

## BIWALENTNE LIGANDY RECEPTORÓW OPIOIDOWYCH

### BIVALENT LIGANDS OF OPIOID RECEPTORS

**Oliwia Frączak, Aleksandra Olma\***

*Institut Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny,  
Politechnika Łódzka  
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź  
\*e-mail: [aleksandra.olma@p.lodz.pl](mailto:aleksandra.olma@p.lodz.pl)*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Biwalentne ligandy

1.1. Podział

1.2. Projektowanie

1.3. Uproszczony model oddziaływania heterobiwalentnych ligandów z receptorami

2. Biwalentne ligandy opioidowe

2.1. Biwalentne ligandy niepeptydowe

2.2. Biwalentne ligandy peptydowo-niepeptydowe

2.3. Biwalentne ligandy peptydowe

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Mgr inż. Oliwia Frączak** ukończyła studia w 2011 roku na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej na kierunku Technologia Chemiczna o specjalności Chemia i technologia środków leczniczych. Obecnie kontynuuje naukę na Studiach Doktoranckich na Wydziale Chemicznym PŁ, pod opieką prof. dr hab. inż. Aleksandry Olmy. W ramach pracy doktorskiej zajmuje się syntezą biwalentnych ligandów o potencjalnym działaniu przeciwbólowym modyfikowanych niebiałkowymi aminokwasami. Jest współautorką jednej publikacji oraz wielu komunikatów konferencyjnych.

**Prof. dr hab. Aleksandra Olma** – Po ukończeniu studiów na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej (1972), rozpoczęła pracę w Instytucie Chemii Organicznej. Pracę doktorską obroniła w 1980 r., a stopień doktora habilitowanego uzyskała w roku 2000. Na stanowisku profesora pracuje od 2006 roku. W latach 1980–1982 odbyła staż naukowy w laboratorium prof. Maurice Manninga (Department of Biochemistry and Cancer Biology, University of Toledo, USA). Przebywała wielokrotnie na 1–3 miesięcznych pobytach naukowych u prof. Garlanda R. Marshalla (Washington University, School of Medicine, Department of Molecular Biology and Pharmacology, St. Louis, USA) oraz w laboratorium prof. M. Manninga. Jej zainteresowania naukowe skupiają się na chemii i biologii peptydów zawierających niekodowane aminokwasy ( $\alpha,\alpha$ -dipodstawione glicyny,  $\beta^3$ -*h*-aminokwasy). Zajmuje się badaniami zależności pomiędzy strukturą a aktywnością peptydów bioaktywnych oraz chemią medyczną. Współpracuje z wieloma krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi. Jej dorobek naukowy obejmuje 64 publikacje w renomowanych czasopismach naukowych oraz ponad 90 komunikatów i posterów prezentowanych na zagranicznych i krajowych konferencjach naukowych. Jest współautorką 6 patentów. Wypromowała 2 doktorantów, obecnie jest promotorem dwóch.

## ABSTRACT

Opioids are the oldest drugs known to humanity, which have been and continue to be used for the treatment of chronic pain. Unfortunately they have a large number of side effects [1–6]. Three main types of opioid receptors  $\mu$  (MOR),  $\delta$  (DOR) and  $\kappa$  (KOR) are known [8]. The ORL1 receptor was classified as the fourth member of opioid receptor family [9]. Opioid receptors can form homodimers and the following heterodimers: DOR-KOR, DOR-MOR and KOR-MOR [13c,d,f, 14].

Specially designed ligands which are able to penetrate the BBB are used to study physiological consequences of opioid receptor homo- and heterodimerization, and as new analgesics.

Bivalent ligands are defined as compounds that contain two pharmacophoric units, an appropriately designed spacer to separate and define the two pharmacophores, and a linker unit to connect the pharmacophores, to the spacer (Fig. 1) [16].

The affinity of a ligand to its target depends on its fundamental kinetic association and dissociation rate constants (Scheme 1) [24]. Bivalent ligands interacting with the opioid receptors have been divided into three groups: nonpeptide, peptide-nonpeptide and peptide homo- or heterodimers. Nonpeptide bivalent ligands (**4–21**, **27–41** and **44–45**) containing different pharmacophores (selective opioid agonists or/and antagonists) connected with designed linkers have potent analgesic properties [25–34]. Compound **35** may be useful in the treatment of opioid dependence.

