych ADMET były finansowane z budżetu TRL 2.0. – Projektu realizowanego przez Centrum Transferu Technologii PK w ramach programu MNISW Inkubator Innowacji 2.0. Działanie jest finansowane w ramach pozakonkursowego programu wspierającego zarządzanie badaniami i komercjalizację B+R.

Obliczenia oraz symulacje komputerowe zostały wykonane z w ramach infrastruktury PLGrid (granty: lcaps2019, lcaps2020, plgnzzb, plgnzzb2, plgnzzb3)

Część wyników została zaprezentowana na konferencji naukowej 257th ACS National Meeting & Exposition, Orlando USA, **31.03.–04.04.2019**, w ramach projektu PROM nr PPI/PRO/2018/1/00013/U/001, który jest współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój.

Wykaz publikacji i patentów, nieobjętych pracą doktorską:

1. Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., Majka Z., *Solvent-free microwave-assisted synthesis of arypiprazole*, *Current Chemistry Letters* **2018**, 7, 81–6.
2. Jaśkowska J., Zaręba P., Śliwa P., Pindelska E., Satała G., Majka Z., *Microwave-Assisted Solid-Phase Synthesis of Trazodone and its derivatives as new 5-HT_{1A} ligand*, *Molecules* **2019**, 24, 1609–28.
3. CannLab Sp. z o.o.: Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., *Wdrożenie technologii oczyszczania ekstraktu roślinnego oraz technologii izolacji wybranych związków bioaktywnych*, Kraków **2019**.
4. Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P. Pindelska E., *Sposób wytwarzania N-podstawionych arylopipezyn*, zgłoszenie **PL434376A1, 2020**.
5. Jaśkowska J., Zaręba P. Drabczyk A.K., *Nowe sole trazodonu, sposób wytwarzania nowych soli trazodonu i zastosowanie nowych soli trazodonu*, zgłoszenie **PL434293A1, 2020**.
6. Jaśkowska J., Zaręba P., Drabczyk A., Kozak A., Madura I.D., Majka Z., Pindelska E., *New Pharmaceutical Salts of Trazodone*, *Molecules* **2021**, 26, 769.
7. Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P., *Sposób wytwarzania olanzapiny i kwetiapiny*, **PL239444B1, 2021**.
8. Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P., *Sposób otrzymywania długołańcuchowych arylopipezyn*, **PL239445B1, 2021**.
9. Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Michorczyk P., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P., Majka Z., Jakubski J., Pindelska E., *Mechanochemical Synthesis Method for Drugs Used in the Treatment of CNS Diseases under PTC Conditions*. *Catalysts* **2022**, 12, 464.

Własne projekty badawcze:

- 2019–2022 Cykl grantów obliczeniowych w ramach struktury PL-Grid Prometheus, ID: lcaps2019, lcaps2020, plgnzzb, plgnzzb2, plgnzzb3.
- 11.2019–01.2020 *„Synteza nowych ligandów receptorów 5-HT₆ z grupy arylosulfonamidowych pochodnych cyklicznych guanidyn jako potencjalnych leków w chorobie Alzheimera”*, finansowany w ramach działalności statutowej młodych naukowców, z funduszy MNiSW.
- 03.2021–03.2024 *„Nowe ligandy receptora 5-HT₆ z grupy sulfonamidowych pochodnych cyklicznych aryloguanidyn w leczeniu glejaków wielopostaciowych”*, finansowany w ramach konkursu NCN Preludium, 2020/37/N/NZ7.

Staż naukowe:

- 03.2019–06.2019 Staż naukowy w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja, PAN.

Udział w projektach naukowych:

- 07.2017–06.2018 Wykonawca w projekcie *„Nowa metoda otrzymywania przeciwdepresyjnego leku Trazodonu”*, TRL+, prace przedwdrożeniowe, w programie MNiSW „Inkubator Innowacyjności +”.
- 01.2018–01.2019 Wykonawca w projekcie *„Synteza i ocena aktywności nowych ligandów działających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN)”*, NCBR, LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015.
- 06.2019–03.2020 Wykonawca w projekcie *„Sonochemiczna metoda syntezy APF”* w ramach konkursu TRL 2.0 w programie MNiSW „Inkubator Innowacyjności 2.0”.
- 01.2022–10.2022 Wykonawca w projekcie *„Innowacyjne związki first-in-class, jako ligandy receptora 5-HT₇ w leczeniu potrójnie negatywnego raka piersi TNBC”*, NCBR, LIDER/41/0206/L-12/20/NCBR/2021.

Konferencje i targi wynalazków

1. IWIS 2017 Int'l Warsaw Invention Show, Warszawa, **09–11.10.2017**, Jaśkowska J., Zareba P., Drabczyk A.K., Kułaga D., Tyliczszak B., *Method of obtaining trazodone* – **wystawa wynalazków**.
2. Bioinnovation International Summit, Gdańsk, **19–20.10.2017**, Jaśkowska J., Zareba P., Drabczyk A.K., Kułaga D., Tyliczszak B., Malinowska M., *Microwave-assisted one-pot synthesis of trazodone* – **sesja posterowa**.
3. 15th International Innovation Exhibition ARCA 2017, Zagrzeb Chorwacja, **19–21.10.2017**, Jaśkowska J., Zareba P., Drabczyk A.K., Kułaga D., Tyliczszak B., *Method of obtaining trazodone* – **wystawa wynalazków**.
4. iENA 2017 The international trade fair for Ideas – Inventions – New Products, Norymberga Niemcy, **02–05.11.2017**, Jaśkowska J., Zareba P., Drabczyk A.K., Kułaga D., Tyliczszak B. *Method of obtaining trazodone* – **wystawa wynalazków**.
5. Studencka Sesja Kół Naukowych, Politechnika Krakowska, **24.04.2018**, sesja anglojęzyczna, Zareba P., *A new ecological method for the preparation of long-chain arylpiperazines as potential antidepressants* – **wystąpienie ustne**.
6. IX. Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, **13–15.09.2018**, Zareba P., Jaśkowska J., Satała G., Drabczyk A.K., Kułaga D., *New methoxy and ethoxy arylpiperazines from hexyl-1,2,4-triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-ones as dual 5-HT_{1A} / D₂ ligands* – **sesja posterowa**.
7. 5 Krajowa Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych, Wrocław, **21.09.2018**, Zareba P., Jaśkowska J., *Nowa metoda syntezy związków biologicznie czynnych w obecności promieniowania mikrofalowego* – **sesja posterowa**.
8. IWIS 2018 Int'l Warsaw Invention Show, Warszawa, **15–17.10.2018**, Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zareba P., *A new universal solvent-free method for the synthesis of active substances on the example of arypiprazole* – **wystawa wynalazków**.
9. XX Międzynarodowe Sympozjum Postępy w chemii związków heteroorganicznych, Łódź, **23–24.11.2018**, Jaśkowska J., Zareba P., Drabczyk A.K., Kułaga D., Łankiewicz D., *MW assisted synthesis and activity of new long-chain arylpiperazines with stiffened carbon linker as D₂ receptor ligands* – **sesja posterowa**.
10. 257th ACS National Meeting & Exposition, Orlando USA, **31.03–04.04.2019**, Zareba P., Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Satała G., *New Long-Chain Derivatives of 1-(1,2-benzisothiazol-3-yl)piperazine with High Affinity for Selected Serotonin Receptors* – **sesja posterowa**.

11. 62. Zjazd Naukowy PTChem, Warszawa, **02–06.09.2019**, Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., *Design, synthesis and bioassays of new long-chain 3-trifluorophenylpiperazines* – **sesja posterowa**.
12. 7th EUROBIOTECH Congress, Kraków, **23–25.09.2019**, Jaśkowska J., Kułaga D., Drabczyk A.K., Zaręba P., Jodłowski P., *A new sonochemical method for the synthesis of tricyclic antipsychotic drugs* – **sesja posterowa**.
13. XXI Międzynarodowe Sympozjum "Postępy w chemii związków heteroorganicznych", Łódź, **22–23.11.2019**, Zaręba P., Jaśkowska J., Drabczyk A.K. *New N-aryl-N-[6-(4-arylpiperazin-1-yl)hexyl]arylsulfonamides as serotonin receptors ligands* – **sesja posterowa**.
14. ACS Spring 2020 National Meeting & Expo, online, Morressier, **30.04.2020**, Zaręba P., Jaśkowska J., Śliwa P., Satała G., *New N-alkyl-4-arylpiperazine-1-carboxamides derivatives as selective 5-HT_{1A} receptor ligands with low basicity* – **sesja posterowa**, <https://doi.org/10.1021/scimeetings.0c03045>.
15. X Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, **04.09.2022**, Zaręba P., Drabczyk A.K., Jaśkowska J., Wnorowski A., *A novel method for the synthesis and preliminary evaluation of the antitumor activity of sulfonamide derivatives of cyclic arylguanidines for the treatment of glioblastoma multiforme* – **sesja posterowa**.

Streszczenie

Choroby ośrodkowego układu nerwowego (OUN) stanowią obecnie istotny problem zdrowia publicznego na całym świecie. Liczne badania naukowe oraz praktyka medyczna wskazują na szerokie zastosowanie ligandów receptorów serotoninowych i dopaminowych w ich leczeniu. Wysiłki wielu grup badawczych z całego świata skupiają się na poszukiwaniu związków bioaktywnych, wykazujących wysokie powinowactwo względem wymienionych wcześniej celów biologicznych. Niestety otrzymanie dużych bibliotek ligandów niejednokrotnie wiąże się ze sporym obciążeniem środowiska naturalnego, spowodowanym uciążliwością syntezy. **Celem niniejszej pracy było opracowanie szybkiej i ekologicznej metody otrzymywania *N*-heksyloarylopiiperazyn, jako ligandów receptorów aminergicznyc grup D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R oraz 5-HT₇R, istotnych w leczeniu chorób OUN, w szczególności depresji oraz schizofrenii.** Zastosowane podejście miało polegać na przeprowadzeniu ciągu reakcji alkilowania w polu promieniowania mikrofalowego. Zaplanowano dobór odpowiednich warunków syntezy. Opracowana metoda została przetestowana poprzez otrzymanie dużej grupy pochodnych *N*-heksyloarylopiiperazyn, o stosunkowo zróżnicowanej budowie, z modyfikacjami strukturalnymi przeprowadzonymi w obszarach grupy terminalnej, łącznika węglowego, zasadowego atomu azotu oraz grupy arylowej, przyłączonej do piperazyny. Wybór kierunku modyfikacji poprzedzony był wirtualnym badaniem przesiewowym.

Wybrana metoda syntezy zakłada prowadzenie reakcji przy zastosowaniu K₂CO₃ jako środowiska reakcji, TBAB jako katalizatora przeniesienia międzyfazowego (PTC) oraz niewielkich ilości dimetyloformamidu (DMF) lub acetonitrylu (MeCN) w roli rozpuszczalnika. Co ważne, sposób ten pozwala również na syntezę w warunkach bezrozpuszczalnikowych lub w tzw. wariancie jednoetapowym *one-pot*, bez wydzielania produktu pośredniego, a także na użycie wody jako medium reakcyjnego. Zastosowanie promieniowania mikrofalowego o mocy 100 W umożliwiło otrzymanie szerokiego spektrum produktów w czasie 10-60 s w pierwszym etapie (W = 40-90%) oraz 30-60 s (W = 10-80%) w drugim etapie. W ramach prowadzonych badań otrzymano 74 związki z grupy *N*-heksyloarylopiiperazyn oraz dodatkowo 4 pochodne z głębszymi modyfikacjami chemotypu *N*-heksyloarylopiiperazyny, w tym 3 posiadające usztywniony łącznik węglowy, wynikający z wprowadzenia pierścienia alifatycznego lub aromatycznego do struktury oraz 1 wykazujący obniżoną zasadowość, w związku z wbudowaniem grupy karbamoilowej. W przetestowanym zestawie 41 związków wykazywało wysokie powinowactwo do wybranych receptorów serotoninowych lub dopaminowych ($K_i < 50$ nM), w tym aż 36 ukierunkowane było na 5-HT_{1A}R. Szczególnie interesujące właściwości wykazywali silni antagoniści 5-HT_{1A}R (**5.D5.d**, $K_b = 3,6$ nM), (**5.D5.e**, $K_b = 2,0$ nM) oraz niskozasadowy ligand (**5.D5.n**), który pomimo braku zasadowego atomu azotu, zdolnego do tworzenia mostka solnego z D3.32 nie stracił powinowactwa do 5-HT_{1A}R ($K_i = 35$ nM). Analiza ADMET *in vitro* dla **5.D5.n** wykazała wysoką podatność metaboliczną, jednakże właściwość ta nie wyklucza zastosowania związku jako sondy molekularnej. Ligand wykazuje zdolność do penetracji membrany oraz nie jest toksyczny dla wątroby w niewielkich dawkach. Część obserwowanych efektów typu struktura-aktywność wyjaśniono, stosując metody modelowania molekularnego, w tym, dokowanie molekularne, metody hybrydowe (QM/MM), analizę oddziaływania par FMO, dynamikę molekularną, a także analizę właściwości, związanych z rozkładem gęstości elektronowej.

Abstract

Central nervous system (CNS) diseases are currently one of the most significant public health problems worldwide. Numerous scientific reports and therapeutical experience indicate the wide application of serotonin and dopamine receptor ligands in their treatment. The efforts of many research groups from around the world are focused on the search for compounds with high affinity for the aforementioned receptors. Unfortunately, obtaining large libraries of the ligands is often associated with a considerable burden on the natural environment, due to the nuisance of synthesis. **The aim of this study was to develop a quick and ecological method of obtaining *N*-hexylarylpiperazines as ligands for aminergic receptors belonging to the D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R and 5-HT₇R groups, important in the treatment of CNS diseases, in particular depression and schizophrenia.** The synthetic approach was based on carrying out a series of alkylation reactions in a field of microwave radiation. The selection of appropriate synthesis conditions was planned. The developed method was tested by obtaining a large group of diverse *N*-hexylarylpiperazine derivatives, with structural modifications carried out in part of the terminal group, carbon linker, basic nitrogen atom and the aryl group attached to the piperazine. The choice of the modification direction was preceded by a virtual screening.

In the chosen method, the reactions were carried out using K₂CO₃ as the reaction medium, TBAB as the phase transfer catalyst (PTC), and small amounts of dimethylformamide (DMF) or acetonitrile (MeCN) as the solvent. It is also possible to obtain the product under solvent-free conditions or using water as the reaction medium and also in the one-pot variant without isolating the intermediate product. The use of 100 W microwave radiation resulted in a wide range of products being obtained within 10-60 s in the first stage ($W = 40-90\%$) and in 30-60 s ($W = 10-80\%$) in the second stage. As part of the research, 74 ligands from the *N*-hexylarylpiperazines group were obtained. Additionally, 4 derivatives were obtained with deeper modifications of the *N*-hexylarylpiperazine chemotype, including 3 having a stiffened carbon link, resulting from the introduction of an aliphatic or aromatic ring into the structure and 1 showing reduced basicity due to the incorporation of the carbamoyl group. In the tested set, 41 compounds showed high affinity for selected serotonin or dopamine receptors ($K_i < 50$ nM), including as many as 36 targeted at the 5-HT_{1A}R. Particularly interesting properties were shown by the strong 5-HT_{1A}R antagonists (**5.D5.d**, $K_b = 3.6$ nM), (**5.D5.e**, $K_b = 2.0$ nM) and the low-base ligand (**5.D5.n**), which despite the lack of a basic nitrogen atom capable of forming a salt bridge with D3.32, it did not lose affinity for 5-HT_{1A}R ($K_i = 35$ nM). *In vitro* ADMET analysis for **5.D5.n** showed high metabolic susceptibility, however, this property does not preclude the use of the compound as a molecular probe. The ligand has the ability to penetrate the membrane and is not toxic to the liver in small doses. Some of the observed structure-activity effects were explained using molecular modeling methods, including molecular docking, hybrid methods (QM / MM), FMO pair interaction analysis, molecular dynamics, analysis of properties related to electron density distribution.

Wykaz skrótów

- 5-HT₁₋₇R – receptor serotoninowy (typ 1-7)
- ADMET – (ang. *absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity*); wchłanianie, dystrybucja, metabolizm, wydalanie, toksyczność w farmakokinetyce
- BINAP – 2,2'-bis(difenylofosfino)-1,1'-binaftyl
- Boc – (ang. *tert-butoxycarbonyl protecting group*); *tert*-butoksykarbonylowa grupa zabezpieczająca
- cAMP – cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan
- CYP P450 – cytochrom P450
- D₂R – receptor dopaminowy D₂
- DABCO – 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan
- DAD – (ang. *diode array detector*); detektor o matrycy diodowej
- DCM – dichlorometan
- DFT – (ang. *density functional theory*); teoria funkcjonału gęstości
- DIPEA – *N,N*-diizopropylaminyloaminy
- DMF – dimetyloformamid
- DPPF – 1,1'-bis(difenylofosfino)ferrocen
- DRN – (ang. *dorsal nucleus raphe*); grzbietowe jądro szwu
- ESI – (ang. *electrospray ionization*); jonizacja przez elektrorozpylanie
- FDA – (ang. *Food and Drug Administration*); Agencja Żywności i Leków
- FGA – (ang. *first-generation antipsychotics*); leki przeciwpsychotyczne I generacji
- FMO – (ang. *fragment molecular orbital*); metoda fragmentów orbitali molekularnych
- FMO-EDA – (ang. *pair interaction energy decomposition analysis method*); metoda analizy rozkładu energii interakcji par
- GABA – (ang. *gamma aminobutyric acid*); kwas gamma-aminomasłowy
- HPLC – (ang. *high-performance liquid chromatography*); wysokosprawna chromatografia cieczowa
- HOMO – (ang. *highest occupied molecular orbital*); najwyższy obsadzony orbital molekularny
- HSBM – (ang. *high-speed ball mills*); wysokoobrotowe młyny kulowe
- IFD – (ang. *induced fit docking*); indukowane dopasowanie
- IR – (ang. *infrared*); promieniowanie podczerwone
- LCAP – (ang. *long-chain arylpiperazines*); długołańcuchowe arylopiperazyny
- LC-MS – (ang. *liquid chromatography-mass spectrometry*); chromatografia cieczowa – spektrometria mas
- L-R – ligand-receptor

- LUMO – (ang. *lowest unoccupied molecular orbital*); najniższy nieobsadzony orbital molekularny
- MAO-A/B – monoaminooksydaza A/B
- MAOi – inhibitor monoaminooksydazy
- MDD – (ang. *major depressive disorder*); duża depresja
- MeCN – acetonitryl
- MLM – (ang. *mouse liver microsomes*); mikrosomy wątroby myszy
- MM/GBSA – (ang. *the molecular mechanics energies combined with the generalized Born and surface area continuum solvation*); energie mechaniki molekularnej połączone z uogólnioną solwatacją Borna i kontinuum pola powierzchni
- MM-PBSA – (ang. *the molecular mechanics energies combined with the Poisson–Boltzmann and surface area continuum solvation*); energie mechaniki molekularnej w połączeniu z solwatacją Poissona-Boltzmana i kontinuum pola powierzchni
- MR – refraktywność molekularna
- MW – (ang. *microwave*); promieniowanie mikrofalowe
- NDRI – (ang. *norepinephrine–dopamine reuptake inhibitors*); selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny i dopaminy
- NMR – (ang. *nuclear magnetic resonance*); spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
- OUN – ośrodkowy układ nerwowy
- PACAP – (ang. *pituitary adenylate cyclase-activating peptide*); peptyd aktywujący cyklazę adenylanową przysadki
- PAMPA – (ang. *parallel artificial membrane permeability assay*); równoległy test przepuszczalności sztucznej błony
- PFC – (ang. *prefrontal cortex*); kora przedczołowa
- PIE – (ang. *pair interaction energy*); energia oddziaływania par
- POPC – (ang. *phosphatidylcholine*); fosfatydylocholina
- PSA – (ang. *polar surface area*); pole powierzchni polarnej
- PTC – (ang. *phase-transfer catalyst*); katalizator przeniesienia międzyfazowego
- PTSA – kwas *p*-toluenosulfonowy
- QM/MM – (ang. *quantum mechanics/molecular mechanics*); mechanika kwantowa/mechanika molekularna
- QMEAN – (ang. *qualitative model energy analysis*); jakościowa analiza energetyczna modelu
- QPLD – (ang. *quantum polarized ligand docking*); dokowanie ligandów spolaryzowanych kwantowo
- R&D – prace badawczo-rozwojowe
- RMSD – (ang. *root-mean-square deviation of atomic positions*); odchylenie średniej kwadratowej pozycji atomowych

- RMSF – (ang. *root-mean-square fluctuation of atomic positions*); fluktuacja pierwiastkowa średniej kwadratowej pozycji atomowych
- SAR – (ang. *structure-activity relationship*); zależność struktura-aktywność
- SNRI – (ang. *serotonin norepinephrine reuptake inhibitor*); inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny i noradrenaliny
- SSRI – (ang. *selective serotonin reuptake inhibitor*); selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny
- SVM – (ang. *support vector machin*); algorytm maszyny wektorowej
- TBAB – bromek tetrabutylamoniowy
- TCA – (ang. *tricyclic antidepressant*); trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne
- TEA – trietyloamina
- TEAC – chlorek tetraetyloamoniowy
- THF – tetrahydrofuran
- TLC – (ang. *thin-layer chromatography*); chromatografia cienkowarstwowa
- UPLC – (ang. *ultrahigh-performance liquid chromatography*); ultrasprawną chromatografią cieczową
- WHO – (ang. *World Health Organization*); Światowa Organizacja Zdrowia
- XPhos Dicykloheksylo[2',4',6'-tris(propan-2-ylo)][1,1'-bifenylo]-2-ylo]fosfan
- ZSM-5 – Zeolit Socony Mobil – 5

Spis treści

1.	Wprowadzenie	15
1.1.	Zielona chemia w syntezie leków	16
1.2.	Synteza długołańcuchowych arylopiperazyn	20
1.3.	Nowe trendy w syntezie LCAP	26
1.4.	Farmakologia zaburzeń psychiatrycznych	29
1.5.	Receptory aminergiczne w leczeniu chorób psychiatrycznych.....	35
1.6.	Długołańcuchowe arylopiperazyny jako ligandy receptorów aminergiczych.....	39
2.	Cel i zakres badań	42
3.	Metodologia badań.....	46
3.1.	Projektowanie i synteza nowych związków	46
3.2.	<i>In vitro</i>	52
3.3.	Testy ADMET	52
3.4.	Przygotowanie białek i ligandów oraz dokowanie molekularne.....	53
3.5.	Modelowanie z zastosowaniem mechaniki kwantowej.....	55
3.6.	Dynamika molekularna	55
3.7.	Wczesne właściwości ADME	56
4.	Opis uzyskanych wyników	57
4.1.	Metoda syntezy	57
4.2.	Badania biologiczne	61
4.3.	Modelowanie molekularne.....	69
5.	Podsumowanie	76
6.	Bibliografia	78
7.	Pełna treść publikacji i patentu, objętych treścią rozprawy doktorskiej	91
8.	Deklaracje współautorów	182

1. Wprowadzenie

Zaburzenia psychiczne stanowią istotny problem zdrowia publicznego w krajach rozwiniętych, powiązany z wysokimi kosztami społecznymi¹, co częściowo wynika z ograniczonej skuteczności dostępnych metod farmakoterapii. Do najbardziej rozpowszechnionych chorób psychicznych zalicza się depresję (MDD)², która według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dotyka ponad 350 milionów ludzi na całym świecie.³ Dane *National Comorbidity Survey Replication* (NCS-R) wskazują, że szansa zachorowania na MDD w Stanach Zjednoczonych w ciągu życia wynosi 16,2% przy czym 12% u mężczyzn i 20% u kobiet.⁴ Według prognoz, zaburzenie to stanie się najczęściej występującą jednostką chorobową w Stanach Zjednoczonych do roku 2030.⁵ Depresja charakteryzuje się wyraźną zmianą nastroju, wpływającą na zdolność do codziennego funkcjonowania, przeważnie towarzyszy jej również smutek, drażliwość, zaburzenia snu, apetytu czy pożądania seksualnego. W trakcie jej trwania może wystąpić również anhedonia, myśli samobójcze lub spowolnienie mowy i ruchu. Co ważne, choroba ta wiąże się także z pogorszeniem funkcji kognitywnych.⁶ Nie potwierdzono jednoznacznie jakie są jej przyczyny oraz mechanizm powstawania. Niemniej, istnieją silne dowody na to, że poza cechami osobniczymi choroba ta jest nierozzerwalnie związana z rozregulowaniem systemu przekąźnictwa serotoniny, dopaminy oraz noradrenaliny.⁷

Obok depresji, jedną ze szczególnie często pojawiających się chorób psychicznych jest schizofrenia, charakteryzująca się objawami psychotycznymi (pozytywnymi), takimi jak halucynacje i urojenia oraz negatywnymi, w tym m. in. Awolicją i asocjalnością, a także towarzyszącym chorobie deficytem poznawczym.⁸ Utrzymująca się niesprawność często wynika z objawów negatywnych i deficytów poznawczych, które stanowią podstawową cechę zaburzenia, lecz są często marginalizowane, ze względu na skupianie się na leczeniu objawów pozytywnych, uważanych za bardziej uciążliwe społecznie.⁹

Długołańcuchowe arylopipezyny (Long-Chain Arylpiperazines, LCAP) stanowią istotną grupę ligandów receptorów serotoninowych oraz dopaminowych, szeroko stosowanych w farmakoterapii zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN), w tym depresji i schizofrenii. Dla związków z tej grupy, w literaturze opisano wiele metod syntezy, jednakże zwykle wymagają one długiego czasu prowadzenia reakcji, wynoszącego najczęściej 2–24 godzin oraz wiążą się z koniecznością stosowania dużej ilości toksycznych rozpuszczalników i reagentów.¹⁰⁻²⁹ Dominującym w literaturze podejściem jest dwu-etapowa, konwencjonalna substytucja nukleofilowa, składająca się z alkilowania grupy terminalnej dihalogenkiem alkilu,

a następnie reakcji powstałego produktu z odpowiednią arylopiiperazyn.¹⁰ Jednakże synteza prowadzona w sposób konwencjonalny jest czasochłonna i uciążliwa dla środowiska naturalnego. W niniejszej rozprawie podjęto próbę opracowania nowej metody syntezy wspomaganej polem promieniowania mikrofalowego dla *N*-heksyloarylopiiperazyn. Metoda została następnie zastosowana w otrzymywaniu biblioteki związków z tej grupy, w poszukiwaniu nowych ligandów receptorów serotoninowych i dopaminowych.

1.1. Zielona chemia w syntezie leków

Postępujący rozwój produkcji przemysłowej w drugiej połowie XX wieku doprowadził do zapoczątkowania dyskusji na temat negatywnego wpływu działalności produkcyjnej na środowisko naturalne.³⁰ W przypadku niektórych gałęzi przemysłu zauważono szczególnie niekorzystne oddziaływanie na otoczenie, związane z emisją do atmosfery, zanieczyszczeniem hydrosfery oraz wysoką ilością produkowanych odpadów, nie ulegających biodegradacji. Jednym z intensywnie rozwijających się sektorów, powiązanych z zagrożeniem dla środowiska naturalnego jest przemysł farmaceutyczny, zarówno na etapie produkcji, analityki, jak i w stadium badawczym R&D, zajmującym się poszukiwaniem nowych leków.³⁰

Jeszcze w XX wieku podjęto działania skupiające się na ochronie środowiska naturalnego, wspierane sukcesywnie wprowadzanymi restrykcjami ze strony organów władzy.³¹ W przemyśle chemicznym jako przełomowy moment dla świadomości ekologicznej uznać należy utworzenie podejścia zielonej chemii (*green chemistry*), które jest rozwijane oraz stosowane na całym świecie po dziś dzień. Można je uznać za swego rodzaju filozofię produkcji, które w swej pierwotnej formie bazowało na 12 zasadach, koncentrujących się na eliminowaniu toksycznych surowców, rozpuszczalników i reagentów pomocniczych w procesach produkcji chemicznej oraz powiązanej analityki, a także na dążeniu do syntezy bezemisyjnej i wolnej od odpadów.³² Postępując zgodnie z zasadami zielonej chemii należy zadbać o racjonalną gospodarkę atomową i energetyczną, a także o wykorzystanie odnawialnych i bezpiecznych surowców, co często sprowadza się do poszukiwania nowych ścieżek reakcji lub alternatywnych warunków prowadzenia procesu. Istotnym zagadnieniem jest także kwestia przyspieszenia reakcji chemicznych, co można osiągnąć poprzez zastosowanie katalizatorów lub użycie niekonwencjonalnych sposobów doprowadzania energii. Zasady zielonej chemii wymagają racjonalnego projektowania produktu oraz procesu produkcji, mając na uwadze minimalny wpływ na środowisko.³³

Modyfikowanie znanych ścieżek reakcji, zastosowanie mniej szkodliwych reagentów pomocniczych lub rozpuszczalników, a także zmiana warunków prowadzenia syntezy często wiążą się ze znacznym wydłużeniem czasu jej trwania lub obniżeniem wydajności otrzymanego produktu, uniemożliwiając tym samym poprawę walorów ekologicznych procesu. Jednakże w wielu przypadkach, zastosowanie alternatywnych metod doprowadzania energii do reakcji pozwala na wprowadzenie wspomnianych modyfikacji, bez negatywnego wpływu na pozostałe wskaźniki produkcji, w tym walory ekonomiczne. Jednym z takich rozwiązań, jest prowadzenie procesu w polu promieniowania mikrofalowego, co dla syntezy organicznej opisano po raz pierwszy w 1986 roku³⁴, jednakże wciąż obserwuje się wzrost zainteresowania tym podejściem. W wielu przypadkach metoda ta pozwala na znaczne skrócenie czasu trwania reakcji, w porównaniu z wariantem konwencjonalnym.³⁵ Do tej pory nie wyjaśniono w sposób jednoznaczny mechanizmu wpływu promieniowania mikrofalowego na przebieg syntezy. Obecnie wyróżnia się dwie dominujące hipotezy. Pierwsza skupia się wokół czysto termicznych efektów promieniowania mikrofalowego, zaś podejście konkurencyjne dotyczy właściwości nietermicznych, w tym powiązanych z szerokim spektrum promieniowania elektromagnetycznego. Oba warianty opisują oddziaływanie mikrofal z cząsteczkami, przemianę promieniowania w ciepło oraz jego rozmieszczenie wzdłuż ogrzewanej próbki. W konsekwencji oddzielenie tych efektów od siebie jest praktycznie niemożliwe.³⁵

Wpływ czynników termicznych, spowodowanych dostarczeniem promieniowania mikrofalowego wiąże się zwykle z możliwością przegrzewania mieszaniny reakcyjnej. Zjawisko to jest często obserwowane w przypadku obecności substancji o budowie jonowej w próbce, prowadząc do zwiększenia szybkości wzrostu temperatury w masie, porównując z wariantem konwencjonalnym. Zastosowanie mikrofal powoduje także poprawę efektywności dyfuzji na granicach faz, co wspomaga wymianę cieplną w mieszaninie. Prowadzenie reakcji w zamkniętych naczyniach umożliwia uzyskanie znacznie wyższych temperatur wewnątrz naczynia reakcyjnego niż temperatura wrzenia rozpuszczalnika, użytego podczas syntezy, ze względu na szybki wzrost ciśnienia w reaktorze. Istotną kwestią z punktu widzenia efektów nietermicznych jest usprawnienie transportu reagentów, w szczególności w reakcjach bezrozpuszczalnikowych. Co więcej, obserwuje się także wzrost momentu dipolowego reagujących cząsteczek w stanie przejściowym, w zestawieniu ze stanem podstawowym.³⁶ Wymienione efekty sprawiają, że syntezy prowadzone w polu promieniowania mikrofalowego zwykle charakteryzują się znacznie skróconym czasem trwania oraz zwiększoną wydajnością. Co ciekawe, w wielu przypadkach obserwuje się poprawę selektywności bądź zmianę składu

otrzymanych produktów.³⁵ Jednym z potencjalnych problemów w stosowaniu reaktorów mikrofalowych jest możliwość eksplozji naczynia reakcyjnego z powodu nagłego wzrostu ciśnienia wywieranego przez rozpuszczalnik podczas napromieniania. Rozwiązaniem może być prowadzenie reakcji w warunkach bezrozpuszczalnikowych.³⁷

Innym niekonwencjonalnym sposobem dostarczania energii do reakcji jest podejście mechanochemiczne, w którym przebieg syntezy jest indukowany przez bezpośrednie pochłanianie energii mechanicznej, dostarczanej do reagentów na skutek ścinania, rozciągania, ściskania lub tarcia.³⁸ Uważa się, że w reakcjach mechanochemicznych rozdrabnianie prowadzi do tworzenia centrów reakcji, aktywowanych mechanicznie³⁹, lecz teoria ta nie została dostatecznie zweryfikowana. Hipotezy bazujące na modelach magmowo-plazmowych lub teorii „gorących punktów” wyjaśniają reaktywność mechanochemiczną poprzez występowanie obszarów o bardzo wysokiej temperaturze ($T > 1000^{\circ}\text{C}$), wywołanej tarciami.⁴⁰ Według części badaczy metoda ta musi obejmować upłynnienie substratów w masie, na przykład poprzez topienie reagentów w wyniku tarcia.³⁸ W syntezach mechanochemicznych mogą pośredniczyć eutektyki, jednakże istnieją przesłanki wskazujące na przebieg reakcji bezpośrednio w fazie stałej, gazowej lub poprzez dyfuzję powierzchniową.⁴¹ Do korzyści płynących z mechanochemii zalicza się możliwość prowadzenia reakcji bez udziału rozpuszczalnika oraz łagodne warunki, w tym niska temperatura, co w konsekwencji pozwala na ograniczenie zużycia energii. Obecne rozwiązania technologiczne bazują na zastosowaniu zautomatyzowanych urządzeń, typu wysokoobrotowych młynów kulowych (HSBM), młynów planetarnych i ślimakowych.⁴²

Dwie opisane wcześniej metody pozwalają na eliminację lub znaczne ograniczenie ilości stosowanego rozpuszczalnika. Odmienne podejście reprezentuje sonochemia, będąca alternatywą dla konwencjonalnego sposobu prowadzenia reakcji, polegająca na użyciu do intensyfikacji procesów ultradźwięków, w zakresie częstotliwości od 20 kHz do 5 MHz.⁴³ Ich wpływ na przebieg syntezy związany jest z cyklicznym tworzeniem i zapadaniem się pęcherzyków kawitacyjnych w ośrodku ciekłym, które rozszerzają się w fazie rozprężenia ultradźwięku, a następnie zapadają się na etapie jego kompresji. Turbulencja związana z cyrkulacją cieczy, powodowana tworzeniem i rozpadem pęcherzyków kawitacyjnych, wpływa pozytywnie na szybkość przenikania mas. Podczas kawitacji dochodzi do wytworzenia miejscowych gorących punktów o wysokiej temperaturze (do 5000°C) oraz ciśnieniu (do 1800 atmosfer).⁴³ Należy zaznaczyć, że synteza sonochemiczna pozwala zwykle na użycie bardziej ekologicznego rozpuszczalnika oraz prowadzi do skrócenia czasu reakcji

i zwiększenia selektywności otrzymywania produktu.⁴⁴ Intensywność kawitacji uzależniona jest od wielu parametrów. Niektóre hipotezy zakładają że wariant sonochemiczny może być zastosowany do wspomagania tylko reakcji przebiegających pomiędzy reagentami stałymi w rozpuszczalniku. Jednakże jak pokazuje praktyka, sonochemia może być używana z powodzeniem zarówno dla układów jednorodnych jak i niejednorodnych.⁴³ W homogenicznych reakcjach rodnikowych, przebiegających w układzie jednorodnej cieczy, zapadanie się pęcherzyka kawitacyjnego prowadzi do natychmiastowego napływu płynu wypełniającego pustą przestrzeń oraz do zrywania wiązań chemicznych, na skutek wygenerowanych sił ścinających.⁴⁵ W przypadku jonowych reakcji heterogenicznych, ultradźwięki powodują zmniejszenie wielkości cząstek, a także zwiększenie szybkości przenoszenia masy, będących fizycznymi skutkami kawitacji. W obecności ciał stałych zapadanie się pęcherzyka może zachodzić symetrycznie lub asymetrycznie, a fala wygenerowana pod wpływem ultradźwięków zwiększa ich ruch w roztworze. Pęknięcie bańki w wyniku takiego ruchu skutkuje udostępnieniem powierzchni do zajścia reakcji.⁴³

Konwencjonalne metody syntezy są często kojarzone z energochłonnymi i długotrwałymi procesami, wymagającymi użycia rozpuszczalników, które w wielu przypadkach nie są przyjazne dla środowiska. Konsekwencją niewłaściwego doboru medium reakcji może być konieczność czasochłonnego przygotowania i izolacji produktów z mieszaniny reakcyjnej.⁴⁶ W tym kontekście uzasadnione wydaje się dążenie do ograniczania lub całkowitej eliminacji użycia rozpuszczalników w syntezie.⁴⁷ W niektórych przypadkach, ze względu na udział ciekłych reagentów w procesie, korzystne może być zastosowanie ich w niewielkim nadmiarze, aby zachować jednorodny charakter mieszaniny. Innym rozwiązaniem, może być użycie płynnych reagentów pomocniczych lub aktywatorów, działających jako środowisko reakcji.⁴⁶ Jednakże zasadnicze przeprowadzenie syntezy w warunkach bezroztworowych jest możliwe dzięki zastosowaniu niekonwencjonalnych metod dostarczania energii (mechanochemia, reakcje wspomagane promieniowaniem mikrofalowym). Innym, niewspomnianym wcześniej sposobem syntezy bez udziału rozpuszczalnika, są reakcje katalizowane przez światło z zakresu UV-Vis (fotochemia).⁴⁶

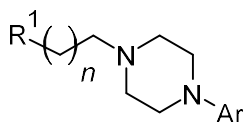
Jednym z ciekawych rozwiązań w dziedzinie chemii organicznej, które przyczyniło się do znacznego rozwoju metod syntezy, wpisujących się w zasady zielonej chemii są katalizatory przeniesienia międzyfazowego (PTC) opracowane w latach 60. XX wieku. Już 10 lat później, ich zastosowanie w syntezie laboratoryjnej oraz przemysłowej stało się powszechne.⁴⁸ PTC

umożliwiają wymianę reagentów w układzie niemieszających się faz, co jest możliwe dzięki ich budowie, charakteryzującej się dwoma miejscami funkcyjnymi. Cecha ta pozwala na rozpuszczenie się w każdej z faz, umożliwiając przechodzenie poszczególnych substratów z jednej fazy termodynamicznej do drugiej.⁴⁸ Zwykle w roli PTC stosuje się czwartorzędowe sole amoniowe, związki fosfoniowe i etery koronowe.⁴⁹ Ich użycie umożliwia prowadzenie reakcji w łagodnych warunkach, co sprawia, że substancje te są często stosowane w skali przemysłowej.⁵⁰ Co ważne, włączenie do procesu PTC nie ogranicza się do niemieszających się cieczy, ale znajduje zastosowanie także w przypadku reakcji w układach ciecz/gaz, ciecz/ciało stałe oraz w warunkach zbliżonych do bezrozpuszczalnikowych.⁴⁸ W przypadku reagentów o budowie anionowej, czwartorzędowa sól amoniowa, posiadająca lipofilowy kation ulega rozpuszczeniu w fazie wodnej. W konsekwencji dochodzi do utworzenia pary jonowej z anionem, pełniącym funkcje reagenta w fazie hydrofilowej. Utworzona para może zostać przeniesiona przez granicę faz ciecz-ciecz. Następnie ulega dalszej dyfuzji w głąb warstwy lipofilowej, gdzie anion pełniący rolę nukleofila może reagować z obecnymi w niej elektrofilami. PTC po zakończeniu swojej pracy wraca do fazy wodnej i cykl jest powtarzany w sposób ciągły.⁵¹

Wymienione w tym rozdziale niekonwencjonalne sposoby prowadzenia reakcji oraz komponenty pomocnicze, takie jak PTC pozwalają na poprawę walorów ekologicznych syntezy. Umożliwiają znaczne skrócenie czasu trwania procesu (oszczędność energetyczna), ograniczenie lub całkowitą eliminację użycia rozpuszczalników oraz prowadzą do poprawy wydajności i selektywności, co przekłada się na ograniczenie ilości powstałych odpadów.

1.2. Synteza długołańcuchowych arylopiperazyn

Długołańcuchowe arylopiperazyny (LCAP) stanowią ważną grupę ligandów receptorów serotoninowych oraz dopaminowych, szeroko stosowanych w farmakoterapii zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) (**Rysunek 1**).



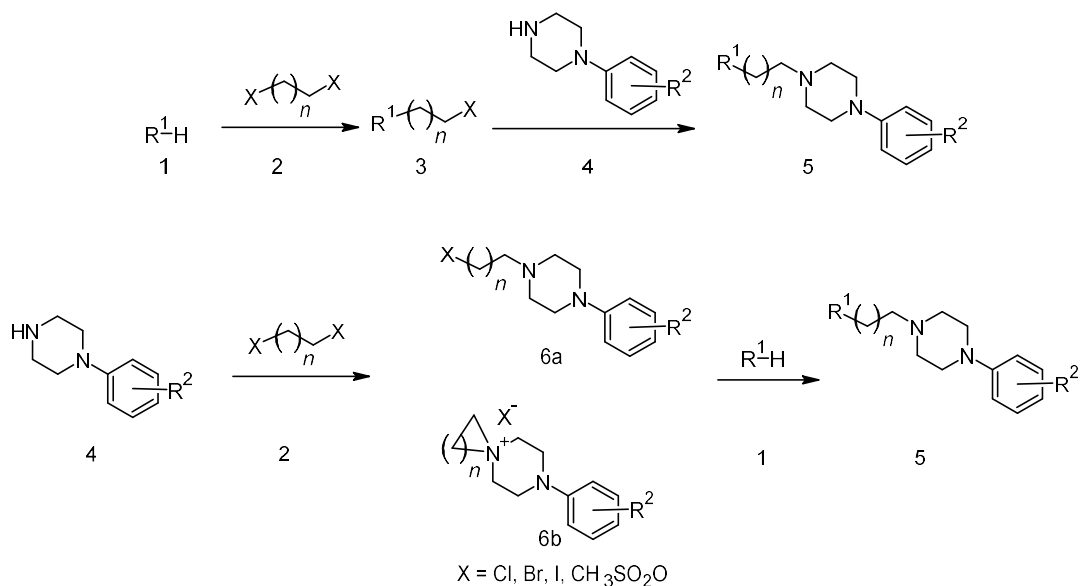
Rysunek 1. Wzór ogólny LCAP.

Związki te zwykle składają się z fragmentu arylopiperazyny, połączonego łańcuchem alkilowym z terminalnie usytuowaną grupą heterocykliczną⁵²⁻⁵⁶ acykliczną⁵⁷ lub aromatyczną⁵⁸⁻⁶⁰ oznaczoną w dalszym tekście jako R¹. Część terminalna R¹ jest najczęściej

związana z fragmentem arylopiperazyny łącznikiem węglowym poprzez atom N^{52-53,55-56}, O⁵⁹⁻⁶⁰, rzadziej S lub C^{54,58}. Dominująca długość łańcucha alifatycznego wynosi od dwóch do czterech atomów węgla ($n = 2-4$)⁵²⁻⁶². W niektórych przypadkach jest on częściowo usztywniony za pomocą pierścienia cyklicznego^{56,57,63}, lub wiązania podwójnego⁶⁴. W roli grupy arylovej przy piperazynie występują zwykle pochodne fenylu, podstawione wybranymi grupami funkcyjnymi (R^2)^{52,53,57,61} lub inne układy heterocykliczne, jak 1,2-benzoizotiazol⁵⁵⁻⁵⁶.

Dla związków z tej grupy w literaturze opisano wiele metod syntezy, jednakże zwykle wymagają one długiego czasu prowadzenia reakcji, wynoszącego 2–24 godziny oraz wiążą się z koniecznością stosowania dużej ilości toksycznych rozpuszczalników oraz niebezpiecznych reagentów.¹⁰⁻²⁹ W zależności od wariantu, uzyskuje się wydajności w zakresie 10–95%. Większość znanych metod opiera się na reakcjach alkilowania, przebiegających zgodnie z mechanizmem substytucji nukleofilowej. Poniżej zaprezentowano przegląd sposobów syntezy związków z grupy LCAP, przedstawiając reakcje schematycznie.

Dominującym w literaturze podejściem jest dwu-etapowa, konwencjonalna substytucja nukleofilowa, składająca się z alkilowania grupy terminalnej R^1 (**1**) dihalogenkiem alkilu (**2**), a następnie reakcji powstałego produktu (**3**) z odpowiednią arylopiperazyną (**4**) (**Schemat 1**).¹⁰



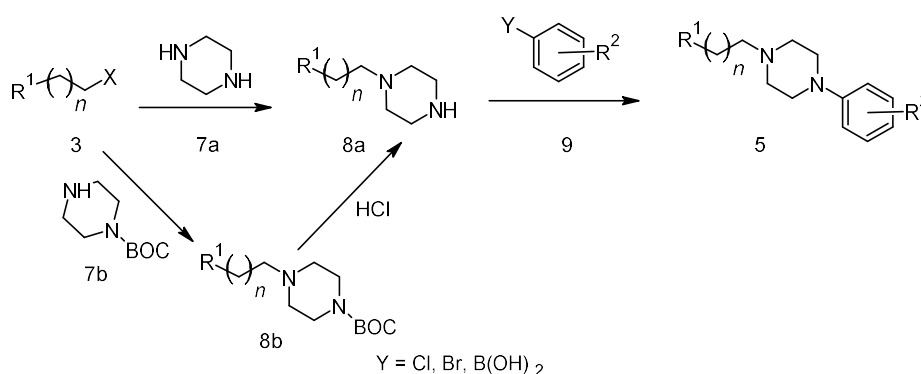
Schemat 1. Synteza związków z grupy LCAP na drodze dwuetapowego alkilowania.

Reakcje prowadzi się zazwyczaj stosując dichloro¹⁰, dibromo¹³, diiodo¹² lub bromochloro⁶⁵ alkany, jako czynnik alkilujący (**2**), lecz znane są także warianty z zastosowaniem mesylianów^{11,12} i tosylianów alkilowych¹². Synteza przebiega w środowisku zasadowym (np. NaHCO₃¹¹, Na₂CO₃¹², TEA²⁵, K₂CO₃^{10,12}), przy użyciu polarnych

rozpuszczalników aprotycznych, jak DMF¹⁰ oraz MeCN¹¹⁻¹³. W wariacie tym często stosuje się także PTC, np. TBAB⁶⁶.

Analogicznie, ciąg syntetyczny można prowadzić rozpoczynając alkirowanie od arylopiiperazyny (**4**), poddając ją reakcji z dihalogenkami alkirowymi (**2**), w wyniku czego otrzymuje się dwa różne produkty. W zależności od preferencji substratu, synteza prowadzi do powstania alifatycznych pochodnych (**6a**)²² lub cyklicznych soli czwartorzędowych (**6b**)¹⁴, jednakże oba związki w ten sam sposób reagują w drugim etapie z prekursorem grupy terminalnej (**1**). W tym wariacie, stosuje się, podobnie jak poprzednio bromki^{14,22}, chlorki²¹ a także mesylany alkirowe⁶⁷. Analogiczne są także warunki procesu, gdyż konieczne jest zastosowanie czynnika zasadowego np. K₂CO₃¹⁴, NaH²², NaOH²¹. Reakcje prowadzi się w DMF¹⁴, izopropanolu²¹, dioxanie²² lub w układzie woda/toluen z zastosowaniem TBAB w roli PTC⁶⁸. W przypadku arylopiiperazolu (7-[4-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-yl]butoksy]-3,4-dihydro-1*H*-chinolin-2-onu) reakcje prowadzono także w wariacie jednonacyniowym (*one-pot*), przy jednoczesnym udziale reagentów **1**, **2**, **4**, uzyskując wydajności rzędu 60%⁶⁹. Obie opisane metody wymagają wcześniejszej syntezy odpowiednich arylopiiperazyn (**4**).

Alternatywna ścieżka otrzymywania produktu obejmuje trzy etapy, w tym alkirowanie grupy terminalnej (**1**) dihalogenoalkanami (**2**), następnie reakcję powstałego produktu (**3**) z piperazyną (**7a**) lub *N*-Boc-piperazyną (**7b**) oraz po ewentualnym uwolnieniu powstałego produktu (**8b**) od grupy zabezpieczającej Boc, sprzężenie *Buchwalda-Hartwiga* (**8a**) z halogenkami aryłowymi (**9**) (Y = Br¹⁵, Cl⁵⁰) (**Schemat 2**).

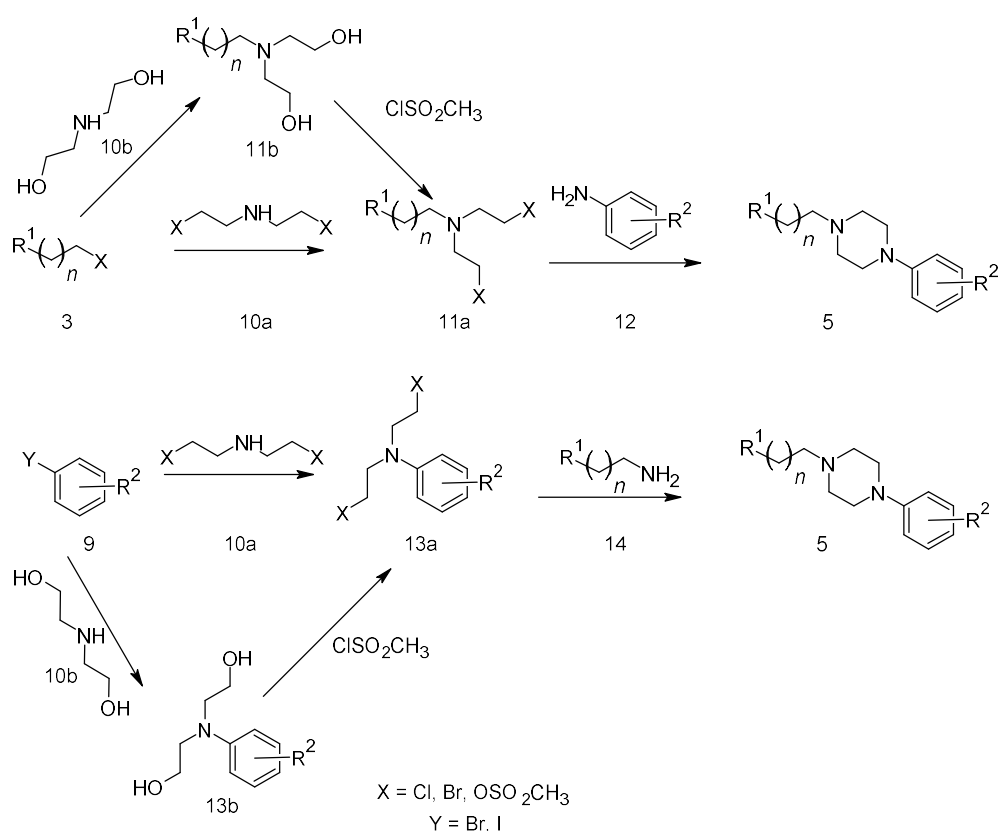


Schemat 2. Synteza LCAP, uwzględniająca reakcje sprzężenia Buchwalda-Hartwiga lub Chana-Lama w ostatnim etapie.

W ostatnim etapie stosuje się układ katalityczny typu Pd-BINAP¹⁵ lub inne katalizatory pallado-fosfinowe⁵⁰, w obecności silnych zasad, takich jak butanolan sodu¹⁵ w dioksanie,

dimetoksyetanie⁵⁰, lub innych rozpuszczalnikach, typowych dla sprzęgania krzyżowego. Zamiast halogenku arylu, zgodnie z protokołem *Buchwalda-Hartwiga*, w finalnym etapie można zastosować aromatyczną pochodną kwasu borowego, według podejścia *Chana-Lama*. W tym wariantcie reakcje prowadzi się w obecności octanu miedzi i TEA w DCM¹⁶. Należy zaznaczyć, że ta ścieżka reakcji przebiega w podobny sposób do opisanej wcześniej metody, generując dodatkowy etap, wymagający użycia drogich katalizatorów metalicznych.

Odmienne podejście syntetyczne widać w przypadku metody, zgodnie z którą produkt (5) otrzymuje się poprzez cyklizację pierścienia piperazyny w ostatnim etapie reakcji (Schemat 3).

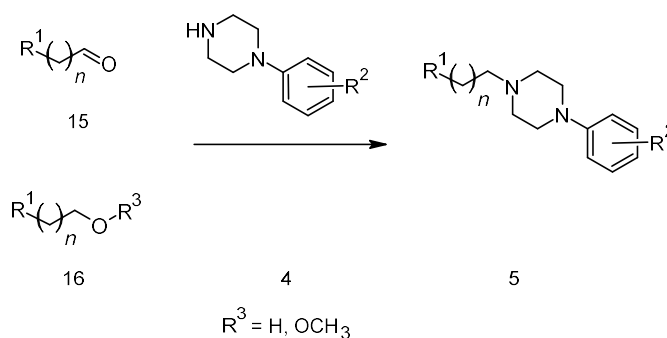


Schemat 3. Synteza LCAP obejmująca cyklizację pierścienia piperazyny w ostatnim etapie.

W metodzie tej, pochodną halogenoalkilową grupy terminalnej (3)¹⁸ lub halogenek arylu (9)¹⁷ poddaje się reakcji z bis(2-chloroetylo)aminą lub jej bromowanym analogiem (10a). W kolejnym etapie, powstały produkt 11a/13a reaguje z pochodną aniliny (12) lub aminoalkilową pochodną grupy terminalnej (14) odpowiednio. Reakcje prowadzi się w układzie K₂CO₃/KI, stosując DMF¹⁸, lub 5,5-dimetylo-1,3-cycloheksadien¹⁷ jako rozpuszczalnik. Zamiast bis(2-halogenoetylo)aminy w metodzie tej można także użyć dietanoloaminę (10b) w pierwszym etapie. Otrzymany produkt pośredni następnie przekształca

się w pochodną dimesylanową (**11b/13b**). W finalnym kroku, reakcje prowadzi się w toluenie, stosując butanolan potasu jako zasadę¹⁷. W procesie syntezy należy uwzględnić kilkietapowe otrzymywanie pochodnych aminoalkilowych grupy terminalnej (**14**) lub sprzężenie krzyżowe w otrzymywaniu **13a/13b**.

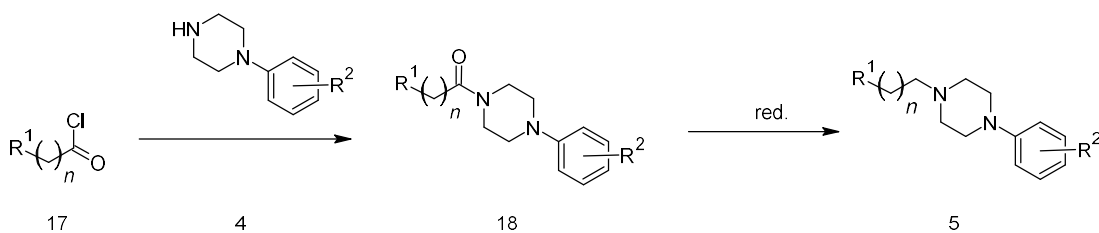
Interesujące podejście, eliminujące całkowicie lub częściowo konieczność stosowania halogenów w procesie otrzymywania LCAP zakłada prowadzenie alkirowania przy udziale grup opuszczających, zawierającymi atom tlenu (**Schemat 4**).



Schemat 4. Synteza LCAP, poprzez alkirowanie pochodnymi hydroksylowymi i karbonyłowymi.

Najbardziej podstawowy wariant, wpisujący się w ten trend to redukcyjne alkirowanie arylopiiperazyny (**4**), alkiłokarbonyłową pochodną grupy terminalnej (**15**). W ścieżce tej powstaje pośrednio imina, która następnie jest zredukowana do finalnej aminy III-rzędowej (**5**). Proces można prowadzić stosując jako reduktor wodór pod ciśnieniem w metanolu¹⁴. Bardziej klasyczny wariant dla tej reakcji zakłada użycie tris(acetoksy)borowodoru sodu w izopropanolu¹⁹ bądź DCM²⁴ lub cyjanoborowodoru sodu w metanolu. Alkirowanie arylopiiperazyny można prowadzić także łańcuchową pochodną grupy terminalnej, posiadającą podstawnik metoksyłowy na końcu łańcucha alkiłowego (**16**). Reakcje prowadzi się w układzie Na₂CO₃/MeCN²⁰. Inny wariant zakłada bezpośrednie użycie OH jako grupy opuszczającej, w obecności DIPEA oraz jodku tributylu(cyjanometylo)fosfanu w toluenie²⁷. Wspomniane metody są atrakcyjne ze względu na wykluczenie toksycznych halogenków dialkiłowych w ostatnim etapie syntezy, jednakże, należy zwrócić uwagę na to, że samo otrzymanie półproduktów **15** i **16** może wymagać użycia halogenków na etapie alkirowania grupy terminalnej (**1**).

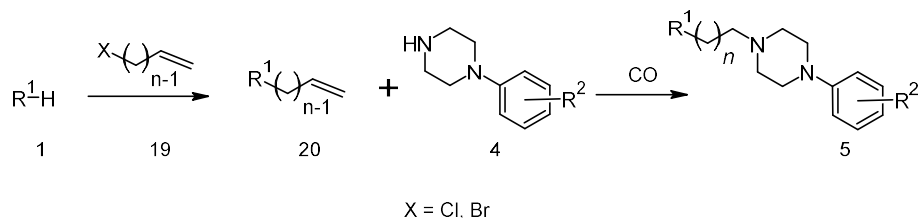
Inna ścieżka syntezy LCAP przebiega poprzez reakcje arylopiiperazyny (**4**) z halogenkiem acylowym, połączonym przez łańcuch alkiłowy z grupą terminalną (**17**) (**Schemat 5**).



Schemat 5. Synteza LCAP poprzez redukcję amidowej pochodnej końcowego produktu.

Produkt **18** następnie poddaje się redukcji, stosując kompleks dimetylosiarczkowo-boranowy w THF¹⁵, LiAlH₄ w THF²³ lub NaBH₄/BF₃ w THF²³. Metoda ta jest stosowana w przypadku, gdy utrudnione lub niemożliwe jest alkirowanie grupy terminalnej dihalogenoalkanami. Jednakże należy mieć na uwadze niską selektywność procesu redukcji w przypadku obecności karbonylowych grup funkcyjnych we fragmencie terminalnym.

Ciekawy wariant stanowi równoczesne *N*-alkilowanie arylopiperazyny (**4**) oraz hydroformylowanie skróconej, olefinowej pochodnej grupy terminalnej (**20**) (**Schemat 6**). Reakcje prowadzi się w obecności CO oraz H₂, stosując acetyloacetonodikarbonylę (1) i 6,6'-[[3,3',5,5'-tetrakis(1,1-dimetyloetylo)-[1,1'-bifenylo]-2,2'-diylo]bis(oksy)]bis-dibenzo-[d,f][1,3,2]-dioksafosfepine w THF²⁸. Jednakże znaczenie tego wariantu jest niewielkie, ze względu na skomplikowany przebieg etapu hydroformylowania.



Schemat 6. Synteza LCAP poprzez jednoczesne *N*-alkilowanie arylopiperazyny oraz hydroformylowanie olefin.

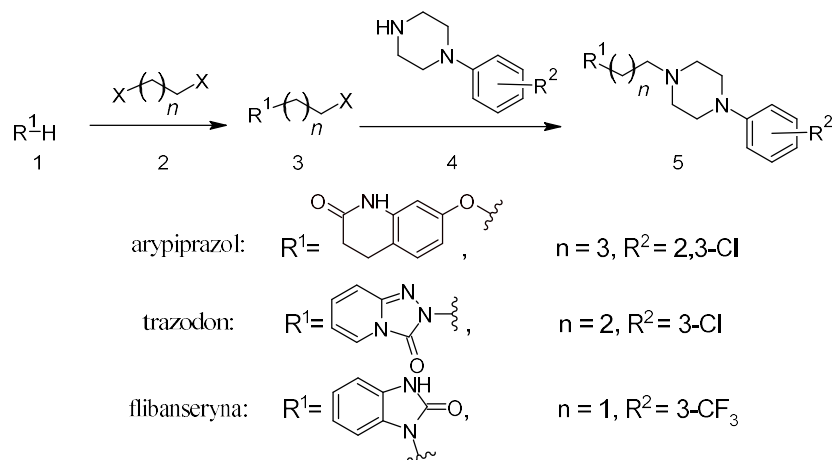
Pomimo tego, że w literaturze opisano wiele nowszych podejść dla syntezy LCAP, wciąż dominującą ścieżką otrzymywania tego typu produktów jest dwuetapowe alkirowanie, przedstawione na **schemacie 1**. Wariant ten wymaga stosowania dużej ilości dihalogenoalkanów oraz rozpuszczalników. Powyżej zaprezentowano metody, pozwalające na częściową eliminację wymienionych czynników w etapie syntezy finalnego produktu. Jednakże w większości przypadków, ścieżki te generują dodatkowe reakcje, w których konieczne jest zastosowanie niepożądanych reagentów. W związku z tym, uzasadnione wydaje się szukanie bardziej przyjaznych metod prowadzenia reakcji zarówno dla wariantu dwuetapowego alkirowania, jak i opisanych alternatywnych ścieżek reakcji.

1.3. Nowe trendy w syntezie LCAP

Dominującą metodą otrzymywania LCAP jest dwuetapowa synteza, składająca się z ciągu reakcji alkilowania. W literaturze pojawiły się doniesienia dotyczące pozyskiwania związków z tej grupy z zastosowaniem niekonwencjonalnych źródeł doprowadzania energii. Najbardziej rozpowszechnione podejście dotyczy reakcji wspomaganych polem promieniowania mikrofalowego. Przedstawiono bezrozpuszczalnikową syntezę LCAP przy udziale związków cezu w roli czynnika zasadowego. Reakcje prowadzono przez 45 minut, uzyskując wydajność 63–97%. Jednakże metoda ta wymaga ściśle bezwodnego środowiska reakcji, ze względu na charakter użytej zasady.⁶⁸ W innych publikacjach prezentowano możliwość prowadzenia analogicznego procesu, stosując układ DABCO/THF. Wydajność w tej metodzie wynosiła 36–95% w czasie 15–45 min⁶⁹. Najczęściej w wariacie mikrofalowym reakcje prowadzi się stosując K₂CO₃/NaI w DMF, uzyskując wydajności w zakresie 36–95% w 5–60 min⁷⁰⁻⁷². Interesującym rozwiązaniem jest także zastosowanie wody jako rozpuszczalnika, w obecności K₂CO₃. Warunki te prowadzą do 91% wydajność otrzymanego produktu po 30 minutach prowadzenia reakcji.⁷³ Na drodze syntezy w obecności promieniowania mikrofalowego otrzymywano także wybrane leki z grupy LCAP; trazodon (2-{3-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]propylo}-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirydyn-3-on) oraz arypiprazol. Reakcje alkilowania prowadzono w różnych warunkach, stosując aceton/NaOH, PTSA/MeCN, DMF/K₂CO₃, NaI/TEA/MeCN. Uzyskano wydajności 69-95% w czasie 1–2 min.⁶⁵

Badania nad syntezą LCAP z zastosowaniem niekonwencjonalnych sposobów prowadzenia reakcji są prowadzone także w zespole badawczym Chemii i Technologii Leków, w Katedrze Chemii i Technologii Organicznej na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. W pracach tych brał udział autor niniejszej rozprawy, prowadząc reakcje syntezy arypiprazolu oraz trazodonu i jego pochodnych w wariantach mikrofalowym, sonochemicznym oraz mechanochemicznym. Na początku cyklu badań, przeprowadzono prace skupiające się na doborze odpowiednich warunków syntezy arypiprazolu na drodze dwuetapowej reakcji alkilowania w polu promieniowania mikrofalowego (**Schemat 7**), stosując PTC. Dokonano doboru odpowiedniego PTC, rozpuszczalnika i jego ilości oraz czynnika zasadowego a także mocy mikrofal. W wyniku przeprowadzonych prac przedstawiono metodę syntezy, pozwalającą na znaczne ograniczenie ilości stosowanego rozpuszczalnika lub jego całkowitą eliminację, otrzymując produkt (**5**) w czasie do 3 minut, z wydajnością sięgającą w warunkach bezrozpuszczalnikowych 81%

(K₂CO₃). Co ciekawe, reakcje prowadzono także w wodzie, uzyskując w ciągu 2 minut wydajność 76%.⁷⁴

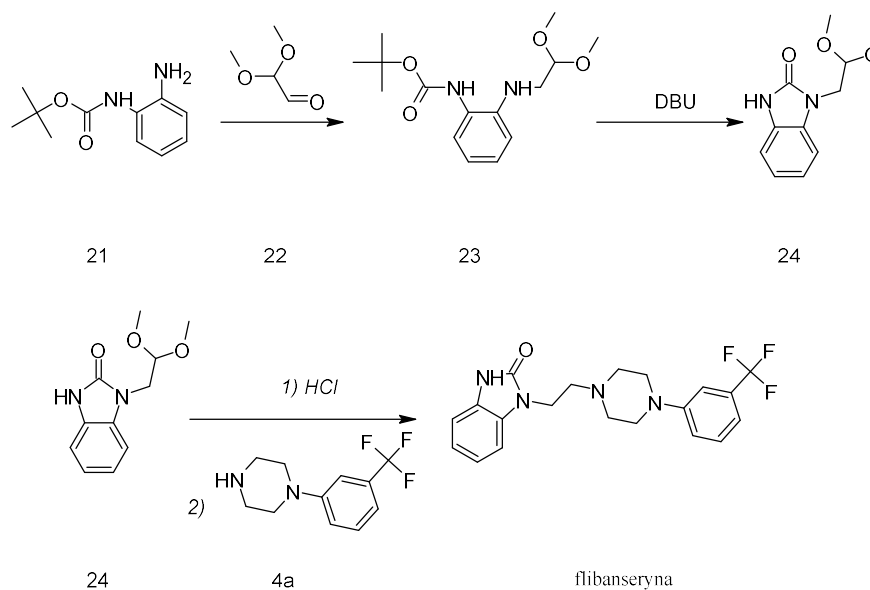


Schemat 7. Synteza arypiprazolu, trazodonu i flibanseryny.⁷⁴⁻⁷⁷

Podobny zakres prac przeprowadzono dla trazodonu, który został otrzymany w warunkach bezrozpuszczalnikowych z wydajnością 82% w czasie 5 minut. Warto podkreślić, że stosując niewielki dodatek acetonitrylu (2–3 cm³ na 10 mmol substratu) uzyskano wydajność około 90% po zaledwie 1 minucie prowadzenia reakcji w 300 W. Podobnie jak w przypadku arypiprazolu, zastosowano 0,1 ekwiwalenta TBAB. W badaniach oceniono zarówno ścieżkę reakcji przedstawioną na **schemacie 7**, jak i wariant, rozpoczynający ciąg reakcji alkilowania od arylopiperazyny.⁷⁵ Przeprowadzenie reakcji w wariancie *one-pot*, bez wydzielania produktu pośredniego po pierwszym etapie alkilowania pozwoliło na uzyskanie wydajności 71%. Opracowana metoda została zastosowana do syntezy heksylowych analogów trazodonu, przy wydajności od 27 do 70%⁷⁵, a także była rozwijana w zespole w kontekście syntezy innych pochodnych np. ipsaspironu (9,9-dioksa-8-[4-(4-pirydyn-2-ylpiperazyn-1-yl)butyl]-9λ⁶-tia-8-azabicyklo[4.3.0]nona-1,3,5-trien-7-onu),⁷⁸ oraz jego heksylowych analogów⁷⁹⁻⁸⁰.

W poprzednim rozdziale przedstawiono redukcyjne alkilowanie jako interesującą alternatywę w otrzymywaniu LCAP. Reakcje tego typu można prowadzić także w obecności promieniowania mikrofalowego. Samą piperazynę poddano redukcyjnemu alkilowaniu w obecności PhSiH₃, Bu₂SnCl₂ w THF⁷². Jednakże szczególnie interesujące wydaje się zastosowanie kaskady reakcji redukcyjnego alkilowania w procesie otrzymywania flibanseryny (1-(2-{4-[3-(trifluorometylo)fenyl]piperazyn-1-yl}etylo)-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-onu), należącej do LCAP. Co więcej, reakcja ta prowadzona jest w reaktorze przepływowym, w procesie ciągłym (**Schemat 8**). Redukcyjne alkilowanie zachodzi na etapie pierwszym

i ostatnim, w warunkach odpowiednio: 10% Pd/C (30 mm CatCart®), 100°C, 10 bar, 50% stosunek gaz-ciecz (t_R ok. 8 s); 10% Pd/C (30 mm CatCart®), 100 °C, 10 bar (t_R ok. 12 s).⁸¹



Schemat 8. Synteza flibanseryny na drodze redukcyjnego alkilowania w reaktorze przepływowym.

Alternatywnym procesem, angażującym czynniki alkilujące zawierające tlenowe grupy opuszczające jest alkilowanie przy zastosowaniu alkoholi, zgodnie z metodologią autotransferu wodoru. W wariacie konwencjonalnym, użyto tego podejścia do otrzymania piribedilu (2-[4-(benzo[1,3]dioksol-5-ilometylo)piperazyn-1-ylo]pirymidyny), pochodnej arylopiperazyny. W syntezie zastosowano układ $[RuCl_2(p\text{-cymen})]_2/DPPF/sita$ molekularne/toluen, ogrzewając mieszaninę przez 24 godziny.⁸² Co ciekawe, prowadzono także reakcje pomiędzy alkoholem benzylovym a arylopiperazyną w obecności MW, stosując $MnCl_2/$ butanolan sodu w dioksanie. Czas reakcji wynosił w tym przypadku tylko 30 minut, a wydajności przekraczały 85%.⁸³

Ciekawym rozwiązaniem jest także zastosowanie mechanochemii w syntezie LCAP. W literaturze opisano podejście mechanochemiczne dla pozyskiwania wortioksetyny, należącej do grupy arylopiperazyn. Została ona otrzymana na drodze bezrozpuszczalnikowego aminowania *Buchwalda-Hartwiga*, w obecności $Pd(OAc)_2/XPhos$ jako katalizatora oraz butanolan sodu. Reakcje prowadzono bez atmosfery ochronnej gazu obojętnego.⁸⁴ Co więcej, opisano także metody otrzymywania arypiprazolu, trazodonu, ipsapironu i flibanseryny w wariacie mechanochemicznym, stosując PTC. Metoda ta została opracowana w ramach badań prowadzonych w zespole Chemii i Technologii Leków, przy udziale autora rozprawy. Reakcje prowadzono w młynkach reakcyjnych, zgodnie ze **schematem 7** oraz porównawczo,

ucierając mieszaninę reakcyjną w moździerzu. Co istotne, już samo ucieranie pozwoliło na uzyskanie 22-46% wydajności w czasie 30 minut (K_2CO_3 /TBAB). Znacznie lepsze osiągi były związane z użyciem młynków reakcyjnych. Dokonano doboru parametrów takich jak szybkość mielenia, stosowane podłoże, PTC oraz kule mielące. Po selekcji warunków syntezy uzyskano wydajności rzędu 90% po 5 minutach trwania reakcji, stosując jako podłoże zeolit ZSM-5 w obecności TBAB.⁷⁶ W ramach kontynuacji badań, otrzymano związki z grupy LCAP w wariacie sonochemicznym. Dokonano doboru warunków syntezy dla grupy zawierającej trazodon, aripiprazol oraz flibanseryne, stosując ścieżkę reakcji przedstawioną na **schemacie 7**. Przeprowadzone badania pozwoliły na selekcję odpowiednich warunków pracy reaktora (A = 60 – 80%, moc P = 50 – 100 W, impulsowy tryb pracy), w których otrzymano produkty końcowe z wydajnością 71–87%, w czasie 10 minut.⁷⁷

Jeszcze w XX wieku odkryto efekt synergiczny, dotyczący połączenia promieniowania mikrofalowego z ultradźwiękami.⁸⁵ Technika ta prowadzi do poprawy przenoszeniu masy, w szczególności w katalizie heterogenicznej lub dwufazowych układach wodnych.⁸⁶ Prowadzenie reakcji w obecności jednocześnie ultradźwięków oraz promieniowania mikrofalowego zwykle wymaga stałego chłodzenia, które może być zapewnione przez krążący płyn chłodniczy, niewidoczny dla MW.⁸⁷ Opisano syntezę LCAP posiadających podstawnik hydroksylowy w łańcuchu alkilowym, na drodze reakcji oksiranów z arylopipezazynami, w reaktorze łączącym promieniowanie mikrofalowe z ultradźwiękami. Rozwiązanie to jest obiecującą alternatywą dla typowych metod sonochemicznych oraz mikrofalowych.

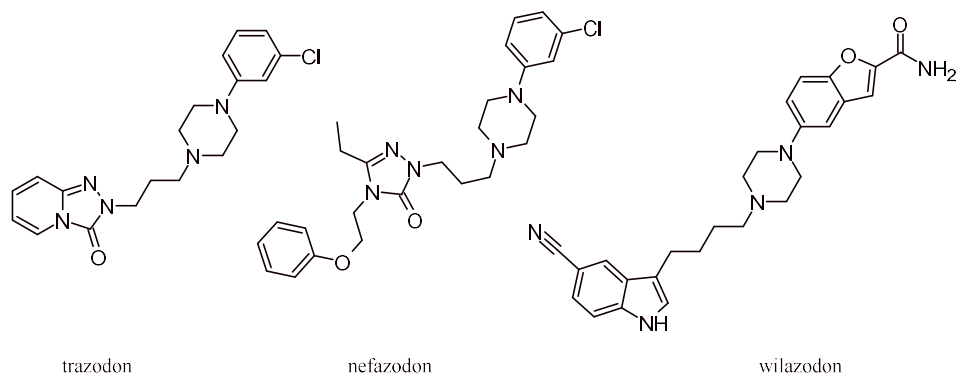
1.4. Farmakologia zaburzeń psychiatrycznych

Poszukiwanie nowych metod farmakoterapii zaburzeń nastroju stanowi wciąż istotne wyzwanie dla medycyny. Dostępne dotychczas środki o działaniu przeciwdepresyjnym dzieli się na leki pierwszej (I) (FGA) oraz drugiej (II) generacji.⁸⁸ FGA obejmują inhibitory monoamino oksydazy (MAOI) i trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne (TCA). MAOI wywierają swoje działanie poprzez selektywne hamowanie enzymów monoamino oksydazy-A (MAO-A) lub monoamino oksydazy-B (MAO-B), katalizujących deaminację oksydacyjną monoamin.⁸⁹ Ich stosowanie wiąże się z dużą ilością efektów ubocznych oraz wysoką toksycnością.⁸⁹ Jednakże MAOI mogą skutecznie leczyć objawy depresji w przypadku oporności na inne typy farmakoterapii, w szczególności w przypadku pacjentów, którzy nie osiągnęli wystarczającego złagodzenia skutków choroby po terapii SSRI lub TCA.⁹⁰ TCA wykazują zwykle działanie inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny, noradrenaliny lub dopaminy w zależności od konkretnego leku. W niektórych przypadkach, są także

antagonistami receptorów histaminowych i muskarynowych.⁸⁸ Jednak ich metabolity generują niepożądane działanie noradrenergiczne. Mechanizmy działania TCA są wysoce nieselektywne, mimo to pozostają one stosunkowo skuteczne w leczeniu MDD.⁹¹

Do leków drugiej generacji zalicza się przede wszystkim selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI), modyfikujące jej poziom w OUN. Serotonina jest uwalniana z jąder szwu do terminala presynaptycznego, gdzie działa na receptory presynaptyczne, a następnie jest metabolizowana przez monoaminooksydazę. Interakcja monoaminy z jej receptorami indukuje pętlę ujemnego sprzężenia zwrotnego, która hamuje dalsze uwalnianie z pętli synaptycznej. Efekt ten prowadzi do zwiększenia zewnątrzkomórkowego stężenia synaptycznego serotoniny, poprawiając w ten sposób działanie przeciwdepresyjne.⁹² Inną ważną podkategorię wśród leków drugiej generacji stanowią inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny i noradrenaliny (SNRI). Wykazano, że ich stosowanie normalizuje nieprawidłowy metabolizm w ciele migdałowatym i korze przedczołowej.⁹³ SNRI hamują wychwyt zwrotny zarówno serotoniny, jak i noradrenaliny, a w przeciwieństwie do SSRI, cechują się rosnącym przebiegiem krzywej dawka-odpowieź.⁹⁴ Inhibitory wychwyty zwrotnego noradrenaliny i dopaminy (NDRI) nie wykazują powinowactwa do receptorów serotoninowych. Zamiast tego selektywnie hamują pompy wychwyty zwrotnego dopaminy i noradrenaliny, zwiększając ich neurotransmisję.⁹⁵

Multimodalne leki przeciwdepresyjne wykazują powinowactwo do receptorów serotoninowych (5-HT_R) i transportera serotoniny (SERT), co skutkuje zwiększonym bezpieczeństwem, tolerancją i skutecznością w farmakoterapii.⁸⁸ Przykładem leku, wykazującego multimodalny mechanizm działania jest wortioksetyna (1-{2-[(2,4-dimetylofenylo)tio]fenylo}piperazyna) celująca w receptory 5-HT_{3R}, 5-HT_{7R}, 5-HT_{1AR}, 5-HT_{1BR} i 5-HT_{1DR} oraz SERT.⁹⁶ Dotychczasowe odkrycia pokazują, że przeciwdepresyjne działanie wortioksetyny jest wynikiem interakcji z wieloma receptorami, angażując układy przekąźnictwa serotoniny, noradrenaliny, dopaminy, acetylocholino, histaminy i glutaminianu.⁹⁶ Inny multimodalny lek przeciwdepresyjny, wilazodon (5-{4-[4-(5-cyjano-1*H*-indolo-3-ilo)butylo]piperazyno-1-ylo}benzofurano-2-karboksyamid), działa jako inhibitor SERT i częściowy agonista 5-HT_{1AR}.⁹⁷ Podobnie trazodon, jest częściowym agonistą receptora 5-HT_{1AR} oraz silnym antagonistą 5-HT_{2AR}.⁹⁸ W istocie, multimodalne antydepresanty wykazują wysoką swoistość wobec receptorów, zapewniając większą skuteczność przeciwdepresyjną, bezpieczeństwo i tolerancję (**Rysunek 2**).



Rysunek 2. Związki z grupy LCAP stosowane jako antydepresanty.

Środki przeciwpsychotyczne są podstawą leczenia schizofrenii. Ze względu na datę wprowadzenia do użycia dzieli się je na leki I i II generacji, podobnie jak antydepresanty, jednakże wszystkie dostępne na rynku leki przeciwpsychotyczne mają cechę wspólną, polegającą na blokadzie receptora dopaminowego (D_2R). Dotychczas antagonizm D_2R stanowił niezbędną właściwość wszystkich dostępnych na rynku leków przeciwpsychotycznych. Przyjęło się, że dla uzyskania skuteczności działania wymagana jest blokada receptora w 60–70%⁹⁹.

Mając na uwadze mechanizm powstawania choroby oraz metody farmakologiczne, wymienia się dwa wiodące obecnie podejścia. Hipoteza dopaminergiczna schizofrenii jest podstawą jej badania i leczenia.¹⁰⁰ W pierwotnym brzmieniu kładła nacisk na rolę nadmiaru dopaminy w patogenezie choroby.¹⁰¹ Obecnie, w swojej rozwiniętej formie opiera się na hipotezie o znaczeniu motywacyjnym, która sugeruje, że mezolimbiczne neuroprzekąźnictwo dopaminergiczne ma kluczowe znaczenie w przypisywaniu istotności, a wzrost ilości dopaminy w układzie mezolimbicznym powoduje zwiększoną stymulację D_2R .¹⁰¹ Receptor D_2 jest celem dla wszystkich leków przeciwpsychotycznych obecnych na rynku. Ponieważ odgrywa on kluczową rolę w koordynacji ruchu, pamięci, poznaniu, emocjach i afekcie, jego blokada może powodować działania niepożądane związane z objawami pozapiramidowymi, podobnymi do choroby parkinsonowskiej. Tego typu skutki są typowe dla leków przeciwpsychotycznych I generacji. W przypadku leków II generacji, dominują metaboliczne efekty uboczne (przyrost masy ciała, hiperglikemia, zwiększone ryzyko cukrzycy, dyslipidemia i ginekomastia).¹⁰²

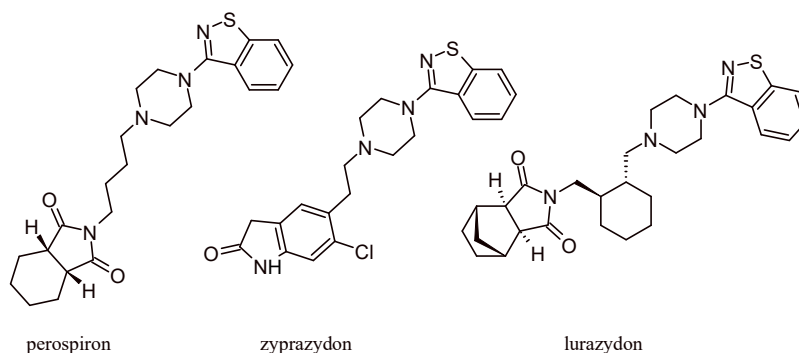
Hipoteza serotoninowa schizofrenii wywodzi się z doniesień o mechanizmie działania halucynogennego psychodelików.¹⁰³ Sugerowano, że zwiększone wydzielanie serotoniny z grzbietowego jądra szwu (DRN) może zaburzać aktywność neuronów korowych w schizofrenii.¹⁰⁴ Antagoniści receptorów serotoninowych zmniejszają ilość

pozapiramidowych skutków ubocznych leków przeciwpsychotycznych. Pomimo braku jednoznacznych dowodów na aberrację sygnalizacji serotoninowej w patomechanizmie schizofrenii, jej receptory stanowią obiecujące cele biologiczne w poszukiwaniu multimodalnych środków przeciwpsychotycznych, które mogą łagodzić objawy poznawcze i negatywne choroby.¹⁰⁵ Sygnalizacja oparta na receptorach serotoninowych odgrywa ważną rolę w działaniu atypowych leków przeciwpsychotycznych (II generacji), w tym klozapiny (8-chloro-11-(4-metylo-1-piperazylo)-5*H*-dibenzo[*b,e*][1,4]diazepin). Środki te wykazują silny antagonizm 5-HT_{2A}R, przy jednocześnie zmniejszonym antagonizmie D₂R, co odróżnia je od leków I generacji.

Historia farmakoterapii schizofrenii sięga połowy XX wieku, kiedy to dopuszczono do użycia chlorpromazynę. Nowa era w jej leczeniu rozpoczęła się, gdy po czterdziestu latach od wprowadzenia pierwszego leku, FDA zatwierdziła kliniczne zastosowanie klozapiny w przypadkach schizofrenii odpornej na leczenie. Była ona pierwszym lekiem drugiej generacji (atypowym lekiem przeciwpsychotycznym), o silniejszej zdolności łagodzenia objawów negatywnych, wywołującym mniej objawów pozapiramidowych niż znane do tej pory środki. Klozapina wykazuje ciekawe właściwości względem 5-HT_{1A}R. Pomimo umiarkowanego powinowactwa *in vitro* (160 nM)¹⁰⁶ pełni rolę agonisty tego receptora, co potwierdzono w różnych modelach eksperymentalnych.¹⁰⁷ Podobnie, wiele innych leków przeciwpsychotycznych drugiej generacji wykazuje bezpośrednią lub pośrednią aktywność agonistyczną w stosunku do 5-HT_{1A}R¹, podkreślając istotną rolę tego receptora w efektach terapeutycznych. Obserwacje te doprowadziły do opracowania nowej grupy leków, opartych na połączeniu blokady D₂R z właściwościami agonistycznymi względem 5-HT_{1A}R, takich jak aripiprazol, perospiron ((3*aS*,7*aR*)-2-[4-[4-(1,2-benzotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]butylo]-3*a*,4,5,6,7,7*a*-heksahydroizoindol-1,3-dion), zyprazydon (5-{2-[4-(1,2-benzotiazol-3-ylo)piperazyn-1-ylo]etylo}-6-chloro-1,3-dihydroindol-2-on), bifeprunox (7-[4-(bifenyl-3-ilometylo)piperazyn-1-ylo]-1,3-benzoksazol-2(3*H*)-on), lurazydon ((3*aR*,4*S*,7*R*,7*aS*)-2-{(1*R*,2*R*)-2-[4-(1,2-benzotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylometylo]cykloheksylometylo}-heksahydro-4,7-metano-2*H*-izoindolo-1,3-dion) oraz kariprazyna (3-(4-{2-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]etylo}cykloheksylo)-1,1-dimetylomocznik). Porównanie ich działania wskazuje, że równowaga między powinowactwem do 5-HT_{1A}R i D₂R jest kluczowa dla aktywności tych leków w modelach przedklinicznych.¹⁰⁸ Oprócz schizofrenii, atypowe leki przeciwpsychotyczne są stosowane w innych chorobach, takich jak choroba afektywna

dwubiegunowa, zaburzenie lękowe, zaburzenie obsesyjno-kompulsyjne, pobudzenie związane z otępieniem oraz zaburzenia ze spektrum autyzmu.¹⁰⁹

Pośród atypowych leków przeciwpsychotycznych należy wymienić LCAP, w tym zyprazydon, działający jako antagonistą D₂R i 5-HT_{2A}R, częściowy agonista 5-HT_{1A}R oraz częściowy antagonistą 5-HT_{2C}R i 5-HT_{1D}R¹¹⁰, a także lurazydon (**Rysunek 3**), pochodną benzoizotiazolu o wysokiej aktywności antagonistycznej wobec receptorów serotoninowych 5-HT_{2A}R i 5-HT₇R oraz słabszym antagonizmem wobec D₂R.¹¹¹ Lurazydon jest skuteczny i dobrze tolerowany w leczeniu schizofrenii i ostrej choroby dwubiegunowej. Charakteryzuje się małym prawdopodobieństwem wystąpienia działań niepożądanych, takich jak zaburzenia metaboliczne lub sercowe, ale zwiększa ryzyko akatyzi.¹¹¹

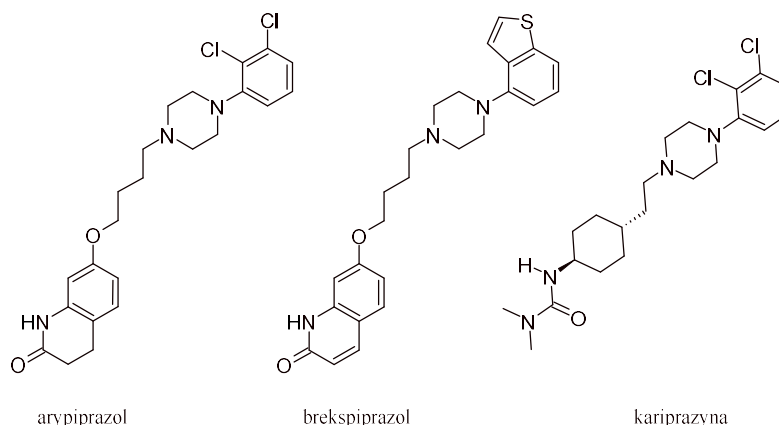


Rysunek 3. Związki z grupy LCAP stosowane jako leki przeciwpsychotyczne II generacji.