Studies of peptide-nonpeptide ligands, which are a combination of “address” segments of endogenous opioid peptides and selective alkaloid ligand (**47–50**) indicate that peptide part of the analogues can modulate the receptor selectivity of the attached alkaloid pharmacophores [35]. Series of peptide-nonpeptide ligands containing different classes of opioid peptides and fentanyl (**52–86**) were synthesized and tested for binding affinity to  $\mu$  and  $\delta$  opioid receptors [38–40]. Good opioid affinity and antinociceptive activity of some of the obtained bivalent ligands (**57**, **61**, **63**) suggesting that a novel class of analgesics can be further developed utilizing this approach. Among homobivalent ligands the most important is biphalin **87** and its analogues (**88–124**) [41–53]. Analgesic potency of the most active ligand **112** is greater than parent peptide (biphalin) and morphine.

Keywords: opioid peptides, nonpeptide bivalent ligands, peptide bivalent ligands, opioid activity, homo- and heterobivalent ligands

Słowa kluczowe: peptydy opioidowe, biwaleentne ligandy niepeptydowe, biwaleentne ligandy peptydowe, aktywność opioidowa, homo- i heterobiwaleentne ligandy

---

## WPROWADZENIE

Opioidy, jedne z najczęściej zalecanych środków przeciwbólowych, stosowane są od tysięcy lat. Wykazują one szerokie spektrum działania w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Mogą jednak powodować wiele skutków ubocznych [1]. Działania niepożądane ze strony przewodu pokarmowego [2] i ośrodkowego układu nerwowego [3] (nudności, wymioty, zaparcia, obrzęki, a także sedacja) są częstym powodem przerwania leczenia opioidami. Mogą wystąpić także: hiperalgezja [4], zmniejszenie libido, inne zaburzenia hormonalne [5] oraz depresja. Poza tym, przy dłuższym ich stosowaniu jako analgetyków może ulec zmianie tolerancja organizmu na dany lek, istnieje także ryzyko uzależnienia organizmu od przyjmowania opioidów [6]. Oddziałują one z receptorami opioidowymi, które należą do rodziny receptorów związanych z białkiem G (GPCR) [7] i odgrywają ważną rolę w odczuwaniu bólu. Obecnie przyjmuje się, że istnieją cztery typy receptorów: trzy typowe receptory opioidowe  $\mu$  (MOP),  $\delta$  (DOP) i  $\kappa$  (KOP) [8] oraz nieopiodowy receptor ORL1 (NOP) [9], zaliczony także do tej rodziny. Wszystkie receptory zostały sklonowane i dobrze scharakteryzowane [10]. Aktywacja MOR, DOR, KOR lub ORL1 wywołuje podobne efekty [11], m.in. zahamowanie aktywności cykazy adenylanowej (AC) i uwalnianie  $\text{Ca}^{2+}$  w kanałach typu N i typu L. Aktywacja receptorów opioidowych zwiększa także aktywność fosfolipazy C, która powoduje przejściowy wzrost stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  wewnątrz komórek, aktywowanie kanałów  $\text{K}^+$  i kinazy białkowej (MAPK).

Dzięki rozwojowi metod badań farmakologicznych, biochemicznych oraz biofizycznych [12] udowodniono dimeryzację/oligomeryzację GPCR poprzez homo- i heterodimeryzację [13]. Wykorzystanie metod koimmunoprecypitacji i fluorescencyjnych potwierdziło występowanie homodimerów MOR, DOR i KOR, oraz heterodimerów DOR-KOR, DOR-MOR i KOR-MOR [13c-d,f, 14]. Ważnym kierunkiem badań jest opracowanie narzędzi chemicznych do farmakologicznego charakteryzowania heterodimerów receptorów opioidowych jak również poszukiwanie ich ligandów o potencjalnym zastosowaniu jako leki.

### 1. BIWALENTNE LIGANDY

Projektowanie biwalentnych ligandów receptorów opioidowych wymaga wyboru odpowiedniego farmakoforu, miejsca połączenia ze starannie zaprojektowanym łącznikiem, o optymalnej długości.