Pomimo pozytywnych cech leków II generacji, wiążą się one z poważnymi skutkami ubocznymi, głównie metabolicznymi. Efekt ten przypisuje się blokowaniu postsynaptycznych receptorów adrenergicznych, cholinergicznym i histaminowym.¹¹² Najnowsza grupa leków przeciwpsychotycznych, określana jako III generacja, składa się z aripiprazolu, brekspiprazolu (7-{4-[4-(benzo[b]tiofen-4-ylo)piperazyn-1-ylo]butoksy} chinolin-2(*1H*)-onu) i karpiprazyny, należących do LCAP. Kategoria ta została zindywidualizowana ze względu na mechanizm działania na receptory dopaminergiczne. W przeciwieństwie do innych neuroleptyków, leki III generacji nie są antagonistami D₂R, ale ich częściowymi agonistami. Profil ten w przypadku aripiprazolu prowadzi do hamowania akumulacji cAMP poprzez D₂R (sygnalizacja białka G_α)⁵⁹, a w obecności wysokich zewnątrzkomórkowych stężeń dopaminy w obszarach mezolimbicznych, konkurowania z dopaminą, skutkując częściowym antagonizmem, prowadzącym do korzyści klinicznych. W przypadku niskiego stężenia pozakomórkowego dopaminy, aripiprazol może wiązać się z dodatkowymi receptorami i częściowo je aktywować. Ze względu na mechanizm działania lek ten jest określany jako „stabilizator dopaminy”.¹¹³

Arypiprazol wykazuje także częściowe właściwości agonistyczne do 5-HT_{1A}R, a także lepszą tolerancją w porównaniu z innymi lekami przeciwpsychotycznymi.¹¹⁴

Innym lekiem III generacji jest brekspiprazol, zatwierdzony przez FDA w 2015 roku, działający jako częściowy agonista receptorów D₂R, D₃R i 5-HT_{1A}R, a także wykazujący właściwości antagonistyczne wobec receptorów 5-HT_{2A}R, 5-HT_{2B}R i 5-HT₇R. Jego profil farmakologiczny jest bardzo podobny do arypiprazolu. Ich skuteczność przeciwpsychotyczna jest porównywalna, ale brekspiprazol powoduje mniejszą akatyzię.¹¹⁵ Ponadto brekspiprazol wykazuje właściwości prekognitywne w przeciwieństwie do arypiprazolu.¹¹⁶ W tej grupie znajduje się także karpiprazyna wykazująca podobnie jak inne leki przeciwpsychotyczne III generacji częściowy agonizm do D₂R, D₃R i 5-HT_{1A}R¹¹⁷ (**Rysunek 4**). Lek można stosować w przypadku trudnej do leczenia schizofrenii z dominującymi objawami negatywnymi.¹¹⁸ Wprowadzenie do praktyki klinicznej nowszych środków przeciwpsychotycznych przyczyniło się głównie do zmniejszenia pozapiramidowych działań niepożądanych. Pacjenci rzadziej cierpią na akatyzię, dystonię, objawy parkinsonizmu czy późną dyskinezę niż w przypadku terapii lekami przeciwpsychotycznymi pierwszej generacji.



Rysunek 4. Związki z grupy LCAP stosowane jako leki przeciwpsychotyczne III generacji.

1.5. Receptory aminergiczne w leczeniu chorób psychiatrycznych

W poprzednim rozdziale opisano patogenezę oraz dominujące podejścia farmakologiczne, dotyczące MDD oraz schizofrenii. Przytoczone dane wskazują na ważną rolę układów neuroprzekąźnictwa serotonergicznego oraz dopaminergicznego w obu tych schorzeniach, podkreślając rolę receptorów serotoninowych i dopaminowych w projektowaniu nowych leków.

W kontekście obu dysfunkcji, przytacza się rolę sprzężonego z białkiem $G_{i/o}$ 5-HT_{1A}R, należącego do najliczniejszych receptorów serotoninowych w mózgu.¹¹⁹ Głównym efektem wiązania serotoniny z 5-HT_{1A}R jest indukowanie aktywacji kanałów jonowych K⁺.¹¹⁹ Receptor ten bierze udział w wielu innych szlakach przekąźnictwa, do których należą: regulacja aktywności fosfolipazy-C, hamowanie akumulacji cAMP i zmniejszanie prądów wapniowych.² W OUN istnieją dwa odrębne podtypy 5-HT_{1A}R: presynaptyczne (autoreceptory) i postsynaptyczne (heteroreceptory). Chociaż wiązanie serotoniny indukuje hiperpolaryzację neuronów w obu typach, efekt przedłużonej stymulacji różni się między nimi. Badania wykazały ponadto, że autoreceptory 5-HT_{1A}R w jądrze szwu nie wpływają na poziomy cAMP, podczas gdy receptory postsynaptyczne indukują zwiększoną aktywność cykazy adenylylowej.¹²⁰ Co ważne, zidentyfikowano polimorfizm funkcjonalny C(-1019)G (rs6295), regulujący gen 5-HT_{1A}R. Wiąże się to ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zaburzeń afektywnych i opornością na leczenie SSRI.¹²¹⁻¹²² Presynaptyczne 5-HT_{1A}R odgrywają negatywną rolę w MDD. Osoby z podwyższoną gęstością lub aktywnością presynaptycznych 5-HT_{1A}R są bardziej podatne na zaburzenia nastroju i samobójstwa oraz słabo reagują na leki przeciwdepresyjne.¹²³ Co więcej aktywacja presynaptycznego 5-HT_{1A}R przez SSRI, SNRI lub agonistów 5-HT_{1A}R zmniejsza aktywność neuronalną 5-HT i jej końcowe uwalnianie¹²⁴, ograniczając w ten sposób aktywację receptorów postsynaptycznych, odpowiedzialnych za kliniczne działanie przeciwdepresyjne. Ten mechanizm negatywnego sprzężenia zwrotnego jest zaangażowany w opóźnienie działania antydepresantów i prawdopodobnie w ich ograniczoną skuteczność. Obserwacje te doprowadziły do opracowania nowych leków przeciwdepresyjnych blokujących transporter serotoniny (SERT) i wykazujących częściową aktywność agonistyczną w stosunku do 5-HT_{1A}R, wilazodonu i wortioksetyny.¹²⁵⁻¹²⁶

W przeciwieństwie do autoreceptorów presynaptycznych, aktywacja postsynaptycznych 5-HT_{1A}R w hipokampie odgrywa ważną, pozytywną rolę w MDD.¹²⁷ Jednakże pomimo nadziei pokładanych w klinicznym zastosowaniu agonistów 5-HT_{1A}R jako leków przeciwdepresyjnych, środki te osiągnęły niewielki sukces ze względu na ich

ograniczoną skuteczność kliniczną i powszechne występowanie żołądkowo-jelitowych skutków ubocznych. Lek przeciwłękowy buspiron (8-{4-[4-(2-pirymidynylo)-1-piperazylo]butylo}-8-azaspiro[4.5]dekano-7,9-dion) jest z powodzeniem stosowany w strategii augmentacyjnej skierowanej na leczenie MDD odpornej na leczenie SSRI, jednak wykazuje niską skuteczność w monoterapii. Głównym problemem azapironów, do których należy buspiron jest ich krótki okres półtrwania i powstawanie metabolitów o działaniu antagonistycznym wobec receptora α_2 -adrenergicznego, o potencjalnie zakłócającym wpływie na właściwości przeciwłękowe/przeciwdepresyjne związków macierzystych. Jednakże badania na zwierzętach wykazały, że zarówno stymulacja, jak i blokada 5-HT_{1A}R może powodować lub przyspieszać działanie antydepresyjne.¹

5-HT_{1A}R są także zaangażowane w patofizjologię i leczenie schizofrenii. Badania pośmiertne i neuroobrazowe ujawniły zmiany w gęstości 5-HT_{1A}R w korze i ciele migdałowatym pacjentów ze schizofrenią.¹²⁸ Podobnie jak w przypadku depresji, funkcjonalny polimorfizm C(-1019)G jest zaangażowany w odpowiedź na atypowe leki przeciwpsychotyczne. Chociaż wykazują one zmienne powinowactwo do 5-HT_{1A}R, zwykle zwiększają uwalnianie dopaminy PFC w mechanizmie postsynaptycznym, zależnym od 5-HT_{1A}R.¹²⁹ Działanie to może przyczynić się do lepszej skuteczności w leczeniu objawów negatywnych i poznawczych.¹ Co istotne, niskie dawki agonistów 5-HT_{1A}R wykazują działanie prokognitywne.¹³⁰

Innym typem receptora serotoninowego, związanego z farmakoterapią i patogenezą zaburzeń psychiatrycznych jest 5-HT_{2A}R, wyrażany głównie w korze nowej oraz guzkach węchowych. Receptory te łączą się poprzez białko G_{q/11} ze szlakiem IP₃ (trójfosforan inozytolu)/PKC(kinaza białkowa C)/wapń. Występują jako receptory postsynaptyczne i presynaptyczne na zakończeniach serotonergicznym, ale ostatnie badania anatomiczne i funkcjonalne sugerują, że 5-HT_{2A}R są również obecne presynaptycznie jako heteroreceptory, mogące wzmacniać neuroprzebieżność glutaminergiczną i uczestniczyć w procesach pamięci.¹³¹

5-HT_{2A}R są zaangażowane w wiele zaburzeń OUN, w tym w depresję oraz schizofrenię, co omówiono w poprzednim rozdziale.¹³¹ Przewlekłe leczenie antydepresantami, takimi jak TCA oraz MAOI, zmniejsza poziom 5-HT_{2A}R u gryzoni.¹³¹ W czasie terapii SSRI, podwyższony poziom serotoniny po aktywacji 5-HT_{2A}R w neuronach GABA hamuje aktywność neuronalną noradrenaliny poprzez przedłużone uwalnianie GABA.¹³² Oprócz

zmniejszenia wydzielania noradrenaliny, SSRI zmniejszają również jej poziom w ciele migdałowatym¹³³, co może leżeć u podstaw nieskuteczności SSRI w depresji lekoopornej. Istnieją dowody na to, że podawanie SSRI i antagonisty 5-HT_{2A}R odwraca ten hamujący wpływ, co może być korzystne w leczeniu depresji lekoopornej.¹³¹

Receptory 5-HT_{1A}R oraz 5-HT_{2A}R stanowią cele biologiczne o znaczeniu w farmakoterapii zaburzeń psychiatrycznych, potwierdzonym przez liczne dowody, lecz wciąż bada się skuteczność ligandów receptorów 5-HT₆R oraz 5-HT₇R w kontekście tych chorób. 5-HT₆R jest szeroko rozpowszechniony w mózgu, guzkach węchowych, prążkowi, jądrze półleżącym, korze mózgowej i hipokampie.¹³⁴ Należy do receptorów sprzężonych z białkiem G_s i aktywuje cyklazę adenylanową/kinazę białkową. Badania wykazały, że wiele nieselektywnych związków, takich jak niektóre TCA, wykazuje wysokie powinowactwo do 5-HT₆R i to właśnie ono może w istotny sposób pośredniczyć w działaniu przeciwdepresyjnym tych leków. Poza możliwą rolę w działaniu podobnym do antydepresyjnego, receptory te mogą również wpływać na zachowania podobne do lęku.¹³⁵ Wykazano, że po blokadzie endogennej syntezy kortykosteronu następuje regulacja w górę mRNA receptorów 5-HT₆R i 5-HT₇R w hipokampie. Fakt ten może wskazywać na użyteczność ich ligandów w leczeniu lęku.¹³⁶ Istnieją także badania, sugerujące zwiększoną ekspresję mózgowego czynnika neurotroficznego mRNA w hipokampie po podaniu, agonisty 5-HT₆R.¹³⁷ Co ciekawe, niektórzy antagoniści tego receptora wykazują działanie przeciwdepresyjne w teście wymuszonego pływania i innych testach behawioralnych.¹³¹ Inne badania pokazują silną ekspresję 5-HT₆R w międzymózgowiu, prążkowi, jądrze półleżącym, guzkach węchowych i korze mózgowej oraz umiarkowaną ekspresję w ciele migdałowatym, podwzgórzu, wzgórze i mózdzku.¹³⁸ Obszary te są związane ze schizofrenią, jak również odgrywają ważną rolę w pamięci roboczej i elastyczności poznawczej.¹³⁹ Wykazano, że antagoniści 5-HT₆R, są w stanie selektywnie zwiększać zewnątrzkomórkowe stężenia dopaminy, jak i noradrenaliny,¹⁴⁰ glutaminianu w hipokampie i asparaginianu w korze czołowej¹⁴¹. Sugeruje to, że ligandy tego typu mogą posiadać pewną użyteczność terapeutyczną w leczeniu schizofrenii.¹⁴²

Receptor 5-HT₇, połączony z białkiem G_s należy do najpóźniej odkrytych receptorów serotoninowych.¹⁴³ Jego rozległa dystrybucja w obszarach limbicznych i wzgórzowo-korowych mózgu sugeruje potencjalną rolę w leczeniu depresji i lęku. Badania behawioralne z użyciem ligandów 5-HT₇R wykazały działanie podobne do przeciwdepresyjnego w teście wymuszonego pływania, natomiast podawanie selektywnego antagonisty powodowało także działanie przeciwbzruchove we wspomnianym teście.¹⁴⁴ Istotna redukcja 5-HT₇R w korze

przedczołowej w badaniach *post mortem* u pacjentów ze schizofrenią sugerują ich rolę w patofizjologii choroby.¹⁴⁵ Ponadto wykazano wysokie powinowactwo wielu leków przeciwpsychotycznych, takich jak klozapina i risperidon, do 5-HT₇R,¹⁴⁶ a ich antagoniści łagodzą nieprawidłowości behawioralne u myszy z niedoborem PACAP.¹⁴⁷ Obserwacje te łącznie wskazują, że farmakologiczna blokada 5-HT₇R ma działanie przeciwpsychotyczne oraz prekognitywne.

Ligandy 5-HT₆R i 5-HT₇R są obecnie poddawane badaniom klinicznym w kontekście aktywności przeciwdepresyjnej i przeciwpsychotycznej. Zaproponowano kilka mechanizmów działania związanego z blokowaniem wspomnianych receptorów. Antagoniści 5-HT₆R i 5-HT₇R mogą zmniejszać uwalnianie GABA w korze przedczołowej, co następnie odhamowuje uwalnianie glutaminianu lub acetylocholino. Mogą także minimalizować pobudliwość interneuronów GABAergicznym, prowadząc do odhamowania, a następnie zwiększenia plastyczności synaps w obszarach mózgu, w których dochodzi do ekspresji 5-HT₆R.¹⁴⁸ Co więcej, ich przewlekłe podawanie zwiększa liczbę immunoreaktywnych neuronów w zakrębie zębatym oraz w obszarach śródwęchowych i okołowęchowych kory, co wpływa na plastyczność synaptyczną, prawdopodobnie zwiększając zdolność neuronów do przebudowy ich połączenia i przyczyniając się do ciągłych adaptacji w obwodach neuronalnych.¹⁴⁹ Antagoniści 5-HT₆R mogą mieć działanie prokognitywne poprzez zmniejszenie sygnalizacji TOR¹⁵⁰, a dualni antagoniści 5-HT₆R i 5-HT₇R wpływają na funkcje poznawcze na skutek interakcji z kinazą tyrozynową Fyn¹⁵⁰.

Receptory dopaminowe znajdują także szerokie zastosowanie w leczeniu zaburzeń OUN. Największe znaczenie terapeutyczne znajdują typy D₁R, D₂R i D₃R, szczególnie w kontekście leczenia chorób neurodegradacyjnych oraz schizofrenii.¹⁵¹ W poprzednim rozdziale wyjaśniono ważną rolę D₂R w patogenezie oraz farmakoterapii schizofrenii. Receptory te są także badane pod kątem ich znaczenia w leczeniu MDD. Anhedonia (zmniejszone zainteresowanie lub przyjemność w odpowiedzi na bodźce, które były postrzegane jako nagradzające przed rozwojem zaburzenia¹⁵²) jest szczególnie trudnym objawem depresji do leczenia, ponieważ coraz więcej dowodów wskazuje, że leki przeciwdepresyjne drugiej generacji, nie są skuteczne w leczeniu deficytu pozytywnego afektu.¹⁵³ Dlatego bardzo ważne jest zbadanie zjawiska zaburzonej regulacji obwodów neuronalnych leżącego u podstaw tego objawu. Wcześniejsze badania sugerują, że pacjenci z MDD wykazywali zwiększone wiązanie D₂R w prążkowiu.¹⁵⁴ Ostatnio pojawiło się więcej

dowodów na aktywność systemu dopaminowego przy użyciu zwierzęcych modeli depresji, jednakże kierunek ten wymaga dalszego zbadania.¹⁵⁵

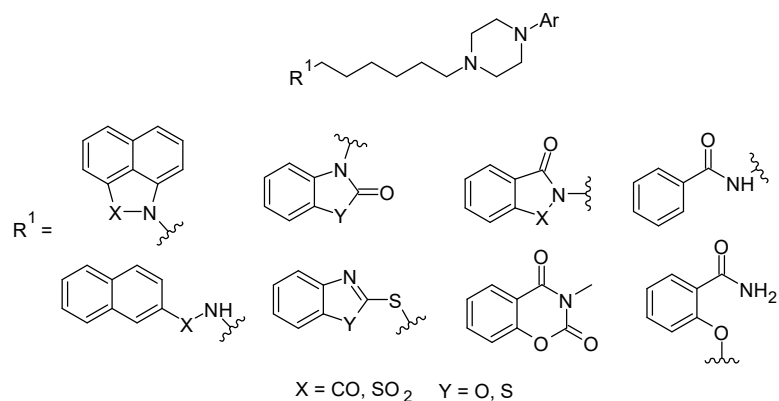
1.6. Długołańcuchowe arylopiiperazyny jako ligandy receptorów aminergiczných

LCAP stanowią ważną grupę ligandów receptorów serotoninowych oraz dopaminowych, szeroko stosowanych w farmakoterapii zaburzeń OUN. W zależności od budowy, związki z tej grupy wykazują zróżnicowany profil powinowactwa receptorowego (Tabela 1).^{52-62,156-159}

Tabela 1. Profil powinowactwa receptorowego znanych leków oraz kandydatów z grupy LCAP.

Nazwa liganda	K_i [nM]				
	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
trazodon ⁵²	4142	118	27	>10000	1782
nefazodon ⁵³	910	80	26	ND	ND
wilazodon ^{54,156}	666 (IC ₅₀)	0,2 (IC ₅₀)	ND	ND	3900 (IC ₅₀)
perospiron ⁵⁵	1,4	2,9	0,6	ND	ND
zyprazodon ⁵⁸	3,1	2,5	0,4	76	9,3
lurazydon ⁵⁶	1,7	6,8	2,0	ND	0,5
arypiprazol ⁵⁹	3,3	5,6	22	570	10,3
brekspiprazol ⁶⁰	0,3	0,1	0,5	58	3,7
kariprazyna ⁵⁷	0,7	3	19	ND	111
buspiron	44 ⁶¹	7 ⁶¹	851 ¹⁵⁷	ND	840 ¹⁵⁸
flibanseryna ¹⁵⁹	305–785	1	115	>1000	990
fananseryna ⁶²	>1000	70	0,1	ND	ND

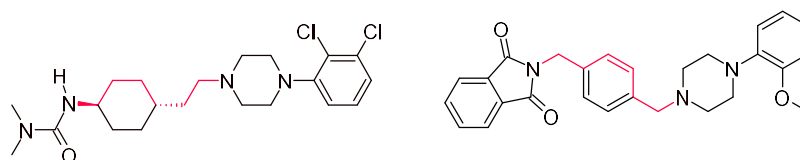
W literaturze dominują połączenia o łańcuchach propylowym i butylowym, jednakże znaleźć można także związki charakteryzujące się wydłużonym łącznikiem alkilowym (Rysunek 5).



Rysunek 5. Związki z grupy LCAP, posiadające w swojej budowie łańcuch heksylowy.

N-heksyloarylopiperazyńlowe pochodne 1,8-naftolaktamu/sultamu badano pod kątem ich powinowactwa do 5-HT₇R, jednakże związki wykazywały jedynie umiarkowane powinowactwo do wspomnianych receptorów.¹⁵⁹ Zdecydowanie lepsze rezultaty otrzymano w przypadku pochodnych heksylowych, posiadających w terminalnym fragmencie grupę benzotiazolonu/oksazolonu¹⁶⁰ lub 2-sulfanylo-benzotiazolu/benzoksazolu.¹⁶¹ Związki te wykazywały wysokie powinowactwo do 5-HT_{1A}R, a w przypadku pochodnych benzotiazolonu/oksazolonu także do 5-HT₇R. Co ciekawe, w tej grupie można było zauważyć wzrost powinowactwa do 5-HT_{1A}R wraz z wydłużeniem łańcucha alkilowego. Podobnie wysokie powinowactwo uzyskano dla *N*-heksyloarylopiperazyń z przyłączonym w miejscu terminalnym ugrupowaniem 2-naftalenoamidowym/sulfonamidowym^{162,163}, benzamidowym⁶³, salicylamidowym⁶³, benzoksazynodionowym⁶³ oraz ftalimidowym^{63,163}. W innym cyklu prac otrzymano grupę heksylowych pochodnych ipsaspironu (pochodnych sacharyny), wykazujących wysokie powinowactwo do receptorów 5-HT_{1A}R oraz D₂R^{38,164}.

W kontekście profilu powinowactwa receptorowego, interesujące wydaje się także podejście polegające na usztywnianiu łańcucha alkilowego fragmentami cyklicznymi lub aromatycznymi (**Rysunek 6**).



Rysunek 6. LCAP posiadające w swojej strukturze usztywniony łańcuch heksylowy.

Należy zaznaczyć, że nie tylko długość linkera węglowego ma wpływ na profil powinowactwa receptorowego, ale także jego giętkość. Zjawisko to widać wyraźnie na przykładzie lurazydonu, posiadającego butylowy łącznik, usztywniony pierścieniem

cykloheksylowym (**Rysunek 7**). Przeprowadzone badania jednoznacznie wskazują, że charakter zastowanego łańcucha węglowego miał wysoki wpływ na selektywność otrzymanych związków, co może przełożyć się na liczbę efektów ubocznych, które będzie w przyszłości powodować lek.¹⁶⁴

	K_i [nM]		
	D ₂	5-HT _{2A}	α ₂
	0,3	0,5	48
	8	23	34
	0,7	0,5	13
	1,8	0,4	13
	0,2	0,3	1,6

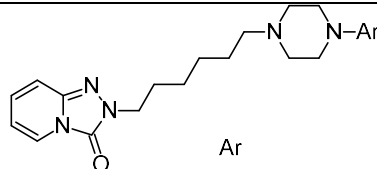
Rysunek 7. Pochodne lurazydonu.

Pośród LCAP, posiadających sześćoatomowy łącznik, interesujące właściwości wykazuje również grupa heksylowych analogów trazodonu.⁷⁵ Sam trazodon został scharakteryzowany jako ligand receptora 5-HT_{2A}R. Wydłużenie łańcucha o trzy atomy węgla spowodowało zmianę kierunku powinowactwa receptorowego z 5-HT_{2A}R na 5-HT_{1A}R. Trend ten utrzymał się w przypadku ligandów, posiadających zmodyfikowaną grupę aryłową przy piperazynie. Związki zostały opracowane w Zespole Chemii i Technologii Leków PK, przy udziale autora niniejszej rozprawy, a otrzymany, heksylowy analog trazodonu potraktowano jako strukturę wyjściową w tej pracy.

2. Cel i zakres badań

Doniesienia dotyczące syntezy LCAP w obecności promieniowania mikrofalowego stały się inspiracją dla zespołu Chemii i Technologii Leków na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej PK do podjęcia badań w zakresie poszukiwania nowych, szybkich sposobów otrzymywania związków z tej grupy, ograniczając ilość stosowanych rozpuszczalników i toksycznych reagentów oraz minimalizując nakład energii niezbędnej do przeprowadzenia syntez. W badaniach czynny udział brał autor tej pracy. Skupiono się nie tylko na zastosowaniu mikrofalowych,^{74,75} ale także sonochemicznych⁷⁷ oraz mechanochemicznych⁷⁶ sposobów dostarczania energii do reakcji. Stwierdzono jednak, że w kontekście otrzymywania dużych bibliotek związków bioaktywnych na etapie prac badawczo-rozwojowych, najkorzystniejszy wydaje się wariant mikrofalowy, ze względu na bardzo krótki czas trwania reakcji oraz wysoką czystość otrzymanych produktów, co pozwala na uzyskanie dużej liczby związków w niedługim czasie. Metoda została wstępnie opracowana na przykładzie istniejących leków z grupy LCAP, arypiprazolu i trazodonu. Dla drugiego z nich, otrzymano także pochodne o wydłużonym łączniku alkilowym z 3 do 6 atomów węgla oraz scharakteryzowano ich profil powinowactwa receptorowego (**Tabela 2**).⁷⁵

Tabela 2. Heksylowe analogi trazodonu. Obszary aktywne zaznaczono na zielono ($K_i < 50$), obszary średnio aktywne na żółto ($K_i < 100$).

		K_i [nM]			
Lp.	Ar	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₇
1*	3-Cl-Ph	137	16	342	278
2	2-Cl-Ph	522	49	2600	2595
3	4-Cl-Ph	362	27	234	435
4	3,4-Cl-Ph	310	19	77	196
5	2-F-Ph	195	7	417	993
6	4-Br-Ph	378	148	229	505
7	2-OCH ₃ -Ph	57	4	841	219
8	3-OCH ₃ -Ph	21	9	343	1024
9	4-OCH ₃ -Ph	350	826	3903	8297
10	2-OC ₂ H ₅ -Ph	1643	9	1540	251
11	2-pirydynylo	10	18	1718	1049
12	2-pirymidynylo	202	104	10620	5569
13	Ph	1526	28	391	404
14	2-Ph-Ph	191	20	328	19

*Na potrzeby rozprawy, związkowi nadano nazwę **TC6**.

Na podstawie analizy zależności typu SAR (*Structure Activity Relationship*) dla profilu powinowactwa receptorowego stwierdzono, że związki posiadające wydłużony łącznik węglowy mają tendencje do zmiany kierunku profilu wiązania z 5-HT_{2A}R (w przypadku trazodonu) na 5-HT_{1A}R dla jego heksylowego analogu (TC6). Ze względu na duże farmakologiczne znaczenie ligandów tego receptora, bezpośredni heksylowy analog trazodonu stał się strukturą wyjściową, którą w ramach tej pracy poddano modyfikacjom strukturalnym.

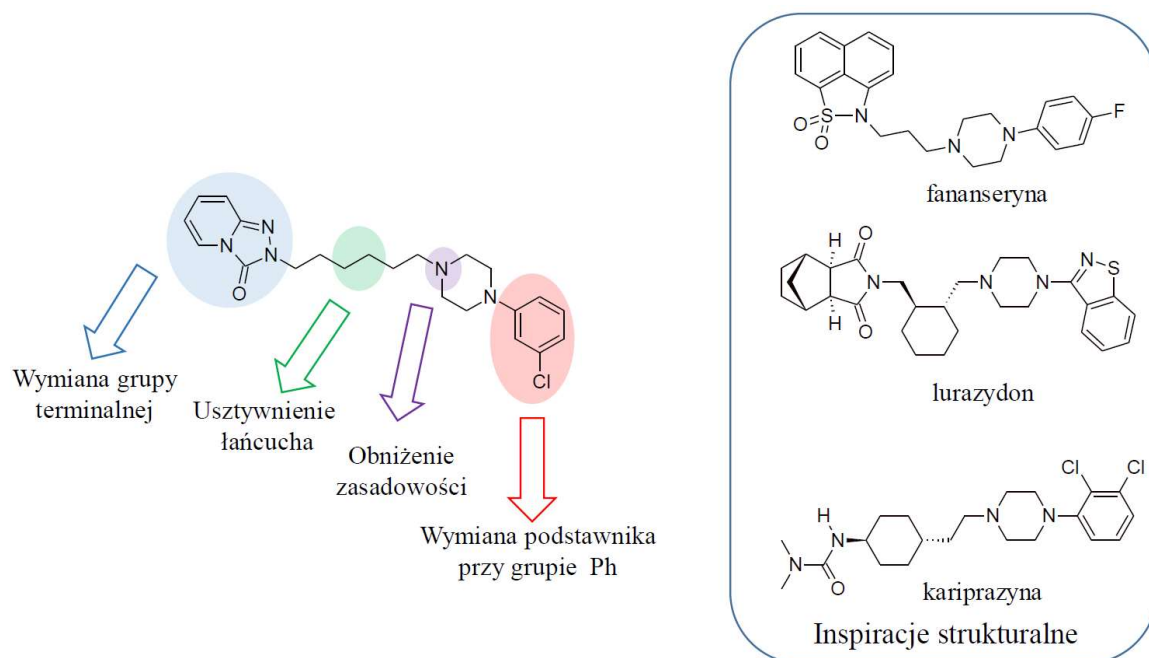
Celem niniejszej pracy było opracowanie szybkiej i ekologicznej metody syntezy związków z grupy *N*-heksyloarylopiiperazyn, posiadających wysokie powinowactwo do wybranych receptorów aminergicznym, istotnych w leczeniu chorób OUN, w szczególności depresji oraz schizofrenii. Metoda ta ma znaleźć zastosowanie przede wszystkim w sektorze R&D, w celu szybkiego otrzymywania dużych bibliotek związków bioaktywnych, do biologicznych badań przesiewowych. Co ważne, jej uniwersalność powinna pozwolić na łatwe skalowanie w celu otrzymania wytypowanych cząsteczek w ilości produkcyjnej, w dalszych etapach rozwoju produktu.

Zastosowane podejście syntetyczne miało polegać na przeprowadzeniu ciągu reakcji alkilowania w polu promieniowania mikrofalowego. Zaplanowano dobór odpowiednich warunków syntezy, w tym mocy promieniowania mikrofalowego, czasu prowadzenia reakcji, użytego czynnika zasadowego oraz rozpuszczalnika, a także zastosowanych reagentów pomocniczych. Zgodnie z zasadami zielonej chemii, dążono do redukcji ilości stosowanych rozpuszczalników lub ich całkowitej eliminacji, zastosowania komponentów o niskiej uciążliwości dla środowiska oraz skrócenia czasu trwania reakcji. Opracowana metoda miała zostać przetestowana, poprzez otrzymanie dużej grupy pochodnych *N*-heksyloarylopiiperazyn, o stosunkowo zróżnicowanej strukturze.

Bazując na budowie przebadanej wcześniej, heksylowej pochodnej trazodonu (TC6), zaplanowano otrzymanie grupy pochodnych, z modyfikacjami strukturalnymi przeprowadzonymi w czterech obszarach (**Rysunek 8**):

- Grupy terminalnej, dobierając fragment heterocykliczny lub acykliczny (obszar niebieski)
- Linkera węglowego, wprowadzając jego częściowe usztywnienie, poprzez pierścień cykloheksylowym lub fenylowy, przy jednoczesnym zachowaniu heksylowego szkieletu łącznika (obszar zielony)
- Zasadowego atomu azotu, poprzez obniżenie zasadowości związku, zastępując pierścień piperazynowy fragmentem karbamoilopiperazynowym (obszar fioletowy)

- Grupy arylowej, przyłączonej do piperazyny (obszar czerwony)



Rysunek 8. Plan modyfikacji struktury wyjściowej.

Wybór kierunku modyfikacji poprzedzony był wirtualnym badaniem przesiewowym. W projektowaniu nowych struktur brano pod uwagę ułożenie w kieszeni wiążącej receptora 5-HT_{1A}R, inspirowane podczas projektowania ligandów strukturami fananseryny (1,1-ditlenku-2-(3-(4-(*p*-fluorofenylo)-1-piperazylo)propylo)-2*H*-naft(1,8-*cd*)izotiazolu), lurazydonu oraz karpiprazyny, znanych związków z tej grupy. W ramach prac badawczych zaplanowano następujące zadania:

- Opracowanie uniwersalnej metody syntezy dla pochodnych *N*-heksyloarylopiperazyn na drodze reakcji w polu promieniowania mikrofalowego.
- Wybór pierwszej grupy związków do syntezy na podstawie wirtualnego badania przesiewowego w kierunku receptorów 5-HT_{1A}R, D₂R i 5-HT₇R.
- Synteza, oczyszczanie i charakterystyka właściwości fizykochemicznych heksyloowych analogów fananseryny, należących do *N*-heksyloarylopiperazyn posiadających w terminalnej części fragment tricykliczny 1,8-naftolaktamu, 1,8-naftosultamu, 1,8-naftalimidu lub 5,6-dihydro-1*H*-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(4*H*)-onu.
- Ocena powinowactwa receptorowego otrzymanych związków (5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R, 5-HT₇R, D₂R) w testach radioreceptorowych.

- Analiza konformacyjna uzyskanych ligandów, uwzględniająca rozkład gęstości elektronowej oraz analiza konformacji aktywnych (dokowanie molekularne), w celu wyjaśnienia niektórych zależności struktura-aktywność.
- Wybór drugiej grupy związków do syntezy na podstawie uzyskanych poprzednio wyników profilu powinowactwa receptorowego.
- Synteza, oczyszczanie i charakterystyka właściwości fizykochemicznych heksylowych analogów lurazydonu, w tym dwóch podgrup, pierwszej posiadającej w terminalnej części wspólny układ (3aR,4S,7R,7aS)-3a,7adimetyloheksahydro-1*H*-4,7-metanoizindolo-1,3(2*H*)dionu, modyfikując fragment arylopiperazyny oraz drugiej podgrupy, ze stałą częścią 1,2-benzoizotiazolu przy piperazynie, modyfikując grupę terminalną.
- Ocena powinowactwa receptorowego otrzymanych związków (5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R, 5-HT₇R, D₂R) w testach radioreceptorowych.
- Analiza konformacji aktywnych otrzymanych związków (dokowanie molekularne, metody hybrydowe QM/MM), w celu wyjaśnienia niektórych zależności typu SAR.
- Wybór trzeciej grupy związków do syntezy na podstawie uzyskanych poprzednio wyników.
- Synteza, oczyszczanie i charakterystyka właściwości fizykochemicznych heksylowych analogów trazodonu i kariprazyny. Synteza trzech podgrup, pierwszej posiadającej w terminalnej części układ [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2*H*)-onu, modyfikując fragment arylopiperazyny lub jej karbamoilowej pochodnej, drugiej podgrupy, testując wpływ usztywnienia łańcucha alkilowego pierścieniem cykloheksylowymi lub fenyłowym na aktywność i trzeciej, ze stałym fragmentem 3-chlorofenylopiperazyny, modyfikując grupę terminalną.
- Ocena powinowactwa receptorowego otrzymanych związków (5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R, 5-HT₇R, D₂R) w testach radioreceptorowych oraz funkcji w receptorze 5-HT_{1A}R dla wybranych ligandów.
- Ocena parametrów ADMET dla selektywnego liganda 5-HT_{1A}R o obniżonej zasadowości.
- Analiza konformacji aktywnych (dokowanie molekularne, metody hybrydowe QM/MM), w celu wyjaśnienia niektórych zależności typu SAR, poparta analizą oddziaływania par FMO oraz dynamiką molekularną.

3. Metodologia badań

3.1. Projektowanie i synteza nowych związków ^a

Reakcje wspomagane polem promieniowania mikrofalowego prowadzono w reaktorze mikrofalowym CEM Discover, stosując moc wyjściową w zakresie 50–200 W. Postęp reakcji oraz wstępną ocenę czystości otrzymanych produktów kontrolowano przy zastosowaniu chromatografii cienkowarstwowej (TLC), na płytkach analitycznych Sigma Aldrich (żel krzemionkowy na aluminium, ze wskaźnikiem fluorescencyjnym 254 nm, grubość warstwy 200 µm, średnica porów 60 Å, do detekcji wykorzystano światło UV o długości fali 254 nm). W analizie stosowano jako eluent mieszaninę chloroformu z metanolem, w zakresie 80:20-97,5:2,5. W celu dokładniejszej oceny postępu reakcji oraz czystości otrzymanych produktów stosowano wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC). Analizy przeprowadzono na aparatach: Perkin Elmer Series 200 HPLC (kolumna XTerra RP C-18, 3,5 µm, 4,6 x 150 mm) z detektorem UV-Vis (długość fali 254 nm) (eluent CH₃OH:H₂O 50:50 zakwaszony 0,1% HCOOH), preparatywnym chromatografie Knauer (kolumna XTerra RP C-18, 5 µm, 4,6 x 150 mm) z detektorem DAD (190-700 nm) (eluent CH₃OH:H₂O 60:40 zakwaszony 0,1% HCOOH) oraz w systemie LC-MS* Waters Acquity UPLC sprzężonym ze spektrometrem mas Waters TQD (tryb jonizacji ESI-tandemowy kwadrupol ESI), przy użyciu kolumny Acquity UPLC BEH C-18, 1,7 µm, 2,1 × 100 mm. W celu potwierdzenia struktury uzyskanych związków przeprowadzono analizy ¹H i ¹³C NMR* za pomocą spektrometru Bruker Avance 400 MHz, stosując TMS jako wewnętrzne odniesienie oraz FT-IR na spektrometrze FTS-165. Analizę elementarną* przeprowadzono na aparacie Vario EL II. Temperatury topnienia zmierzono przy użyciu aparatu Boëtius.

Finalne ligandy otrzymano na drodze 2-etapowej syntezy, składającej się z dwóch reakcji alkilowania prowadzonych w polu promieniowania mikrofalowego. Jeden z użytych w pracy czynników alkilujących, (cykloheksano-1,4-diylo)bis(metyleno)dimetanosulfonian otrzymano na drodze znanej wcześniej procedury¹⁶⁵. Alkilowanie grupy terminalnej przeprowadzono w następujący sposób, przedstawiony na **Schemacie 9 i 10**.

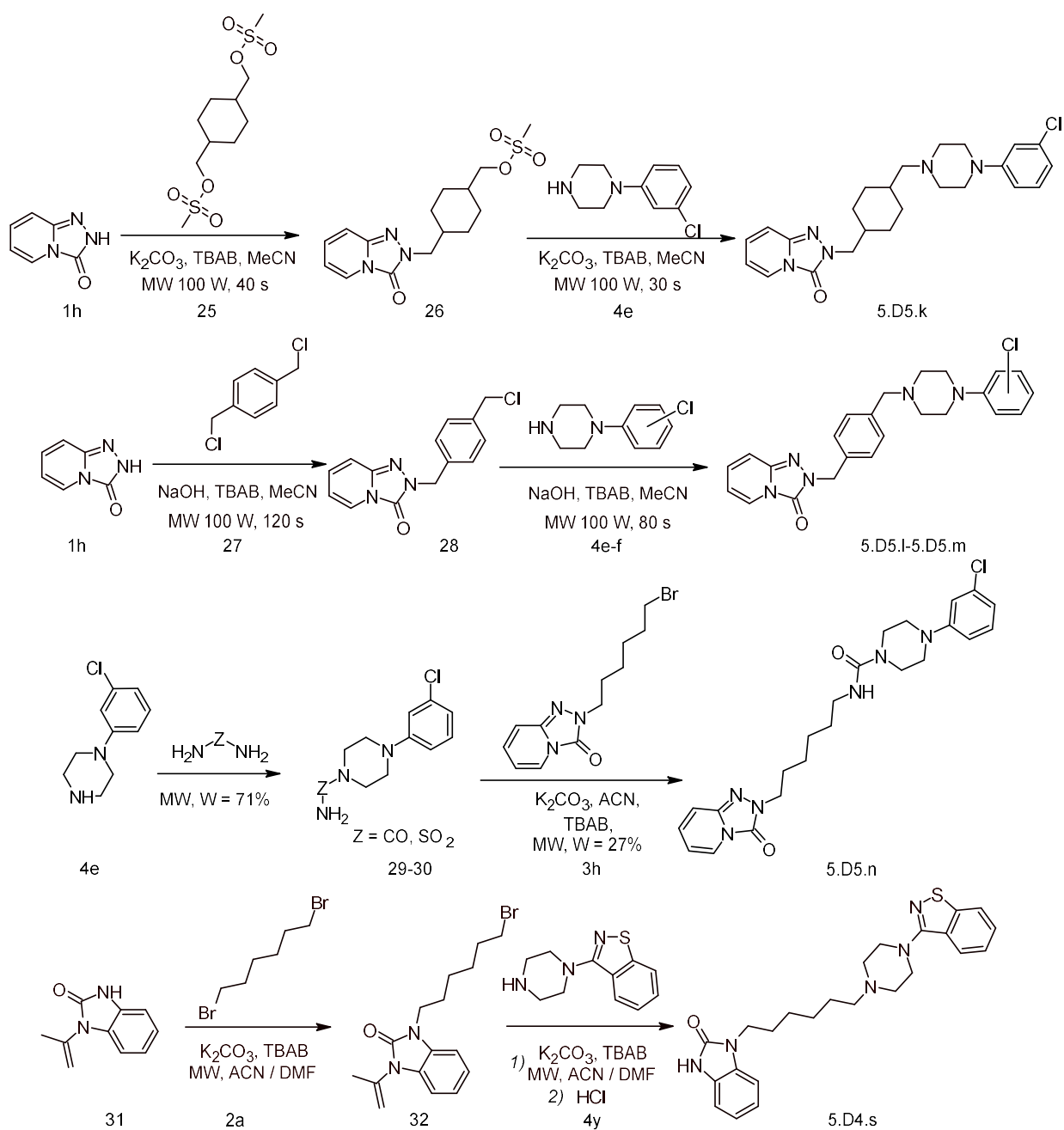
^a Badania własne doktoranta

*analizy zlecone

produkt (**3a-n,26,28**) krystalizowano z metanolu, rozdzielano na kolumnie chromatograficznej lub użyto bez dalszego oczyszczania, w kolejnym etapie. Wydajności reakcji dla każdego produktu obliczono na podstawie masy otrzymanych czystych związków.

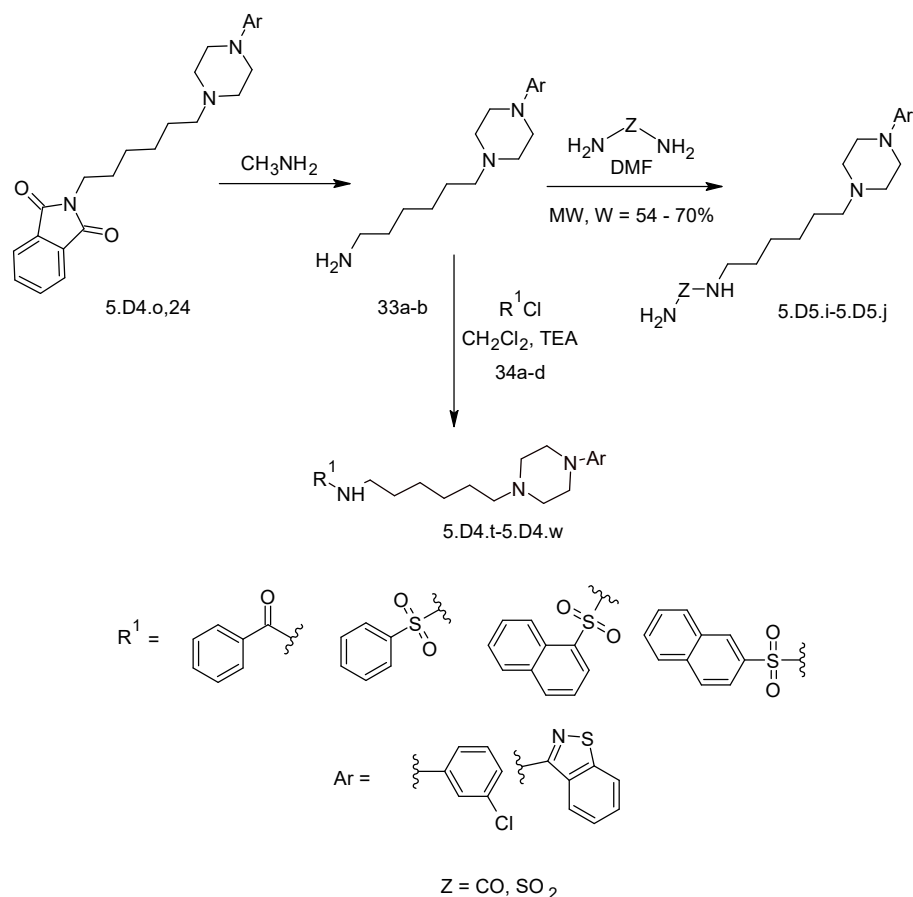
Finalne produkty **5.D1.a-5.D1.r**, **5.D2.a-5.D2.q**, **5.D3.a-5.D3.f**, **5.D4.a-5.D4.s**, **5.D5.a-5.D5.j** w drugim etapie otrzymano na drodze reakcji mikrofalowej, w której 0,001 mola 6-bromoheksylo / 4-(chlorometylo)benzylo / 4-metylocykloheksylo)metylometanosulfonylo pochodnej grupy terminalnej (**3a-n**, **26**, **28**) 0,00095 mola odpowiedniej arylopiperazyny (**4a-y**) lub karbamoilopiperazyny (**29**), 0,003 mola soli o charakterze zasadowym ($\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$) lub zasady (NaOH/TEA) i 0,0001 mola PTC ($\text{TBAB}/\text{TEAC}/$) lub DABCO utarto w moździerz. Tak przygotowaną mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej. W przypadku reakcji w obecności rozpuszczalnika do mieszaniny reakcyjnej dodano **MeCN**, **DMF** lub wodę. Reakcje prowadzono przez 15–80 sekund w reaktorze mikrofalowym CEM Discover przy mocy wyjściowej 50–200 W (optymalna moc to **100 W**). Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano wody i umieszczono na 12 godzin w temperaturze 4°C. Po schłodzeniu produkt odsączono. W przypadku braku zestalenia po ochłodzeniu, mieszaninę ekstrahowano CH_2Cl_2 . Surowy produkt krystalizowano z metanolu lub metanolu z wodą. W nielicznych przypadkach wymagany był rozdział chromatograficzny. Po uzyskaniu minimum 90% czystości, ligandy rozpuszczono w acetonie, a następnie przekształcono w chlorowodorki przy pomocy HCl w dioksanie. Wydajności reakcji dla poszczególnych ligandów obliczono na podstawie masy otrzymanego czystego chlorowodorku.

W przypadku metody *one-pot*, 0,001 mola prekursora grupy terminalnej (**1a-n**), 0,003 mola K_2CO_3 i 0,001 mola TBAB utarto w moździerz. Tak przygotowaną mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i dodano 0,002 mola 1,6-dibromoheksanu (**2a**) i 0,2 cm^3 acetonitrylu. Reakcje prowadzono przez 40 sekund w reaktorze mikrofalowym CEM Discover przy mocy wyjściowej 100 W. Postęp monitorowano metodą TLC. Po tym czasie dodano 0,00095 mola arylopiperazyny (**4a-y**). Reakcje prowadzono przez kolejne 60 sekund, przy mocy wyjściowej 100 W. Po zakończeniu syntezy, do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i umieszczono na 12 godzin w temperaturze 4°C. Po schłodzeniu surowy produkt odsączono i krystalizowano z metanolu.



Schemat 10. Synteza połączeń z usztywnionym łącznikiem, pochodnych karbamoilopiperazyny oraz benzimidazolonu.

W pracy przedstawiono także arylosulfonamidowe (5.D4.u-5.D4.w) oraz aryloamidowe (5.D4.t) pochodne *N*-heksyloarylopiperazyny (Schemat 11).



Schemat 11. Synteza ligandów należących do pochodnych arylosulfonowych, aryloksydofenylowych, mocznikowych i sulfamidowych *N*-heksyloarylopiperazyn.

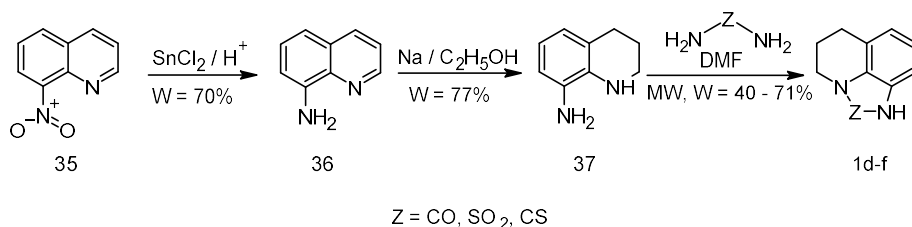
Wyjściowe aminy (**33a-b**) uzyskano na drodze reakcji Gabriela, w obecności metyloaminy. Reakcje aminy (**33b**) z arylosulfochlorkami (**34b-d**) oraz chlorkiem benzoilu (**34a**) przeprowadzono zgodnie ze znanym wcześniej protokołem¹⁶⁶. Mieszaninę 0,006 mola odpowiedniej aminy (**33b**), 30 cm³ chlorku metylenu i 0,63 cm³ TEA umieszczono w kolbie okrągłodennej. Po całkowitym rozpuszczeniu substratów dodano 0,006 mola chlorku benzoilu (**34a**) lub odpowiedniego chlorku arylosulfonylu (**34b-d**). Następnie mieszaninę reakcyjną pozostawiono w temperaturze pokojowej na 3 godziny. Po tym czasie przemyto ją 20 cm³ 5% NaHCO₃ i 20 cm³ wody. Surowy benzamid i sulfonamidy oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej, po czym przekształcono w chlorowoderek za pomocą 4M HCl w dioksanie. Wydajności reakcji obliczono na podstawie masy otrzymanych chlorowodorków.

Opracowano również mikrofalową metodę syntezy pochodnych mocznikowych (**5.D5.i**) i sulfamidowych (**5.D5.i**) arylopiperazynyloheksylo amin (**Schemat 11**). W kolbie umieszczono 0,001 mola 6-(4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo)heksan-1-aminy (**33a**), 0,002 mola mocznika lub sulfamidu i 0,1 cm³ DMF. Reakcje prowadzono przez 60 sekund

w reaktorze mikrofalowym CEM Discover przy mocy wyjściowej 100 W. Po zakończeniu reakcji dodano 40 cm³ wody i mieszaninę ekstrahowano chlorkiem metylenu. Związki oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej (chloroform:metanol 95:5), następnie rozpuszczono w acetonie i przekształcono w chlorowodorki za pomocą 4 M HCl w dioksanie. Wydajność reakcji obliczono w oparciu o masę otrzymanego chlorowodorku.

Podobną metodę, do opisaną powyżej zastosowano w przypadku syntezy karbamoilowych pochodnych arylopiperazyn (**29,30**) (**Schemat 10**). W tym celu w kolbie umieszczono 0,001 mola arylopiperazyny (**4e**) i 0,002 mola mocznika lub sulfamidu i jedną kroplę DMF. Reakcje prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym CEM Discover przy mocy wyjściowej 100 W. Po zakończeniu reakcji dodano 40 cm³ wody i po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt oczyszczono przez krystalizację z acetonu.

Procedura ta znalazła także zastosowanie w syntezie heterocyklicznych, mocznikowych (**1d**), sulfamidowych (**1e**) lub tiomocznikowych (**1f**) pochodnych 8-amino-1,2,3,4-tetrahydrochinoliny (**37**). 8-amino-1,2,3,4-tetrahydrochinoline (**37**) uzyskano w wyniku ścieżki, przebiegającej poprzez syntezę 8-nitrochinoliny (**35**) z *o*-nitroaniliny w wyniku reakcji Skraupa z gliceryną,¹⁶⁷ następnie uzyskaną pochodną chinoliny zredukowano 2-etapowo, z udziałem chlorku cyny¹⁶⁷ oraz sodu w etanolu¹⁶⁸. Finalne cząsteczki heterocykliczne otrzymano prowadząc reakcje w polu promieniowania mikrofalowego (**Schemat 12**). W kolbie umieszczono 0,001 mola 1,2,3,4-tetrahydrochinolin-8-aminy (**37**), 0,002 mola mocznika, tiomocznika lub sulfamidu i 0,2 cm³ DMF. Reakcje prowadzono przez 80 sekund w reaktorze mikrofalowym CEM Discover przy mocy wyjściowej 100 W. Po zakończeniu reakcji dodano 40 cm³ wody i po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt oczyszczono przez krystalizację z etanolu.



Schemat 12. Synteza heterocyklicznych, mocznikowych (**1d**), sulfamidowych (**1e**) lub tiomocznikowych (**1f**) pochodnych 8-amino-1,2,3,4-tetrahydrochinoliny.

3.2. *In vitro*^b

Dla otrzymanych związków końcowych oceniono ich powinowactwo do receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R, 5-HT₇R oraz dopaminowych D₂R w testach radioizotopowych, mierząc zdolność badanego związku do wypierania radioliganda z jego kompleksu z receptorem. Testy wykonano na komórkach HEK293 ze stabilną ekspresją ludzkich receptorów 5-HT_{1A}R, 5-HT₆R, 5-HT_{7B}R i D_{2L}R, zgodnie z publikowaną wcześniej procedurą.⁷⁵ Radioaktywność zatrzymaną na filtrach oznaczono ilościowo na czytniku płytek Microbeta (PerkinElmer). Jako radioligandy stosowano: [³H]-8-OHDPAT dla 5-HT_{1A}R, [³H]-ketanserynę dla 5-HT_{2A}R, [³H]-LSD dla 5-HT₆R, [³H]-5-CT dla 5-HT_{7B}R, [³H]-rakloprid dla D_{2L}R. Wiązanie niespecyficzne zdefiniowano za pomocą 5-HT (dla 5-HT_{1A}R i 5-HT_{7B}R). W przypadku 5-HT_{2A}/D₂R i 5-HT₆R użyto odpowiednio chlorpromazyne lub metiotepine. Każdy związek testowano w trzech powtórzeniach w 8 różnych stężeniach (10⁻⁴ do 10⁻¹¹ M). Stałe hamowania (*K_i*) obliczono z równania Cheng-Prusoffa.¹⁶⁹ Wyniki wyrażono jako średnie z co najmniej dwóch oddzielnych eksperymentów. Związki odniesienia: buspiron dla 5-HT_{1A}R, olanzapina dla 5-HT_{2A}R i 5-HT₆R, klozapina dla 5-HT_{7B}R oraz risperidon dla D_{2L}R.

Dla ligandów o najwyższym powinowactwie do 5-HT_{1A}R oceniono także właściwości funkcjonalne, w oparciu o zdolność ligandu do hamowania wytwarzania cAMP indukowanego przez agonistę 5-CT w komórkach HEK293. Każdy związek testowano w trzech powtórzeniach w 8 stężeniach (10⁻¹¹ – 10⁻⁴ M).

Sygnal transferu energii rezonansu fluorescencji w czasie z rozdzielczością (TR FRET) został zmierzony przy użyciu czytnika Infinite M1000 Pro (Tecan). Wartości *K_b* obliczono z równania Chenga-Prusoffa specyficznego dla analizy krzywych funkcjonalnego hamowania: $K_b = IC_{50}/(1 + A/EC_{50})$ gdzie *A* to stężenie agonisty, *IC₅₀* to stężenie antagonisty powodujące 50% redukcję w odpowiedzi na agonistę, a *EC₅₀* jest stężeniem agonisty, które powoduje połowę maksymalnej odpowiedzi.¹⁶⁹

3.3. Testy ADMET^c

Dla związku o obniżonej zasadowości (**5.D5.n**) oceniono parametry ADMET *in vitro*. Przeprowadzone testy obejmowały badanie przepuszczalności biernej PAMPA, wpływ na aktywność CYP3A4, stabilność metaboliczną, ocenioną na mikrosomach wątroby myszy oraz

^b Badania przeprowadzone przez dr Grzegorza Satałę z Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, pod kierownictwem prof. Andrzeja Bojarskiego

^c Eksperymenty przeprowadzone przez dr hab. Gniewomira Latacza, z Katedry Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydziału Farmaceutycznego CM UJ

ocenę hepatotoksyczności z użyciem komórek HepG2, zgodnie z opisanym wcześniej protokołem.¹⁷⁰

Testy biernej przepuszczalności wykonano stosując Płytki PAMPA Plate System Gentest™, które inkubowano w temperaturze pokojowej przez 5 godzin z badanym związkiem lub kofeiną jako odniesieniem. Stężenia badanych substancji w studzienkach akceptora i donora oznaczono za pomocą systemu LC/MS Waters ACQUITY™ TQD z detektorem TQ. Wartości P_e oszacowano zgodnie ze wzorami Corninga.¹⁷¹

Wpływ badanego liganda na aktywność izoformy CYP3A4 cytochromu P450 analizowano przy użyciu luminescencyjnego testu CYP3A4 P450-Glo™. Związki testowano w trzech powtórzeniach w końcowym stężeniu 10 μM . Sygnał luminescencyjny mierzono czytnikiem mikropłytek EnSpire PerkinElmer.

Stabilność metaboliczną oszacowano przy użyciu mikrosomów wątrobowych myszy (MLM). Badany ligand inkubowano w obecności MLM. Po odwirowaniu, supernatant analizowano za pomocą systemu LC/MS Waters ACQUITY™ TQD z detektorem TQ (Waters, Milford, USA).

Hepatotoksyczność oceniano na linii komórkowej wątrobiaka HepG2. Komórki inkubowano przez 48 godzin ze związkiem w końcowym zakresie stężeń (1-100 μM). Żywotność komórek określono za pomocą testu CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (MTS). Absorbancję mierzono przy użyciu czytnika mikropłytek EnSpire (PerkinElmer, Waltham, MA USA), stosując długość fali 490 nm. Istotność statystyczną w określaniu hepatotoksyczności oceniano za pomocą oprogramowania GraphPad Prism 5.0.1 przy użyciu jednokierunkowej analizy ANOVA, a następnie testu porównawczego Bonferroniego (**** $p < 0,001$).

3.4. Przygotowanie białek i ligandów oraz dokowanie molekularne^d

W badaniach modelowania molekularnego związanych z układem białko ligand posłużono się następującymi strukturami receptorów:

- 5-HT_{1A}R: Zastosowano model homologiczny receptora w stanie aktywnym (zbudowany na podstawie struktury 5-HT_{1B}R PDB ID: 5V54¹⁷²). Model został pobrany z bazy GPCRDB¹⁷³, gdzie dokonano jego walidacji. W późniejszym etapie badań, ze względu na

^d Badania własne doktoranta

pojawienie się w bazach PDB struktury krystalicznej 5-HT_{1A}R (PDB ID: 7E2Z) w kompleksie z arypiprazolem¹⁷⁴, użyto jej do dalszego dokowania.

- 5-HT_{2A}R: Zastosowano model homologiczny receptora w stanie aktywnym (zbudowany na podstawie struktury 5-HT_{2C}R, PDB ID: 6BQG¹⁷⁵). Model został pobrany z bazy GPCRDB,¹⁷³ gdzie dokonano jego walidacji.
- 5-HT₆R: Zastosowano model homologiczny receptora w pośrednim stanie aktywacji (zbudowany na podstawie struktury 5-HT_{1B}R PDB ID: 5V54¹⁷²). Model został pobrany z bazy GPCRDB¹⁷³, gdzie dokonano jego walidacji. W przypadku ligandów, posiadających w swojej strukturze fragment 4-(benzo[d]izotiazol-3-ilo)piperazyn-1-yłowy zbudowano własny model homologiczny receptora (szablon 5-HT_{2A}R, PDB ID: 6A94¹⁷⁶).
- 5-HT₇R: Zastosowano model homologiczny receptora 5-HT₇R w stanie aktywnym (zbudowany na podstawie struktury D₂R PDB ID: 6CM4¹⁷⁷). Model został pobrany z bazy GPCRDB¹⁷³, gdzie dokonano jego walidacji. W przypadku ligandów, posiadających w swojej strukturze fragment 4-(benzo[d]izotiazol-3-ilo)piperazyn-1-yłowy zbudowano własny model homologiczny receptora (szablon 5-HT_{1B}R PDB ID: 6G79¹⁷⁸).
- D₂R: zastosowano strukturę krystaliczną receptora w kompleks z risperidonem (PDB ID: 6CM4¹⁷⁷).

Modele homologiczne 5-HT₆R i 5-HT₇R wygenerowano w ramach serwera SWISS-MODEL.¹⁷⁹ Sekwencje aminokwasów zaczerpnięto z bazy Uniprot¹⁸⁰. Modele zostały poddane walidacji za pomocą pakietu SWISS-MODEL, poprzez określenie parametrów QMEAN oraz ilości reszt w uprzywilejowanych regionach wykresu Ramachandrana¹⁸¹. Wygenerowane modele walidowano na zestawie ligandów o znanym powinowactwie, pobranym z bazy ChEMBL¹⁸².

Wirtualne badanie przesiewowe oraz dokowanie molekularne przeprowadzono w programowaniu Glide firmy Schrödinger oraz AutodockVina¹⁸³. Dokowanie w Glide zostało wykonane z włączoną opcją elastycznego dokowania lub w protokole dopasowania indukcyjnego (IFD). Metoda IFD łączy elastyczne dokowanie liganda przy użyciu algorytmu Glide z przewidywaniem struktury receptora i optymalizacją łańcucha bocznego w Prime (doprecyzowanie reszt w obrębie 5,0 Å od pozycji liganda).¹⁸⁴ W każdym przypadku dokowanie było zorientowane na resztę D3.32. Przy wyborze konformacji kompleksu do dalszego modelowania uwzględniono wartości ocen G-score oraz zgodność wygenerowanej pozy z danymi literaturowymi.

3.5. Modelowanie z zastosowaniem mechaniki kwantowej^e

Ocenę pK_a ligandów przeprowadzono w systemie predykcyjnym Jaguar pK_a . Obliczenia obejmowały optymalizację geometrii form jonowych i obojętnych, jednopunktowe obliczenia energii i częstotliwości oraz korektę empiryczną.¹⁸⁵

Po przeprowadzonym dokowaniu, otrzymane pozy poddawano dalszej analizie, zgodnie z dwoma różnymi podejściami. Pierwsze z nich zakładało zoptymalizowanie struktury samego liganda, stosując metody DFT przy użyciu pakietów Gaussian¹⁸⁶ i StoBe¹⁸⁷. Konformacje o najniższych energiach zostały zoptymalizowane w StoBe - deMon metodami *ab initio* DFT. Orbitale Kohna-Shama były reprezentowane przez LCAO (liniowe kombinacje orbitali atomowych). Dla uzyskanych konformacji obliczono także indeksy Fukui¹⁸⁸.

Drugie podejście polegało na optymalizacji całego kompleksu białko-ligand, stosując hybrydowe metody QM/MM. Przeprowadzono je za pomocą protokołu dokowania spolaryzowanego kwantowo (QPLD), zaimplementowanego w pakiecie Schrödinger. QPLD łączy algorytm dokowania Glide z obliczeniami QM/MM wykonywanymi przez oprogramowanie Q-Site.¹⁸⁹ Po optymalizacji obliczono energię wiązania w kompleksie receptor-ligand, stosując protokół MM/GBSA¹⁹⁰, w modelu solwatacyjnym VSGB¹⁹¹.

W celu zbadania znaczenia i charakteru oddziaływań L-R przeprowadzono jednopunktowe obliczenia FMO-EDA¹⁹² dla kompleksów całkowicie zoptymalizowanych, w celu wyznaczenia energii interakcji par (PIE).

3.6. Dynamika molekularna^f

Symulacje dynamiki molekularnej w długiej skali przeprowadzono w podejściu obejmującym wszystkie atomy przy użyciu programu NAMD¹⁹³ w polu sił CHARMM¹⁹⁴. Membrana i system symulacyjny zbudowano za pomocą narzędzia QwikMD w VMD¹⁹⁵ przy użyciu membrany POPC (1-palmitoilo-2-oleoilofosfatydylocholiny). Po przeprowadzonej symulacji wyznaczono takie parametry, jak RMSD, RMSF, MM-PBSA oraz diagram interakcji.

^e Badania własne doktoranta

^f Badania własne doktoranta

3.7. Wczesne właściwości ADME[§]

Proste deskryptory molekularne i fizykochemiczne, takie jak masa cząsteczkowa, refraktywność molekularna (MR), liczba określonych typów atomów i pole powierzchni polarnej (PSA) zostały obliczone za pomocą OpenBabel¹⁹⁶. Zdolność do hamowania cytochromu P-450 oceniono przy pomocy algorytmu maszyny wektorowej (SVM)¹⁹⁷. Metodą rozpoznawania potencjalnie problematycznych fragmentów w strukturze, było podejście PAINS, typujące cząsteczki zawierające fragmenty mogące powodować silną odpowiedź niezależną od docelowego białka.¹⁹⁸ Wchłanianie z przewodu pokarmowego i zdolność do przenikania przez barierę krew-mózg oceniano w procedurze Boiled Egg¹⁹⁹.

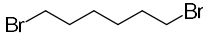
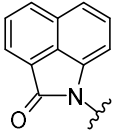
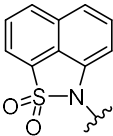
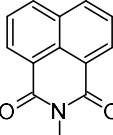
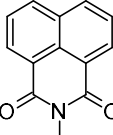
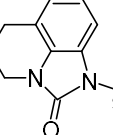
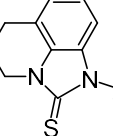
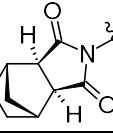
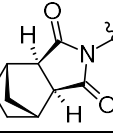
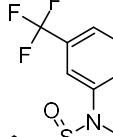
[§] Badania własne doktoranta

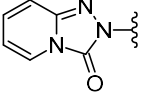
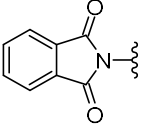
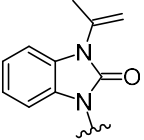
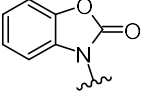
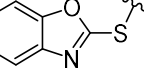
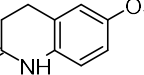
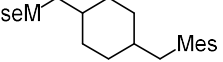
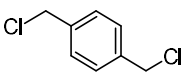
4. Opis uzyskanych wyników

4.1. Metoda syntezy

W ramach prac badawczych, objętych niniejszą rozprawą opracowano metodę syntezy *N*-heksyloarylopiiperazyn na drodze dwuetapowej reakcji alkirowania w polu promieniowania mikrofalowego. Dobrano moc stosowanych mikrofal, czynnik zasadowy, rozpuszczalnik oraz dodatkowe komponenty reakcyjne. Pierwszy etap, czyli alkirowanie prekursora grupy terminalnej 1,6-dibromoheksanem przeprowadzono dla 15 różnych przykładów związków heterocyklicznych lub arylosulfonamidów (**1**).^{D1-D5} Za każdym razem w reakcjach stosowano 3 ekwiwalenty dihalogenoalkanu (**2**) w stosunku do (**1**) oraz 3 ekwiwalenty czynnika zasadowego i 0,1 ekwiwalenta PTC lub DABCO. Użycie trzykrotnego nadmiaru 1,6-dibromoheksanu było istotne ze względu na obniżenie selektywności w przypadku jego zmniejszenia. Ilości stosowanych reagentów i reagentów pomocniczych zostały ustalone na wcześniejszym etapie prac badawczych. Najkorzystniejsze dla przebiegu reakcji okazało się zastosowanie K₂CO₃ lub NaOH w roli czynnika zasadowego oraz TBAB jako PTC w aprotycznym rozpuszczalniku typu MeCN lub DMF. W niektórych przypadkach, wysokie wydajności uzyskano także dla wariantów bezrozpuszczalnikowych lub stosując wodę w roli rozpuszczalnika.^{D3} Moc reaktora dobrano na poziomie 100 W. Przetestowano także wariant alkirowania układu heterocyklicznego 1,4-bis(chlorometylo)benzenem (**27**) lub cykloheksano-1,4-diylobis(metyleno)dimetano-sulfonianem (**25**).^{D5} W tym drugim przypadku, zastosowano 1 ekwiwalent czynnika alkirowującego. Zastąpienie halogenu, jako grupy opuszczającej mesylem pozwoliło na eliminację konieczności stosowania nadmiaru czynnika alkirowującego (**Tabela 3**).

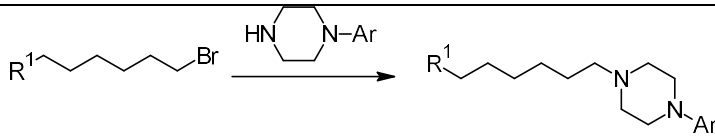
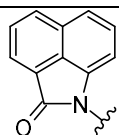
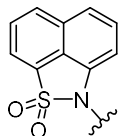
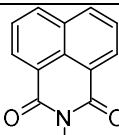
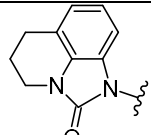
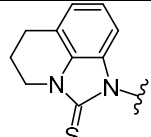
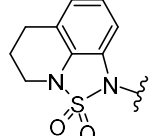
Tabela 3. Pierwszy etap syntezy *N*-heksyloarylopiperazyn. Kolorem niebieskim zaznaczono najbardziej korzystne warunki, dla danych substratów.

$R^1-H + Alk \longrightarrow$ Alk (2,25,27)	R^1 (1)	Czynnik zasadowy	Rozp.	Dodat. komp.	Czas [s]	Moc [W]	W [%]
		Na ₂ CO ₃	-	TEAC	60	50	62
		K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	15	100	78
		K ₂ CO ₃	-	TBAB	15	100	49
		NaOH	MeCN	TBAB	10	100	43
		Na ₂ CO ₃	-	TEAC	20	100	67
		K ₂ CO ₃	MeCN	DABCO	15	100	40
		K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	15	100	67
		K ₂ CO ₃	DMF	TBAB	15	100	42
		K ₂ CO ₃	H ₂ O	TBAB	15	100	51
		K ₂ CO ₃	-	TBAB	15	100	58
		NaOH	MeCN	TBAB	10	100	67
		KOH	H ₂ O	TBAB	40	80	65
	TEA	DMF	DABCO	15	200	75	
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	30	100	87	
		K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	45	90	79
		NaOH	-	TBAB	40	150	79
	NaOH	H ₂ O	TBAB	15	170	79	
	NaOH	-	TBAB	60	100	71	
	NaOH	MeCN	TBAB	45	80	64	
	K ₂ CO ₃	-	TBAB	60	100	42	
	NaOH	MeCN	TBAB	45	80	64	
	K ₂ CO ₃	-	TBAB	60	100	42	
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	30	100	79	
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	30	100	81	
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	30	100	81	
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	30	100	72	

	K_2CO_3	MeCN	TBAB	30	100	79
	K_2CO_3	DMF	TBAB	30	100	79
	K_2CO_3	DMF	TBAB	30	100	40
	K_2CO_3	DMF	TBAB	30	100	71
	K_2CO_3	DMF	TBAB	30	100	67
	K_2CO_3	DMF	TBAB	30	100	90
	K_2CO_3	MeCN	TBAB	40	100	89
	NaOH	MeCN	TBAB	120	100	71

W drugim etapie, użyto podobne ilości reagentów i komponentów pomocniczych. Najkorzystniejsze okazały się warunki analogiczne do poprzedniego etapu tj. zastosowanie K_2CO_3 lub NaOH w roli czynnika zasadowego i obecności TBAB jako PTC w aprotycznym rozpuszczalniku typu MeCN lub DMF (**Tabela 4**).^{D1-D5} Należy zauważyć, że w przypadku syntezy związku usztywnionego pierścieniem fenyłowym (**5.D5.l-5.D5.m**) konieczne okazało się zastosowanie silnej zasady – NaOH. W przypadku reakcji z K_2CO_3 nie zaobserwowano produktu w mieszaninie poreakcyjnej. Stosując opracowaną metodę otrzymano łącznie 74 ligandy z grupy *N*-heksyloarylopiperazyn (**Tabela 6**) oraz dodatkowo 4 analogi trazodonu, posiadające linker węglowy usztywniony pierścieniem cykloheksylowym (**5.D5.k**) lub fenyłowym (**5.D5.l-5.D5.m**) bądź obniżoną zasadowość (**5.D5.n**) poprzez zastosowanie grupy karbamoilowej przyłączonej do piperazyny.^{D5}

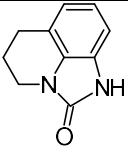
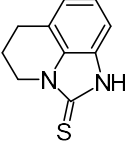
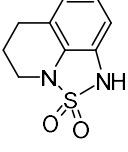
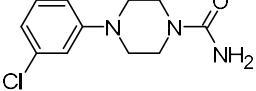
Tabela 4. Drugi etap syntezy *N*-heksyloarylopiperazyn.

						
R ¹	Czynnik zasadowy	Rozpuszczalnik	Dodatkowy komponent	Czas [s]	Moc [W]	W [%]
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	50	100	36-89
	Na ₂ CO ₃	-	TEAC	60	50	18-78
	NaOH	DMF	DABCO	50	120	45-89
	TEA	-	TBAB	15	200	10-46
	K ₂ CO ₃	MeCN	TBAB	50	100	71
	K ₂ CO ₃	-	TBAB	50	100	62
	K ₂ CO ₃	H ₂ O	TBAB	50	100	57
	K ₂ CO ₃	DMF	TBAB	50	100	34
	K ₂ CO ₃	DMF	TEAC	50	90	19-50
	Na ₂ CO ₃	-	DABCO	50	100	12-43
	NaOH	MeCN	TBAB	30	130	67-84
	K ₂ CO ₃	-	TEAC	50	100	53
	NaOH	H ₂ O	TEAC	50	80	<10
	K ₂ CO ₃	-	TBAB	15	180	43
	NaOH	MeCN	TBAB	45	100	32
	NaOH	-	DABCO	60	60	<10

W ramach pracy badawczej opracowano także metodę syntezy związków posiadających w swojej strukturze ugrupowanie mocznikowe, sulfamidowe lub tiomocznikowe (**Tabela 5**). Zgodnie z tym sposobem otrzymano heterocykliczny 5,6-dihydro-4*H*-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1*H*)-on (**1d**) oraz jego sulfamidowy (**1e**) i tiomocznikowy (**1f**) analog, 4-(3-chlorofenylo)piperazyno-1-karboksyamid (**29**) oraz 2 ligandy, z grupy *N*-heksyloarylopiperazyn, posiadające w terminalnej części fragment mocznikowy (**5.D5.i**) lub sulfamidowy (**5.D5.j**) (**Tabela 6**).^{D5} Wszystkie wymienione związki otrzymano na drodze mikrofalowej reakcji pomiędzy odpowiednią aminą (lub diamną) a mocznikiem, sulfamidem bądź tiomocznikiem. Reakcje były prowadzone w warunkach zbliżonych do

bezozpuszczalnikowych, stosując znikomą ilość DMF (w ilości 1 kropli lub 0,2 cm³), mający indukować zajście reakcji. W przypadku jego braku nie zaobserwowano ogrzewania mieszaniny, ani postępu reakcji.

Tabela 5. Synteza pochodnych 4-(3-chlorofenylo)piperazyno-1-karbamidowych.

Struktura	Warunki	Czas [s]	W [%]
	DMF 100 W	40	54
	DMF 100 W	40	41
	DMF 100 W	40	16
	DMF 100 W	60	66

4.2. Badania biologiczne

Otrzymane związki zostały przebadane w testach radioreceptorowych *in vitro*, w celu scharakteryzowania profilu powinowactwa receptorowego, mając na uwadze receptory serotoniny 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₆R i 5-HT₇R, oraz dopaminowe D₂R, istotne w kontekście leczenia schizofrenii oraz depresji. Ligandy otrzymano i opublikowano w pięciu podgrupach (**5.D1-5.D5**). Ze względu na zbieżność nazw niektórych związków w publikacjach^{D1-D5}, ujednolicono sposób prezentacji otrzymanych ligandów, nadając im numery w konwencji: numer ogólny związków końcowych – **5**.; odnośnik do publikacji – **D1-D5**.; identyfikator związku – **a-w** (Tabela 6).

W pierwszym zestawie (**5.D1**) otrzymano 1,8-naftolaktamowe/sultamowe pochodne *N*-heksyloarylopiiperazyn, posiadające podstawniki halogenowe przy grupie aryłowej.^{D1} Związki te można uznać za heksylove analogi fananseryny. Przebadane cząsteczki charakteryzowały się przeważnie umiarkowanym powinowactwem, skierowanym głównie na 5-HT_{1A}R, czego przykładem jest selektywny ligand 5-HT_{1A}R (**5.D1.m**). Ciekawe właściwości wykazywał także **5.D1.C**, o działaniu skierowanym na receptory D₂/5-HT_{1A}/5-HT₇.

Bardziej interesujące wyniki uzyskano dla związków z grupy drugiej (**5.D2.**), w ramach której otrzymano 1,8-naftolaktamowe/sultamowe, 1,8-naftalimidowe oraz 5,6-dihydro-4*H*-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(*1H*)-onowe pochodne *N*-heksyloarylopiperazyn, posiadające w grupie arylovej atomy azotu bądź tlenu oraz podstawniki zawierające te atomy. Zauważono trend znacznego zwiększenia powinowactwa do 5-HT_{1A}R oraz D₂R, w porównaniu z grupą **5.D1**. Szczególnie w tę zasadę mocno wpisują się ligandy, posiadające przy grupie arylovej w pozycji drugiej podstawniki alkoksylowe (**5.D2.c**), (**5.D2.h**), (**5.D2.k**), (**5.D2.n**), (**5.D2.q**). W przebadanej grupie wyróżniono selektywne ligandy 5-HT_{1A}R (**5.D2.a**), (**5.D2.d**), (**5.D2.i**), (**5.D2.l**). Uzyskano także kilka związków o dualnym powinowactwie względem receptorów 5-HT_{1A}/D₂, w szczególności (**5.D2.q**) oraz (**5.D2.c**), (**5.D2.k**), (**5.D2.n**), a także o działaniu wieloreceptorowym, D₂/5-HT_{1A}/5-HT₇ (**5.D2.h**).^{D2}

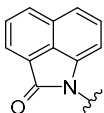
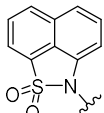
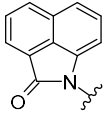
Wszystkie wymienione wcześniej cząsteczki zostały objęte ochroną patentową. W patencie^{D3} znajdują się także ligandy z podgrupy (**5.D3.**), stanowiące uzupełnienie przedstawionych wcześniej zestawów. Wśród nich szczególnie interesująca wydaje się 1,8-naftalimidowa pochodna 1-([1,1'-bifenyl]-2-yl)piperazyny (**5.D3.f**), wykazująca selektywność w kierunku 5-HT₇R.

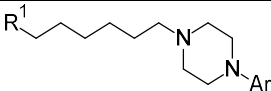
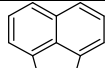
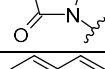
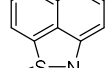
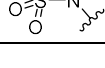
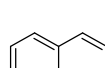
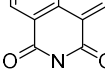

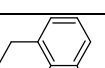
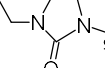
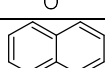
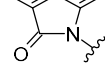
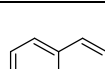
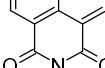
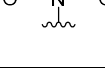

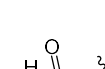
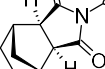
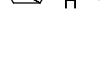
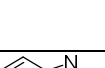
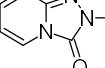
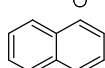
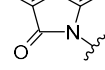
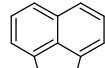
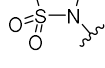




W kolejnej grupie (**5.D4.**) uzyskano heksylowe analogi lurazydonu, dobierając fragment arylopiperazynowy, przy zachowaniu terminalnego (3*a*R,4*S*,7*R*,7*a*S)-heksahydro-1*H*-4,7-metanoizindolo-1,3(2*H*)-dionu (**5.D4.a-5.D4.g**) oraz badając wpływ modyfikacji grupy terminalnej na profil powinowactwa receptorowego heksylowych pochodnych 1,2-benzotiazol-3-ilopiperazyny (**5.D4.h-5.D4.u**). Związki z obu podgrup wykazywały w większości bardzo wysokie powinowactwo względem 5-HT_{1A}R. Uzyskano dualne ligandy 5-HT_{1A}R/D₂ (**5.D3.a**), (**5.D3.f**). Pochodne 1,2-benzotiazol-3-ilopiperazyny charakteryzowały się profilem multifunkcyjnych ligandów, skierowanych głównie na D₂/5-HT_{2A}R z dodatkowym wysokim powinowactwem do 5-HT_{1A}R oraz 5-HT₇R (**5.D3.g**), (**5.D3.l**), (**5.D3.p**), (**5.D3.q**), (**5.D3.v**), a także D₂/5-HT_{2A} z wysokim powinowactwem do 5-HT_{1A}R (**5.D3.h**), (**5.D3.o**), (**5.D3.w**). Należy zaznaczyć, że tylko naftalenosulfonamidowe pochodne (**5.D3.u** oraz **5.D3.v**) wykazywały zdolność do umiarkowanie silnego wiązania z 5-HT₆R.^{D4}

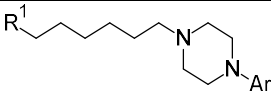
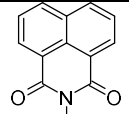
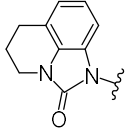
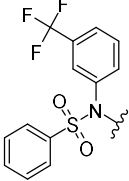
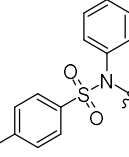
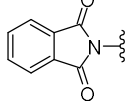
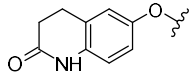
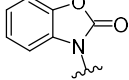
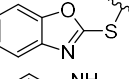
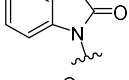
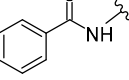
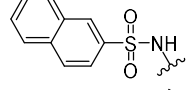
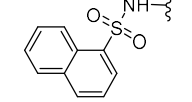
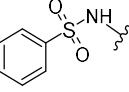
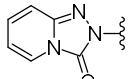
W ostatniej grupie (**5.D5.**) otrzymano heksylowe analogi trazodonu, testując wpływ modyfikacji grupy terminalnej i arylopiperazyny na profil powinowactwa receptorowego.^{D5} Co więcej, otrzymano także pochodne o usztywnionym linkerze węglowym oraz obniżonej zasadowości (**Tabela 7**). W grupie związków, posiadających w terminalnej części fragment

[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pirydyn-3-onu (**5.D5.a-5.D5.e**), otrzymano ligandy o rozbudowanych grupach arylowych przy piperazynie. Wszystkie cząsteczki wykazywały wysokie powinowactwo do 5-HT_{1A}R. Wprowadzenie ugrupowań arylowych w formie skondensowanych pierścieni wiązało się także ze wzrostem selektywności (**5.D5.c-5.D5.e**). Otrzymano dwa ligandy o szczególnie interesującym profilu selektywnego liganda 5-HT_{1A}R (**5.D5.d**) oraz (**5.D5.e**), dla których w testach funkcjonalnych potwierdzono profil antagonisty 5-HT_{1A}R. Co ciekawe, stosunkowo wysokie powinowactwo względem 5-HT_{1A}R obserwowano także dla (**5.D5.f**) i (**5.D5.g**), gdzie grupę triazolopirydynonu zastąpiono fragmentem mocznika lub sulfamidu (**Tabela 6**).

Tabela 6. Wydajność otrzymywania oraz profil powinowactwa receptorowego pochodnych *N*-heksyloarylopiperazyn. Obszary aktywne zaznaczono na zielono ($K_i < 50$), obszary średnio aktywne na żółto ($K_i < 100$).

5	W [%]	R ¹	Ar	K _i [nM] (K _b [nM])				
				D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.D1.a	52		2F-Ph	320	64	524	1726	420
5.D1.b	60		2-Cl-Ph	58	66	540	1681	336
5.D1.c	32		3-Cl-Ph	75	43	429	480	53
5.D1.d	61		4-Cl-Ph	197	181	423	689	124
5.D1.e	36		2,3-Cl-Ph	94	122	406	918	5095
5.D1.f	43		3,4-Cl-Ph	246	161	493	1860	166
5.D1.g	19		4-Br-Ph	204	688	1490	3187	1833
5.D1.h	18		2-CF ₂ -Ph	161	599	1766	1128	17780
5.D1.i	38		3-CF ₂ -Ph	496	54	773	2214	291
5.D1.j	40		4-CF ₂ -Ph	945	536	4354	2045	48960
5.D1.k	71		2F-Ph	90	81	376	710	203
5.D1.l	71		2-Cl-Ph	142	106	548	507	286
5.D1.m	71		3-Cl-Ph	121	46	322	624	432
5.D1.n	66		4-Cl-Ph	336	197	147	433	280
5.D1.o	72		2,3-Cl-Ph	220	149	177	237	140
5.D1.p	75		3,4-Cl-Ph	254	79	251	225	404
5.D1.q	89		3-CF ₂ -Ph	304	132	596	374	167
5.D1.r	46		4-CF ₂ -Ph	927	989	1526	937	5996
5.D2.a	51		3-OCH ₃ -Ph	114	47	652	1699	366
5.D2.b	78		4-OCH ₃ -Ph	180	291	1927	3666	3743
5.D2.c	82		2-OC ₂ H ₅ -Ph	11	22	717	1916	84
5.D2.d	56		2-pirydynylo	867	32	892	1461	184

				K_i [nM] (K_b [nM])				
5	W [%]	R ¹	Ar					
				D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.D2.e	38		2-pyrimidinylo	188	94	43	5253	475
5.D2.f	36		2-NO ₂ -Ph	431	9473	3983	952	696
5.D2.g	38		8-chinolino	82	22	222	999	119
5.D2.h	39		2-OC ₂ H ₅ -Ph	30	48	578	476	34
5.D2.i	10		2-pirydynylo	118	35	443	182	344
5.D2.j	19		2-NO ₂ -Ph	264	482	533	494	822
5.D2.k	47		2-OCH ₃ -Ph	10	20	337	671	266
5.D2.l	43		3-OCH ₃ -Ph	271	47	334	347	371
5.D2.m	16		4-OCH ₃ -Ph	40040	35690	60100	5765	116500
5.D2.n	19		2-OC ₂ H ₅ -Ph	27	28	461	246	73
5.D2.o	50		2-pirydynylo	1302	172	563	1966	1200
5.D2.p	19		2-NO ₂ -Ph	141	373	1918	1410	710
5.D2.q	84		2-OCH ₃ -Ph	2	19	456	3270	291
5.D3.a	44		a	2852	681	1913	1558	595
5.D3.b	40		2-F-Ph	393	98	812	1142	605
5.D3.c	52		2-CF ₃ -Ph	344	1674	4784	3253	3750
5.D3.d	29		3-CF ₃ -Ph	319	187	629	392	405
5.D3.e	12		b	108	219	538	1075	509
5.D3.f	19		2-Ph-Ph	337	251	1903	1672	47
5.D4.a	63		2-Cl-Ph	35	12	541	1641	198
5.D4.b	71		3-Cl-Ph	225	18	81	1142	39
5.D4.c	70		4-Cl-Ph	370	55	73	3028	202
5.D4.d	66		2,3-Cl-Ph	55	32	161	536	117
5.D4.e	65		3-CF ₃ -Ph	168	22	189	2205	53
5.D4.f	54		3-OCH ₃ -Ph	41	4	785	4874	146
5.D4.g	67		1,2-benzotiazol-3-ilo	1	27	4	486	9
5.D4.h	51		1,2-benzotiazol-3-ilo	9	11	5	252	747
5.D4.i	36		1,2-benzotiazol-3-ilo	56	71	55	568	36
5.D4.j	45		1,2-benzotiazol-3-ilo	18	63	32	158	105

				K_i [nM] $(K_b$ [nM])				
5	W [%]	R ¹	Ar	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.D4.k	47			59	86	53	110	118
5.D4.l	67			1	44	12	379	16
5.D4.m	54			164	42	65	1103	193
5.D4.n	63			106	32	26	772	54
5.D4.o	44		1,2-benzotiazol-3-ilo	10	18	24	160	114
5.D4.p	53			39	20	20	805	387
5.D4.q	47			16	5	6	189	7
5.D4.r	40			33	10	13	302	72
5.D4.s	20			16	16	6	189	7
5.D4.t	*			14	22	4	221	99
5.D4.u	*			27	73	44	57	31
5.D4.v	*			31	39	63	52	30
5.D4.w	*			31	8	15	317	37
5.D5.a	19			3-CF ₃ -Ph	62	17	291	404
5.D5.b	61		2,3-Cl-Ph	9	7	47	299	243
5.D5.c	54		1-naftaleno	32	6	223	285	186
5.D5.d	69		8-chinolino	143	3 (3,6)	2196	4144	655

5	W [%]	R ¹	Ar	K _i [nM] (K _b [nM])				
				D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.D5.e	59		c	60	1 (2)	434	2841	271
5.D5.f	53		3-Cl-Ph	18	74	66	1139	61
5.D5.g	43			85	206	258	582	171
5.D5.h	32			253	70	282	1694	162
5.D5.i	71			235	39	195	4929	183
5.D5.j	34			229	21	329	1531	167

*Ligandy, które w finalnym etapie były otrzymane metodą znaną w literaturze

^a2-okso-2,3-dihydro-1,3-benzoksazol-7-ilo

^b3-okso-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoksazyn-8-ylo

^c2,3-dihydro-1,4-benzodioxyn-5-ylo)piperazyn-1-ylo

W ramach pracy^{D5} otrzymano także serie związków o zmniejszonej giętkości (**5.D5.k-5.D5.m**) lub obniżonej zasadowości (**5.D5.n**). Usztywnienie łącznika węglowego pierścieniem cykloheksylowym lub fenylovym wiązało się ze spadkiem powinowactwa względem 5-HT_{1A}R, jednakże również z częściowym wzrostem selektywności w stosunku do tego receptora. Szczególnie interesujące właściwości wykazywał związek (**5.D5.n**) o obniżonej zasadowości, poprzez wprowadzenie grupy karbamoilowej (**Tabela 7**).