#### 1.1. PODZIAŁ

Biwalentne ligandy możemy podzielić ze względu na sposób połączenia obydwu aktywnych fragmentów (Rys. 1) [15]. Konjugatem nazywamy biwalentny ligand,

w którym obydwa farmakofory połączone są ze sobą za pomocą mostka, który nie należy do żadnego z tych ligandów. Wyróżniamy dwa podtypy konjugatów: łatwo ulegające rozszczepieniu (głównie estry) i nierozszczepialne. Rozszczepialne konjugaty można traktować jak proleki, gdyż głównymi metabolitami tego typu związków są dwa pojedyncze ligandy, które indywidualnie oddziałują z docelowym miejscem w organizmie. Ligandy scalone występują wtedy, gdy oba aktywne fragmenty są ze sobą bezpośrednio połączone. W przypadku gdy oba farmakofory posiadają jakiś wspólny fragment, mamy do czynienia z ligandami nachodzącymi.



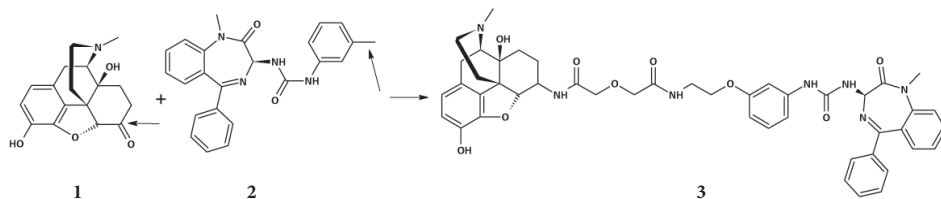
Rysunek 1. Podział biwalentnych ligandów  
Figure 1. Categories of bivalent ligands

Wśród biwalentnych ligandów wyróżnić możemy ligandy homo- i heterobiwalentne, zawierające odpowiednio dwa identyczne bądź dwa różne farmakofory.

## 1.2. PROJEKTOWANIE

Jednym z najważniejszych aspektów w projektowaniu biwalentnych ligandów jest dobór odpowiednich farmakoforów. Przy ich poszukiwaniu należy uwzględnić następujące właściwości: zawadę przestrzenną, aktywność, możliwość sfunkcjonalizowania bez zakłócania oddziaływań ligand-receptor.

Przyjmuje się, że masy cząsteczkowe wykorzystywanych ligandów powinny być stosunkowo niewielkie (300–400 Da) [16]. Co więcej, farmakofory powinny posiadać wysokie powinowactwo do odpowiednich receptorów, ponieważ często ulega ono obniżeniu po przyłączeniu mostka. W skrajnych przypadkach powinowactwo może zostać obniżone o dwa rzędy wielkości [17]. Innym bardzo ważnym aspektem jest wybór miejsca przyłączenia. Aby właściwie dobrać pozycję, w której dołączony zostanie mostek, należy przeanalizować zależność pomiędzy strukturą a aktywnością (SAR) pojedynczych ligandów. Wykorzystuje się obecne w farmakoforze grupy funkcyjne lub po ich sfunkcjonalizowaniu. Wiadomo np. że w pozycję N<sup>6</sup>-adenozyny można z powodzeniem wprowadzać duże podstawniki [18], dlatego Karellas i współpracownicy wybrali tę pozycję jako miejsce przyłączenia łącznika w zaprojektowanym przez nich biwalentnym ligandzie [19]. Zheng i współpracownicy otrzymali związek **3** oddziałujący z heterodimerem  $\mu$ -CCK<sub>2</sub> (Rys. 2) [20]. W tym celu, grupa ketonowa oksymorfonu **1** została przekształcona w funkcję aminową, a grupa metylowa L-365,260 **2** w odpowiedni eter, co miało ułatwić przyłączenie mostka między tymi ligandami.



Rysunek 2. Bivalentny ligand **3** zaprojektowany przez Zhenga i współpracowników  
 Figure 2. Bivalent ligand **3** designed by Zheng and coworkers

Ogromny wpływ na aktywność bivalentnych ligandów ma także dobór łączników o odpowiedniej długości i budowie [21]. Dla wielu receptorów, zwłaszcza opioidowych, została wyznaczona optymalna odległość między farmakoforami, zapewniająca odpowiednie wiązanie ligand–receptor [22].

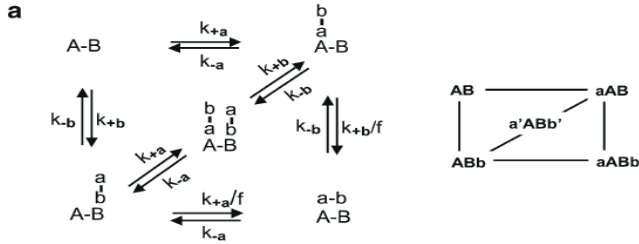
O oddziaływaniu z receptorem decyduje jednak nie tylko długość łącznika, ale także jego budowa. Shonberg i współpracownicy zaprojektowali struktury mostków wykorzystywanych w syntezie bivalentnych ligandów [16]. Łącznik powinien być odpowiednio elastyczny, aby umożliwić dopasowanie obu ligandów do kieszeni receptorów, chociaż inkorporacja łączników o małej swobodzie konformacyjnej może być pomocna przy określaniu konformacji bioaktywnych. Innym bardzo ważnym parametrem jest polarność łączników. Wpływa ona w znacznym stopniu na rozpuszczalność bivalentnych ligandów. Obecność grup hydrofilowych może w znaczny sposób poprawić rozpuszczalność związku w wodzie, dlatego wiele łączników zawiera reszty poliamidowe bądź glikolu etylenowego. Teoretycznie każdy z opisanych mostków może zostać użyty do połączenia dwóch dowolnych fragmentów. W praktyce dobór mostka należy jednak dokładnie rozważyć, gdyż w znaczący sposób wpływa on na właściwości bivalentnych ligandów.

### 1.3. UPROSZCZONY MODEL ODDZIAŁYWANIA HETEROBIWALENTNYCH LIGANDÓW Z RECEPTORAMI

W przypadku bivalentnych ligandów synergizm wynikający z jednoczesnego oddziaływania obu ligandów z odpowiednimi miejscami wiążącymi może wpływać na wzrost powinowactwa i czasu wiązania. W przypadku związania się jednego farmakoforu, pochodzącego od bivalentnego ligandu, prawdopodobieństwo związania drugiego jest zazwyczaj większe niż prawdopodobieństwo wiązania dwóch pojedynczych ligandów do tych samych receptorów [23].

Zazwyczaj w symulacjach dotyczących heterobivalentnych ligandów zakładano, że oba ligandy wykazują takie same kinetyczne właściwości i posiadają identyczne stałe asocjacji i dysocjacji. Taka sytuacja nie może mieć w rzeczywistości miejsca, ale założenia takie stosowano dla uproszczenia obliczeń. Uwzględnienie różnic w stałych szybkości pozwoliło na lepsze poznanie oddziaływania bivalentnych ligandów z receptorami [24]. W przypadku bardziej złożonych kompleksów,

jak biwalentne ligandy, konieczne jest uwzględnienie stałych szybkości wszystkich zachodzących procesów (Schemat 1).



Schemat 1. Oddziaływanie heterobiwalentnego ligandu a-b z receptorami A-B

Scheme 1. Heterobivalent ligand a-b interaction with A-B receptor

Oba farmakofory biwalentnego ligandu a-b mogą wiązać się z właściwymi dla nich miejscami wiążącymi receptorów A i B w kompleksie A-B. Każdy proces wiązania ligand-receptor jest odwracalny. A i B są na tyle blisko siebie, by umożliwić jednoczesne związanie dwóch farmakoforów pojedynczej cząsteczki ligandu. W pierwszej kolejności wiązaniu może ulec jeden z ligandów. Wiązanie drugiego ligandu, w celu utworzenia kompleksu a-A-B-b, jest trudniejsze i wymaga wzięcia pod uwagę czynnika  $f$ , uwzględniającego niekorzystną zmianę entropii.

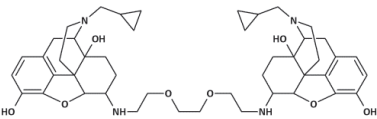
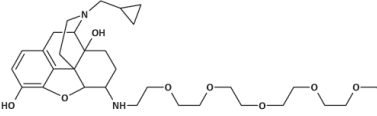
## 2. BIWALENTNE LIGANDY OPIOIDOWE

Biwalentne ligandy oddziałujące z receptorami opioidowymi zostały podzielone na trzy grupy: biwalentne ligandy niepeptydowe, mieszane peptydowo-niepeptydowe oraz peptydowe.