Tabela 7. Wydajność otrzymywania oraz profil powinowactwa receptorowego ligandów o obniżonej zasadowości lub usztywnionym linkerze węglowym. Obszary aktywne zaznaczono na zielono ($K_i < 50$), obszary średnio aktywne na żółto ($K_i < 100$).

	W [%]	Ar	Z	K_i [nM]				
				D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.D5.k	22	3-Cl-Ph		559	31	493	4581	257
5.D5.l	67	3-Cl-Ph		148	52	1067	1160	3470
5.D5.m	64	4-Cl-Ph		1390	467	1450	2144	201400
5.D5.n	46	3-Cl-Ph		1940	35	530	2550	462
29	66			115900	7014	32360	7489	22820
30	41			11890	1345	4453	2693	3934

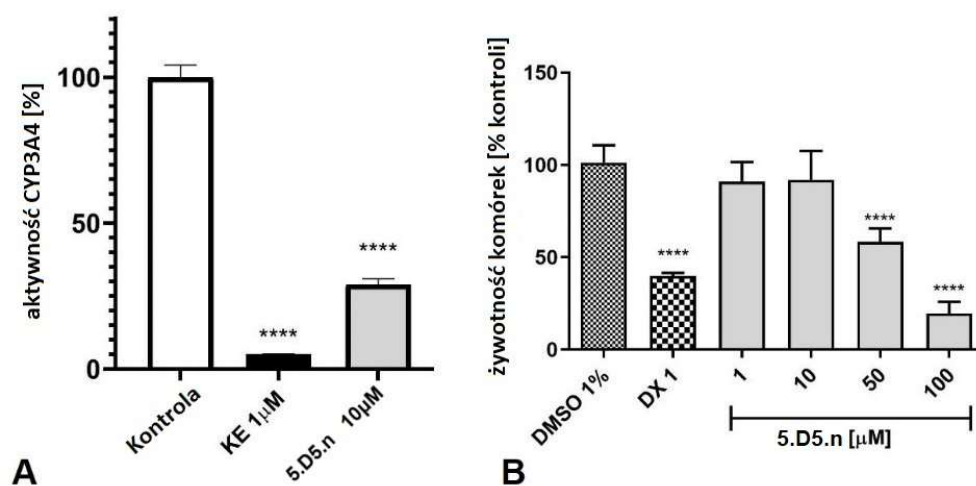
Wysokie powinowactwo receptorowe związków z grupy LCAP do receptorów serotoninowych i dopaminowych jest związane z obecnością silnie zasadowego atomu azotu w pierścieniu piperazyny, umożliwiającego tworzenie mostka solnego z resztą aminokwasu D3.32.²⁰⁰ Jednakże obniżenie zasadowości poprzez przyłączenie do zasadowego atomu azotu grupy karbamoilowej (**5.D5.n**) nie spowodowało utraty powinowactwa do 5-HT_{1A}R. Ze względu na interesujące właściwości oraz fakt, że związek ten nie wpisuje się w klasyczny chemotyp LCAP, postanowiono w ramach niniejszej pracy określić jego właściwości farmakokinetyczne oraz toksyczność (ADMET) w badaniach *in vitro*.^{D5} Testy przepuszczalności biernej wskazują na możliwość przenikania bariery krew-mózg przez badany związek (**Tabela 8**).

Tabela 8. Badania ADMET dla związku **5.D5.n** (główny metabolit zaznaczono przez pogrubienie).

Związek	Przepuszczalność (Pe) [cm/s]	(m/z)	% niezmet.	Masa cząsteczkowa metabolitu (m/z)	Szlak metaboliczny
5.D5.n	<i>Kofeina:</i> (2.9 ± 1.3) × 10 ⁻⁶ (12.2 ± 0.9) × 10 ⁻⁶	457.32	0.0	491.28 (M1)	<i>podwójna hydroksylacja i redukcja wiązania podwójnego</i>
				491.28 (M2)	<i>podwójna hydroksylacja i redukcja wiązania podwójnego</i>
				473.27 (M3)	<i>hydroksylacja</i>

Stabilność metaboliczną (**5.D5.n**) określono za pomocą mikrosomów wątroby myszy (MLM). Analiza UPLC badanego związku po 120 min inkubacji z MLM wykazała, że był on metabolizowany w 100%. Na podstawie spektrometrii masowej zidentyfikowano 7 możliwych produktów rozpadu. Wyniki pokazują, że najbardziej prawdopodobnym szlakiem metabolicznym jest hydroksylacja w pierścieniu fenylowym i redukcja podwójnego wiązania. Jednakże pomimo niskiej stabilności związek **5.D5.n** może okazać się przydatny jako sonda molekularna.

Zbadano także potencjalne ryzyko wystąpienia interakcji lek-lek (DDI) poprzez pomiar aktywności hamującej wybraną izoformę CYP P450 za pomocą opartego na luminescencji testu CYP3A4 P450-Glo™ (Promega®) (**Rysunek 9**). Jej wybór był potraktowany znaczeniem w metabolizmie ksenobiotyków. Badany związek może wykazywać pewne interakcje z lekami metabolizowanymi przez CYP3A4 (dla stężenia 10 μM aktywność CYP3A4 była zahamowana w 75%). Jednak zmierzona inhibicja była słabsza niż obserwowana dla referencyjnego inhibitora CYP3A4, ketokonazolu (KE), który badano w niższym stężeniu 1 μM. Profil bezpieczeństwa oszacowano w teście hepatotoksyczności na linii komórkowej wątrobiaka HepG2. Związek nie wykazywał właściwości hepatotoksycznych w zakresie stężeń 1–10 μM.

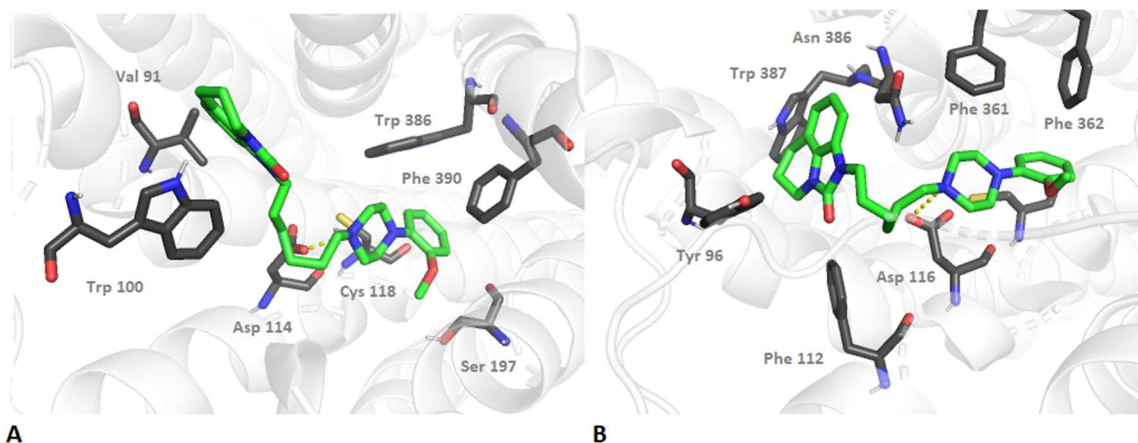


Rysunek 9. A: Wpływ **5.D5.n** i referencyjnego ketokonazolu (KE) na aktywność CYP3A4. B: Wpływ cytostaticznego leku dokсорubicyny (DX) i **5.D5.n** na żywotność linii komórkowej wątrobiaka HepG2 po 72 godzinach inkubacji w 37°, 5% CO₂.

4.3. Modelowanie molekularne

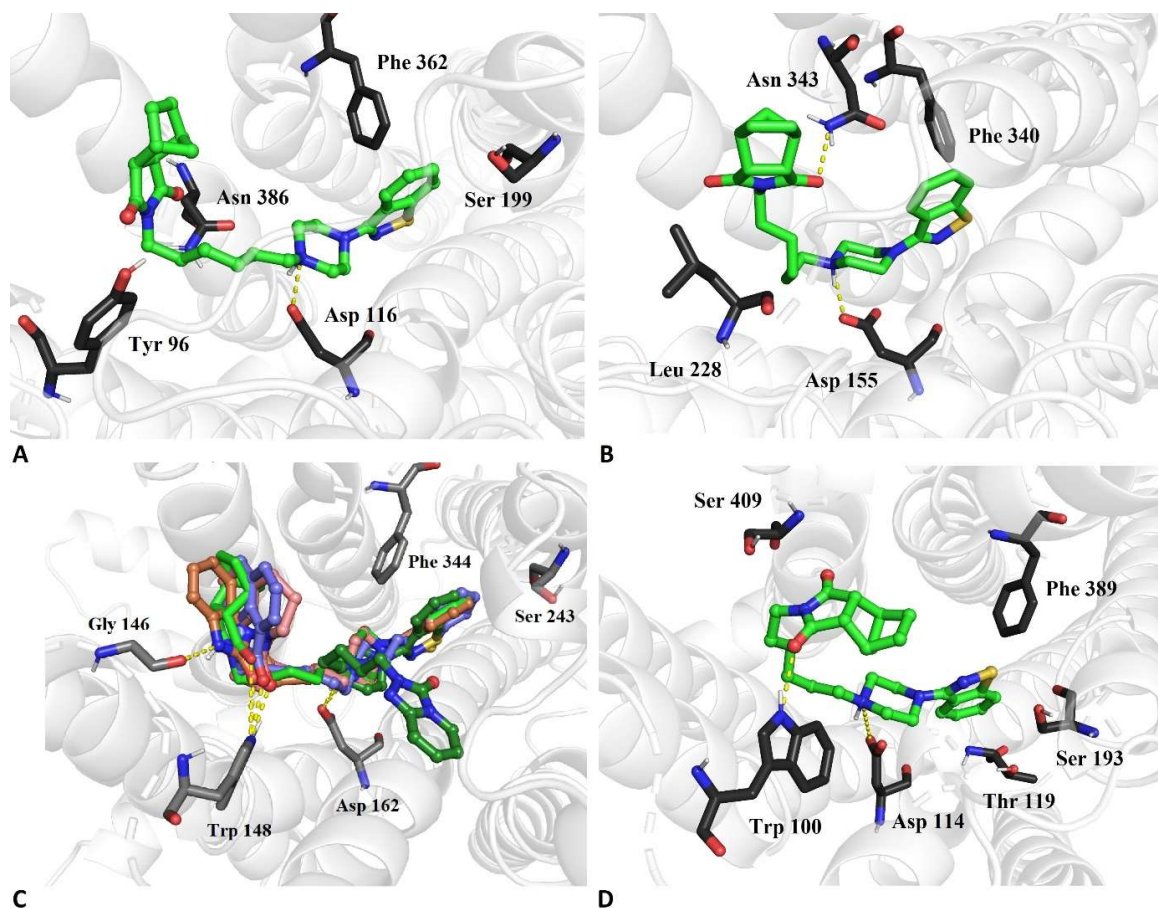
W ramach niniejszej pracy doktorskiej wykonano także serię badań z zakresu modelowania molekularnego. Najszerzej wykorzystano metody dokowania w układzie białko-ligand, zarówno na etapie projektowania związków (wirtualne badanie przesiewowe), jak i dla wsparcia analizy SAR, mającej wyjaśnić obserwowane zależności typu struktura-aktywność. Związki analizowano także pod kątem wczesnych parametrów ADMET, których używano jako filtr, mający odrzucić cząsteczki o potencjalnie niekorzystnych właściwościach farmakokinetycznych.

W przypadku konformacji aktywnych ligandów z grupy *N*-heksyloarylopiiperazyn w ortosterycznych kieszeniach wiążących D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R i 5-HT₇R zaobserwowano klasyczny tryb wiązania ligandów^{75,163,160,75,177}. Wszystkie związki wykazywały ułożenie skierowane fragmentem arylopiiperazyny w głąb kieszeni wiążącej receptora.^{D1,D2,D4,D5} Należy zauważyć charakterystyczny trend występowania mostka solnego pomiędzy zasadowym atomem azotu w pierścieniu piperazyny, a resztą D3.32, co potwierdzono najpierw dla pochodnych posiadających w części terminalnej duże grupy tricykliczne (**Rysunek 10**),^{D2} a następnie w rozważaniach uwzględniających dodatkową optymalizację uzyskanych kompleksów metodami mechaniki kwantowej dla pochodnych lurazydonu (**Rysunek 11**).^{D4}



Rysunek 10. Konformacje aktywne **5.D2.q** w kieszeni wiążącej receptora **A:** D₂R (PDB ID: 6CM4), **B:** 5-HT_{1A}R (model homologiczny, na szablonie 5-HT_{1B}R PDB ID: 5V54). Żółte linie oznaczają mostek solny z D3.32.

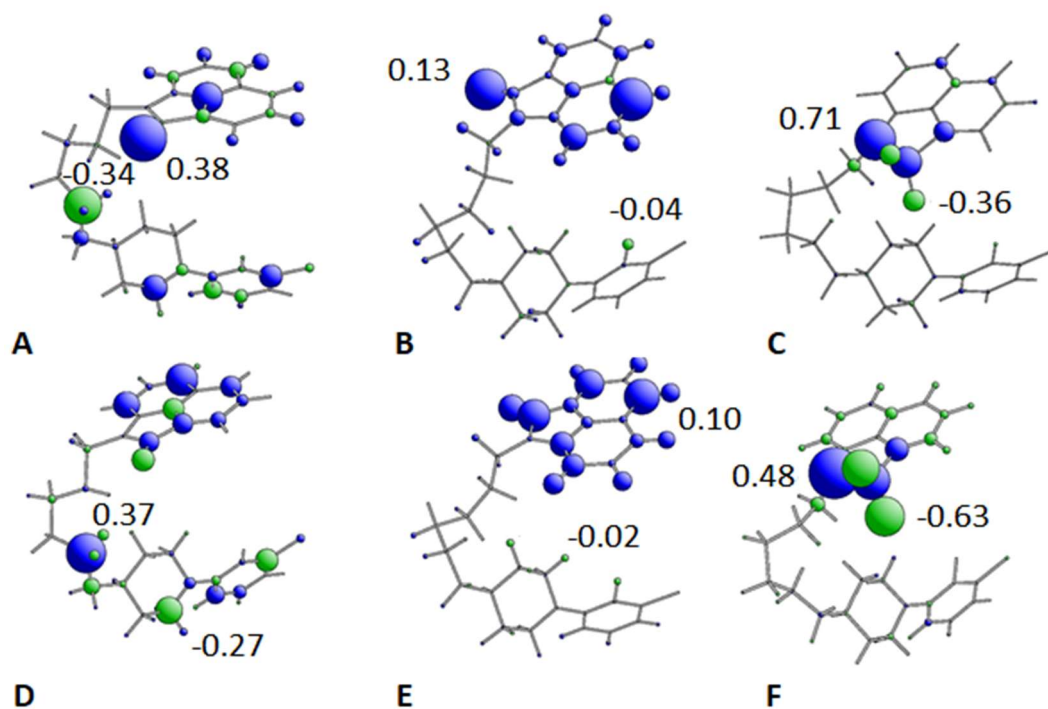
Poza występowaniem mostka solnego, w uzyskanych kompleksach pojawiały się także liczne oddziaływania wodorowe grup terminalnych z resztami aminokwasów przy zewnętrznej krawędzi kieszeni wiążącej oraz oddziaływania typu π - π pomiędzy grupą aryłową przy piperazynie, a resztami F6.52 i F6.52.



Rysunek 11. Konformacje aktywne ligandów w kieszeniach wiążących receptorów **A:** **5.D4.g** w 5-HT_{1A}R (model homologiczny, na szablonie 5-HT_{1B}R PDB ID: 5V54); **B:** **5.D4.g** w 5-HT_{2A}R (model homologiczny, na szablonie 5-HT_{2C}R PDB ID: 6BQG); **C:** **5.D4.g** – jasnozielony, **5.D4.i** – niebieski, **5.D4.gl** – różowy, **5.D4.s** – brązowy, **5.D4.h** – ciemnozielony w 5-HT₇R (model homologiczny, na szablonie 5-HT_{1B}R PDB ID: 6G79); **D:** **5.D4.g** w D₂R (PDB ID: 6CM4). Żółte linie oznaczają wiązania wodorowe.

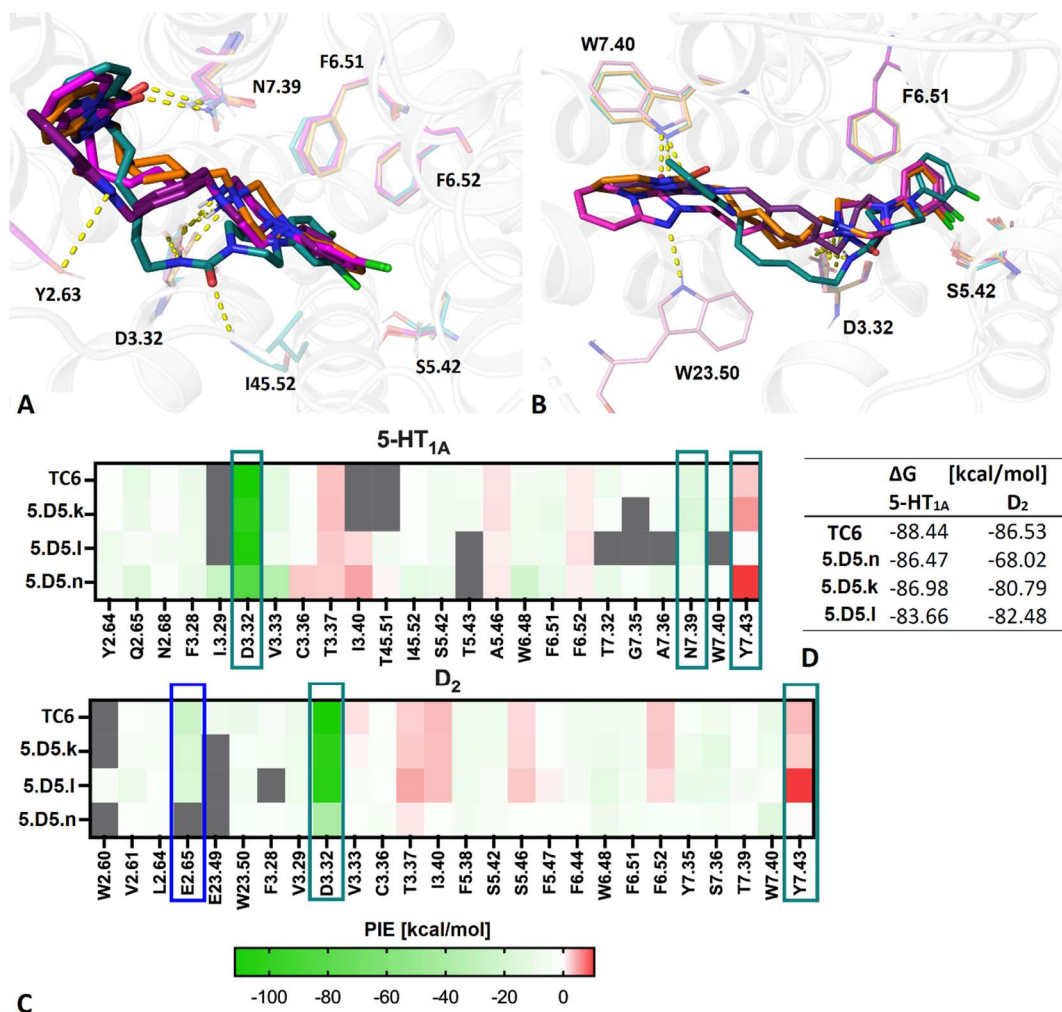
Nieco inne ułożenie ligandów obserwowano w przypadku pochodnych fananseryny w 5-HT₆R.^{D1} Pomimo tego, że stwierdzono obecność mostka solnego z D3.32, ułożenie związków było bardziej zagięte, niż sugerowano we wcześniejszych pracach.²⁰¹ Jednakże należy zaznaczyć, że konformacja ta może wynikać z umiarkowanego powinowactwa badanych ligandów. W przypadku pochodnych lurazydonu, orientacja w kieszeni wiążącej 5-HT₆R była zgodna z danymi literaturowymi. Aby przeanalizować wpływ modyfikacji strukturalnych w pochodnych fananseryny, na powinowactwo do 5-HT₆R mimo umiarkowanych wartości stałych K_i przeprowadzono optymalizacje struktur wyjściowych ligandów oraz konformacji aktywnych z zastosowaniem metod DFT. W kolejnym kroku zbadano wpływ zmian w strukturze cząsteczki na właściwości związane z rozkładem gęstości elektronowej, w tym indeksy Fukui. Co ciekawe, w przypadku związku o najwyższym

powinowactwie zaobserwowano wystąpienie najwyższych wartości parametrów Fukui, zarówno w konformacji aktywnej (**Rysunek 12**), jak i wyjściowej.^{D1}



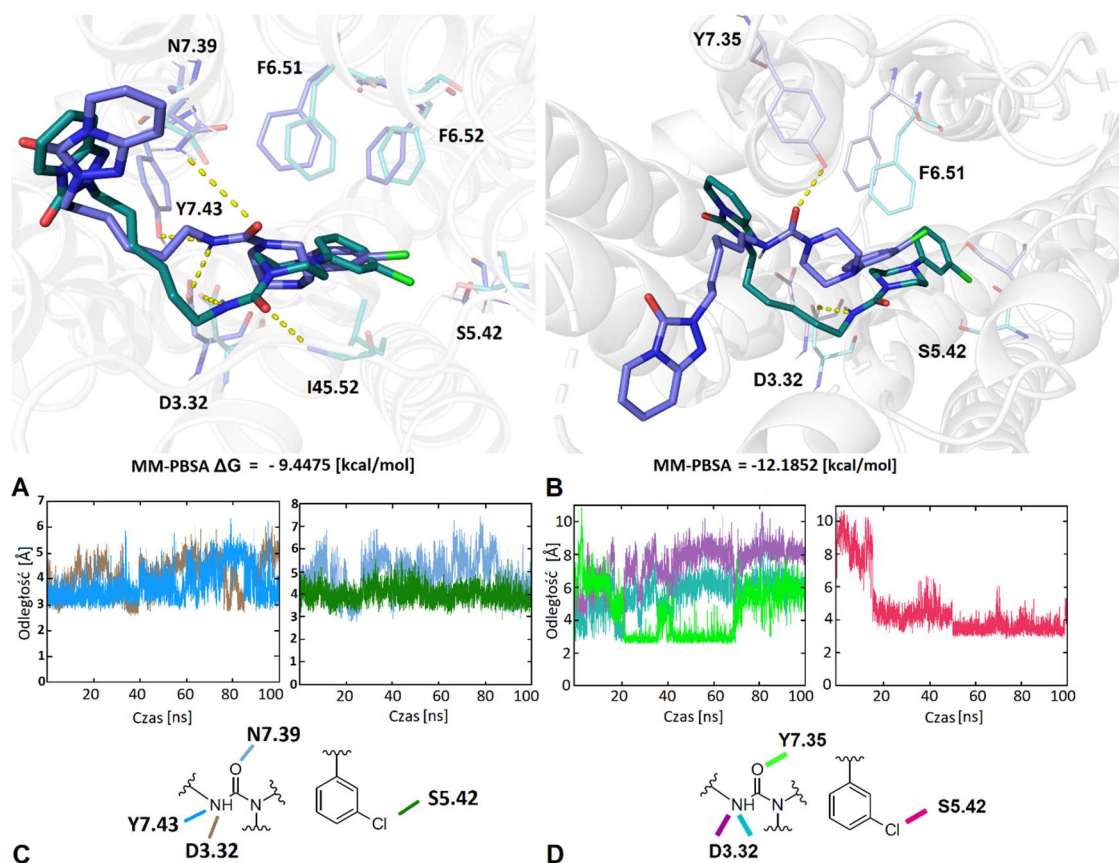
Rysunek 12. Elektrofilowe (A:5.D1.c, B:5.D1.e C:5.D1.o) i nukleofilowe (D: A:5.D1.c, E:5.D1.e F:5.D1.o)) wskaźniki Fukui obliczone w StoBe dla konformacji aktywnych ligandów w kieszeni wiążącej 5-HT₆R (model homologiczny, na szablonie 5-HT_{1B}R PDB ID: 5V54). Na niebiesko zaznaczono wkład dodatni, na zielono wkład ujemny.

Dla heksylowych pochodnych trazodonu, wykonano kompleksową analizę wpływu usztywnienia łącznika węglowego lub obniżenia zasadowości poprzez wprowadzenie grupy karbamoilowej na powinowactwo względem 5-HT_{1A}R i D₂R.^{D5} Szczególnie interesujący wydaje się silny spadek powinowactwa do D₂R dla **5.D5.n** w porównaniu z heksylowym analogiem trazodonu. Co ciekawe, w przypadku 5-HT_{1A}R nie zaobserwowano tak silnego spadku aktywności. Przeprowadzono dokowanie z zastosowaniem krystalicznych struktur wspomnianych receptorów w protokole IFD. Uzyskane kompleksy zostały następnie zoptymalizowane metodą QPLD oraz obliczono dla nich energie wiązania (MM/GBSA). W kolejnym kroku przeanalizowano oddziaływania par (PIE) stosując metodę FMO-PIE (**Rysunek 13**). Przeprowadzone obliczenia pozwoliły wytypować serię oddziaływań istotnych w kontekście powinowactwa do badanych receptorów.



Rysunek 13. Konformacje aktywne heksylowego analogu trazodonu (TC6) – magenta, **5.D5.k** – pomarańczowy, **5.D5.l** – fioletowy, **5.D5.n** – cyjan w kieszeni wiążącej receptora **A**: 5-HT_{1A}R (pdb ID: 7E2Z); **B**: D₂R (PDB ID: 6CM4). Żółte linie oznaczają wiązania wodorowe. **C**: Energie interakcji par (PIE; kcal/mol) między ligandem a resztami miejsca wiążącego. Dane prezentowane są w postaci mapy ciepłej, gdzie oddziaływania silnie przyciągające zaznaczono na zielono, a silnie odpychające na czerwono. **D**: Energia wiązania MM-GBSA obliczona dla kompleksów L-R.

Następnie wykonano symulacje dynamiki molekularnej, w celu zbadania natury wytypowanych wcześniej oddziaływań na podstawie analizy trajektorii liganda i białka (**Rysunek 14**). Zwrócono szczególną uwagę na kompleks **5.D5.n**.



Rysunek 14. Konformacja aktywna **5.D5.n** – cyjan w porównaniu z najbardziej reprezentatywną pozą z dynamiki molekularnej – niebieski, uzyskaną dla **5.D5.n**; **A:** 5-HT_{1A}R (pdb ID: 7E2Z); **B:** D₂R (PDB ID: 6CM4). Żółte linie oznaczają wiązania wodorowe. Stabilność wiązań wodorowych regionów *N*-karbamoilopiperazyny i arylohalogenu w kompleksach **5.D5.n** z **C:** 5-HT_{1A}R, **D:** D₂R, reprezentowana przez odległość donora od akceptora wiązania w funkcji czasu.

W przypadku 5-HT_{1A}R otrzymany kompleks z **5.D5.n** okazał się stabilny. Atom azotu w grupie karbamoilowej przesunął się nieznacznie w kierunku reszty Y7.43, z którą utworzył trwalsze wiązanie wodorowe niż z D3.32. Zaobserwowano również oddziaływanie wodorowe między akceptorem z fragmentu karbamoilu a N7.39. Prowadzi to do założenia, że ligand jest klatkowany przez silne oddziaływania tworzone poprzez ugrupowanie *N*-karbamoilopiperazyny z aż 3 resztami aminokwasów (Y7.43, D3.32, N7.39) w środkowej części kieszeni wiążącej, co kompensuje słabsze charakter wiązania wodorowego z D3.32. Może to wyjaśniać wysokie powinowactwo do 5-HT_{1A}R. Ponadto zaobserwowano stabilny kontakt atomu chloru w arylopiperazynie z S5.42, co może sugerować występowanie wiązania halogenowego. W przypadku D₂R badany kompleks wykazywał znacznie mniejszą stabilność. Zaobserwowano oderwanie grupy NHCO od D3.32 i wypychanie całego liganda z wewnętrznej kieszeni wiążącej. Wiązanie wodorowe NHCO z D3.32 charakteryzowało się bardzo niską

trwałością. W kompleksie tym pojawiły się także interakcje z Y7.35, ale po krótkim czasie to wiązanie również uległo znacznemu osłabieniu. Reszty Y7.35 oraz D3.32 są zbyt daleko od siebie, aby ligand mógł stworzyć kilka stabilnych wiązań wodorowych, jak w przypadku 5-HT_{1A}R.

5. Podsumowanie

W ramach niniejszej pracy doktorskiej skupiono się na dwóch aspektach. Pierwszy z nich dotyczył opracowania nowej, szybkiej i uniwersalnej metody, pozwalającej na otrzymywanie dużych bibliotek związków, należących do *N*-heksyloarylopiiperazyn. Zaproponowano dwuetapową syntezę, składającą się z ciągu reakcji alkilowania w polu promieniowania mikrofalowego. W trakcie badań dobrano odpowiednie warunki syntezy. Najbardziej korzystne okazało się prowadzenie reakcji przy zastosowaniu K_2CO_3 jako czynnika zasadowego, TBAB jako PTC oraz niewielkich ilości DMF lub MeCN w roli rozpuszczalnika. W niektórych przypadkach, konieczna okazała się zamiana K_2CO_3 na NaOH. Co ważne, metoda ta pozwala także na syntezę w warunkach bezrozsączalnikowych lub używając wody jako rozpuszczalnika, a także w wariancie *one-pot*, bez wydzielania produktu pośredniego. Zastosowanie promieniowania mikrofalowego o mocy 100 W pozwoliło na uzyskanie szerokiego spektrum produktów w czasie 10–60 s w pierwszym etapie ($W = 40\text{--}90\%$) oraz 30–60 s ($W = 10\text{--}80\%$) w drugim etapie. Należy podkreślić, że w większości związek końcowy oczyszczano poprzez krystalizację, więc możliwe jest zwiększenie wydajności optymalizując proces oczyszczania.

Warto zwrócić uwagę, że poza znacznym skróceniem czasu trwania reakcji, opracowana metoda syntezy związków z grupy LCAP pozwala na zastosowanie łagodnych czynników zasadowych, w postaci K_2CO_3 oraz znaczną redukcję ilości stosowanego rozpuszczalnika. Prosty sposób wydzielania produktu końcowego poprzez odsączenie z wody lub ekstrakcję hydrofobowym rozpuszczalnikiem, a także metoda oczyszczania przez krystalizację, również pozwalają na znaczne ograniczenie ilości zużywanych rozpuszczalników oraz energii.

Drugi aspekt pracy dotyczył poszukiwania nowych ligandów receptorów aminergicznych, o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu depresji lub schizofrenii. W ramach prowadzonych badań otrzymano 74 połączeń z grupy *N*-heksyloarylopiiperazyn oraz dodatkowo 4 pochodne *N*-heksyloarylopiiperazyn, posiadające usztywniony łącznik węglowy lub obniżoną zasadowość, poprzez wprowadzenie grupy karbamoilowej. Pośród otrzymanych związków wyróżniono 9 ligandów o najbardziej interesujących właściwościach (**Tabela 9**).

Tabela 9. Struktury ligandów o najkorzystniejszych właściwościach.

Kierunek powinowactwa	Nazwa	Wzór strukturalny
silny antagonist 5-HT _{1A} R	5.D5.d	
	5.D5.e	
selektywny ligand 5-HT _{1A} R o obniżonej zasadowości	5.D5.n	
selektywny ligand 5-HT ₇ R	5.D3.f	
dualny ligand 5-HT _{1A} R/D ₂ R	5.D2.k	
	5.D2.q	
potrójny ligand receptorów D ₂ /5-HT _{1A} /5-HT ₇	5.D2.h	
potrójny ligand receptorów D ₂ /5-HT _{1A} /5-HT _{2A}	5.D4.h	
multifunkcyjny ligand receptorów serotoniny i dopaminowych	5.D4.g	

Szczególnie zaskakujący profil aktywności wykazuje niskozasadowy ligand (**5.D5.n**), który pomimo braku zasadowego atomu azotu, zdolnego do tworzenia mostka solnego z D3.32 nie stracił powinowactwa do 5-HT_{1A}R. Analiza właściwości ADMET *in vitro* wykazała wysoką podatność metaboliczną, jednakże właściwość ta nie wyklucza zastosowania związku jako sondy molekularnej. Tym czasem ligand wykazuje zdolność do penetracji bariery krew-mózg oraz nie jest toksyczny dla wątroby w niewielkich dawkach.

6. Bibliografia

- [1] Celada P., Bortolozzi A., Artigas F., Serotonin 5-HT_{1A} Receptors as Targets for Agents to Treat Psychiatric Disorders: Rationale and Current Status of Research. *CNS Drugs* **2013**, *27*, 703–16. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0071-0>.
- [2] Kaufman J., DeLorenzo C., Choudhury S., Parsey R.V., The 5-HT_{1A} receptor in Major Depressive Disorder. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* **2016**, *26*(3), 397–410. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.039>.
- [3] Ervin R.B., Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003-2006. *Natl Health Stat Report*. **2009**, *5*(13), 1–7.
- [4] Kessler R.C., Berglund P., Demler O., Jin R., Koretz D., Merikangas K.R., National Comorbidity Survey, Replication. *The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R)* *JAMA*. **2003**, *289*(23), 3095–105. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.289.23.3095>.
- [5] Mathers C.D., Loncar D., Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Plos. Med.* **2006**, *3*(11), e442. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0030442>.
- [6] Ogren S.O., Eriksson T.M., Elvander-Tottie E., D'Addario C., Ekstrom J.C., Svenningsson P., Stiedl O., The role of 5-HT(1A) receptors in learning and memory. *Behav. Brain Res.* **2008**, *195*(1), 54–77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.023>.
- [7] Shao X., Zhu G., Associations Among Monoamine Neurotransmitter Pathways, Personality Traits, and Major Depressive Disorder. *Frontiers in psychiatry* **2020**, *11*, 381. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00381>.
- [8] Kantrowitz J.T., Targeting Serotonin 5-HT_{2A} Receptors to Better Treat Schizophrenia: Rationale and Current Approaches. *CNS Drugs* **2020**, *34*, 947–59. <https://doi.org/10.1007/s40263-020-00752-2>.
- [9] Yang L.H., Ruiz B., Mandavia A.D., Grivel M.M., Wong L.Y., Phillips M.R. i inni, Advancing study of cognitive impairments for antipsychotic-naïve psychosis comparing high-income versus low- and middle-income countries with a focus on urban China: systematic review of cognition and study methodology. *Schizophr Res.* **2020**, *220*, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.01.026>.
- [10] Tyagi R., Singh H., Singh J., Arora H., Yelmeli V., Jain M., Girigani S., Kumar P., Identification, Synthesis, and Control of Process-Related Impurities in the Antipsychotic Drug Substance Brexpiprazole. *Organic Process Research & Development* **2018**, *22*(11), 1471–80. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.8b00074>.
- [11] Daniel J., Coughlin J.C., WiltDa-Ming G., Processes for making alkylated arylpiperazine and alkylated arylpiperidine compounds including novel intermediates. *Johnson Matthey PLC*, US2015/361099, **2015**.
- [12] Jianqi L., Xiaowen C., Feilong Z., Kunhua D., 3-cyclohexyl-1,1-dimethylurea compound and its preparation method and application. *China National Pharmaceutical Group Corporation*, CN104496854, **2017**, B.

- [13] Kumar A.S., Kandanur S.G.S., Sen S. i inni, Delineating an alternate convergent synthesis of brexpiprazole: a novel use of commercial 6,7-dihydrobenzo[b]thiophen-4(5H)-one as precursor to an efficacious Buchwald–Hartwig amination step. *J Chem Sci* 2018, 130, 72. <https://doi.org/10.1007/s12039-018-1470-z> 131 10.1007/s12039-018-1470-z.
- [14] Desai S.J., Parihara J.A., Shah L.P., Process for the preparation of brexpiprazole and intermediates thereof. *Zydu Lifesciences Ltd* - US2017/320862, **2017**, A1.
- [15] Srinivasan T.R., Sajja E.G., Venkat R.K. Rajashekar, Processes for the preparation of 7-{4-[4-(1-benzothiophen-4-yl)piperazin-1-yl]butoxy}quinolin-2(1h)-one. *Msn Laboratories Private Limited* - WO2018/87775, **2018**, A1.
- [16] Qiu L., Ouyang J., Large-steric-hindrance N-heterocyclic carbene palladium complex, preparation method and application thereof, and synthesis method of sonidegib based on large-steric-hindrance N-heterocyclic carbene palladium complex. *Sun Yat-Sen University (China)* - CN112209972, **2021**.
- [17] Jagtap B.N., Badgajar N.D., Maheta A.S., Butani P.C., Ajudia P.V., Koilpillai J.P., Agarwal V.K., Hedapara K.R., Process for the preparation of brexpiprazole. *Amneal Pharmaceuticals Llc* - WO2018/172463, **2018**, A1.
- [18] Tianjian Y., Xiuwei L., Guangliang Y., Yao C., Songan S., Preparation method and intermediate of brexpiprazole and preparation method of intermediate. *Zhejiang Yongning Pharma* - CN105541819, **2016**.
- [19] Rusiecki R., Śnieżek M. The method for manufacture of brexpiprazole, intermediates used in this method, and the method for manufacture thereof, *Adamed Sp. Z.O.O.* - WO2018/15354, **2018**, A1.
- [20] Xu K., Tao J., Liu J. Novel preparation method of brexpiprazole. *Anhui Yixinming Pharmaceutical Tech* - CN105399736, **2016**, A.
- [21] Peng J., Wang Q., Yan P., Zhu H., Preparation method of trazodone hydrochloride. *Shenzhen Foncoo Pharmaceutical* - CN105777745, **2016**, A.
- [22] Fui-Fong Y., Yong-Chua T., Khee-Ngiap T., Efficient copper-catalyzed cross-coupling of 1-Boc-piperazine with aryl iodides and its application in the synthesis of trazodone. *Tetrahedron Letters* **2013**, 54, 39, 5332–4. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.07.104>.
- [23] Gant T.G., Sarshar S., Substituted triazolopyridines. *Teva Pharmaceutical Industries Ltd.* - US2009/209550, **2009**, A1.
- [24] Bathe A., Method for the production of 5-(4-[4-(5-cyano-3-indolyl)-butyl]-1-piperazinyl)-benzofuran-2-carboxamide. *Merck Kgaa*, - WO2006/114202, **2006**, A1.
- [25] Feilner M., El-Hoiydi A. Syntheses and preparations of polymorphs of crystalline aripiprazole. *Medichem, S.A.* - WO2007/4061, **2007**, A1.
- [26] Kowalski P., Jaśkowska J., An Efficient Synthesis of Arypiprazole, Buspirone and NAN-190 by the Reductive Alkylation of Amines Procedure. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2012**, 345, 81–5. <https://doi.org/10.1002/ardp.201100112>.
- [27] Jiange C., Binfeng L., Zhifeng G., Synthesis method of arypiprazole. *Jiming Pharmatech Suzhou* - CN109251172, **2019**.
- [28] Briggs J.R., Klosin J., Whiteker G.T., Synthesis of biologically active amines via rhodium-bisphosphite-catalyzed hydroaminomethylation. *Org Lett.* **2005**, 27, 7(22), 4795–8. <https://doi.org/10.1021/ol050848y>.
- [29] Xiao K., Chuan H., Anyun Z., Preparation method of carbaprizine. *Chengdu Hongda Pharmaceutical Co Ltd* - CN113527227, **2021**.
- [30] de Marco B.A., Rechelo B.S., Tótolí E.G., Kogawa A.C., Salgado H.R.N., Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review, *Saudi Pharmaceutical Journal* 2019, 27(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.011>.
- [31] Tobiszewski M., Mechlińska A., Zygmunt B., Namieśnik J., Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2009, 28, 8, 943–51. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.06.001>.

- [32] Anastas P.T., Williamson T.C., Green chemistry: designing chemistry for the environment. *American Chemical Society* **1996**, 118, 44, 10945, <https://doi.org/10.1021/bk-1996-0626.fw001>.
- [33] Anastas P.T., John C. Warner J.C. Green chemistry: Theory and Practice. *Frontiers* **1998**, 640, 448. ISBN 0-19-850 170-6
- [34] Gedye R., Smith F., Westaway K., Ali H., Baldisera L., Laberge L., Rousell J., The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Letters* **1986**, 27(3), 279–82. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)83996-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)83996-9).
- [35] Díaz-Ortiz Á., Prieto P., de la Hoz A., A Critical Overview on the Effect of Microwave Irradiation in Organic Synthesis. *Chem Rec.* **2019**, 19(1), 85–97. <https://doi.org/10.1002/tcr.201800059>.
- [36] Bogdał D., Microwave-assisted organic synthesis: one hundred reaction procedures. *Elsevier* **2005**. 1st Edition, 2. ISBN: 9780080446219.
- [37] Mandal B., Alternate Energy Sources for Sustainable Organic Synthesis. *ChemistrySelect* **2019**, 4, 8301–10. <https://doi.org/10.1002/slct.201901653>.
- [38] Tan D., Friščić T., Mechanochemistry for Organic Chemists: An Update. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 18–33. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700961>.
- [39] Takacs L., The historical development of mechanochemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 7649–59. <https://doi.org/10.1039/C2CS35442J>.
- [40] Urukaev F.K., Boldyrev V.V., Mechanism and kinetics of mechanochemical processes in comminuting devices: 2. Applications of the theory. Experiment, *Powder Technol.* **2000**, 107, 197–206. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(99\)00200-4](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(99)00200-4).
- [41] Friščić T., Jones W., Recent Advances in Understanding the Mechanism of Cocrystal Formation via Grinding. *Cryst. Growth Des.* **2009**, 9, 1621–37. <https://doi.org/10.1021/cg800764n>.
- [42] James S.L., Adams C.J., Bolm C., Braga D., Collier P., Friščić T., Grepioni F., Harris K.D.M., Hyett G., Jones W. i inni, Mechanochemistry: Opportunities for new and cleaner synthesis. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 413–47. <https://doi.org/10.1039/C1CS15171A>.
- [43] Gharat N.N., Rathod V.K., Chapter 1 - Ultrasound-assisted organic synthesis, Editor(s): Inamuddin, Boddula R., Asiri A.M., Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science. *Elsevier*, 2020, 1–41. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819540-6.00001-2>.
- [44] Gao D.M., Ma W.L., Li T.R., Huang L.Z., Du Z.T., An improved synthesis of 1,2-diarylethanol under conventional heating and ultrasound irradiation, *Molecules* **2012**, 17(9), 10708–15. <https://doi.org/10.3390/molecules170910708>.
- [45] Mason T.J., Sonochemistry and sonoprocessing: the link, the trends and (probably) the future. *Ultrason. Sonochem* **2003**, 10(4–5), 175–9. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00086-5](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00086-5).
- [46] Avila-Ortiz C.G., Juaristi E., Novel Methodologies for Chemical Activation in Organic Synthesis under Solvent-Free Reaction Conditions. *Molecules* **2020**, 25, 3579. <https://doi.org/10.3390/molecules25163579>.
- [47] Sheldon R.A., Green solvents for sustainable organic synthesis: State of the art. *Green Chem.* **2005**, 7, 267–78. <https://doi.org/10.1039/B418069K>.
- [48] Starks C.M., Halper M., Phase-transfer catalysis: fundamentals, applications, and industrial perspectives. *Springer Science & Business Media* **2012**. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-0687-0>.
- [49] Sasson Y., Neumann R., Handbook of phase transfer catalysis. *Springer Science & Business Media* **2012**. ISBN 9780751402582
- [50] Reuben B., Sjoberg K., Phase-transfer catalysis in industry. *Chemtech* **1981**, 11(5), 315-20.
- [51] Starks C.M., Phase-transfer catalysis. I. Heterogeneous reactions involving anion transfer by quaternary ammonium and phosphonium salts. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93(1), 195–9. <https://doi.org/10.1021/ja00730a033>.
- [52] Besnard J., Ruda G.F., Setola V., Abecassis K., Rodriguiz R.M., Huang X.P., Norval S., Sassano M.F., Shin A.I., Webster L.A., Simeons F.R., Stojanovski L., Prat A., Seidah N.G., Constam D.B., Bickerton G.R., Read K.D., Wetsel W.C., Gilbert I.H., Roth B.L., Hopkins A.L., Automated design of

- ligands to polypharmacological profiles. *Nature*. **2012**, 13, 492(7428), 215–20. <https://doi.org/10.1038/nature11691>.
- [53] Cusack B., Nelson A., Richelson E., Binding of antidepressants to human brain receptors: focus on newer generation compounds. *Psychopharmacology* **1994**, 114(4), 559–65. <https://doi.org/10.1007/bf02244985>.
- [54] Millan M.J., Dual- and triple-acting agents for treating core and co-morbid symptoms of major depression: novel concepts, new drugs, *Neurotherapeutics* **2009**, 6, 53e77. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2008.10.039>.
- [55] Shiwa T., Amano T., Matsubayashi H., Seki T., Sasa M., Sakai N., Perospirone, a novel antipsychotic agent, hyperpolarizes rat dorsal raphe neurons via 5-HT1A receptor. *J Pharmacol Sci*. 2003, 93(1), 114–7. <https://doi.org/10.1254/jphs.93.114>.
- [56] Ishibashi T., Horisawa T., Tokuda K., Ishiyama T., Ogasa M., Tagashira R., Matsumoto K., Nishikawa H., Ueda Y., Toma S., Oki H., Tanno N., Saji I., Ito A., Ohno Y., Nakamura M., Pharmacological profile of lurasidone, a novel antipsychotic agent with potent 5-hydroxytryptamine 7 (5-HT7) and 5-HT1A receptor activity. *J Pharmacol Exp Ther*. **2010**, 334(1), 171–81. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.167346>.
- [57] Citrome L., Cariprazine: chemistry, pharmacodynamics, pharmacokinetics, and metabolism, clinical efficacy, safety, and tolerability. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. **2013** 9(2),193–206. <https://doi.org/10.1517/17425255.2013.759211>.
- [58] Schmidt A.W., Lebel L.A., Howard H.R Jr, Zorn SH., Ziprasidone: a novel antipsychotic agent with a unique human receptor binding profile. *Eur J Pharmacol*. 2001, 17, 425(3), 197–201. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01188-8](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01188-8).
- [59] Shapiro D.A., Renock S., Arrington E., Chiodo L.A., Liu L.-X., Sibley D.R., Roth B.L., Mailman R., Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol*. **2003**, 28, 1400–11. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300203>.
- [60] Maeda K., Sugino H., Akazawa H., Amada N., Shimada J., Futamura T., Yamashita H., Ito N., McQuade R.D., Mørk A., Pehrson A.L. Hentzer M., Nielsen V., Bundgaard C., Arnt J., Stensbøl T.B., Kikuchi T., Brexpiprazole I: in vitro and in vivo characterization of a novel serotonin-dopamine activity modulator. *J Pharmacol Exp Ther*. **2014**, 350(3), 589–604. <https://doi.org/10.1124/jpet.114.213793>.
- [61] el Ahmad Y., Laurent E., Maillet P., Talab A., Teste J.F., Dokhan R., Tran G., Ollivier R., New benzocycloalkylpiperazines, potent and selective 5-HT1A receptor ligands. *J Med Chem*. 1997, 14, 40(6), 952–60. <https://doi.org/10.1021/jm950759z>.
- [62] Malleron J.L., Comte M.T., Gueremy C. i inni, Naphthosultam Derivatives: A New Class of Potent and Selective 5-HT2 Antagonists, *J. Med Chem*. **1991**, 34, 2477–83. <https://doi.org/10.1021/jm00112a025>.
- [63] Kowalski P., Mitka K., Jaśkowska J., Duszyńska B., Bojarski A.J., New arylpiperazines with flexible versus partly constrained linker as serotonin 5-HT(1A)/5-HT(7) receptor ligands. *Arch Pharm (Weinheim)*. **2013**, 346(5), 339–48. <https://doi.org/10.1002/ardp.201300011>.
- [64] Kowalski P., Kowalska T., Bojarski A.J., Duszyńska B., Synthesis and biological properties of 1,8-naphthalimidebutylamines. Serotonin 5-HT1A and 5-HT7 binding data and pass-assisted search. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2007**, 44, 889–93. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570440423>.
- [65] Pai N.R., Dubhashi D.S., Vishwasrao S., Pusalkar D., An efficient synthesis of neuroleptic drugs under microwave irradiation. *J. Chem. Pharm. Res*. **2010**, 2(5), 506–17. ISSN: 0975-7384.
- [66] Deshpande P., Luthra P., Shanishchara A., Manepalli R., Mistry D., Process for the preparation of aripiprazole. *Alembic Pharmaceuticals Limited - US2006/258869*, **2006**, A1.
- [67] Liu Z., Lu W., Wang N., Preparation method for lurasidone hydrochloride. *Shanghai Fosun Pharmaceutical (Group) Co., Ltd. - CN106916151*, **2017**.

- [68] Giuglio-Tonolo A.G., Terme T., Vanellea P., Solventless microwave assisted protocol for synthesis of arylalkylpiperazines using Cs-base. *Green Chem.*, **2009**, 11, 160–2. <https://doi.org/10.1039/B812801D>.
- [69] Wang H.J., Earley W.G., Lewis R.M., Srivastava R.R., Zych A.J., Jenkins D.M., Fairfax D.J., An efficient one-pot, two-step synthesis of 4-substituted 1-heteroaryl piperazines under microwave irradiation conditions. *Tetrahedron Letters* **2007**, 48, 17, 3043–6. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.02.114>.
- [70] Intagliata S., Modica M.N., Pittalà V., Salerno L., Siracusa M.A., Cagnotto A., Salmona M., Kurczab R., Romeo G., New N- and O-arylpiperazinylalkyl pyrimidines and 2-methylquinazolines derivatives as 5-HT7 and 5-HT1A receptor ligands: Synthesis, structure-activity relationships, and molecular modeling studies. *Bioorg Med Chem.* **2017**, 25(3), 1250–9. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.12.039>.
- [71] Ofori E., Onyameh E.K., Gonela U.M., Voshavar C., Bricker B., Swanson T.L., Eshleman A.J., Schmachtenberg J.L., Bloom S.H., Janowsky A.J., Ablordeppey S.Y., New dual 5-HT1A and 5-HT7 receptor ligands derived from SYA16263. *Eur J Med Chem.* **2021**, 214, 113243. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113243>.
- [72] Kangasmetsä J.J., Johnson T., Microwave-accelerated methodology for the direct reductive amination of aldehydes. *Org Lett.* **2005**, 8, 7(25), 5653–5. <https://doi.org/10.1021/ol0522844>. PMID: 16321014.
- [73] Kommi D.N., Kumara D., Chakraborti A.K., “All water chemistry” for a concise total synthesis of the novel class anti-anginal drug (RS), (R), and (S)-ranolazine. *Green Chem.* **2013**, 15, 756–67. <https://doi.org/10.1039/C3GC36997H>.
- [74] Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Kułaga D., Zaręba P., Majka Z., Solvent-free microwave-assisted synthesis of arypiprazole, *Current Chemistry Letters* **2018**, 7, 81–6. <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2018.8.002>.
- [75] Jaśkowska J., Zaręba P., Śliwa P., Pindelska E., Satała G., Majka Z., Microwave-Assisted Synthesis of Trazodone and Its Derivatives as New 5-HT1A Ligands: Binding and Docking Studies. *Molecules* **2019**, 24, 1609. <https://doi.org/10.3390/molecules24081609>.
- [76] Jaśkowska J., Drabczyk A.K., Michorczyk P., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P., Majka Z., Jakubski J., Pindelska E., Mechanochemical Synthesis Method for Drugs Used in the Treatment of CNS Diseases under PTC Conditions. *Catalysts* **2022**, 12, 464. <https://doi.org/10.3390/catal12050464>.
- [77] Jaśkowska J., Drabczyk A., Kułaga D., Zaręba P., Jodłowski P., Sposób otrzymywania długołańcuchowych arylopipezyn, *Pat.239445*, **2021**.
- [78] Kułaga D., Jaśkowska J., Jasiński R., Microwave-Assisted Solvent-Free Synthesis of Ipsapirone. *J. Heterocyclic Chem.* **2019**, 56, 1498–504. <https://doi.org/10.1002/jhet.3520>.
- [79] Kułaga D., Jaśkowska J., Satała G., Design, synthesis and biological evaluation of novel serotonin and dopamine receptor ligands being 6-bromohexyl saccharine derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* **2019**, 29(21), 126667. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126667>.
- [80] Kułaga D., Jaśkowska J., Satała G., Radioligand and computational insight in structure - Activity relationship of saccharin derivatives being ipsapirone and revospirone analogues. *Bioorg Med Chem Lett.* **2021**, 42, 128028. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128028>.
- [81] Bana P., Szigetvári Á., Kóti J., Éles J., Greiner I., Flow-oriented synthetic design in the continuous preparation of the aryl piperazine drug Flibanserin. *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 652–7. <https://doi.org/10.1039/C8RE00266E>.
- [82] Guillena G., Ramón D.J., Yus M., Hydrogen Autotransfer in the N-Alkylation of Amines and Related Compounds using Alcohols and Amines as Electrophiles. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3, 1611–41. <https://doi.org/10.1021/cr9002159>.
- [83] Kumar K.Y., Kumar C.B.P., Prasad K.N.N., Jeon B.H., Alsalme A., Prashanth M. K., Microwave-assisted N -alkylation of amines with alcohols catalyzed by MnCl₂: Anticancer, docking, and DFT studies. *Arch. Pharm.* **2022**, 355, e2100443. <https://doi.org/10.1002/ardp.202100443>.

- [84] Shao Q.L., Jiang Z.J., Su W.K., Solvent-free mechanochemical Buchwald-Hartwig amination of aryl chlorides without inert gas protection. *Tetrahedron Letters* **2018**, 59, 23, 2277–80. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.04.078>.
- [85] Martina K., Tagliapietra S., Barge A. i inni, Combined Microwaves/Ultrasound, a Hybrid Technology. *Top Curr Chem (Z)* **2016**, 374, 79. <https://doi.org/10.1007/s41061-016-0082-7>.
- [86] Cravotto G., Borretto E., Oliverio M., Procopio A., Penoni A., Catalysis in water or biphasic aqueous systems under sonochemical conditions. *Catal Commun* **2015**, 63, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2014.12.014>.
- [87] Palmisano G., Tagliapietra S., Binello A., Boffa L., Cravotto G., Efficient regioselective opening of epoxides by nucleophiles in water under simultaneous ultrasound/microwave irradiation. *Synlett* **2007**, 2041–4. <https://doi.org/10.1055/s-2007-984891>.
- [88] Gill H., Gill B., El-Halabi S., Chen-Li D., Lipsitz O., Rosenblat J.D., Van Rheenen T.E., Rodrigues N.B., Mansur R.B., Majeed A., Lui L.M.W., Nasri F., Lee Y., McIntyre R.S., Antidepressant Medications and Weight Change: A Narrative Review. *Obesity* **2020**, 28, 2064–72. <https://doi.org/10.1002/oby.22969>.
- [89] Sarko J., Antidepressants, old and new. A review of their adverse effects and toxicity in overdose. *Emerg Med Clin North Am* **2000**, 18, 637–54. [https://doi.org/10.1016/s0733-8627\(05\)70151-6](https://doi.org/10.1016/s0733-8627(05)70151-6).
- [90] Frieling H., Bleich S., Tranylcypromine: new perspectives on an "old" drug. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* **2006**, 256(5), 268–73. <https://doi.org/10.1007/s00406-006-0660-8>.
- [91] Rosenblat J.D., McIntyre R.S., Pharmacological approaches to minimizing cardiometabolic side effects of mood stabilizing medications. *Curr Treatment Options Psychiatry* **2017**, 4, 319–32. <https://doi.org/10.1007/s40501-017-0131-z>.
- [92] Artigas F., Nutt D.J., Shelton R., Mechanism of action of antidepressants. *Psychopharmacol Bull* **2002**, 36, 123–32. PMID: 12490828.
- [93] Moret C., Briley M., The importance of norepinephrine in depression. *Neuropsychiatr Dis Treat* **2011**, 7(suppl 1), 9–13. <https://doi.org/10.2147/NDT.S19619>.
- [94] Shelton R.C., Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors. *Handb Exp Pharmacol* **2019**, 250, 145–80. https://doi.org/10.1007/164_2018_164.
- [95] Lee S.H., Paz-Filho G., Mastronardi C., Licinio J., Wong M.L., Is increased antidepressant exposure a contributory factor to the obesity pandemic? *Transl Psychiatry* **2016**, 6:e759. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.25>.
- [96] Chen G., Hojjer A.M., Areberg J., Nomikos G., Vortioxetine: Clinical Pharmacokinetics and Drug Interactions. *Clin Pharmacokinet.* **2018**, 57(6), 673–86. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0612-7>.
- [97] Stuiwenga M., Giltay E.J., Cools O., Roosens L., Neels H., Sabbe B., Evaluation of vilazodone for the treatment of depressive and anxiety disorders. *Expert Opin Pharmacother* **2019**, 20, 251–60. <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1549542>.
- [98] Cuomo A., Ballerini A., Bruni A.C., Decina P., Di Sciascio G., Fiorentini A., Scaglione F., Vampini C., Fagiolini A., Clinical guidance for the use of trazodone in major depressive disorder and concomitant conditions: pharmacology and clinical practice. *Riv Psichiatr.* **2019**, 54(4), 137–49. <https://doi.org/10.1708/3202.31796>.
- [99] Kapur S., Remington G., Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. *Biol Psychiatry.* **2001**, 50(11), 873–83. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(01\)01251-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01251-3).
- [100] Stępnicki P., Kondej M., Kaczor A.A., Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. *Molecules* **2018**, 23, 2087. <https://doi.org/10.3390/molecules23082087>.
- [101] Lau C.I., Wang H.C., Hsu J.L., Liu M.E., Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? *Rev Neurosci.* **2013**, 24(4), 389–400. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2013-0011>.

- [102] Luedtke R.R., Rangel-Barajas C., Malik M., Reichert D.E., Mach R.H., Bitropic D3 Dopamine Receptor Selective Compounds as Potential Antipsychotics. *Curr Pharm Des.* **2015**, 21(26), 3700–24. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150724100830>.
- [103] Aghajanian G., Serotonin model of schizophrenia: Emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Res. Rev.* **2000**, 31, 302–12. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(99\)00046-6](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(99)00046-6).
- [104] Eggers A.E., Extending David Horrobin’s membrane phospholipid theory of schizophrenia: Overactivity of cytosolic phospholipase A2 in the brain is caused by overdrive of coupled serotonergic 5HT2A/2C receptors in response to stress. *Med. Hypotheses* **2012**, 79, 740–43. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2012.08.016>.
- [105] Nikiforuk A., Hołuj M., Kos T., Popik P., The effects of a 5-HT5A receptor antagonist in a ketamine-based rat model of cognitive dysfunction and the negative symptoms of schizophrenia. *Neuropharmacology* **2016**, 105, 351–60. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.01.035>.
- [106] Newman-Tancredi A., Chaput C., Verrielle L., Millan M.J., Clozapine is a partial agonist at cloned, human serotonin 5-HT1A receptors. *Neuropharmacology.* **1996**, 35(1), 119–21. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(95\)00170-0](https://doi.org/10.1016/0028-3908(95)00170-0).
- [107] Heusler P., Newman-Tancredi A., Looock T., Cussac D., Antipsychotics differ in their ability to internalise human dopamine D2S and human serotonin 5-HT1A receptors in HEK293 cells. *Eur J Pharmacol.* **2008**, 26, 581(1–2), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.11.046>.
- [108] Newman-Tancredi A., Kleven M.S., Comparative pharmacology of antipsychotics possessing combined dopamine D2 and serotonin 5-HT1A receptor properties. *Psychopharmacology (Berl).* **2011**, 216(4), 451–73. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2247-y>.
- [109] Maher A.R., Theodore G., Summary of the comparative effectiveness review on off-label use of atypical antipsychotics. *J. Manag. Care Pharm. JMCP* **2012**, 18, 1–20. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2012.18.s5-b.1>.
- [110] Seeger T.F., Seymour P.A., Schmidt A.W., Zorn S.H., Schulz D.W., Lebel L.A., McLean S., Guanowsky V., Howard H.R., Lowe J.A., Ziprasidone (CP-88,059): A new antipsychotic with combined dopamine and serotonin receptor antagonist activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, 275, 101–13. PMID: 7562537.
- [111] Pompili M., Verzura C., Trovini G., Buscajoni A., Falcone G., Naim S., Nardella A., Sorice S., Baldessarini R.J., Girardi P., Lurasidone: Efficacy and safety in the treatment of psychotic and mood disorders. *Expert Opin. Drug Saf.* **2018**, 17, 197–205. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1379989>.
- [112] Salvi V., Mencacci C., Barone-Adesi F., H1-histamine receptor affinity predicts weight gain with antidepressants. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2016**, 26, 1673–7. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300027>.
- [113] Mailman R.B., Murthy V., Third generation antipsychotic drugs: Partial agonism or receptor functional selectivity? *Curr. Pharm. Des.* **2010**, 16, 488–501. <https://doi.org/10.2174/138161210790361461>.
- [114] Leucht S., Cipriani A., Spineli L., Mavridis D., Orey D., Richter F., Samara M., Barbui C., Engel R.R., Geddes J.R. i inni, Comparative efficacy and tolerability of 15 antipsychotic drugs in schizophrenia: A multiple-treatments meta-analysis. *Lancet Lond. Engl.* **2013**, 382, 951–62. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60733-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60733-3).
- [115] Hope J., Castle D., Keks N.A., Brexpiprazole: A new leaf on the partial dopamine agonist branch. *Australas. Psychiatry Bull. R. Aust. N. Z. Coll. Psychiatr.* **2018**, 26, 92–4. <https://doi.org/10.1177/1039856217732473>.
- [116] Burda-Malarz K., Kus K., Ratajczak P., Czubak A., Nowakowska E., Jędrzejewski L., Sadowski C., Evaluation of antidepressant and memory-improving efficacy of arypiprazole and fluoxetine in alcohol-preferring rats. *Acta Neuropsychiatr.* **2014**, 26, 112–9. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.38>.
- [117] De Deurwaerdère P., Cariprazine: New dopamine biased agonist for neuropsychiatric disorders. *Drugs Today Barc. Spain 1998* **2016**, 52, 97–110. <https://doi.org/10.1358/dot.2016.52.2.2461868>.

- [118] Németh G., Laszlovszky I., Czobor P., Szalai E., Szatmári B., Harsányi J., Barabássy Á., Debelle M., Durgam, S., Bitter I. i inni, Cariprazine versus risperidone monotherapy for treatment of predominant negative symptoms in patients with schizophrenia: A randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* **2017**, 389, 1103–13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30060-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30060-0).
- [119] Banerjee P., Mehta M., Kanjilal B., The 5-HT_{1A} receptor: a signaling hub linked to emotional balance; Chattopadhyay A., Serotonin Receptors in Neurobiology. *Boca Raton(FL): CRC Press/Taylor & Francis* 2007. ISBN-10: 0-8493-3977-4.
- [120] Billard T., Le Bars D., Zimmer L., PET radiotracers for molecular imaging of serotonin 5-HT_{1A} receptors. *Curr. Med. Chem.* 2014, 21(1), 70–81. <https://doi.org/10.2174/09298673113209990215>.
- [121] Le François B., Czesak M., Steubl D., Albert P.R., Transcriptional regulation at a HTR_{1A} polymorphism associated with mental illness. *Neuropharmacology* **2008**, 55, 977–85. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.046>.
- [122] Szewczyk B., Albert P.R., Burns A.M., Czesak M., Overholser J.C., Jurjus G.J. i inni., Gender-specific decrease in NUDR and 5-HT_{1A} receptor proteins in the prefrontal cortex of subjects with major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharm.* **2009**, 12, 155–68. <https://doi.org/10.1017/S1461145708009012>.
- [123] Neff C.D., Abkevich V., Packer J.C. i inni, Evidence for HTR_{1A} and LHPP as interacting genetic risk factors in major depression. *Mol Psychiatry* **2009**, 14, 621–30. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.8>.
- [124] Blier P., de Montigny C., Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci.* **1994**, 15, 220–6. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(94\)90315-8](https://doi.org/10.1016/0165-6147(94)90315-8).
- [125] Page M.E., Cryan J.F., Sullivan A. i inni, Behavioral and neurochemical effects of 5-(4-[4-(5-Cyano-3-indolyl)-butyl]-butyl)-1-piperazinyl)-benzofuran-2-carboxamide (EMD 68843): a combined selective inhibitor of serotonin reuptake and 5-hydroxytryptamine(1A) receptor partial agonist. *J Pharmacol Exp Ther.* **2002**, 302, 1220–7. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.034280>.
- [126] Mørk A., Pehrson A., Brennum L.T., Nielsen S.M., Zhong H., Lassen A.B., Miller S., Westrich L., Boyle N.J., Sánchez C., Fischer C.W., Liebenberg N., Wegener G., Bundgaard C., Hogg S., Bang-Andersen B., Stensbøl T.B., Pharmacological effects of Lu AA21004: a novel multimodal compound for the treatment of major depressive disorder. *J Pharmacol Exp Ther.* **2012**, 340(3), 666–75. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.189068>.
- [127] Blier P., Ward N.M., Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry* **2003**, 1, 53(3), 193–203. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(02\)01643-8](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01643-8).
- [1282] Yasuno F., Suhara T., Ichimiya T., Takano A., Ando T., Okubo Y., Decreased 5-HT_{1A} receptor binding in amygdala of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* **2004**, 1, 55(5), 439–44. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.11.016>.
- [129] Bortolozzi A., Masana M., Díaz-Mataix L., Cortés R., Scorza M.C., Gingrich J.A., Toth M., Artigas F. Dopamine release induced by atypical antipsychotics in prefrontal cortex requires 5-HT(1A) receptors but not 5-HT(2A) receptors. *Int J Neuropsychopharmacol.* **2010**, 13(10), 1299–314. <https://doi.org/10.1017/S146114571000009X>.
- [130] Meneses A., Perez-Garcia G. 5-HT(1A) receptors and memory. *Neurosci Biobehav Rev.* **2007**, 31(5), 705–27. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.02.001>.
- [131] Żmudzka E., Sałaciak K., Sapa J., Pytka K. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies, *Life Sciences* **2018**, 210, 106–24. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.08.050>.
- [132] Dremencov E., El Mansari M., Blier P., Noradrenergic augmentation of escitalopram response by risperidone: electrophysiologic studies in the rat brain. *Biol. Psychiatry* **2007**, 61, 671–8. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.05.015>.
- [133] Kawahara Y., Kawahara H., Kaneko F., Tanaka M., Long-term administration of citalopram reduces basal and stress-induced extracellular noradrenaline levels in rat brain. *Psychopharmacology* **2007**, 194, 73–81. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0826-8>.

- [134] Ward R.P., Hamblin M.W., Lachowicz J.E., Hoffman B.J., Sibley D.R., Dorsa D.M., Localization of serotonin subtype 6 receptor messenger RNA in the rat brain by in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* **1995**, 64, 1105–11. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00439-c](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00439-c).
- [135] Wesołowska A., Potential role of the 5-HT₆ receptor in depression and anxiety: an overview of preclinical data. *Pharmacol Rep.* **2010**, 62(4), 564–77. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(10\)70315-7](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(10)70315-7).
- [136] Yau J.L., Noble J., Widdowson J., Seckl J.R., Impact of adrenalectomy on 5-HT₆ and 5-HT₇ receptor gene expression in the rat hippocampus. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **1997**, 45, 182–6. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(97\)00026-0](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(97)00026-0).
- [137] Mitchell E.S., Neumaier J.F. 5-HT₆ receptors: a novel target for cognitive enhancement. *Pharmacol. Ther.* **2005**, 108, 320–33. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.05.001>.
- [138] Tsegay E.W., Demise D.G., Hailu N.A., Gufue Z.H., Serotonin Type 6 and 7 Receptors as a Novel Therapeutic Target for the Treatment of Schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat.* **2020**, 16, 2499–509. <https://doi.org/10.2147/NDT.S263424>.
- [139] Mohler E.G., Baker P.M., Gannon K.S. *in* inni, The effects of PRX-07034, a novel 5-HT₆ antagonist, on cognitive flexibility and working memory in rats. *Psychopharmacology* **2012**, 220(4), 687–96. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2518-7>.
- [140] Lacroix L.P., Dawson L.A., Hagan J.J., Heidbreder C.A., 5-HT₆ receptor antagonist SB-271046 enhances extracellular levels of monoamines in the rat medial prefrontal cortex. *Synapse (New York, NY)*. **2004**, 51(2), 158–64. <https://doi.org/10.1002/syn.10288>.
- [141] Dawson L.A., The central role of 5-HT₆ receptors in modulating brain neurochemistry. *Int Rev Neurobiol.* **2011**, 96, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00001-2>.
- [142] Schechter I., Butler P.D., Jalbrzikowski M., Pasternak R., Saperstein A.M., Javitt D.C., A new dimension of sensory dysfunction: stereopsis deficits in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* **2006**, 60(11), 1282–4. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.064>.
- [143] Heidmann D.E., Metcalf M.A., Kohen R., Hamblin M.W., Four 5-hydroxytryptamine₇ (5-HT₇) receptor isoforms in human and rat produced by alternative splicing: species differences due to altered intron-exon organization. *J. Neurochem.* **1997**, 68, 1372–81. [10.1046/j.1471-4159.1997.68041372.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68041372.x).
- [144] Hedlund P.B., Huitron-Resendiz S., Henriksen S.J., Sutcliffe J.G., 5-HT₇ receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. *Biol. Psychiatry* **2005**, 58, 831–7. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.05.012>.
- [145] Nikiforuk A., Serotonergic and cholinergic strategies as potential targets for the treatment of schizophrenia. *Curr Pharm Des.* **2016**, 22(14), 2093–116. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160127113758>.
- [146]. Hedlund P.B., The 5-HT₇ receptor and disorders of the nervous system: an overview. *Psychopharmacology* **2009**, 206(3), 345–54. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1626-0>.
- [147] Horiguchi M., Huang M., Meltzer H.Y., The role of 5-hydroxytryptamine₇ receptors in the phencyclidine-induced novel object recognition deficit in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* **2011**, 338(2), 605–14. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.180638>.
- [148] West P., Marcy V., Marino M., Schaffhauser H., Activation of the 5-HT₆ receptor attenuates long-term potentiation and facilitates GABAergic neurotransmission in rat hippocampus. *Neuroscience.* **2009**, 164(2), 692–701. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.07.061>.
- [149] Foley A.G., Hirst W.D., Gallagher H.C. *in* inni, The selective 5-HT₆ receptor antagonists SB-271046 and SB-399885 potentiate NCAM PSA immunolabeling of dentate granule cells, but not neurogenesis, in the hippocampal formation of mature Wistar rats. *Neuropharmacology.* **2008**, 54(8), 1166–74. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.03.012>.
- [150] Meffre J., Chaumont-Dubel S., Mannoury la Cour C., Loiseau F., Watson D.J., Dekeyne A., Séveno M., Rivet J.M., Gaven F., Délérís P., Hervé D., Fone K.C., Bockaert J., Millan M.J., Marin P., 5-HT₆ receptor recruitment of mTOR as a mechanism for perturbed cognition in schizophrenia. *EMBO Mol Med.* **2012**, 4(10), 1043–56. <https://doi.org/10.1002/emmm.201201410>.

- [151] Mao Q., Qin W., Zhang A. i inni, Recent advances in dopaminergic strategies for the treatment of Parkinson's disease. *Acta Pharmacol Sin* **2020**, 41 , 471–82. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0365-y>.
- [152] Belujon P., Grace A.A., Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders, *International Journal of Neuropsychopharmacology* **2017**, 20(12), 1036–46. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx056>.
- [153] McCabe C., Cowen P.J., Harmer C.J., Neural representation of reward in recovered depressed patients. *Psychopharmacology* **2009**, 205, 667, 77. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1573-9>.
- [154] D'Haenen H.A., Bossuyt A., Dopamine D2 receptors in depression measured with single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* **1994**, 35, 128–32. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)91202-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(94)91202-5).
- [155] Tye K.M., Mirzabekov J.J., Warden M.R., Ferenczi E.A., Tsai H.C., Finkelstein J., Kim S.Y., Adhikari A., Thompson K.R., Andalman A.S., Gunaydin L.A., Witten I.B., Deisseroth K. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. *Nature* **2013**, 493, 537–41. <https://doi.org/10.1038/nature11740>.
- [156] Gu Z.S., Wang W.T., Qian H., Zhou A.N., Sun H.B., Zhang Q.W, Li JQ., Synthesis and antidepressant effect of novel aralkyl piperazine and piperidine derivatives targeting SSRI/5-HT1A/5-HT7. *Bioorg Med Chem Lett.* **2019**, 29(23), 126703. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126703>.
- [157] Bojarski A.J., Kuran B., Kossakowski J., Koziół A., Jagiełło-Wójtowicz E., Chodkowska A., Synthesis and serotonin receptor activity of the arylpiperazine alkyl/propoxy derivatives of new azatricycloundecanes, *European Journal of Medicinal Chemistry* 2009, 44,1, 152–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.019>.
- [158] Perry C.K., Casey A.B., Felsing D.E., Vemula R., Zaka M., Herrington N.B., Cui M., Kellogg G.E., Canal C.E., Booth R.G., Synthesis of novel 5-substituted-2-aminotetralin analogs: 5-HT1A and 5-HT7 G protein-coupled receptor affinity, 3D-QSAR and molecular modeling. *Bioorg Med Chem.* **2020**, 1, 28(3), 115262. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115262>.
- [159] Borsini F., Evans K., Jason K., Rohde F., Alexander B., Pollentier S., Pharmacology of Flibanserin. *CNS Drug Reviews* **2002**, 8, 117–42. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2002.tb00219.x>.
- [160] Salerno L., Pittalà V., Modica M.N., Siracusa M.A., Intagliata S., Cagnotto A., Salmons M., Kurczab R., Bojarski A.J., Romeo G., Structure-activity relationships and molecular modeling studies of novel arylpiperazinylalkyl 2-benzoxazolones and 2-benzothiazolones as 5-HT(7) and 5-HT(1A) receptor ligands. *Eur J Med Chem.* 2014, 6, 85, 716–26. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.023>.
- [161] Siracusa M.A., Salerno L., Modica M.N., Pittalà V., Romeo G., Amato M.E., Nowak M., Bojarski A.J., Mereghetti I., Cagnotto A., Mennini T., Synthesis of new arylpiperazinylalkylthiobenzimidazole, benzothiazole, or benzoxazole derivatives as potent and selective 5-HT1A serotonin receptor ligands. *J Med Chem.* **2008**, 14, 51(15), 4529–38. <https://doi.org/10.1021/jm800176x>.
- [162] Résimont M., Liégeois J.F., Synthesis and in vitro binding studies of piperazine-alkyl-naphthamides: Impact of homology and sulphonamide/carboxamide bioisosteric replacement on the affinity for 5-HT1A, α 2A, D4.2, D3 and D2L receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, 20, 17, 5199–202. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.002>.
- [163] Śliwa P., Kurczab R., Kafel R., Drabczyk A., Jaśkowska J., Recognition of repulsive and attractive regions of selected serotonin receptor binding site using FMO-EDA approach. *J Mol Model.* **2019**, 6, 25(5), 114. <https://doi.org/10.1007/s00894-019-3995-6>.
- [164] Maruyama M., Horisawa T., SAR Study, Synthesis, and Biological Activity of Lurasidone Hydrochloride : A New Drug for Treating Schizophrenia. *R&D Report: SUMITOMO KAGAKU*, **2013**, 53–62.
- [165] J. Haller, T. Durand, WO **2016**-EP55480.
- [166] Kołaczkowski M., Kowalski P., Jaśkowska J. i inni, Arylsulfonamides for the treatment of CNS diseases, WO2012/035123, **2012**, 1A.

- [167] Vershinina I.A., Gornukhin O.V., Lubimova T.V., Golubchikov O.A., Semeikin A.S., 4-(8-quinolyloxy)resorcinol and 1-(8-quinolyloxy)-2-naphthol: Synthesis and sorption properties, *Russian Journal of General Chemistry* **2016**, 86(9), 2232–5. <https://doi.org/10.1134/S1070363216090383>.
- [168] Hoechst-Roussel Pharmaceuticals Inc., US5500423 **1996**, A.
- [169] Cheng Y., Prusoff W., Relationship between the inhibition constant (K_I) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22, 3099–108. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(73\)90196-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(73)90196-2).
- [170] Latacz G., Lubelska A., Jastrzębska-Więsek M., Partyka A., Marc M.A., Satała G. i inni, The 1,3,5-triazine derivatives as innovative chemical family of 5-HT₆ serotonin receptor agents with therapeutic perspectives for cognitive impairment. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 3420. <https://doi.org/10.3390/ijms20143420>.
- [171] Chen X., Murawski A., Patel K., Crespi C.L., Balimane P.V., A novel design of artificial membrane for improving the PAMPA model. *Pharm. Res. (N. Y.)* **2008**, 25(7), 1511–1520. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9517-8>.
- [172] Yin W., Zhou X.E., Yang D., de Waal P.W., Wang M., Dai A., Cai X., Huang C.Y., Liu P., Wang X., Yin Y., Liu B., Zhou Y., Wang J., Liu H., Caffrey M., Melcher K., Xu Y., Wang M.W., Xu H.E., Jiang Y., Crystal structure of the human 5-HT_{1B} serotonin receptor bound to an inverse agonist. *Cell Discov.* **2018**, 4, 12. <https://doi.org/10.1038/s41421-018-0009-2>.
- [173] Pándy-Szekeres G., Munk C., Tsonkov T.M., Mordalski S., Harpsøe K., Hauser A.S., Bojarski A.J., Gloriam D.E., GPCRdb in 2018: adding GPCR structure models and ligands. *Nucl Acids Res.* **2017**, 4, 46, 440–6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1109>.
- [174] Xu P., Huang S., Zhang H., Mao C., Zhou X.E., Cheng X., Simon I.A., Shen D.D., Yen H.Y., Robinson C.V., Harpsøe K., Svensson B., Guo J., Jiang H., Gloriam D.E., Melcher K., Jiang Y., Zhang Y., Xu H.E., Structural insights into the lipid and ligand regulation of serotonin receptors, *Nature* **2021**, 592, 469–73. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03376-8>.
- [175] Peng Y., McCorvy J.D., Harpsøe K., Lansu K., Yuan S., Popov P., Qu L., Pu M., Che T., Nikolajsen L.F., Huang X.P., Wu Y., Shen L., Bjørn-Yoshimoto W.E., Ding K. i inni, 5-HT_{2C} Receptor Structures Reveal the Structural Basis of GPCR Polypharmacology. *Cell.* **2018**, 8, 172, 719–30. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.001>.
- [176] Kimura K.T., Asada H., Inoue A., Kadji F.M.N., Im D., Mori C., Arakawa T., Hirata K., Nomura Y., Nomura N., Aoki J., Iwata S., Shimamura T., Structures of the 5-HT_{2A} receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2019**, 26, 121–8. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0180-z>.
- [177] Wang S., Che T., Levit A., Shoichet B.K., Wacker D., Roth B.L., Structure of the D₂ dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone. *Nature* **2018**, 555, 269–73. <https://doi.org/10.1038/nature25758>.
- [178] García-Nafria J., Nehmé R., Edwards P.C., Tate C.G., Cryo-EM structure of the serotonin 5-HT_{1B} receptor coupled to heterotrimeric G_o. *Nature* **2018**, 558, 620–3. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0241-9>.
- [179] Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., Studer G., Tauriello G., Gumienny R., Heer F.T., de Beer T.A.P., Rempfer C., Bordoli L., Lepore R., Schwede T., SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucl Acids Res.* **2018**, 46, 296–303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>.
- [180] The UniProt Consortium. *Nucl Acids Res.* **2019**, 47, 506–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.
- [181] Benkert P., Biasini M., Schwede T., Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics* **2011**, 27, 343–50. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq662>.
- [182] Gaulton A., Bellis L.J., Bento A.P., Chambers J., Davies M., Hersey A., Light Y., McGlinchey S., Michalovich D., Al-Lazikani B., Overington J.P., ChEMBL: A Large-Scale Bioactivity Database for Drug Discovery. *Nucl Acids Res.* **2012**, 40. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr777>.

- [183] Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Comput Chem.* **2009**, 16, 2785–91. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
- [184] Friesner R.A., Murphy R.B., Repasky M.P., Frye L.L., Greenwood J.R., Halgren T.A., Sanschagrin P.C., Mainz D.T., Extra precision glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. *J Med Chem.* **2006**, 49, 6177–96. <https://doi.org/10.1021/jm051256o>.
- [185] Bochevarov A.D., Harder E., Hughes T.F., Greenwood J.R., Braden D.A., Philipp D.M., Rinaldo D., Halls M.D., Zhang J., Friesner R.A., Jaguar: a highperformance quantum chemistry software program with strengths in life and materials sciences. *Int. J. Quant. Chem.* **2013**, 113(18), 2110–42. <https://doi.org/10.1002/qua.24481>.
- [186] Frisch F.M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. i inni., *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, **2016**.
- [187] Hermann K., Pettersson, L.G.M., Casida, M.E. i inni, StoBe-deMon, deMon Software: Stockholm, Berlin, **2005**.
- [189] Parr R.G., Yang W., Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity. *J Am Chem Soc.* **1984**, 106, 4049–50. <https://doi.org/10.1021/ja00326a036>.
- [190] Genheden S., Ryde U., The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expet Opin. Drug Discov.* **2015**, 10(5), 449–61. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>.
- [191] Li J., Abel R., Zhu K., Cao Y., Zhao S., Friesner R.A., The VSGB 2.0 model: a next generation energy model for high resolution protein structure modeling. *Proteins* **2011**, 79(10), 2794–812. <https://doi.org/10.1002/prot.23106>.
- [192] Fedorov D.G., Kitaura K., Pair interaction energy decomposition analysis. *J. Comput. Chem.* **2007**, 28, 222–37. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.7b12000>.
- [193] Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kale L., Schulten K., Scalable molecular dynamics with NAMD. *J. Comput. Chem.* **2005**, 26 1781–802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>.
- [194] Brooks B.R., Brooks C.L., MacKerell Jr. A.D., Nilsson L., Petrella R.J., Roux B., Won Y., Archontis G., Bartels C., Boresch S., Caflisch A. i inni, CHARMM: the biomolecular simulation program. *J. Comput. Chem.* **2009**, 30, 1545–614. <https://doi.org/10.1002/jcc.21287>.
- [195] Humphrey W., Dalke A., Schulten K., VMDdvisual molecular dynamics. Journal of molecular graphics. *J. Mol. Graph.* **1996**, 14, 33–8. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- [196] O'Boyle N.M., Open Babel, An open chemical toolbox. *Cheminform.* **2011**, 3, 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>.
- [197] Daina A., Michielin O., Zoete V., SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [198] Baell J.B., Holloway G.A., New substructure filters for removal of Pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2719–40. <https://doi.org/10.1021/jm901137j>.
- [199] Daina A., Zoete V., A BOILED-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* **2016**, 11(11), 1117–21. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>.
- [200] Warszycki D., Rueda M., Mordalski S., Kristiansen K., Satała G., Rataj K., Chilmonczyk Z., Sylte I., Abagyan R., Bojarski A.J., From Homology Models to a Set of Predictive Binding Pockets—a 5-HT_{1A} Receptor Case Study. *J Chem Inf Model.* **2017**, 27, 57(2), 311–21. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00263>.
- [201] Kołaczowski M., Marcinkowska M., Bucki A., Pawłowski M., Mitka K., Jaśkowska J., Kowalski P., Kazek G., Siwek A., Wasik A., Wesołowska A., Mierzejewski P., Bienkowski P., Novel Arylsulfonamide Derivatives with 5-HT₆/5-HT₇ Receptor Antagonism Targeting Behavioral and

Tabela 10. Powiązanie nazw ligandów w pracy oraz w publikacjach D1-D5.