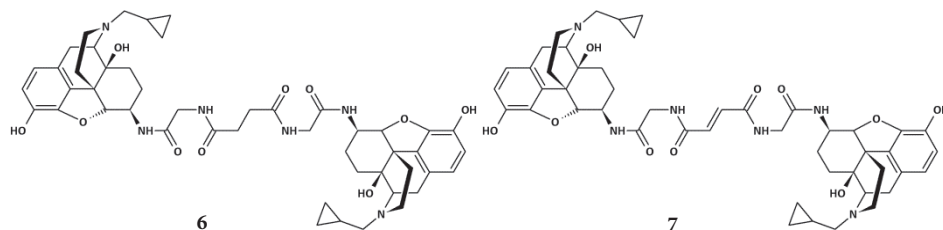
### 2.1. BIWALENTNE LIGANDY NIEPEPTYDOWE

Pierwsze doniesienia na temat syntezy niepeptydowych biwalentnych ligandów, selektywnie oddziałujących z receptorami opioidowymi pochodzą z wczesnych lat 80. XX wieku [25]. Portoghese i współpracownicy otrzymali związki **4**, **5** składające się z dwóch jednostek naltreksonu, połączonych za pomocą glikolu etylenowego. Oba analogi były bardziej aktywne niż ich monomeryczne ligandy (Tab. 1).

Tabela 1. Struktury i aktywność opioidowa bivalentnych ligandów wywodzących się z naltreksonu  
 Table 1. Structures and opioid activities of bivalent ligands derived from naltrexon

	Związek	IC <sub>50</sub> [nM]		
		μ	δ	κ
4		3,24 ± 0,57	7,17 ± 2,69	16,91 ± 3,07
5		5,75 ± 1,21	30,67 ± 2,98	2,61 ± 0,52

W kolejnych badaniach łączniki glikolowe zastąpiono mostkami złożonymi z reszt glicynowych. Niewątpliwą zaletą tego typu mostków jest łatwość ich wprowadzania, zmniejszenie hydrofobowości cząsteczki, a także łatwość w manipulowaniu długością łącznika. Badania SAR wykazały, że maksymalne powinowactwo do receptora μ posiada związek zawierający dwie reszty glicynowe, natomiast skrócenie łańcucha zwiększyło wiązanie z receptorem κ. Dla zachowania symetrii cząsteczki, wprowadzono jednostki sukcyńlowe i fumarylowe (Rys. 3).

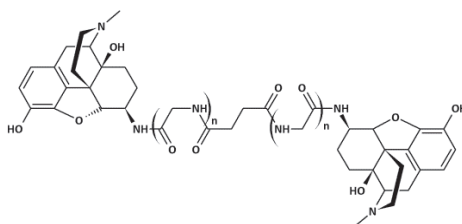


Rysunek 3. Struktury bivalentnych ligandów wywodzących się z naltreksonu, zawierających mostek sukcyńlowy i fumarylowy

Figure 3. Structures of bivalent ligands derived from naltrexon containing succinyl and fumaroyl linkers

Badania SAR związków **6** i **7** również potwierdziły, że selektywnych antagonistów receptora κ można otrzymać poprzez zmniejszenie dystansu pomiędzy dwoma ligandami [26]. Natomiast selektywnych agonistów receptora μ **8–15** otrzymano przez zastąpienie reszty naltreksonu oksymorfonem [26b-c] (Rys. 4).

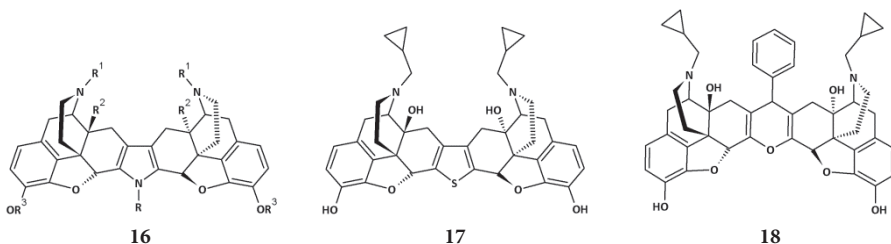




8-15 ( $n = 0, 1, 2, 3$ , konfiguracja na  $C^6 - \alpha$  lub  $\beta$ )

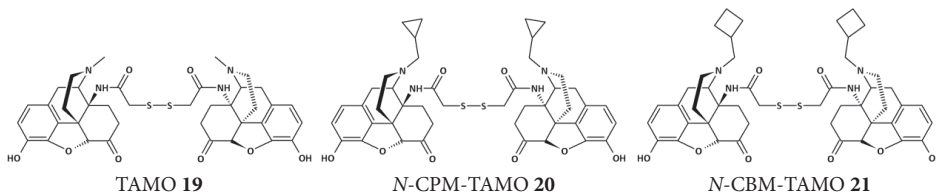
Rysunek 4. Struktury biwalentnych ligandów wywodzących się z oksymorfonu  
Figure 4. Structures of bivalent ligands derived from oxycodone