Nazwa w rozprawie	Nazwa w publikacji	Nazwa w rozprawie	Nazwa w publikacji
5.D1.a	5i	5.D3.e	43)
5.D1.b	5j	5.D3.f	44)
5.D1.c	5k	5.D4.a	1b
5.D1.d	5l	5.D4.b	1c
5.D1.e	5m	5.D4.c	1d
5.D1.f	5n	5.D4.d	1e
5.D1.g	5o	5.D4.e	1f
5.D1.h	5p	5.D4.f	1g
5.D1.i	5r	5.D4.g	1a
5.D1.j	5s	5.D4.h	1i
5.D1.k	5a	5.D4.i	1m
5.D1.l	5b	5.D4.j	1n
5.D1.m	5c	5.D4.k	1o
5.D1.n	5d	5.D4.l	1p
5.D1.o	5e	5.D4.m	1q
5.D1.p	5f	5.D4.n	1r
5.D1.q	5g	5.D4.o	1h
5.D1.r	5h	5.D4.p	1l
5.D2.a	5.1a	5.D4.q	1j
5.D2.b	5.1b	5.D4.r	1k
5.D2.c	5.1c	5.D4.s	1s
5.D2.d	5.1d	5.D4.t	1t
5.D2.e	5.1e	5.D4.u	1w
5.D2.f	5.1f	5.D4.v	1v
5.D2.g	5.1g	5.D4.w	1u
5.D2.h	5.2a	5.D5.a	6a
5.D2.i	5.2b	5.D5.b	6b
5.D2.j	5.2c	5.D5.c	6c
5.D2.k	5.3a	5.D5.d	6d
5.D2.l	5.3b	5.D5.e	6e
5.D2.m	5.3c	5.D5.f	6j
5.D2.n	5.3d	5.D5.g	6k
5.D2.o	5.3e	5.D5.h	6l
5.D2.p	5.3f	5.D5.i	6m
5.D2.q	5.4	5.D5.j	6n
5.D3.a	19)	5.D5.k	6g
5.D3.b	38)	5.D5.l	6h
5.D3.c	39)	5.D5.m	6l
5.D3.d	40)	5.D5.n	6f

7. Pełna treść publikacji i patentu, objętych treścią rozprawy doktorskiej

Publikacja D1

Zaręba P., Jaśkowska J., Czekaj I., Satała G., *Design, synthesis and molecular modelling of new bulky Fananserin derivatives with altered pharmacological profile as potential antidepressants*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2019**, 27(15), 3396–407, (IF = 3.073)*.



Design, synthesis and molecular modelling of new bulky Fananserin derivatives with altered pharmacological profile as potential antidepressants



Przemysław Zaręba^{a,*}, Jolanta Jaśkowska^a, Izabela Czekaj^a, Grzegorz Satała^b

^a Faculty of Chemical Engineering and Technology, Institute of Organic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, 24 Warszawska Street, Cracow 31-155, Poland

^b Department of Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacology – Polish Academy of Sciences, 12 Smętna Street, Cracow 31-343, Poland

ARTICLE INFO

Keywords:

Serotonin receptors
Microwave
Fananserin
Fukui
Depression

ABSTRACT

It is now known that many neurotransmitter systems are responsible for diseases of the central nervous system (CNS). One of the most common CNS disease is depression. Considering that in the treatment and the genesis of depression, the most important are the serotonin receptors from 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ and 5-HT₇ groups, and dopamine D₂R this article describes searching for group of new ligands for mentioned receptors. In the searching for potentially useful compound, we decided to start from the structure of well-known Fananserin. We tried to developed new derivatives, with changed profile of activity compared to Fananserin. Literature analysis and virtual screening emerged group of halogenated long-chain arylpiperazines derivatives of 1,8 naphthosultam/lactam with hexyl carbon chain to synthesis. The compounds obtaining method was developed with a microwave assisted synthesis. Reactions were carried out in acetonitrile, water or in solvent-free conditions. The obtained compounds were tested for their affinity for the serotonin receptors mentioned above. The work managed to obtain compounds acting on selected serotonin receptors, including multifunctional 5-HT_{1A}/5-HT₇/D₂ ligand **5k**, dual 5-HT_{1A}/D₂ ligand **5j** and selective 5-HT_{1A} ligands **5r** and **5c**. The SAR analysis showed a visible dependence of affinity for the 5-HT₆ receptors from structure of ligands. This relationship was discussed using molecular docking methods. A conformal analysis was also performed for selected ligands and the Fukui indexes were calculated using the DFT (B3LYP/6-311 + G (d,p) level of theory) methods. The conducted research and analysis using molecular docking methods allows for selecting further pathways of structural modifications in the design of new ligands for serotonin receptors belonging to the group mentioned. What is more, conducted research show the potential using of Fukui indices to predict the biological activity of new molecules.

1. Introduction

The proper functioning of the central nervous system (CNS) depends on the appropriate level of a number of neurotransmitters. One of the common dysfunction of the CNS is depression, which occurrence is connected with disturbances in the function of serotonin and dopamine systems.^{1–9} An important role in the pathogenesis and treatment of depression and anxiety is played by 5-HT_{1A} receptors. A reduced number of postsynaptic 5-HT_{1A}R can be observed in the prefrontal and temporal cerebral cortex in people with depression.^{1,2} There are some literature reports about the new applications of 5-HT_{1A} ligands, for example in the treatment of prostate cancer, and gastrointestinal disease.² Moreover, it has been demonstrated that dual 5-HT_{1A}R/D₂R ligands have high efficacy in the treatment of depression.¹⁰ There is also talk of a beneficial antidepressant or anxiolytic effects of another dual

ligands, including antagonists of dual 5-HT_{1A}/5-HT₇ receptors.³ The effect of some multifunctional antipsychotics, including the new antipsychotic drug Lurasidone used, inter alia, in the treatment of bipolar disorder is mainly explained by affinity towards the D₂/5-HT₇, 5-HT_{1A} receptors.⁴ Additionally, the studies published in recent years have also shown, that active ligands of 5-HT₇R may play a significant therapeutic role in the treatment of depression and insomnia because of their contribution in the sleep regulation and shortening the REM sleep period, which affects the elimination of a depressive mood.^{4,5} Many of the anti-depressants introduced on the market in recent years act as ligands of previous mentioned receptors.^{11–13} Literature data also has indicated the high importance of 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptors in the fight against depression.^{6,7} In view of the above, it is justified to look for new antidepressants acting on the mentioned receptors, especially 5-HT_{1A}R, D₂R, 5-HT₇R.

* Corresponding author.

E-mail address: pzareba@indy.chemia.pk.edu.pl (P. Zaręba).

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.06.028>

Received 9 May 2019; Received in revised form 17 June 2019; Accepted 18 June 2019

Available online 21 June 2019

0968-0896/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

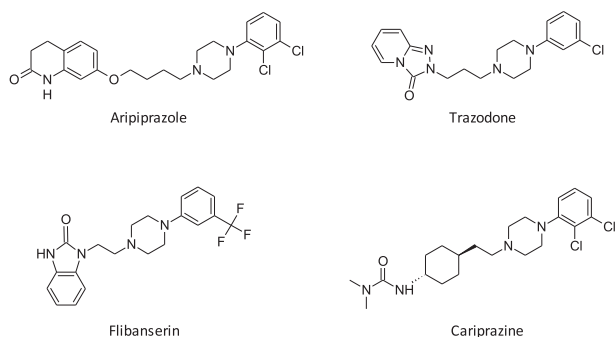


Fig. 1. Halogen-substituted LCAP, currently available on the drug market: Aripiprazole, Trazodone, Flibanserin, and Cariprazine.

To date, many drugs with antidepressant effects have been developed. The long-chain arylpiperazine derivatives (LCAP)^{13,14} consisting of an arylpiperazine linked by a carbon chain (mainly 3–4 carbon atoms) with a terminally located pharmacophore group (for examples imides, amides) seem to be of particular interest. A variety of LCAP having halogen substituents in the arylpiperazine ring are known. These include, among others, Aripiprazole,¹⁵ Trazodone¹⁵, Flibanserin¹⁶ and Cariprazine¹⁷ (Fig. 1).

These compounds are characterized by high affinity for selected serotonin receptors (5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R, 5-HT₇R) and dopamine receptors D₂. What is more, these compounds show a high efficiency in the treatment of depression or psychosis.

An interesting compound, belonging to the LCAP is Fananserin (Fig. 2), which is 4-fluorophenyl arylpiperazine derivative, connected with 1,8-naphthosultam moiety by propyl carbon chain.

This compound was tested for potential use as an antipsychotic, acting mainly for 5HT_{2A}R⁸ and the dopamine D₄R¹⁸ but without blocking other dopamine receptors such as D₂R,⁸ however, this ligand did not pass the clinical trials (Phase 1).¹⁸ An interesting issue seems to be the potential use of Fananserin derivatives with altered pharmacological profile (from 5-HT_{2A}R/D₄R activity to 5-HT_{1A}R/D₂R/5-HT₇R activity) in the treatment of depression. Changes in the activity profile of new Fananserin derivatives can be made using the SAR studies for LCAP published so far,^{8,19–24} as well as using the virtual screening method. There is a publication describing an increase in the affinity of Fananserin derivatives for D₂ receptors as the alkyl chain length increases (Table 1). This publication shows only ligands with C < 5 carbon chain, however, as we have shown before, it may be beneficial to use even longer carbon links.²⁰ In an earlier publication we showed that changing the length of the alkyl chain can change the activity profile of the ligand, in some cases from 5-HT_{2A} to 5-HT_{1A}.²⁰ The literature also published other compounds belonging to LCAP having a fragment of 1,8-naphthosultam or 1,8-naphtholactam in the terminal part. There have been reports in the literature on the moderate affinity of this type of compounds for 5-HT₇ receptors (Table 2).^{8,22} The optimal carbon chain length for derivatives of naphthosultam is C5–C6, which also points at the potential benefits of alkyl chain extension. Changing of a type and position of substituent in arylpiperazine can affect the affinity for the 5-HT₇ receptor, as shown in earlier publication (Table 3).²⁴

LCAP derivatives of 1,8-naphthosultam/lactam, described in the literature were prepared by two two-step procedures, including *N*-

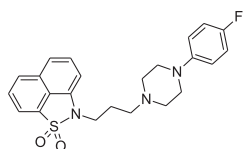


Fig. 2. Structure of Fananserin.

Table 1
Affinity of Fananserin derivatives for the tested receptors (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}), K_i [nM].⁸

n	R	K _i [nM]		
		D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}
3	4-F ^a	> 1000	70	0,06
3	3-F	> 1000	–	18
3	2-F	> 1000	–	3
3	4-Cl	> 1000	–	5
3	4-Br	> 1000	–	7
4	4-F	300	–	3,7

* Fananserin.⁸

Table 2
Affinity of Fananserin derivatives for the tested receptor 5-HT₇, K_i [nM].^{8,22}

n	R	5-HT ₇ K _i [nM]
4	H	1000
5	2-OCH ₃	200
	H	200
6	2-OCH ₃	251
	H	> 1000
	2-OCH ₃	200

Table 3
Affinity of indolone derivatives for the tested receptor 5-HT₇, K_i [nM].²⁴

Ar	5-HT ₇ K _i [nM]
2-Methoxyphenyl	5
4-Methoxyphenyl	20
2-Chlorophenyl	12
2-Trifluoromethylphenyl	74
2,6-Dimethylphenyl	147
Pyridyl	2

alkylation of arylpiperazine with dibromoalkanes, followed by condensation of product with 1,8-naphthosultam/lactam. The second method consists of *N*-alkylation of 1,8-naphthosultam/lactam followed by condensation with the selected arylpiperazine.^{21–24} Reactions were carried out in the presence of NaH. The mentioned method is characterized by a long reaction time of 2–72 h,^{21–24} the need of use a large amount of toxic solvents, such as acetonitrile or dimethylformamide (DMF), and the atmosphere of an inert gas. The use of these conditions is troublesome both in the synthesis of commercially available drugs on a large scale and in the synthesis of large libraries of bioactive compounds, in milligram quantities. Numerous literature reports have mentioned the possibility of the synthesis of LCAP under milder conditions, with the use of NaOH^{25,26} or K₂CO₃.^{27–29} *N*-alkylation reactions of arylpiperazines can also be carried out in the solid phase in the presence of phase transfer catalysts (PTC), which allows to exclude large amounts of toxic solvents.^{28,30} Additional benefits, like the

increased efficiency and shortening of the reaction time, result in the conduct of the synthesis in the presence of microwave radiation (MW)^{25,28,30,31} using PTC, such as: 1,8-Diazabicyclo(5.4.0)undek-7-en (DBU)²⁸ or *para*-toluenesulphonic acid (PTSA).³²

Bearing in mind the importance of the D₂R, 5-HT_{1A}R and 5-HT₇R, we decided to design Fananserine derivatives with an altered activity profile compared to the reference compound (Fananserine). Structure *hit* was designed based on previously published structure–activity relationship (SAR) studies for LCAP, and virtual screening. What's more, due to the difficult and harmful to the environment method of synthesis, we decided to develop a new, ecological method of synthesis, using reactions carried out in the field of microwave radiation. The development of a fast and ecological method for synthesis will allow obtaining large libraries of active compounds in a relatively short time, with a reduced negative impact on the natural environment.

2. Results and discussion

The aim of the study was to synthesize new LCAP derivatives of Fananserine as new ligands for the serotonin and dopamine receptors D₂, 5-HT_{1A} and 5-HT₇ with potential use as antidepressant. The *hit* structure was selected based on the virtual screening, and our earlier research.²⁰ In addition, a new ecological method of synthesis was developed, some SAR were discussed, using molecular docking methods and analysis of the properties associated with the distribution of electron density in the structure of the molecule.

2.1. Virtual-screening

The structure of the *hit* compound was selected based on the analysis of SAR studies available in the literature. The selected compound was expected to have high affinity for the previous mentioned receptors. Fananserine has moderate affinity for 5-HT_{1A}R, in the absence of affinity for D₂R.⁸ 5-HT₇R binding constant has not known. Looking for the *hit* structure, we were focused on increasing the affinity for the D₂R in relation to Fananserine. Taking into account the previously published SAR results,^{8,19–22} we decided to elongate the carbon linker and change the position of fluorine substituent in the arylpiperazine ring or change fluorine to another halogen. In order to select the structure of the leading compound (*hit*), a virtual screening was performed, (D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT₇R), using the homology models of 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors³³ and the crystal structure of the D₂R.³⁴ The key parameter in the assessment of the potential activity of the ligands was the ability to form a hydrogen bond between the protonated basic nitrogen atom in the piperazine ring and the carboxylic acid group of Asp 3.32, but also similarity of binding modes with references compounds. This is a key interaction in the context of affinity for the aminergic receptors.³⁵ The most advantageous binding modes shown ligands with long alkyl chain, having a fluorine substituent at position 2 or 3 in the arylpiperazine. A part of the results obtained were shown in the Table 4 and Fig. 3 In the case of 5-HT_{1A}R, all docked ligands demonstrated the ability to form a hydrogen bond with Asp 116. Interestingly, the length of the alkyl chain had a significant effect on the ability to form mentioned hydrogen bond (Asp 3.32) in the case of D₂ receptors. Only the compounds with the hexyl carbon chain assumed the conformation in which mentioned hydrogen bond was observed. In the case of 5-HT₇ receptor, the possibility to form hydrogen bond with Asp 3.32 was affected not only by the length of the alkyl chain, but also by the position of the substituent in the arylpiperazine. Only compounds with hexyl carbon chain and the substituent at the 2 position in the arylpiperazine took the preferred active conformations. Considering the above results, a group of 1,8-naphthosultam derivatives having a hexyl carbon chain attached to the arylpiperazine was selected for the synthesis. 2-{6-[4-(2-Fluorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1.8-cd][1,2]thiazole-1a(2H)-dione, was selected as the *hit* compound. However, as part of the conducted research, it was decided to examine also the effect of changing the aryl

Table 4

Effect of virtual-screening for D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT₇R – distances [Å] between key amino acid residue and the structural elements of chosen ligands.

No.	n	R	Receptor and residue number/distance [Å]		
			5-HT _{1A} Asp 116	D ₂ Asp 114	5-HT ₇ Asp 162
1	4	4-F	2.69	–	–
2	5	4-F	2.84	–	–
3	6	4-F	2.82	3.18	–
4	6	2-F	2.75	3.26	2.99
5	6	3-F	2.85	–	–

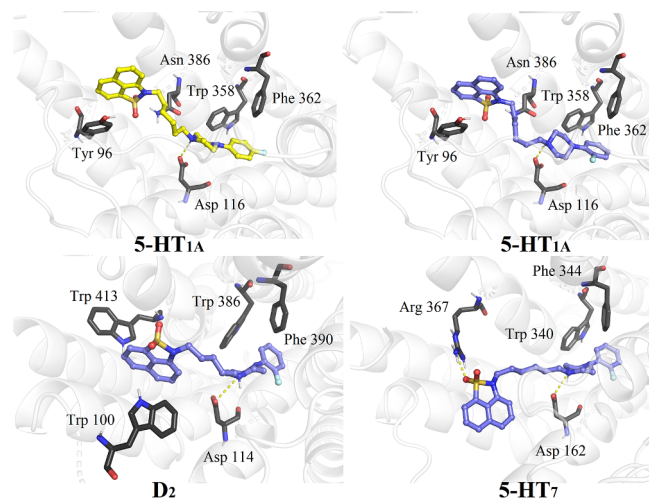
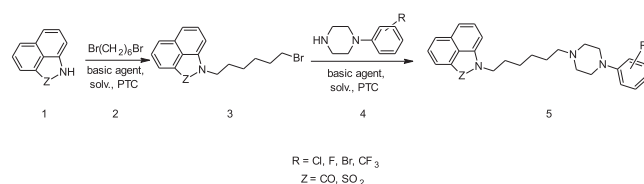


Fig. 3. Binding mode of the compounds tested in virtual screening – compounds no. 3 (yellow) for 5-HT_{1A} and compounds no. 4 (blue) for D₂R, 5-HT_{1A}R, 5-HT₇R. Distances between key amino acid residues and ligand structural parts are shown in Table 4. Yellow lines represent H-bonds with polar residues. In the ligands structures yellow is sulfur, red is oxygen, dark blue is nitrogen, bright blue is fluorine.

substituent in arylpiperazine and the effect of converting the cyclic sulfonamide group to the amide group at the naphthyl ring (1,8-naphthosultam to 1,8-naphtholactam).

2.2. Chemistry

Based on previously published publications on LCAP from the group of 1,8-naphthosultam derivatives, a two-step synthesis path shown in Scheme 1 was proposed. During the development of the synthesis method, it was decided to use reactions supported by a microwave radiation field. The reaction time was selected based on the analysis of the progress of the reaction by thin-layer chromatography (TLC) and HPLC. The molar ratio of reactants (reactants 2:1 = 3, 3:4 = 1) was



Scheme 1. Preparation of ligands 5 in the present of microwave radiation, basic agent = K₂CO₃/NaOH, PTC = TBAB/DABCO, solv = ACN/DMF/H₂O.

chosen considering the potential by-products formation and literature data.^{20–32}

The research began with the selection of optimal synthesis conditions. The ligands were obtained by *N*-alkylation of 1,8-naphthosultam (**1a**)/lactam (**1b**) with 1,6-dibromohexane (**2**) (used in a three-fold molar excess, due to elimination of the possibility of by-products formation), followed by the condensation of the resulting 1-(6-bromohexyl)-1,8-naphthosultam (**3a**)/lactam (**3b**) with the appropriate arylpiperazine (**4**) (Scheme 1). The syntheses were carried out in a CEM Discover microwave reactor using PTC. The appropriate basic agent (3 mol eq.), PTC and solvent were selected. The progress of the reaction was pre-controlled by TLC (measured every 5 s in the first step, every 10 s in the second step). In the first stage, the reactions were terminated, indicating complete conversion of one of the reagents (**1**). In the second step, the reactions were stopped, observing the lack of further progress of the reaction, as confirmed by HPLC. The reaction yields for each product were calculated based on the weight of the obtained pure compounds.

The first stage, i.e. the *N*-alkylation reaction of 1,8-naphthosultam (**1a**)/lactam (**1b**) with 1,6-dibromohexane (**2**) was carried out with using tetra-*n*-butylammonium bromide (TBAB) or 1,4-diazabicyclo [2.2.2]octane (DABCO) as the PTC. The synthesis was carried out in the presence of K₂CO₃ or NaOH, with a small addition (2–3 drops) of acetonitrile (ACN), H₂O, DMF or in a solvent-free condition.

The best results were obtained using K₂CO₃ as a basic agent with a small addition of acetonitrile (Table 5, entries 2;8). Water and DMF turned out to be worse solvents. A slightly lower yield was obtained by conducting reactions in a solvent-free condition (Table 5, entries 4;9). The use of NaOH did not improve the efficiency of the reaction (Table 5, entries 1;7), which excludes its use due to aggressive properties and partial charring of the reaction mixture.

The condensation reaction of 1-(6-bromohexyl)-1,8-naphthosultam (**3a**)/lactam (**3b**) with the corresponding arylpiperazine (**4**) was carried out using TBAB as the PTC. This compound was chosen because of best properties in the previous stage. The synthesis was carried out using K₂CO₃ with a small addition of acetonitrile, H₂O, DMF or in a solvent-free condition.

As with the previous step, the highest yield was obtained by reacting with a small addition of acetonitrile with K₂CO₃ as the basic agent (Table 6, entry 1). When carrying out the reaction in a solvent-free condition, a slight decrease in performance was observed (Table 6, entry 2). Interestingly, the yield obtained in solvent-free conditions was higher compared to reactions with the addition of DMF or water.

In both stages, the optimal method seemed to be the synthesis in the field of microwave radiation, using TBAB as the PTC, K₂CO₃ as a basic agent, and with a small addition of acetonitrile. Using the aforementioned method, a group of ligands with selected aryl substituents on the piperazine was obtained. In the case of 1,8-naphthosultam derivatives, higher yields (46–89%) than in 1,8-naphtholactam (yield = 18–61%) compounds were observed.

Table 5

The first stage of the synthesis in the CEM Discover microwave reactor.

No.	Z	Basic environment	PTC	Solvent	Reaction time [s]	Yield [%]
1	SO ₂	NaOH	TBAB	ACN	10	67
2	SO ₂	K ₂ CO ₃	TBAB	ACN	15	67
3	SO ₂	K ₂ CO ₃	TBAB	DMF	15	42
4	SO ₂	K ₂ CO ₃	TBAB	–	15	58
5	SO ₂	K ₂ CO ₃	TBAB	H ₂ O	15	51
6	SO ₂	K ₂ CO ₃	DABCO	ACN	15	40
7	CO	NaOH	TBAB	ACN	10	43
8	CO	K ₂ CO ₃	TBAB	ACN	15	78
9	CO	K ₂ CO ₃	TBAB	–	15	49

Table 6

The second stage of the synthesis in the CEM Discover microwave reactor. Reactions on the example of a compound in which R = 2F, Z = SO₂.

No.	Basic environment	Solvent	Reaction time [s]	Yield [%]
1	K ₂ CO ₃	ACN	50	71
2	K ₂ CO ₃	–	50	62
3	K ₂ CO ₃	H ₂ O	50	57
4	K ₂ CO ₃	DMF	50	34

2.3. Biological *in vitro* studies

For the obtained combinations, the affinity for selected receptors in *in vitro* tests was examined by displacing the radioligand with the hydrochloride of the test compound from stable expression of human serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT_{7b} and dopamine D_{2L} receptors. The obtained results are collected in the Table 7. The K_i affinity constant was calculated from the IC₅₀ using the Cheng-Prusoff equation.³⁶

The *hit* compound **5a** showed a relatively high affinity for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors as was predicted (compared to Fananserin). This compound was characterized by medium affinity for the 5-HT₇. To find a compound with high activity towards the 5-HT_{1A}, D₂ and 5-HT₇ receptors, a group of analogs of compound **5a**, having selected halogen substituents on the arylpiperazine (**5b–5h**) were tested. In addition, their lactam analogues (**5i–5s**) were also tested.

Changing the fluorine substituent to larger one (Cl, CF₃) caused a decrease in affinity for the 5-HT_{1A} and D₂ receptors (**5b–5h**). The only exceptions are two compounds possessing chlorine in position 3 of arylpiperazine moiety (**5c**, **5f**), which were characterized by a higher affinity for said receptors than the *hit* **5a** compound. Compounds having a substituent in position 3 were characterized by the highest affinity for 5-HT₆ receptors, however, it should be noted that the highest affinity for 5-HT₆ receptors have **5e**, **5f**, having two Cl substituents. For the 5-HT₇ receptor activity, the substitution of arylpiperazine at position 2 proved to be the most beneficial.

In the case of the *hit* **5a** structure, the change of the sultam to lactam (**5i**) group resulted in a decrease in activity for all receptors, except for 5-HT_{1A}. Interestingly, in the case of the remaining compounds, there was a tendency to a decrease in activity relative to the 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptors (with the exception of compound **5k**, which is quite interesting) with a simultaneous increase in affinity for 5-HT_{1A} receptors and in most cases to D₂.

In the lactam derivatives group, substitution of arylpiperazine in position 3 resulted in an increase in affinity for 5-HT_{1A} receptors. Compounds having substituent only in position 3 showed the highest affinity for 5-HT₇ receptors. Occupation of position 2 and/or 3 by the chlorine atom was desirable in the context of increasing activity at 5-HT_{2A} receptors. Most of the compounds showed a relatively high affinity for the 5-HT_{1A} and D₂ receptors in comparison to earlier Fananserin derivatives having shorter chains.⁸ Some compounds also had higher affinity for 5-HT₇ receptors compared to the reference compounds.²²

The aim of the research was to find a ligand acting on the 5-HT_{1A}, D₂ and 5-HT₇ receptors. In this context, the most preferred properties has compound **5k**, a ligand of the all mentioned receptors. Furthermore, the compound exhibits moderate activity for the 5-HT₆ receptors. Its activity on the 5-HT₆ receptor is higher than the sultam analog, which is relatively rare, considering the importance of the arylsulfone group in the context of 5-HT₆ receptor activity. Compounds **5j** – dual ligand of the 5-HT_{1A}/D₂ receptor, **5r** and **5c** – a selective 5-HT_{1A}R ligands have also interesting properties.

2.4. Molecular modelling

Most of the tested compounds show a 5-HT_{1A} or/and D₂ receptor ligand profile. However, there were significant correlations between

Table 7
Affinity for the tested receptors, K_i [nM].

No.	Structure	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5a		90 ± 7	81 ± 16	376 ± 44	710 ± 163	203 ± 31
5b		142 ± 8	106 ± 7	548 ± 122	507 ± 106	286 ± 38
5c		121 ± 19	46 ± 11	322 ± 27	624 ± 81	432 ± 43
5d		336 ± 65	197 ± 34	147 ± 18	433 ± 43	280 ± 58
5e		220 ± 39	149 ± 22	177 ± 19	237 ± 33	140 ± 12
5f		254 ± 50	79 ± 8	251 ± 54	225 ± 20	404 ± 99
5g		304 ± 56	132 ± 30	596 ± 84	374 ± 54	167 ± 24
5h		927 ± 211	989 ± 199	1526 ± 347	937 ± 97	5996 ± 1249
5i		320 ± 51	64 ± 3	524 ± 74	1726 ± 260	420 ± 76
5j		58 ± 9	66 ± 15	540 ± 112	1681 ± 335	336 ± 26
5k		75 ± 14	43 ± 8	429 ± 73	480 ± 29	53 ± 6
5l		197 ± 33	181 ± 27	423 ± 59	689 ± 85	124 ± 15
5m		94 ± 12	122 ± 19	406 ± 38	918 ± 63	5095 ± 770
5n		246 ± 42	161 ± 21	493 ± 32	1860 ± 277	166 ± 34
5o		204 ± 17	688 ± 76	1490 ± 253	3187 ± 771	1833 ± 391
5p		161 ± 13	599 ± 116	1766 ± 274	1128 ± 241	17780 ± 4714
5r		496 ± 67	54 ± 9	773 ± 96	2214 ± 382	291 ± 35
5s		945 ± 264	536 ± 81	4354 ± 826	2045 ± 260	48960 ± 11085

changes in ligand structure and affinity for 5-HT₆R. The *in vitro* bioassays showed a significant increase in affinity for the 5-HT₆ receptors of the sultam-containing ligands (**5a–5h**) compared to their lactam analogues (**5i–5r**). The only exception are ligands containing in their structure the 3-chlorophenylpiperazine moiety **5k** and **5c**. Intrigued by the increase in affinity for 5-HT₆ receptors of sultam derivatives and the exception, which is compound **5k**, we performed conformational analysis with using molecular docking methods in the protein ligand system. Selected structures **5m**, **5c** and **5k** were docked using the homology model of 5-HT₆ receptor. The experiments were carried out

using the Autodock Vina software, setting the grid box to the Asp 106 carboxylic group.

The results show a similar arrangement of the tested ligands in the receptor binding pocket (Fig. 4). Interestingly, conformation is in the opposite of the data presented in some publications. Arylpiperazines part is directed in the other side.³⁷ Despite moderate or low activity all three docked structures demonstrated the ability to form a hydrogen bond (salt bridge 3.0–3.1 Å) between the positive ionization center in the ligand structure (basic nitrogen in the arylpiperazine ring) and the carboxyl group Asp 106. This is the key for the activity of aminergic

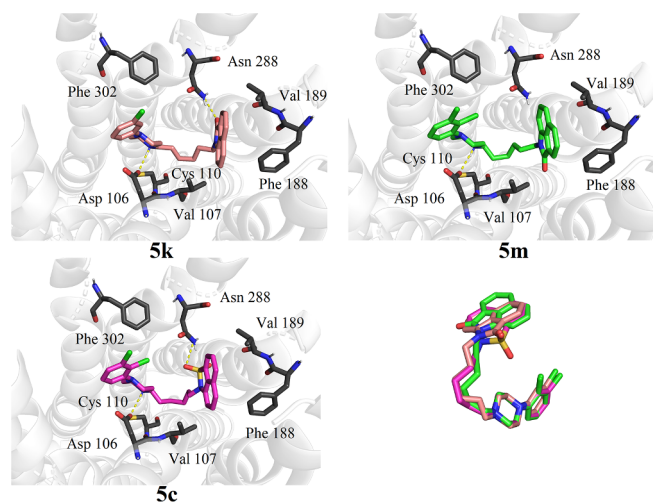


Fig. 4. Binding mode of the compounds **5k**, **5m**, **5c** to 5-HT₆R. Distances between amino acid moieties and ligand structural parts are shown in [Tables 8](#). Yellow lines represent H-bonds with polar residues. In the structures yellow is sulfur, red is oxygen, blue is nitrogen, green is chlorine.

Table 8

Distances [Å] between key amino acid residue of 5-HT₆ and the structural elements of ligands. Conformations from ligand-receptor (L-R) complexes, determined in Autodock Vina.

	A	B	C	D	E
	Phe188 (CH- π)	Asn288 (H-bd)	Cys110 (CH- π)	Asp106 (H-bd)	Phe302 (CH- π)
5c	3.5	2.8	3.3	3.0	4.0
5m	3.2	–	3.9	3.1	4.1
5k	3.6	2.8	3.6	3.0	4.1

receptor ligands.³⁵ Interestingly, in the case of sultam derivatives, the active conformations demonstrated the ability to form a hydrogen bond between the sulfonamide group and Asn 288 (2.8 Å) ([Table 8](#)). The occurrence of this type of binding was not observed in the case of lactam derivatives due to the opposite orientation of the amide group as compared to the sulfonamide group in sultams. An exception here was compound **5k**, which showed the similar arrangement of the amide group compare to the sulfonamide group in sultams. The increase in activity towards 5-HT₆ receptors in the case of compounds having a naphthalenesulfonamide fragment in their structure can be explained also by the possibility of forming intramolecular hydrogen bonds between the sulfonamide group and the naphthyl ring, which is in accordance with the earlier research.³⁸ All the more surprising is the relatively high affinity of **5k** for 5-HT₆ receptors.

For the three selected ligands **5k**, **5m**, **5c** a conformational analysis was also performed, with using DFT methods (Gaussian 09 at the B3LYP/6-311+G (d,p) level of theory). Detailed procedures are described in the experimental part. For each ligand, 9 different conformations were optimized ([Figs. 5–7](#)), after which the lowest energy conformations were selected. Input conformations were selected based on a conformational analysis carried out in the MarvinSketch software.

Interestingly, in the case of compounds **5k** and **5c**, the lowest energy conformations **5k-1** and **5c-2** were analogous ([Table 9](#)), having regard to chlorine orientation in arylpiperazine. The compounds have different plane of arrangement of the aryl group in the ratio of the piperazine ring, but in both cases there was the same orientation of the substituents in the aryl ring (“right-up orientation” **5k-1** and “right-down

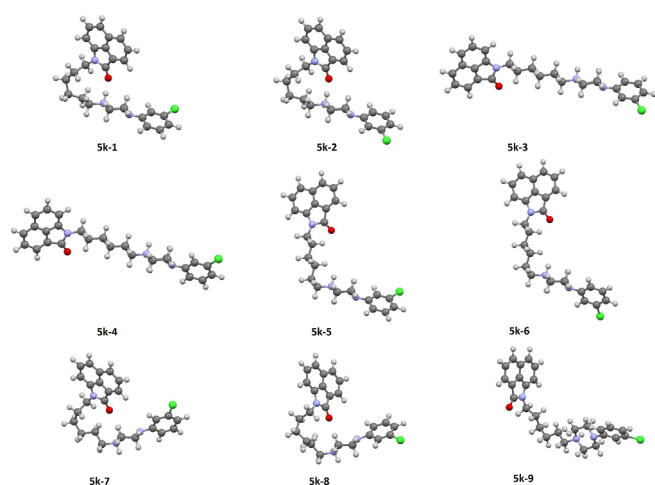


Fig. 5. DFT-optimized conformations of **5k** (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory). In green-chlorine, blue-nitrogen, red-oxygen, grey-carbon, white-hydrogen.

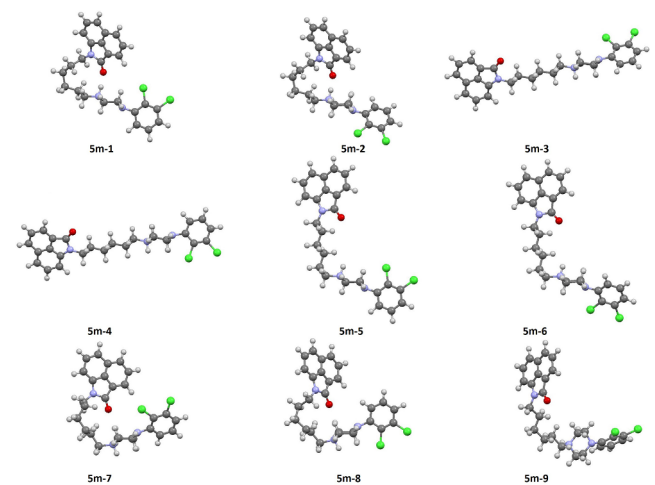


Fig. 6. DFT-optimized conformations of **5m** (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory). In green-chlorine, blue-nitrogen, red-oxygen, grey-carbon, white-hydrogen.

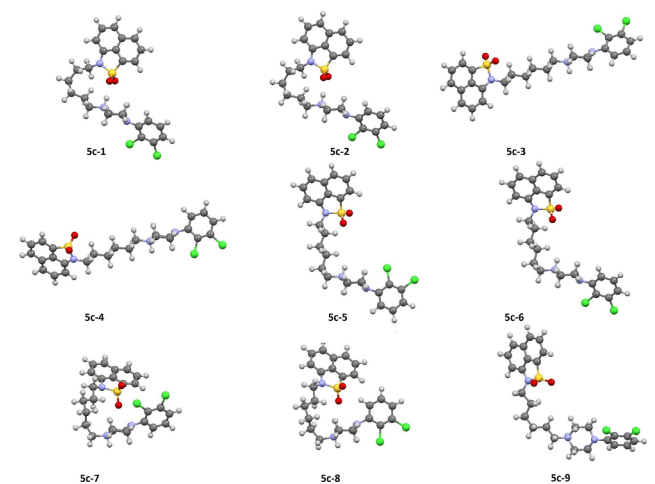


Fig. 7. DFT-optimized conformations of **5c** (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory). In green-chlorine, blue-nitrogen, red-oxygen, grey-carbon, white-hydrogen, yellow-sulfur.

Table 9

Energy of optimized conformers of selected ligands (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory).

No. of conf./No. of comp.	Energy [Hartree]		
	5k	5m	5c
1	-1748.1291	-2207.9763	-2643.44084
2	-1748.1289	-2207.9785	-2643.44087
3	-1748.1096	-2207.9595	-2643.4230
4	-1748.1096	-2207.9582	-2643.4214
5	-1748.1106	-2207.9590	-2643.4231
6	-1748.1106	-2207.9606	-2643.4249
7	-1748.1179	-2207.9636	-2643.4200
8	-1748.1159	-2207.9643	-2643.4249
9	-1748.1082	-2207.9568	-2643.4230

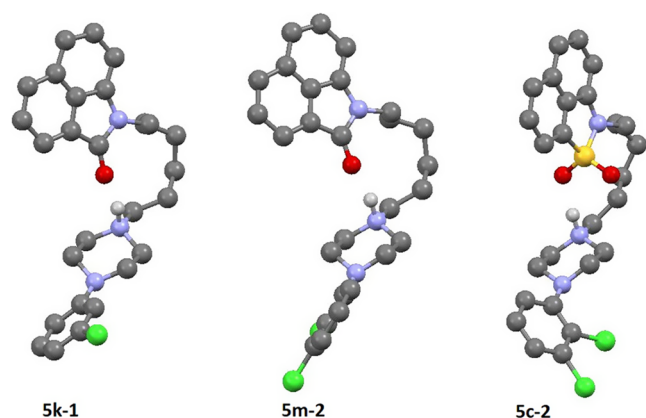


Fig. 8. Optimal conformations of selected compounds (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory). In green-chlorine, blue-nitrogen, red-oxygen, grey-carbon, white-hydrogen, yellow-sulfur.

orientation" **5c-2**, **Fig. 8**). In the case of compound **5m-2**, the orientation of the entire molecule and the conformation of the carbon chain were analogous in comparison to compounds **5k-1** and **5c-2**, but the

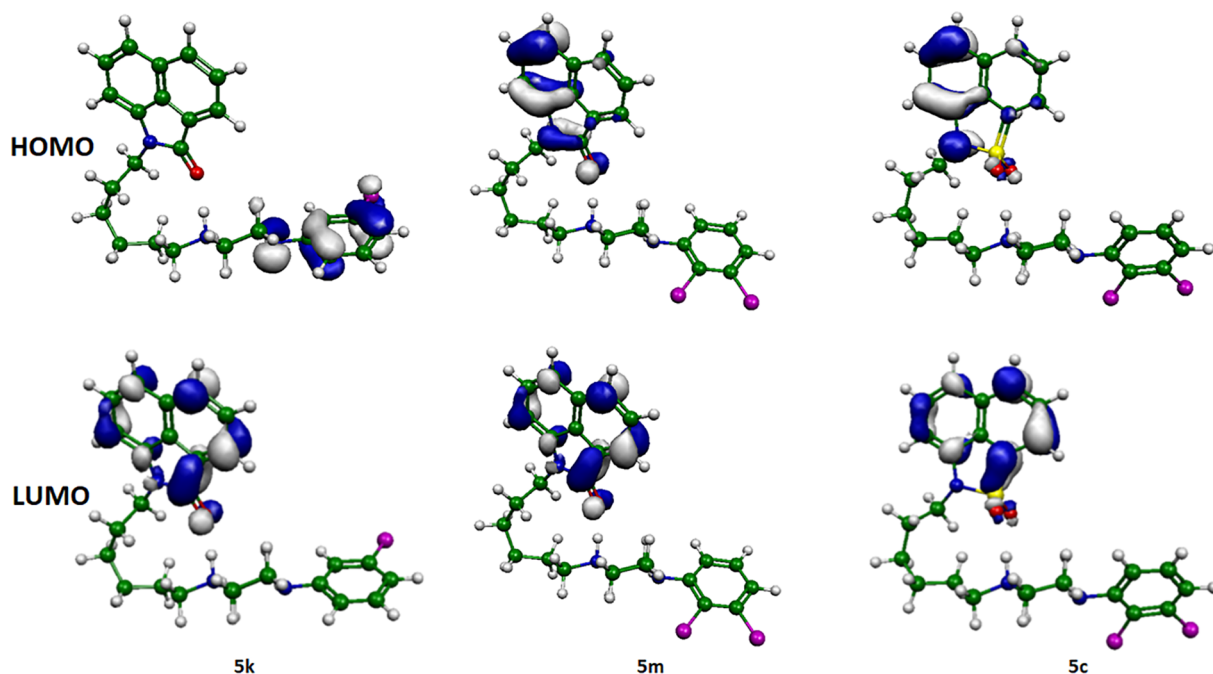


Fig. 9. HOMO, LUMO surfaces of compound **5k**, **5m** and **5c** simulated in StoBe. In green-carbon, blue-nitrogen, red-oxygen, purple-chlorine, white-hydrogen, yellow-sulfur.

Table 10

HOMO, LUMO surfaces of compound **5k**, **5m** and **5c** simulated in StoBe.

No. of ligand	Energy [eV]		
	5k-1	5m-2	5c-2
HOMO	-7.69	-7.91	-7.77
LUMO	-5.09	-5.06	-5.15
Energy gaps	2.18	2.40	2.62

location of the chlorines on the other side ("left-up", **Fig. 8**) of the 2,3-chlorophenylpiperazynyl ring (**5m-2**) turned out to be more beneficial. The opposite orientation of the substituents in the aryl group for compound **5m** compared to **5k** and **5c** may affect the subsequent difference in the 5-HT₆ receptor-active conformation as described in the previous paragraph.

Additionally, the strong deflection of the carbon chain appears to be preferred for all ligands (**Table 9**).

Energy gap between HOMO and LUMO characterizes the chemical reactivity or kinetic stability of molecule.³⁹ HOMO and LUMO surfaces of compound **5k-1**, **5m-2** and **5c-2** as well as Fukui reactivity indices were simulated in StoBe program, after optimization of structures in Gaussian. Conformations obtained after StoBe optimization was the same as the Gaussian's conformers. The orbitals were visualized using the Molekel 32 program (**Fig. 9**). As we showed the HOMO of **5k-1** is localized on the arylpiperazine moiety, whereas the LUMO is mainly concentrated on the part of 1,8-naphtholactam. The HOMO and LUMO orbitals of **5m-2** and **5c-2** are localizes in the part of 1,8-naphtholactam/sultam. The HOMO-LUMO energy gaps are 2.18, 2.40 and 2.60 eV for compound **5k-1**, **5m-2** and **5c-2**, respectively (**Table 10**).

In the further course of the discussion, the Fukui reactivity indices were calculated using the procedure of simulating the particle's response to accepting the 0.01 of electron on the LUMO orbital and removing the 0.01 of electron from the HOMO orbital.⁴⁰ The Fukui indexes for active conformations from docking to the 5-HT₆ homolog model were also calculated in the StoBe program. The extracted Fukui indices show fragments of the molecule susceptible to nucleophilic or electrophilic attack (**Figs. 10 and 11**).

In the case of compound **5k**, the strongest reaction of the molecule on electrophilic attacks located on the chlorine atom in the 3-chlorophenylpiperazine ring. The strongest reaction on nucleophilic attack is located on carbon, that forming a carbonyl group in the lactam ring. In the case of compound **5m** responses of molecule on nucleophilic and electrophilic attack are distributed along the carbonyl bond in the lactam. The Fukui indices calculated for compounds **5k** and **5m** reflect the HOMO-LUMO orbitals shown in (Fig. 9). The Fukui indices analysis in compound **5c** shown the location of the strongest response on electrophilic and nucleophilic attack on oxygen atoms of the sulfone group. Interestingly, both types of centers are also present on the carbon atoms forming the C–Cl bond in the 2,3-dichlorophenylpiperazine ring. In the case of the molecule in question, the distribution of Fukui indices is surprising, which does not coincide with the shape of the HOMO-LUMO orbitals. There are no strong response of the 2,3-dichlorophenyl-piperazine ring on electrophilic nor nucleophilic attack in the case of compound **5m**. The other 2 compounds (**5k** and **5c**) have response located on both the arylpiperazine ring and on the lactam/sultam ring, which may indicate the possibility of more polar contacts at the receptor binding pocket in ligand-receptor complex. This fact may be important in the context of increased binding of compounds **5k** and **5c** to selected aminergic receptors (5-HT₆ and 5-HT₇) compare to compound **5m**. In the case of docked poses, we want to point at similar arrangement of Fukui index in **5m** compared to Gaussian optimized Fukui of **5m** (located mainly in the naphtholactam part, mainly positive distribution). In the case of **5k** and **5c** we observe different distribution of Fukui indexes, compared to Gaussian optimized Fukui indexes. Both compound have strong positive and negative Fukui indexes. What is more interesting, the positive and negative Fukui indexes in the case of **5k** and **5c** are much stronger than in the case of **5m**. In docked pose of **5k** we observed also distribution of Fukui indexes (both positive and negative) in all structure area. The presented considerations may also explain the activity of compound **5k**, in particular to 5-HT₆ receptors. Dependencies of biological activity on the electronic structure were discussed in previous publications.^{41,42} Analysis of the influence of the distribution of the electron density on its biological activity seems to be

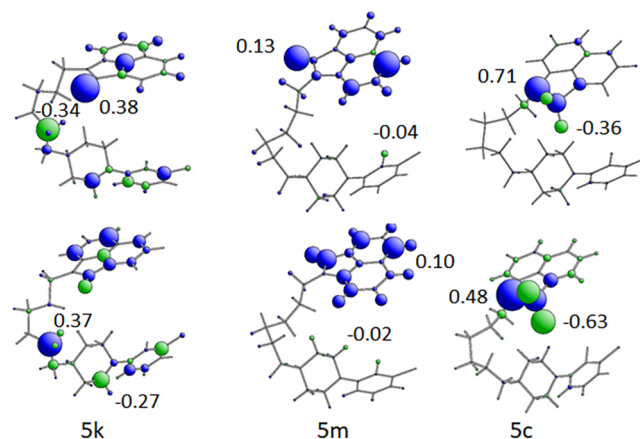


Fig. 11. Electrophilic (up) and nucleophilic (down) Fukui indices of compounds **5k**, **5m** and **5c** docked active conformations, simulated in StoBe. In blue – positive contribution, green – negative contribution. Maxima of Fukui index values are shown in the picture.

an interesting complement to molecular docking. However, the assessment of the usefulness of Fukui indices in predicting the biological activity of molecules requires a larger amount of experimentation.

3. Conclusion

The aim of the study was to synthesize a bulky derivatives of Fananserin, with an altered pharmacological profile. We have focused on the search for multifunctional ligands for the 5-HT_{1A}/5-HT₇/D₂ receptors. The conducted virtual screening and *in vitro* bioassays confirmed that the change in the pharmacological profile of LCAP can be obtained by extending the alkyl chain, which confirms our previous reports.²⁰ In both cases, a change in the alkyl chain length from 3 to 6 carbon atoms caused the shift of the activity profile from 5-HT_{2A} to D₂ and 5-HT_{1A}. The activity of tested compounds was also influenced by

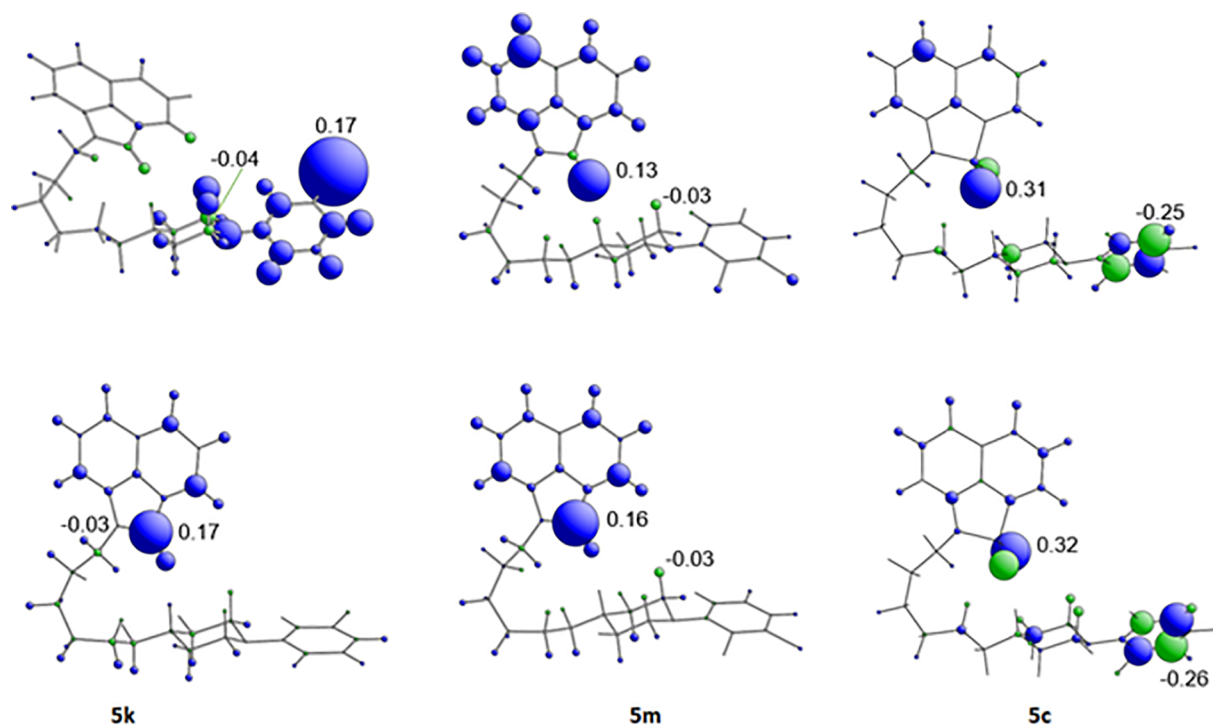


Fig. 10. Electrophilic (up) and nucleophilic (down) Fukui indices of compounds **5k-1**, **5m-2** and **5c-2** simulated in StoBe. In blue – positive contribution, green – negative contribution. Maxima of Fukui index values are shown in the picture.

the choice of halogen atom, as a substituent on the aryl group, the substitution position, but also by the change of the sulfonamide substituent on the amide in the naphthosultam part. As part of the conducted research, it was also possible to propose a new microwave-assisted method for the synthesis of mentioned compounds. This method is in line with the principles of green chemistry. Among the tested compounds, the **5k** was selected as multifunctional ligand for the 5-HT_{1A}/5-HT₇/D₂ receptors but **5j** as a dual ligand of the 5-HT_{1A}/D₂ receptor and **5r**, **5c** as a selective 5-HT_{1AR} ligand are also interesting. Interesting properties of compound **5k** related to its relatively high activity at 5-HT₆ receptors have been discussed with the use of molecular modelling. Both molecular docking and analysis of properties related to the distribution of electron density (including Fukui indices) confirm the results obtained in *in vitro* studies. An interesting issue seems to be using Fukui indexes to predict the biological activity of new molecules, but this method requires further research and calculations.

4. Experimental section

4.1. Chemistry

Reactions in microwave conditions were carried out in the CEM Discover microwave reactor with adjustable microwave output power.

All chemicals were purchased from Sigma Aldrich and all of the solvents used in the synthesis and purification process were from POCH. Analytical thin-layer chromatography (TLC) using chloroform: methanol in a ratio of 9:1 was performed on Sigma Aldrich silica gel on aluminum sheets with fluorescent indicator 254 nm (200 μm layer thickness, 60 Å pore diameter, 8.0–12.0 μm particle size) and UV light with a wavelength of 254 nm was used for the analysis. HPLC analysis was performed on a Knauer (KR_T) preparative gradient chromatography with DAD detector (190–700 nm) (eluent CH₃OH: H₂O 60:40 acidified with 0.1% HCOOH) with C-18 column or Perkin Elmer Series 200 HPLC (PR_T) with XTerra RP C-18 (3.5 μm seed size, 4.6x150mm) column and MeOH: H₂O 1:1 eluent acidified with 0.1% formic acid as a phase. The melting points were measured using a Boëtius apparatus. IR spectra were taken on an FTS-165 spectrometer (FTIR Biorad). ¹H NMR spectra's were recorded on Bruker Avance 400 MHz spectrometer using TMS as an internal reference in the NMR JCI Jagiellonian Center of Innovation, Cracow. The LC-MS system consisted of a Waters Acquity UPLC system coupled to a Waters TQD mass spectrometer (electrospray ionization mode ESI-tandem quadrupole). The analyses were carried out using an Acquity UPLC BEH C18, 1.7, 2.1 × 100 mm column.

4.1.1. Synthesis of 1-(6-bromohexyl)-1,8-naphthosultam (**3a**)/lactam (**3b**)

0.169/0.205 g (0.001 mol) of 1,8-naphthosultam (**1a**)/lactam (**1b**), 0.414/0.120 g (0.003 mol) of K₂CO₃/NaOH and 0.0001 mol of TBAB/DABCO were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, after which 0.46 cm³ (0.003 mol) of 1,6-dibromohexane (**2**) was added. In the case of the reaction in the presence of the solvent, 0.2 cm³ of ACN, DMF or water was added to the reaction mixture. The reactions were carried out for 10/15 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC (CHCl₃:MeOH 9:1) and HPLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added to the mixture and extracted with methylene chloride. After distillation of methylene chloride, the product was macerated in 20 cm³ of hexane to get rid of the excess 1,6-dibromohexane (**2**). For 1-(6-bromohexyl)-1,8-naphthosultam the crude product was crystallized from methanol. The reaction yields for each products were calculated based on the weight of the obtained pure compounds.

4.1.2. 2-(6-Bromohexyl)-2H-naphtho[1,8-cd] isothiazole (**3a**)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08–8.00 (m, 1H, ArH), 7.98–7.91 (m, 1H, ArH), 7.77–7.72 (m, 1H, ArH), 7.62–7.51 (m, 1H, ArH), 7.46 (t,

J = 9.4 Hz, 1H, ArH), 6.75–6.68 (m, 1H, ArH), 3.86 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, SONCH), 3.44 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.95–1.86 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.61–1.53 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 3060 (C–H Ar, Str), 2933; 2856 (C–H, Aliph, Str), 1591; 1492 (C=C Ar, Str), 1371 (C–N, Str), 1348 (S=O, Str), 851 (N–S, Str), 756 (C–Br, Str), *R*_f = 0.90, KR_T = 4.12 min, P = 96%.

4.1.3. 1-(6-Bromohexyl)benzo[cd]indol-2(1H)-one (**3b**)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ArH), 8.07–8.01 (m, 1H, ArH), 7.76–7.72 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.52–7.46 (m, 1H, ArH), 6.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, ArH), 3.99–3.93 (m, 2H, CONCH), 3.44–3.40 (m, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.89–1.80 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.50–1.41 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 3055 (C–H Ar Str), 2932; 2857 (C–H Aliph, Str), 1694 (C=O, Str), 1602; 1495 (C=C Ar, Str), 1373 (C–N, Str), 773 (C–Br, Str), *R*_f = 0.90, KR_T = 4.05 min, P = 97%.

4.1.4. Synthesis of ligands (**5**)

0.332/0.36885 g (0.001 mol) of 1-(6-bromohexyl)-1,8-naphthosultam (**3a**)/lactam (**3b**), 0.00095 mol of the corresponding arylpiperazine (**4**), 0.414/0.120 g (0.003 mol) K₂CO₃/NaOH and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask. In the case of the reaction in the presence of the solvent, 0.2 cm³ of acetonitrile, DMF or water was added to the reaction mixture. The reactions were carried out for 50 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC (CHCl₃:MeOH 9:1). After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off. In the absence of the required purity, the crude product was crystallized from methanol or methanol–water. After obtaining a minimum of 90% purity, the ligands were dissolved in acetone, then converted to 4 M HCl hydrochloride in dioxane. The reaction yields for individual ligands were calculated based on the weight of the obtained pure hydrochloride.

4.1.5. 2-{6-[4-(2-Fluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (**5a**)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H, ArH), 7.79–7.71 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.09–7.01 (m, 4H, ArH), 6.77 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, ArH), 3.85 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, SONCH), 3.73 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.58 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.45 (d, *J* = 11.3 Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.05 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.97 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.66 (s, 4H, CH_{Aliph}), *m/z*: 469.14 (M⁺, 40), 468.21 (M, 100), FT-IR 2993 (C–H Ar, Str), 2940; 2869 (C–H, Aliph, Str), 1591; 1485 (C=C Ar, Str), 1372 (C–N, Str), 1310 (S=O, Str), 1236 (C–F, Str), 811 (N–S, Str), *m*_p = 113–114 °C, *R*_f = 0.71, KR_T = 1.82 min, Y = 71%, P = 95%.

4.1.6. 2-{6-[4-(2-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (**5b**)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, ArH), 7.94–7.83 (m, 1H, ArH), 7.64–7.60 (m, 2H, ArH), 7.45 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.36–7.31 (m, 1H, ArH), 7.20 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.14–7.08 (m, 2H, ArH), 3.86 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, SONCH), 3.63–3.49 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.40 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.21 (s, 4H, CH_{Pip}), 3.13 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.80–1.65 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.54–1.35 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 2987 (C–H Ar, Str), 2937; 2818 (C–H, Aliph, Str), 1589; 1481 (C=C Ar, Str), 1374 (C–N, Str), 1309 (S=O, Str), 805 (N–S, Str), 758 (C–Cl, Str), *m*_p = 116–118 °C, *R*_f = 0.64, PR_T = 6.86 min, Y = 71%, P = 89%.

4.1.7. 2-{6-[4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (**5c**)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05–7.95 (m, 2H, ArH), 7.76–7.69 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.53–7.42 (m, 4H, ArH),

7.37–7.29 (m, 1H, ArH), 6.95 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, ArH), 3.95 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, SONCH), 3.80 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.55 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.04–2.93 (m, 4H, CH_{Pip}), 1.97 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.81 (d, $J = 17.4$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.48 (s, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 2990 (C–H Ar, Str), 2933; 2860 (C–H Aliph, Str), 1594; 1487 (C=C Ar, Str), 1374 (C–N, Str), 1308 (S=O, Str), 852 (N–S, Str), 772 (C–Cl, Str), $m_p = 162$ – 165 °C, $R_f = 0.74$, $KR_t = 2.97$ min, $Y = 71\%$, $P = 97\%$.

4.1.8. 2-{6-[4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (5d)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.97 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 3H, ArH), 7.56 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.53–7.45 (m, 3H, ArH), 6.77 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 4.72 (s, 2H, SONCH), 4.09 (s, 4H, CH_{Pip}), 3.68 (d, $J = 17.7$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.18 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.98 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.60 (s, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 2970 (C–H Ar, Str), 2941; 2860 (C–H Aliph, Str), 1590; 1490 (C=C Ar, Str), 1372 (C–N, Str), 1308 (S=O, Str), 827 (N–S, Str), 771 (C–Cl, Str), $m_p = 150$ – 152 °C, $R_f = 0.66$, $KR_t = 3.93$ min, $Y = 66\%$, $P = 99\%$.

4.1.9. 2-{6-[4-(2,3-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (5e)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H, ArH), 7.96 (s, 1H, ArH), 7.78 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (s, 2H, ArH), 7.05 (s, 1H, ArH), 6.78 (m, 1H, ArH), 3.86 (m, 2H, SONCH), 3.64 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.39 (s, 4H, CH_{Pip}), 3.07 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.98 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.57 (s, 4H, CH_{Aliph}), m/z : 521.11 (M+, 40), 520.12 (M+, 70), 468.21 (M, 100), FT-IR 3014 (C–H Ar, Str), 2940; 2853 (C–H, Aliph, Str), 1589; 1494 (C=C Ar, Str), 1376 (C–N, Str), 1304 (S=O, Str), 826 (N–S, Str), 777 (C–Cl, Str), $m_p = 158$ – 160 °C, $R_f = 0.70$, $KR_t = 3.88$ min, $Y = 72\%$, $P = 98\%$.

4.1.10. 2-{6-[4-(3,4-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (5f)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.89–7.81 (m, 1H, ArH), 7.65–7.56 (m, 2H, ArH), 7.45 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, ArH), 7.23–7.13 (m, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, ArH), 7.00–6.93 (m, 1H, ArH), 3.86–3.80 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.51 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H, SONCH), 3.23–3.17 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.12–3.03 (m, 4H, CH_{Pip}), 1.88–1.72 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.43–1.31 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 3008 (C–H Ar, Str), 2942; 2858 (C–H, Aliph, Str), 1590; 1495 (C=C Ar, Str), 1373 (C–N, Str), 1308 (S=O, Str), 829 (N–S, Str), 777 (C–Cl, Str), $m_p = 130$ – 132 °C, $R_f = 0.87$, $PR_t = 10.20$ min, $Y = 75\%$, $P = 93\%$.

4.1.11. 2-{6-[4-(3-Trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (5g)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.90–7.83 (m, 1H, ArH), 7.65–7.60 (m, 2H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.30–7.24 (m, 2H, ArH), 7.16 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, SONCH), 3.55 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.52–3.45 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.22 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.10–3.02 (m, 4H, CH_{Pip}), 1.80–1.72 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.54–1.37 (m, 4H, CH_{Aliph}), m/z : 520.32 (M+, 15), 519.25 (M+, 40), 518.32 (M, 100), FT-IR 2984 (C–H Ar, Str), 2940; 2867 (C–H, Aliph, Str), 1591; 1494 (C=C Ar, Str), 1374 (C–N, Str), 1313 (S=O, Str), 1228 (C–F, Str), 822 (N–S, Str), $m_p = 124$ – 125 °C, $R_f = 0.71$, $PR_t = 7.80$ min, $Y = 89\%$, $P = 99\%$.

4.1.12. 2-{6-[4-(4-trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione (5h)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.29 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.92–7.85 (m, 1H, ArH), 7.69–7.59 (m, 2H, ArH), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.12 (dd, $J = 13.3$, 7.9 Hz, 3H, ArH), 3.98 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H, SONCH), 3.85 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.55 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.33 (t, $J = 11.9$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.08–3.00

(m, 4H, CH_{Pip}), 1.86–1.76 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.43–1.34 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 3065 (C–H Ar, Str), 2933; 2855 (C–H, Aliph, Str), 1588; 1499 (C=C Ar, Str), 1361 (C–N, Str), 1340 (S=O, Str), 1234 (C–F, Str), 848 (N–S, Str), $m_p = 204$ – 206 °C, $R_f = 0.85$, $PR_t = 7.24$ min, $Y = 46\%$, $P = 100\%$.

4.1.13. 1-{6-[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5i)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.85–7.75 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.60–7.51 (m, 1H, ArH), 7.25–7.01 (m, 5H, ArH), 3.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CONCH), 3.59–3.41 (m, 4H, CH_{Pip}), 3a5 (d, $J = 8.3$ Hz, 6H, CH_{Pip}, NCH_{Aliph}), 1.72 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.37 (s, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 3001 (C–H Ar, Str), 2942; 2869 (C–H Aliph, Str), 1720 (C=O, Str), 1620 (C=N, Str), 1554; 1500 (C=C, Ar, Str), 1370 (C–N, Str), $m_p = 179$ – 181 °C, $R_f = 0.74$, $KR_t = 2.62$ min, $Y = 52\%$, $P = 95\%$.

4.1.14. 1-{6-[4-(2-chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5j)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86–7.76 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.62–7.52 (m, 1H, ArH), 7.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.11 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.92 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CONCH), 3.57 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.41 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.12 (s, 6H, CH_{Pip}, NCH_{Aliph}), 1.74 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.37 (s, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 2998 (C–H Ar, Str), 2937; 2859 (C–H Aliph, Str), 1699 (C=O, Str), 1590; 1493 (C=C Ar, Str), 1366 (C–N, Str), 775 (C–Cl, Str), $m_p = 107$ – 110 °C, $R_f = 0.52$, $PR_t = 6.11$ min, $Y = 60\%$, $P = 97\%$.

4.1.15. 1-{6-[4-(3-chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5k)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86–7.76 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.60–7.51 (m, 1H, ArH), 7.32–7.18 (m, 2H, ArH), 7.03 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 6.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.93–3.79 (m, 2H, CONCH), 3.57–3.32 (m, 4H, CH_{Pip}), 3b1 (d, $J = 24.0$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, NCH_{Aliph}), 1.73 (s, 4H, CH_{Aliph}), 1.29 (d, $J = 39.7$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), m/z : 451.19 (M+, 12), 450.19 (M+, 35), 448.20 (M, 100), FT-IR 3005 (C–H Ar, Str), 2934; 2856 (C–H Aliph, Str), 1696 (C=O Str), 1593; 1493 (C=C Ar, Str), 1360 (C–N, Str), 768 (C–Cl, Str), $m_p = 105$ – 108 °C, $R_f = 0.68$, $KR_t = 3.12$ min, $Y = 32\%$, $P = 92\%$.

4.1.16. 1-{6-[4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5l)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, ArH), 7.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, ArH), 7.77–7.69 (m, 1H, ArH), 7.57 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.53–7.44 (m, 3H, ArH), 6.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 4.73 (s, 2H, CONCH), 3.97 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.67–3.61 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.14 (s, 2H, NCH_{Aliph}), 1.87 (dd, $J = 18.7$, 11.3 Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.50 (s, 4H, CH_{Aliph}), m/z : 451.19 (M+, 15), 450.19 (M+, 40), 448.20 (M, 100), FT-IR 3013 (C–H Ar, Str), 2937; 2860 (C–H Aliph, Str), 1738 (C=O, Str), 1603; 1491 (C=C Ar, Str), 1366 (C–N, Str), 772 (C–Cl, Str), $m_p = 127$ – 130 °C, $R_f = 0.66$, $PR_t = 9.37$ min, $Y = 61\%$, $P = 96\%$.

4.1.17. 1-{6-[4-(2,3-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5m)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.40–7.33 (m, 2H, ArH), 7.22–7.18 (m, 2H, ArH), 3.92 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CONCH), 3.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.13 (d, $J = 8.9$ Hz, 6H, CH_{Pip}), 1.78–1.65 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.40 (d, $J = 17.4$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR 2999 (C–H Ar, Str), 2930; 2857 (C–H Aliph, Str), 1698 (C=O, Str), 1604; 1495 (C=C Ar, Str), 1371 (C–N Str), 768 (C–Cl, Str), $m_p = 188$ – 190 °C, $R_f = 0.73$,

PR_t = 16.20 min, Y = 36%, P = 91%.

4.1.18. 1-{6-[4-(3,4-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5n)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, ArH), 7.86–7.78 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.61–7.53 (m, 1H, ArH), 7.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, ArH), 7.26–7.20 (m, 2H, ArH), 6.99–6.94 (m, 1H, ArH), 3.49 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H, CONCH), 3.17 (d, *J* = 11.9 Hz, 4H, CH_{pip}), 3.05 (s, 4H, CH_{pip}), 2.08 (s, 2H, NCH_{aliph}), 1.73 (s, 4H, CH_{aliph}), 1.36 (s, 4H, CH_{aliph}), *m/z*: 484.09 (M⁺, 12), 483.23 (M⁺, 40), 482.23 (M, 100), FT-IR 2970 (C–H Ar, Str), 2938; 2861 (C–H Aliph, Str), 1699 (C=O, Str), 1604; 1494, (C=C Ar, Str), 1374 (C–N Str), 770 (C–Cl, Str), *m_p* = 115–118 °C, *R_f* = 0.64, PR_t = 11.15 min, Y = 43%, P = 99%.

4.1.19. 1-{6-[4-(4-Bromophenyl)piperazin-1-yl]hexyl}benzo[cd]indol-2(1H)-one (5o)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20–8.11 (m, 1H, ArH), 8.05–7.99 (m, 1H, ArH), 7.86–7.79 (m, 1H, ArH), 7.65 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.60–7.52 (m, 1H, ArH), 7.28–7.22 (m, 1H, ArH), 7.18 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.12–7.04 (m, 1H, ArH), 6.88 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 6.73 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 3.90–3.81 (m, 2H, CH_{pip}), 3.76 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CONCH), 3.55 (s, 2H, CH_{pip}), 3.14 (d, *J* = 8.9 Hz, 4H, CH_{pip}), 1.76–1.64 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.37 (d, *J* = 3.8 Hz, 4H, CH_{aliph}), FT-IR 3010 (C–H Ar, Str), 2938; 2857 (C–H Aliph, Str), 1677 (C=O, Str), 1609; 1498, (C=C Ar, Str), 1370 (C–N Str), 745 (C–Br, Str), *m_p* = 100–104 °C, *R_f* = 0.87, PR_t = 7.53 min, Y = 19%, P = 93%.

4.1.20. 1-{6-[4-(2-Trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-benzo[cd]indol-2(1H)-one (5p)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05–8.00 (m, 2H, ArH), 7.76–7.69 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.53–7.46 (m, 4H, ArH), 7.37–7.29 (m, 1H, ArH), 6.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, ArH), 3.95 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CONCH), 3.80 (t, *J* = 12.1 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.55 (d, *J* = 12.6 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.04–2.93 (m, 4H, CH_{pip}), 1.97 (s, 2H, NCH_{aliph}), 1.81 (d, *J* = 17.4 Hz, 4H, CH_{aliph}), 1.48 (s, 4H, CH_{aliph}), *m/z*: 484.09 (M⁺, 12), 483.23 (M⁺, 40), 482.23 (M, 100), FT-IR 2985 (C–H Ar, Str), 2938; 2858 (C–H Aliph, Str), 1699 (C=O, Str), 1602; 1473, (C=C Ar, Str), 1374 (C–N, Str), 1175 (C–F, Str), *m_p* = 162–164 °C, *R_f* = 0.52, KR_t = 3.05 min, Y = 18%, P = 94%.

4.1.21. 1-{6-[4-(3-Trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-benzo[cd]indol-2(1H)-one (5r)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.86–7.75 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.61–7.52 (m, 1H, ArH), 7.47 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.25–7.20 (m, 3H, ArH), 7.15 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 3.91 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CONCH), 3.60–3.42 (m, 4H, CH_{pip}), 3.17 (d, *J* = 12.4 Hz, 4H, CH_{pip}), 3.07 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, NCH_{aliph}), 1.73 (d, *J* = 6.2 Hz, 4H, CH_{aliph}), 1.37 (s, 4H, CH_{aliph}), *m/z*: 484.09 (M⁺, 11), 483.23 (M⁺, 40), 482.23 (M, 100), FT-IR 2970 (C–H Ar, Str), 2938; 2865 (C–H Aliph, Str), 1706 (C=O, Str), 1602; 1509 (C=C Ar, Str), 1366 (C–N, Str), 1122 (C–F, Str), *m_p* = 120–124 °C, *R_f* = 0.64, KR_t = 3.28 min, Y = 38%, P = 90%.

4.1.22. 1-{6-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl]hexyl}-benzo[cd]indol-2(1H)-one (5s)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.05–7.95 (m, 1H, ArH), 7.82–7.75 (m, 1H, ArH), 7.65 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, ArH), 7.56–7.48 (m, 3H, ArH), 7.23 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, ArH), 4.01–3.86 (m, 4H, CH_{pip}), 3.53 (d, *J* = 11.8 Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.24 (t, *J* = 12.1 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.08 (s, 4H, CH_{pip}), 1.73–1.62 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.37 (s, 4H, CH_{aliph}), FT-IR 3060 (C–H Ar, Str), 2943; 2860 (C–H Aliph, Str), 1677 (C=O, Str), 1615; 1493, (C=C Ar, Str), 1373 (C–N Str), 1112 (C–F, Str), *m_p* = 203–205 °C, *R_f* = 0.67, PR_t = 13.44 min, Y = 40%, P = 99%.

4.2. In vitro evaluation

In vitro radioligand binding assays for D₂ 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇, and D₂ receptors were carried out using methods published by Zajdel et al.⁴³

4.2.1. Cell culture and preparation of cell membranes for radioligand binding assays

HEK293 cells with stable expression of human 5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT_{7b} and D_{2L} receptors (prepared with the use of Lipofectamine 2000) or CHO-K1 cells with plasmid containing the sequence coding for the human serotonin 5-HT_{2A} receptor (Perkin Elmer) were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂ and grown in Dulbecco's Modifier Eagle Medium containing 10% dialyzed fetal bovine serum and 500 µg/ml G418 sulfate. For membrane preparation, cells were subcultured in 150 cm² flasks, grown to 90% confluence, washed twice with prewarmed to 37 °C phosphate buffered saline (PBS) and pelleted by centrifugation (200 × g) in PBS containing 0.1 mM EDTA and 1 mM dithiothreitol. Prior to membrane preparation, pellets were stored at –80 °C.

4.2.2. Radioligand binding assays

Cell pellets were thawed and homogenized in 20 volumes of assay buffer using an Ultra Turrax tissue homogenizer and centrifuged twice at 35 × g for 20 min at 4 °C, with incubation for 15 min at 37 °C in between rounds of centrifugation. The composition of the assay buffers was as follows: for 5-HT_{1A}: 50 mM Tris–HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargyline and 0.1% ascorbate; for 5-HT_{2A}: 50 mM Tris–HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, and 0.1% ascorbate; for 5-HT₆: 50 mM Tris–HCl, 0.5 mM EDTA and 4 mM MgCl₂; for 5-HT₇: 50 mM Tris–HCl, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargyline and 0.1% ascorbate; for D₂: 50 mM Tris HCl, 1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂ and 0.1% ascorbate. All assays were incubated in a total volume of 200 µl in 96-well microtiter plates for 1 h at 37 °C, except for 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} which were incubated at room temperature. The process of equilibration was terminated by rapid filtration through Unifilter plates with a 96-well cell harvester (PerkinElmer), and the radioactivity retained on the filters was quantified on a Microbeta plate reader (PerkinElmer). For displacement studies, the assay samples contained the following as radioligands: 2.5 nM [³H]-8-OH-DPAT (187 Ci/mmol) for 5-HT_{1A}, 1 nM [³H]-Ketanserin (53.4 Ci/mmol) for 5-HT_{2A}, 2 nM [³H]-LSD (85 k Ci/mmol) for 5-HT₆, 0.8 nM [³H]-5-CT (39.2 Ci/mmol) for 5-HT₇ or 2.5 nM [³H]-raclopride (76.0 Ci/mmol) for D₂. Nonspecific binding was defined with 10 µM of 5-HT in 5-HT_{1A} and 5-HT₇ binding experiments, whereas 10 µM of chlorpromazine or 10 µM of methiothepine were used in the 5-HT_{2A}/D₂ and 5-HT₆ assays, respectively. Each compound was tested in triplicate at 7–8 different concentrations (10^{–4}–10^{–11} M). The inhibition constants (K_i) were calculated from the Cheng-Prusoff equation.²⁶ The results are expressed as the means of at least two separate experiments. The reference compounds: Buspirone for 5-HT_{1A}, Olanzapine for 5-HT_{2A} and 5-HT₆, Clozapine for 5-HT₇ and Risperidone for D₂

4.3. Molecular modelling

The virtual screening was performed in glide 7.0 software.⁴⁴ The 3-dimensional structures were prepared using LigPrep 3.7. The appropriate ionization states at pH ¼ 7.4 were assigned using Epik.⁴⁵ The Protein Preparation Wizard was used to assign the bond orders and appropriate amino acid ionization states. The receptor grids were generated by centering the grid box of the size of 12 Å on the Asp 3.32. with OPLS_2005 force field. The homology model of the active 5-HT_{1A} (template pdb id: 5V54) and 5-HT₇ (template pdb id: 6CM4) receptor³³ was used, as well as the crystal structure of the D₂ (pdb id: 6CM4)³⁴ receptor in the complex with risperidone.

The 3-dimensional structures of the compounds studied were

prepared using PyMol version 3.7⁴⁶ and Autodock tools version 1.5.6,⁴⁷ while the appropriate ionization states at pH = 7.4 were assigned using MarvinSketch version 18.29.⁴⁸ The molecular docking were performed with using Autodock Vina version 1.5.6⁴⁹ Structure of homology model of 5-HT₆R in intermediate state of activation (template pdb id: 5V54) was downloaded from <http://gpccrdb.org>.³³ The receptor grids were generated by centering the grid box on the Asp 3.32.³⁵ The geometries of docked structures were optimised using density functional theory (DFT) with B3LYP hybrid functional and the 6-31+G(d,p) basis set were applied.⁵⁰

The DFT calculations were carried out using the Gaussian 16⁵¹ suite of programs and StoBe software. The lowest energy conformations have been reoptimized in the StoBe – deMon by ab initio DFT (density functional theory) methods (StoBe^{52,53}). Kohn-Sham orbitals were represented by LCAOs (linear combinations of atomic orbitals) using extended contracted-Gaussian basis sets for the atoms.⁵⁴ A DZVP (double zeta valence polarization) was used for the orbital basis sets of O, C (621/41/1), and H.^{55,56} Obtained conformations coincided completely with the results obtained in the Gaussian program. HOMO and LUMO surfaces were simulated in StoBe, after optimization of structures in Gaussian (B3LYP/6-311+G (d, p) level of theory). The Fukui functions and atom projected indices was calculated within the finite difference approximation⁵⁵ and visualized as atom projected Fukui indices.^{56,57} The orbitals were visualized using the Molekel 32 program.⁵⁸ For the graphic presentation of selected structures PyMOL 3.7,⁴⁶ Mercury 3.7⁵⁹ and Balsac software were used.

Acknowledgements

The research was supported by the National Centre for Research and Development, LIDER VI project (LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015).

Computing resources from Academic Computer Centre CYFRONET AGH (member of PL-Grid Infrastructure, grant lcap2019) are gratefully acknowledged.

References

- Moses-Kolko EL, Wisner KL, Price JC, et al. *Fertil Steril*. 2008;89:685–692.
- Staroń J, Bugno R, Hogendorf AS, Bojarski AJ. *Expert Opin Ther Pat*. 2018;28:679–689.
- Pytka K, Partyka A, Jastrzębska-Więsek M, et al. *PLoS ONE*. 2015;10:e0142499.
- Cates LN, Roberts AJ, Huitron-Resendiz S, Hedlund PB. *Neuropharmacology*. 2013;70:211–217.
- Hedlund PB, Huitron-Resendiz S, Henriksen SJ, Sutcliffe JG. *Biol Psychiatry*. 2005;58:831–837.
- Celada P, Puig MV, Amargós-Bosch M, Adell A, Artigas F. *J Psychiatry Neurosci*. 2004;29:252–265.
- Wesołowska A. *Pharmacol Rep*. 2010;62:564–577.
- Malleron L, Comte MT, Gueremy C, et al. *Med Chem*. 1991;34:2477–2483.
- Menard C, Hodess GE, Russo SJ. *Neuroscience*. 2016;321:138–162.
- Etievant A, Bétry C, Haddjeri N. *Open Neuropsychopharmacol J*. 2010;3:1–12.
- Wang SM, Han C, Lee SJ, Patkar AA, Masand PS, Pae CU. *Int J Psychiatry Clin Pract*. 2013;17:160–169.
- Gründer G. *Curr Opin Invest Drugs*. 2010;11:823–832.
- ChEMBL Database, <https://www.ebi.ac.uk/chembl/>.
- Bojarski AJ, Duszyńska B, Kołaczkowski M, Kowalski P, Kowalska T. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004;14:5863–5866.
- Hall P, Michels V, Gavrilov D, et al. *Mol Genet Metab*. 2013;110:176–178.
- Borsini F, Evans K, Jason K, Rohde F, Alexander B. *CNS Drug Rev*. 2002;8:117–142.
- Agai-Csongor E, Domány G, Nógrádi K, et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012;22:3437–3440.
- Sramek JJ, Kirkesseli S, Paccaly-Moulin A, Davidson J, et al. *Psychopharmacol Bull*. 1998;34:811–818.
- Orjales A, Alonso-Cires L, Labeaga L, Corcstegui R. *J Med Chem*. 1996;38:1273–1277.
- Jaśkowska J, Zaręba P, Śliwa P, Pindelska E, Satała G, Majka Z. *Molecules*. 2019;24:1609–1628.
- Lacivita E, Leopoldo M, Masotti AC, et al. *J Med Chem*. 2009;52:7892–7896.
- López-Rodríguez ML, Morcillo MJ, Fernández E, et al. *J Med Chem*. 2001;44:186–197.
- Leopoldo M, Lacivita E, Berardi F, Perrone R, Hedlund PB. *Pharmacol Ther*. 2011;129:120–148.
- Kikuchi C, Ando T, Watanabe T, et al. *J Med Chem*. 2002;45:2197–2206.
- Mahesh V, Perumal P. *Pharmazie*. 2005;60:411–414.
- Asagarasu A, Matsui T, Hayashi H, et al. *J Med Chem*. 2010;53:7549–7563.
- Jinan P, Qiucheng W, Peng Y, Hanghang Z. Patent: CN105777745 A, 2016.
- Kowalski P, Mitka K, Jaśkowska J, Duszyńska B, Bojarski AJ. *Arch Pharm*. 2013;346:339–348.
- Paudel S, Acharya S, Kim KM, Hoon S. *Bioorg Med Chem*. 2016;30:2137–2145.
- Kowalski P, Jaśkowska J. *Arch Pharm Chem Life Sci*. 2012;345:81–85.
- Jaśkowska J, Kowalski P. *J Heterocycl Chem*. 2008;45:1371–1375.
- Pai NR, Dubhashi DS, Vishwasrao S, Pusalkar D. *J Chem Pharm Res*. 2010;2:506–517.
- Pándy-Szekeres G, Munk C, Tsonkov TM, et al. *Nucleic Acids Res*. 2017;46:440–446.
- Wang S, Che T, Levit A, Shoichet BK, Wacker D, Roth BL. *Nature*. 2018;555:269–273.
- Shi L, Javitch JA. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2002;42:437–467.
- Cheng Y, Prusoff W. *Biochem Pharmacol*. 1973;22:3099–3108.
- Kołaczkowski M, Marcinkowska M, Bucki A, et al. *J Med Chem*. 2014;57:4543–4557.
- Grychowska K, Kurczab R, Śliwa P, et al. *Bioorg Med Chem*. 2018;26:3588–3595.
- Li Y, Liu Y, Wang H, Xiong X, Wei P, Li F. *Molecules*. 2013;18:877–893.
- Chermette H. *Comput Chem*. 1999;20:129–154.
- Gómez-Jeria JS. *J Comp Meth Mol Des*. 2014;4:32–44.
- Kpotin GA, Gómez-Jeria JS. *Int J Comp Theor Chem*. 2017;5:59.
- Zajdel P, Marciniak K, Maslankiewicz A, et al. *Eur J Med Chem*. 2013;60:42–50.
- Friesner RA, Murphy RB, Repasky MP, et al. *J Med Chem*. 2006;49:6177–6196.
- Greenwood JR, Calkins D, Sullivan AP, Shelley JC. *J Comput Aided Mol Des*. 2010;24:591–604.
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
- Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al. *Comput Chem*. 2009;16:2785–2791.
- MarvinSketch (calculation module developed by ChemAxon), <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>, 2014.
- Trott O, Olson AJ. *Comput Chem*. 2010;31:455–461.
- Xu W, Huang JJ, Shao BH, Xu XJ, Jiang RW, Yuan M. *Molecules*. 2015;20:19674–19689.
- Frisch FMJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
- Faver J, Merz KM. *J Chem Theory Comput*. 2010;6:548–559.
- Hermann K, Pettersson, LGM, Casida, ME et al. StoBe-deMon, deMon Software: Stockholm, Berlin, 2005.
- Broclawik E, Salahub DR. *J Mol Catal*. 1993;82:117–129.
- Parr RG, Yang W. *J Am Chem Soc*. 1984;106:4049–4050.
- Beker W, Stachowicz-Kuśnierz A, Zaklika J, Ziobro A, Ordon P, Komorowski L. *Comput Theor Chem*. 2015;1065:42–49.
- Liang J, Edelsbrunner H, Woodward C. *Protein Sci*. 1998;7:1884–1897.
- Varetto, U. Molekel 5.4.
- Macrae CF, Bruno IJ, Chisholm JA, et al. *Appl Cryst*. 2008;41:466–470.

Publikacja D2

Zaręba P., Jaśkowska J., Śliwa P., Satała G., *New dual ligands for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors from the group of 1,8-naphthyl derivatives of LCAP*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2019**, 29(16), 2236–42, (IF = 2.572) *.



New dual ligands for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors from the group of 1,8-naphthyl derivatives of LCAP



Przemysław Zaręba^{a,*}, Jolanta Jaśkowska^a, Paweł Śliwa^a, Grzegorz Satała^b

^a Faculty of Chemical Engineering and Technology, Institute of Organic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, 24 Warszawska Street, Cracow 31-155, Poland

^b Department of Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacology – Polish Academy of Sciences, 12 Smętna Street, Cracow 31-343, Poland

ARTICLE INFO

Keywords:

Serotonin receptors
5-HT_{1A}/D₂
Depression
Molecular modelling
Microwave-assisted

ABSTRACT

More than 300 million people are suffering from depression, one of the civilization diseases in the 21st century. Serotonin 5-HT_{1A}R and dopamine D₂R play an important role in the treatment and pathogenesis of depression. Moreover, in recent years, the efficacy of dual 5-HT_{1A}/D₂ receptors ligands has been demonstrated in the fight against depression. In this work the new bulky arylpiperazine derivatives (LCAP) were synthesized in microwave radiation field. The affinities for the selected serotonin (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇) and dopamine (D₂) receptors have been evaluated *in vitro*. Compounds **5.3a**, **5.4**, **5.1c**, **5.3d**, **5.2a** are promising dual 5-HT_{1A}R/D₂R ligands. The SAR analysis were additionally supported with molecular docking studies.

According to WHO (World Health Organization) data, the number of people suffering from depression exceeds 300 million, which makes it one of the primary causes of depression in the 21st century.¹ It is believed that one of the primary causes of depression is disturbance in the functioning of the serotonin system.² The 5-HT_{1A} receptors play an important role in the pathogenesis and fighting mood disorders.^{3,4} Suppression of 5-HT_{1A} receptors increases the neuronal activity of serotonin, enhances stress resistance and antidepressant response, while their excessive expression has the opposite effect.^{4,5}

In recent years, there have been reports on the efficacy of dual 5-HT_{1A}/D₂ receptor ligands in the fight against depression.^{6–8} The research suggests that various atypical antipsychotics may be effective as anti-depressants and they are more and more popular as supportive medicines in the clinical treatment of depression. A good example is olanzapine, which in combination with Fluoxetine shows a much stronger antidepressant effect compared to the Olanzapine or Fluoxetine alone.^{7,8} Aripiprazole, which acts as a partial agonist at the D₂ and 5-HT_{1A} receptor and a 5-HT_{2A} receptor antagonist, appears to be a promising agent in the treatment of depression. Moreover, many studies have shown that partial D₂ receptor agonists are effective adjuncts in the treatment of depression in drug-resistant patients⁹ and may potentiate the action of selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI).¹⁰

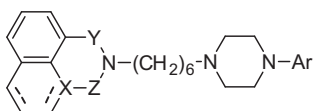
Among the antidepressants used in medicine, we can find many compounds whose action is related to agonism for 5-HT_{1A} receptors. A large group of ligands are long chain arylpiperazines (LCAP), which

include Brexpiprazole¹¹, Vilazodone¹² or Flibanserin¹³ that have been used recently in the treatment of CNS diseases. An interesting group of LCAP are ligands with 1,8-lactam or 1,8-imide derivatives of naphthalene moieties in the structure. The literature describes some compounds belonging to the above-mentioned group as having high affinity for the 5-HT₇^{14–19} and 5-HT_{1A} receptors.^{20–22} These compounds were obtained classically in the reflux, however, as was shown previously^{23,24}, the new ecological method assisted by the microwave radiation field can be applied. Bearing in mind the high affinity to selected serotonin receptors, it seems justified to continue the searching of active ligands within the described group and to extend studied biological targets. According to our previous publication²⁴, showing a significant increase in the affinity of trazodone derivatives for 5-HT_{1A} and D₂ receptors along with the extension of the carbon linker from 3 to 6 carbon atoms, we decided to synthesize a hexylarylpiperazine group (Fig. 1), having a fragment of naphthalene in its structure. In this work, the developed by us method^{23,24} was used to obtain a set of ligands (Fig. 1), for which affinities to the serotonin (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇) and dopamine (D₂) receptors were determined. There was identified a group of dual 5-HT_{1A}R/D₂R ligands. The activities of new ligands were evaluated both by *in vitro* tests and using molecular docking.

Four groups of ligands were synthesized as part of the study: 1-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-benzo[cd]indol-2(1H)-one **5.1a–5.1f**, 2-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-(2H)naphtho[1.8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione **5.2b–5.2d**, 2-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-1H-

* Corresponding author.

E-mail address: pzareba@indy.chemia.pk.edu.pl (P. Zaręba).



Ar = PhOCH₃, PhOC₂H₅, PhNO₂, 2-Pyridinyl, 2-Pyrimidinyl, 8-Quinolinyll

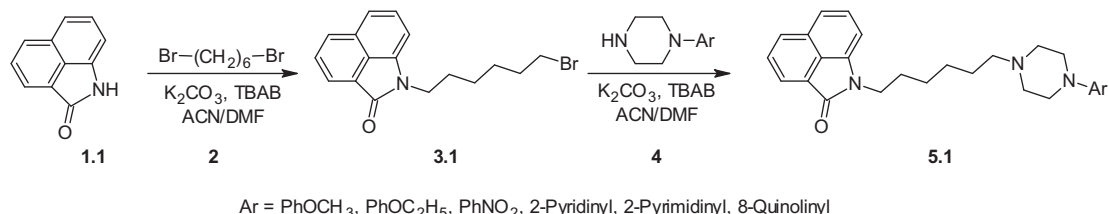
X = N, C
Y = CO, SO₂
Z = CO, -
/ = sat / unsat

Fig. 1. General structure of ligands.

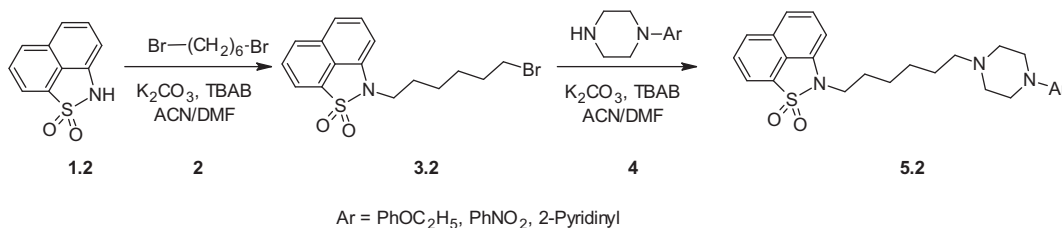
benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-diones **5.3a–5.3d** and 1-{6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(1H)-one **5.4**. Ligands from groups **5.1**, **5.2**, **5.3** were synthesized by two-step method, involving *N*-alkylation of heterocycle **1.1/1.2/1.3** with 1,6-dibromohexane **2**, followed by condensation with arylpiperazine **4**.

The synthesis of ligands was carried out in microwave radiation field using a CEM Discover reactor with 100 W output power, using K₂CO₃ as the reaction medium, tetra-*n*-butylammonium bromide (TBAB) as a phase transfer catalyst, and a small addition of solvent (10% mass acetonitrile (ACN) or dimethylformamide (DMF) as the energy transfer agent for microwave radiation.

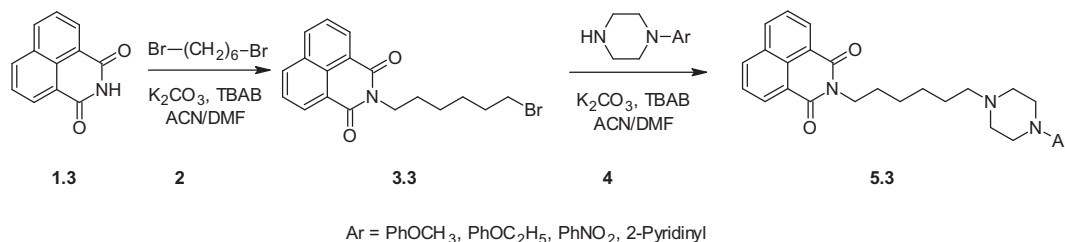
The derivatives were prepared in a two-step synthesis (Scheme 1), involving *N*-alkylation of benzo[cd]indol-2(1H)-one **1.1** with 1,6-dibromohexane **2** and condensation of the product **3.1** with the appro-



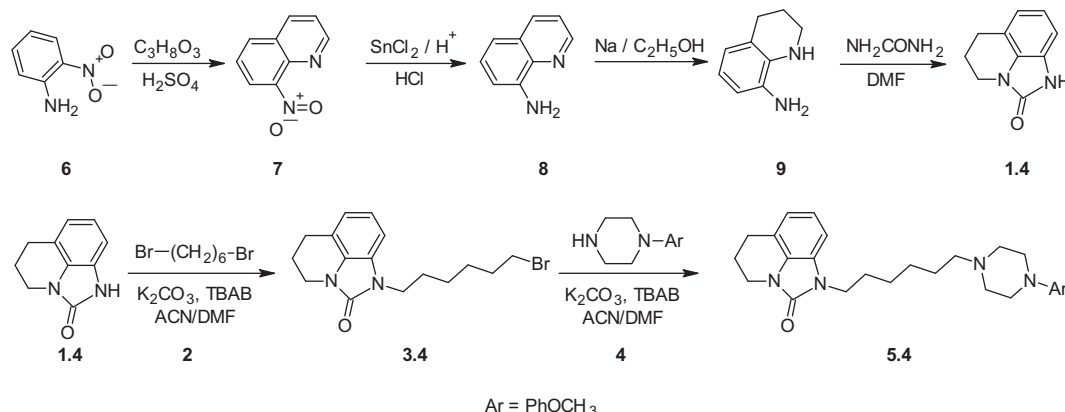
Scheme 1. Synthesis of compounds from the group 1-{6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl}-benzo[cd]indol-2(1H)-one **5.1**.



Scheme 2. Synthesis of compounds from the group 1-{6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl}-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione **5.2b–5.2d**.



Scheme 3. Synthesis of compounds from the group 2-{6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl}-1H-benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione **5.3**.



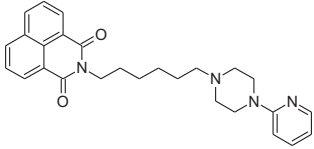
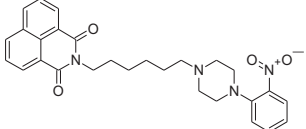
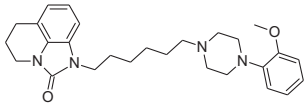
Scheme 4. Synthesis of compounds from the group 1-{6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(1H)-one **5.4**.

Table 1
Affinity for the tested receptors, K_i [nM].

No.	Structure	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.1a		114 ± 13	47 ± 11	652 ± 96	1699 ± 157	366 ± 49
5.1b		180 ± 22	291 ± 62	1927 ± 443	3666 ± 951	3743 ± 621
5.1c		11 ± 1	22 ± 3	717 ± 149	1916 ± 406	84 ± 12
5.1d		867 ± 71	32 ± 6	892 ± 61	1461 ± 175	184 ± 10
5.1e		188 ± 24	94 ± 12	43 ± 8	5253 ± 959	475 ± 81
5.1f		431 ± 78	9473 ± 2166	3983 ± 706	952 ± 87	696 ± 129
5.1g		82 ± 6	22 ± 4	222 ± 15	999 ± 133	119 ± 18
5.2a		30 ± 5	48 ± 5	578 ± 120	476 ± 79	34 ± 2
5.2b		118 ± 9	35 ± 2	443 ± 68	182 ± 5	344 ± 63
5.2c		264 ± 31	482 ± 57	533 ± 47	494 ± 38	822 ± 35
5.3a		10 ± 2	20 ± 3	337 ± 65	671 ± 93	266 ± 62
5.3b		271 ± 14	47 ± 9	334 ± 39	347 ± 41	371 ± 80
5.3c		40040 ± 11520	3569 ± 6669	60100 ± 10721	5765 ± 1044	116500 ± 22670
5.3d		27 ± 3	28 ± 5	461 ± 52	246 ± 23	73 ± 12

(continued on next page)

Table 1 (continued)

No.	Structure	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5.3e		1302 ± 275	172 ± 35	563 ± 93	1966 ± 303	1200 ± 175
5.3f		141 ± 22	373 ± 65	1918 ± 449	1410 ± 233	710 ± 91
5.4		2 ± 0.4	19 ± 2	456 ± 49	3270 ± 695	291 ± 60

appropriate arylpiperazine **4**. The product **3.1** was obtained with 78% yield in a time of 15 s. In the next stage, the reaction time was extended to 60 s with yields 36–82%.

Ligands belonging to the group of 2-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-(2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione **5.2b–5.2d** were obtained also by a two-step reaction (Scheme 2). In the first step *N*-alkylation of (2H)naphtho[1,8-cd][1,2]thiazole-1,1(2H)-dione **1.2** with 1,6-dibromohexane **2** was carried out within 15 s. The product **3.2** was obtained in 67% yield. In the next step, the obtained product **3.2** was condensed with the appropriate arylpiperazine **4** in 60 s with yields 10–43%.

The 2-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-1H-benzo[de]isoquinolin-1,3(2H)-diones **5.3a–5.3d** were obtained by *N*-alkylation of 1H-benzo

[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione **1.3** with 1,6-dibromohexane **2** and then condensation of the product **3.3** with the appropriate arylpiperazine **4** (Scheme 3). Reaction was carried out for 30 s with the yield of 87%. In the next step, reaction time was 60 s with yields 16–50%.

The last ligand, that was 1-(6-[4-(aryl)piperazin-1-yl]hexyl)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-2(1H)-one **5.4** were obtained by a six-step reaction (Scheme 4). The 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-2(1H)-one **1.4** was obtained by four-step synthesis from *o*-nitroaniline **6**. In the first step, *o*-nitroaniline **6** was converted to 8-nitroquinoline **7** as a result of the Skraup reaction²⁵ with glycerol in H₂SO₄ (W = 42%). In the next stage, 8-nitroquinoline **7** was reduced by using SnCl₂²⁵ to 8-aminoquinoline **8** (W = 70%), which was then reduced to 1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-amine **9** with sodium in

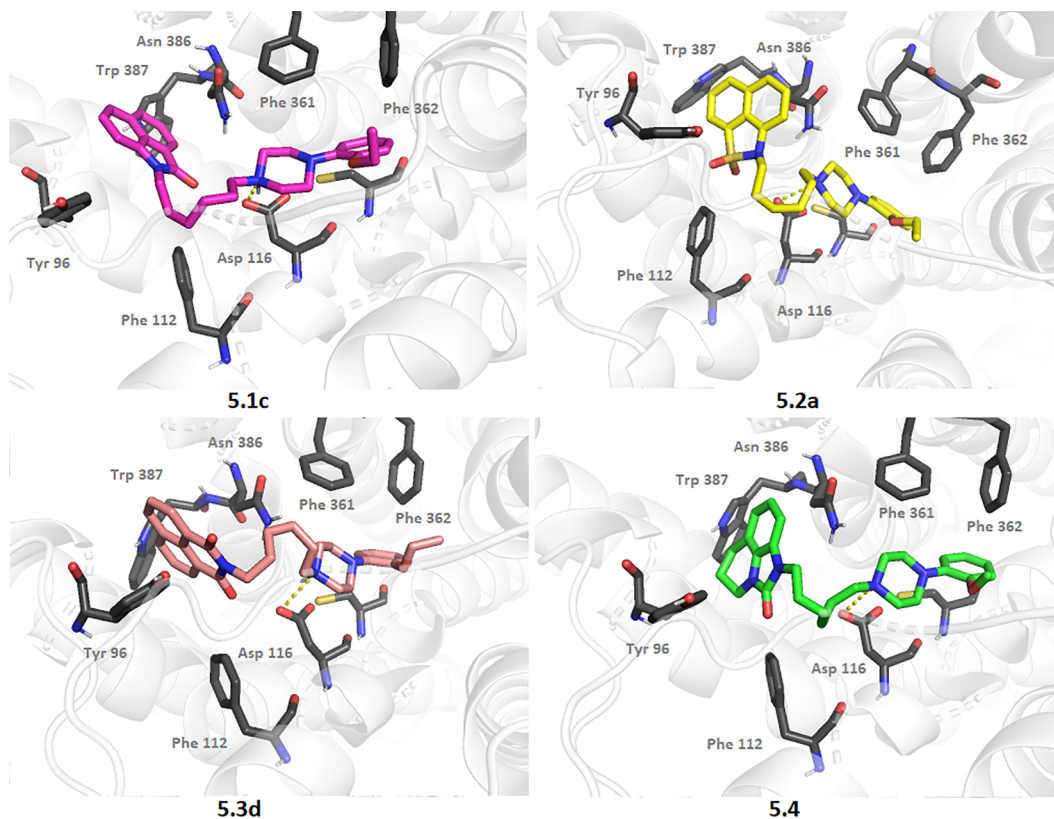
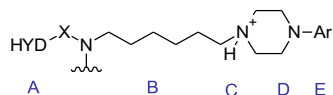


Fig. 2. Binding mode of the ligands into 5-HT_{1A}R. Distances between amino acid residues and ligands structural parts are shown in Table 2. Yellow dash lines represent H-bonds with Asp3.32 (Asp 116).^{36–39}

Table 2

Distances in [Å] between selected amino acid residues of 5-HT_{1A}R and the structural elements of ligands, HYD = hydrophobic part, X = carbonyl or sulfonyl, Ar = aryl group.



No. of comp.	A Phe112 (CH- π)	A Trp387 (CH- π)	B Cys120 (CH- π)	C Asp116 (H-bd)	D Phe361 (CH- π)	E Phe362 (CH- π)
5.1c	–	3.1	3.1	2.8	4.0	3.1
5.2a	–	3.9	3.3	2.9	3.6	3.4
5.3d	4.6	3.7	3.2	3.2	3.3	3.2
5.4	3.9	4.0	3.2	3.1	3.6	3.6

ethanol²⁶ (W = 77%). Compound 1.4 was obtained by reacting 1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-amine **9** with urea. Reactions were carried out in the CEM Discover reactor in the reagents alloy using a small additive (0.1%) of DMF. The product was obtained with yield of 77%. The next step involved *N*-alkylation of 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-2(1H)-one **1.4** with 1,6-dibromohexane **2**. Reaction was carried out for 15 s. The product **3.4** was obtained with a yield of 79%. In the last stage, the product **3.4** was condensed with the appropriate arylpiperazine **4**, extending the reaction time to 60 s with yield 84%.

For the obtained ligands, the affinities for selected serotonin (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇) and dopamine (D₂) receptors were *in vitro* evaluated using the radioligand displacement method. The obtained *K_i* affinity constants was calculated using the Cheng-Prusoff equation²⁷ and are collected in the Table 1. Of the 17 synthesized compounds, 11 showed activity towards 5-HT_{1A} receptors (*K_i* < 100 nm). Compounds **5.3a**, **5.4**, **5.1c**, **5.3d**, **5.2a** could be classified as dual 5-HT_{1A}/D₂

receptor ligands due to high and comparable affinities for both receptors. Compounds **5.1d** and **5.3b** demonstrated the highest selectivity for 5-HT_{1A} receptors.

In the case of compounds having a *o*-methoxy substituent at arylpiperazine (**5.3a** and **5.4**), high affinity for the 5-HT_{1A} and D₂ receptors was observed, which is consistent with the previously studies.^{22,28,29} The change of the substituent position from the *o*- to *m*-position (**5.1a** and **5.3b**) resulted in a decrease in affinity for D₂ receptors while maintaining high affinity for 5-HT_{1A} receptors. Moreover, a decrease in affinity for 5-HT_{2A} receptors with a simultaneous increase in affinity for 5-HT₆ was observed. Compounds **5.1b** and **5.3c** having a *para* substituent showed a significant decrease in activity.³⁰ Replacement of the methoxy by the ethoxy group in the *o*-position (**5.3d**) resulted in a significant decrease in affinity for the 5-HT₇ receptors with maintained the dual 5-HT_{1A}/D₂ activity.

Generally, changing from the electron-donating to the electron-withdrawing substituent of the arylpiperazine resulted in a decrease of the affinity for all receptors. In the case of the 5-HT₆ receptor, the significant decrease in affinity of 1,8-naphthalactam **5.1c** was observed compared to imide **5.3d** or sultam **5.2a**. Interestingly, in some sets of ligands the 1,8-naphthalimide derivatives showed higher affinity for 5-HT₆ receptors compared to sultam analogues. The arylsulfonamide or arylsulphonyl group was considered to be important in the context of affinity for 5-HT₆ receptors^{31,32}, however, results showed that the replacement of the sulfonamide group in **5.3d** by imide moiety has positively affects to the affinity for 5-HT₆ receptors.

The *in vitro* studies provided a promising dual ligands for 5-HT_{1A}/D₂ receptors. The highest affinities to mentioned dual receptors have ligands with an *o*-methoxyphenyl or *o*-ethoxyphenyl moieties, which well corresponds to the other studies.^{22,28,29} The type of terminal naphthyl moiety also affects on the activity. This effect was significant in the case of D₂ receptor compared to 5-HT_{1A}R. Results of the above SAR analysis pushed us to attempt to clarify it using molecular modelling approach.

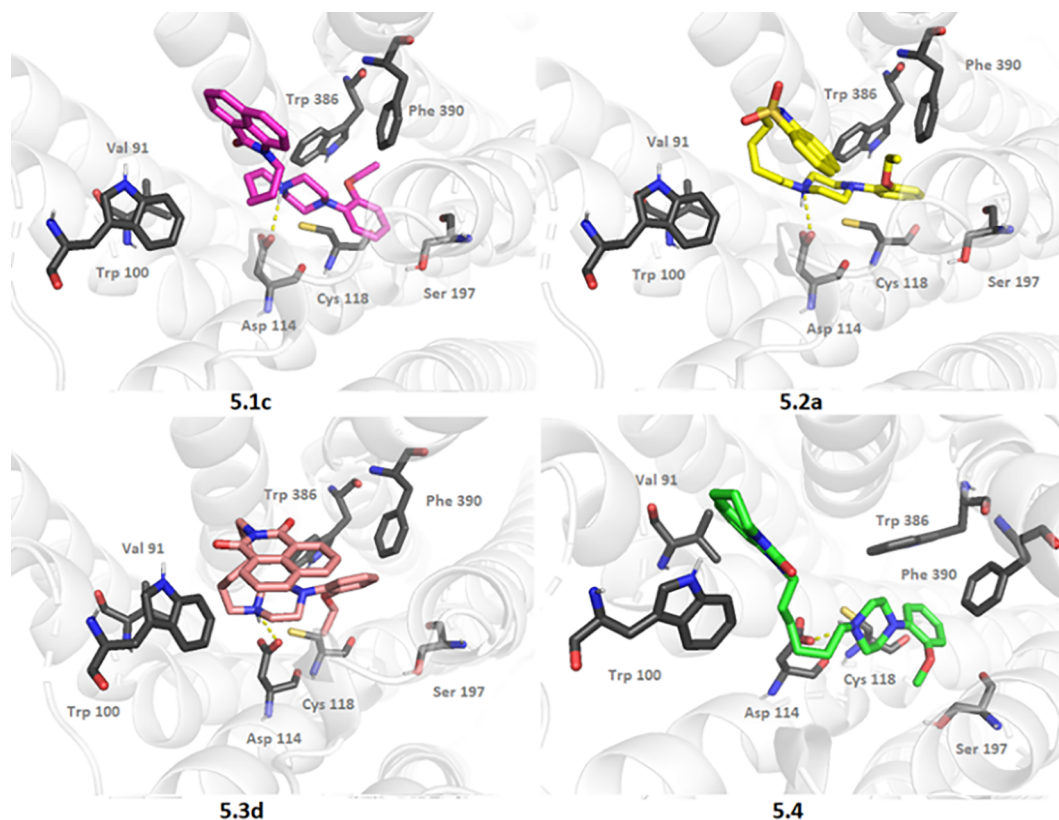
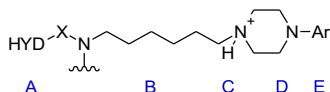


Fig. 3. Binding mode of the ligands D₂R. Distances between amino acid residues and ligands structural parts are shown in Table 3. Yellow dash lines represent H-bonds with Asp3.32 (Asp114).^{36–38,40}

Table 3

Distances in [Å] between amino acid residues of D₂ and the structural elements of ligands HYD = hydrophobic part, X = carbonyl or sulfonyl, Ar = aryl group.



No. of comp.	A Val91 (CH- π)	A Trp100 (CH- π)	C Asp114 (H-bd)	E Trp386 (CH- π)	E Cys118 (CH- π)	E Phe390 (CH- π)
5.1c	–	–	3.2	3.2	4.1	–
5.2a	–	–	2.8	–	3.8	3.4
5.3d	–	3.6	2.8	–	–	3.3
5.4	3.1	3.2	2.9	3.7	3.3	3.4

From all set of compounds, these substituted with an ethoxy or methoxy group to terminal phenyl moiety (5.1c, 5.2a, 5.3d and 5.4) were selected to study by molecular docking. The pharmacological profile provided these compounds as dual ligands of 5-HT_{1A}/D₂ receptors with additionally increased affinity to 5-HT₇ receptors.

In the case of 5-HT_{1A} receptor, the active conformations of the tested ligands were very similar to each other. The arrangement of molecules in the receptor binding pocket is consistent with the postulated in other publications.^{28,33} Ligands formed a hydrogen bond (salt bridge) between the positively ionized center on the basic nitrogen atom of the arylpiperazine and the aspartic acid Asp3.32. (Asp 116, the H-bond distances were range 2.8–3.2 Å) (Fig. 2, Table 2). This bond is crucial for ligand binding to aminergic receptors.³⁴ The ligand conformations are stabilized by a number of hydrophobic interactions, with amino acid residues such as Phe 361, Phe 112 which is consistent with previously studies on LACP.^{28,35} The high similarity between active conformations of the studied ligands (see Fig. 4, Table 4) well correlate with their similar affinities to 5-HT_{1A} receptor ($K_i = 19$ –48 nM).

For the D₂ receptor (PDB ID: 6CM4), the obtained active conformations of ligands differed more than in the case of the 5-HT_{1A} receptor. As previously, the key for activity was the binding of a basic nitrogen atom to aspartic acid Asp3.32 (Asp114, distances range 2.8–3.2 Å). For all ligands, the π stacking between the aromatic ring E (Table 3) and the phenylalanine from the 6 helix was noticeable. Docking results showed that the conformations of the ligands' fragment A were the most diverse. In the case of 5.1c, 5.2a, 5.3d these moieties were located between helices 6 and 7. Compound 5.4 was bent in such a way that fragment A (Fig. 3, Table 3) was placed between helices 2 and 7 and that location was forced by π - π interactions with the aromatic residue Trp100, and others in E part. Interestingly, 5.4 possessed the highest affinity to the D₂R and the ligand-protein complex was stabilized by the largest number of hydrophobic interactions, postulated as a key in the context of D₂ receptor activity.⁴¹ This is a good explanation of the highest affinity of ligand 5.4 for the D₂ receptor among the tested compounds.

Summarizing, among all the studied compounds, five (5.3a, 5.4, 5.1c, 5.3d, 5.2a) could be classified as dual ligands for 5-HT_{1A} and D₂ receptors and these compounds are the most promising as a new antidepressants. The compounds 5.3a and 5.4 showed *in vitro* the highest binding towards mentioned receptors. The similar binding for 5-HT_{1A}/D₂ receptors seems to be beneficial, considering the potential use in the treatment of CNS diseases.⁴² Although ligand 5.3d demonstrated the most favorable properties, it also had a high affinity to 5-HT₇ receptors. Compound 5.4 was solely dual ligand of 5-HT_{1A} and D₂ receptors.

Molecular docking studies showed that the very similar and coherent bonding mode of selected dual ligands into the 5-HT_{1A} receptor could be associated with a very comparable *in vitro* activity. In the case of the D₂ receptor, a greater variety of active conformations was obtained. The most different conformation into D₂R binding pocket was adopted by the ligand 5.4 which deviated towards the second helix in

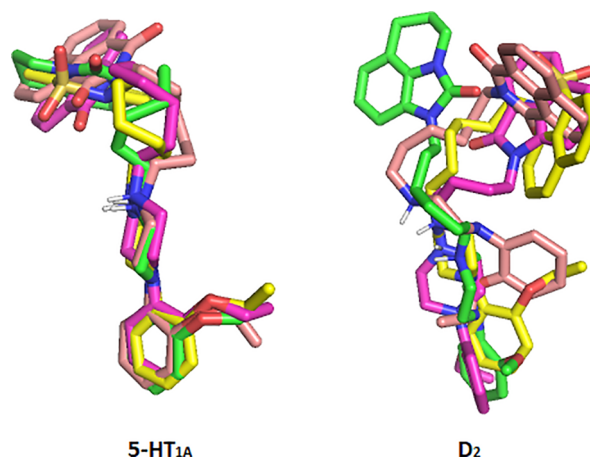


Fig. 4. Imposed on each other active conformations of ligands 5.1, 5.3d, 5.2a, 5.4 5-HT_{1A}R and D₂R.^{38–42}

Table 4

Root-mean-square deviation of docked ligand compare to 5.4, values calculated to match up to 3 nitrogen atoms in the molecular structure.

RMSD/No. of compound	5-HT _{1A} R	D ₂ R
5.1c	0.144	0.655
5.2a	0.469	0.711
5.3d	0.113	1.260

comparison to sixth for its analogues. In this case, the complex ligand-receptor was stabilized by the largest number of hydrophobic interactions, which could be linked with its highest affinity for the D₂ receptor.

Acknowledgments

The research was supported by the National Centre for Research and Development, LIDER VI project (LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015).

Computing resources from Academic Computer Centre CYFRONET AGH (member of PL-Grid Infrastructure, grant lcaps2019) are gratefully acknowledged.

The compounds described in the manuscript have been included in the patent application number: P. 429473.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.06.029>.

References

- Yohn CN, Gergues MM, Samuels BA. *Mole Brain*. 2017;10:28.
- Babb JA, Linnros SE, Commons KG. *Neuropharm*. 2018;141:139–147.
- Le François B, Zhang L, Mahajan GJ, Stockmeier CA, Friedman E, Albert PR. *J Neurosci*. 2018;38(38):8200–8210.
- Steinberg L, Underwood M, Bakalian MJ, Kassir S, Mann JJ, Arango V. *Biol Psychiatry*. 2018;83(9):379.
- Szewczyk B, Albert PR, Burns AM, et al. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009;12:155–168.
- Etievant A, Bétry C, Haddjeri N. *Open Neuropsychopharmacol J*. 2010;3:1–12.
- Trivedi MH, Thase ME, Osuntokun O, et al. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(3):387–396.
- Thase ME, Corya SA, Osuntokun O, et al. *J Clin Psychiatry*. 2007;68(2):224–236.
- Goldberg JF, Burdick KE, Endick CJ. *Am J Psychiatry*. 2004;161(3):564–566.
- Sheffrin M, Driscoll HC, Lenze EJ, et al. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(2):208–213.
- Eaves, S.; Rey. J.A.; *PT* 2016, 41(7), 418–422.
- Hellerstein DJ, Flaxer J. *Core Evid*. 2015;10:49–62.
- Stahl SM, Sommer B, Allers KA. *J Sexual Med*. 2011;8(1):15–27.
- Lepailleur A, Bureau R, Paillet-Loilier M, et al. *J Med Chem*. 2005;45:1075–1081.
- Leopoldo M, Lacivita E, Berardi F, Perrone R, Hedlund PB. *Pharmacol Ther*. 2011;129(2):120–148.
- Vermeulen ES, van Smeden M, Schmidt AW, Sprouse JS, Wikström HV, Grol CJ. *J*

- Med Chem.* 2004;47(22):5451–5466.
17. Kikuchi C, Ando T, Watanabe T, et al. *J Med Chem.* 2002;45:2197–2206.
 18. López-Rodríguez ML, Porras E, Morcillo B, et al. *J Med Chem.* 2003;46:5638–5650.
 19. Kikuchi C, Nagaso H, Hiranuma T, Koyama M. *J Med Chem.* 1999;42:533–535.
 20. Kowalski P, Kowalska T, Bojarski AJ, Duszyńska B. *J Heterocycl Chem.* 2007;44(4):889–893.
 21. Kuz'min VE, Artemenko AG, Polischuk PG, et al. *J Mol Model.* 2005;11(6):457–467.
 22. Lacivita E, Leopoldo M, Masotti AC, et al. *J Med Chem.* 2009;52(23):7892–7896.
 23. Jaśkowska J, Drabczyk AK, Kulaga D, Zaręba P, Majka Z. *Curr Chem Lett.* 2018;7:81–86.
 24. Jaśkowska J, Zaręba P, Śliwa P, Pindelska E, Satała G, Majka Z. *Molecules.* 2019;24:1609–1628.
 25. Vershinina IA, Gornukhin OV, Lubimova TV, Golubchikov OA, Semeikin AS. *J General Chem.* 2016;86(9):2232–2235.
 26. Hoechst-Roussel Pharmaceuticals Inc., US5500423 1996, A.
 27. Cheng Y, Prusoff W. *Biochem Pharmacol.* 1973;22:3099–3108.
 28. Kowalski P, Śliwa P, Satała G, Kurczab R, Bartos I, Zuchowicz K. *Arch Pharm Chem Life Sci.* 2017;350:10.
 29. Kuipers W, Kruse CG, van Wijngaarden I, et al. *J Med Chem.* 1997;40:300–312.
 30. Škalović V, Andrić D, Roglić G, Kostić-Rajačić S, Schrattenholz A, Šoškić V. *Eur J Med Chem.* 2005;40:481–493.
 31. Kim HJ, Doddareddy MR, Choo H, et al. *J Chem Inf Model.* 2008;48(1):197–206.
 32. López-Rodríguez ML, Benhamú B, de la Fuente T, Sanz A, Pardo L, Campillo M. *J Med Chem.* 2005;48(13):4216–4219.
 33. Nowak M, Kołaczkowski M, Pawłowski M, Bojarski AJ. *J Med Chem.* 2006;49(1):205–214.
 34. Shi L, Javitch JA. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002;42:437–467.
 35. Warszycki D, Rueda M, Mordalski S, et al. *J Chem Inf Model.* 2017;57(2):311–321.
 36. Trott O, Olson AJ. *Comp Chem.* 2010;31(2):455–461.
 37. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
 38. MarvinSketch (calculation module developed by ChemAxon), <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>, 2014.
 39. http://gpccrdb.org/structure/homology_models/5ht1a_human_intermediate, access: 20.01.2019.
 40. <http://www.rcsb.org/structure/6CM4>, access: 20.01.2019.
 41. Wang S, Che T, Levit A, Shoichet BK, Wacker D, Roth BL. *Nature.* 2018;555:269–273.
 42. Ullah N. *Med Chem.* 2014;10(5):484–496.

Patent D3

Zaręba P., Jaśkowska J., Satała G., *Nowe N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów oraz sposób wytwarzania nowych N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów*, **PL240473B1, 2022.**

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **240473**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429473**

(22) Data zgłoszenia: **01.04.2019**

(51) Int.Cl.

C07D 209/90 (2006.01)

C07D 487/00 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 277/62 (2006.01)

C07D 417/04 (2006.01)

C07D 513/00 (2006.01)

C07D 217/16 (2006.01)

(54) **N-6(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo /
tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów oraz sposób ich otrzymywania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

05.10.2020 BUP 21/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

11.04.2022 WUP 15/22

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA KRAKOWSKA
IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI, Kraków, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**PRZEMYSŁAW ZARĘBA, Bulowice, PL
JOLANTA JAŚKOWSKA, Kraków, PL
GRZEGORZ SATAŁA, Kraków, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Andrzej Stachowski

PL 240473 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest grupa nowych pochodnych arylopiiperazyny, obejmująca:

N-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo imidów,
N-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo amidów,
N-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo sulfonamidów,
N-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych tetrahydrochinolino amidów,
N-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych tetrahydrochinolino sulfonamidów.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania wspomnianych wyżej nowych pochodnych arylopiiperazyny.

Te nowe związki, będące ligandami receptorów serotoninowych oraz dopaminowych, mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) u ludzi. Wiążą się one z wybranymi receptorami serotoninowymi (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇) oraz dopaminowymi (D₂), kluczowymi w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, takich jak depresja, zaburzenie afektywne dwubiegunowe, schizofrenia, zaburzenia lękowe lub zaburzenia snu. W celu uzyskania ich akceptowalnej farmaceutycznie formy, nowe związki mogą zostać przeprowadzone w znany sposób w sole kwasu chlorowodorowego, które wykazują dobrą rozpuszczalność w wodzie, metanolu oraz etanolu.

W wynalazku opisano aktywność biologiczną nowych związków, właściwości fizykochemiczne oraz sposób ich wytwarzania.

W poszukiwanie nowych leków działających na schorzenia ośrodkowego układu nerwowego, takie jak depresja, zaburzenie afektywne dwubiegunowe, schizofrenia, zaburzenia lękowe lub zaburzenia snu jako klasyczne cele receptorowe wymienia się: receptory serotoninowe 5-HT_{1A} [J. Savitz, I. Lucki, W. C. Drevets, „5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder”, *Prog Neurobiol.* 2009, 88(1), 17–31], i 5-HT_{2a} [A. Wesołowska, *Pharmacol Rep.*, „Potential role of the 5-HT₆ receptor in depression and anxiety: an overview of preclinical data”, 2010, 62(4), 564–77], jak również receptory dopaminowe D₂ [A. Etievant, C. Bétry, N. Haddjeri, „Partial Dopamine D₂/Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Agonists as New Therapeutic Agents”, *The Open Neuropsychopharmacology Journal* 2010, 3, 1–12].

Nowsze cele receptorowe obejmują między innymi receptory 5-HT₆ [M. Kołaczkowski, M. Marcinkowska, A. Bucki, M. Pawłowski, K. Mitka, J. Jaskowska, P. Kowalski i inni, „Novel Arylsulfonamide Derivatives with 5-HT₆/5-HT₇ Receptor Antagonism Targeting Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia”, *Journal of Medicinal Chemistry* 2014, 57(11), 4543–4557] i 5-HT₇ [L. N. Cates, A. J. Roberts, S. Huitron-Resendiz, P. B. Hedlund, „Effects of lurasidone in behavioral models of depression. Role of the 5-HT₇ receptor subtype”. *Neuropharmacology*, 2013, 70, 211–217].

W ostatnich latach wykazano skuteczność leków działających jednocześnie na kilka celów receptorowych, zwanych dalej ligandami multifunkcyjnymi. Przykładem ligandów multifunkcyjnych są dualne ligandy receptorów 5-HT_{1A} / D₂ w leczeniu depresji [A. Etievant, C. Bétry, N. Haddjeri, „Partial Dopamine D₂/Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Agonists as New Therapeutic Agents”, *The Open Neuropsychopharmacology Journal* 2010, 3, 1–12].

Grupą szeroko stosowaną w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego są dłuogołańcuchowe arylopiiperazyny. Związki należące do dłuogołańcuchowych arylopiiperazyn są stosowane w leczeniu od wielu lat, lecz zainteresowanie nimi wciąż nie gaśnie. W ostatnich latach nowe ligandy, wywodzące się z grupy dłuogołańcuchowych arylopiiperazyn (wilazodon, lurazydon, brekspiprazol, kariprazyna) zostały dopuszczone do użycia w leczeniu chorób OUN [T. J. Kreys, „The future of psychotropics: Did santa forget about mental illness?”, *Mental Health Clinician* 2012, 2(6), 135–137] oraz [J. S. Frankel, T. L. Schwartz, „Brexipiprazole and cariprazine: distinguishing two new atypical antipsychotics from the original dopamine stabilizer aripiprazole”, *Ther Adv Psychopharmacol.* 2017, 7(1), 29–41].

Znane są także dłuogołańcuchowe arylopiiperazyny, wśród których wymienić można ligandy zawierające w swojej strukturze fragment 1,8-naftyloamidu lub sulfonamidu [A. Lepailleur, R. Bureau, M. Paillet-Loillier, F. Fabis, N. Saettel, S. Lemaître, F. Dauphin, A. Lesnard, J. C. Lancelot, S. Rault, „Molecular Modeling Studies Focused on 5-HT₇ versus 5-HT_{1A} Selectivity. Discovery of Novel Phenylpyrrole Derivatives with High Affinity for 5-HT₇ Receptors”, *J. Med. Chem.* 2005, 45, 1075], względnie imidu [P. Kowalski, T. Kowalska, A. J. Bojarski, B. Duszyńska, „Synthesis and biological properties of 1,8-naphthalimidebutylamines. Serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT₇ binding data and pass-assisted search”, *Journal of Heterocyclic Chem.* 2007, 44(4), 889–93]. W literaturze opisano niektóre związki należące do wyżej

wymienionej grupy jako mogące mieć powinowactwo do receptorów 5-HT₇ i 5-HT_{1A}. Jednakże w opublikowanej w powyższej literaturze grupie związków ujawniono niewiele ligandów. Co więcej, ligandy te nie posiadają scharakteryzowanego pełnego profilu powinowactwa do wspomnianych wcześniej receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇, D₂).

W literaturze naukowej i patentowej nie ujawniono dotąd pochodnych arylopiperazyny, zawierających fragment tetrahydrochinoliny zamiast naftalenu, które jak wykazano w niniejszym wynalazku charakteryzują się znacznie korzystniejszym profilem farmakologicznym w kontekście leczenia chorób OUN.

Niektóre publikacje opisują wzrost powinowactwa długołańcuchowych arylopiperazyn do wybranych receptorów serotoninowych, wraz ze wzrostem długości łańcucha alkilowego [E. Lacivita, M. Leopoldo, A. C. Masotti, C. Inglese, F. Berardi, R. Perrone, S. Ganguly, M. Jafurulla, A. B. Chattopadhyay, „Synthesis and Characterization of Environment-Sensitive Fluorescent Ligands for Human 5-HT_{1A} Receptors with 1-Arylpiperazine Structure”, *J. Med. Chem.* 2009, 52(23), 7892–6]. W związku z tym uzasadnione jest poszukiwanie nowych ligandów o wydłużonym łańcuchu alkilowym w stosunku do wcześniej ujawnionych związków.

W literaturze opisano do tej pory 11 związków należących do *N*-6-(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo/tetrahydrochinolino imidów/amidów/sulfonamidów, należących do związków o budowie podobnej do związków z grupy będącej przedmiotem niniejszego wynalazku, wśród których wymienia się:

1-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,

{6-[4-(fenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,

{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,

2-{6-[4-(fenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

[M. L. Lopez-Rodriguez, E. Porras, M. Morcillo, i inni, „Optimization of the pharmacophore model for 5-HT₇R antagonism. Design and synthesis of new naphtholactam and naphthosultam derivatives”, *Journal of Medicinal Chemistry* 2003, 46(26), 5638–5650].

2-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,

2-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,

2-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,

2-{6-[4-(2-metylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,

2-{6-[4-(fenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

[S. A. Andronati, T. A. Voronina, T. L. Karaseva i inni, „Affinity of 1-aryl-4-[(naphthalimido)alkyl]piperazines to 5-HT_{1A} receptors and influence on anxiety of rats in the conflict situation test”, *Dopovidi Natsional'noi Akademii Nauk Ukraini* 2004, (4), 169–174].

W powyżej przywołanych publikacjach opisano długą i uciążliwą metodę syntezy związków należących do wspomnianej grupy, obejmującą dwie dwuetapowe ścieżki syntezy [M. Leopoldo, E. Lacivita, F. Berardi, R. Perrone, P. B. Hedlund, „Serotonin 5-HT₇ receptor agents: Structure-activity relationships and potential therapeutic applications in central nervous system disorders”, *Pharmacol Ther.* 2011, 129(2), 120–148, C. Kikuchi, T. Ando, T. Watanabe, H. Nagaso, M. Okuno, T. Hiranuma, M. Koyama, „2a-[4-(Tetrahydropyridoinol-2-yl)butyl]tetrahydrobenzindole Derivatives: New Selective Antagonists of the 5-Hydroxytryptamine₇ Receptor”, *J. Med. Chem.* 2002, 45, 2197–2206, C. Kikuchi, H. Nagaso, T. Hiranuma, M. Koyama, „Tetrahydrobenzindoles: Selective Antagonists of the 5-HT₇ Receptor”, *J. Med. Chem.* 1999, 42, 533–535]. Pierwsza z nich polega na reakcji *N*-alkilowania arylopiperazyny dibromoalkanami, a następnie kondensacji produktu z 1,8-naftolaktamem / sultamem. Druga ścieżka obejmuje *N*-alkilowanie 1,8-naftolaktamu / sultamu, a następnie kondensację z wybraną arylopiperazyną. Reakcje prowadzono w atmosferze gazu obojętnego, w obecności NaH, z zastosowaniem dużych ilości toksycznych rozpuszczalników, takich jak acetonitryl lub dimetyloformamid (DMF). Czas reakcji wynosił 2–72 godziny.

Związki te nie wchodzą w przedmiotowy zakres niniejszego wynalazku.

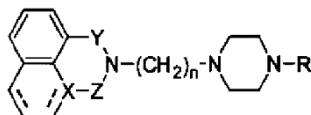
Mając na uwadze nowe trendy syntezy organicznej i zasady dbałości o środowisko, uzasadnione jest więc poszukiwanie nowych, aktywnych biologicznie związków przydatnych w leczeniu schorzeń OUN oraz metod syntezy tych związków, ograniczających ilości używanych toksycznych odczynników i rozpuszczalników.

Celem tego wynalazku jest dostarczenie nowych związków, pochodnych arylopiperazyny, będących ligandami receptorów serotoninowych oraz dopaminowych, stanowiących grupę nowych *N*-6-(4-arylopipe-

razyn-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo imidów/amidów/sulfonamidów i *N*-6-(4-arylopi-perazyn-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych tetrahydrochinolino amidów/sulfonamidów, użytecznych w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego.

Drugim celem wynalazku jest opracowanie takiego sposobu wytwarzania tego typu związków, w którym znacznie ogranicza się lub nawet eliminuje ilość szkodliwych rozpuszczalników, co udało się osiągnąć dzięki zastosowaniu syntezy w obecności pola promieniowania mikrofalowego.

Przedmiotem wynalazku jest grupa nowych związków, należących do grupy długołańcuchowych arylopiiperazyn, mających strukturę przedstawioną wzorem ogólnym (I).



(I)

gdzie:

X oznacza C, N,

Z oznacza CO, SO₂, CS,

Y oznacza grupę CO z wyłączeniem pochodnych tetrahydrochinoliny, albo brak tego podstawnika (brak atomu, brak grupy funkcyjnej),

—/— oznacza wiązanie pojedyncze albo podwójne,

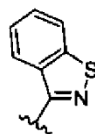
n = 6,

R oznacza grupę aryłową o wzorze ogólnym (IA) albo (IB):



(IA)

albo



(IB)

gdzie dla R o wzorze (IA):

R₁ oznacza H, Cl, F, CF₃, OC₂H₅, NO₂, C₆H₅, OCH₃,

R₂ oznacza H, Cl, CF₃, OCH₃, C₆H₅,

przy czym w związkach cyklicznych R₁ = R₂ i oznaczają C₃H₃N, OCONH, OCH₂CONH,

R₃ oznacza H, Cl, Br, CF₃, OCH₃,

E, F oznacza N lub C.

Wynalazek obejmuje następujące związki, określone ogólnym wzorem (I):

– **Związki należące do podgrupy *N*-6-(4-arylopiiperazyn-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftyloamidów:**

- 1) 1-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 2) 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 3) 1-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 4) 1-{6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 5) 1-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 6) 1-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 7) 1-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 8) 1-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 9) 1-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 10) 1-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 11) 1-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 12) 1-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 13) 1-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- 14) 1-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,

- 15) 1-{6-[4-(2-piryminylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
 16) 1-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
 17) 1-{6-[4-(8-chinolinyl)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
 18) 1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
 19) 1-{6-[4-(2-okso-2,3-dihydro-1,3-benzoksazol-7-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
- **Związki należące do podgrupy N-6-(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksyloowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylosulfonamidów:**
- 20) 2-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 21) 2-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 22) 2-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 23) 2-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 24) 2-{6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 25) 2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 26) 2-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 27) 2-{6-[4-(2-fluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 28) 2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 29) 2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 30) 2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
 31) 2-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
- **Związki należące do podgrupy N-6-(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksyloowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftyloimidów:**
- 32) 2-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 33) 2-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 34) 2-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 35) 2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 36) 2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 37) 2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 38) 2-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-2H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 39) 2-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 40) 2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 41) 2-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 42) 2-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 43) 2-{6-[4-([1-okso-2,3-dihydro-1H-izoindol-2-ilo]heksylo)-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
 44) 2-{6-[4-([1,1'-bifenylo]-2-ylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion,
- **Związki należące do podgrupy N-6-(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksyloowych pochodnych cyklicznych tetrahydrochinolino amidów:**
- 45) 1-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on,
 46) 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on,
 47) 1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on,
 48) 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-innidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-tion,
- **Związek należący do podgrupy N-6-(4-arylopiperazyn-1-ylo)heksyloowych pochodnych cyklicznych tetrahydrochinolino sulfonamidów:**
- 49) 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinolino-2,2-ditlenek.

Pochodne arylopiperazyny o ogólnym wzorze (I) wykazują powinowactwo do wybranych receptorów, wymienionych jako cele terapeutyczne w leczeniu zaburzeń OUN, takich jak receptory dopaminergiczne D₂ i serotonergiczne, a w szczególności 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇.

Związki według wynalazku znajdują zastosowanie w leczeniu i/lub zapobieganiu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, takich jak schizofrenia, zaburzenie afektywne i dwubiegunowe, zaburzenia maniakalne, depresja, zaburzenia lękowe, delirium alkoholiczne, agresja, pobudzenie psychomotoryczne, zaburzenia snu o różnej etiologii, zespoły odstawienne o różnej etiologii, chorobie Alzheimera, objawy psychopatologicznych i zaburzeniach neurologicznych w przebiegu innych chorób centralnego i obwodowego układu nerwowego.

W trakcie badań ich właściwości, okazało się że najkorzystniejsze w zastosowaniach terapeutycznych do leczenia zaburzeń OUN są następujące związki:

- związek o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza C, Z oznacza CO, Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

// oznacza wiązanie podwójne, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym: R₁ oznacza H, R₂ oznacza Cl, R₃ oznacza H, E oznacza C, F oznacza C.

- związek o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza C, Z oznacza CO, Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

// oznacza wiązanie podwójne, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym: R₁ oznacza H, R₂ oznacza H, R₃ oznacza H, E oznacza N, F oznacza C.

- związek o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-pirymidynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza C, Z oznacza CO, Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

// oznacza wiązanie podwójne, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym: R₁ oznacza H, R₂ oznacza H, R₃ oznacza H, E oznacza N, F oznacza N.

- związek o nazwie chemicznej 2-[6-(4-[[1,1'-bifenylo]-2-ylo]piperazyn-1-ylo)heksylo]-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza C, Z oznacza CO, Y oznacza CO,

// oznacza wiązanie podwójne, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym: R₁ oznacza C₆H₅, R₂ oznacza H, R₃ oznacza H, E oznacza C, F oznacza C.

- związek o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on, i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza N, Z oznacza CO, Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

// oznacza wiązanie pojedyncze, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową opisaną wzorem ogólnym (IA), w którym: R₁ oznacza OCH₃, R₂ oznacza H, R₃ oznacza H, E oznacza C, F oznacza C.

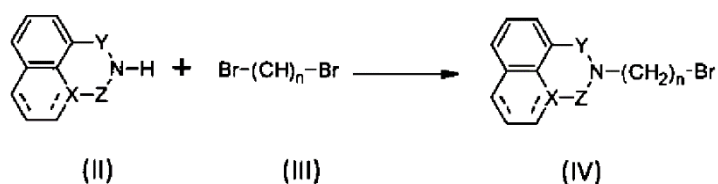
- związek o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij] chinolin-2(1H)-on i o wzorze ogólnym (I),

gdzie: X oznacza N, Z oznacza CO, Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

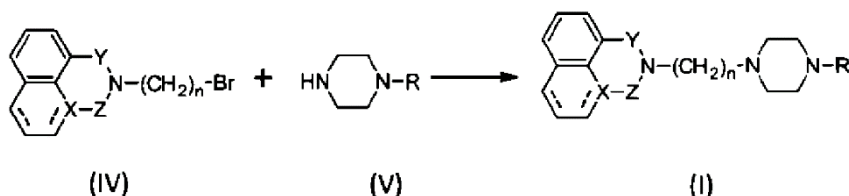
// oznacza wiązanie pojedyncze, n wynosi 6, R oznacza grupę arylową opisaną wzorem ogólnym (IB).

Związki opisane wzorem ogólnym (I) otrzymuje się według wynalazku w wyniku dwuetapowej syntezy, obejmującej N-alkilowanie dibromoalkanami 1,8-naftylo/tetrahydrochinolino imidów/amidów/sulfonamidów, w środowisku zasadowym, a następnie kondensację tak powstałego półproduktu z arylopiperazyną, zgodnie z przedstawionym poniżej dwuetapowym schematem syntezy:

Etap 1



Etap 2



W pierwszym etapie syntezy związek opisany wzorem ogólnym (II), tzn. cykliczny 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imid / amid / sulfonamid poddaje się reakcji *N*-alkilowania z dibromoalkanami – wzór ogólny (III) w obecności czynnika zasadowego, takiego jak K_2CO_3 , Na_2CO_3 , KOH, NaOH, trietyloamina oraz katalizatora przeniesienia fazowego (PTC), takiego jak bromek tetra-*n*-butyloamoniowy (TBAB), chlorek tetraetyloamoniowy (TEAC), 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan (DABCO) i rozpuszczalnika (stosowanego w relatywnie niewielkiej ilości), takiego jak *N,N*-dimetyloformamid (DMF), acetonitryl (ACN), woda albo bez rozpuszczalnika.

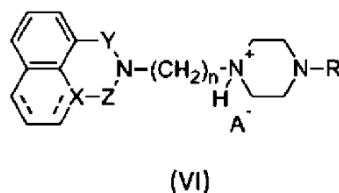
Po sporządzeniu mieszaniny, zawierającej na 1 mol cyklicznego 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidu / amidu / sulfonamidu 3 mole dibromoalkanów, 3 mole czynnika zasadowego, 0,1 mola katalizatora PCT i do 50 cm³ rozpuszczalnika, mieszaninę podaje się działaniu pola mikrofalowego przez 15–60 sekund w reaktorze mikrofalowym o mocy wyjściowej mikrofal 50–200 W. Tak otrzymany półprodukt, opisany wzorem ogólnym (IV) oddziela się od środowiska reakcji w znany sposób przez dodanie wody i ekstrakcję chlorkiem metylenu, a następnie po oddestylowaniu chlorku metylenu półprodukt maceruje się w heksanie i kieruje do drugiego etapu syntezy.

W drugim etapie syntezy, półprodukt otrzymany z pierwszego etapu (związek opisany wzorem IV), poddaje się reakcji kondensacji z arylopiperazyną o wzorze ogólnym (V) w obecności czynnika zasadowego, takiego jak K_2CO_3 , Na_2CO_3 , KOH, NaOH, trietyloamina, katalizatora przeniesienia fazowego PTC, takiego jak bromek tetra-*n*-butyloamoniowy (TBAB), chlorek tetraetyloamoniowy (TEAC), 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan (DABCO) i rozpuszczalnika (stosowanego w relatywnie niewielkiej ilości), takiego jak *N,N*-dimetyloformamid (DMF), acetonitryl (ACN), woda albo bez rozpuszczalnika.

Po sporządzeniu mieszaniny, zawierającej na 1 mol półproduktu (wzór IV) 0,95 mola arylopiperazyny, 3 mole czynnika zasadowego, 0,1 mola katalizatora PCT i do 50 cm³ rozpuszczalnika, mieszaninę podaje się działaniu pola mikrofalowego przez 15–60 sekund w reaktorze mikrofalowym o mocy wyjściowej mikrofal 50–200 W. Tak otrzymany produkt, opisany wzorem ogólnym (I) oddziela się w znany sposób przez dodanie od środowiska reakcji wody i odsączenie, po czym surowy produkt oczyszcza się przez krystalizację z metanolu.

Związki wyjściowe o wzorach (II), (III) i (V) są znane oraz dostępne w handlu.

Otrzymane powyższym sposobem związki o wzorze ogólnym (I) mają charakter zasadowy, gdyż zawierają trzeciorzędową grupę aminową przy pierścieniu piperazyny. Mogą one tworzyć sole addycyjne z kwasami, przedstawione na wzorze (VI):



gdzie A oznacza dowolny anion kwasowy.

W celu określenia właściwości biologicznych nowych związków będących przedmiotem wynalazku, jako ligandów receptorów serotoninowych i dopaminowych, testowano je w postaci soli addycyjnych (chlorowodoroków) otrzymanych przez rozpuszczenie wspomnianych zasadowych związków w eterze dietylowym lub acetonie i wytworzenie chlorowodoroków przy użyciu roztworu HCl w dioksanie.

Nowe związki będące *N*-6(4-arylopiperazyno-1-yl)heksyłowymi pochodnymi cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego, w tym zaburzeń psychiatrycznych oraz neurodegradacyjnych, co pokazuje ich profil farmakologiczny przedstawiony poniżej w formie tabeli, określony przez stałe powinowactwa względem wybranych receptorów (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇, D₂). Nowe związki będące przedmiotem wynalazku wytwarza się ekologiczną bezrozpuszczalnikową metodą, korzystną w kontekście ochrony środowiska naturalnego oraz minimalizacji kosztów produkcji.

Nowe pochodne arylopiperazyny, stanowiące przedmiot wynalazku oraz sposób ich syntezy przybliżono w poniższych przykładach.

Związki opisane wzorem (IV), będące półproduktami do syntezy nowych pochodnych arylopiperazyny, wytworzono zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 1–12.

We wszystkich poniższych przykładach reakcje w warunkach mikrofalowych przeprowadzono w reaktorze mikrofalowym z regulowaną mocą mikrofal. Odczynniki do syntez zakupiono w firmie Sigma Aldrich. Wszystkie rozpuszczalniki stosowane w procesie syntezy i oczyszczania pochodziły z POCH (Polskie Odczynniki Chemiczne).

Analityczną chromatografię cienkowarstwową (TLC) wykonano przy zastosowaniu mieszaniny chloroform: metanol w stosunku 9 : 1 jako eluentu, stosując płytki z żelu krzemionkowego Sigma Aldrich na arkuszach aluminiowych ze wskaźnikiem fluorescencji 254 nm (grubość warstwy 200 μm, średnica porów 60 Å, cząsteczka 8,0–12,0 μm rozmiar).

Dla poszczególnych substancji przedstawiono współczynniki retencji TLC R_F. Do analizy wykorzystano światło UV o długości fali 254 nm.

Analizę HPLC (wysokosprawna chromatografia cieczowa) wykonano za pomocą urządzenia HPLC Perkin Elmer Series 200 z kolumną XTerra RP C-18 (wielkość ziarna 3,5 μm, 4,6 x 150 mm) stosując jako eluent mieszaninę metanol : woda 1 : 1 zakwaszoną 0,1% kwasem mrówkowym, stosując detektor UV-VIS (detektor światła ultrafioletowego i widzialnego), przy długości fali 254 nm.

Dla poszczególnych substancji przedstawiono czasy retencji R_T.

Czystość otrzymanych produktów określono przy zastosowaniu techniki HPLC, stosując detekcję UV-VIS przy długości fali 254 nm.

Temperatury topnienia mierzono za pomocą aparatu Böetius.

Widma IR (podczerwieni) wykonano na spektrometrze FTS-165 (FTIR Biorad).

Widma ¹H NMR (magnetycznego rezonansu jądrowego) rejestrowano na spektrometrze Bruker Avance 400 MHz, stosując TMS (tertametylosilan) jako wzorzec. Analizy UPLC-MS (ultrasprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas) została przeprowadzona na aparacie Waters Acquity TQD z detektorem diodowym (DAD). Do spektrometrii mas zastosowano tryb jonizacji przez elektro rozpylanie (ESI). Wydajność otrzymanych związków obliczono na podstawie masy otrzymanego chlorowodoroku związku określonego ogólnym wzorem (I).

Dla wszystkich półproduktów otrzymanych w przykładach 1–12 przedstawiono poniżej analizy potwierdzające strukturę, charakterystyczne właściwości fizykochemiczne i czystość otrzymanych połączeń. Przy prezentacji wyników analiz zastosowano anglosaski zapis liczbowy, według którego miejsca dziesiątne oddziela się kropką.

P R Z Y K Ł A D 1

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftyloamidu

W moździerzu roz tarto 0,01 mola benzo[cd]indol-2(1H)-onu 0,03 mola NaOH oraz 0,001 mol TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 0,1 cm³ ACN. Reakcję prowadzono przez 45 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylobenzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (dd, $J = 8.2, 4.9$ Hz, 1H, ArH), 7.98 (dd, $J = 7.2, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 7.77 (ddd, $J = 8.1, 7.4, 3.5$ Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.46 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, ArH), 6.75 (dd, $J = 7.2, 3.1$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{S(O)}_2\text{N-CH}$), 3.44 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{BrCH}_{\text{Alif}}$), 1.95 (ddd, $J = 28.7, 14.1, 7.1$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.61 (ddd, $J = 23.6, 7.8, 3.7$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni: FT-IR 3055 (C-H Ar Rozc), 2932; 2857 (C-H Alif, Rozc), 1694 (C=O, Rozc), 1602; 1495 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 773 (C-Br, Rozc),

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.90$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.05$ min, czystość = 88%,

Wydajność = 78%.

P R Z Y K Ł A D 2

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftyloamidu

W moździerzu roztarto 0,01 mola benzo[cd]indol-2(1H)-onu 0,03 mola Na_2CO_3 , oraz 0,001 mol TEAC. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcję prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 50 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm^3 heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylobenzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (dd, $J = 8.2, 4.9$ Hz, 1H, ArH), 7.98 (dd, $J = 7.2, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 7.77 (ddd, $J = 8.1, 7.4, 3.5$ Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.46 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, ArH), 6.75 (dd, $J = 7.2, 3.1$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{S(O)}_2\text{N-CH}$), 3.44 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{BrCH}_{\text{Alif}}$), 1.95 (ddd, $J = 28.7, 14.1, 7.1$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.61 (ddd, $J = 23.6, 7.8, 3.7$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni: FT-IR 3055 (C-H Ar Rozc), 2932; 2857 (C-H Alif, Rozc), 1694 (C=O, Rozc), 1602; 1495 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 773 (C-Br, Rozc),

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.90$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.05$ min, czystość = 88%,

Wydajność = 62%.

P R Z Y K Ł A D 3

Otrzymywanie półproduktu: 2-(6-bromoheksylo)-2H-naft[1,8-cd]izotiazolo-1,1(2H)-dionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftylosulfonamidu

W moździerzu roztarto 0,01 mola(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionu, 0,03 mola KOH oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 0,2 cm^3 wody. Reakcję prowadzono przez 40 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 80 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm^3 heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu. Surowy produkt krystalizowano z metanolu.

2-(6-bromoheksylo)-2H-naft[1,8-cd]izotiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 8.07 – 8.01 (m, 1H, ArH), 7.76 – 7.72 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.52 – 7.46 (m, 1H, ArH), 6.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 3.99 – 3.93 (m, 2H, SONCH), 3.44 – 3.40 (m, 2H, $\text{BrCH}_{\text{Alif}}$), 1.89 – 1.80 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.50 (ddd, $J = 13.7, 8.7, 5.6$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni: FT-IR 3060, (C-H Ar, Rozc), 2933, 2856 (C-H, Alif, Rozc), 1591, 1492 (C=C Ar, Rozc), 1371 (C-N, Rozc), 1348 (S=O, Rozc), 851 (N-S, Rozc), 756 (C-Br, Rozc),

Chromatografia cienkowarstwowa TLC; współczynnik retencji $R_f = 0.90$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.12$ min, czystość = 95%,

Wydajność = 65%.

P R Z Y K Ł A D 4

Otrzymywanie półproduktu: 2-(6-bromoheksylo)-2H-naft[1,8-cd]izotiazolo-1,1(2H)-dionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftylosulfonamidu

W moździerzu roz tarto 0,01 mola(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionu 0,03 mola Na₂CO₃ oraz 0,001 mola TEAC. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,003 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcje prowadzono przez 20 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu. Surowy produkt krystalizowano z metanolu.

2-(6-bromoheksylo)-2H-naft[1,8-cd]izotiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 8.07 – 8.01 (m, 1H, ArH), 7.76 – 7.72 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.52 – 7.46 (m, 1H, ArH), 6.94 (d, J = 6.9 Hz, 1H, ArH), 3.99 – 3.93 (m, 2H, SONCH), 3.44 – 3.40 (m, 2H, BrCH_{Alif}), 1.89 – 1.80 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.50 (ddd, J = 13.7, 8.7, 5.6 Hz, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni: FT-IR 3060, (C-H Ar, Rozc), 2933, 2856 (C-H, Alif, Rozc), 1591, 1492 (C=C Ar, Rozc), 1371 (C-N, Rozc), 1348 (S=O, Rozc), 851 (N-S, Rozc), 756 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 4.12 min, czystość = 95%,
Wydajność = 67%.

P R Z Y K Ł A D 5

Otrzymywanie półproduktu: 2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftyloimidu

W kolbie okrągłodennej zmieszano 0,01 mola 1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dionu, 0,03 mola trietyloaminy, 0,001 mola DABCO, 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 0,05 DMF. Reakcje prowadzono przez 15 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 200 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i produkt reakcji odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu.

2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.48 (ddd, J = 9.1, 7.8, 0.9 Hz, 4H, ArH), 7.91 – 7.79 (m, 2H, ArH), 4.07 – 4.01 (m, 2H, CONCH), 3.53 (t, J = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Alif}), 1.87 – 1.75 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.64 (dd, J = 14.7, 7.3 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (ddd, J = 15.2, 8.2, 3.4 Hz, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3061 (C-H Ar Rozc), 2933; 2855 (C-H Alif, Rozc), 1692 (C=O, Rozc), 1587; 1461 (C=C Ar, Rozc), 1361 (C-N, Rozc), 779 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 3.85 min, czystość = 99%,
Wydajność = 75%.

P R Z Y K Ł A D 6

Otrzymywanie półproduktu: 2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną 1,8-naftyloimidu

W moździerzu roz tarto 0,01 mola 1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dionu 0,03 mola oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcje prowadzono przez 20 sekund w reaktorze przy mocy wyjściowej mikrofal 180 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i produkt reakcji odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu.

2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.48 (ddd, J = 9.1, 7.8, 0.9 Hz, 4H, ArH), 7.91 – 7.79 (m, 2H, ArH), 4.07 – 4.01 (m, 2H, CONCH), 3.53 (t, J = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Alif}), 1.87 – 1.75 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.64 (dd, J = 14.7, 7.3 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (ddd, J = 15.2, 8.2, 3.4 Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3061 (C-H Ar Rozc), 2933; 2855 (C-H Alif, Rozc), 1692 (C=O, Rozc), 1587; 1461 (C=C Ar, Rozc), 1361 (C-N, Rozc), 779 (C-Br, Rozc),
 Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.90$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.85$ min, czystość = 99%,
 Wydajność = 87%.

P R Z Y K Ł A D 7

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-onu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolinoamidu

W moździerzu roz tarto 0,01 mola 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-onu 0,03 mola K_2CO_3 oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 0,3 cm^3 ACN. Reakcję prowadzono przez 45 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 90 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po odparowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm^3 heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.00 – 6.91 (m, 2H, ArH), 6.85 (dd, $J = 6.5, 1.9$ Hz, 1H, ArH), 4.39 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H, CONCH), 3.44 – 3.40 (m, 2H, $BrCH_{Alif}$), 3.15 (s, 2H, CH_{Alif}), 2.84 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.12 (dd, $J = 11.8, 6.1$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.90 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.84 – 1.74 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (s, 4H, CH_{Alif}),
 Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3059 (C-H Ar Rozc), 2928; 2852 (C-H Alif, Rozc), 1703 (C=O, Rozc), 1599; 1486 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 780 (C-Br, Rozc),
 Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.90$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.17$ min, czystość = 96%,
 Wydajność = 79%.

P R Z Y K Ł A D 8

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-onu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolinoamidu

W moździerzu utarto 0,01 mola 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-onu, 0,03 mola NaOH oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcję prowadzono przez 40 sekund w reaktorze mikrofalowym. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu, przy mocy wyjściowej mikrofal 150 W. Po odparowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm^3 heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.00 – 6.91 (m, 2H, ArH), 6.85 (dd, $J = 6.5, 1.9$ Hz, 1H, ArH), 4.39 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H, CONCH), 3.44 – 3.40 (m, 2H, $BrCH_{Alif}$), 3.15 (s, 2H, CH_{Alif}), 2.84 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.12 (dd, $J = 11.8, 6.1$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.90 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.84 – 1.74 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (s, 4H, CH_{Alif}),
 Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3059 (C-H Ar Rozc), 2928; 2852 (C-H Alif, Rozc), 1703 (C=O, Rozc), 1599; 1486 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 780 (C-Br, Rozc),
 Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.90$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.17$ min, czystość = 96%,
 Wydajność = 79%.

P R Z Y K Ł A D 9

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-tionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolinoamidu

W moździerzu utarto 0,01 mola 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-*ij*]chinolin-2(1H)-tionu, 0,03 mola NaOH oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 2 cm^3 wody. Reakcję prowadzono przez 15 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 170 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3

wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-jj]chinolin-2(1H)-tion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 – 7.23 (m, 2H, ArH), 6.89 (dd, J = 6.6, 1.9 Hz, 1H, ArH), 4.44 (d, J = 12.4 Hz, 2H, CONCH), 3.54 – 3.45 (m, 2H, BrCH_{Alif}), 3.00 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.40 – 2.27 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.87 – 1.69 (m, 6H, CH_{Alif}), 1.48 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 – 1.34 (m, 2H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3046 (C-H Ar Rozc), 2943; 2852 (C-H Alif, Rozc), 1600; 1491 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 762 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC; współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 3.02 min, czystość = 95%,
Wydajność = 79%.

P R Z Y K Ł A D 10

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-jj]chinolin-2(1H)-tionu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolinoamidu

W moździerzu roztarto 0,01 mola 5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-jj]chinolin-2(1H)-tionu, 0,03 mola NaOH oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcję prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-jj]chinolin-2(1H)-tion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 – 7.23 (m, 2H, ArH), 6.89 (dd, J = 6.6, 1.9 Hz, 1H, ArH), 4.44 (d, J = 12.4 Hz, 2H, CONCH), 3.54 – 3.45 (m, 2H, BrCH_{Alif}), 3.00 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.40 – 2.27 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.87 – 1.69 (m, 6H, CH_{Alif}), 1.48 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 – 1.34 (m, 2H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3046 (C-H Ar Rozc), 2943; 2852 (C-H Alif, Rozc), 1600; 1491 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 762 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC; współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 3.02 min, czystość = 95%,
Wydajność = 71%.

P R Z Y K Ł A D 11

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny,2,2-ditlenku zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolino sulfonamidu

W moździerzu utarto 0,01 mola 1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny, 2,2-ditlenku, 0,03 mola NaOH oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu i 0,2 cm³ ACN. Reakcję prowadzono przez 45 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 80 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny-2,2-ditlenek

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.21 – 6.90 (m, 2H, ArH), δ 6.85 – 6.80 (m, J = 6.5, 1.9 Hz, 1H, ArH), 3.86 – 3.70 (m, 2H, S(O)₂N-CH), 3.40 – 3.33 (m, 2H, BrCH_{Alif}), 3.20 (s, 2H, CH_{Alif}), 2.35 – 2.31 (m, 2H, CH_{Alif}), 2.17 (dd, J = 11.8, 6.1 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.00 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.90 – 1.84 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3059 (C-H Ar Rozc), 2998; 2845 (C-H Alif, Rozc), 1599; 1478 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 1298 (S=O, Rozc), 685 (S-N, Rozc), 771 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC; współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 2.82 min, czystość = 85%,
Wydajność = 64%.

P R Z Y K Ł A D 12

Otrzymywanie półproduktu: 1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny-2,2-ditlenku, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolino sulfonamidu, zwyczajowo nazywanego *N*-heksylo pochodną tetrahydrochinolino sulfonamidu

W moździerzu utarto 0,01 mola 1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny, 2,2-ditlenku, 0,03 mola K_2CO_3 oraz 0,001 mola TBAB. Mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,03 mola 1,6-dibromoheksanu. Reakcję prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po oddestylowaniu chlorku metylenu produkt reakcji macerowano w 20 cm³ heksanu, aby pozbyć się nadmiaru 1,6-dibromoheksanu.

1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinolin-2,2-ditlenek

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.21 – 6.90 (m, 2H, ArH), δ 6.85 – 6.80 (m, J = 6.5, 1.9 Hz, 1H, ArH), 3.86 – 3.70 (m, 2H, S(O)₂N-CH), 3.40 – 3.33 (m, 2H, BrCH_{Alif}), 3.20 (s, 2H, CH_{Alif}), 2.35 – 2.31 (m, 2H, CH_{Alif}), 2.17 (dd, J = 11.8, 6.1 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.00 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.90 – 1.84 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.40 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3059 (C-H Ar Rozc), 2998; 2845 (C-H Alif, Rozc), 1599; 1478 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 1298 (S=O, Rozc), 685 (S-N, Rozc), 771 (C-Br, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC; współczynnik retencji R_f = 0.90,
Wysokosprawną chromatografią cieczową HPLC: czas retencji R_t = 2.82 min, czystość = 85%,
Wydajność = 42%.

Związki opisane wzorem (I) wytworzono zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 13–24, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 1–12.

Dla związków (produktów) otrzymanych w przykładach 13–24 przedstawiono, po opisie ich przykładowej syntezy, analizy potwierdzające strukturę i czystość otrzymanych połączeń. W poniższych przykładach zastosowano anglosaski zapis liczbowy, według którego miejsca dziesiątne oddziela się kropką.

Związki opisane numerami 1–19 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 13 i 14, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 1 i 2.

P R Z Y K Ł A D 13

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onów

W moździerzu utarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola K_2CO_3 oraz 0,0001 mola TBAB. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 2 cm³ ACN. Reakcję prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 14

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onów

W moździerzu utarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-onu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola Na_2CO_3 oraz 0,0001 mola TEAC. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej. Reakcję prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 50 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 1

1-(6-(4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.76 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.11 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.92 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.57 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.41 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.12 (s, 6H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$, N- CH_{Alif}), 1.74 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2998 (C-H Ar, Rozc), 2937; 2859 (C-H Alif, Rozc), 1699 (C=O, Rozc), 1590; 1493 (C=C Ar, Rozc), 1366 (C-N, Rozc), 775 (C-Cl, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 107–110°C,

Chromatografia cienkwarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.52$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.97$ min, czystość = 95%,

Wydajność = 60%,

Związek nr 2

1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.76 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.32 – 7.18 (m, 2H, ArH), 7.03 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 6.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.86 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.93 – 3.79 (m, 2H, C(O)N-CH), 3.57 – 3.32 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.21 (d, $J = 24.0$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, N- CH_{Alif}), 1.73 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.29 (d, $J = 39.7$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3005 (C-H Ar, Rozc), 2934; 2856 (C-H Alif, Rozc), 1696 (C=O, Rozc), 1593; 1493 (C=C Ar, Rozc), 1360 (C-N, Rozc), 768 (C-Cl, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 105–108°C,

Chromatografia cienkwarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.68$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.10$ min, czystość = 91%,

Wydajność = 32%,

Związek nr 3

1-(6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, ArH), 7.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, ArH), 7.77 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.57 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.53 – 7.44 (m, 3H, ArH), 6.94 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 4.73 (s, 2H, C(O)N-CH), 3.97 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.67 (dd, $J = 20.4, 9.6$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.14 (s, 2H, N- CH_{Alif}), 1.87 (dd, $J = 18.7, 11.3$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.50 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3013 (C-H Ar, Rozc), 2937; 2860 (C-H Alif, Rozc), 1738 (C=O, Rozc), 1603; 1491 (C=C Ar, Rozc), 1366 (C-N, Rozc), 772 (C-Cl, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 448.20, czas retencji $R_t = 5.75$ min, czystość = 93%,

Temperatura topnienia: mp = 127–130°C,

Chromatografia cienkwarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.66$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.03$ min, czystość = 93%,

Wydajność = 61%,

Związek nr 4

1-(6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.78 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.53 (m, 1H, ArH), 7.45 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, ArH), 7.26 – 7.20 (m, 2H, ArH), 6.99 (dd, $J = 8.9, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 3.49 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.17 (d, $J = 11.9$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.05 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 2.08 (s, 2H, N- CH_{Alif}), 1.73 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.36 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2970 (C-H Ar, Rozc), 2938; 2861 (C-H Alif, Rozc), 1699 (C=O, Rozc), 1604; 1494, (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 770 (C-Cl, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 482.16, czas retencji $R_t = 6.02$ min, czystość = 90%,

Temperatura topnienia: mp = 115–118°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.64$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.23$ min, czystość = 90%,
Wydajność = 43%,

Związek nr 5

1-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.40 – 7.33 (m, 2H, ArH), 7.22 (dd, $J = 10.6, 7.3$ Hz, 2H, ArH), 3.92 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.13 (d, $J = 8.9$ Hz, 6H, CH_{Piperazyna}), 1.78 – 1.65 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.40 (d, $J = 17.4$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2999 (C-H Ar, Rozc), 2930; 2857 (C-H Alif, Rozc), 1698 (C=O, Rozc), 1604; 1495, (C=C Ar, Rozc), 1371 (C-N Rozc), 768 (C-Cl, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 188–190°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.73$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.27$ min, czystość = 91%,
Wydajność = 36%,

Związek nr 6

1-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (dd, $J = 8.1, 5.8$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, $J = 8.9, 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.79 (m, 1H, ArH), 7.65 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.28 – 7.22 (m, 1H, ArH), 7.18 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.12 (dd, $J = 13.4, 5.3$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 6.73 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 3.90 (dt, $J = 19.9, 7.0$ Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.76 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.55 (s, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.14 (d, $J = 8.9$ Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 1.76 – 1.64 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (d, $J = 3.8$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3010(C-H Ar, Rozc), 2938; 2857 (C-H Alif, Rozc), 1677 (C=O, Rozc), 1609; 1498, (C=C Ar, Rozc), 1370 (C-N Rozc), 745 (C-Br, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 100–104 °C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.87$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.04$ min, czystość = 93%,
Wydajność = 19%,

Związek nr 7

1-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indo1-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 6.9$ Hz 1H, ArH), 7.85 – 7.75 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.25 – 7.01 (m, 5H, ArH), 3.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.59 – 3.41 (m, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.15 (d, $J = 8.3$ Hz, 6H, CH_{Piperazyna}, N-CH_{Alif}), 1.72 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3001 (C-H Ar, Rozc), 2942; 2869 (C-H Alif, Rozc), 1720 (C=O, Rozc), 1620 (C=N, Rozc), 1554; 1500 (C=C, Ar, Rozc), 1370 (C-N, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 179–181°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.74$, TLC

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 1.68$ min, czystość = 95%,
Wydajność = 52%,

Związek nr 8

1-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (dd, $J = 11.0, 7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.76 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.53 (dd, $J = 15.0, 7.7$ Hz, 4H, ArH), 7.37 – 7.29 (m, 1H, ArH), 6.95 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, ArH), 3.95 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, C(O)NCH), 3.80 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H, CH_{iperazine}), 3.55 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H, CH_{iperazine}), 3.04 – 2.93 (m, 4H, CH_{iperazine}), 1.97 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.81 (d, $J = 17.4$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.48 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2985 (C-H Ar, Rozc), 2938; 2858 (C-H Alif, Rozc), 1699 (C=O, Rozc), 1602; 1473, (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 1175 (C-F, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 482.23$,
czas retencji $R_t = 6.02$ min, czystość = 94%,
Temperatura topnienia: $mp = 162\text{--}164^\circ\text{C}$,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.52$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.62$ min, czystość = 94%,
Wydajność = 18%,

Związek nr 9

1-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.75 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.25 (dd, $J = 14.7, 8.5$ Hz, 3H, ArH), 7.15 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 3.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.60 – 3.42 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.17 (d, $J = 12.4$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.07 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, N- CH_{Alif}), 1.73 (d, $J = 6.2$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2970 (C-H Ar, Rozc), 2938; 2865 (C-H Alif, Rozc), 1706 (C=O, Rozc), 1602; 1509 (C=C Ar, Rozc), 1366 (C-N, Rozc), 1122 (C-F, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 482.3$,
czas retencji $R_t = 5.79$ min, czystość = 91%,

Temperatura topnienia: $mp = 120\text{--}124^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.64$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.28$ min, czystość = 90%,

Wydajność = 38%,

Związek nr 10

1-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, $J = 9.7, 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, $J = 8.0, 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, ArH), 7.56 (ddd, $J = 11.6, 7.5, 4.0$ Hz, 3H, ArH), 7.23 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, ArH), 4.01 – 3.86 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.53 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H, C(O)N-CH), 3.24 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.08 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 1.73 (dd, $J = 13.8, 7.0$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060(C-H Ar, Rozc), 2943; 2860 (C-H Alif, Rozc), 1677 (C=O, Rozc), 1615; 1493, (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N Rozc), 1112 (C-F, Rozc),

Temperatura topnienia: $mp = 203\text{--}205^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.67$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.32$ min, czystość = 91%,

Wydajność = 40%,

Związek nr 11

1-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 – 8.01 (m, 2H, ArH), 7.78 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.54 (dd, $J = 16.7, 7.7$ Hz, 3H, ArH), 7.43 (s, 2H, ArH), 7.02 (s, 1H, ArH), 6.94 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, ArH), 4.83 (s, 3H, OCH), 4.35 – 4.26 (m, 2H, CONCH), 3.87 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.72 – 3.61 (m, 4H $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.15 (s, 2H, N CH_{Alif}), 1.86 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.52 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2970 (C-H Ar, Rozc), 2936; 2863 (C-H Alif, Rozc), 1703 (C=O, Rozc), 1616; 1455 (C=C Ar, Rozc), 1365 (C-N, Rozc), 1263; 1026 (C-O, Rozc),

Temperatura topnienia: $mp = 141\text{--}145^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.46$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.90$ min, czystość = 92%,

Wydajność = 51%,

Związek nr 12

1-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 – 8.00 (m, 2H, ArH), 7.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, ArH), 7.77 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.55 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.52 – 7.46 (m, 1H, ArH), 6.99 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, ArH), 4.79 (m, 3H, OCH), 4.33 (s, 2H, CONCH), 3.84 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.65 (t, $J = 15.4$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.15 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.86 (dd, $J = 18.7, 11.3$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.51 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar Rozc), 2936; 2858 (C-H Alif, Rozc), 1700 (C=O, Rozc), 1568; 1397 (C=C Ar, Rozc), 1366 (C-N, Rozc), 1261; 1025 (C-O, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 444.28$,
czas retencji $R_t = 5.08$ min, czystość = 92%,
Temperatura topnienia: $mp = 150\text{--}153^\circ\text{C}$,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.52$, HPLC
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.93$ min, czystość = 93%,
Wydajność = 78%,

Związek nr 13

1-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, $J = 8.1, 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.54 (m, 1H, ArH), 7.23 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 6.98 (dd, $J = 6.3, 4.4$ Hz, 2H, ArH), 6.91 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H, ArH), 4.05 – 4.02 (m, 2H, OCH), 3.92 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CONCH), 3.53 (d, $J = 10.2$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.14 – 3.10 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 2.98 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H, NCH_{Alif}), 1.72 (d, $J = 24.4$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.37 (d, $J = 1.5$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.34 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar Rozc), 2934; 2858 (C-H Alif, Rozc), 1695 (C=O, Rozc), 1604; 1496 (C=C Ar, Rozc), 1371 (C-N, Rozc), 1242; 1036 (C-O, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 458.37$,
czas retencji $R_t = 5.63$ min, czystość 90%,
Temperatura topnienia: $mp = 132\text{--}134^\circ\text{C}$,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.52$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.81$ min, czystość = 90%,
Wydajność = 82%,

Związek nr 14

1-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.12 (s, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (s, 1H, ArH), 7.84 – 7.77 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.23 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, ArH), 6.92 (s, 1H, ArH), 4.42 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H, CONCH), 3.91 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.61 – 3.45 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.07 (s, 2H, NC_{Alif}), 1.74 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.36 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3002 (C-H Ar Rozc), 2938; 2858 (C-H Alif, Rozc), 1738 (C=O, Rozc), 1619 (C=N, Rozc), 1537; 1494 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc),
Temperatura topnienia: $mp = 106\text{--}109^\circ\text{C}$,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.4$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 1.65$ min, czystość = 94%,
Wydajność = 56%,

Związek nr 15

1-{6-[4-(2-pirymidynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.44 (d, $J = 4.7$ Hz, 2H, ArH), 8.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.59 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 6.76 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H, ArH), 3.90 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CONCH), 3.45 (d, $J = 41.9$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.03 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 2.11 (d, $J = 15.5$ Hz, 2H, NCH_{Alif}), 1.73 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.36 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3001 (C-H Ar, Rozc), 2942; 2869 (C-H Alif, Rozc), 1720 (C=O, Rozc), 1604 (C=N, Rozc), 1554; 1500 (C=C, Ar, Rozc), 1370 (C-N, Rozc), $mp = 179\text{--}181^\circ\text{C}$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 416,23$,
czas retencji - $R_t = 4.67$ min, czystość 89%,

Temperatura topnienia: mp = 121–124°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.74,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 1.68 min, czystość = 88%,
Wydajność = 38%,

Związek nr 16

1-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (t, J = 7.9 Hz, 2H, ArH), 8.06 (d, J = 6.9 Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, J = 8.0, 7.1 Hz, 2H, ArH), 7.66 (d, J = 8.3 Hz, 2H, ArH), 7.60 – 7.53 (m, 2H, ArH), 7.23 (d, J = 6.9 Hz, 1H, ArH), 3.90 (dd, J = 15.7, 8.8 Hz, 2H, CONCH), 3.77 (s, 8H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.09 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.73 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.36 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2990(C-H Ar, Rozc), 2937; 2864 (C-H Alif, Rozc), 1686 (C=O, Rozc), 1631; 1310 (NO_2 , Rozc), 1604; 1495, (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 188–191°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.68,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.60 min, czystość = 92%,
Wydajność = 36%,

Związek nr 17

1-{6-[4-(8-chinolinyl)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.19 (dd, J = 12.6, 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, J = 13.2, 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.70 (dddd, J = 21.6, 14.6, 10.7, 6.6 Hz, 7H, ArH), 7.40 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.28 – 7.01 (m, 2H, ArH), 3.92 (dd, J = 14.5, 7.4 Hz, 4H, CH, CONCH), 3.39 (d, J = 11.4 Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.26 (d, J = 11.5 Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.15 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.77 (t, J = 10.4 Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.40 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3061 (C-H Ar, Rozc), 2934; 2856 (C-H Alif, Rozc), 1694 (C=O, Rozc), 1630 (C=N, Rozc), 1593; 1493 (C=C, Ar, Rozc), 1377 (C-N, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 465.35, czas retencji - R_t = 4.30 min, czystość 91%,
Temperatura topnienia: mp = (olej),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.70,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.90 min, czystość = 91%,
Wydajność = 38%,

Związek nr 18

1-{6-[4-(1,2-benzotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.13 (d, J = 8.2 Hz, 2H, ArH), 8.07 (d, J = 6.9 Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, J = 8.0, 7.1 Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.59 (dd, J = 7.5, 3.6 Hz, 2H, ArH), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.24 (d, J = 7.0 Hz, 1H, ArH), 4.05 (s, 2H, CONCH), 3.93 (t, J = 6.9 Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.58 (d, J = 10.9 Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.45 – 3.36 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.16 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.73 (d, J = 22.7 Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.39 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3037 (C-H Ar, Rozc), 2945; 2842 (C-H Alif, Rozc), 1708 (C=O, Rozc), 1642 (C=N, Rozc), 1540; 1471 (C=C, Rozc), 1371 (C-N, Rozc), 692 (S-N, Rozc), 660 (C-S, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 471.20, czas retencji - R_t = 5.82 min, czystość 93%,
Temperatura topnienia: mp = 193–194°C
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0,82,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 11.16 min, czystość = 95%,
Wydajność = 36%,

Związek nr 19

1-{6-[4-(2-okso-2,3-dihydro-1,3-benzoksazol-7-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, $J = 8.1, 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (dd, $J = 8.4, 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, ArH), 7.23 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 6.95 (s, 2H, ArH), 3.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.78 (d, $J = 12.3$ Hz, 2H), 3.51 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H, CONCH), 3.14 – 3.00 (m, 6H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.02 – 2.98 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 1.73 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.36 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2980(C-H Ar, Rozc), 2936; 2858 (C-H Alif, Rozc), 1698 (C=O, Rozc), 1603; 1488, (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N Rozc), 1266; 1026 (C-O, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 470.11$, czas retencji - $R_t = 5.83$ min, czystość 93%,

Temperatura topnienia: $mp = 167\text{--}169^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0,80$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 5,83$ min, czystość = 93%,

Wydajność = 44%,

Związki opisane numerami 20–31 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 15 i 16, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 3 i 4.