Bardzo aktywne związki otrzymano przez bezpośrednie połączenie dwóch części naltreksonu za pomocą heterocyklicznych pierścieni [27] (Rys. 5). Badania SAR wykazały, że dla zachowania selektywności konieczna jest obecność wolnych grup OH w pierścieniu aromatycznym oraz występowanie podstawnika *N*-cyklopropylowego lub *N*-allilowego. Co więcej, fragment pirolu pełni tylko i wyłącznie funkcję mostka, nie wpływa na oddziaływanie z receptorem i może być z powodzeniem zastąpiony innymi łącznikami np. tiofenem.



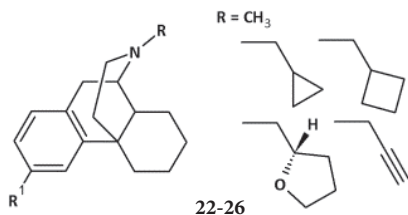
Rysunek 5. Struktury biwalentnych ligandów, pochodnych naltreksonu  
Figure 5. Structures of bivalent ligands derived from naltrexone

W zespole Archera otrzymano trzy biwalentne ligandy o wywodzące się z  $14\beta$ -aminomorfinonu oddziałujące z receptorami  $\mu$  i  $\kappa$  (Rys. 6) [28].



Rysunek 6. Struktury biwalentnych ligandów, wywodzących się z  $14\beta$ -aminomorfinonu  
Figure 6. Structures of bivalent ligands derived from  $14\beta$ -aminomorphine

Badania te dały początek syntezie całej serii biwalentnych ligandów selektywnych względem receptorów  $\mu$  i  $\kappa$  [29]. Zsyntetyzowano różne homo- i heterodimery, pochodne morfinianów (Rys. 7), zawierające łączniki o różnej budowie i długości.

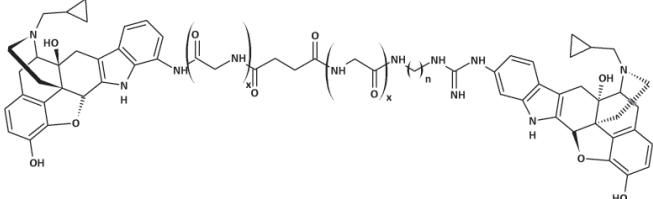
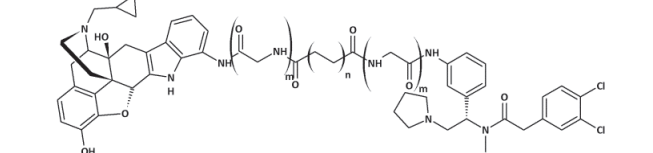
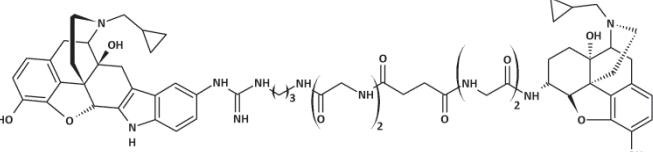


Rysunek 7. Struktury monomerycznych ligandów morfinianowych,  $R^1 = \text{OH}$  lub  $\text{NH}_2$   
 Figure 7. Structures of morphinian monomeric ligands,  $R^1 = \text{OH}$  or  $\text{NH}_2$

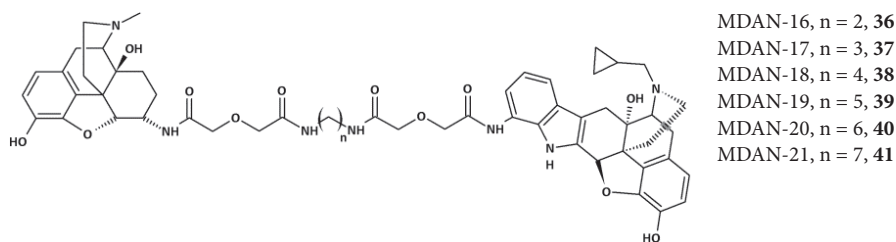
Otrzymane związki zostały poddane badaniom na wiązanie z receptorami opioidowymi, co pozwoliło określić m.in. wpływ budowy i długości łącznika na aktywność biologiczną otrzymanych analogów. Przeprowadzona optymalizacja budowy i długości mostka wykazała, że zastąpienie łącznika eterowego pomiędzy farmakoforami (np. butorfan-O-( $\text{CH}_2$ )<sub>n</sub>-O-butorfan) mostkiem estrowym (np. butorfan-O-CO-( $\text{CH}_2$ )<sub>n</sub>-CO-O-butorfan) podnosi aktywność analogów [29a]. Obiecujące wyniki powinowactwa ligandów zawierających łączniki estrowe zachęciły autorów do syntezy kolejnych związków posiadających różne ugrupowania pomiędzy dwoma resztami estrowymi.