P R Z Y K Ł A D 15

Otrzymywanie 2-{6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionów

W moździerzu utarto 0,001 mola 2-(6-bromoheksylo)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 NaOH oraz 0,0001 mola DABCO. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 1 cm^3 DMF. Reakcje prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 120 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 16

Otrzymywanie 2-{6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionów

W moździerzu roz tarto 0,001 mola 2-(6-bromoheksylo)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, oraz 0,0001 mola TBAB. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej, po czym dodano 0,003 mola trietyloaminy. Reakcje prowadzono przez 15 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 200 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 20

2-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.94 – 7.83 (m, 1H, ArH), 7.64 (dd, $J = 15.0, 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.36 – 7.31 (m, 1H, ArH), 7.20 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, ArH), 7.14 – 7.08 (m, 2H, ArH), 3.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N-CH}$), 3.63 – 3.49 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.40 (d, $J = 11.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.21 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.13 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.80 (ddd, $J = 32.8, 15, 2, 7.8$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.54 – 1.35 (m, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2987 (C-H Ar, Rozc), 2937, 2818 (C-H, Alif, Rozc), 1589, 1481 (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 1309 (S=O, Rozc), 805 (N-S, Rozc), 758 (C-Cl, Rozc),

Temperatura topnienia: $mp = 199\text{--}211^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.64$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.81$ min, czystość = 89%,

Wydajność = 71%,

Związek nr 21

2-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (dd, $J = 11.0, 7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.76 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.65 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.53 (dd, $J = 15.0, 7.7$ Hz, 4H, ArH), 7.37 – 7.29 (m, 1H, ArH), 6.95 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, ArH), 3.95 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N}-\text{CH}$), 3.80 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.55 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.04 – 2.93 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 1.97 (s, 2H, $\text{N}-\text{CH}_{\text{Alif}}$), 1.81 (d, $J = 17.4$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.48 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2990 (C-H Ar, Rozc), 2933; 2860 (C-H Alif, Rozc), 1594, 1487 (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 1308 (S=O, Rozc), 852 (N-S, Rozc), 772 (C-Cl, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 162–165°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.74$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.79$ min, czystość = 88%,
Wydajność = 71%,

Związek nr 22

2-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd] [1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.97 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 3H, ArH), 7.56 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.53 – 7.45 (m, 3H, ArH), 6.77 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 4.72 (s, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N}-\text{CH}$), 4.09 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.68 (d, $J = 17.7$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.18 (s, 2H, $\text{N}-\text{CH}_{\text{Alif}}$), 1.98 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.60 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR : 2970 (C-H Ar, Rozc), 2941, 2860 (C-H Alif, Rozc), 1590, 1490 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 1308 (S=O, Rozc), 827 (N-S, Rozc), 771 (C-Cl, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 150–152°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.66$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.14$ min, czystość = 90%,
Wydajność = 66%,

Związek nr 23

2-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazol-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (s, 1H, ArH), 7.96 (s, 1H, ArH), 7.78 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.21 (s, 2H, ArH), 7.05 (s, 1H, ArH), 6.78 (m, 1H, ArH), 3.86 (m, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N}-\text{CH}$), 3.64 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.39 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.07 (s, 2H, $\text{N}-\text{CH}_{\text{Alif}}$), 1.98 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.57 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3014 (C-H Ar, Rozc), 2940, 2853 (C-H, Alif, Rozc), 1589, 1494 (C=C Ar, Rozc), 1376 (C-N, Rozc), 1304 (S=O, Rozc), 826 (N-S, Rozc), 777 (C-Cl, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 518.12$,
czas retencji - $R_t = 6.21$ min, czystość 91%,
Temperatura topnienia: mp = 158–160°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.70$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji 3.88 min, czystość = 96%,
Wydajność = 72%,

Związek nr 24

2-{6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazol-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.89 (dd, $J = 8.1, 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (dt, $J = 22.2, 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, ArH), 7.23 (dd, $J = 7.1, 2.9$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (dd, $J = 9.0, 2.9$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (dd, $J = 14.8, 7.8$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.51 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N}-\text{CH}$), 3.23 (dd, $J = 22.9, 11.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.12 – 3.03 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 1.88 – 1.72 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.43 (ddd, $J = 21.4, 14.7, 7.4$ Hz, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3008 (C-H Ar, Rozc), 2942, 2858 (C-H, Alif, Rozc), 1590, 1495 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 1308 (S=O, Rozc), 829 (N-S, Rozc), 777 (C-Cl, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 130–132°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.87$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.47$ min, czystość = 93%,
 Wydajność = 75%,

Związek nr 25

2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.90 (dd, $J = 8.1, 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (dt, $J = 22.4, 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.30 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.16 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 3.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N-CH}$), 3.55 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.52 – 3.45 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.22 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.10 (dd, $J = 21.2, 10.1$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 1.80 (ddd, $J = 23.2, 15.0, 7.6$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.54 – 1.37 (m, 4H, CH_{Alif}),
 Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2984 (C-H Ar, Rozc), 2940, 2867 (C-H, Alif, Rozc), 1591, 1494 (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 1313 (S=O, Rozc), 1228 (C-F, Rozc), 822 (N-S, Rozc),
 Temperatura topnienia: mp = 124–125°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.71$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.68$ min, czystość = 99%,
 Wydajność = 89%,

Związek nr 26

2-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.29 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.92 – 7.85 (m, 1H, ArH), 7.69 – 7.59 (m, 2H, ArH), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.12 (dd, $J = 13.3, 7.9$ Hz, 3H, ArH), 3.98 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{NCH}$), 3.85 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.55 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.33 (t, $J = 11.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.08 (dd, $J = 21.1, 10.0$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 1.86 – 1.76 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.43 (ddd, $J = 21.1, 14.7, 7.3$ Hz, 4H, CH_{Alif}),
 Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3065 (C-H Ar, Rozc), 2933, 2855 (C-H, Alif, Rozc), 1588, 1499 (C=C Ar, Rozc), 1361 (C-N, Rozc), 1340 (S=O, Rozc), 1234 (C-F, Rozc), 848 (N-S, Rozc),
 Temperatura topnienia: mp = 204–206°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.85$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.76$ min, czystość = 100%,
 Wydajność = 46%,

Związek nr 27

2-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, ArH), 7.79 – 7.71 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, ArH), 7.09 – 7.01 (m, 4H, ArH), 6.77 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 3.85 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{S}(\text{O})_2\text{N-CH}$), 3.73 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.58 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.45 (d, $J = 11.3$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazin}}$), 3.05 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.97 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.66 (s, 4H, CH_{Alif}),
 Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2993 (C-H Ar, Rozc), 2940, 2869 (C-H, Alif, Rozc), 1591, 1485 (C=C Ar, Rozc), 1372 (C-N, Rozc), 1310 (S=O, Rozc), 1236 (C-F, Rozc), 811 (N-S, Rozc),
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 468.21,
 czas retencji - $R_t = 5.69$ min, czystość 100%,
 Temperatura topnienia: mp = 113–114°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.71$,
 Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 1.82$ min, czystość = 100%,
 Wydajność = 71%,

Związek nr 28

2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.80 – 7.72 (m, 1H,

ArH), 7.62 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.49 – 7.39 (m, 2H, ArH), 7.05 (dd, J = 15.7, 7.8 Hz, 2H, ArH), 6.75 (d, J = 7.4 Hz, 1H, ArH), 5.02 (m, 2H, OCH), 4.51 (d, J = 12.5 Hz, 2H, SO₂NCH), 4.35 (dd, J = 14.2, 7.1 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.61 (t, J = 12.5 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.16 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.96 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.63 (t, J = 7.0 Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.56 (s, 3H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2981 (C-H Ar, Rozc), 2936, 2867 (C-H, Alif, Rozc), 1610, 1491 (C=C Ar, Rozc), 1370 (C-N, Rozc), 1309 (S=O, Rozc), 1255; 1033 (C-O, Rozc), 815 (N-S, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 494.25, czas retencji - R_t = 5.83 min, czystość 88%,

Temperatura topnienia: mp = 140–143°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.67,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 1.82 min, czystość = 90%,

Wydajność = 39%,

Związek nr 29

2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (dd, J = 8.2, 3.2 Hz, 1H, ArH), 8.25 (dd, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, ArH), 8.15 (dd, J = 5.3, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.90 (ddd, J = 10.2, 7.7, 2.8 Hz, 1H, ArH), 7.78 (s, 1H, ArH), 7.68 – 7.60 (m, 2H, ArH), 7.15 – 7.03 (m, 2H, ArH), 6.89 – 6.79 (m, 1H, ArH), 4.40 (d, J = 14.2 Hz, 2H, SO₂NCH), 3.85 (dd, J = 14.8, 7.5 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.33 (d, J = 13.0 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.09 (dd, J = 13.6, 8.8 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 1.87 – 1.71 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.54 – 1.38 (m, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar, Rozc), 2932, 2854 (C-H, Alif, Rozc), 1640 (C=N, Rozc), 1604, 1497 (C=C Ar, Rozc), 1373 (C-N, Rozc), 1305 (S=O, Rozc), 1256; 1028 (C-O, Rozc), 817 (N-S, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 119–121°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.65,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 3.06 min, czystość = 89%,

Wydajność = 10%,

Związek nr 30

2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.29 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, J = 7.2 Hz, 1H, ArH), 7.92 – 7.85 (m, 1H, ArH), 7.78 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.65 (dd, J = 15.3, 8.3 Hz, 2H, ArH), 7.60 – 7.54 (m, 1H, ArH), 7.29 (d, J = 7.3 Hz, 1H, ArH), 7.15 – 7.06 (m, 2H, ArH), 3.84 (t, J = 7.3 Hz, 2H, SO₂NCH), 3.44 (s, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.34 – 3.26 (m, 4H, CH_{Piperazyna}), 2.34 – 2.29 (m, 2H, NCH_{Alif}), 1.93 – 1.74 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.45 (d, J = 6.5 Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3061 (C-H Ar, Rozc), 2932, 2865 (C-H, Alif, Rozc), 1656; 1342 (NO₂, Rozc), 1591, 1492 (C=C Ar, Rozc), 1389 (C-N, Rozc), 1343 (S=O, Rozc), 851 (N-S, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 495.32, czas retencji - R_t = 5.49 min, czystość 100%,

Temperatura topnienia: mp = 238–240°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.71,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 4.20 min, czystość = 100%,

Wydajność = 43%,

Związek nr 31

2-{6-[4-(1,2-benzotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazol-1,1(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.31 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, J = 7.2 Hz, 1H, ArH), 8.17 – 8.10 (m, 2H, ArH), 7.93 – 7.88 (m, 1H, ArH), 7.64 (ddd, J = 15.9, 14.4, 8.3 Hz, 3H, ArH), 7.48 (t, J = 7.2 Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, J = 6.6 Hz, 1H, ArH), 4.09 (d, J = 12.8 Hz, 2H, SO₂NCH), 3.87 (t, J = 7.3 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.61 (d, J = 11.4 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.39 (d, J = 7.7 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.27 (s, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.19 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.90 – 1.85 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.73 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.55 - 1.47 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.43 (d, J = 7.3 Hz, 2H, CH_{Alif}).

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR : 2978 (C-H Ar, Rozc), 2939, 2884 (C-H, Alif, Rozc), 1639 (C=N, Rozc), 1594, 1476 (C=C Ar, Rozc), 1376 (C-N, Rozc), 1298 (S=O, Rozc), 687 (S-N, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 117–121°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.87$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 8,97$ min, czystość = 100%,
Wydajność = 45%,

Związki opisane numerami 32–44 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 17 i 18, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 5 i 6.

P R Z Y K Ł A D 17

Otrzymywanie 2-{6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dionów

W moździerzu utarto 0,001 mola 2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola K_2CO_3 oraz 0,0001 mola TEAC. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 5 cm³ DMF. Reakcje prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 90 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu, Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 18

Otrzymywanie 2-{6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dionów

W moździerzu utarto 0,001 mola 2-(6-bromoheksylo)-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola Na_2CO_3 oraz 0,0001 DABCO. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej. Reakcje prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 32

2-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.61 (d, J = 7.3 Hz, 2H, ArH), 8.22 (d, J = 7.7 Hz, 2H, ArH), 7.82 – 7.71 (m, 2H, ArH), 7.28 (d, J = 10.5 Hz, 2H, ArH), 7.01 (t, J = 7.2 Hz, 2H, ArH), 4.46 (s, 3H, OCH), 4.23 – 4.15 (m, 2H, CONCH), 3.90 (d, J = 54.3 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.58 (t, J = 13.2 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.07 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.99 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.78 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.50 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar, Rozc), 2932; 2859 (C-H Alif, Rozc), 1694 (C=O, Rozc), 1590; 1492 (C=C Ar, Rozc), 1361 (C-N, Rozc), 1242; 1026 (C-O, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 472.26, czas retencji - $R_t = 5.43$ min, czystość 92%,

Temperatura topnienia: mp = 245–248°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.70$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 2.73$ min, czystość = 92%,

Wydajność = 47%,

Związek nr 33

2-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]zochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.52 – 8.43 (m, 4H, ArH), 7.90 – 7.84 (m, 2H, ArH), 7.16 (td, J = 8.2, 2.6 Hz, 1H, ArH), 6.60 – 6.56 (m, 1H, ArH), 6.53 (dt, J = 4.5, 2.3 Hz, 1H, ArH), 6.48 – 6.41 (m, 1H, ArH), 4.04 (dd, J = 15.1, 7.8 Hz, 2H, CONCH), 3.84 – 3.76 (m, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.58 – 3.46 (m, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.38 (dd, J = 12.4, 7.0 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.18 (d, J = 11.2 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.08 (d, J = 9.9 Hz, 2H, NCH_{Alif}), 1.79 – 1.61 (m, 4H, CH_{Alif}), 1.43 – 1.33 (m, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar, Rozc), 2938; 2864 (C-H Alif, Rozc), 1686 (C=O, Rozc), 1590; 1494 (C=C Ar, Rozc), 1371 (C-N, Rozc), 1233; 1027 (C-O, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 472,26, czas retencji - $R_t = 5.56$ min, czystość = 90%,

Temperatura topnienia: mp = 240–243°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.67$,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.20$ min, czystość = 89%,
Wydajność = 43%,

Związek nr 34

22-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.50 (ddd, $J = 9.3, 7.8, 1.0$ Hz, 4H, ArH), 7.90 (dd, $J = 8.1, 7.4$ Hz, 2H, ArH), 7.58 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.15 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, ArH), 4.11 – 4.05 (m, 2H, ArH, CONCH), 4.00 (d, $J = 13.1$ Hz, 2H $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.56 (s, 2H, NCH_{Alif}), 3.15 (dt, $J = 23.1, 12.3$ Hz, 6H $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 1.69 (dd, $J = 14.3, 6.9$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.40 (d, $J = 3.2$ Hz, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3064 (C-H Ar, Rozc), 2937; 2863 (C-H Alif, Rozc), 1696 (C=O, Rozc), 1590; 1439 (C=C Ar, Rozc), 1346 (C-N, Rozc), 1236; 1071 (C-O, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 472.26, czas retencji - $R_t = 5.99$ min, czystość 100%,

Temperatura topnienia: mp = 147–150°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.69$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.80$ min, czystość = 99%,

Wydajność = 16%,

Związek nr 35

2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.61 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, ArH), 8.23 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, ArH), 7.80 – 7.72 (m, 2H, ArH), 7.45 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.05 (dd, $J = 15.6, 7.5$ Hz, 2H, ArH), 5.03 (d, $J = 12.3$ Hz, 3H, OCH), 4.54 (s, 2H, CONCH), 4.35 (dd, $J = 13.9, 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 4.23 – 4.14 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.66 (s, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.14 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.98 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.78 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.64 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_{Alif}), 1.50 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3063 (C-H Ar, Rozc), 2936; 2867 (C-H Alif, Rozc), 1694 (C=O, Rozc), 1599; 1500 (C=C Ar, Rozc), 1347 (C-N, Rozc), 1240; 1029 (C-O, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 240–243°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.65$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.12$ min, czystość = 89%,

Wydajność = 19%,

Związek nr 36

2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.62 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.24 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, ArH), 8.01 (s, 2H, ArH), 7.83 – 7.74 (m, 2H, ArH), 7.05 (d, $J = 26.7$ Hz, 2H, ArH), 4.57 (s, 2H, CONCH), 4.32 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 4.25 – 4.15 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.73 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.18 (s, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.08 (s, 2H, NCH_{Alif}), 2.00 (s, 4H, CH_{Alif}), 1.79 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3061 (C-H Ar, Rozc), 2933; 2855 (C-H Alif, Rozc), 1692 (C=O, Rozc), 1658 (C=N, Rozc), 1587; 1513 (C=C Ar, Rozc), 1340 (C-N, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 443.22, czas retencji - $R_t = 4.25$ min, czystość 90%,

Temperatura topnienia: mp = 176–179°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.54$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 3.73$ min, czystość = 89%,

Wydajność = 50%,

Związek nr 37

2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.63 (dd, $J = 7.3, 0.9$ Hz, 2H, ArH), 8.25 (dd, $J = 8.3, 0.9$ Hz, 2H, ArH), 7.87 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.83 – 7.74 (m, 2H, ArH), 7.64 – 7.57 (m, 1H, ArH), 7.36 (dd, $J = 8.2, 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.28 – 7.24 (m, 1H,

ArH), 4.26 – 4.18 (m, 2H, CONCH), 3.89 (t, J = 11.3 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.60 (t, J = 9.5 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.32 (d, J = 12.9 Hz, 2H, NCH_{Alif}), 3.15 – 2.99 (m, 4H, CH_{Piperazyna}), 2.01 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.83 – 1.76 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.52 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar, Rozc), 2934; 2856 (C-H Alif, Rozc), 1693 (C=O, Rozc), 1656; 1308 (NO₂, Rozc), 1589; 1513, (C=C Ar, Rozc), 1361 (C-N Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 230–231°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.66,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.82 min, czystość = 96%,

Wydajność = 19%,

Związek nr 38

2-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 – 8.44 (m, 4H, ArH), 7.92 – 7.86 (m, 2H, ArH), 7.80 – 7.71 (m, 4H, ArH), 4.07 (dd, J = 16.2, 8.8 Hz, 2H, CONCH), 3.57 – 3.48 (m, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.44 (s, 8H, CH_{Piperazyna}), 1.81 (dd, J = 14.4, 6.9 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.65 (dt, J = 14.8, 7.4 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.47 – 1.35 (m, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3002 (C-H Ar, Rozc), 2944; 2866 (C-H Alif, Rozc), 1698 (C=O, Rozc), 1587; 1500 (C=C Ar, Rozc), 1337 (C-N, Rozc), 1234 (C-F, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 460.23
czas retencji - R_t = 5.61 min, czystość = 97%,

Temperatura topnienia: mp = 111–113°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.63,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.61 min, czystość = 97%,

Wydajność = 43%,

Związek nr 39

2-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (dd, J = 7.3, 0.9 Hz, 2H, ArH), 8.24 (dd, J = 8.3, 0.9 Hz, 2H, ArH), 7.78 (dd, J = 8.1, 7.4 Hz, 2H, ArH), 7.66 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.52 (m, 2H, ArH), 7.33 (t, J = 7.5 Hz, 1H, ArH), 4.24 – 4.17 (m, 2H, CONCH), 3.81 (t, J = 10.8 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.57 (t, J = 10.5 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.04 (dd, J = 12.9, 4.0 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 2.01 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.78 (d, J = 9.6 Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.54 – 1.46 (m, 4H, CH_{Alif}).

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3055(C-H Ar, Rozc), 2945; 2869 (C-H Alif, Rozc), 1696 (C=O, Rozc), 1590; 1493 (C=C Ar, Rozc), 1343 (C-N, Rozc), 1233 (C-F, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 167–169°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.76,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.81 min, czystość = 98%,

Wydajność = 52%,

Związek nr 40

2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (t, J = 6.0 Hz, 2H, ArH), 8.24 (d, J = 8.2 Hz, 4H, ArH), 7.84 – 7.72 (m, 2H, ArH), 7.64 – 7.54 (m, 2H, ArH), 4.46 (t, J = 11.4 Hz, 2H, CONCH), 4.24 – 4.18 (m, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.78 – 3.69 (m, 6H, CH_{Piperazyna}), 3.16 (s, 2H, NCH_{Alif}), 2.00 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.86 – 1.74 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.54 (s, 4H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3064(C-H Ar, Rozc), 2936; 2865 (C-H Alif, Rozc), 1696 (C=O, Rozc), 1591; 1440 (C=C Ar, Rozc), 1348 (C-N, Rozc), 1239 (C-F, Rozc),

Temperatura topnienia: mp = 112–116°C,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.84,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 6.22 min, czystość = 100%,

Wydajność = 29%,

Związek nr 41

2-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.66 – 8.59 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, J = 8.0, 3.0 Hz, 2H, ArH), 7.83 – 7.76 (m, 2H, ArH), 7.56 (d, J = 7.7 Hz,

2H, ArH), 7.37 (s, 2H, ArH), 4.35 (s, 2H, CONCH), 4.25 – 4.17 (m, 2H, , CH_{Piperazyna}), 3.68 (s, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.12 (s, 2H, CH_{Piperazyna}), 2.00 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.79 (d, J = 7.3 Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.54 (s, 4H, CH_{Alif}).
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 2983 (C-H Ar, Rozc), 2939; 2870 (C-H Alif, Rozc), 1696 (C=O, Rozc), 1592; 1437 (C=C, Rozc), 1377 (C-N, Rozc), 746 (C-Br, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 188–189°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.71,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 7.22 min, czystość = 99%,
Wydajność = 12%,

Związek nr 42

2-{6-[4-(1,2-benzotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.50 (dd, J = 14.4, 7.6 Hz, 4H, ArH), 8.16 – 8.08 (m, 2H, ArH), 7.88 (d, J = 7.7 Hz, 2H, ArH), 7.60 (t, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, J = 7.4 Hz, 1H, ArH), 3.64 (d, J = 19.2 Hz, 2H, CONCH), 3.59 (d, J = 12.1 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.47 (t, J = 12.3 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.37 – 3.20 (m, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.16 (s, 2H, NCH_{Alif}), 1.73 (d, J = 19.2 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.69 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.41 (s, 4H, CH_{Alif}).
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3062 (C-H Ar, Rozc), 2942, 2874 (C-H, Alif, Rozc), 1693 (C=O, Rozc), 1656 (C=N, Rozc), 1589, 1493 (C=C Ar, Rozc), 1354 (C-N, Rozc), 697 (S-N, Rozc),
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.47,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 5.83 min, czystość = 100%,
Wydajność = 47%,

Związek nr 43

2-{6-[4-[[1-okso-2,3-dihydro-1H-izoindol-2-ilo]heksylo]-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 – 8.43 (m, 4H, ArH), 7.87 (dt, J = 14.4, 7.2 Hz, 2H, ArH), 6 7.75 – 7.43 (m, 3H, ArH) 4.09 – 4.01 (m, 2H, CONCH), 3.53 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CONCH), 3.37 (s, 10H, CH_{Piperazyna}), 1.85 – 1.76 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.65 (dt, J = 14.7, 7.4 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.45 – 1.32 (m, 4H, CH_{Alif}).
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3058 (C-H Ar, Rozc), 2934; 2854 (C-H Alif, Rozc), 1693 (C=O, Rozc), 1590; 1436 (C=C Ar, Rozc), 1341 (C-N, Rozc), 1246; 1066 (C-O, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 111–112°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.63,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 4,38 min, czystość = 91%,
Wydajność = 12%,

Związek nr 44

2-[6-(4-[[1,1'-bifenilo]-2-ylo]piperazyn-1-ylo)heksylo]-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.49 (ddd, J = 9.2, 7.8, 0.9 Hz, 6H, ArH), δ 7.76 (d, J = 7.2 Hz, 2H, ArH), 7.52 (d, J = 7.2 Hz, 2H, ArH), 7.42 (t, J = 7.5 Hz, 2H, ArH), 7.88 (dd, J = 8.1, 7.4 Hz, 3H, ArH), 4.10 - 4.01 (m, 2H, CONCH), 3.59 – 3.48 (m, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.36 – 3.01 (s, 8H, CH_{Piperazyna}), 1.87 – 1.76 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.65 (dt, J = 14.7, 7.4 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.49 – 1.34 (m, 4H, CH_{Alif}).
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3023 (C-H Ar, Rozc), 2942, 2874 (C-H, Alif, Rozc), 1693 (C=O, Rozc), 1590, 1436 (C=C Ar, Rozc), 1345 (C-N, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 118–122°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.72,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 6.50 min, czystość = 100%,
Wydajność = 19%,

Związki opisane numerami 45–47 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 19–20, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 7–8.

P R Z Y K Ł A D 19

Otrzymywanie 1-{6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-onów

W moździerzu utarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-onu, 0,00095 mola arylopiiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola NaOH oraz 0,0001 mola TBAB. Roztartą mieszaniną przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 1 cm³ ACN. Reakcje prowadzono przez 30 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 130 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 20

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-onów

W moździerzu roztarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-onu, 0,00095 mola arylopiiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola K₂CO₃ oraz 0,0001 mola TEAC. Roztartą mieszaniną przeniesiono do kolby okrągłodennej. Reakcje prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 45

1-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.49 (t, J = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.08 (dd, J = 8.0, 3.2 Hz, 2H, ArH), 6.99 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 6.84 (dd, J = 12.1, 7.7 Hz, 2H, ArH), 5.18 (t, J = 11.4 Hz, 3H, OCH), 4.45 (d, J = 12.6 Hz, 2H, CONCH), 4.08 (d, J = 7.8 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.88 (t, J = 5.6 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.59 (d, J = 11.2 Hz, 2H, NCH_{Alif}), 3.10 (s, 2H, NCH_{Alif}), 2.87 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.14 (dd, J = 11.8, 6.1 Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.93 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.84 – 1.74 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.45 (s, 4H, CH_{Alif}),
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3017 (C-H Ar, Rozc), 2939; 2860 (C-H Alif, Rozc), 1676 (C=O Rozc), 1609; 1499 (C=C Ar, Rozc), 1369 (C-N, Rozc), 1264; 1016 (C-O, Rozc),
Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 449.33, czas retencji - R_t = 5.03 min, czystość 91%,
Temperatura topnienia: mp = 115–117°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.85,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 4.16 min, czystość = 91%,
Wydajność = 84%,

Związek nr 46

1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (300 MHz, cdcl₃) δ 7.54 (s, 1H, ArH), 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 2H, ArH), 7.25 (s, 1H, ArH), 6.99 (t, J = 7.7 Hz, 1H, ArH), 6.84 (dd, J = 12.5, 7.6 Hz, 2H, ArH), 4.37 (s, 2H, CONCH), 3.86 (dt, J = 14.2, 6.9 Hz, 4H, CH_{Piperazyna}), 3.65 (d, J = 11.8 Hz, 6H, CH_{Piperazyna}), 3.10 (s, 2H, NCH_{Alif}), 2,86 (t, J = 5.7 Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.20 – 2.08 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.93 (s, 2H, CH_{Alif}), 1.85 – 1.71 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.46 (s, 4H, CH_{Alif}).
Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3060 (C-H Ar, Rozc), 2937; 2861 (C-H Alif, Rozc), 1700 (C=O Rozc), 1594; 1498 (C=C Ar, Rozc), 1374 (C-N, Rozc), 763 (C-Cl, Rozc),
Temperatura topnienia: mp = 165–168°C,
Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji R_f = 0.66,
Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji R_t = 4.98 min, czystość = 91%,
Wydajność = 53%,

Związek nr 47

1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.12 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (dd, $J = 9.5, 5.8$ Hz, 1H, ArH), 6.83 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 4.05 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H, CONCH), 3.78 (dt, $J = 11.4, 6.4$ Hz, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.58 – 3.44 (m, 4H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.31 – 3.21 (m, 2H, NCH_{Alif}), 3.11 (dt, $J = 10.5, 5.1$ Hz, 2H, NCH_{Alif}), 2.79 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.02 (dd, $J = 11.4, 5.8$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.69 (dd, $J = 13.7, 6.9$ Hz, 4H, CH_{Alif}), 1.35 (d, $J = 3.6$ Hz, 4H, CH_{Alif}).

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3067 (C-H Ar, Rozc), 2935; 2859 (C-H Alif, Rozc), 1672 (C=O Rozc), 1642 (C=N, Rozc), 1589; 1498 (C=C Ar, Rozc), 1379 (C-N, Rozc), 677 (S-N, Rozc), 656 (C-S, Rozc),

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.80$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.54$ min, czystość = 89%,

Wydajność = 67%,

Związek opisany numerem 48 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 21–22, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 9–10.

P R Z Y K Ł A D 21

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-ionu

W moździerzu utarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-ionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola NaOH oraz 0,0001 mola TEAC. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 5 cm^3 wody. Reakcje prowadzono przez 50 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 80 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 22

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-ionu

W moździerzu utarto 0,001 mola 1-(6-bromoheksylo)-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-ionu, 0,00095 mola arylopiperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola K_2CO_3 oraz 0,0001 mola TBAB. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej. Reakcje prowadzono przez 15 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 180 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm^3 wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 48

1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-ion

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.48 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.33 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.17 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, ArH), 7.06 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 6.97 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H, ArH), 4.22 – 4.13 (m, 2H), 3.87 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 3.23 – 2.99 (m, 8H, $\text{CH}_{\text{Piperazyna}}$), 2.96 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 2.23 – 2.17 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.81 – 1.69 (m, 6H, CH_{Alif}), 1.48 (dt, $J = 14.3, 7.2$ Hz, 2H, CH_{Alif}), 1.39 – 1.30 (m, 2H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-IR: 3057 (C-H Ar, Rozc), 2937; 2861 (C-H Alif, Rozc), 1590; 1491 (C=C Ar, Rozc), 1386 (C-N, Rozc), 767 (C-Cl, Rozc) 654 (C-S, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: $m/z = 469.27$, czas retencji - $R_t = 4.43$ min, czystość 93%,

Temperatura topnienia: $mp = 112\text{--}113^\circ\text{C}$,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.78$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 4.46$ min, czystość = 93%,
Wydajność = 43%,

Związek opisany numerem 49 otrzymano zgodnie z procedurą opisaną w przykładach 23 i 24, stosując w syntezie półprodukty otrzymane w przykładach 11 i 12.

P R Z Y K Ł A D 23

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny-2,2-ditlenku

W moździerzu roztarto 0,001 mola 2,2-ditlenku 1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny, 0,00095 mola arylo-piperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola NaOH oraz 0,0001 mola TBAB. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej i do mieszaniny reakcyjnej dodano 2 cm³ ACN. Reakcje prowadzono przez 45 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 100 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

P R Z Y K Ł A D 24

Otrzymywanie 1-(6-[4-(arylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny-2,2-ditlenku

W moździerzu utarto 0,001 mola 2,2-ditlenku 1-(6-bromoheksylo)-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinoliny, 0,00095 mola arylo-piperazyny opisanej wzorem (V) dobranej odpowiednio do syntezowanego związku, 0,003 mola NaOH oraz 0,0001 mola DABCO. Roztartą mieszaninę przeniesiono do kolby okrągłodennej. Reakcje prowadzono przez 60 sekund w reaktorze mikrofalowym przy mocy wyjściowej mikrofal 60 W. Postęp reakcji monitorowano za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodano 40 cm³ wody i umieszczono w lodówce (temp. 4°C) na 12 godzin. Po ochłodzeniu surowy produkt odsączono. Surowy produkt krystalizowano z metanolu. Ligand rozpuszczono w acetonie, następnie przekształcono w chlorowodorki z 4 M HCl w dioksanie.

Związek nr 49

1-(6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo)-1H,4H-[1,2,5] tiadiazolo[4,3,2-ij]chinolino-2,2-ditlenek

Widmo wodorowe magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.42 – 7.21 (m, 3H, ArH), 6.71 – 6.90 (m, 2H, ArH), 7.17 (d, J = 6.6 Hz, 1H, ArH), δ 6.81 – 6.78 (m, 1H, ArH), 4.22 – 4.13 (m, 2H, S(O)₂N-CH), 3.87 (d, J = 12.6 Hz, 2H, CH_{Piperazyna}), 3.21 – 2.95 (m, 8H, CH_{Piperazyna}), 2.96 – 2.85 (m, 2H, CH_{Alif}), 2.13 – 2.10 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.80 – 1.62 (m, 6H, CH_{Alif}), 1.48 – 1.43 (m, 2H, CH_{Alif}), 1.39 – 1.30 (m, 2H, CH_{Alif}),

Spektroskopia w podczerwieni FT-1R : 3051 (C-H Ar, Rozc), 2943; 2844 (C-H Alif, Rozc), 1575; 1499 (C=C Ar, Rozc), 1367 (C-N, Rozc), 771 (C-Cl, Rozc),

Wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas UPLC-MS: m/z = 489.28, czas retencji - $R_t = 5.19$ min, czystość 94%,

Temperatura topnienia: mp = olej,

Chromatografia cienkowarstwowa TLC: współczynnik retencji $R_f = 0.65$,

Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC: czas retencji $R_t = 6.05$ min, czystość = 99%,

Wydajność = 32%,

Powinowactwo zsyntezowanych związków, o wskazanych wyżej numerach 1 do 49 oraz opisanych wzorem ogólnym (I), do wybranych receptorów serotoninowych i dopaminowych zbadano zgodnie ze standardową procedurą oceny aktywności do receptorów D₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇ (Y. Cheng, W. Prusoff, „Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (150) of an enzymatic reaction”, *Biochem. Pharmacol.*, 1973), (M. Kołaczkowski, M. Marcinkowska, i inni, „Novel Arylsulfonamide Derivatives with 5-HT₆/5-HT₇ Receptor Antagonism Targeting Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia”, *Journal of Medicinal Chemistry* 2014), co opisano poniżej w przykładach 25 oraz 26 i przedstawiono w tabeli zawierającej ich profil farmakologiczny.

P R Z Y K Ł A D 25

Hodowla komórkowa oraz wytwarzanie błon komórkowych do testów *in-vitro*

Komórki HEK293 o stabilnej ekspresji ludzkich receptorów serotoninowych oraz dopaminowych (5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT_{7B}, D_{2L}) przygotowano z użyciem Lipofectamine 2000 lub CHO-K1 z plazmidem zawierającym sekwencję kodującą ludzką serotoninę. Receptor 5-HT_{2A} (utrzymywany w 37°C w wilgotnej atmosferze, 5% CO₂, hodowany na podłożu Eagle Dulbecco, 10% dializowana płodowa surowica bydlęca i 500 µg / ml siarczanu G418). Preparat błonowy – komórki hodowano w kolbach o pojemności 150 cm² i hodowano do konfluencji 90%, przemywano dwukrotnie solą fizjologiczną buforowaną fosforanem (PBS) w 37°C i osadzano przez odwirowanie (200 g) w PBS zawierającym 0,1 mM EDTA i 1 mM ditiotritol. Przed przygotowaniem membrany peletki przechowywano w temperaturze -80°C.

P R Z Y K Ł A D 26

Testy wiązania radioliganda

Rozmrożone i homogenizowane (20 objętości buforu testowego, homogenizator tkanek Ultra Tur-rax) wirowano dwukrotnie (35 G przez 20 min w 4°C, z inkubacją przez 15 minut w 37°C pomiędzy rundami wirowania). Skład buforów testowych: 5-HT_{1A}: 50 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargiliny, 0,1% askorbinianu, 5-HT_{2A}: 50 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 0,1% askorbinianu; 5-HT₆: 50 mM Tris-HCl, 0,5 mM EDTA i 4 mM MgCl₂; 5-HT₇: 50 mM Tris-HCl, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargiliny, 0,1% askorbinianu; D₂: 50 mM Tris HCl, 1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,5 mM CaCl₂, 0,1% askorbinianu. Wszystkie testy inkubowano w całkowitej objętości 200 µl na 96-studzienkowych płytkach do mikromiareczkowania przez 1 godz. w 37°C, z wyjątkiem 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}, które inkubowano w temperaturze pokojowej. Stan równowagi utrwalono przez filtrację (płytki Unifilter z 96-dołkowym aparatem do zbierania komórek (PerkinElmer)). Zawartość radioligandów zatrzymanych na filtrach oznaczono ilościowo na czytniku płytek Microbeta (PerkinElmer). W przypadku badań wypierania, próbki do testu zawierały jako radioligandy: 2,5 nM [3H]-8-OHDPAT (187 Ci / mmol) - 5-HT_{1A}, 1 nM [3H]-Ketanserin (53,4 Ci / mmol) - 5-HT_{2A}, 2 nM [3H]-LSD (85,2 Ci / mmol) - 5-HT₆, 0,8 nM [3H]-5-CT (39,2 Ci / mmol) - 5-HT₇ lub 2,5 nM (3H)-raclopride (76,0 Ci / mmol) - D₂. Nieswoiste wiązanie zdefiniowano za pomocą 10 µM 5-HT w próbach wiązania 5-HT_{1A} i 5-HT₇, podczas gdy 10 µM chlorpromazyny lub 10 µM metiohepiny zastosowano w testach 5-HT_{2A} / D₂ i 5-HT₆. Odpowiednio każdy związek badano w trzech powtórzeniach w 7 do 8 różnych stężeniach (10⁻⁴-10⁻¹¹ M.) Stałe wypierania (K_i) obliczono z równania Chenga-Prusoffa (Y. Cheng, W. Prusoff „Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction”, *Biochem. Pharmacol.*, 1973).

T a b e l a. Profil farmakologiczny nowych pochodnych arylopiperazyny

Nr związku	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
1	58	66	540	1681	336
2	75	43	429	480	53
3	197	181	423	689	124
4	246	161	493	1860	166
5	94	122	406	918	5095
6	204	688	1490	3187	1833
7	320	64	524	1726	420
8	161	599	1766	1128	17780
9	496	54	773	2214	291
10	945	536	4354	2045	48960
11	114	47	652	1699	366
12	180	291	1927	3666	3743
13	11	22	717	1916	84
14	867	32	892	1461	184
15	188	94	43	5253	475
16	431	9473	3983	952	696
17	82	22	222	999	119
18	56	71	55	568	36
19	2852	681	1913	1558	595
20	142	106	548	507	286
21	121	46	322	624	432
22	336	197	147	433	280
23	220	149	177	237	140
24	254	79	251	225	404
25	304	132	596	374	167
26	927	989	1526	937	5996
27	90	81	376	710	203
28	30	48	578	476	34
29	118	35	443	182	344
30	264	482	533	494	822
31	18	63	32	158	105
32	10	20	337	671	266
33	271	47	334	347	371
34	40040	35690	60100	5765	116500
35	27	28	461	246	73
36	1302	172	563	1966	1200
37	141	373	1918	1410	710
38	393	98	812	1142	605
39	344	1674	4784	3253	3750
40	319	187	629	392	405
41	1620	20330	5477	8757	2033
42	59	86	53	110	118
43	108	219	538	1075	509
44	337	251	1903	1672	47
45	2	19	456	3270	291
46	18	74	66	1139	61
47	1	44	12	379	16
48	85	206	258	582	171
49	253	70	282	1694	162

Wśród przebadanych 49 nowych związków wyłania się grupę ligandów o najkorzystniejszym profilu farmakologicznym, którymi są:

Selektywny ligand receptorów 5-HT_{1A} oznaczony w tabeli numerem 14,

Selektywny ligand receptorów 5-HT_{2A} oznaczony w tabeli numerem 15,

Selektywny ligand receptorów 5-HT₇ oznaczony w tabeli numerem 44,

Dualny ligand receptorów 5-HT_{1A} oraz 5-HT₇ oznaczony w tabeli numerem 2,

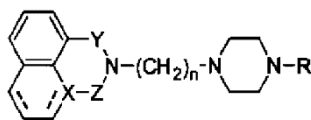
Dualny ligand receptorów 5-HT_{1A} oraz D₂ oznaczony w tabeli numerem 45,

Multifunkcyjny ligand receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} 5-HT₇ oraz D₂ oznaczony w tabeli numerem 47.

Związki oznaczone w tabeli numerami 2, 14, 15, 44 oraz 45 wykazują profil farmakologiczny korzystny przy leczeniu depresji oraz afektywnej choroby dwubiegunowej. Natomiast związek oznaczony w tabeli numerem 47 wykazuje profil farmakologiczny korzystny przy leczeniu schizofrenii oraz epizodów maniakalnych.

Zastrzeżenia patentowe

1. N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów określone wzorem ogólnym (I).



(I)

gdzie:

X oznacza N lub C,

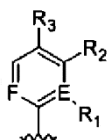
Z oznacza CS, CO lub SO₂,

Y oznacza grupę CO z wyłączeniem pochodnych tetrahydrochinoliny, albo brak tego podstawnika (brak atomu, brak grupy funkcyjnej),

↔ oznacza wiązanie pojedyncze albo podwójne,

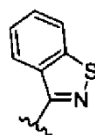
n = 6,

R oznacza grupę arylową określoną wzorem ogólnym (IA) albo (IB):



(IA)

albo



(IB)

gdzie dla R o wzorze (IA):

R₁ oznacza H, Cl, F, CF₃, OC₂H₅, NO₂, C₆H₅, OCH₃,

R₂ oznacza H, Cl, CF₃, OCH₃, C₆H₅,

przy czym w związkach cyklicznych R₁ = R₂ i oznaczają C₃H₃N, OCONH, OCH₂CONH,

R₃ oznacza H, Cl, Br, CF₃, OCH₃,

E, F oznacza N lub C.

2. Związek według zastrz. 1, o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i o wzorze ogólnym (I), gdzie:

X oznacza C,

Z oznacza CO,

Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

↔ oznacza wiązanie podwójne,

n wynosi 6,

R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym:

- R₁ oznacza H,
R₂ oznacza Cl,
R₃ oznacza H,
E oznacza C,
F oznacza C.
3. Związek według zastrz. 1, o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i wzorze ogólnym (I), gdzie:
X oznacza C,
Z oznacza CO,
Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,
↗ oznacza wiązanie podwójne,
n wynosi 6,
R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym:
R₁ oznacza H,
R₂ oznacza H,
R₃ oznacza H,
E oznacza N,
F oznacza C.
4. Związek według zastrz. 1, o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-pirymidynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on i wzorze ogólnym (I), gdzie:
X oznacza C,
Z oznacza CO,
Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,
↗ oznacza wiązanie podwójne,
n wynosi 6,
R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym:
R₁ oznacza H,
R₂ oznacza H,
R₃ oznacza H,
E oznacza N,
F oznacza N.
5. Związek według zastrz. 1, o nazwie chemicznej 2-[6-(4-{[1,1'-bifenylo]-2-ylo}piperazyn-1-ylo)heksylo]-1H-benzo[de]jizochinolino-1,3(2H)-dion i wzorze ogólnym (I), gdzie:
X oznacza C,
Z oznacza CO,
Y oznacza CO,
↗ oznacza wiązanie podwójne,
n wynosi 6,
R oznacza grupę arylową o wzorze ogólnym (IA), w którym:
R₁ oznacza C₆H₅,
R₂ oznacza H,
R₃ oznacza H,
E oznacza C,
F oznacza C.
6. Związek według zastrz. 1, o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on, i wzorze ogólnym (I), gdzie:
X oznacza N,
Z oznacza CO,
Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,
↗ oznacza wiązanie pojedyncze,
n wynosi 6,
R oznacza grupę arylową opisaną wzorem ogólnym (IA), w którym:
R₁ oznacza OCH₃,
R₂ oznacza H,

R₃ oznacza H,
E oznacza C,
F oznacza C.

7. Związek według zatr. 1, o nazwie chemicznej 1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij] chinolin-2(1H)-on i wzorze ogólnym (I), gdzie:
X oznacza N,
Z oznacza CO,
Y oznacza brak atomu, brak grupy funkcyjnej,

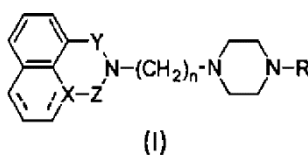
↗ oznacza wiązanie pojedyncze,

n wynosi 6,

R oznacza grupę aryłową opisaną wzorem ogólnym (IB).

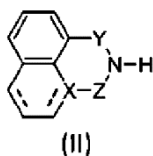
8. Związek według zastrz. 1, wybrany z grupy związków obejmującej
- 1-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-yl]heksylo}-benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(8-chinolinyl)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
1-{6-[4-(2-okso-2,3-dihydro-1,3-benzoksazol-7-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}benzo[cd]indol-2(1H)-on,
2-{6-[4-(2-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(4-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-fluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-(2H)nafto[1,8-cd][1,2]tiazolo-1,1(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(4-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-etoksyfenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-pirydynylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-nitrofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-fluorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(2-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
2-{6-[4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-

- dion,
 2-{6-[4-(4-bromofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
 2-{6-[4-(1,2-benzizotiazol-3-ilo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
 2-{6-[4-{{1-okso-2,3-dihydro-1H-izoindol-2-ilo}heksylo}-1H-benzo[de]izochinolino-1,3(2H)-dion,
 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-on,
 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-5,6-dihydro-4H-imidazo[4,5,1-ij]chinolin-2(1H)-tion,
 1-{6-[4-(3-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo]heksylo}-1H,4H-[1,2,5]tiadiazolo[4,3,2-ij]chinolina,
 2,2-ditlenek.
9. Sposób wytwarzania *N*-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów określonych wzorem ogólnym (I):



znamienny tym, że

w pierwszym etapie syntezy 1,8-naftylo/tetrahydrochinolino imidy / amidy / sulfonamidy, o wzorze ogólnym (II)

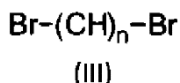


w którym :

X, Z, Y mają znaczenie jak we wzorze ogólnym (I),

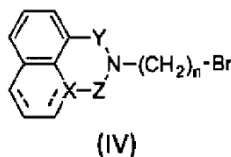
↗ oznacza wiązanie pojedyncze lub podwójne.

poddaje się reakcji *N*-alkilowania z dibromoalkanami o wzorze ogólnym (III):



gdzie $n = 6$,

w obecności czynnika zasadowego, takiego jak K_2CO_3 , Na_2CO_3 , KOH , NaOH , trietyloamina oraz katalizatora przeniesienia fazowego, takiego jak bromek tetra-*n*-butyloamoniowy, chlorek tetraetyloamoniowy, 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan i rozpuszczalnika, takiego jak *N,N*-dimetyloformamid, acetonitryl, woda albo bez rozpuszczalnika, przy czym w pierwszym etapie syntezy stosuje się na 1 mol cyklicznego 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidu / amidu / sulfonamidu 3 mole dibromoalkanów, 3 mole czynnika zasadowego, 0,1 mola katalizatora PCT i do 50 cm^3 rozpuszczalnika, a następnie tą mieszaninę poddaje się działaniu pola mikrofalowego przez 15–60 sekund w reaktorze mikrofalowym o mocy wyjściowej mikrofal 50–200 W, zaś otrzymany półprodukt, o wzorze ogólnym (IV):

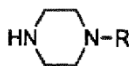


w którym :

X, Z, Y, n mają znaczenie jak we wzorze ogólnym (I),

↗ oznacza wiązanie pojedyncze lub podwójne,

oddziela się od środowiska reakcji przez dodanie wody i ekstrakcję chlorkiem metylenu, a po oddestylowaniu chlorku metylenu półprodukt maceruje się w heksanie i kieruje do drugiego etapu syntezy, w którym to etapie półprodukt, o wzorze ogólnym (IV) poddaje się reakcji kondensacji z arylopiperazyną o wzorze ogólnym (V) w obecności czynnika zasadowego, takiego jak K_2CO_3 , Na_2CO_3 , KOH, NaOH, trietyloamina, katalizatora przeniesienia fazowego PTC, takiego jak bromek tetra-*n*-butyloamoniowy, chlorek tetraetyloamoniowy, 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan i rozpuszczalnika, takiego jak *N,N*-dimetyloformamid, acetonitryl, woda albo bez rozpuszczalnika, przy czym w drugim etapie syntezy stosuje się na 1 mol półproduktu o wzorze (IV) 0,95 mola arylopiperazyny o wzorze ogólnym (V):



wzór V

w którym: R oznacza grupę aryłową określoną wzorem ogólnym (IA) albo (IB) jak w zastrz. 1, oraz 3 mole czynnika zasadowego, 0,1 mola katalizatora PCT i do 50 cm³ rozpuszczalnika, a następnie tą mieszaninę podaje się działaniu pola mikrofalowego przez 15–60 sekund w reaktorze mikrofalowym o mocy wyjściowej mikrofal 50–200 W, zaś otrzymany produkt o wzorze ogólnym (I) oddziela się przez dodanie do środowiska reakcji wody i odsączenie, po czym oczyszcza go przez krystalizację z metanolu.

Publikacja D4

Zaręba P., Drabczyk A.K. Jaśkowska J., Satała G., *Chemical puzzles in the search for new, flexible derivatives of lurasidone as antipsychotic drugs*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2020**, 28(10), 15,115459, (IF = 3.641) *.



Chemical puzzles in the search for new, flexible derivatives of lurasidone as antipsychotic drugs

Przemysław Zareba^{a,*}, Anna K. Drabczyk^a, Jolanta Jaśkowska^a, Grzegorz Satała^b

^a Faculty of Chemical Engineering and Technology, Institute of Organic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, 24 Warszawska Street, Cracow 31-155, Poland

^b Department of Medicinal Chemistry, Maj Institute of Pharmacology of the Polish Academy of Sciences, 12 Śmętna Street, Cracow 31-343, Poland

ARTICLE INFO

Keywords:

Serotonin receptors
Microwave
Lurasidone
Dopamine
Schizophrenia

ABSTRACT

In the pharmacotherapy of schizophrenia, there is a lack of effective drugs, and currently used agents cause a large number of side effects. The D₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} receptors are among the most important receptor targets in the treatment of schizophrenia, but antagonism at 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors may bring about additional improvement of cognitive functions. However, doubt exists regarding the importance of 5-HT₇R in the pharmacotherapy. In 2010, lurasidone (with high affinity for D₂, D₃, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₇ receptors) was approved for the treatment of schizophrenia. Due to the efficacy of the mentioned drug and doubts related to the role of 5-HT₇R, we decided to obtain compounds with an activity profile similar to that of lurasidone, but with the reduced affinity for 5-HT₇R and increased affinity for 5-HT₆R. For this purpose, we chose a flexible hexyl derivative of lurasidone (2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoindole-1,3(2H)-dione **1a**) as a *hit* structure. After molecular modeling, we modified it, in the area of the arylpiperazine and imide group, using the moieties found in other known CNS drugs. We received the compounds in accordance with the previously developed method of ecological synthesis in the microwave radiation field. Among the obtained compounds, *N*-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)naphthalene-sulfonamides **1v** and **1w** were distinguished as multifunctional ligands showing increased affinity for 5-HT₆R, and 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **1i** – a multifunctional ligand showing moderate affinity for 5-HT₆R and threefold lower for 5-HT₇R. In the paper, we discuss some of the observed dependencies regarding 5-HT₆/5-HT₇R affinity using molecular docking methods.

1. Introduction

Currently, there is still a lack of effective drugs in the pharmacotherapy of schizophrenia and the existing drugs have many side effects. The minimization of negative and cognitive symptoms seems to be a particularly difficult problem. Therefore, new drug candidates are still being sought, with a goal of achieving higher efficacy and minimized side effects.¹ The most important receptor targets in the treatment of schizophrenia include the dopamine D₂ receptors.² Some reports suggest that an effective antipsychotic drug should possess 5-HT_{2A} serotonin receptor antagonist profile in addition to the blockade of dopamine D₂R, due to the synergistic effect of the D₂/5-HT_{2A} antagonists.^{3,4} In mitigating the symptoms of schizophrenia, the effect of partial 5-HT_{1A}R agonism is also beneficial, resulting in the reduction of aggressive behaviors and depressive states,⁵ but also antagonism at 5-HT₆⁶ and 5-HT₇ receptors,⁷ because of improvement of cognitive

functions and antidepressant effect. However, the existing studies on the role of 5-HT₇ receptors are contradictory and there is no clear evidence of their importance and the effectiveness of their ligands in the treatment of psychiatric conditions.⁸ In search of antipsychotics, one of the leading strategies is to look for multifunctional ligands with high affinity for several receptor targets.⁹ An example of a multifunctional antipsychotic drug is lurasidone, long chain arylpiperazine (LCAP) compound, introduced to the US market in 2010 (Fig.1). This drug is characterized by high affinity for D₂, D₃, 5-HT_{1A}, 5HT_{2A}, 5-HT₇ receptors.¹⁰ In current studies, it has been shown that it is highly effective in the treatment of schizophrenia and certain types of depression, including bipolar depression. In addition, this drug does not cause a large number of side effects.¹¹

There is no data on significant lurasidone binding with 5-HT₆R in the literature. Due to the efficacy of the lurasidone pharmacological profile in the treatment of schizophrenia and role of 5-HT₆R in relieving

* Corresponding author.

E-mail address: przemyslaw.zareba@doktorant.pk.edu.pl (P. Zareba).

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115459>

Received 4 October 2019; Received in revised form 17 February 2020; Accepted 16 March 2020

Available online 29 March 2020

0968-0896/© 2020 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

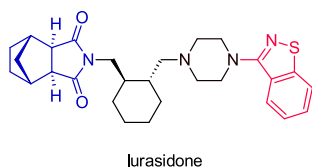


Fig. 1. The structure of lurasidone.

cognitive symptoms, it seems reasonable to search for ligands exhibiting a similar receptor profile as lurasidone, while simultaneously binding strongly with 5-HT₆R. Moreover, considering the ambiguities associated with the role of 5-HT₇R in the treatment of schizophrenia, it seems interesting to design a compound with a similar pharmacological profile as lurasidone, which does not bind to 5-HT₇R. This type of approach can help determine the role of the 5-HT₇R in the treatment of schizophrenia.

Previous research on derivatives of lurasidone described the influence of the used carbon linker on the affinity of the drug analogs for D₂/5-HT_{2A}R. Compounds having C3-C5 carbon chains were tested. It turned out that a butyl chain has optimal length of the alkyl chain, while its stiffening with the cyclohexyl ring increases the selectivity towards the D₂/5-HT_{2A} receptors. A group of amide and imide derivatives of 3-(4-butylpiperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole was also tested. The arylpiperazine and imide fragments were chosen because of their fitting for the D₂ receptor binding pocket and the binding inhibition (%) D₂/5-HT_{2A}.¹² On the basis of the reference literature and the structures of other antipsychotic drugs perospirone and ziprasidone¹³ (Fig. 2), it can be concluded that the strong binding of these compounds toward many serotonin receptors (in particular 5-HT_{2A}R and 5-HT₇R) and the dopamine D₂R is influenced by the benzo[d]isothiazol-3-ylpiperazine group (red marked, Fig. 1).

Other studies have described the pharmacological profile of a large group of aryl sulfonamide LCAP derivatives, having a fragment of benzo[d]isothiazol-3-ylpiperazine (red marked, Fig. 1) in the structure. These compounds were tested for binding toward the 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇ and D₂ receptors.¹⁴ Most compounds showed high affinity for all of the listed targets. However, none of the tested compounds showed high binding to the 5-HT_{2A}, 5-HT₆ and D₂ receptors in the absence of affinity for 5-HT₇R.¹⁵ In consideration of the previous research findings, a good fit of the benzo[d]isothiazol-3-ylpiperazine moiety for the 5-HT₆R binding pocket was associated with high affinity to 5-HT₆R, however it was also related with strong binding toward 5-HT₇R.

To build on previous research, we chose a compound with moiety's derived from the lurasidone as a basic structure (*hit*), i.e. (3aR,4S,7R,7aS)-3a,7a-dimethylhexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione (blue marked, Fig. 1) and 3-(piperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole (red marked, Fig. 1). Bearing in mind the interesting properties of LCAP with a hexyl carbon chain, in particular their high affinity for 5-HT_{1A}R, as previously published,¹⁵⁻¹⁷ we decided to choose a hexyl chain as a linker. In our study, we focused on the search for ligands with a similar binding profile to lurasidone, however, with the increased affinity for 5-HT₆R and reduced affinity toward 5-HT₇R.

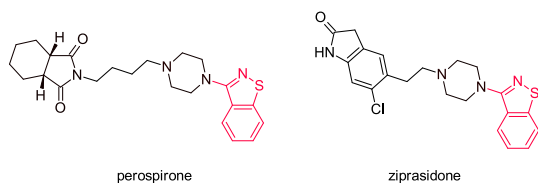


Fig. 2. The structure of perospirone and ziprasidone.

2. Results and discussion

The aim of the study was to synthesize lurasidone derivatives, showing the increased affinity for 5-HT₆R and reduced toward 5-HT₇R. The biological activity of the compounds (affinity for D₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇ receptors) was determined in *in vitro* radioreceptor assays. In the context of the interesting properties of LCAP having hexyl carbon linker¹⁵⁻¹⁷ as the *hit*, we chose the structure **1a** (3aR,4S,7R,7aS)-3a,7a-dimethylhexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione (shown in Fig. 3). As we showed in our previous publications, a change in the length of the carbon chain can lead to a change in the activity profile. This compound is a derivative of lurasidone with a flexible, elongated linker. We also planned modifications of the chosen *hit* **1a** structure, after molecular modeling, using structural fragments from other known drugs or drug candidates (trazodone, aripiprazole,¹⁸ flibanserin,¹⁹ NAN-190,²⁰ fananserin²¹), and groups derived from them. The compounds were obtained according to the previously developed, universal method of microwave assisted synthesis, using phase transfer catalysts (PTC).^{15-17,22,23}

The *hit* compound **1a** was obtained as a result of a two-step

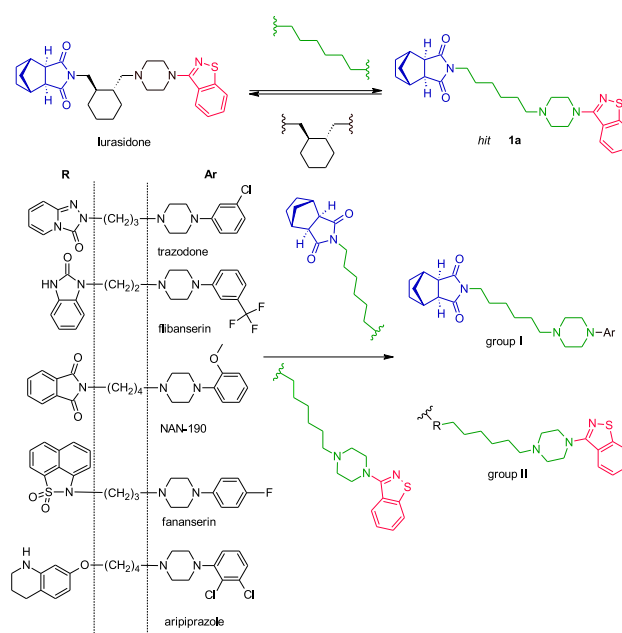
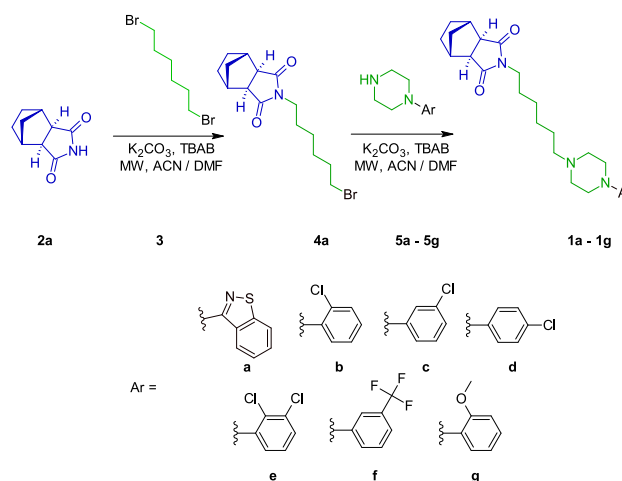


Fig. 3. Modification plan of the *hit* structure **1a**.



Scheme 1. Preparation of I group of compounds.

synthesis (scheme 1), including *N*-alkylation of (3*a*R,4*S*,7*R*,7*a*S)-3*a*,7*a*-dimethylhexahydro-1*H*-4,7-methanoisindole-1,3(2*H*)dione (2*a*) by 1,6-dibromohexane (3). In the next step, the resulting intermediate (4*a*) was condensed with 3-(piperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole (5*a*). The reactions were carried out in the presence of microwave radiation, using K₂CO₃ as a basic agent, tetra-*n*-butylammonium bromide (TBAB) as PTC, and a small amount of dimethylformamide (DMF).

The *hit* compound 1*a* showed a similar activity profile compared to lurasidone (Table 1). The compound had a slightly lower affinity for 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT₇ receptors, with an increased affinity toward D₂R. The compound 1*a* showed a relatively low affinity for the 5-HT₆R.

Table 1

Affinity of lurasidone¹⁰ and obtained derivatives (I group) for the tested receptors, K_i [nM]. Each compound was tested in triplicate at 8 different concentrations (10⁻⁴ to 10⁻¹¹ M).

No.	Ar	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
1 <i>a</i>		1.68 ± 0.09 1 ± 0.2	6.75 ± 0.97 27 ± 4	2.03 ± 0.46 4 ± 1	- 486 ± 86	0.5 ± 0.09 9 ± 2
1 <i>b</i>		35 ± 4	12 ± 2	541 ± 69	1641 ± 213	198 ± 29
1 <i>c</i>		225 ± 38	18 ± 4	81 ± 5	1142 ± 136	39 ± 5
1 <i>d</i>		370 ± 41	55 ± 7	73 ± 6	3028 ± 299	202 ± 31
1 <i>e</i>		55 ± 7	32 ± 4	161 ± 22	536 ± 62	117 ± 9
1 <i>f</i>		168 ± 17	22 ± 3	189 ± 23	2205 ± 251	53 ± 4
1 <i>g</i>		41 ± 5	4 ± 1	785 ± 151	4874 ± 627	146 ± 18

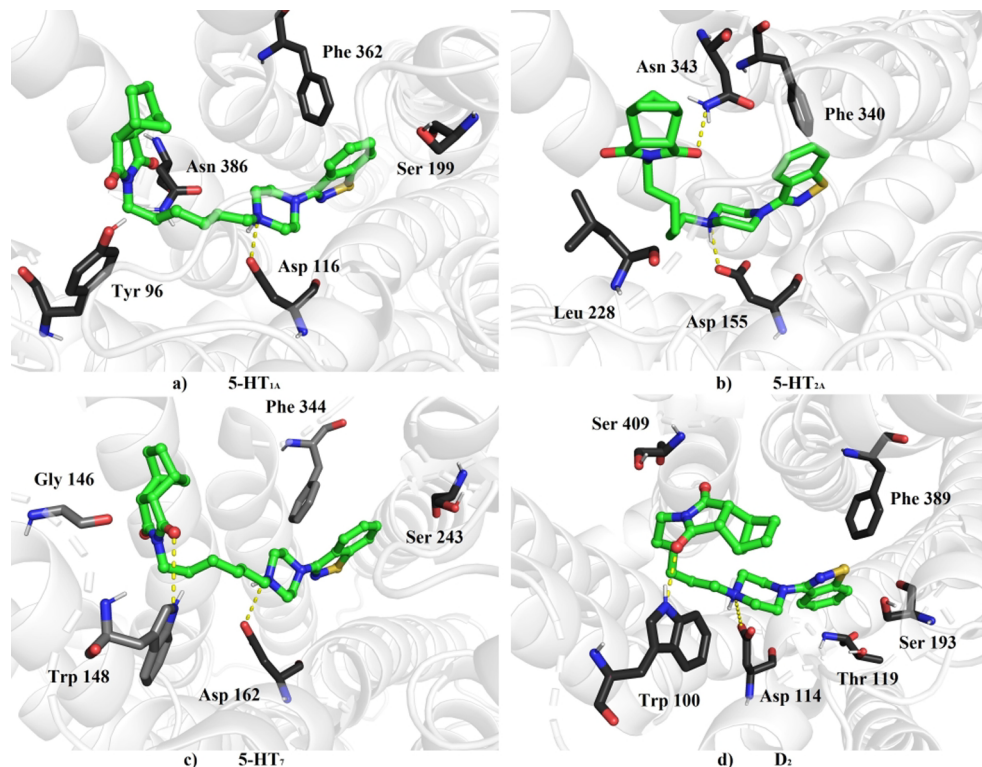


Fig. 4. Docking of 1*a* to the receptors: (a) 5-HT_{1A}, (b) 5-HT_{2A}, (c) 5-HT₇, (d) D₂. The yellow lines indicate the hydrogen bonds. Nitrogen – blue, sulfur – yellow, oxygen – red, green – 1*a*.

The differences appear in the bending of the alkyl chain and the terminal imide group. In the structure of lurasidone, a straight arrangement of the alkyl chain was described, where the imide group was directed towards helix 1 and 2. In *hit 1a*, the bending of the imide group towards helix 6 and 7 was observed. Ligand **1a** had a slightly lower affinity for 5-HT_{1A}R than 5-HT_{2A}, 5-HT₇ and D₂ receptors. This can be explained by the occurrence of additional hydrogen bonds, in which imide carboxylic groups are involved (5-HT_{2A}, 5-HT₇, D₂ receptors).

In the case of the 5-HT₆R, **1a** binding mode was compared with lurasidone and a phthalimide analogue. Interestingly, in the case of compounds having no aromatic rings in the terminal part, a different conformation of the 1,2-benzothiazole groups were observed. Moreover, in the *hit* structure, there was a different bending of the imide moiety in the terminal part of the binding pocket (similar arrangement was noted for other *hit* analogues, without aromatic group in the terminal part, e.g. hexyl perospirone analog). Straight binding modes were observed for the compounds with shorter linkers, or aromatic imides in the terminal part. However, lurasidone (and other compounds with short linkers), showed repulsive interactions with Asn86 residue.

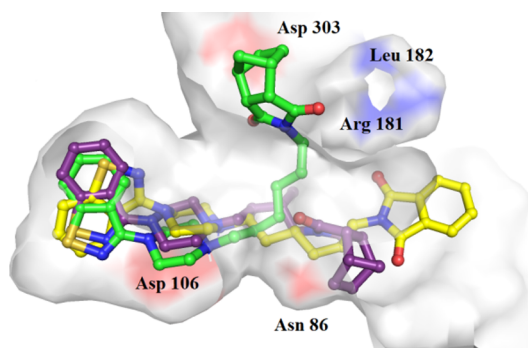


Fig. 5. Docking of **1a** (green), lurasidone (purple) and phthalimide analogue (yellow) to the receptor 5-HT₆. Nitrogen – blue, sulfur – yellow, oxygen – red. Receptor surface – blue represents a positive charge, red – negative charge.

Based on the conducted molecular modeling, it was found that the aromatic group in the terminal part may be used to increase the affinity of flexible, hexyl derivatives for 5-HT₆R. In the second part of the study, we decided to investigate two groups of hexyl lurasidone analogs. Structural modifications were performed as shown in Fig.3, using the compound **1a** as the base structure, whereas the fragments introduced in the modifications were derived from known LCAP compounds (trazodone, flibanserin, NAN-190, fananserin, aripiprazole) and from related moieties. In the first group, several analogs of the compound **1a** were obtained, with the selected arylpiperazine fragments. The common part is marked in blue. Modifications in the arylpiperazine moiety were introduced to assess whether the 1,2-benzothiazole group was crucial in the context of the multifunctionality of the hexyl derivatives of lurasidone.

The compounds **1b-g** were prepared according to the procedure analogous to the compound **1a**, including *N*-alkylation of (3aR,4S,7R,7aS)-3a,7a-dimethylhexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione (**2a**) by 1,6-dibromohexane (**3**) and condensation of the resulting intermediate (**4a**) with the selected arylpiperazine (**5b-5 g**) in the presence of microwave radiation (Scheme 1).

In the first group, the compounds were distinguished by a markedly higher selectivity, as compared to the *hit 1a*, in particular toward the 5-HT_{1A} receptors (Table 1). The compounds with a substituent on the aryl group in 2nd position showed the highest affinity for the D₂R (**1b**, **1e**, **1g**). The placement of the substituent at the 3rd position in the aromatic ring resulted in an increased affinity for the 5-HT₇R (**1c**, **1e**, **1f**). Substitution in the 4th (**1d**) or 3rd (**1c**) position resulted in the highest

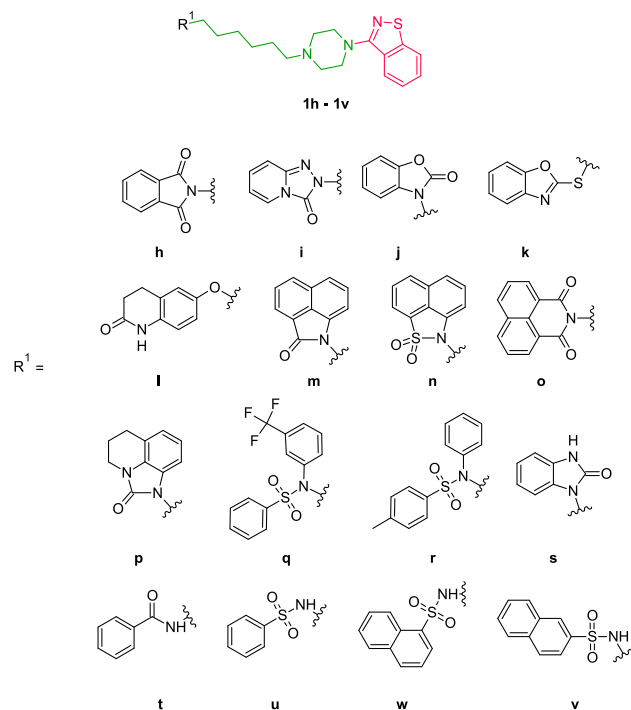
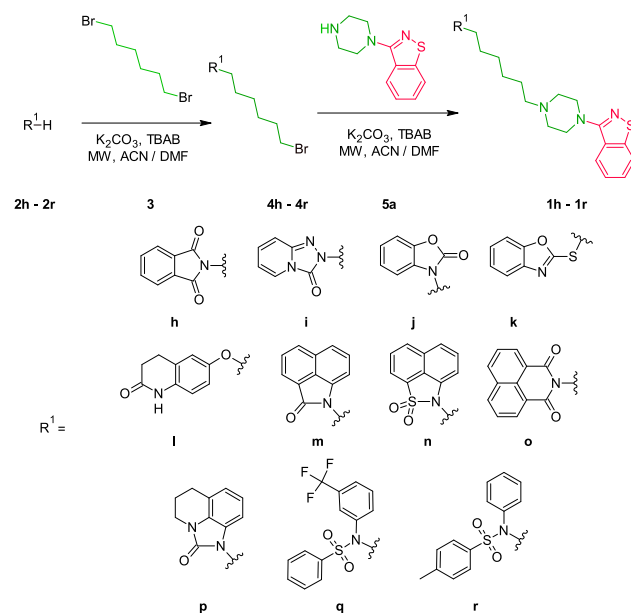


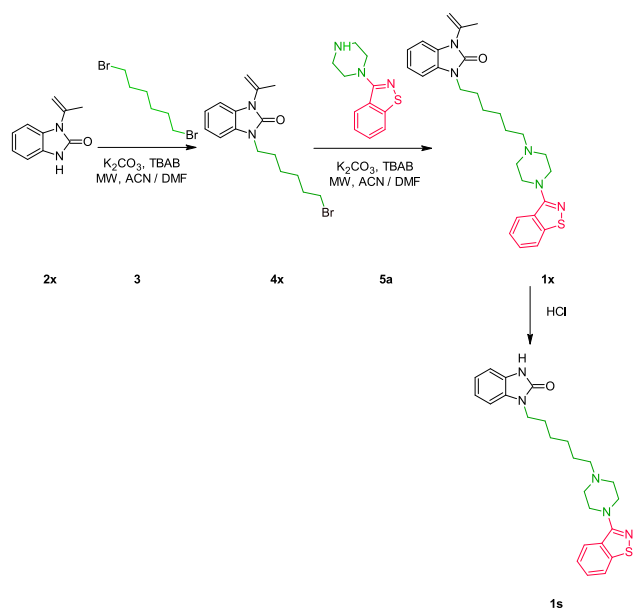
Fig. 6. The second group of compounds.

affinity for the 5-HT_{2A}R. Interestingly, the profile of activity changed very clearly and regularly, when the position of the substituent in the aryl part was changed. In the presented group, two dual ligands for 5-HT_{1A}/D₂ receptors (**1b**, **1g**) and two dual 5-HT_{1A}/5-HT₇R ligands (**1c**, **1f**) were distinguished. However, the compound **1a** showed the highest (albeit relatively low) affinity for 5-HT₆R. Therefore, in the next part of the work, we decided to synthesize a group of 3-(4-hexylpiperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole derivatives, as shown in Fig.6. The planned compounds had aromatic moieties in the terminal part due to the high affinity for 5-HT₆R, which was previously determined in molecular modeling.

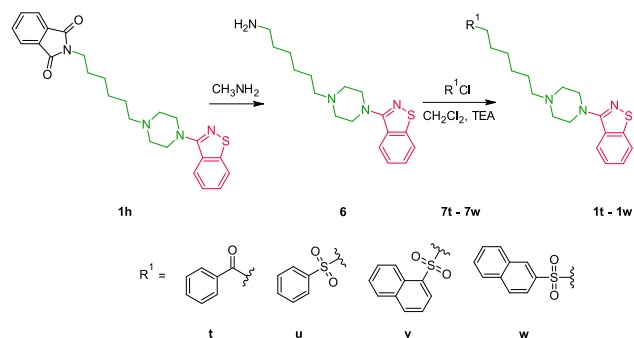
The compounds **1h-1r** were obtained as a result of a two-step



Scheme 2. Preparation of compounds **1 h-1r** from group II.



Scheme 3. Preparation of compound 1s from group II.



Scheme 4. Preparation of compounds 1t-1w from group II.

synthesis (scheme 2), including the *N*-alkylation, *O*-alkylation or *S*-alkylation of the corresponding heterocycles (**2h-2p**) or sulfonamides (**2q, 2r**) with 1,6-dibromohexane (**3**). The next step was condensation of the resulting intermediate (**4h-4r**) with 3-(piperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole (**5a**). The reactions were carried out in the presence of microwave radiation, using K_2CO_3 as a basic agent, TBAB as a PTC and small additions of DMF or acetonitrile (ACN).

The compound **1s** was obtained as a result of a three-step synthesis²⁶ (Scheme 3), including *N*-alkylation of 1-(prop-1-en-2-yl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**2x**) by 1,6-dibromohexane (**3**). The next step was condensation of the resulting intermediate (**4x**) with 3-(piperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole (**5a**). In the final step, deprotection of the protected 1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one derivative (**1x**) by adding 4 M HCl in dioxane was performed.

The compounds numbered **1t-1w** were obtained from compound **1h** by a two-step reaction (scheme 4), involving the preparation of amine **6** in the Gabriel reaction using methylamine²⁷ followed by condensation of the resulting amine with the corresponding arylsulfonyl chloride (**7u-7w**) or arylacylchloride (**7t**) in the presence of triethylamine.²⁸

The substitution of the group (3aR,4S,7R,7aS)-3a,7a-dimethylhexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione with another imide group (**1h, 1o**) resulted in a decrease in 5-HT₇R affinity with a simultaneous increase of the affinity for 5-HT₆R, which was desirable in the context of this work. A much more favorable profile was exhibited by **1h**, which had a small decrease in the affinity for 5-HT_{2A}R and D₂R as compared to **1a**. The use of amide groups (**1m**) caused lower affinity for all receptors, without changing the activity profile. The compound with a benzamide moiety in the terminal part (**1t**) showed the increased affinity for 5-HT₆R. Very interesting properties were exhibited by the compounds having in their structure cyclic urea moieties (**1i, 1p, 1s**). The compounds **1p** and **1s** showed a similar activity profile compared to **1a**, with a small increase in 5-HT₆R affinity (Table 2).

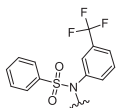
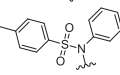
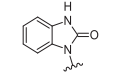
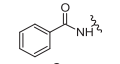
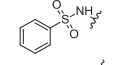
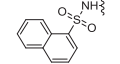
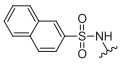
Table 2

Affinity of obtained compounds (II group) for the tested receptors, K_i [nM]. Each compound was tested in triplicate at 8 different concentrations (10^{-4} to 10^{-11} M).

No.	R ¹	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
1h		10 ± 2	18 ± 3	24 ± 2	160 ± 33	114 ± 17
1i		9 ± 2	11 ± 3	5 ± 1	252 ± 43	747 ± 93
1j		16 ± 1	5 ± 2	6 ± 2	189 ± 35	7 ± 2
1k		33 ± 4	10 ± 3	13 ± 4	302 ± 81	72 ± 9
1l		39 ± 5	20 ± 6	20 ± 3	805 ± 97	387 ± 61
1m		56 ± 8	71 ± 6	55 ± 4	568 ± 117	36 ± 8
1n		18 ± 3	63 ± 8	32 ± 5	158 ± 18	105 ± 14
1o		59 ± 7	86 ± 12	53 ± 3	110 ± 20	118 ± 22
1p		1 ± 0.3	44 ± 7	12 ± 2	379 ± 47	16 ± 3

(continued on next page)

Table 2 (continued)

No.	R ¹	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
1q		164 ± 12	42 ± 5	65 ± 8	1103 ± 141	193 ± 32
1r		106 ± 9	32 ± 3	26 ± 2	772 ± 82	54 ± 6
1s		16 ± 1	16 ± 3	6 ± 1	189 ± 35	7 ± 2
1t		14 ± 3	22 ± 4	4 ± 3	221 ± 42	99 ± 8
1u		31 ± 7	8 ± 1	15 ± 7	317 ± 23	37 ± 6
1v		31 ± 2	39 ± 8	63 ± 15	52 ± 7	30 ± 4
1w		27 ± 4	73 ± 11	44 ± 9	57 ± 4	31 ± 6

The compound **1i** was particularly interesting, as it exhibited a very close affinity (compared to **1a**) for the 5-HT_{1A}, D₂ and 5-HT_{2A} receptors and an almost twofold increase in the affinity for 5-HT₆R, with a very low binding with 5-HT₇R compared to **1a**.

Among the naphthyl sulfonamide derivatives **1n**, **1v**, **1w**, some decrease in the affinity for the D₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT₇ receptors can be observed. The compounds remain active in the said region, but also showed a much higher affinity for the 5-HT₆R compared to the **1a**. Interestingly, the use of a stiffened naphthalene sulfonamide moiety (**1n**) caused a threefold decrease in 5-HT₆R affinity in comparison with other naphthalenesulfonamide derivatives (**1v**, **1w**). Phenyl sulfonamide derivatives (**1q**, **1u**, **1r**) are characterized by a decrease in the binding towards D₂ and 5HT₇ receptors, as well as a significant decrease in the affinity for 5-HT₆R (except for **1u**). **1j** shows an increase in 5-HT_{1A}R, 5-HT₆R and 5-HT₇R affinity compared to **1a**, with a decrease in binding toward D₂R. The compound **1l** showed a high affinity for 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A}R and D₂R with a low affinity for 5-HT₆R and 5-HT₇R. In

the second group, 12 compounds with an increased affinity for 5-HT₆ receptors were obtained in comparison to *hit* **1a**. In the context of high binding for 5-HT₆R, while maintaining a high affinity for other receptors, **1v** and **1w** had the most beneficial properties. The compound **1i** appears to be particularly interesting in the context of this work, showing a similar activity profile compared to the **1a**, while at the same time strongly reducing the affinity for 5-HT₇R and moderate increase in the affinity for 5-HT₆ R.

In the context of binding for 5-HT₆R, the best results were obtained for naphthalenesulfonamide compounds **1v** and **1w**. Interestingly, **1n**, with the stiffened naphthalene sulfonamide fragment showed a significant decrease in the affinity for the 5-HT₆R. Its imide analog, **1o**, showed a slightly higher affinity for 5-HT₆R. We decided to investigate this with molecular docking methods (Fig.7). We performed docking using the homology 5-HT₆ receptor model (template 5-HT_{2A}, pdb ID: 6A94).

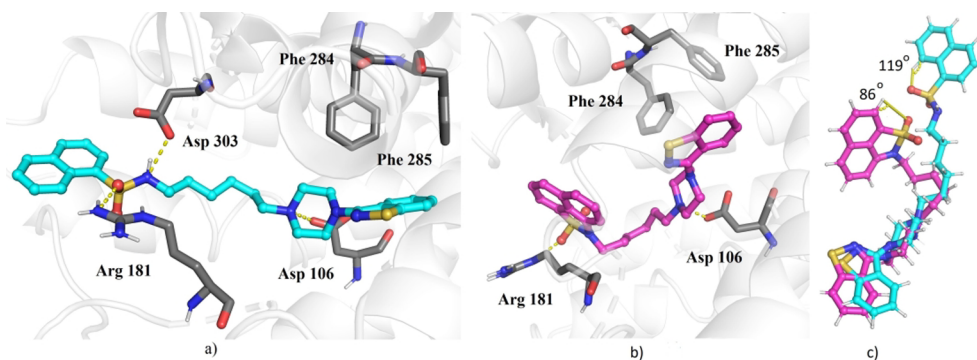


Fig. 7. Docking of a) **1v**, b) **1n**, for 5-HT₆R and a comparison of binding modes and the possibility of occurrence of intramolecular hydrogen bonds in **1v** and **1n**. The yellow lines indicate the hydrogen bonds. Nitrogen – blue, sulfur – yellow, oxygen – red, turquoise – **1v**, violet – **1n**.

For the naphthalenesulfonamide **1v** (Fig.7a) and the stiffened **1n** (Fig.7b), a similar arrangement of the arylpiperazine moiety in the 5-HT₆R binding pocket was observed. In both cases, the ligands showed the ability to form a salt bridge between the nitrogen atom in the piperazine structure and the residue Asp106. Interestingly, both compounds were involved in the formation of π - π interactions in the 3-(piperazin-1-yl)-1,2-benzothiazole part with the residues Phe284 and Phe285. The differences between the ligands were found in the bending of the naphthalenesulfonamide group. In the case of the compound **1v**, this group was arranged in the direction of helices 1 and 2, while in **1n** it bent towards the helix 6. Both ligands demonstrated the ability to form a hydrogen bond of the sulphonyl group with Arg181. In **1v**, an additional hydrogen bond was observed between the NH group in the sulfonamide structure and Asp303. The ability to form intramolecular hydrogen bonds in the arylsulfonamide fragment may also affect the affinity of 5-HT₆R.²⁵ In **1v**, the probability of occurrence of this type of binding was much greater than in the case of **1n**, which was confirmed by the geometry of the hypothetical hydrogen bond (Fig.7c.). These observations are consistent with the theory presented previously.²⁵

Most of the compounds in group II showed a high or moderate affinity for 5-HT₇R. The exception here was the compound **1i**, which was particularly interesting in the context of this work. The molecular docking to the 5-HT₇ receptor (homology modeling, template 5-HT_{1B}; pdb ID: 6G79) was performed to compare the binding mode of active compounds (**1a** – bright green, **1m** – blue, **1p** – pink, **1s** – brown) and inactive (**1i** – dark green) (Fig.8).

In the arylpiperazine fragment, all compounds exhibited similar alignment as previously described for the compound **1a**. In the compound **1i**, the piperazine nitrogen atom was the furthest away from Asp162, which could reduce the possibility of hydrogen bonding. The biggest differences were observed in the bending of the terminal groups. For the active compounds, the arrangement of the terminally located groups were identical. Polar interactions (hydrogen bonds) with Trp148 were observed. The inactive compound strongly bent towards helices 2 and 3, which may explain its low binding with 5-HT₇R.

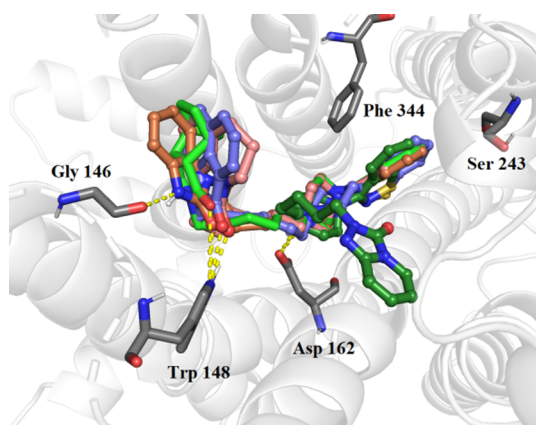


Fig. 8. Docking of selected ligands, for 5-HT₇R. The yellow lines indicate the hydrogen bonds. Nitrogen – blue, sulfur – yellow, oxygen – red, **1a** – bright green, **1m** – blue, **1p** – pink, **1s** – brown, **1i** – dark green.

3. Conclusion

In summary, the *hit* compound, which was a flexible, hexyl analog of lurasidone, had a similar binding profile to the mentioned drug. In **1a**, high binding for D₂ and 5-HT_{2A} receptors was maintained with a small decrease in the affinity for 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors. The studies focused on the search for lurasidone analogs with the increased affinity for 5-HT₆R and reduced to 5-HT₇R. Unfortunately, no compound was obtained that showed complete reversal of 5-HT₆/5-HT₇R activity. However, compounds with partial reversal of activity were obtained, and the relation between this effect and the structural modifications create a field for further studies.

In the context of the binding toward 5-HT₆R, the *hit* showed relatively low affinity. The presence of the 1,2-benzothiazole moiety proved to be crucial for the binding toward this receptor. In the group of derivatives of the aforementioned arylpiperazine, the most active compounds turned out to be the ones with a naphthalenesulfonamide fragment (**1v** and **1w**) in their structure, while the use of a stiffened naphthalenesulfonamide fragment (sultam; **1n**) caused a three-fold decrease in affinity. High binding with this type of compounds may result from the good alignment of the said arylpiperazine for the 5-HT₆R binding pocket, hydrogen bonds stabilizing the receptor-ligand complex, but also the possibility of intramolecular hydrogen bonds in the naphthalenesulfonamide fragment. The latter fact may explain the higher affinity of **1v** and **1w** compounds compared to **1n**, and also remains in accordance with previously published reports.²⁵ Interestingly, the 1,2-benzothiazole group was also of key importance in the context of the binding toward 5-HT₇R. Among the tested compounds, one (**1i**) was found which, despite the presence of the said moiety, showed a low affinity for 5-HT₇R, with moderate affinity for 5-HT₆R. In this compound, the affinities for the D₂, 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors remained at a very high level. Low binding with the 5-HT₇R was discussed, emphasizing the different bending of the triazolopyridinone group, as compared to the conformations of the active compounds. All compounds were obtained using the previously developed ecological method of the synthesis in the microwave radiation field, which confirmed its versatility in obtaining differentiated LCAP libraries. The development of the new analogs of currently used drugs with an altered activity profile may help to assess the actual importance of some receptor targets in the treatment of CNS disorders.

4. Experimental section

4.1. Chemistry

The microwave-assisted reactions were carried out in the CEM Discover microwave reactor (100 W). All chemicals were purchased from Sigma Aldrich and all solvents used in the synthesis were from POCH. Thin-layer chromatography (TLC) was performed using chloroform:methanol as an eluent, in the ratio of 9:1, on Sigma Aldrich sheets (silica gel on aluminium, with fluorescent indicator 254 nm, 200 μ m layer thickness, 60 \AA pore diameter, 8.0–12.0 μ m particle size) and UV light with a wavelength of 254 nm was used for the analysis. High-performance liquid chromatography (HPLC) was performed on a Perkin Elmer Series 200 HPLC (XTerra RP C-18, 3.5 μ m seed size, 4.6 \times 150 mm) column and MeOH:H₂O 1:1 eluent acidified with 0.1% formic acid. The melting points were measured using a Boëtius apparatus. IR spectra were taken on an FTS-165 spectrometer. ¹H NMR

spectra were recorded on Bruker Avance 400 MHz spectrometer, using TMS as an internal reference. The LC-MS system consisted of a Waters Acquity UPLC system coupled to a Waters TQD mass spectrometer (electrospray ionization mode ESI-tandem quadrupole). The analyses were carried out using an Acquity UPLC BEH C18, 1.7, 2.1 × 100 mm column.

4.1.1. Synthesis of intermediates 4a, 4h-4r

A mixture of heterocycle **2a**, **2h-2p**, **2x** or sulfonamide **2q**, **2r** (0.001 mol) with 0.414 g of K₂CO₃ (0.003 mol) and 0.032 g of TBAB (0.0001 mol) were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, after which 0.46 cm³ (0.003 mol) of 1,6-dibromohexane (**3**) and 0.2 cm³ of ACN or DMF was added. The reactions were carried out for 30 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. After the reaction had been completed, 40 cm³ of water was added to the mixture and extracted with methylene chloride. After the distillation of methylene chloride, the product was macerated in 20 cm³ of hexane to get rid of the excess 1,6-dibromohexane (**3**). The reaction yields for each product were calculated on the basis of the weight of the obtained product.

4.1.1.1. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-bromohexyl)-3a,7a-dimethylhexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 4a. Molecular formula: C₁₅H₂₂BrNO₂, ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 3.51 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CONCH), 3.40 (s, 2H, BrCH_{Aliph}), 3.32 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.65–2.57 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.53–2.46 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.81–1.71 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.65–1.49 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.48–1.11 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.00–0.90 (m, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3034 (C–H, Ar, Str), 2934; 2857 (C–H Aliph, Str), 1692 (C=O, Str), 1491; 1436 (C=C Ar, Str), 1342 (C–N, Str), HPLC: R_t = 5.41 min, P = 99%, TLC: R_f = 0.91, m_p = oil, Y = 79%.

4.1.1.2. 2-(6-bromohexyl)isoindoline-1,3-dione 4h. Molecular formula: C₁₄H₁₆BrNO₂, m_p = 55–57 °C, HPLC: R_t = 7.14 min, P = 99%, TLC: R_f = 0.90, Y = 79%.