Zespół Portoghese'a [27a, 30] wykorzystał w badaniach kombinację farmakoforów agonisty i antagonisty: 5'-*guanidynonaltrindol* (antagonista receptora  $\kappa$ ) (5'-GnTI),  $\beta$ -naltreksaminę (antagonista receptora  $\mu$ ), naltrindol (antagonista receptora  $\delta$ ) oraz ICI 199,441 (agonista receptora  $\kappa$ ), połączonych łącznikami o różnych długościach (Tab. 2). Związki te posiadały mostek zawierający jednostki glicynowe zapewniające równowagę hydrofilowo-lipofilową, jednostkę sukcyńlową zapewniającą elastyczność i korzystną interakcję z heterodimerami lub resztę alkiloaminy, która umożliwia zmianę długości łącznika o jeden atom. Zbadano aktywność antagonistyczną otrzymanych związków przez pomiar hamowania uwalniania  $\text{Ca}^{2+}$  w komórkach HEK (ang. *human embryonic kidney*), o określonym poziomie receptorów opioidowych  $\kappa$  i  $\mu$  lub w teście cofania ogona u myszy. Wszystkie otrzymane bivalentne ligandy w serii KMN antagonizowały uwalnianie  $\text{Ca}^{2+}$  w komórkach zawierających pojedyncze receptory, ale tylko ligand KMN-21 **35** (Tab. 2) hamował uwalnianie  $\text{Ca}^{2+}$  w komórkach zawierających ko-receptor  $\kappa$ - $\mu$ . Dane te sugerują, że związek KMN-21 z 21-atomowym łącznikiem skuteczniej łączy się z heterodimerem receptorów opioidowych  $\kappa$ - $\mu$  niż z homodimerami. Dwa selektywne bivalentne ligandy KDN-21 **29** [22a] i KDAN-18 **33** [31] selektywnie łączyły się z heterodimerami receptorów opioidowych  $\delta$ - $\kappa$ . Ligand KDN-21 **29** był silnym antagonistą DPDPE i bromazocyny, co sugerowało że heterodimer  $\delta$ - $\kappa$  jest złożony z podtypów  $\delta_1$ - $\kappa_2$ . Bivalentny antagonist  $\kappa$ - $\delta$  KMN-21 **35** także zawiera 21-atomowy łącznik [22b], co sugeruje wspólny sposób łączenia z heterodimerycznymi receptorami  $\kappa$ - $\mu$  i  $\kappa$ - $\delta$ .

Tabela 2. Struktury biwalentnych ligandów KDN, KDAN, KMN  
 Table 2. Structures of KDN, KDAN, KMN bivalent ligands

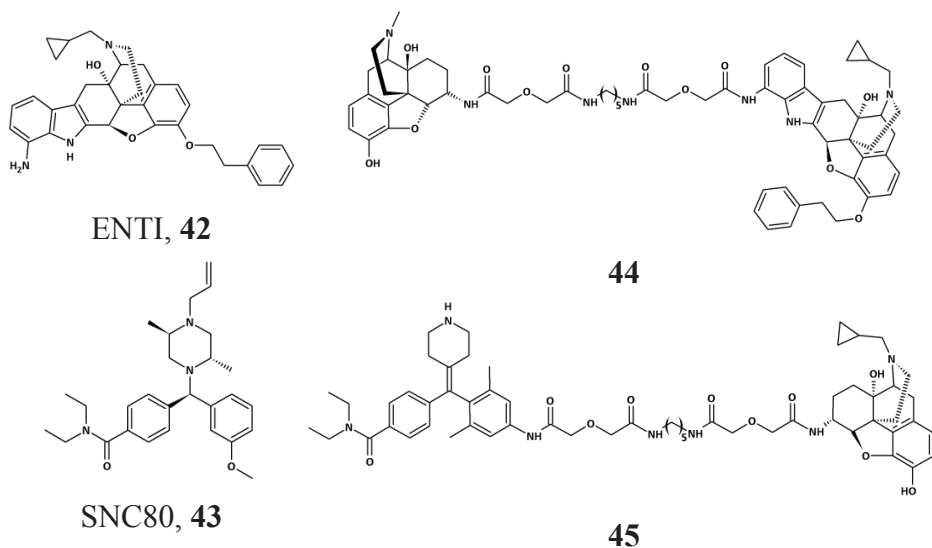
Biwalentny ligand	Łącznik
	KDN-15 $x = 1, n = 3$ , <b>27</b> KDN-20 $x = 2, n = 2$ , <b>28</b> KDN-21 $x = 2, n = 3$ , <b>29</b> KDN-22 $x = 2, n = 4$ , <b>30</b> KDN-23 $x = 2, n = 5$ , <b>31</b>
	KDAN-12 $m = 1, n = 2$ , <b>32</b> KDAN-18 $m = 2, n = 2$ , <b>33</b> KDAN-20 $m = 2, n = 4$ , <b>34</b>
	KMN-21 <b>35</b>