4.1.1.3. 2-(6-bromohexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one 4i. Molecular formula: C₁₂H₁₆BrN₃O, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (ddd, *J* = 5.5, 3.3, 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.15–7.07 (m, 2H, ArH), 6.51 (ddd, *J* = 7.2, 4.4, 3.0 Hz, 1H, ArH), 4.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CONCH), 3.42–3.96 (dd, *J* = 8.0, 5.6 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.89 (ddd, *J* = 10.3, 7.3, 3.4 Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.55–1.48 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.46–1.39 (m, 2H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3066 (C–H Ar, Str), 2942; 2854 (C–H Aliph, Str), 1703 (C=O, Str), 1641 (C=N, Str), 1593; 1491 (C=C, Str), 1376 (C–N, Str), HPLC: R_t = 7.31 min, P = 91%, TLC: R_f = 0.96, m_p = oil, Y = 79%.

4.1.1.4. 3-(6-bromohexyl)benzo[d]oxazol-2(3H)-one 4j. Molecular formula: C₁₃H₁₆BrNO₂, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44–6.84 (m, 4H, ArH), 3.83 (dt, *J* = 17.0, 8.5 Hz, 2H, CONCH), 3.42 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.97–0.96 (m, 8H, CH_{Aliph}), FT-IR: 2969; 2931; 2860 (C–C Aliph, Str), 1743 (C=O, Str), 1615 (N–H, Str), 1484 (C=C, Str), 1371 (C–N, Str), 750 (C–Br, Str), HPLC: R_t = 3.20 min, P = 90%, TLC: R_f = 0.89, m_p = 55 °C, Y = 71%.

4.1.1.5. 2-((6-bromohexyl)thio)benzo[d]oxazole 4k. Molecular formula: C₁₄H₁₆BrNOS, ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.74–7.50 (m, 2H, ArH), 7.40–7.19 (m, 2H, ArH), 3.65–3.20 (m, 2H, SCH_{Aliph}), 2.67–2.39 (m, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.96–0.84 (m, 8H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3090 (C–H Ar, Str), 2970; 2934; 2856 (C–C Aliph), 1738 (C=O, Str), 1589; 1491 (C=C Ar, Str), 1380 (C–N, Str), HPLC: R_t = 3.83 min, P = 99%, m_p = 76 °C, Y = 67%.

4.1.1.6. 6-((6-bromohexyl)oxy)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one 4l. Molecular formula: C₁₅H₂₀BrNO₂, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.11 (s, 1H, NH), 6.89–6.60 (m, 3H, ArH), 3.93 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, OCH_{Aliph}), 3.44 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 3.02–2.88 (m, 2H, CONCH), 2.63 (dd,

J = 8.4, 6.7 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.01–1.40 (m, 8H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3176 (N–H Amine, Str), 3030 (C–H Ar, Str), 2969; 2936; 2858 (C–C Aliph, Str), 1747 (C=O, Str), 1502; 1485 (C=C Ar, Str), 1366 (C–N, Str), UPLC-MS: 329.17 (M + 1, 20) 328.17 (M, 100), 327.17 (M–1, 23), 326.17 (M–2, 97), HPLC: R_t = 12.18 min, P = 100%, TLC: R_f = 0.90, m_p = 115 °C, Y = 90%.

4.1.1.7. 1-(6-bromohexyl)benzo[cd]indol-2(1H)-one 4m. Molecular formula: C₁₇H₁₈BrNO, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ArH), 8.07–8.01 (m, 1H, ArH), 7.76–7.72 (m, 1H, ArH), 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.52–7.46 (m, 1H, ArH), 6.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, ArH), 3.99–3.93 (m, 2H, CONCH), 3.44–3.40 (m, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.89–1.80 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.50–1.41 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3055 (C–H Ar Str), 2932; 2857 (C–H Aliph, Str), 1694 (C=O, Str), 1602; 1495 (C=C Ar, Str), 1373 (C–N, Str), 773 (C–Br, Str), HPLC: R_t = 4.05 min, P = 88%, TLC: R_f = 0.90, m_p = oil, Y = 78%.

4.1.1.8. 2-(6-bromohexyl)-2H-naphtho[1,8-cd]isothiazole-1,1-dioxide 4n. Molecular formula: C₁₆H₁₈BrNOS, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08–8.00 (m, 1H, ArH), 7.98–7.91 (m, 1H, ArH), 7.77–7.72 (m, 1H, ArH), 7.62–7.51 (m, 1H, ArH), 7.46 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H, ArH), 6.75–6.68 (m, 1H, ArH), 3.86 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, SONCH), 3.44 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.95–1.86 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.61–1.53 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3060 (C–H Ar, Str), 2933; 2856 (C–H, Aliph, Str), 1591; 1492 (C=C Ar, Str), 1371 (C–N, Str), 1348 (S=O, Str), 851 (N–S, Str), 756 (C–Br, Str), HPLC: R_t = 4.12 min, P = 95%, TLC: R_f = 0.90, Y = 67%.

4.1.1.9. 2-(6-bromohexyl)-1H-benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione 4o. Molecular formula: C₁₈H₁₈BrNO₂, ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.48–8.40 (m, 4H, ArH), 7.91–7.79 (m, 2H, ArH), 4.07–4.01 (m, 2H, CONCH), 3.53 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.87–1.75 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.64 (dd, *J* = 14.7, 7.3 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.40–1.33 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3061 (C–H Ar Str), 2933; 2855 (C–H Aliph, Str), 1692 (C=O, Str), 1587; 1461 (C=C Ar, Str), 1361 (C–N, Str), 779 (C–Br, Str), HPLC: R_t = 3.85 min, P = 99%, TLC: R_f = 0.90, Y = 87%.

4.1.1.10. 1-(6-bromohexyl)-5,6-dihydro-1H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(4H)-one 4p. Molecular formula: C₁₆H₂₁BrN₂O, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.00–6.91 (m, 2H, ArH), 6.85–6.77 (m, 1H, ArH), 4.39 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H, CONCH), 3.44–3.40 (m, 2H, BrCH_{Aliph}), 3.15 (s, 2H, CH_{Aliph}), 2.84 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.12–2.05 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.90–1.85 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.84–1.74 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.40–1.38 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3059 (C–H Ar Str), 2928; 2852 (C–H Aliph, Str), 1703 (C=O, Str), 1599; 1486 (C=C Ar, Str), 1373 (C–N, Str), 780 (C–Br, Str), HPLC: R_t = 4.17 min, P = 96%, TLC: R_f = 0.90, m_p = oil, Y = 79%.

4.1.1.11. N-(6-bromohexyl)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzenesulfonamide 4q. Molecular formula: C₁₉H₂₁BrF₃NO₂S, ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.72–7.66 (m, 2H, ArH), 7.62–7.53 (m, 5H, ArH), 7.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.34 (s, 1H, ArH), 3.66–3.57 (m, 2H, SONCH), 3.47 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.71 (dd, *J* = 13.5, 6.9 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.31–1.25 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.20 (s, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3063 (C–H Ar, Str), 2937; 2855 (C–H Aliph, Str), 1491 (C=C Ar, Str), 1370 (C–N, Str), 1326 (S=O, Str), 1232 (C–F, Str), 786 (C–Br, Str), 690 (S–N, Str), 651 (C–S, Str), HPLC: R_t = 7.15 min, P = 99%, TLC: R_f = 0.95, m_p = 57–58 °C, Y = 81%.

4.1.1.12. N-(6-bromohexyl)-4-methyl-N-phenylbenzenesulfonamide 4r. Molecular formula: C₁₉H₂₄BrNO₂S, ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.43 (dd, *J* = 8.2, 6.2 Hz, 2H, ArH), 7.40–7.35 (m, 3H, ArH), 7.35–7.31 (m, 2H, ArH), 7.08–6.98 (m, 2H, ArH), 3.51 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H, SONCH), 3.47 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.71 (dd, *J* = 13.6, 6.8 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.51–1.44 (m, 3H, CH_{Aliph}), 1.29–1.20 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.18 (s, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3030 (C–H Ar, Str), 2926; 2863 (C–H Aliph, Str), 1489 (C=C Ar, Str), 1384 (C–N, Str), 1342 (S=O,

Str), 744 (C-Br, Str), 695 (S-N, Str), 655 (C-S, Str), HPLC: $R_t = 7.80$ min, P = 91%, TLC: $R_f = 0.95$, $m_p = 54-55$ °C, Y = 72%.

4.1.1.13. 1-(6-bromohexyl)-3-(prop-1-en-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one 4x. Molecular formula: $C_{16}H_{21}BrN_2O$, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.17–6.96 (m, 4H, ArH), 5.41–5.15 (m, 2H, isopropenyl- CH_2), 3.96–3.81 (m, 2H, CONCH), 3.40 (dt, $J = 13.5, 6.8$ Hz, 2H, $BrCH_{Aliph}$), 2.28–2.18 (s, 3H, isopropenyl- CH_3), 1.93–1.73 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.57–1.34 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3062 (C-H Ar, Str), 2956; 2935; 2854 (C-C Aliph, Str), 1624; 1485 (C=C, Str), 1402; 1377; 1363 (C-N, Str), P = 95%, TLC: $R_f = 0.85$, $m_p = 75$ °C, Y = 40%.

4.1.2. Synthesis of compounds (1a-1r)

A mixture of 6-bromohexylated derivative **4a/4r-4h** (0.001 mol), arylpiperazine **4a-g** (0.00095 mol), 0.414 g of K_2CO_3 (0.003 mol) and 0.032 g of TBAB (0.0001 mol) were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, and 0.2 cm^3 of ACN, or DMF was added. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After the reaction had been completed, 40 cm^3 of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off. In the absence of the required purity, the crude product was crystallized from methanol or methanol-water. After obtaining a minimum of 95% purity, the compounds were dissolved in acetone, then converted to hydrochlorides by 4 M HCl in dioxane. The reaction yields for individual compounds were calculated on the basis of the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.2.1. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione

1a. Molecular formula: $C_{26}H_{34}N_4O_2S$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.42–7.35 (m, 2H, ArH), 7.15–7.11 (m, 2H, ArH), 4.24 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H, CONCH), 3.68–3.52 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.33–3.24 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.12–3.06 (m, 4H, CH_{Pip}), 2.65 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.52–1.44 (m, 8H, CH_{Aliph}), 1.31–1.26 (m, 6H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 0.96 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3034 (C-H Ar, Str), 2941; 2870 (C-H Aliph, Str), 1686 (C=O Str), 1630 (C=N, Str), 1477; 1430 (C=C Ar, Str), 1371 (C-N, Str), 693 (S-N, Str), 624 (C-S, Str), UPLC-MS: 468.32 (M + 2, 5), 467.39 (M + 1, 35), 466.24 (M, 100), HPLC: $R_t = 5.80$ min, P = 96%, TLC: $R_f = 0.73$, $m_p = 169-172$ °C, Y = 67%.

4.1.2.2. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(2-chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1b.

Molecular formula: $C_{25}H_{34}ClN_3O_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.46–7.40 (m, 1H, ArH), 7.37–7.31 (m, 1H, ArH), 7.21–7.18 (m, 1H, ArH), 7.12–7.08 (m, 1H, ArH), 3.57 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, CONCH), 3.41 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.22–3.06 (m, 6H, CH_{Pip} , CH_{Aliph}), 2.69–2.64 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.50 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.74–1.69 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.48 (dd, $J = 14.4, 7.2$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.38–1.21 (m, 6H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 0.97 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3036 (C-H Ar, Str), 2936; 2875 (C-H Aliph, Str), 1692 (C=O Str), 1470; 1455 (C=C Ar, Str), 1362 (C-N, Str), 764 (C-Cl, Str), HPLC: $R_t = 2.73$ min, P = 95%, TLC: $R_f = 0.76$, $m_p = 189-191$ °C, Y = 63%.

4.1.2.3. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(3-chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1c.

Molecular formula: $C_{25}H_{34}ClN_3O_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.27–7.19 (m, 1H, ArH), 7.09–7.03 (m, 1H, ArH), 6.97 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.88 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H, CONCH), 3.74–3.61 (m, 8H, CH_{Pip}), 3.54 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 3.22–3.05 (m, 6H, CH_{Aliph}), 2.66 (s, 1H, CH_{Aliph}), 1.72–1.69 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.57 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 1.49–1.44 (m, 1H, CH_{Aliph}), 1.37–1.25 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 1.04–0.83 (m, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3051 (C-H Ar, Str), 2939; 2870 (C-H Aliph, Str), 1689 (C=O Str), 1475; 1455 (C=C Ar, Str), 1375 (C-N, Str), 787 (C-Cl,

Str), HPLC: $R_t = 2.63$ min, P = 94%, TLC: $R_f = 0.65$, $m_p = 184-186$ °C, Y = 71%.

4.1.2.4. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(4-chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1d.

Molecular formula: $C_{25}H_{34}ClN_3O_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.29 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, ArH), 7.02 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, ArH), 3.80 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H, CONCH), 3.59–3.48 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.23–2.99 (m, 6H, CH_{Pip} , CH_{Aliph}), 2.71–2.63 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.38–2.29 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.09 (s, 1H, CH_{Aliph}), 1.70 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.57 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.47 (dd, $J = 14.3, 7.2$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.41–1.19 (m, 6H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 0.97 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3057 (C-H Ar, Str), 2944; 2874 (C-H Aliph, Str), 1693 (C=O Str), 1491; 1455 (C=C Ar, Str), 1364 (C-N, Str), 711 (C-Cl, Str), HPLC: $R_t = 3.39$ min, P = 96%, TLC: $R_f = 0.64$, $m_p = 146-149$ °C, Y = 70%.

4.1.2.5. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(2,3-dichlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1e.

Molecular formula: $C_{25}H_{33}Cl_2N_3O_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.42–7.33 (m, 2H, ArH), 7.23 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1H, ArH), 3.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CONCH), 3.57–3.49 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.45 (d, $J = 12.1$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.21–3.14 (m, 4H, CH_{Pip}), 1.74–1.70 (m, 2H, CH_{Pip}), 1.68–1.64 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.56–1.50 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.46–1.41 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.40–1.35 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.31–1.28 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.24 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.15 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 1.00–0.95 (m, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3049 (C-H Ar, Str), 2937; 2873 (C-H Aliph, Str), 1693 (C=O Str), 1486; 1452 (C=C Ar, Str), 1373 (C-N, Str), 776 (C-Cl, Str), HPLC: $R_t = 3.55$ min, P = 95%, TLC: $R_f = 0.63$, $m_p = \text{oil}$, Y = 66%.

4.1.2.6. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1f.

Molecular formula: $C_{26}H_{34}F_3N_3O_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.48 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.30 (d, $J = 13.2$ Hz, 2H, ArH), 7.17 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 3.97 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H, CONCH), 3.60–3.49 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.15–3.07 (m, 6H, CH_{Pip} , CH_{Aliph}), 2.70–2.64 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.39–2.30 (m, 1H, CH_{Aliph}), 1.72 (d, $J = 27.7$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.57 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.53–1.41 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.41–1.24 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 0.97 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3045 (C-H Ar, Str), 2933; 2871 (C-H Aliph, Str), 1695 (C=O Str), 1471; 1455 (C=C Ar, Str), 1372 (C-N, Str), 1170 (C-F, Str), HPLC: $R_t = 3.01$ min, P = 95%, TLC: $R_f = 0.77$, $m_p = 190-191$ °C, Y = 65%.

4.1.2.7. (3aR,4S,7R,7aS)-2-(6-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)hexyl)hexahydro-1H-4,7-methanoisindole-1,3(2H)-dione 1g.

Molecular formula: $C_{26}H_{37}N_3O_3$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.04–6.97 (m, 2H, ArH), 6.93–6.88 (m, 2H, ArH), 3.80 (s, 3H, OCH), 3.51–3.47 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, CONCH), 3.28–2.93 (m, 8H, CH_{Pip} , CH_{Aliph}), 2.71–2.62 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.72 (d, $J = 18.5$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.57 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.47–1.44 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.30–1.21 (m, 6H, CH_{Aliph}), 1.16 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 0.97 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3054 (C-H Ar, Str), 2940; 2867 (C-H Aliph, Str), 1696 (C=O Str), 1453 (C=C Ar, Str), 1375 (C-N, Str), 1261; 1029 (C-O, Str), UPLC-MS: 442.28 (M + 3, 5), 441.35 (M + 2, 40), 440.46 (M + 1, 100), HPLC: $R_t = 1.92$ min, P = 97%, TLC: $R_f = 0.73$, $m_p = 147-150$ °C, Y = 54%.

4.1.2.8. 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)isindoline-1,3-dione 1h.

Molecular formula: $C_{25}H_{28}N_4O_2S$, 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.83 (dt, $J = 10.2, 3.8$ Hz, 4H, ArH), 7.75–7.66 (m, 2H, ArH), 7.51 (td, $J = 8.2, 7.0, 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (td, $J = 8.0, 7.0, 1.1$ Hz, 1H, ArH), 4.24–4.03 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.67 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CONCH), 3.50 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.13 (dd, $J = 20.2, 8.1$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.03–2.91 (m, 2H, CH_{Pip}), 1.95 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.76–1.65 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.61–1.35 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3037 (C-H Ar, Str),

2936; 2861 (C–H Aliph, Str), 1770, 1709 (C=O Str), 1612, 1591; 1560 (C=C Ar, Str), 1397, 1366 (C–N, Str), 796, 776, 743 (S–N, Str), 717, 710, 675 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 5.06$ min, P = 98%, TLC: $R_f = 0.56$, $m_p = 179$ – 185 °C, Y = 44%.

4.1.2.9. 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one 1i. Molecular formula: $C_{23}H_{28}N_6OS$, 1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.12 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.84 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.63–7.55 (m, 2H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.22 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, ArH), 6.61 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 4.06 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H, CONCH), 3.90 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.58–3.51 (m, 2H, CH_{pip}), 3.26–3.14 (m, 4H, CH_{pip}), 3.12–3.08 (m, 2H, CH_{pip}), 1.77–1.63 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.34–1.28 (s, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3037 (C–H Ar, Str), 2940; 284 (C–H Aliph, Str), 1708 (C=O, Str), 1640 (C=N, Str), 1539; 1476 (C=C, Str), 1371 (C–N, Str), 692 (S–N, Str), 665 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 8.12$ min, P = 97%, TLC: $R_f = 0.63$, $m_p = 62$ – 64 °C (oiled), Y = 51%.

4.1.2.10. 3-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)benzo[d]oxazol-2(3H)-one 1j. Molecular formula: $C_{24}H_{28}N_4O_2S$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.12 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (dd, $J = 11.5$, 4.4 Hz, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, ArH), 7.24 (td, $J = 7.8$, 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.14 (td, $J = 7.8$, 1.2 Hz, 1H, ArH), 4.05 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H, CONCH), 3.83 (dd, $J = 13.6$, 6.6 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.60–3.55 (m, 2H, CH_{pip}), 3.50 (t, $J = 13.0$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.24 (dd, $J = 21.2$, 9.3 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.12 (dt, $J = 10.6$, 5.3 Hz, 2H, CH_{pip}), 1.74 (d, $J = 6.6$ Hz, 4H, CH_{aliph}), 1.37 (s, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3030 (C–H Ar, Str), 2970; 2929; 2857 (C–H Aliph, Str), 1591 (C=C Ar, Str), 1365 (C–N, Str), 752 (S–N, Str), 677 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 5.21$ min, P = 96%, TLC: $R_f = 0.71$, $m_p = 170$ – 172 °C, Y = 47%.

4.1.2.11. 2-((6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)thio)benzo[d]oxazole 1k. Molecular formula: $C_{24}H_{28}N_4OS_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.13 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 7.68–7.64 (m, 1H, ArH), 7.60 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.34–7.31 (m, 1H, ArH), 7.28 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.18–7.01 (m, 1H, ArH), 6.85 (m, 1H, ArH), 4.06 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H, CONCH), 3.70–3.45 (m, 4H, CH_{pip}), 3.39–3.23 (m, 2H, CH_{pip}), 3.14 (m, 2H, CH_{pip}), 3.04–2.76 (m, 2H, CH_{pip}), 1.88–1.27 (m, 8H, CH_{aliph}), FT-IR: 3290 (N–H amine, Str), 3024 (C–H Ar, Str), 2994, 2969; 2938; 2856 (C–H Aliph, Str), 1591 (C=C Ar, Str), 1379 (C–N, Str), 742 (S–N, Str), 677 (C–S, Str), UPLC-MS: 455.18 (M + 3, 15), 454.25 (M + 2, 40), 453.25 (M + 1, 100), HPLC: $R_t = 6.06$ min, P = 97%, TLC: $R_f = 0.82$, $m_p = 164$ °C, Y = 40%.

4.1.2.12. 6-((6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)oxy)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one 1l. Molecular formula: $C_{26}H_{32}N_4O_2S$, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (d, $J = 22.1$ Hz, 1H, ArH), 7.86 (dd, $J = 10.9$, 6.1 Hz, 1H, ArH), 7.53 (dd, $J = 14.5$, 7.1 Hz, 1H, ArH), 7.42 (dd, $J = 14.4$, 7.4 Hz, 1H, ArH), 6.78–6.67 (m, 4H, ArH), 4.15 (m, 2H, CONCH), 3.93 (dd, $J = 13.2$, 6.7 Hz, 2H, CH_{pip}), 3.57 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.10 (dd, $J = 50.5$, 10.1 Hz, 2H, CH_{pip}), 2.98–2.89 (m, 2H, CH_{pip}), 2.67–2.57 (m, 2H, CH_{pip}), 2.13–1.43 (m, 12H, CH_{aliph}), FT-IR: 3343 (N–H, Str), 3056 (C–H Ar, Str), 2926; 2855, 2812 (C–H Aliph, Str), 1700 (C=O Str), 1655 (C=N, Str), 1591; 1559 (C=C Ar, Str), 1391, 1379 (C–N, Str), 771, 771, 734 (S–N, Str), 679 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 4.86$ min, P = 96%, TLC: $R_f = 0.69$, $m_p = 159$ – 161 °C, Y = 53%.

4.1.2.13. 1-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)benzo[cd]indol-2(1H)-one 1 m. Molecular formula: $C_{28}H_{30}N_4OS$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.13 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, ArH), 8.07 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 7.82–7.77 (m, 1H, ArH), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.59–7.51 (m, 2H, ArH), 7.49 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.24 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 4.05 (s, 2H, CONCH), 3.93 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.58–3.50 (d, $J = 10.9$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.45–3.36 (m, 4H, CH_{pip}), 3.16–3.03 (m, 2H, CH_{pip}),

1.73–1.63 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.39–1.29 (m, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3037 (C–H Ar, Str), 2945; 2842 (C–H Aliph, Str), 1708 (C=O, Str), 1642 (C=N, Str), 1540; 1471 (C=C, Str), 1371 (C–N, Str), 692 (S–N, Str), 660 (C–S, Str), UPLC-MS: 473.19 (M + 3, 10), 472.26 (M + 2, 50), 471.20 (M +, 100), HPLC: $R_t = 11.16$ min, P = 95%, TLC: $R_f = 0.82$, $m_p = 193$ – 194 °C, Y = 36%.

4.1.2.14. 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-2H-naphtho[1,8-cd]isothiazole 1,1-dioxide 1n. Molecular formula: $C_{27}H_{30}N_4O_2S_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 8.17–8.10 (m, 2H, ArH), 7.93–7.88 (m, 1H, ArH), 7.64–7.57 (m, 3H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, ArH), 4.09 (d, $J = 12.8$ Hz, 2H, CONCH), 3.87 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.61–3.53 (m, 2H, CH_{pip}), 3.39–3.30 (m, 2H, CH_{pip}), 3.27–3.20 (m, 2H, CH_{pip}), 3.19–3.09 (m, 2H, CH_{pip}), 1.90–1.85 (m, 2H, CH_{aliph}), 1.73–1.66 (m, 2H, CH_{aliph}), 1.55–1.47 (m, 2H, CH_{aliph}), 1.43 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_{aliph}), FT-IR: 2978 (C–H Ar, Str), 2939, 2884 (C–H, Aliph, Str), 1639 (C=N, Str), 1594, 1476 (C=C Ar, Str), 1376 (C–N, Str), 1298 (S=O, Str), 687 (S–N, Str), HPLC: $R_t = 8.97$ min, P = 100%, TLC: $R_f = 0.87$, $m_p = 117$ – 121 °C, Y = 45%.

4.1.2.15. 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-1H-benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione 1o. Molecular formula: $C_{29}H_{30}N_4O_2S$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.50–8.41 (m, 4H, ArH), 8.16–8.08 (m, 2H, ArH), 7.88 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, ArH), 3.64 (t, $J = 19.2$ Hz, 2H, CONCH), 3.59 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.47 (t, $J = 12.3$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.37–3.20 (m, 4H, CH_{pip}), 3.16–3.10 (s, 2H, CH_{pip}), 1.73 (d, $J = 19.2$ Hz, 2H, CH_{aliph}), 1.69–1.53 (m, 2H, CH_{aliph}), 1.41–1.33 (m, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3062 (C–H Ar, Str), 2942, 2874 (C–H, Aliph, Str), 1693 (C=O, Str), 1656 (C=N, Str), 1589, 1493 (C=C Ar, Str), 1354 (C–N, Str), 697 (S–N, Str), UPLC-MS: 501.11 (M + 3, 15), 500.24 (M + 2, 40), 499.25 (M +, 100), 158.24 (5) HPLC: $R_t = 5.83$ min, P = 100%, TLC: $R_f = 0.47$, $m_p = 201$ – 203 °C, Y = 47%.

4.1.2.16. 1-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-5,6-dihydro-1H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(4H)-one 1p. Molecular formula: $C_{27}H_{33}N_5OS$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.12 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.00 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (dd, $J = 9.5$, 5.8 Hz, 1H, ArH), 6.83 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 4.05 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H, CONCH), 3.78–3.65 (m, 4H, CH_{pip}), 3.58–3.44 (m, 4H, CH_{pip}), 3.31–3.21 (m, 2H, CH_{pip}), 3.11–3.03 (m, 2H, CH_{pip}), 2.79 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_{aliph}), 2.02–1.98 (m, 2H, CH_{aliph}), 1.69–1.60 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.35 (d, $J = 3.6$ Hz, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3067 (C–H Ar, Str), 2935; 2859 (C–H Aliph, Str), 1672 (C=O Str), 1642 (C=N, Str), 1589; 1498 (C=C Ar, Str), 1379 (C–N, Str), 677 (S–N, Str), 656 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 4.54$ min, P = 97%, TLC: $R_f = 0.80$, $m_p = 55$ – 58 °C, (oiled), Y = 67%.

4.1.2.17. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzenesulfonamide 1q. Molecular formula: $C_{30}H_{33}F_3N_4O_2S_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.12–8.08 (m, 2H, ArH), 7.73 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.66–7.52 (m, 6H, ArH), 7.48–7.45 (m, 1H, ArH), 7.42 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.34 (s, 1H, ArH), 3.67–3.61 (m, 2H, SONCH), 3.21–3.14 (m, 8H, CH_{pip}), 1.74–1.69 (m, 2H, CH_{pip}), 1.56–1.40 (m, 4H, CH_{aliph}), 1.33–1.21 (vm, 4H, CH_{aliph}), FT-IR: 3063 (C–H Ar, Str), 2937; 2854 (C–H Aliph, Str), 1490 (C=C Ar, Str), 1370 (C–N, Str), 1326 (S=O, Str), 1233 (C-F, Str), 690 (S–N, Str), 654 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 7.82$ min, P = 92%, TLC: $R_f = 0.88$, $m_p = 217$ – 220 °C, Y = 54%.

4.1.2.18. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-4-methyl-N-phenylbenzenesulfonamide 1r. Molecular formula: $C_{30}H_{36}N_4O_2S_2$, 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.17–8.09 (m, 3H, ArH), 7.61 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.51–7.44 (m, 3H, ArH), 7.42 (s, 1H, ArH), 7.41–7.32 (m, 3H, ArH), 7.08–7.05 (m, 1H, ArH), 4.08 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H, SONCH), 3.44 (d, $J = 14.5$ Hz, 2H, CH_{pip}), 3.36–3.24 (m, 4H,

CH_{Pip}), 3.21–3.14 (m, 2H, CH_{Pip}), 1.80–1.71 (m, 2H, CH_{Pip}), 1.62 (d, $J = 39.1$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.55–1.44 (m, 3H, CH_{Aliph}), 1.38 (d, $J = 19.4$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.36–1.28 (m, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3067 (C–H Ar, Str), 2932; 2833 (C–H Aliph, Str), 1590, 1484 (C=C Ar, Str), 1380 (C–N, Str), 1361 (S=O, Str), 691 (S–N, Str), 653 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 6.29$ min, $P = 91\%$, TLC: $R_f = 0.88$, $m_p = 128$ – 130 °C, $Y = 63\%$.

4.1.3. Synthesis of compound 1s

A mixture of 6-bromohexylated derivative **4x** (0.002 mol), arylpiperazine **5a** (0.002 mol), 0.76 g of K₂CO₃ (0.006 mol) and 0.06 g of TBAB (0.0002 mol) were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, and 0.5 cm³ of DMF was added. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 50 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product (**1x**) was filtered off. In the absence of the required purity, the crude product was purified by column chromatography using chloroform:methanol 9:1 eluent as mobile phase. After obtaining a minimum of 95% purity, the product (**1x**) was dissolved in acetone, then converted to hydrochloride by 4 M HCl in dioxane resulting in the desired compound (**1s**). The reaction yield for 1-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one (**1s**) was calculated on the basis of the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.3.1. 1-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one 1s. Molecular formula: C₂₄H₂₈N₅O₅ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.50 (s, 1H, NH), 7.85 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.09 (dt, $J = 21.7, 7.5$ Hz, 3H, ArH), 6.99 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 4.14 (d, $J = 28.7$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.89 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, CONCH), 3.54 (dd, $J = 7.9, 4.5$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.12 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.01 (d, $J = 4.3$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 1.99 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.43 (m, 3H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3398 (N–H amine, Str), 3030 (C–H Ar, Str), 2931; 2856 (C–H Aliph, Str), 1758; 1708 (C=O, Str), 1612; 1590 (C=C Ar, Str), 1364 (C–N, Str), 742 (S–N, Str), 650 (C–S, Str), UPLC-MS: 439,43 (M + 4, 5), 438,36 (M + 3, 10), 437,43 (M + 2, 32), 436,37 (M + 1, 100), 177,18 (5); HPLC: $R_t = 4.86$ min, $P = 96\%$, TLC: $R_f = 0.58$, $m_p = 134$ – 135 °C, $Y = 20\%$.

4.1.4. Synthesis of amine 6

A mixture of 0.35 g of 2-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)isoindoline-1,3-dione **1h** (0.003 mol) and 15 ml of 40% aqueous solution of methylamine was stirred at room temperature for 48 h. After this time, 15 ml 20% aqueous solution of NaOH was added to the mixture and the mixture was stirred for another 24 h. Then, the resulting solution was mixed with 10 cm³ of brine and extracted with 2 × 30 cm³ methylene chloride. Organic layer was washed with water and dried over anhydrous magnesium sulphate. After the evaporation of methylene chloride under reduced pressure, the desired product (**6**) was obtained. The reaction yield for 6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexan-1-amine (**6**) was calculated on the weight of the obtained product (**6**).

4.1.4.1. 6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexan-1-amine

6. Molecular formula: C₁₇H₂₆N₄S ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01–7.66 (m, 2H, ArH), 7.57–7.19 (m, 2H, ArH), 3.79–3.35 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.11 (dd, $J = 13.5, 8.7$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.83–2.60 (m, 4H, CH_{Pip}), 2.55–2.31 (m, 2H, amine-NH₂), 1.79–1.14 (m, 10H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3342 (N–H amine, Str), 3054 (C–H Ar, Str), 2926, 2846, 2812, 27,69 (C–H Aliph, Str), 1633, 1590, 1559 (C=C Ar, Str), 1258, 1147, 1130, (C–N, Str), 773, 734 (S–N, Str), 679 (C–S, Str); HPLC: $R_t = 1.39$ min, $P = 99\%$, TLC: $R_f = 0.07$, $m_p = 72$ – 75 °C, $Y = 100\%$.

4.1.5. Synthesis of compounds 1 t-w

A mixture of 1.91 g of 6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexan-1-amine **6** (0.006 mol), 30 cm³ of methylene chloride and 0.63 cm³ of triethylamine was stirred in a round bottom flask. After complete dissolution of substrate (**6**), a benzoyl chloride **7 t** (0.0006 mol) or corresponding arylsulphonyl chloride **7u/v/w** (0.0006 mol) was added. The reaction mixture was stirred upon dissolution of chloride and left at room temperature for 3 h. After that time, the remaining solvent was evaporated under reduced pressure and the precipitate was dissolved in 20 cm³ methylene chloride and washed with 20 cm³ of 5% NaHCO₃ and 20 cm³ of water. Then, the organic layer was dried over anhydrous magnesium sulphate and the solvent was evaporated. Crude benzamide (**1t**) and sulphonamides (**1u/1v/1w**) were purified by column chromatography using chloroform:methanol 9:1 eluent as mobile phase, and after obtaining min. 95%, the compounds (**1t/1u/1v/1w**) were dissolved in acetone and converted to hydrochloride by 4 M HCl in dioxane. The reaction yields were calculated on the basis of the weight of the obtained hydrochlorides.

4.1.5.1. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)benzamide 1t. Molecular formula: C₂₄H₃₀N₄O₅ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92–7.79 (m, 3H, ArH), 7.58–7.39 (m, 5H, ArH), 6.57 (m, 1H, ArH), 4.25–4.06 (m, 4H, CH_{Pip}, CONCH), 3.75 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, NH), 3.50 (d, $J = 6.3$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.24–3.07 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.04–2.94 (m, 2H, CH_{Pip}), 2.00 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.76–1.67 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.51 (d, $J = 3.5$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.27 (dd, $J = 8.6, 5.5$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3288 (N–H amine, Str), 3055 (C–H Ar, Str), 2939, 2856 (C–H Aliph, Str), 1642, 1576 (C=C Ar, Str), 1487 (C–N, Str), 773, 742 (S–N, Str), 677, 669 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 1.70$ min, $P = 95\%$, TLC: $R_f = 0.54$, $m_p = 210$ °C, $Y = 28\%$.

4.1.5.2. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)benzenesulphonamide 1u. Molecular formula: C₂₃H₃₀N₄O₂S₂ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96–7.91 (m, 2H, ArH), 7.86 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H, ArH), 7.61–7.49 (m, 4H, ArH), 7.42 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 5.79 (s, 1H, NH), 4.26–4.05 (m, 4H, CH_{Pip}, CONCH), 3.65 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.24–3.04 (m, 4H, CH_{Pip}), 2.99–2.93 (m, 2H, CH_{Pip}), 2.17–1.18 (m, 8H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3268 (N–H amine, Str), 3054 (C–H Ar, Str), 2941; 2855 (C–H Aliph, Str), 1589 (C=C Ar, Str), 1380 (C–N, Str), 1317 (S=O, Str), 751 (S–N, Str), 659 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 1.705$ min, $P = 96\%$, TLC: $R_f = 0.6$, $m_p = 164$ – 166 °C, $Y = 41\%$.

4.1.5.3. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)naphthalene-1-sulfonamide 1v. Molecular formula: C₂₇H₃₂N₄O₂S₂ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 8.29–8.24 (m, 1H, ArH), 8.07 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.96 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, ArH), 7.72 (m, 1H, ArH), 7.64–7.59 (m, 1H, ArH), 7.58–7.52 (m, 2H, ArH), 7.42 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 5.85 (s, 1H, NH), 4.26–4.04 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.60 (d, $J = 12.2$ Hz, 2H, SONCH), 3.17–3.11 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.05–2.97 (m, 2H, CH_{Pip}), 2.93 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 1.97–1.33 (m, 8H, CH_{Aliph}). FT-IR: 3268 (N–H amine, Str), 3055 (C–H Ar, Str), 2969; 2940; 2855 (C–H Aliph, Str), 1589 (C=C Ar, Str), 1380 (C–N, Str), 1316 (S=O, Str), 751 (S–N, Str), 659 (C–S, Str), HPLC: $R_t = 1.91$ min, $P = 97\%$, TLC: $R_f = 0.67$, $m_p = 156$ °C, $Y = 75\%$.

4.1.5.4. N-(6-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)hexyl)naphthalene-2-sulfonamide 1w. Molecular formula: C₂₇H₃₂N₄O₂S₂ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (m, $J = 14.1, 8.7$ Hz, 3H, ArH), 7.93 (m, $J = 6.4$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (m, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.79 (m, $J = 11.6, 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (m, $J = 13.7, 7.7$ Hz, 3H, ArH), 7.54 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.48–7.42 (m, 1H, ArH), 4.16 (s, 1H, NH), 3.70–3.64 (m, 2H, CONCH), 3.39–3.33 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.13 (m, $J = 7.3, 4.9$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 1.84–1.39 (m, 12H, CH_{Pip}, CH_{Aliph}), FT-IR: 3293 (N–H amine, Str), 3092 (C–H Ar, Str), 2942, 2919, 2879, 2862

(C–H Aliph, Str), 1585 (C=C Ar, Str), 1426 (C–N, Str), 1316 (S=O, Str), 773 (S–N, Str), 657 (C–S, Str), HPLC: $R_f = 1.91$ min, P = 98%, TLC: $R_f = 0.65$, $m_p = 112$ °C, Y = 74%.

4.2. In vitro evaluation

4.2.1. Cell culture and preparation of cell membranes for radioligand binding assays

HEK293 cells with stable expression of human 5-HT_{1A}, 5-HT₆, 5-HT_{7b} and D_{2L} receptors were prepared with the use of Lipofectamine 2000. CHO-K1 cells, with plasmid containing the sequence coding for the human serotonin 5-HT_{2A} receptor were prepared using PerkinElmer. The cells were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere, with 5% CO₂ and grown in Dulbecco's Modified Eagle Medium (10% dialyzed fetal bovine serum, 500 µg/ml G418 sulfate). For membrane preparation, the cells were subcultured in 150 cm² flasks, grown to 90% confluence and then washed twice with pre-warmed to 37 °C phosphate buffered saline (PBS) and pelleted by centrifugation (using ×200g) in PBS containing 0.1 mM EDTA and 1 mM dithiothreitol. The pellets were stored at –80 °C.

4.2.2. Radioligand binding assays

The thawed cell pellets were homogenized in 20 volumes of assay buffer in tissue homogenizer (Ultra Turrax) and then centrifuged twice at 35g for 20 min (4 °C), with incubation for 15 min (37 °C) in between rounds of centrifugation. The composition of the assay buffers:

5-HT_{1A} – 50 mM Tris–HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargyline and 0.1% ascorbate; 5-HT_{2A} – 50 mM Tris–HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, and 0.1% ascorbate; 5-HT₆ – 50 mM Tris–HCl, 0.5 mM EDTA and 4 mM MgCl₂; 5-HT₇ – 50 mM Tris–HCl, 4 mM MgCl₂, 10 µM pargyline and 0.1% ascorbate; D₂ – 50 mM Tris HCl, 1 mM EDTA, 4 mM MgCl₂, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂ and 0.1% ascorbate.

The assays were incubated in a total volume of 200 µl in 96-well microtiter plates for 1 h (37 °C, except for 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A}, which were incubated at room temperature). The process of equilibration was terminated by rapid filtration through Unifilter plates (96-well cell harvester, PerkinElmer), and the radioactivity retained on the filters was quantified on a Microbeta plate reader (PerkinElmer).

For displacement studies, the assay samples contained the following as radioligands: 2.5 nM [³H]-8-OHDPAT (187 Ci/mmol) – 5-HT_{1A}; 1 nM [³H]-Ketanserin (53.4 Ci/mmol) – 5-HT_{2A}; 2 nM [³H]-LSD (85 k Ci/mmol) – 5-HT₆; 0.8 nM [³H]-5-CT (39.2 Ci/mmol) – 5-HT₇; 2.5 nM [³H]-raclopride (76.0 Ci/mmol) - D₂. Nonspecific binding was defined with 10 µM of 5-HT (5-HT_{1A}, 5-HT₇). 10 µM of chlorpromazine or 10 µM of methiothepine were used in the 5-HT_{2A}/D₂ and 5-HT₆ assays, respectively.²⁹ Each compound was tested in triplicate at 8 different concentrations (10^{–4} to 10^{–11} M). The inhibition constants (K_i) were calculated from the Cheng-Prusoff equation.³⁰ The results are expressed as the means of at least two separate experiments. The reference compounds: Buspirone for 5-HT_{1A}, Olanzapine for 5-HT_{2A} and 5-HT₆, Clozapine for 5-HT₇ and Risperidone for D₂.

4.3. Molecular modelling

The 3-dimensional structures were prepared using LigPrep 3.7.³¹ The appropriate ionization states at pH ¼ 7.4 were assigned using Epik.³² To assign the bond orders and appropriate amino acid ionization states The Protein Preparation Wizard was used. The grids were generated by centering the grid box of the size of 12 Å on the Asp3.32 with OPLS_2005 force field. Docking was performed by using Glide version 7.0, with the flexible docking option turned on. The poses were optimized with QM/MM approach (functional DFT-B3LYP and LACVP as basis set). QM region was set up on conserved amino acids and ligand.³³ The homology model of the active 5-HT_{1A} (template 5-HT_{1B}; pdb ID: 5V54³⁴) and 5-HT_{2A} (template pdb ID: 6BQG³⁵) receptor were

used, from gpocrdb³⁶, as well as the crystal structure of the D₂ (pdb ID: 6CM4³⁷) receptor in the complex with Risperidone. The homology model of the 5-HT₆R and 5-HT₇R were generated in SWISS-MODEL automated protein structure homology-modelling server,³⁸ using templates: 5-HT₆ (template 5-HT_{2A}; pdb ID: 6A94³⁹) 5-HT₇ (template 5-HT_{1B}; pdb ID: 6G79⁴⁰). Amino acid sequences were taken from UniProt.⁴¹ For the graphic presentation of selected the structures, PyMOL 3.7⁴² software was used. The models were validated using SWISS-MODEL server³⁸, by QMEAN⁴³ parameters determination. The percent of residues in favored regions of the Ramachandran plot was also determined.⁴⁴ Molecular docking was carried out for a set of ligands with known affinity. The sets of ligands with known activities (K_i < 50 nM) and inactivities (K_i > 500 nM) were retrieved from the ChEMBL database.⁴⁵ The selected set contained mainly ligands from the group of long-chain arylpiperazines and arylpiperidines due to the similarity of the binding mode. 25 active and 25 inactive ligands were selected.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The research was supported by the National Centre for Research and Development, LIDER VI project (LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015).

The computing resources from Academic Computer Centre CYFRONET AGH (member of PL-Grid Infrastructure, grant lcap2019) are gratefully acknowledged.

The authors acknowledge the support of the PROM programme no.PPI/PRO/2018/1/00013/U/001, which is co-financed by the European Social Fund under the Knowledge Education Development Operational Programme.

References

The described compounds are part of the patent application: P.429473

- Wasik A, Kołaczowski M, Wesolowska A. *Psychiatry*. 2014;11(1):1–8.
- Seeman P. *Can J Psychiatry*. 2002;47(1):27–38.
- Huang M, Panos JJ, Kwon S, Oyamada Y, Rajagopal L, Meltzer HY. *J Neurochem*. 2014;128(6):938–949.
- Meltzer HY, Herbert Y. *CNS Neurolog Disorders - Drug Targets*. 2017;16(8):900–906.
- Millan MJ. *J Pharmacol Exper Therapeut*. 2000;295(3):853–861.
- Garay RP, Bourin M, de Paillette E, Samalin L, Hameg A, Llorca PM. *Expert Opin Invest Drugs*. 2016;25(2):159–170.
- Pouzet B, Didriksen M, Arnt J. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002;71(4):655–665.
- Maxwell J, Gleason SD, Falcone J, et al. *Behav Brain Res*. 2019;359(1):467–473.
- Kim DH, Maneen MJ, Stahl SM. *Neurotherapeutics*. 2009;6(1):78–85.
- Ishibashi T, Horisawa T, Tokuda K, et al. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;334(1):171–181.
- Tarazi FI, Stahl SM. *Expert Opin Pharmacother*. 2012;13(13):1911–1922.
- Maruyama M. *Horisawa T. R&D Report: SUMITOMO KAGAKU*; 2013:53–62.
- Kellner M. *Dialogues Clin Neurosci*. 2010;12(2):187–197.
- Kołaczowski M, Marcinkowska M, Bucki A, et al. *J Med Chem*. 2014;57(11):4543–4557.
- Jaškowska J, Zaręba P, Śliwa P, Pindelska E, Satała G, Majka Z. *Molecules*. 2019;24:1609–1628.
- Zaręba P, Jaškowska J, Czekaj I, Satała G. *Bioorg Med Chem*. 2019;27(15):3396–3407.
- Zaręba P, Jaškowska J, Śliwa P, Satała G. *Bioorg Med Chem Lett*. 2019;29(16):2236–2242.
- Hall P, Michels V, Gavrilov D, et al. *Mol Genet Metab*. 2013;110(1–2):176–178.
- Borsini F, Evans K, Jason K, Rohde F, Alexander B. *CNS Drug Rev*. 2002;8(2):117–142.
- Foong JP, Bornstein JC. *NeuroReport*. 2009;20(3):325–330.
- Malleron L, Comte MT, Gueremy C, et al. *Med Chem*. 1991;34:2477–2483.
- Jaškowska J, Drabczyk AK, Kułaga D, Zaręba P, Majka Z. *Curr Chem Lett*. 2018;7:81–86.
- Kułaga D, Jaškowska J, Jasiński R. *J Heterocycl Chem*. 2019;56(5):1498–1504.
- Ichikawa O, Okazaki K, Tokuda K, Horisawa T, Yamazaki K. *Neurochem Int*. 2012;61:1133–1143.
- Grychowka K, Kurczab R, Śliwa P, et al. *Bioorg Med Chem*. 2018;26:3588–3595.

26. Yang F, Wu Ch, Li Z, et al. *Org Process Res Dev.* 2016;20(9):1576–1580.
27. Zhenxing, G.; Zhitao, L.; Songzhi, Y.; Shujin, L. Preparation method of Flibanserin, 2017, CN106749038 (A).
28. Kołaczkowski M, Kowalski P, Jaśkowska J, et al. Arylsulfonamides for the treatment of CNS diseases, 2012, WO2012/035123 1A.
29. Zajdel P, Marciniak K, Maslankiewicz A, et al. *Eur J Med Chem.* 2013;60:42–50.
30. Cheng Y, Prusoff W. *Biochem Pharmacol.* 1973;22:3099–3108.
31. LigPrep, version 3.7, Schrödinger, LLC, New York, NY; 2016.
32. Epik, version 3.5, Schrödinger, LLC, New York, NY; 2016.
33. Glide, version 7.0, Schrödinger, LLC, New York, NY; 2016.
34. Yin WC, Zhou XE, Yang D, et al. *Cell Discov.* 2018;4:12.
35. Peng Y, McCorvy JD, Harpsøe K, et al. *Cell.* 2018;8, 172:719–730.
36. Pándy-Szekeres G, Munk C, Tsonkov TM, et al. *Nucl Acids Res.* 2017;4, 46:440–446.
37. Wang S, Che T, Levit A, et al. *Nature.* 2018;555:269–273.
38. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, et al. *Nucl Acids Res.* 2018;46:296–303.
39. Kimura TK, Asada H, Inoue A, et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2019;26:121–128.
40. Garcia-Nafria J, Nehme R, Edwards PC, et al. *Nature.* 2018;558:620–623.
41. The UniProt Consortium. *Nucl Acids Res.* 2019;47:506–515.
42. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
43. Benkert P, Biasini M, Schwede T. *Bioinformatics.* 2011;27:343–350.
44. Lovell SC, Davis IW, Arendall WB, et al. *Proteins: Struct. Funct. Genet.* 2002;50:437–450.
45. Gaulton A, Bellis LJ, Bento AP, et al. ChEMBL: A Large-Scale Bioactivity Database for Drug Discovery. *Nucl Acids Res.* 2012;40.

Publikacja D5

Zaręba P., Śliwa P., Satała G., Zajdel P., Latacz G., Jaśkowska J., *New N-aryl-N'-aryl-/(thio)ureido-/sulfamoylamino-derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines: Effect of structural modifications on selectivity over 5-HT_{1A} receptor*, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2022**, 235, 114319, (IF = 7.088) *.



New *N*-aryl-*N'*-aryl-/(thio)ureido-/sulfamoylamino-derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines: Effect of structural modifications on selectivity over 5-HT_{1A} receptor



Przemysław Zareba^{a,*}, Paweł Śliwa^b, Grzegorz Satała^c, Paweł Zajdel^d,
Gniewomir Latacz^e, Jolanta Jaśkowska^b

^a Faculty of Chemical Engineering and Technology, Department of Chemical Technology and Environmental Analytics, Cracow University of Technology, 24 Warszawska Street, 31-155, Cracow, Poland

^b Faculty of Chemical Engineering and Technology, Institute of Organic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, 24 Warszawska Street, 31-155, Cracow, Poland

^c Department of Medicinal Chemistry, Maj Institute of Pharmacology – Polish Academy of Sciences, 12 Smętna Street, 31-343, Kraków, Poland

^d Department of Organic Chemistry, Jagiellonian University Medical College, 9 Medyczna Street, 30-688, Kraków, Poland

^e Department of Technology and Biotechnology of Drugs, Jagiellonian University Medical College, 9 Medyczna Street, 30-688, Cracow, Poland

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 January 2022

Received in revised form

12 March 2022

Accepted 23 March 2022

Available online 26 March 2022

Keywords:

Serotonin

Dopamine

Non-basic

Microwave

Synthesis

FMO

Molecular dynamics

5-HT_{1A}

ADME

Selectivity

Urea

ABSTRACT

The 5-HT_{1A} receptors are an important biological target in the treatment of CNS diseases. Recently, their importance in the context of non-CNS disease entities has also been postulated. In the light of these reports, we designed a new group of urea derivatives of *N*-aryl-*N'*-aryl-/(thio)ureido-/sulfamoylamino-derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines as 5-HT_{1A}R ligands, focusing on increasing receptor selectivity. We made structural modifications in three areas of the molecule. In the course of our research, we obtained a ligand with reduced basicity (**6f**), which, despite the loss of the protonable nitrogen atom, did not lose its affinity for the 5-HT_{1A}R ($K_i = 35$ nM) with a simultaneous increase in selectivity. In particular, a decrease in affinity for D₂R ($K_i = 1940$ nM) was observed, which was analyzed using molecular modeling methods, including FMO and molecular dynamics. Basic ADME-Tox parameters were characterized for **6f**, confirming its potential applicability in pharmacotherapy.

© 2022 The Authors. Published by Elsevier Masson SAS. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

The 5-HT_{1A} receptor (5-HT_{1A}R) belongs to the most widely studied metabotropic serotonin receptors [1]. It exerts its action through the G_{i/o} protein (G protein-coupled receptor; GPCR) and its stimulation causes inhibition of adenylate cyclase and reduction of the activity of the protein kinase A [2]. The 5-HT_{1A}R acts as a pre-synaptic receptor (autoreceptor) on the raphe nucleus neurons involved in the production of serotonin (5-HT) and also as a post-synaptic hetero-receptor, mediating responses to 5-HT released in

several areas of the brain, i.e. the septum, amygdala, thalamus, hippocampus, and hypothalamus [3]. The agonists of 5-HT_{1A}R have found wide application in the treatment of central nervous system (CNS) diseases such as anxiety [4], mood, or psychotic disorders [5]. The antagonists have also found clinical application as antipsychotic and anti-migraine drugs [3,6]

There are many reports in the literature regarding the key role of the 5-HT_{1A}R in the pathogenesis and treatment of the major depressive disorder (MDD) and psychotic disorders [3,7,8]. Some 5HT_{1A}R ligands, e.g. vortioxetin [9] and vilazodone [10], have recently been approved for the pharmacotherapy of depressive disorders. Moreover, several multifunctional ligands with 5-HT_{1A}R activity, including lurasidone [11], brexpiprazole [12] and

* Corresponding author.

E-mail address: przemyslaw.zareba@pk.edu.pl (P. Zareba).

cariprazine [13], are used in the treatment of psychotic disorders [14]. The 5-HT_{1A}R is also involved in neuroprotection against oxidative stress and neurodegenerative disorders, including Parkinson's disease [15].

The long chain arylpiperazines (LCAPs) are a rich source of the 5-HT_{1A}R ligands [10,11,16–18]. In some of them, urea moiety can be found in the terminal substructure [19], both incorporated the heterocyclic cores (e.g., trazodone [16], flibanserin [17]) and as the acyclic group (cariprazine [20]) (Fig. 1). The urea part is usually separated by a 2–6 carbon chain from the basic nitrogen atom.

Due to the significant role of 5HT_{1A}R in the therapy of CNS disorders and the growing interest in the use of 5-HT_{1A}R ligands in the treatment of non-psychiatric diseases, it seems important to search for new and selective 5-HT_{1A}R ligands. The development and characterization of the biological properties of such compounds could further contribute to explaining the role of 5-HT_{1A}R in the pathogenesis and treatment of CNS diseases. As part of this research, we decided to design and synthesize a group of new derivatives of the previously described 5-HT_{1A}R ligand, 2-(6-(4-(3-chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2*H*)-one (**1**) [21], which is a hexyl analogue of trazodone. Then, we investigated the effect of structural modifications on ligand selectivity over 5-HT_{1A}R. Flexible or constrained core of *N*-hexyl/hexylcarbamoyl piperazine urea analogs is common for all designed compounds. The linker length was selected based on our previous research [21,22]. According to recent studies, modifying a ligand's basicity may impact selectivity for some serotonin [23,24] and dopamine receptors [25]. Thus, we decided to develop an analog of compound **1** exhibiting reduced basicity. Generally, the undertaken structural modifications changed structure **1** at three diversity points (grey marked in Fig. 2): *i*) substitution of the arylpiperazine group or reduction of basicity by replacing the nitrogen atom in piperazine with a urea moiety (introduction of carbamoyl moiety), *ii*) reduction of flexibility of the alkyl chain with maintaining the hexyl scaffold, *iii*) changing the urea containing heterocycle in the terminal part.

Finally, the computational methods were employed to highlight the different selectivity of the obtained compounds for D₂R/5HT_{1A}R.

2. Results and discussion

2.1. Chemistry

As part of this study, three sets of compounds were synthesized, as shown in Fig. 2. The first set of new derivatives (**6a–f**) originated directly from structure **1**. Compounds **6a–e** had various substituted aryl groups (labeled Ar in Fig. 2) selected from previous docking studies while **6f** had a reduced basicity by replacing the basic nitrogen atom with a urea group in the piperazine ring (carbamoyl piperazine) (Fig. 3). Ligands were obtained in a two-step reaction consisting of *N*-alkylation of [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2*H*)-

one (**2**) with dibromohexane (**3a**), followed by substitution of the resulting product (**4a**) by the selected arylpiperazine (**5a–e**) or in the case of **6f**, with 4-(3-chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide **5h**. The reactions were carried out according to the previously developed microwave-assisted (MW) method [21], using tetra-*n*-butylammonium bromide (TBAB) as the phase transfer catalyst (PTC), acetonitrile (MeCN) as the solvent, and K₂CO₃ as the basic agent (in the case of **6f**, it was NaOH) (Scheme 1). The purpose of the catalyst was to enable the reaction to be carried out in a small amount of solvent at the interface between the solid (inorganic base and reactants) and the organic liquid phases.

The 4-(3-chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide **5h** was obtained by reacting arylpiperazine **5f** with urea in a MW reactor. The reaction proceeded in a melt of reactants, without the use of a solvent. This method is an interesting alternative to the reaction between arylpiperazine and nitrourea described in the literature, as the latter proceeds with worse atomic economy, lower yield, and in less ecological conditions (the need to use a solvent and long heating time) [26].

The second set of compounds included those with a modification within hexyl linker (**6g–i**). The synthesis procedure was similar as above and is shown also in Scheme 1. Compound **6g** with a chain constrained by a cyclohexyl ring was prepared by reacting [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridine-3(2*H*)-one (**2**) with (cyclohexane-1,4-diyl)bis(methylene) dimethanesulfonate (**3b**) followed by substitution of the resulting product **4b** by 3-chlorophenylpiperazine **5f**. The reactions were carried in a MW reactor, using TBAB, MeCN and K₂CO₃. Substrate **3b** was obtained from 1,4-cyclohexanedimethanol according to Haller, Durand [27]. Ligands **6h–i** constrained by a phenyl ring were obtained by reacting [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridine-3(2*H*)-one (**2**) with 1,4-bis(chloromethyl)benzene (**3c**) followed by substitution of the resultant intermediate **4c** by the appropriate arylpiperazine (**5f–g**) in a MW reactor. However, these reactions were performed using TBAB, MeCN, because, in the case of these ligands, it was necessary to use a stronger basic agent (NaOH).

The third studied set of compounds included derivatives with a modified terminal part consisting of a urea, sulfamide, or thiourea fragment. Three derivatives with tricyclic dihydroimidazoquinolinone moiety in terminal part (**6j–l**) and two ligands with an unsubstituted acyclic urea (**6l**) or sulfamide (**6l**) moiety were synthesized via paths shown on Scheme 2.

Derivatives with a tricyclic terminal core **6j–l** were obtained in a two-step reaction. In the first step, 1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-amine **7** was cyclized with urea, thiourea, or sulfamide in a MW reactor. The reactions were assisted by adding a small amount of dimethylformamide (DMF) (5% mass). In the next step, the obtained heterocycle **8a–c** was subjected to *N*-alkylation with 1,6-dibromohexane **3a** and substitution by arylpiperazine **5f** without isolation of the intermediate product, using the one-pot procedure. The reactions were carried out in accordance with the previously described MW-assisted method (Scheme 2). Ligands **6m–n** were

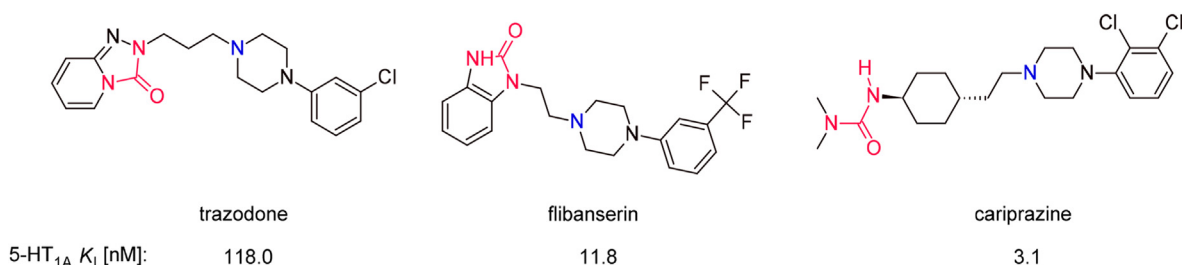


Fig. 1. The serotonin receptor ligands with urea fragment in their structure [13,16,17]. The basic nitrogen atom is marked in blue, the urea group is red.

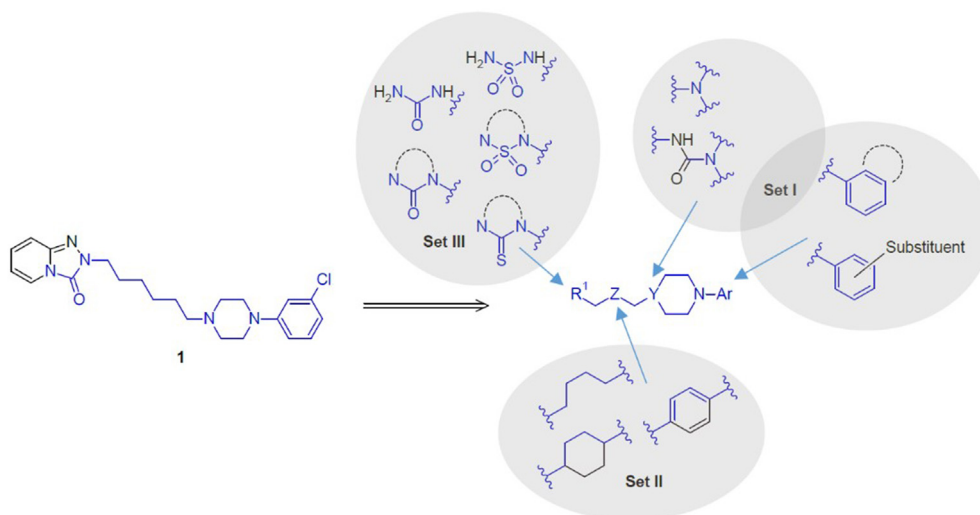


Fig. 2. Direction of structural modification in the **1** structure. The common core of all ligands is marked in blue.

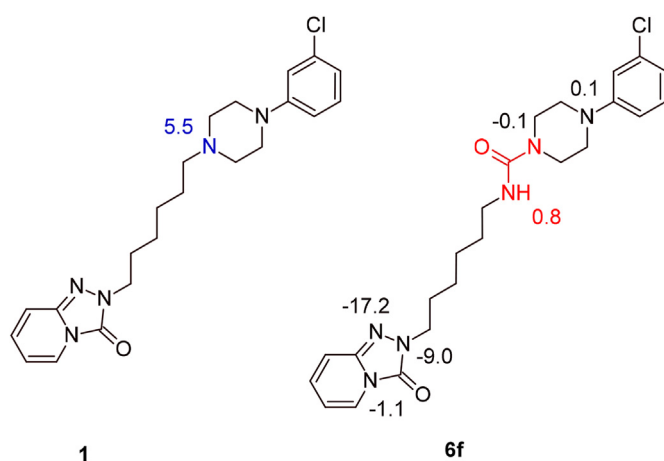


Fig. 3. Basicity of individual nitrogen atoms in the ligands structure, expressed by dissociation constants for the conjugated acids (pK_a). Values were calculated by *ab initio* approach in Jaguar. The pK_a values for the most basic nitrogen atoms are marked in blue [35].

obtained with a three-step synthesis consisting of the reaction of phthalimide with 1,6-dibromohexane **3a** and arylpiperazine **5f**, and converted to the primary amine **9** in the Gabriel reaction. The amine was next reacted with urea or sulfamide in a MW reactor. The reactions were conducted in a small amount of DMF (Scheme 2).

2.2. Radioligand binding and SAR study

The ligands affinity for the D_2 , 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors were next evaluated. The selectivity of **1** was calculated according to previous publication binding data [21]: ($D_2/5\text{-HT}_{1A} = 8.6$; $5\text{-HT}_{2A}/5\text{-HT}_{1A} = 21$; $5\text{-HT}_6/5\text{-HT}_{1A} = 122$; $5\text{-HT}_7/5\text{-HT}_{1A} = 17$). The receptor affinity profile of the obtained compounds is presented in Table 1.

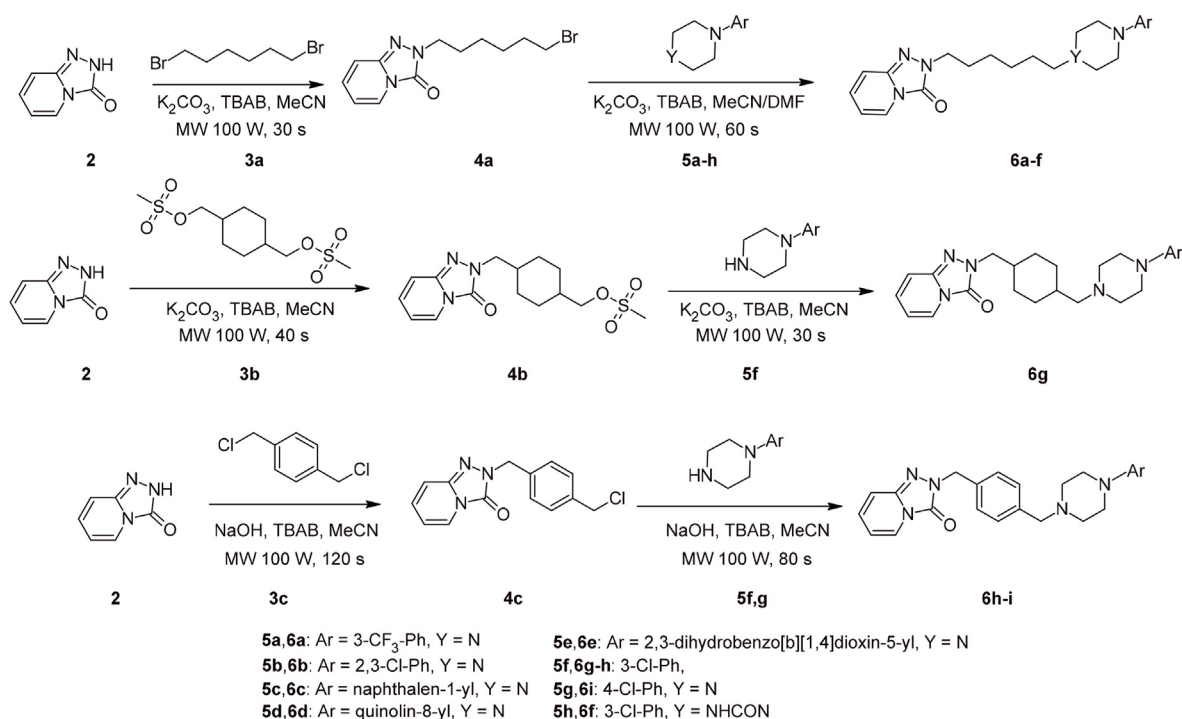
In this publication, we focused on the discussion of selectivity for 5-HT_{1A}R over D_2 R ($D_2/5\text{-HT}_{1A}$) due to the most pronounced and interesting relationship between the modifications performed and the selectivity.

According to the literature data, the introduction of a halogen

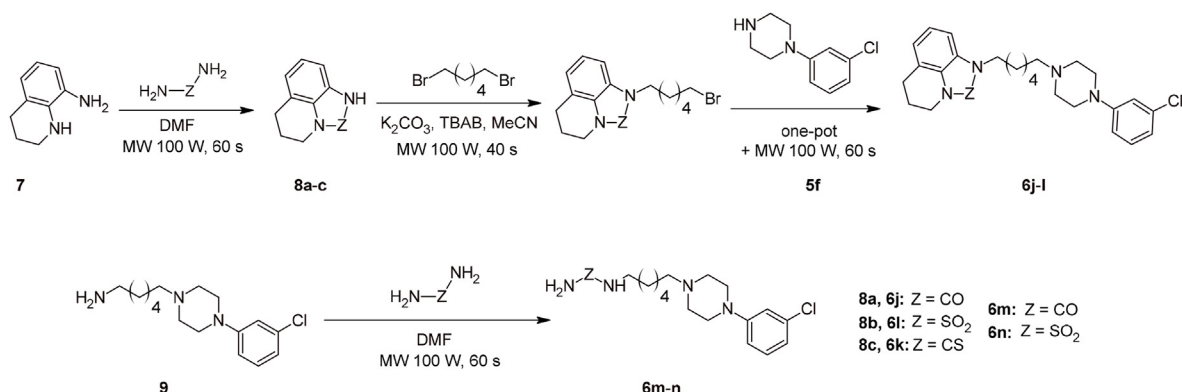
atom in the *ortho* or *meta* position of the arylpiperazine moiety may guarantee high affinity for 5-HT_{1A}R [28,29]. The increase in the size of the substituent at the *meta* position (**6a** compared to **1**) resulted in a slight decrease in the 5-HT_{1A} selectivity, while the introduction of second halogen in both *ortho* and *meta* positions significantly increased the affinity for 5-HT_{1A}R (**6b**), but decreased the selectivity ($D_2/5\text{-HT}_{1A} = 1.3$) compared to **1**. Compound **6b** behaves as dual-acting compound. The use of bulky two-ring substituents (**6c–d**) containing heteroatoms much improved **1** selectivity. The highest affinity for 5-HT_{1A} receptors was shown by **6e** ($D_2/5\text{-HT}_{1A} = 60$). The introduction of an additional carbamoyl group in the close vicinity of the piperazine (**6f**) significantly decreased the compound's basicity. Interestingly, this modification increased the ligand selectivity over 5-HT_{1A}R compared to D_2 R ($D_2/5\text{-HT}_{1A} = 55$).

Earlier publications showed that the use of appropriate alkyl chain constrained with the aromatic or non-aromatic ring could lead to an increase in affinity and selectivity or a complete change in the activity profile [30]. The alkyl chain constraint with a cyclohexyl ring (**6g**) resulted in a decrease in the affinity for all of the tested receptors, except for 5-HT₇R as compared to **1**. This compound retained a relatively high affinity for the 5-HT_{1A}R. The mentioned modification led to increased selectivity of D_2 R ($D_2/5\text{-HT}_{1A} = 18$). The use of an aryl ring (**6h**) resulted in a significant decrease in the affinity for the 5-HT_{2A} and 5-HT₇ receptors, however, while maintaining a relatively high affinity for D_2 R. Interestingly, changing the position of the chlorine substitution from *meta* to *para* (**6i**) resulted in a complete loss of affinity. This type of effect was not observed in the case of ligands with a flexible hexyl chain [21]. The alkyl chain constraint (e.g. **6g–i**) resulted in only a slight decrease of the affinity for 5-HT_{1A}R. However, in the first case (**6h**) it was associated with a 12-fold and a 3-fold decrease in binding for the 5-HT₇ and 5-HT_{2A} receptors, respectively.

In the last group, no modifications with a significant effect on increasing the selectivity as compared to compound **1** were obtained. For example, **6j** showed the highest affinity for D_2 R, which was also observed with other *N*-hexylaryl piperazine analogs of dihydroimidazoquinolinone [31]. Replacing the urea group with sulfamide (**6l**) resulted in improved selectivity toward 5-HT_{1A}R. The replacement of the urea group with thiourea (**6k**) resulted in a significant decrease in affinity for 5-HT_{1A}R and an increase in affinity for 5-HT₆R. Interestingly, **6k** and **6l** significantly decreased affinity for D_2 R as compared to **6l**. Compounds with unsubstituted urea (**6m**) or sulfamide (**6n**) groups showed 2-fold higher affinity



Scheme 1. Synthesis of the [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-ones derivatives (6a-i).



Scheme 2. Synthesis of compounds with tricyclic terminal core 6j-l and ligands with an acyclic urea derives. 6m-n.

for 5-HT_{1A}R as compared to its heterocycle analogs. Replacing the urea group (6m) with the sulfamide (6n) primarily resulted in an increase in affinity for 5-HT_{1A} and 5-HT₆ receptors with a simultaneous decrease in affinity for 5-HT_{2A}R. It can be concluded that retaining the terminal group of the triazolopyridinone is the most advantageous method in terms of selectivity towards 5-HT_{1A}R. Receptor functions were also determined for the compounds with the highest affinity for 5-HT_{1A}R (6e, 6d). Both of tested compounds showed antagonistic mechanism. K_b values mainly correspond to radioligand assay values (K_i), 6d: $K_b = 3.6$ [nM], 6e: $K_b = 2$ [nM].

We also decided to check the receptor affinity profile of 4-(3-chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide (5h), which was the substrate, and the base binding moiety in the 6f structure (Table 2). This compound showed a very low affinity for the tested group of receptors. In the case of trazodone, which is a propyl analogue of 1, 3-chlorophenylpiperazine was the base binding moiety and it showed moderate affinity and low selectivity towards for 5-HT_{1A}R. At 5h, the lack of binding for the tested receptors indicated a

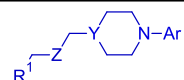























significant role of the terminal moiety for the affinity of compound 6f.

2.3. Molecular modeling

In the case of compounds 1, 6g, 6h and 6f, the effect of structural modifications in the central part of the ligand on the D₂/5-HT_{1A} selectivity seems to be of particular interest. Especially, in 6f, a 14-fold decrease in affinity for the dopamine receptor was observed in comparison with 1, which may be due to lower basicity. To explain these effects, the molecular modeling methods were used in the next part. First, basicity indices of 1 and 6f were calculated to assess the difference in the basicity of the mentioned compounds, followed by molecular docking, calculations of the stabilization energy of ligand-receptor (L-R) complexes, and molecular dynamics simulations.

Estimated basicity indices showed that substituting the highly protonable nitrogen atom in piperazine with a urea group

Table 1
Binding data of synthesized compounds **6a–n** and reference **1** for serotonin and dopamine receptors.

						K_i [nM] ^a				
Gr	No	R ¹	Z	Y	Ar	D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
	1 ²¹					137 ± 11	16 ± 2	342 ± 48	1945 ± 281	278 ± 19
	6a					62 ± 7	17 ± 3	291 ± 49	404 ± 74	1070 ± 87
	6b					9 ± 2	7 ± 2	47 ± 6	299 ± 15	243 ± 35
I	6c			N		32 ± 5	6 ± 2	223 ± 35	285 ± 25	186 ± 21
	6d					143 ± 18	3 ± 1	2196 ± 482	4144 ± 861	655 ± 92
	6e					60 ± 4	1 ± 0.3	434 ± 71	2841 ± 437	271 ± 41
	6f			NHCON		1940 ± 322	35 ± 2	530 ± 63	2550 ± 467	462 ± 74
II	6g					559 ± 73	31 ± 4	493 ± 85	4581 ± 764	257 ± 16
II	6h			N		148 ± 13	52 ± 4	1067 ± 148	1160 ± 208	3470 ± 436
	6i					1390 ± 231	467 ± 58	1450 ± 276	2144 ± 352	201400 ± 71632
III	6j					18 ± 2	74 ± 8	66 ± 9	1139 ± 254	61 ± 7
	6k					85 ± 11	206 ± 16	258 ± 31	582 ± 68	171 ± 12
III	6l			N		253 ± 21	70 ± 11	282 ± 47	1694 ± 313	162 ± 19
	6 m					235 ± 19	39 ± 5	195 ± 26	4929 ± 726	183 ± 33
	6n					229 ± 16	21 ± 3	329 ± 28	1531 ± 204	167 ± 24

^a Mean K_i values ± SEM are reported for three independent experiments (8 different concentrations (10^{-4} to 10^{-11} M) in HEK293 cells.

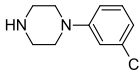
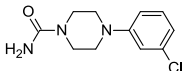
significantly decreased its basicity (Fig. 3), which showed that compound **6f** was a low-base analogue of **1**. This is important for this group of compounds due to the postulated mechanism of binding with aminergic receptors via the salt bridge, where this nitrogen atom is a proton donor and the anchoring point [21,33,34]. For compounds **6g** and **6h**, the pK_a of the most basic nitrogen atom in the piperazine ring is analogous to the **1**.

Next, the molecular docking of **1**, **6g**, **6h** and **6f** to the crystal structures of 5-HT_{1A}R [36] and D₂R [37] was performed. The obtained complexes were optimized using the QM-Polarized Ligand Docking (QPLD) methodology [38]. Binding energy for the L-R complexes was calculated according to the MM-GBSA protocol [39] and their stabilization energies were estimated using the FMO-EDA method [40].

In the case of 5-HT_{1A}R (Fig. 4A), the key interaction between

ligands and the D3.32 (Asp116) residue was observed. This is the key interaction in the context of high affinity for the serotonin and dopamine receptors [41,42]. For **6g**, **6h**, and **1** the salt bridge typical for LCAPs between the protonated nitrogen atom of piperazine and the carboxyl group of D3.32 was formed. While in the case of **6f**, the anchor point was shifted to the NH amide group and a simple hydrogen bond was observed. The weak nature of this interaction, due to the low basicity of the hydrogen donor, can be compensated by additional hydrogen bonds between the carbonyl oxygen of the amide group and I45.52 residue. The salt bridge geometry ($-H\cdots O-$ distance and $-N-H\cdots O-$ angle) in **6h** was the most unfavorable reflecting its lowest *in vitro* affinity for the 5-HT_{1A}R. That arrangement was the result of the forced bending of the chain caused by its constraining, which slightly moved the hydrogen bond donor away from the potential acceptor. Further, all four ligands showed the

Table 2
Binding data of synthesized compound 5h and reference for serotonin and dopamine receptors.

No	Structure	K_i [nM] ^a				
		D ₂	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}	5-HT ₆	5-HT ₇
5f		>10,000 [32]	44–400 [32]	32–398 [32]	1748 [32]	163 [32]
5h		115900	7014	32360	7489	22820

^a Mean K_i values \pm SEM are reported for three independent experiments (8 different concentrations (10^{-4} to 10^{-11} M) in HEK293 cells.

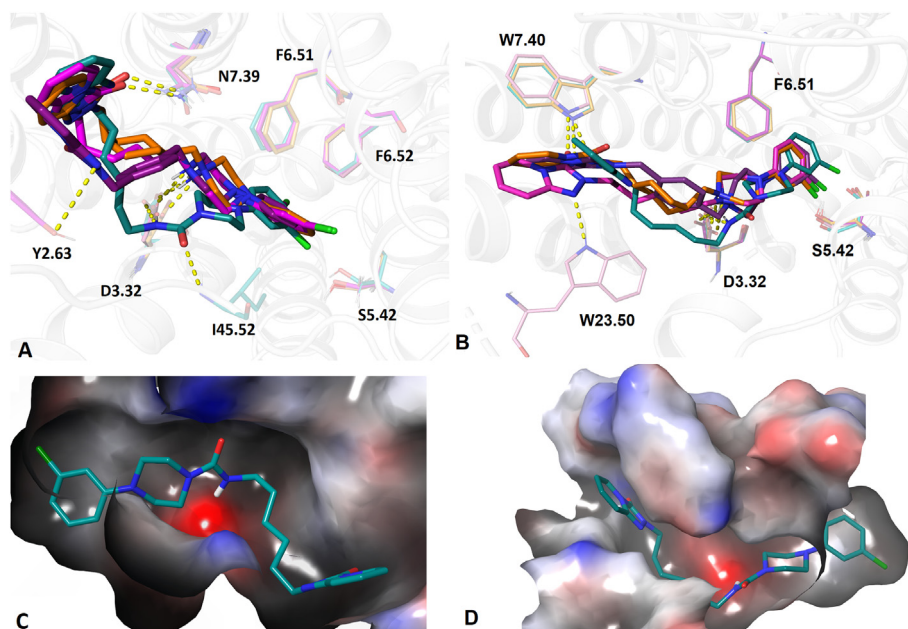


Fig. 4. Binding modes of **1** (magenta), **6f** (cyan) **6g** (orange), **6h** (violet) into **A:** 5-HT_{1A}R, **B:** D₂R. The yellow dash-lines indicate the hydrogen bonds. Key residues are colored sticks. Matching of ligand **6f** to receptor binding pocket **C:** 5-HT_{1A}R, **D:** D₂R. On the receptor surface, the positively charged areas are marked in blue, while the negatively charged areas are marked in red as a function of the electrostatic potential on the receptor surface.

ability to form hydrogen bonds in the terminal group of triazolopyridinone (Fig. 4A). The typical for aminergic receptors π -stacking with aromatic residues of the sixth helix were also observed for all complexes. These residues had been identified in earlier publications as the most important in terms of ligand affinity for 5-HT_{1A}R [41].

In the case of D₂R (Fig. 4B), as in 5-HT_{1A}R, interactions with D3.32 (Asp114) were observed in all complexes, where for ligands **6g**, **6h**, and **1** it was a salt bridge, while for **6f** a hydrogen bond was formed. It is worth noting that in this case the hydrogen bond donor in **6f** was shifted from the position observed in the other more basic ligands complexes. Moreover, no additional hydrogen interactions created by the centrally located amide group were observed. In all complexes, there were additional stabilizing interactions of the π -stacking type in the terminal group of triazolopyridinone or in the area of arylpiperazine. In the case of **6h**, the formation of π -stacking also involved the phenyl ring, which constrained the carbon chain. Additionally, the presence of a halogen bond was observed between the chlorine at the arylpiperazine rings and the S5.42 residue. These residues had been identified in earlier publications as the most important in terms of D₂R affinity [42].

The docking results explain the high affinity of the ligands (**1**, **6f**,

g, and **h**) for the 5-HT_{1A}R. However, they do not make it clear where the difference in selectivity for D₂R comes from. In order to explain this phenomenon, it was decided to perform an analysis of pair interaction energies (PIE) according to the *ab initio* FMO methodology (Fig. 5A) [40].

The ligand binding energies in the complexes (ΔG_{bind}) were also calculated (Fig. 5B). These values correlated with the experimentally determined affinities (K_i , Table 1). For 5-HT_{1A}R (Fig. 5A), the interaction with D3.32 and N7.39 mostly contributed to the binding energies, as previously observed in molecular docking. In the complex formed by **6f**, the interaction energy with D3.32 was much lower than that of the basic ligands. Unlike basic ligands, **6f** forms strongly stabilizing interactions with I3.29, V3.33 and W6.48 and repulsive ones with C3.36. For D₂R, the interaction with D3.32 also had the greatest influence on the binding energy and, as previously, was much weaker for **6f**. However, the only force compensating here was the attractive interaction with W7.40. In the case of basic ligands, the strongest attractive interactions beyond D3.32 were observed with E2.65. It is worth noting that *in vitro*, active compound **6f** did not contact with this residue, which could be associated with its 5-HT_{1A}R selectivity.

However, the presented considerations do not explain the differences in the affinity for D₂R and 5-HT_{1A} in **6f**. According to the

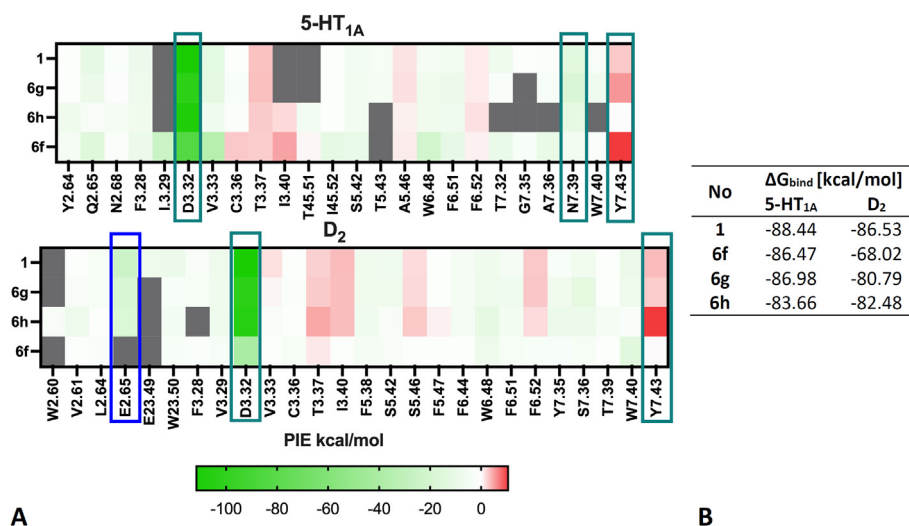


Fig. 5. A: Calculated pair interaction energies (PIE; kcal/mol) between ligand and binding site residues of 5-HT_{1A}R and D₂R. Data are presented as heat map where strongly attractive interactions are marked green, while strongly repulsive are red colored. A grey square means none of the interaction. **B:** The MM-GBSA binding energy calculated for L-R complexes.

analyzes presented earlier, there are no strong salt bridges in these complexes. The arrangement of **6f** in the binding pocket of 5-HT_{1A} and D₂ receptors is presented in Fig. 4C and D. The electrostatic potential distribution is marked on the surface of the receptor. It is noteworthy that in the case of the 5-HT_{1A} complex, the ligand fit in the receptor binding pocket is better than in the case of D₂R. Moreover, in 5-HT_{1A}R, both positively charged I45.52 and negative D3.32 areas can be seen in the middle of the pocket, which may lead to a double stabilization of the NHCO group in *N*-carbamoylpiperazine (Fig. 4C). In the case of D₂R, the negatively charged center (D3.32) predominates in the central region of the binding pocket. There are no positively charged centers that could additionally stabilize the complex (Fig. 4D). The positively charged area closest to the CO group is Y7.35. However, D3.32 is too far away to maintain two stable hydrogen bonds, which was confirmed by analyzing the PIE. Double stabilization in the central part of the ligand could explain the significant decrease in the **6f** affinity for D₂R. To conclusively confirm this hypothesis, a molecular dynamics analysis was performed.

The molecular dynamics simulations with the use of Charm++ in NAMD [43] confirmed the stability of the complexes of basic ligands with 5-HT_{1A} and D₂ receptors and the stability of the salt bridges present. The next step was to perform molecular dynamics in NAMD to investigate the stability of **6f** complexes (Fig. 6A and B). For the obtained trajectories, we also calculated MM-PBSA.

In the case of 5-HT_{1A}R, the obtained complex with **6f** turned out to be stable. Interestingly, the nitrogen atom in the carbamoyl group shifted slightly towards residue Y7.43, with which it formed a more stable hydrogen bond than with D3.32. The hydrogen bond with Y7.43 remains stable for 75 ns (Fig. 7A,C).

In the case of 5-HT_{1A}R, the obtained complex with **6f** turned out to be stable. Interestingly, the nitrogen atom in the carbamoyl group shifted slightly towards residue Y7.43, with which it formed a more stable hydrogen bond than with D3.32. The hydrogen bond with Y7.43 remains stable for 75 ns (Fig. 7C). After this time, a shift of the carbamoyl group to D3.32 was observed. A hydrogen interaction between the carbamoyl acceptor and N7.39 was also observed. This leads to the assumption that the ligand is trapped by the interactions of the *N*-carbamoylpiperazine moiety with as many as 3 residues (Y7.43, D3.32, N7.39) in the center of the binding pocket which compensates for the weaker nature of the hydrogen bond with

D3.32. It can explain the high affinity for 5-HT_{1A}R. Moreover, a stable contact of the chlorine atom in the arylpiperazine with S5.42 was observed, which can be related to the presence of a halogen bond. In the case of D₂R, the studied complex showed much lower stability (Fig. 7B,D). The rotation of the [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2*H*)-one, dislodging of NHCO from D3.32, and forcing all ligand out of the inner binding pocket were observed. The hydrogen bond of NHCO with D3.32 was characterized by very low durability. Bond weakening was observed after the first frames of the simulation. In 20 ns, a hydrogen interaction with Y7.35 appeared in this region, but after another 40 ns this bond also weakened significantly. These residues are too far apart for the ligand to become trapped, as in the case of 5-HT_{1A}R. This may result in low affinity for D₂R. The ligand forcing out of the inner pocket can be explained by the desire to form a stable halogen bond with S5.42. As shown in Fig. 5A, the initial energy of this interaction is relatively small and in Fig. 7D, the initial distance of the chlorine atom from S5.42 is relatively long. After 20 ns, this distance is significantly reduced, thereby creating a relatively stable halogen bond.

In summary, the reduction of basicity in the nitrogen interacting with D3.32 results in significant weakening of this contact. To maintain the stability of the complex, it is desirable to have additional stabilizing interactions on this part of the complex, as was observed in 5-HT_{1A}R. Similar double caging of a low-base ligand was reported for triazine derivatives with 5-HT_{7R} affinity [44].

2.4. Pharmacokinetics study

For **6f**, its early ADME properties were also assessed by computational methods according to the SWISS-ADME algorithm [45]. It is predicted to be highly absorbable from the digestive system and its ability to cross the blood-brain barrier. It was judged that the predicted physicochemical properties for **6f** do not rule out the ligand as an orally administered drug. The compound also shows no PAINS alert. These results were verified with *in vitro* tests.

For **6f**, permeability was tested with Parallel Artificial Membrane Permeability Assay (PAMPA) to assess the ability of a molecule for passive diffusion through biological membranes [46]. This test shows the amount of the tested compounds which passed through the artificial membrane from donor wells (D1) to acceptor wells (A1) over a period of time. The assay was performed in

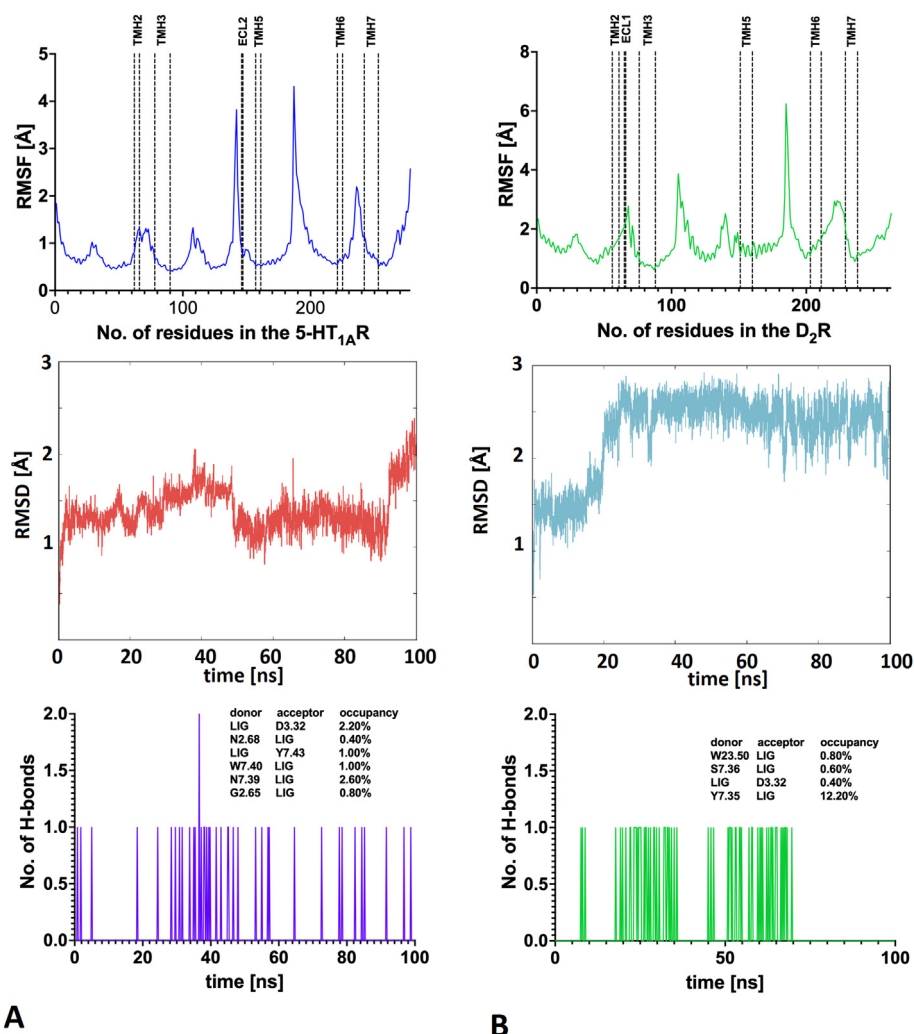


Fig. 6. RMSD, RMSF and the number of hydrogen bonds during the simulation of 100 ns, for the complex A: 6f-5-HT_{1A}R, B: 6f-D₂R.

accordance with the previously described methods [47,48]. The results are presented in Table 3 and compared with the reference compound (caffeine). The tested ligand 6f had a lower permeability coefficient (Pe) than the well-permeable reference caffeine, but higher than the breakpoint for permeable compounds according to manufacturer's guidelines ($Pe \geq 1.5 \times 10^{-6}$ cm/s) [49]. The obtained data for 6f suggest to be enough to penetrate passively BBB.

The metabolic stability was determined with mouse liver microsomes (MLMs). The proposed main metabolic pathways are presented in Table 4. The UPLC analysis of the tested compound after 120 min incubation with MLMs indicated that 6f was metabolized in 100% – no presence of the parent compound. This experiment indicated that the tested compound is unstable. Basing on the mass spectrometry, we identified 7 possible metabolites. The results show that the most probable metabolic pathway is the hydroxylation at the phenyl ring and double bond reduction.

This experiment indicated that tested compound is more unstable than the reference unstable drug verapamil. Despite its low metabolic stability, compound 6f may prove useful as a molecular probe. The observed results may be useful for other researchers in their work on optimizing 5-HT_{1A}R ligands.

The potential risk of drug-drug interactions (DDIs) was examined by luminescence-based CYP3A4 P450-Glo™ assay (Promega®) (Fig. 8A). This CYP isoform is often responsible for the metabolism

of drugs and influence on their activity may be the source of DDI danger. We found that 6f may exhibit some interactions with CYP3A4 – metabolized drugs (for concentration of 10 μM, activity of CYP3A4 was inhibited in 75%). However, the observed inhibition was weaker than that observed for the reference CYP3A4 inhibitor ketoconazole (KE), which was tested in lower concentration 1 μM.

The safety profile was estimated in the hepatotoxicity assay in hepatoma HepG2 cell line (Fig. 8B). The tested compound did not exhibit hepatotoxic properties in the range concentration of 1–10 μM. The statistically significant decrease in cells viability was observed at the concentration of 50 or 100 μM. Consequently, the ligand can only be tested at sufficiently low concentrations, showing no toxicity up to 10 μM, inclusively. The ADME-Tox tests performed do not exclude the potential use of compound 6f in pharmacotherapy.

3. Conclusion

The above-mentioned SAR studies showed a strong relation between the structural modification of the central part of ligands (linker and basic center) on the affinity as well as the selectivity of ligands towards 5-HT_{1A}R. It can be concluded that this can be a good starting point for the optimization of the selectivity for urea derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines. The most

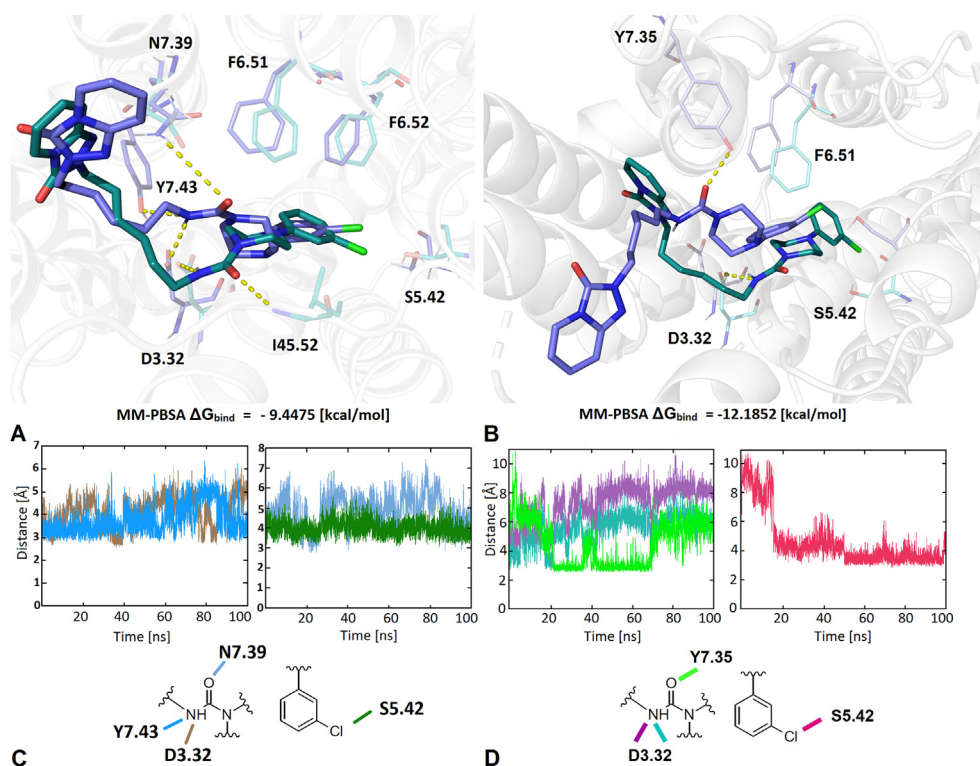


Fig. 7. Binding modes of **6f** (cyan) compared to the most representative pose (blue) from molecular dynamics (clustering) into A: 5-HT_{1A}R, B: D₂R. The yellow dash-lines indicate the hydrogen bonds. Key residues are colored sticks. The hydrogen bonds stability of the *N*-carbamoylpiperazine, and arylhalogen regions in the complexes of **6f** with C: 5-HT_{1A}R, D: D₂R, represented by the donor-acceptor distance as a function of time.

Table 3

The summary of PAMPA results for compound **6f** and the high permeable reference caffeine.

Compound	Permeability (Pe)
6f	$2.9 \pm 1.3 \times 10^{-6}$ cm/s
Caffeine	$12.2 \pm 0.9 \times 10^{-6}$ cm/s

interesting fact seems to be the strong decrease of affinity for D₂R, when the basic center in the piperazine ring (**1**) is replaced with a carbamoyl moiety (**6f**). We link this effect with the ability to replace the strong interaction (salt bridge with D3.32) in the 5-HT_{1A}R binding pocket through several weaker hydrogen interactions in the central region of the ligand, which is not observed with D₂R, due to the construction of the binding site in the protein. This phenomenon deserves further investigation. The increase in selectivity along with a decrease in the basicity of the ligands

Table 4

Metabolic stability summary: the molecular masses and metabolic pathways of **6f** and verapamil (unstable reference) after 120 min of incubation with mouse liver microsomes (MLMs). Main metabolic pathways are marked in red.

Substrate	Molecular mass (m/z)	% remaining	Molecular mass of the metabolite (m/z)	Metabolic pathway
6f	457.32	0.0	491.28 (M1)	double hydroxylation and double bond reduction
			491.28 (M2)	double hydroxylation and double bond reduction
			473.27 (M3)	hydroxylation
			441.42 (M1)	demethylation
Verapamil (control)^a	455.54	23.9%	441.42 (M2)	demethylation
			291.35 (M3)	defragmentation
			293.34 (M4)	defragmentation/hydroxylation
			277.33 (M5)	defragmentation

^a Published previously [50]; the data obtained according to the same procedure as used for **6f**.

confirms the rule observed in the case of previous studies [23,51]. The low affinity of 4-(3-chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide as compared to 3-chlorophenylpiperazine is also worth attention. In the case of LCAPs, the core arylpiperazine itself also typically has an affinity for the selected aminergic receptors. This indicates the importance of the terminal moiety in the structure of the entire ligand. Ligand **6f** is the only tested representative from this group of compounds. Conclusions regarding this group require further testing of more derivatives.

4. Experimental

4.1. Chemistry

The microwave-assisted reactions were carried out in the CEM Discover microwave reactor (100 W). All chemicals were purchased from Sigma Aldrich and all solvents used in the synthesis were from POCH. Thin-layer chromatography (TLC) was performed using

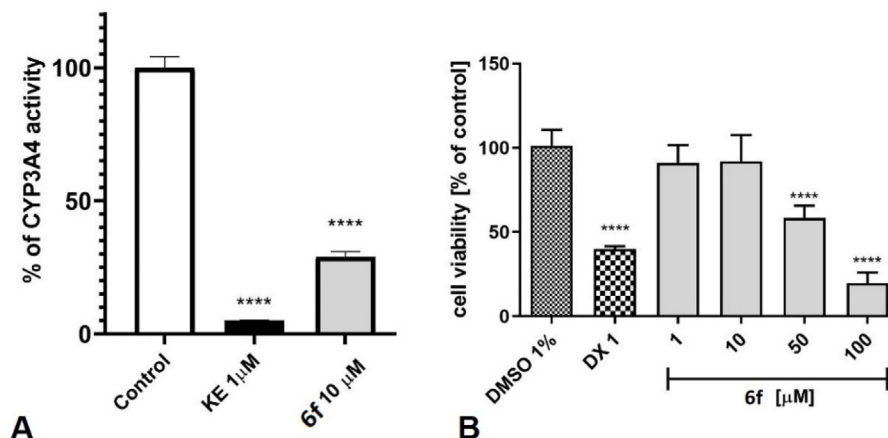


Fig. 8. **A:** The influence of **6f** and the reference ketoconazole (KE) on CYP3A4 activity. **B:** The effect of cytostatic drug doxorubicin (DX) and **6f** on hepatoma HepG2 cell line viability after 72 h of incubation at 37°, 5% CO₂. The statistical significance (GraphPad Prism 8.0.1) was evaluated by a one-way ANOVA, followed by Bonferroni's Comparison Test (****p < 0.0001 compared with negative control DMSO 1% in growth media).

chloroform:methanol eluent in the ratio of 9:1 on Sigma Aldrich sheets (silica gel on aluminium, with fluorescent indicator 254 nm, 200 μ m layer thickness, 60 Å pore diameter, 8.0–12.0 μ m particle size) and UV light with a wavelength of 254 nm was used for the analysis. High-performance liquid chromatography (HPLC) was performed on a Perkin Elmer Series 200 HPLC (XTerra RP C-18, 3.5 μ m seed size, 4.6 \times 150 mm) column and MeOH:H₂O 1:1 eluent acidified with 0.1% formic acid. The melting points were measured with a Boëtius apparatus. IR spectra were taken with an FTS-165 spectrometer. NMR spectra were recorded with a Bruker Avance 400 MHz spectrometer, using TMS as an internal reference. The LC-MS system consisted of a Waters Acquity UPLC system coupled to a Waters TQD mass spectrometer (electrospray ionization mode ESI-tandem quadrupole). The analyses were carried out using an Acquity UPLC BEH C18, 1.7, 2.1 \times 100 mm column. Elemental analysis was performed on the Vario EL II apparatus.

4.1.1. 2-(6-Bromohexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one **4a**

A mixture of 0.135g (0.001 mol) of [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one (**2**) 0.414 g (0.003 mol) K₂CO₃ and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask and 0.92 cm³ (0.003 mol) of 1,6-dibromohexane (**3a**) and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 30 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and the mixture was extracted by methylene chloride (3 \times 15 cm³). To get rid of the excess dibromohexane, the crude product was purified by short column chromatography using 2: 1 hexane: methylene chloride followed by chloroform: methanol 1: 1 to rinse the product away.

Molecular formula: (C₁₂H₁₆BrN₃O), MW_{Calc} = 298.19, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (ddd, *J* = 5.5, 3.3, 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.15–7.07 (m, 2H, ArH), 6.51 (ddd, *J* = 7.2, 4.4, 3.0 Hz, 1H, ArH), 4.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CONCH), 3.42–3.96 (dd, *J* = 8.0, 5.6 Hz, 2H, BrCH_{Aliph}), 1.89 (ddd, *J* = 10.3, 7.3, 3.4 Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.55–1.48 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.46–1.39 (m, 2H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3064 (C-H Ar, Str), 2942; 2857 (C-H Aliph, Str), 1704 (C=O, Str), 1641 (C=N, Str), 1593; 1491 (C=C, Str), 1376 (C-N, Str), 766 (C-Br, Str), HPLC: R_f = 5.95 min, Purity = 93%, TLC: R_f = 0.96, m_p = oil, Y = 79%.

4.1.2. (4-((3-Oxo-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-2(3H)-yl)methyl)cyclohexyl)methyl methanesulfonate **4b**

A mixture of 0.135g (0.001 mol) of [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one (**2**), 0.300g (0.001 mol) of cyclohexane-1,4-diylbis(methylene)dimethanesulfonate (**3b**), 0.414 g (0.003 mol) of K₂CO₃ and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 40 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and the mixture was extracted by methylene chloride (3 \times 15 cm³). The crude product was purified by column chromatography using as eluent chloroform:methanol 98:2 – chloroform:methanol 8:2.

Molecular formula: (C₁₅H₂₁N₃O₄S), MW_{Calc} = 339.41, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.85 (dt, *J* = 7.1, 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.04–7.00 (m, 2H, ArH), 6.62 (ddd, *J* = 7.2, 4.7, 2.6 Hz, 1H, ArH), 3.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CONCH), 3.79 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H, O₂SOCH), 3.12–3.00 (m, 5H, OCH₃, CH_{Aliph}), 1.78–1.68 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.33 (d, *J* = 3.3 Hz, 4H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3024 (C-H Ar, Str), 2932; 2853 (C-H Aliph, Str), 1704 (C=O, Str), 1642 (C=N, Str), 1543; 1448 (C=C Ar, Str), 1356 (C-N, Str), 1322 (S=O, Str), 745 (C-S, Str), 733 (S-O, Str), UPLC-MS: 341.26 (M+1, 20), 340.20 (M+, 65), 245.16 (25), 244.17 (100), HPLC: R_f = 1.71, Purity = 93%, TLC R_f = 0.70, m_p = 122–124 °C, Y = 89%.

4.1.3. 2-(4-(Chloromethyl)benzyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one **4c**

A mixture of 0.135g (0.001 mol) of [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin-3(2H)-one (**2**), 0.525g (0.003 mol) of 1,4-bis(chloromethyl)benzene (**3c**), 0.120 g (0.003 mol) of NaOH and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask and 1 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 120 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and the crude product was filtered off. The product was dissolved in chloroform and purified by short column chromatography using as eluent toluene:hexane 2:1 followed by chloroform: methanol 1: 1 to rinse the product away.

Molecular formula: (C₁₄H₁₂ClN₃O), MW_{Calc} = 273.72, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (ddd, *J* = 5.5, 3.3, 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.13–7.09

(m, 2H, ArH), 6.82–6.76 (m, 4H, ArH), 6.51 (ddd, $J = 7.2, 4.4, 3.0$ Hz, 1H, ArH), 4.02 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CONCH), 3.42 (dd, $J = 8.0, 5.6$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), HPLC: $R_t = 11.16$, Purity = 100%, TLC $R_f = 0.93$, $m_p = 77–78$ °C, Y = 71%.

4.1.4. Synthesis of 6a-e

A mixture of 0.298 g (0.001 mol) of 2-(6-bromohexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one (**4a**), 0.00095 mol of the corresponding arylpiperazine (**5a-e**), 0.414 g (0.003 mol) of K₂CO₃, and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored with TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off and crystallized from methanol or methanol-water. After obtaining a minimum of 95% purity, the ligands were dissolved in acetone, then converted to hydrochlorides with 4 M HCl in dioxane. The reaction yields for individual ligands were calculated based on the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.4.1. 2-(6-(4-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **6a**. Molecular formula: (C₂₃H₂₈F₃N₅O), MW_{Calc}: 447.50 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.88–7.82 (m, 1H, ArH), 7.48 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.29 (d, $J = 12.2$ Hz, 2H, ArH), 7.26–7.20 (m, 2H, ArH), 7.17 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, ArH), 6.63 (ddd, $J = 7.2, 4.4, 2.9$ Hz, 1H, ArH), 3.99–3.87 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.56 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H, CONCH), 3.13 (d, $J = 11.5$ Hz, 6H, CH_{Pip}), 1.79–1.68 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.34 (d, $J = 3.3$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.50 (CO), 154.40 (CF₃), 148.39 (Ar), 141.35 (Ar), 138.74, 130.84 (Ar), 125.46 (Ar), 124.31 (Ar), 120.01 (Ar), 116.71 (Ar), 116.51 (Ar), 115.45 (2Ar), 111.30 (Ar), 55.79 (C), 51.22 (2CPip), 47.41 (2CPip), 45.26 (C), 28.44 (C), 26.05 (C), 25.89 (C), 23.29 (C). FT-IR: 2939; 2860 (C-H Aliph, Str), 1691 (C=O, Str), 1640 (C=N, Str), 1541; 1443 (C=C, Str), 1354 (C-N, Str), 1170 (C-F, Str), UPLC-MS: 448.33, $R_t = 3.22$ min, Purity = 96%, TLC: $R_f = 0.46$, $m_p = 92–93$ °C, Y = 19%.

4.1.4.2. 2-(6-(4-(2,3-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **6b**. Molecular formula: (C₂₂H₂₇Cl₂N₅O), MW_{Calc}: 448.39, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.85 (dt, $J = 7.1, 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.40–7.34 (m, 2H, ArH), 7.26–7.18 (m, 3H, ArH), 6.62 (ddd, $J = 7.2, 5.0, 2.5$ Hz, 1H, ArH), 3.91 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CONCH), 3.56 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.41 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.26–3.06 (m, 6H, CH_{Pip}), 1.77–1.71 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.37–1.29 (m, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.89 (CO), 148.39 (ArC), 141.35 (ArC), 130.85 (ArC), 129.27 (2ArC), 124.30 (ArC), 124.00 (ArC), 117.93 (2ArC), 115.44 (ArC), 111.30 (ArC), 55.69 (C), 50.79 (2CPip), 45.64 (2CPip), 45.26 (C), 28.44 (C), 26.05 (C), 25.87 (C), 23.29 (C). FT-IR: 3088 (C-H Ar, Str), 2941; 2858 (C-H Aliph, Str), 1698 (C=O, Str), 1642 (C=N, Str), 1542; 1454 (C=C, Str), 1358 (C-N, Str), 744 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 448.20, $R_t = 2.04$ min, Purity = 96%, TLC: $R_f = 0.67$, $m_p = 195–197$ °C, Y = 61%.

4.1.4.3. 2-(6-(4-(Naphthalen-1-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **6c**. Molecular formula: (C₂₆H₃₁N₅O), MW_{Calc}: 429.56, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.13 (dd, $J = 8.0, 5.0$ Hz, 1H, ArH), 7.96–7.90 (m, 1H, ArH), 7.88–7.83 (m, 1H, ArH), 7.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.58–7.51 (m, 2H, ArH), 7.47 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.27–7.19 (m, 2H, ArH), 7.18 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, ArH), 6.63 (ddd, $J = 7.2, 5.1, 2.3$ Hz, 1H, ArH), 3.95–3.88 (m, 2H, CONCH), 3.60 (d, $J = 10.7$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.38–3.31 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.25 (t, $J = 11.6$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.15 (dt, $J = 10.7, 5.3$ Hz, 2H, CH_{Pip}),

1.82–1.69 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.43–1.30 (m, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 151.58 (CO), 141.97 (Ar), 136.29 (Ar), 131.99 (Ar), 130.59 (Ar), 130.24 (2Ar), 129.14 (Ar), 122.58 (Ar), 121.38 (Ar), 120.69 (Ar), 118.58 (Ar), 118.51 (Ar), 118.30 (Ar), 113.72 (Ar), 104.31 (Ar), 63.73 (C), 58.31 (2CPip), 53.52 (2CPip), 50.42 (C), 41.93 (C), 28.09 (C), 27.00 (C), 26.61 (C), FT-IR: 2937; 2862 (C-H Aliph, Str), 1693 (C=O, Str), 1639 (C=N, Str), 1541; 1492 (C=C, Str), 1375 (C-N, Str), UPLC-MS: 430.32, $R_t = 6.22$ min, Purity = 100%, TLC: $R_f = 0.77$, $m_p = 121–124$ °C, Y = 54%.

4.1.4.4. 2-(6-(4-(Quinolin-8-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **6d**. Molecular formula: (C₂₅H₃₀N₆O), MW_{Calc}: 430.55, ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.84 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.25 (dd, $J = 14.6, 5.8$ Hz, 4H, ArH), 7.00 (d, $J = 8.1$ Hz, 3H, ArH), 6.87 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 6.61 (dd, $J = 8.4, 5.8$ Hz, 1H, ArH), 3.89 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, CONCH), 3.77 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.15–3.08 (m, 8H, CH_{Pip}), 1.74 (d, $J = 6.4$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.32 (s, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 148.62 (CO), 146.74 (Ar), 141.56 (Ar), 135.80 (Ar), 131.06 (Ar), 129.92 (2Ar), 125.69 (Ar), 123.72 (2Ar), 119.31 (Ar), 116.98 (Ar), 115.37 (2Ar), 110.65 (Ar), 57.28 (C), 50.21 (2CPip), 48.35 (2CPip), 45.33 (C), 28.32 (C), 26.06 (C), 25.65 (C), 23.39 (C). FT-IR: 2937; 2861 (C-H Aliph, Str), 1701 (C=O, Str), 1633 (C=N, Str), 1511; 1457 (C=C, Str), 1365 (C-N, Str), UPLC-MS: 431.32, $R_t = 7.80$ min, Purity = 100%, TLC: $R_f = 0.77$, $m_p = 141–145$ °C, Y = 69%, Composition: C (64.30%), H (6.69%), Cl (7.59%), N (18.00%), O (3.43%), found: C (64.54%), H (6.78%), N (18.12%).

4.1.4.5. 2-(6-(4-(2,3-Dihydrobenzo[*b*]1,4-dioxin-5-yl)piperazin-1-yl)hexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one **6e**. Molecular formula: (C₂₄H₃₁N₅O₃), MW_{Calc}: 437.54, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.84 (dt, $J = 7.1, 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.27–7.17 (m, 2H, ArH), 6.75 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 6.61 (ddd, $J = 12.3, 6.2, 3.8$ Hz, 1H, ArH), 6.57 (dd, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 1H, ArH), 6.51 (dd, $J = 8.0, 1.4$ Hz, 1H, ArH), 4.23 (dd, $J = 9.4, 4.8$ Hz, 4H, CONCH), 3.89 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.48 (dd, $J = 16.3, 8.5$ Hz, 4H, CH_{Pip}), 3.16–3.00 (m, 6H, CH_{Pip}), 1.76 (dd, $J = 13.8, 6.9$ Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.35–1.26 (m, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.37 (CO), 148.39 (Ar), 143.82 (Ar), 141.36 (Ar), 130.85 (Ar), 124.30 (Ar), 118.65 (2Ar), 115.45 (Ar), 114.88 (2Ar), 111.31 (Ar), 55.70 (2OC), 51.03 (2CPip), 47.31 (2CPip), 45.27 (C), 28.44 (C), 26.14 (C), 25.88 (C), 23.31 (C), 13.96 (C). FT-IR: 3050 (C-H Ar, Str), 2935; 2867 (C-H Aliph, Str), 1702 (C=O, Str), 1639 (C=N, Str), 1599; 1476 (C=C, Str), 1354 (C-N, Str), 1284; 1080 (C-O, Str), UPLC-MS: 437.23, $R_t = 7.24$ min, Purity = 98%, TLC: $R_f = 0.75$, $m_p = 129–132$ °C, Y = 59%. Composition: C (60.81%), H (6.81%), Cl (7.48%), N (14.78%), O (10.13%), found: C (59.95%), H (7.16%), N (14.17%).

4.1.5. 4-(3-Chlorophenyl)-N-(6-(3-oxo-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-2(3H)-yl)hexyl)piperazine-1-carboxamide **6f**

A mixture of 0.298 g (0.001 mol) of 2-(6-bromohexyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one (**4a**), 0.228 g (0.00095 mol) of 4-(3-chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide (**5f**), 0.414 g (0.003 mol) of K₂CO₃, and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask and 0.2 cm³ of DMF was added. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored with TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water and 40 cm³ of CH₂Cl₂ was added to the mixture and separated in separation funnel. After evaporation, the ligand was purified with column chromatography (chloroform:methanol 95:5).

Molecular formula: (C₂₃H₂₉ClN₆O₂), MW_{Calc}: 456.97, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.84 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, ArH), 7.22 (dt, $J = 11.6, 5.7$ Hz, 3H, ArH), 6.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 6.91 (dd, $J = 8.4, 1.9$ Hz, 1H, ArH), 6.79 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, ArH), 6.63–6.58 (m, 1H, ArH), 6.55

(t, $J = 5.3$ Hz, 1H, ArH), 3.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CONCH), 3.42–3.38 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.14–3.09 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.03–2.98 (m, 2H, CONCH), 1.78–1.70 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.40 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.28 (s, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.06 (CO), 158.58 (CO), 136.22 (Ar), 132.01 (Ar), 130.58 (Ar), 130.23 (Ar), 129.15 (Ar), 120.70 (Ar), 118.64 (Ar), 118.48 (Ar), 111.72 (Ar), 104.41 (Ar), 104.30 (Ar), 55.87 (C), 50.74 (2C_{Pip}), 42.71 (2C_{Pip}), 41.81 (C), 27.98 (C), 27.87 (C), 26.22 (C), 23.33 (C). FT-IR: 3412; 3336; 3203 (N-H, Str), 3065 (C-H Ar, Str), 2933; 2832 (C-H Aliph, Str), 1643 (C=O Str), 1589; 1436 (C=C Ar, Str), 1380 (C-N, Str), 774 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 457.31, $R_t = 10.11$ min, Purity = 98%, TLC: $R_f = 0.49$, $m_p = 131$ – 133 °C, Y = 46%, Composition: C (60.45%), H (6.40%), Cl (7.76%), N (18.39%), found: C (59.90%), H (6.559%), N (18.07%).

4.1.6. 2-((4-((4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)methyl)cyclohexyl)methyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one 6g

A mixture of 0.339 g (0.001 mol) of 4-((3-oxo-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-2(3H)-yl)methyl)cyclohexyl)methyl methanesulfonate (**4b**) 0.226 g (0.00095 mol) of 1-(3-chlorophenyl)piperazine hydrochloride (**5f**), 0.414 g (0.003 mol) K₂CO₃ and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 30 s in a CEM Discover microwave reactor at 100 W output power. The progress of the reaction was monitored with TLC. After the reaction was completed, 40 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off. The ligand was purified by column chromatography (chloroform:methanol 95:5). The ligand was dissolved in acetone, then converted to hydrochloride by 4 M HCl in dioxane. The reaction yield was calculated based on the weight of the obtained hydrochloride.

Molecular formula: (C₂₄H₃₀ClN₅O), MW_{Calc}: 439.98 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.61 (s, 1H, ArH), 7.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.39 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.14–7.05 (m, 2H, ArH), 6.51 (dt, $J = 7.3, 3.7$ Hz, 1H, ArH), 4.45 (d, $J = 11.4$ Hz, 2H, CONCH), 4.01 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.83 (s, 2H, CH_{Pip}), 3.76–3.62 (m, 6H, CH_{Pip}), 3.11 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.99–1.84 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.46 (s, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 163.88 (CO), 152.41 (Ar), 141.75 (Ar), 134.77 (Ar), 131.78 (Ar), 131.20 (Ar), 127.84 (Ar), 127.70 (Ar), 122.56 (Ar), 121.28 (Ar), 118.31 (Ar), 112.37 (Ar), 58.35 (C), 55.76 (2C_{Pip}), 53.50 (2C_{Pip}), 50.50 (C), 27.91 (C), 27.16 (C), 26.92 (C), 26.57 (C). FT-IR: 2923; 2850 (C-H Aliph, Str), 1693 (C=O, Str), 1640 (C=N, Str), 1542; 1435 (C=C, Str), 1356 (C-N, Str), 747 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 440.29, $R_t = 2.01$ min, Purity = 96%, TLC: $R_f = 0.75$, $m_p = 212$ – 213 °C, Y = 22%

4.1.7. Synthesis of 6h-i

A mixture of 0.274 g (0.001 mol) of 2-(4-(chloromethyl)benzyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one (**4c**) 0.00095 mol of corresponding arylpiperazine (**5f-g**), 0.120 g (0.003 mol) of NaOH and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask, and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 80 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off and crystallized from methanol or methanol-water. After obtaining a minimum of 95% purity, the ligands were dissolved in acetone, then converted to hydrochlorides by 4 M HCl in dioxane. The reaction yields for individual ligands were calculated based on the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.7.1. 2-(4-((4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one 6h. Molecular formula: (C₂₄H₂₄ClN₅O), MW_{Calc} = 433.93, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.92–7.87 (m, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.38 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 7.27–7.21 (m, 3H, ArH), 7.01 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 6.92 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H, ArH), 6.86 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H, ArH), 6.64–6.59 (m, 1H, ArH), 3.85 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H, CONCH), 3.40–3.33 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.26–3.19 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.09 (d, $J = 10.6$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.38 (CO), 151.56 (Ar), 139.45 (Ar), 131.49 (Ar), 129.40 (2Ar), 129.16 (Ar), 126.41 (Ar), 124.70 (Ar), 124.47 (Ar), 124.12 (Ar), 121.37 (Ar), 120.46 (Ar), 119.87 (Ar), 118.34 (Ar), 113.70 (Ar), 106.53 (Ar), 106.17 (Ar), 79.64 (2C), 63.73 (4C_{Pip}), FT-IR: 3064 (C-H Ar, Str), 2934; 2842 (C-H Aliph, Str), 1702 (C=O Str), 1595; 1487 (C=C Ar, Str), 1352 (C-N, Str), 747 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 434.24, $R_t = 4.12$ min, Purity = 94%, TLC: $R_f = 0.90$, $m_p > 220$ °C, Y = 67%.

4.1.7.2. 2-(4-((4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3(2H)-one 6i. Molecular formula: (C₂₄H₂₄ClN₅O), MW_{Calc} = 433.93, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.89 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, ArH), 7.63 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.38 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.30–7.26 (m, 2H, ArH), 7.23 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, ArH), 6.99–6.96 (m, 2H, ArH), 6.64–6.60 (m, 1H, ArH), 5.16 (s, 2H, CONCH), 4.32–4.28 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.78 (d, $J = 12.7$ Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.37–3.30 (m, 2H, CH_{Pip}), 3.13–3.10 (m, 4H, CH_{Pip}, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.71 (CO), 148.37 (Ar), 141.34 (Ar), 140.59 (Ar), 134.47 (Ar), 131.73 (Ar), 130.84 (Ar), 129.03 (2Ar), 128.73 (Ar), 127.55 (Ar), 124.29 (2Ar), 123.96 (Ar), 119.01 (2Ar), 115.44 (Ar), 111.30 (Ar), 55.75 (C), 51.25 (2C_{Pip}), 47.76 (2C_{Pip}), 45.25 (C) FT-IR: 3034 (C-H Ar, Str), 2937; 2859 (C-H Aliph, Str), 1698 (C=O Str), 1591; 1541 (C=C Ar, Str), 1353 (C-N, Str), 747 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 434.24 $R_t = 4.34$ min, Purity = 95%, TLC: $R_f = 0.78$, $m_p = 206$ – 207 °C, Y = 64%

4.1.8. Synthesis of 6j-l

A mixture of (0.001 mol) of 5,6-dihydro-1H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-2(4H)-one (**8a**)/thione (**8b**) or 1,4,5,6-tetrahydro-[1,2,5]thiadiazolo[4,3,2-*ij*]quinoline 2,2-dioxide (**8c**), 0.414 g (0.003 mol) of K₂CO₃ and 0.032 g (0.0001 mol) of TBAB were triturated in a mortar. The triturated mixture was transferred to a round bottom flask and 0.62 cm³ (0.0002 mol) of 1,6-dibromohexane (**3a**) and 0.2 cm³ of acetonitrile was added. The reactions were carried out for 40 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 0.226 g (0.00095 mol) of 1-(3-chlorophenyl)piperazine hydrochloride (**5f**) was added. The reactions were carried out for next 60 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added to the mixture and placed in the refrigerator overnight. After cooling, the crude product was filtered off and crystallized from methanol. After obtaining a minimum of 95% purity, the ligands were dissolved in acetone, then converted to hydrochlorides by 4 M HCl in dioxane. The reaction yields for individual ligands were calculated based on the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.8.1. 1-(6-(4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-5,6-dihydro-1H-imidazo[4,5,1-*ij*]quinolin-2(4H)-one 6j. Molecular formula: (C₂₆H₃₃ClN₄O), MW_{Calc} = 453.02, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.54 (s, 1H, ArH), 7.39 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, ArH), 7.25 (s, 1H, ArH), 6.99 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 6.84–6.80 (m, 2H, ArH), 4.37 (s, 2H, CONCH), 3.86–3.81 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.65 (d, $J = 11.8$ Hz, 6H, CH_{Pip}), 3.10 (s, 2H, CH_{Aliph}), 2.86 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.20–2.08 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.93 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.85–1.71 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.46 (s, 4H, CH_{Aliph}), ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 153.05 (CO), 152.42 (Ar), 141.75

(Ar), 128.02 (Ar), 126.52 (Ar), 122.73 (Ar), 121.27 (Ar), 120.77 (Ar), 119.59 (Ar), 119.26 (Ar), 118.29 (Ar), 112.36 (Ar), 105.93 (Ar), 58.34 (C), 55.75 (2C_{Pip}), 53.51 (2C_{Pip}), 50.51 (C), 49.06 (C), 28.53 (C), 27.06 (C), 26.57 (2C), 23.40 (C), 21.95 (C). FT-IR: 3029 (C-H Ar, Str), 2937; 2861 (C-H Aliph, Str), 1700 (C=O Str), 1594; 1498 (C=C Ar, Str), 1352 (C-N, Str), 763 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 453.32, R_t = 7.24 min, Purity = 100%, TLC: R_f = 0.66, m_p = 165–168 °C, Y = 53%.

4.1.8.2. 1-(6-(4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-5,6-dihydro-1H-imidazo[4,5,1-ij]quinoline-2(4H)-thione 6k. Molecular formula: (C₂₆H₃₃ClN₄S), MW_{Calc} = 469.09, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.48 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.33–7.24 (m, 2H, ArH), 7.17 (d, J = 6.6 Hz, 1H, ArH), 7.06 (t, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 6.97 (dd, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H, ArH), 6.88 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, ArH), 4.22–4.13 (m, 2H, CSCH), 3.87 (d, J = 12.6 Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.23–2.99 (m, 8H, CH_{Pip}, CH_{Aliph}), 2.96 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.23–2.17 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.82–1.61 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.52–1.33 (m, 5H, CH_{Aliph}). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 152.27 (CS), 148.39 (Ar), 141.36 (Ar), 139.75 (Ar), 130.85 (Ar), 124.30 (Ar), 124.00 (Ar), 121.30 (Ar), 118.72 (Ar), 115.45 (Ar), 112.41 (2Ar), 111.31 (Ar), 55.84 (2C), 51.45 (2C_{Pip}), 47.32 (2C_{Pip}), 45.75 (C), 45.27 (C), 32.18 (C), 28.44 (C), 26.23 (C), 25.89 (C), 23.30 (C). FT-IR: 3057 (C-H Ar, Str), 2937; 2862 (C-H Aliph, Str), 1590; 1492 (C=C Ar, Str), 1354 (C-N, Str), 780 (C-Cl, Str) 643 (C-S, Str), UPLC-MS: 469.27, R_t = 8.97 min, Purity = 98%, TLC: R_f = 0.78, m_p = 112–113 °C, Y = 43%.

4.1.8.3. 1-(6-(4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)-1,4,5,6-tetrahydro-[1,2,5]thiadiazolo[4,3,2-ij]quinoline-2,2-dioxide 6l. Molecular formula: (C₂₅H₃₃ClN₄O₂S), MW_{Calc} = 489.07, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.98–6.89 (m, 4H, ArH), 6.86 (dd, J = 4.2, 1.7 Hz, 2H, ArH), 6.82 (dd, J = 7.2, 0.9 Hz, 1H, ArH), 3.35 (s, 3H, SONCH, CH_{Pip}), 3.18 (s, 5H, CH_{Pip}), 2.96 (d, J = 32.2 Hz, 4H, CH_{Pip}), 2.78 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.29–2.23 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.04–1.97 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.69–1.60 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.41 (s, 2H, CH_{Aliph}), 1.30 (s, 4H, CH_{Aliph}). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 149.77 (Ar), 148.38 (Ar), 141.35 (Ar), 132.11 (Ar), 130.84 (Ar), 130.84 (Ar), 124.29 (Ar), 121.22 (Ar), 117.49 (Ar), 116.29 (Ar), 115.44 (Ar), 111.30 (s), 60.96 (C), 55.73 (C), 50.54 (2C_{Pip}), 45.56 (2C_{Pip}), 42.66 (C), 32.66 (C), 28.44 (C), 26.07 (C), 25.87 (C), 25.48 (C), 23.25 (C) FT-IR: 2933; 2862 (C-H Aliph, Str), 1593; 1487 (C=C Ar, Str), 1309 (C-N, Str), 772 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 489.28, R_t = 2.01 min, Purity = 94%, TLC: R_f = 0.65, m_p = oil, Y = 32%.

4.1.9. Synthesis of 6m-n

In flask placed 0.296 g (0.001 mol) of 6-(4-(3-chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexan-1-amine (9), 0.002 mol of urea or sulfamide and 0.1 cm³ of DMF. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. The progress of the reaction was monitored by TLC. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and the mixture was extracted by methylene chloride. The ligands were purified by column chromatography (chloroform:methanol 95:5). The ligand were dissolved in acetone, then converted to hydrochlorides by 4 M HCl in dioxane. The reaction yield were calculated based on the weight of the obtained hydrochloride.

4.1.9.1. 1-(6-(4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl)urea 6 m. Molecular formula: (C₁₇H₂₇ClN₄O), MW_{Calc} = 374.93, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.83 (dd, J = 9.0, 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.41 (t, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.26–7.18 (m, 2H, ArH), 3.87 (dt, J = 18.7, 6.9 Hz, 2H, CONCH), 3.32 (t, J = 12.4 Hz, 2H, CH_{Pip}), 3.19–3.04 (m, 8H, CH_{Pip}), 1.79–1.70 (m, 4H, CH_{Aliph}), 1.31 (d, J = 7.1 Hz, 4H, CH_{Aliph}). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 148.38 (CO), 141.35 (Ar), 130.85 (Ar), 124.30 (Ar), 115.44 (Ar), 114.27 (Ar), 111.31 (Ar), 55.80 (C), 50.29 (2C_{Pip}), 45.27 (2C_{Pip}), 43.34 (C), 28.44 (C), 26.02 (C), 25.88 (C), 23.28

(C). FT-IR: 3392 (N-H, Str), 3058 (C-H Ar, Str), 2937; 2873 (C-H Aliph, Str), 1693 (C=O Str), 1587; 1452 (C=C Ar, Str), 1374 (C-N, Str), 734 (C-Cl, Str), UPLC-MS: 342.26 (M+4, 10), 341.26 (M+3, 40), 339.27 (M+, 100), 322.25 (8), 279.19 (7), 169.07 (5), 154.12 (5), R_t = 1.70 min, Purity = 95%, TLC: R_f = 0.44, m_p = 161–163 °C, Y = 71%.

4.1.9.2. 1-(6-(4-(3-Chlorophenyl)piperazin-1-yl)hexyl) sulfuric diamide 6n. Molecular formula: (C₁₆H₂₇ClN₄O₂S), MW_{Calc} = 338.88, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.20 (t, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 6.90 (dd, J = 12.4, 5.3 Hz, 2H, ArH), 6.44 (s, 1H, ArH), 3.15 (d, J = 5.1 Hz, 4H, SO₂NCH), 2.84 (dt, J = 19.8, 9.9 Hz, 2H, CH_{Pip}), 2.47 (s, 4H, CH_{Pip}), 2.29 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{Pip}), 1.46 (d, J = 6.7 Hz, 4H, CH_{Aliph}), 1.28 (d, J = 15.8 Hz, 4H, CH_{Aliph}). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 130.85 (Ar), 124.30 (Ar), 118.65 (Ar), 115.45 (Ar), 114.88 (Ar), 111.31 (Ar), 55.70 (2C), 51.03 (2C_{Pip}), 47.31 (2C_{Pip}), 28.44 (C), 26.06 (C), 25.88 (C), 23.31 (C). FT-IR: 3176 (N-H, Str), 2937; 2858 (C-H Aliph, Str), 1593; 1442 (C=C Ar, Str), 1322 (S=O, Str), 777 (C-Cl, Str), HPLC: R_t = 1.72 min, Purity = 96%, TLC: R_f = 0.34, m_p = oil, Y = 34%.

4.1.10. Synthesis of 4-(3-Chlorophenyl)piperazine-1-carboxamide 5h

In flask placed 0.233g (0.001 mol) of 1-(3-chlorophenyl)piperazine hydrochloride (5f) and 0.12g (0.002 mol) of urea and one small drop of DMF. The reactions were carried out for 60 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and after cooling the product was filtered off. The crude product was purified by crystallization from acetone.

Molecular formula: (C₁₁H₁₄ClN₃O₂), MW_{Calc} = 239.70, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.22 (t, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 6.97 (d, J = 1.8 Hz, 1H, ArH), 6.92 (dd, J = 8.4, 1.9 Hz, 1H, ArH), 6.80 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H, ArH), 6.07 (s, 2H, NH), 3.46–3.37 (m, 4H, CH_{Pip}), 3.17–3.08 (m, 4H, CH_{Pip}), HPLC: R_t = 2.15 min, Purity = 94%, TLC: R_f = 0.45, m_p = 183–185 °C, Y = 66%

4.1.11. Synthesis of 8a-c

In flask placed 0.148g (0.001 mol) of 1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-amine (7), 0.002 mol of urea, thiourea or sulfamide and 0.2 cm³ of DMF. The reactions were carried out for 80 s in a CEM Discover microwave reactor at a 100 W output power. After completion of the reaction, 40 cm³ of water was added and after cooling the product was filtered off. The crude product was purified by crystallization from ethanol or column chromatography (using chloroform:methanol 9:1).

4.1.11.1. 5,6-Dihydro-1H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(4H)-one 8a. Molecular formula: (C₁₀H₁₀N₂O), MW_{Calc} = 179.20, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (s, 1H, NH), 7.00–6.91 (m, 2H, ArH), 6.85 (dd, J = 6.5, 1.9 Hz, 1H, ArH), 3.95–3.84 (m, 2H, NCH_{Aliph}), 2.86 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.18–2.10 (m, 2H, CH_{Aliph}). FT-IR: 3390; 3343; 3164 (N-H, Str), 3034 (C-H Ar Str), 2963; 2843 (C-H Aliph, Str), 1677 (C=O, Str), 1616; 1490 (C=C Ar, Str), 1354 (C-N, Str), HPLC R_t = 2.75 min, Purity = 92%, TLC R_f = 0.61, m_p = 211–214 °C, Y = 54%

4.1.11.2. 5,6-Dihydro-1H-imidazo[4,5,1-ij]quinolin-2(4H)-thione 8b. Molecular formula: (C₁₀H₁₀N₂S), MW_{Calc} = 190.26, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.08 (t, J = 7.6 Hz, 1H, ArH), 6.98 (t, J = 8.4 Hz, 2H, ArH), 3.99–3.93 (m, 2H, CH_{Aliph}), 2.85 (t, J = 5.9 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 2.14–2.06 (m, 2H, CH_{Aliph}). HPLC: R_t = 3.06, Purity = 94%, TLC: R_f = 0.63, m_p = 214–216 °C, Y = 41%.

4.1.11.3. 1,4,5,6-Tetrahydro-[1,2,5]thiadiazolo[4,3,2-ij]quinoline 2,2-dioxide 8c. Molecular formula: (C₉H₁₀N₂O₂S), MW_{Calc} = 210.25,

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 6.76 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H, ArH), 6.43 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 3.25–3.20 (m, 2H, SONCH), 2.68 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.83–1.73 (m, 2H, CH_{Aliph}), FT-IR: 3328; 3305; 3241 (N-H, Str), 3011 (C-H Ar, Str), 2946; 2838 (C-H Alif, Str), 1598; 1493 (C=C Ar, Str), 1312 (C-N, Str), HPLC: $R_t = 2.92$, Purity = 93%, TLC: $R_f = 0.49$, $m_p = \text{oil}$, $Y = 16\%$.

4.2. Radioligand assay

4.2.1. Cell culture and preparation of cell membranes for radioligand binding assays

The full-length human 5-HT $_{1A}$ R, 5-HT $_6$ R, 5-HT $_{7B}$ R and D $_2$ R cDNAs cloned into mammalian expression vector pcDNA3.1(+) were obtained from the cDNA Resource Center (www.cdna.org). The cDNAs were stably transfected into human embryonic kidney cells (HEK293, ATCC) with use of Lipofectamine 2000 (Invitrogen). G418-resistant clones yielding the highest expression level of 5-HT $_{1A}$ R, 5-HT $_6$ R, 5-HT $_{7B}$ R or D $_2$ L were selected during preliminary experiments including RT-PCR and Western Blot analysis as well as ligand binding and cAMP accumulation assays. CHO-K1 cells expressing 5-HT $_{2A}$ R were purchased from PerkinElmer BioSignal. All cell lines were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO $_2$ and were grown in Dulbecco's Modified Eagle Medium (Lonza) containing 10% dialysed foetal bovine serum (Biowest) and 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ G418 sulphate (Lonza). For membrane preparation, the cells were subcultured in 150 cm 2 flasks, grown to 90% confluence and then washed twice with prewarmed to 37 °C phosphate buffered saline (PBS) and pelleted under centrifugation (using $\times 200$ g) in PBS containing 0.1 mM EDTA and 1 mM dithiothreitol. The pellets were stored at -80 °C.

4.2.2. Radioligand binding assays

The thawed cell pellets were homogenized in 20 vol of assay buffer in tissue homogenizer (Ultra Turrax) and then centrifuged twice at 35000 \times g for 20 min (4 °C), with incubation for 15 min (37 °C) in between rounds of centrifugation. The composition of the assay buffers:

5-HT $_{1A}$ - 50 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl $_2$, 10 μM pargyline and 0.1% ascorbate; 5-HT $_{2A}$ - 50 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 4 mM MgCl $_2$, and 0.1% ascorbate; 5-HT $_6$ - 50 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA and 4 mM MgCl $_2$; 5-HT $_{7B}$ - 50 mM Tris-HCl, 4 mM MgCl $_2$, 10 μM pargyline and 0.1% ascorbate; D $_2$ L - 50 mM Tris HCl, 1 mM EDTA, 4 mM MgCl $_2$, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.5 mM CaCl $_2$ and 0.1% ascorbate.

The assays were incubated in a total volume of 200 μl on 96-well microtiter plates for 1 h (37 °C, except for 5-HT $_{1A}$ and 5-HT $_{2A}$, which were incubated at room temperature). The process of equilibration was terminated with rapid filtration through Unifilter GF/B plates (96-well cell harvester, PerkinElmer), and the radioactivity retained on the filters was quantified on a Microbeta plate reader (PerkinElmer). For displacement studies, the assay samples contained the following as radioligands: 2.5 nM [^3H]-8-OHDPAT (187 Ci/mmol; 6919 GBq/mmol) - 5-HT $_{1A}$; 1 nM [^3H]-ketanserin (53.4 Ci/mmol; 1975.8 GBq/mmol) - 5-HT $_{2A}$; 2 nM [^3H]-LSD (85 Ci/mmol; 3145 GBq/mmol) - 5-HT $_6$; 0.8 nM [^3H]-5-CT (39.2 Ci/mmol; 1450.4 GBq/mmol) - 5-HT $_{7B}$; 2.5 nM [^3H]-raclopride (76.0 Ci/mmol; 2812 GBq/mmol) - D $_2$ L. Nonspecific binding was defined with 10 μM of 5-HT (5-HT $_{1A}$, 5-HT $_{7B}$). 10 μM of chlorpromazine or 10 μM of methiothepine were used in the 5-HT $_{2A}$ /D $_2$ and 5-HT $_6$ assays, respectively [29]. Each compound was tested in triplicate at 8 different concentrations (10^{-4} to 10^{-11} M). The inhibition constants (K_i) were calculated from the Cheng-Prusoff equation [52]. The results are expressed as the means of at least two separate experiments. The reference compounds: buspirone for 5-HT $_{1A}$, olanzapine for 5-HT $_{2A}$

and 5-HT $_6$, clozapine for 5-HT $_{7B}$ and risperidone for D $_2$ L.

4.2.3. Functional assays

The functional properties of compounds were evaluated using LANCE Ultra cAMP detection kit (PerkinElmer). 5-HT $_{1A}$ receptors in HEK293 cells are coupled to G $_{\alpha i}$ subtype and decreases cAMP production. Cells were stimulated with 1 μM of forskolin (EC $_{90}$). Each compound was tested in triplicate at 8 concentrations (10^{-11} – 10^{-4} M).

For quantification of cAMP levels, cells (5 μl) were incubated with 5 μl mixture of compounds (tested ligand and forskolin [53] with 1 μM (R)-(+)-8-OH-DPAT) for 30 min at room temperature in 384-well white opaque microtiter plate (PerkinElmer). After incubation, the reaction was stopped and cells were lysed by the addition of 10 μl working solution (5 μl Eu-cAMP and 5 μl ULight-anti-cAMP). The assay plate was incubated for 1 h at room temperature. Time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR FRET) signal was detected by an Infinite M1000 Pro (Tecan) using instrument settings from LANCE Ultra cAMP detection kit manual. K_b values were calculated from Cheng-Prusoff equation [1] specific for the analysis of functional inhibition curves: $K_b = \text{IC}_{50}/(1 + A/\text{EC}_{50})$ where A is an agonist concentration, IC_{50} is the concentration of antagonist producing a 50% reduction in the response to agonist, and EC_{50} is the agonist concentration which causes a half of the maximal response.

4.3. ADMET tests

The ADME-Tox parameters of **6f** were analyzed according to described previously protocols [47,48] and included: PAMPA passive permeability testing, the influence on CYP3A4 activity, metabolic stability in mouse liver microsomes and hepatotoxicity assessment with use of HepG2 cells.

4.3.1. PAMPA test

The Pre-coated PAMPA Plate System Gentest $^{\text{TM}}$ was sourced from Corning, (Tewksbury, MA, USA). The **6f** and caffeine solutions (200 μM) was prepared in PBS buffer (pH = 7.4) and then added to PAMPA plate. The plate was incubated at room temperature for 5 h without stirring. The 50 μl was aspirated from both Acceptor (A) and Donor (D) wells and diluted next with 50 μl solution of an internal standard (IS). The concentrations of tested compounds in A and D wells were estimated by LC/MS Waters ACQUITY $^{\text{TM}}$ TQD system with the TQ Detector (Waters, Milford, USA). The P_e values were estimated according the proper formulas provided by Corning and described previously in the literature [49].

4.3.2. Drug – drug interactions

The influence on CYP3A4 activity by **6f** was analyzed with use of luminescent CYP3A4 P450-Glo $^{\text{TM}}$, (Madison, WI, USA). The compounds were tested in triplicate in a final concentration 10 μM . The luminescent signal was measured by the EnSpire PerkinElmer (Waltham, MA, USA) microplate reader. Reference inhibitor ketoconazole (KE) was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

4.3.2.1. Metabolic stability. The metabolic stability of **6f** was estimated by using mouse liver microsomes (MLMs) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). The tested compound (50 μM) was incubated in the presence of MLMs (1 mg/ml) for 120 min in 10 mM Tris-HCl buffer at 37 °C (total volume of the reaction mixture 200 μl). Cold methanol (200 μl) was added next to terminate the reaction. The mixture was centrifuged (10 min, 14 500 rpm) in order to remove completely the precipitated MLMs. The supernatant was analyzed

by LC/MS Waters ACQUITY™ TQD system with the TQ Detector (Waters, Milford, USA). The presence of the protein contaminations was not observed in UPLC-MS analysis.

4.3.2.2. Hepatotoxicity. Hepatotoxicity was evaluated with hepatoma HepG2 (ATCC® HB-8065™) cell line. Cells were cultured in previously described condition and incubated for 48 h at 96-well plates with compound in the final concentration range (1–100 μM), whereas the reference DX at 1 μM. The cells' viability was determined by CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (MTS), which was purchased from Promega (Madison, WI, USA). Absorbance was measured using a microplate reader EnSpire (PerkinElmer, Waltham, MA USA) at 490 nm. The **6f** was tested in a single experiment in quadruplicate. The reference cytostatic drug doxorubicin (DX), were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

4.3.3. Statistical analysis

The IC₅₀ values in DDI analyses were calculated using GraphPad Prism 8.0.1 software (nonlinear regression, log(inhibitor) vs. normalized response). Statistical significance in hepatotoxicity determination was evaluated by GraphPad Prism 5.0.1 software using one-way ANOVA, followed by Bonferroni's comparison test (****p < 0.001).

4.4. Molecular modelling

4.4.1. Proteins and ligands preparation

The pK_a assessment of nitrogen atoms was performed in the Jaguar pK_a prediction system [35]. The calculations involve geometry optimization of the ionic and neutral species, single-point energy and frequency calculations, and an empirical correction. The crystal structure of the D₂ (pdb ID: 6CM4 [37]) receptor in the complex with risperidone and 5-HT_{1A} (pdb ID: 7E2Z) in complex with aripiprazole [36] were used. For the graphic presentation of the selected structures, PyMOL [54] software was used.

4.4.2. Protein-ligand docking

The 3-dimensional structures were prepared using LigPrep 3.7 [55]. The appropriate ionization states at pH 7.4 were assigned using Epik [56]. To assign the bond orders and appropriate amino acid ionization states the Protein Preparation Wizard was used [57]. The docking was performed using the induced-fit docking (IFD) protocol from Schrödinger. This method combines flexible ligand docking using the Glide algorithm with receptor structure prediction and side chain refinement in Prime (refine residues within 5.0 Å of ligand poses). The Extended Sampling Protocol was used, which generates up to 80 poses per ligand with automated docking. In each case, the centroid of the grid box was fixed on D3.32 and allowed residue refinement within 15 Å of the ligand poses. When selecting the conformation of the complex for further modeling, the values of docking scores and the consistency of the generated pose with binding mode of ligand in the crystal structure of the L-R complex were taken into account. Final validation of the selected receptor conformations was performed by docking (Glide SP mode) the synthesized library, retaining only those with a coherent binding mode [58].

4.4.3. QM/MM

The quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) docking was performed using the quantum-polarized ligand docking protocol (QPLD) implemented in the Schrödinger Suite [34]. QPLD combines the Glide docking algorithm with QM/MM calculations performed by the Q-Site software, which uses the Jaguar [59] and Impact programs for the QM (ligand) and MM

(protein) regions, respectively. Uses the 3–26h [60] basis set, BLYP [61] functional, and “Quick” SCF accuracy level. The input for QPLD was most accurate for poses from induced fit docking. During the QPLD calculations, no protein flexibility is possible, however, so the ligands are treated as flexible in each of the two docking stages. The number of returned poses per ligand in each docking stage was set to 50. MM/GBSA (generalized-born/surface area) [39] was used to calculate the binding free energy based on the receptor–ligand complexes obtained at the QPLD stage. The ligand poses were minimized using the local optimization feature in Prime [62], the flexible residue distance was set to 4.0 Å from a ligand pose, and the ligand charges obtained in the QPLD stage were used. The solvation model was VSGB [63]. The energies of complexes were calculated using the following equation:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta E_{\text{EM}} + \Delta G_{\text{Sol}} + \Delta G_{\text{SA}}$$

where E_{EM} corresponds to the energy difference between the ligand–receptor complex and the sum of the separate energies of the ligand and receptor. G_{Sol} represents the difference in the GBSA solvation energy of the ligand–receptor complex and the sum of the solvation energies for the ligand and receptor. Finally, G_{SA} describes the non-polar contribution to the solvation free energy of the complex, which is calculated using the solvent-accessible surface-area approach.

4.4.4. FMO

To study the importance and the nature of L–R interactions, single-point FMO-EDA [40] calculations were performed for the all-optimized complexes at the MP2/6–36h* [64] level using the GAMESS software [65]. The FMO calculations were performed for the ligand and receptor binding site. This strategy has been applied recently to other GPCRs [33,34]. The FMO input commands were set as default. The pair interaction energies (PIE) and all contributions to total energies (electrostatic-E_{es}, dispersion-E_{dis}, charge-transfer-E_{ct}, exchange repulsion-E_{ex}, and the Gibbs solvation energy-ΔG_{Solv}) were calculated as previously described [40]. The Gibbs solvation energy was calculated based on the PCM model. FMO [66] were used for the preparation of the systems and analysis of the results. In order to illustrate the nature of interactions with individual amino acid residues, the percentage share of the sum of the absolute values of electrostatic contribution and charge transfer in relation to the sum of the absolute values of the three contributions E_{es}, E_{ct}, and E_{disp} was defined according to the formula:

4.4.5. Molecular dynamic

The long-time-scale molecular dynamics simulations were performed employing all-atom approach using program NAMD 2.13⁴³, standard all-atom forcefield CHARMM22 [67] is usually employed, which is available in all of the above. Topology parameters were created in CGenFF 1.0.0 [68]. The membrane and simulation system was built with QwikMD beta [69] tool in VMD 1.9.3 [70], using POPC (1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine), solvent explicit, buffer 15 A salt cons 0.15 mol/L NaCl. The simulation was prepared in the sequence: Minimization (2000 steps, NpT, 0 °C, 1 atm, restrained backbone), Annealing (144000 steps, NpT, 27 °C, 1 atm, restrained backbone), Equilibration (500000 steps, NpT, 27 °C, 1 atm, restrained backbone), MD (5000000 steps, 27 °C, 1 atm).

The binding free energies as the molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area (MM/PBSA) were estimated using an VMD Plugin named Calculation of Free Energy (CaFE) [71], where the gas-phase energy difference between the complex and the separated receptor and ligand is obtained by calling NAMD. Then, the polar solvation free energy is calculated by numerically solving the PB equation implemented in APBS [72]. Subsequently, the

difference of solvent-accessible surface area (SASA) is measured and the non-polar solvation free energy is estimated by its approximate linear relation with SASA. At last, the binding free energy is summed and averaged throughout an ensemble of conformations. The Root Mean Square Fluctuation (RMSF) during MD simulations was measured using VMD Tlc script.

4.4.6. Early ADME properties

Simple molecular and physicochemical descriptors like molecular weight (MW), molecular refractivity (MR), number of specific atom types, and polar surface area (PSA) were computed with OpenBabel [73]. The ability to inhibit cytochrome P-450 was assessed with the support vector machine algorithm (SVM) [74] on meticulously cleansed large datasets of known substrates/non-substrates or inhibitors/non-inhibitors. The recognition method, which allows the identification of potentially problematic fragments in the structure, was PAINS (for pan assay interference compounds) as molecules containing substructures showing potent response in assays irrespective of the protein target [75]. Absorption from the gastrointestinal tract and the ability to penetrate the blood-brain barrier were assessed under the Boiled Egg procedure [76].

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

Przemysław Zareba reports financial support was provided by National Center for Research and Development. Przemysław Zareba reports financial support was provided by Polish Ministry of Science and Higher Education. Przemysław Zareba reports computing resources provided by AGH University of Science and Technology Academic Computer Centre CYFRONET.

Acknowledgements

The synthesis and receptor affinity studies were funded by the National Center for Research and Development, LIDER VI project (LIDER/015/L-6/14/NCBR/2015).

The pharmacokinetic parameter studies were funded by TRL 2.0 – Implemented by the Technology Transfer Center PK under the MNISW program Innovation Incubator 2.0. The project is financed under a non-competitive project supporting the management of research and commercialization of R & D.

This research was supported in part by PLGrid Infrastructure.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114319>.

References

- [1] S.J. Peroutka, Pharmacological differentiation and characterization of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{1C} binding sites in rat frontal cortex, *J. Neurochem.* 47 (2) (1986) 529–540.
- [2] Z. Chilmonczyk, A. Bojarski, A. Pilc, et al., Functional selectivity and antidepressant activity of serotonin 1A receptor ligands, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 18474–18506.
- [3] C.N. Yohn, M.M. Gergues, B.A. Samuels, The role of 5-HT receptors in depression, *Mol. Brain* 10 (2017) 28.
- [4] W. Kostowski, A. Piażnik, R. Stefański, Intra-hippocampal buspirone in animal models of anxiety, *Eur. J. Pharmacol.* 168 (3) (1989) 393–396.
- [5] D. Mamo, A. Graff, R. Mizrahi, C.M. Shammii, F. Romeyer, S. Kapur, Differential effects of aripiprazole on D(2), 5-HT(2), and 5-HT(1A) receptor occupancy in patients with schizophrenia: a triple tracer PET study, *Am. J. Psychiatr.* 164 (9) (2007) 1411–1417.
- [6] P. Celada, V.M. Puig, M. Amargós-Bosch, A. Adell, F. Artigas, The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression, *J. Psychiatry Neurosci.* 29 (4) (2004) 252–265.
- [7] K. Fukumoto, M. Iijima, T. Funakoshi, S. Chaki, 5-HT_{1A} receptor stimulation in the medial prefrontal cortex mediates the antidepressant effects of mGlu2/3 receptor antagonist in mice, *Neuropharmacology* 137 (2018) 96–103.
- [8] A. Newman-Tancredi, L. Bardin, A. Auclair, F. Colpaert, R. Depoortere, A. M. NLX-112, a highly selective 5-HT_{1A} receptor agonist, mediates analgesia and antidepressant-like activity in rats via spinal cord and prefrontal cortex 5-HT_{1A} receptors, respectively Varney, *Brain Res.* 1688 (2018) 1–7.
- [9] Z.S. Gu, A.N. Zhou, Y. Xiao, Q.W. Zhang, J.Q. Li, Synthesis and antidepressant-like activity of novel aralkyl piperazine derivatives targeting SSRI/5-HT_{1A}/5-HT₇, *Eur. J. Med. Chem.* 144 (2018) 701–715.
- [10] X.Y. Zhu, J.R. Etukala, S.V. Eyunni, V. Setola, B.L. Roth, S.Y. Ablordeppey, Benzothiazoles as probes for the 5HT_{1A} receptor and the serotonin transporter (SERT): a search for new dual-acting agents as potential antidepressants, *Eur. J. Med. Chem.* 53 (2012) 124–132.
- [11] T. Ishibashi, T. Horisawa, K. Tokuda, T. Ishiyama, et al., Pharmacological profile of lurasidone, a novel antipsychotic agent with potent 5-hydroxytryptamine 7 (5-HT₇) and 5-HT_{1A} receptor activity, *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 334 (1) (2010) 171–181.
- [12] K. Maeda, H. Sugino, H. Akazawa, N. Amada, J. Shimada, T. Futamura, et al., Brexpiprazole I: in vitro and in vivo characterization of a novel serotonin-dopamine activity modulator, *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 350 (3) (2014) 589–604.
- [13] X.W. Chen, Y.Y. Sun, L. Fu, J.Q. Li, Synthesis and pharmacological characterization of novel N-(trans-4-(2-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)ethyl)cyclohexyl)amides as potential multireceptor atypical antipsychotics, *Eur. J. Med. Chem.* 123 (2016) 332–353.
- [14] P. Zajdel, A. Partyka, K. Marciniak, A.J. Bojarski, M. Pawlowski, A. Wesolowska, Quinoline- and isoquinoline-sulfonamide analogs of aripiprazole: novel antipsychotic agents? *Future Med. Chem.* 6 (1) (2014) 57–75.
- [15] I. Miyazaki, M. Asanuma, Serotonin 1A receptors on astrocytes as a potential target for the treatment of Parkinson's disease, *Curr. Med. Chem.* 23 (2016) 686–700.
- [16] B. Cusack, A. Nelson, E. Richelson, Binding of antidepressants to human brain receptors: focus on newer generation compounds, *Psychopharmacology* 114 (4) (1994) 559–565.
- [17] D. Marazziti, L. Palego, A. Giromella, et al., Region-dependent effects of flibanserin and buspirone on adenylyl cyclase activity in the human brain, *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 5 (2) (2002) 131–140.
- [18] P. Zajdel, T. Kos, K. Marciniak, et al., Novel multi-target azinesulfonamides of cyclic amine derivatives as potential antipsychotics with pro-social and pro-cognitive effects, *Eur. J. Med. Chem.* 145 (2018) 790–804.
- [19] G. Chłoń-Rzepa, P. Żmudzki, G. Satała, B. Duszyńska, A. Partyka, D. Wróbel, M. Jastrzębska-Więsek, A. Wesolowska, A.J. Bojarski, M. Pawlowski, P. Zajdel, New 8-aminoalkyl derivatives of purine-2,6-dione with arylalkyl, allyl or propynyl substituents in position 7, their 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, and 5-HT₇ receptor affinity and pharmacological evaluation, *Pharmacol. Rep.* 65 (1) (2013) 15–29.
- [20] K.R. Connolly, M.E. Thase, Vortioxetine: a new treatment for major depressive disorder, *Expert Opin. Pharmacother.* 17 (3) (2016) 421–431.
- [21] J. Jaśkowska, P. Zaręba, P. Śliwa, E. Pindelska, G. Satała, Z. Majka, Microwave-assisted synthesis of trazodone and its derivatives as new 5-HT_{1A} ligands: binding and docking studies, *Molecules* 24 (2019) 1609–1628.
- [22] P. Zaręba, J. Jaśkowska, I. Czekaj, G. Satała, Chemical puzzles in the search for new, flexible derivatives of lurasidone as antipsychotic drugs, *Bioorg. Med. Chem.* 27 (15) (2019) 3396–3407.
- [23] D.A. Nugiel, J.R. Kruminer, D.C. Hill, J.R. Damewood, P.R. Bernstein, C.D. Sobotka-Briner, et al., De novo design of a picomolar nonbasic 5-HT(1B) receptor antagonist, *J. Med. Chem.* 53 (4) (2010) 1876–1880.
- [24] P. Zajdel, G. Subra, P. Verdie, et al., Sulfonamides with the N-alkyl-N'-dialkylguanidine moiety as 5-HT₇ receptor ligands, *Bioorg. Med. Chem. Lett* 19 (16) (2009) 4827–4831.
- [25] A.K. Banala, B.A. Levy, S.S. Khatri, C.A. Furman, R.A. Roof, Y. Mishra, S.A. Griffin, D.R. Sibley, R.R. Luedtke, A.H. Newman, N-(3-Fluoro-4-(4-(2-methoxy or 2,3-dichlorophenyl)piperazine-1-yl)butyl) arylcarboxamides as selective dopamine D3 receptor ligands: critical role of the carboxamide linker for D3 receptor selectivity, *J. Med. Chem.* 54 (10) (2011) 3581–3594.
- [26] D.A. Walsh, J.B. Green, S.K. Franzyshe, J.C. Nolan, J.M. Yanni, Synthesis and antiallergy activity of N-[2-(dimethylamino)ethyl]-4-aryl-1-piperazinecarboxamide derivatives, *J. Med. Chem.* 33 (7) (1990) 2028–2032.
- [27] J. Haller, T. Durand, WO 2016-EP55480.
- [28] A. Partyka, R. Kurczab, V. Canale, G. Satała, K. Marciniak, A. Pasierb, M. Jastrzębska-Więsek, M. Pawlowski, A. Wesolowska, A.J. Bojarski, P. Zajdel, The impact of the halogen bonding on D₂ and 5-HT_{1A}/5-HT₇ receptor activity of azinesulfonamides of 4-[(2-ethyl)piperidinyl-1-yl]phenylpiperazines with antipsychotic and antidepressant properties, *Bioorg. Med. Chem.* 25 (2017) 3638–3648.
- [29] R. Wilcken, M.O. Zimmermann, A. Lange, S. Zahn, F.M. Boeckler, Using halogen bonds to address the protein backbone: a systematic evaluation, *J. Comput. Aided Mol. Des.* 26 (2012) 935–945.
- [30] P. Kowalski, K. Mitka, J. Jaśkowska, Beata Duszyńska, A.J. Bojarski, New arylpiperazines with flexible versus partly constrained linker as serotonin 5-HT_{1A}/5-HT₇ receptor ligands, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 346 (2013) 339–348.

- [31] P. Zaręba, J. Jaśkowska, P. Śliwa, G. Satała, New dual ligands for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors from the group of 1,8-naphthyl derivatives of LCAP, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 29 (16) (2019) 2236–2242.
- [32] A. Hamik, S.J. Peroutka, 1-(m-chlorophenyl)piperazine (mCPP) interactions with neurotransmitter receptors in the human brain, *Biol. Psychiatr.* 25 (5) (1989) 569–575.
- [33] P. Śliwa, R. Kurczab, A.J. Bojarski, ONIOM and FMO-EDA study of metabotropic glutamate receptor 1: quantum insights into the allosteric binding site, *Int. J. Quant. Chem.* 118 (2018), 25617.
- [34] P. Śliwa, R. Kurczab, R. Kafel, A. Drabczyk, J. Jaśkowska, Recognition of repulsive and attractive regions of selected serotonin receptor binding site using FMO-EDA approach, *J. Mol. Model.* 25 (2019) 114.
- [35] A.D. Bochevarov, E. Harder, T.F. Hughes, J.R. Greenwood, D.A. Braden, D.M. Philipp, D. Rinaldo, M.D. Halls, J. Zhang, R.A. Friesner, Jaguar: a high-performance quantum chemistry software program with strengths in life and materials sciences, *J. Quant. Chem.* 13 (18) (2013) 2110–2142.
- [36] P. Xu, S. Huang, H. Zhang, C. Mao, X.E. Zhou, X. Cheng, et al., Structural insights into the lipid and ligand regulation of serotonin receptors, *Nature* 592 (2021) 469–473.
- [37] S. Wang, T. Che, A. Levit, B.K. Shoichet, D. Wacker, B.L. Roth, Structure of the D₂ dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone, *Nature* 555 (2018) 269–273.
- [38] A.E. Cho, V. Guallar, B. Berne, R.A. Friesner, Importance of accurate charges in molecular docking: quantum mechanical/molecular mechanical (QM/MM) approach, *J. Comput. Chem.* 26 (2005) 915–931.
- [39] S. Genheden, U. Ryde, The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities, *Expert Opin. Drug Discov.* 10 (5) (2015) 449–461.
- [40] D.G. Fedorov, K. Kitaura, Pair interaction energy decomposition analysis, *J. Comput. Chem.* 28 (2007) 222–237.
- [41] D. Warszycki, M. Rueda, S. Mordalski, K. Kristiansen, G. Satała, K. Rataj, Z. Chilmonczyk, I. Sylte, R. Abagyan, A.J. Bojarski, From homology models to a set of predictive binding pockets—a 5-HT_{1A} receptor case study, *J. Chem. Inf. Model.* 27 (2) (2017) 311–321, 57.
- [42] C.J. Draper-Joyce, M. Michinoc, R. Kumar, V. Carmen, et al., The structural determinants of the bitopic binding mode of a negative allosteric modulator of the dopamine D₂ receptor, *Biochem. Pharmacol.* 148 (2018) 315–328.
- [43] J.C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R.D. Skeel, L. Kale, K. Schulten, Scalable molecular dynamics with NAMD, *J. Comput. Chem.* 26 (2005) 1781–1802.
- [44] D. Kulaga, J. Jaśkowska, G. Satała, G. Latacz, P. Śliwa, Aminotriazines with indole motif as novel, 5-HT₇ receptor ligands with atypical binding mode, *Bioorg. Chem.* 104 (2020), 104254.
- [45] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Sci. Rep.* 7 (2017), 42717.
- [46] E. Kerns, L. Di, *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization*, Academic Press, 2010.
- [47] G. Latacz, A. Lubelska, M. Jastrzębska-Więsek, A. Partyka, M.A. Marć, G. Satała, et al., The 1,3,5-triazine derivatives as innovative chemical family of 5-HT₆ serotonin receptor agents with therapeutic perspectives for cognitive impairment, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 3420.
- [48] D. Kulaga, A.K. Drabczyk, G. Satała, G. Latacz, K. Rózga, D. Plaźuk, J. Jaśkowska, Design and synthesis of new potent 5-HT₇ receptor ligands as a candidate for the treatment of central nervous system diseases, *Eur. J. Med. Chem.* 227 (2022), 113931.
- [49] X. Chen, A. Murawski, K. Patel, C.L. Crespi, P.V. Balimane, A novel design of artificial membrane for improving the PAMPA model, *Pharm. Res. (N. Y.)* 25 (7) (2008) 1511–1520.
- [50] T. Wichur, J. Godyń, I. Góral, et al., Development and crystallography-aided SAR studies of multifunctional BuChE inhibitors and 5-HT₆R antagonists with β-amyloid anti-aggregation properties, *Eur. J. Med. Chem.* 225 (2021), 113792.
- [51] A.S. Hogendorf, A. Hogendorf, R. Kurczab, G. Satała, T. Lenda, M. Walczak, G. Latacz, J. Handzlik, K. Kieć-Kononowicz, J.M. Wierońska, M. Woźniak, P. Cieślík, R. Bugno, J. Staroń, A.J. Bojarski, Low-basicity 5-HT₇ receptor agonists synthesized using the van Leusen multicomponent protocol, *Sci. Rep.* 7 (2017) 1444.
- [52] Y. Cheng, W. Prusoff, Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction, *Biochem. Pharmacol.* 22 (1973) 3099–3108.
- [53] R.H. Alasbahi, M.F. Melzig, Forskolol and derivatives as tools for studying the role of cAMP, *Die Pharm. - Int. J. Pharmaceut. Sci.* 67 (1) (2012) 5–13.
- [54] The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
- [55] LigPrep, Version 3.7, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2016.
- [56] Epik, Version 3.5, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2016.
- [57] G.M. Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman, Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments, *J. Comput. Aided Mol. Des.* 27 (3) (2013) 221–234.
- [58] R.A. Friesner, R.B. Murphy, M.P. Repasky, L.L. Frye, J.R. Greenwood, T.A. Halgren, P.C. Sanschagrin, D.T. Mainz, Extra precision glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 6177–6196.
- [59] A.D. Bochevarov, E. Harder, T.F. Hughes, J.R. Greenwood, D.A. Braden, D.M. Philipp, D. Rinaldo, M.D. Halls, J. Zhang, R.A. Friesner, Jaguar: a high-performance quantum chemistry software program with strengths in life and materials sciences, *Int. J. Quant. Chem.* 113 (18) (2013) 2110–2142.
- [60] J.S. Binkley, J.A. Pople, W.J. Hehre, Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (3) (1980) 939–947.
- [61] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648.
- [62] M.P. Jacobson, D.L. Pincus, C.S. Rapp, T.J.F. Day, B. Honig, D.E. Shaw, R.A. Friesner, A hierarchical approach to all-atom protein loop prediction, *Proteins: Struct., Funct. Bioinform.* 55 (2004) 351–367.
- [63] J. Li, R. Abel, K. Zhu, Y. Cao, S. Zhao, R.A. Friesner, *Proteins* 79 (10) (2011) 2794–2812.
- [64] R.F. Hout, B.A. Levi, W.J. Hehre, Effect of electron correlation on theoretical vibrational frequencies, *J. Comput. Chem.* 3 (1982) 234.
- [65] M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, et al., General atomic and molecular electronic structure system, *J. Comput. Chem.* 14 (1993) 1347–1363.
- [66] M. Suenaga, Facio: New computational chemistry environment for PC GAMESS, *J. Comput. Chem. Jpn.* 4 (1) (2005) 25–32.
- [67] B.R. Brooks, C.L. Brooks III, A.D. MacKerell Jr., L. Nilsson, R.J. Petrella, B. Roux, Y. Won, G. Archontis, C. Bartels, S. Boresch, A. Caffisch, et al., CHARMM: the biomolecular simulation program, *J. Comput. Chem.* 30 (2009) 1545–1614.
- [68] K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya, S. Kundu, S. Zhong, J. Shim, E. Darian, O. Guvench, P. Lopes, I. Vorobyov, A.D. MacKerell Jr., CHARMM general force field: a force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields, *J. Comput. Chem.* 31 (2010) 671–690.
- [69] J.V. Ribeiro, R.C. Bernardi, T. Rudack, J.E. Stone, J.C. Phillips, P.L. Freddolino, K. Schulten, QwikMD — integrative molecular dynamics toolkit for novices and experts, *Sci. Rep.* 6 (2016), 26536110.
- [70] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, VMD—visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics, J. Mol. Graph.* 14 (1996) 33–38.
- [71] H. Liu, T. Hou, CaFE: a tool for binding affinity prediction using end-point free energy methods, *Bioinformatics* 32 (2016) 2216–2218.
- [72] E. Jurrus, D. Engel, K. Star, K. Monson, J. Brandi, et al., Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite, *Protein Sci.* 27 (2018) 112–128.
- [73] N.M. O’Boyle, Open Babel, An open chemical toolbox, *Cheminform.* 3 (2011) 33.
- [74] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Sci. Rep.* 7 (2017) 42717.
- [75] J.B. Baell, G.A. Holloway, New substructure filters for removal of Pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 2719–2740.
- [76] A. Daina, V. Zoete, A BOILED-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules, *ChemMedChem* 11 (11) (2016) 1117–1121.

8. Deklaracje współautorów

Kraków 01.09.2022

Oświadczenie o udziale współautorów w publikacjach naukowych

Oświadczam, że udział w pracy, opublikowanej wspólnie z mgr inż. Przemysławem Zarębą jest zgodny z opisem, przedstawionym poniżej:

Publikacja:

Zaręba P., Jaśkowska J., Czekaj I., Satała G., *Design, synthesis and molecular modelling of new bulky Fananserin derivatives with altered pharmacological profile as potential antidepressants*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2019**, 27(15), 3396–407.

Udział:

- mgr inż. Przemysław Zaręba **70%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, opracowanie koncepcji badań, wybór metodyki, wytypowanie związków do syntezy, wykonanie badań w zakresie syntezy oraz modelowania molekularnego, opracowanie tekstu i przygotowanie publikacji do druku, przygotowanie odpowiedzi na recenzje.

- dr inż. Jolanta Jaśkowska **10%**:


Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu syntezy, udział w opracowaniu tekstu.

- dr hab. inż. Izabela Czekaj, prof. PK **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu modelowania molekularnego, udział w opracowaniu tekstu.

- dr Grzegorz Satała **10%**:

Wykonanie badań biologicznych *in vitro*, konsultacja naukowa.

Przemysław Zaręba

Jolanta Jaśkowska

Izabela Czekaj



Grzegorz Satała

Kraków 01.09.2022

Oświadczenie o udziale współautorów w publikacjach naukowych

Oświadczam, że udział w pracy, opublikowanej wspólnie z mgr inż. Przemysławem Zarębą jest zgodny z opisem, przedstawionym poniżej:

Publikacja:

Zaręba P., Jaśkowska J., Śliwa P., Satała G., *New dual ligands for the D₂ and 5-HT_{1A} receptors from the group of 1,8-naphthyl derivatives of LCAP*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **2019**, 29(16), 2236–42.

Udział:

- mgr inż. Przemysław Zaręba **70%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, opracowanie koncepcji badań, wybór metodyki, wytypowanie związków do syntezy, wykonanie badań w zakresie syntezy oraz modelowania molekularnego, opracowanie tekstu i przygotowanie publikacji do druku, przygotowanie odpowiedzi na recenzje.

- dr inż. Jolanta Jaśkowska **10%**:

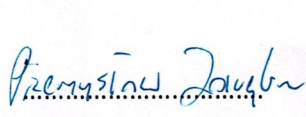
Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu syntezy, udział w opracowaniu tekstu.

- dr inż. Paweł Śliwa **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu modelowania molekularnego, udział w opracowaniu tekstu oraz odpowiedzi na recenzje.

- dr Grzegorz Satała **10%**:


Wykonanie badań biologicznych *in vitro*, konsultacja naukowa.



Przemysław Zaręba



Jolanta Jaśkowska



Paweł Śliwa



Grzegorz Satała

Kraków 01.09.2022

Oświadczenie o udziale współautorów w badaniach objętych patentem

Oświadczam, że udział w pracy, opatentowanej wspólnie z mgr inż. Przemysławem Zarębą jest zgodny z opisem, przedstawionym poniżej:

Publikacja:

Zaręba P., Jaśkowska J., Satała G., *Nowe N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowe pochodne cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów oraz sposób wytwarzania nowych N-6(4-arylopiperazyno-1-ylo)heksylowych pochodnych cyklicznych 1,8-naftylo / tetrahydrochinolino imidów / amidów / sulfonamidów, PL240473B1, 2022*

Udział:

- mgr inż. Przemysław Zaręba **50%**:

Współudział w sformułowaniu problem technologicznego, opracowanie koncepcji badań, wybór metodyki, wytypowanie związków do syntezy, wykonanie badań w zakresie syntezy, opracowanie tekstu i przygotowanie zgłoszenia .

dr inż. Jolanta Jaśkowska **40%**:

Współudział w sformułowaniu problem technologicznego, konsultacja naukowa badań z zakresu syntezy, udział w opracowaniu tekstu zgłoszenia.

- dr Grzegorz Satała **10%**:

Wykonanie badań biologicznych *in vitro*, konsultacja naukowa.



.....
Przemysław Zaręba



Jolanta Jaśkowska



Grzegorz Satała

Kraków 01.09.2022

Oświadczenie o udziale współautorów w publikacjach naukowych

Oświadczam, że udział w pracy, opublikowanej wspólnie z mgr inż. Przemysławem Zarębą jest zgodny z opisem, przedstawionym poniżej:

Publikacja:

Zaręba P., Drabczyk A.K. Jaśkowska J., Satała G., *Chemical puzzles in the search for new, flexible derivatives of lurasidone as antipsychotic drugs*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2020**, 28(10), 15,115459.

Udział:

- mgr inż. Przemysław Zaręba **70%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, opracowanie koncepcji badań, wybór metodyki, wytypowanie związków do syntezy, wykonanie badań w zakresie syntezy oraz modelowania molekularnego, opracowanie tekstu i przygotowanie publikacji do druku, przygotowanie odpowiedzi na recenzje.

- dr inż. Jolanta Jaśkowska **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu syntezy, udział w opracowaniu tekstu.

- mgr inż. Anna Karolina Drabczyk **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, współudział w syntezie związków końcowych, udział w opracowaniu tekstu.

- dr Grzegorz Satała **10%**:

Wykonanie badań biologicznych *in vitro*, konsultacja naukowa.



Przemysław Zaręba

Jolanta Jaśkowska

Anna K. Drabczyk

Grzegorz Satała

Kraków 01.09.2022

Oświadczenie o udziale współautorów w publikacjach naukowych

Oświadczam, że udział w pracy, opublikowanej wspólnie z mgr inż. Przemysławem Zarębą jest zgodny z opisem, przedstawionym poniżej:

Publikacja:

Zaręba P., Śliwa P., Satała G., Zajdel P., Latacz G., Jaśkowska J., *New N-aryl-N'-aryl-/(thio)ureido-/sulfamoylamino-derivatives of alkyl/alkylcarbamoyl piperazines: Effect of structural modifications on selectivity over 5-HT_{1A} receptor*, European Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 235, 114319

Udział:

- mgr inż. Przemysław Zaręba **50%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, opracowanie koncepcji badań, wybór metodyki, wytypowanie związków do syntezy, wykonanie badań w zakresie syntezy oraz modelowania molekularnego, opracowanie tekstu i przygotowanie publikacji do druku, przygotowanie odpowiedzi na recenzje.

- dr inż. Paweł Śliwa **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu modelowania molekularnego, wykonanie części symulacji z zakresu dynamiki molekularnej, udział w opracowaniu tekstu oraz odpowiedzi na recenzje.

- dr Grzegorz Satała **10%**:

Wykonanie badań biologicznych *in vitro*, konsultacja naukowa.

- prof. dr hab. Paweł Zajdel **10%**:

Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań biologicznych, udział w opracowaniu tekstu oraz odpowiedzi na recenzje.

- dr hab. Gniewomir Latacz **10%**:

Wykonanie badań ADMET, konsultacja naukowa.

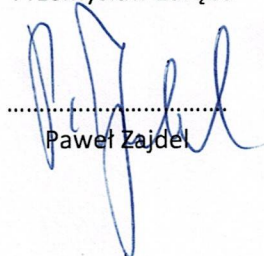
- dr inż. Jolanta Jaśkowska **10%**:

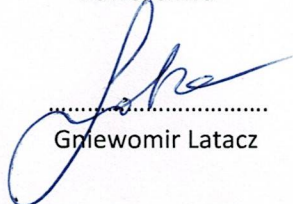
Współudział w sformułowaniu problem naukowego, konsultacja naukowa badań z zakresu syntezy, udział w opracowaniu tekstu.

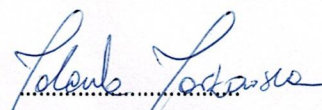

.....
Przemysław Zaręba


.....
Paweł Śliwa


.....
Grzegorz Satała


.....
Paweł Zajdel


.....
Gniewomir Latacz


.....
Jolanta Jaśkowska