W tym samym zespole otrzymano i przebadano serię biwalentnych ligandów zawierających agonistę receptora  $\mu$  – oksymorfon i antagonistę receptora  $\delta$  – naltrindol I połączonych mostkami o różnych długościach (16–21 atomów) (Rys. 8) [32]. Otrzymano analogi o wyższej aktywności niż morfina, co potwierdzono w teście cofania ogona (np. MDAN-21 **41**, podany dożylnie, działał 50-razy silniej niż morfina). Długość łącznika okazała się kluczowa dla oddziaływania z receptorami. Ligandy o dłuższych łącznikach (19–21 atomów) jednocześnie oddziałują z dwoma receptorami opioidowymi, podczas gdy krótszy łącznik umożliwia interakcję tylko z jednym receptorem. Wiązanie z dwoma receptorami pozwoliło na otrzymanie aktywnych związków niepowodujących tolerancji i uzależnień. Co więcej, analog MDAN-21 zastosowano z powodzeniem do leczenia objawów uzależnienia od morfiny u małp.



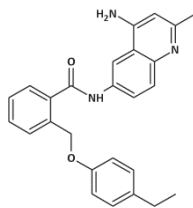
Rysunek 8. Struktury bivalentnych ligandów z serii MDAN  
 Figure 8. Structures of MDAN bivalent ligands

Cząsteczki oddziałujące z heterodimerami  $\mu$ - $\delta$  otrzymano także w wyniku połączenia ligandów silnie wiążących się z MOR (oksymorfon i naltrekson) i ligandów o niskim powinowactwie do DOR (ENTI **42** i SNC80 **43**) (Rys. 9) [33]. Oba ligandy **44** i **45** chętniej wiązały się z heterodimerami receptorów opioidowych niż z odpowiednimi homodimerami.



Rysunek 9. Struktury ENTI i SNC80 oraz wywodzących się z nich ligandów  
 Figure 9. Structures of ENTI, SNC80 and their bivalent ligands

Zsyntezowano także bivalentne ligandy, selektywne względem receptora NOP [34]. Odpowiednie związki otrzymano przez połączenie dwóch jednostek JTC-801 **46** (Rys. 10) mostkami diiminowymi i diaminowymi o różnych długościach. JTC-801 był pierwszym antagonistą receptora NOP testowanym w badaniach klinicznych.



46

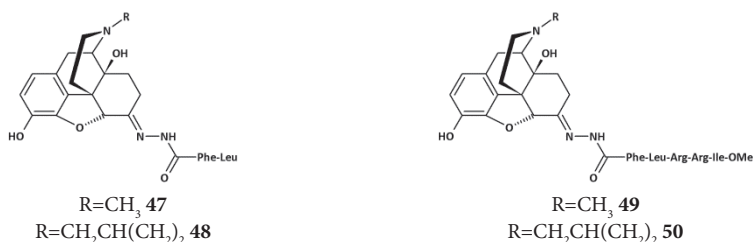
Rysunek 10. Struktura JTC-801

Figure 10. JTC-801 structure

Wszystkie związki zawierające łącznik diiminowy wykazywały niższe powinowactwo do NOP niż macierzysty ligand. Prawdopodobnie spadek aktywności wynika z obecności podwójnego wiązania *trans*-azometinowego, które wymusza na cząsteczce przyjęcie niekorzystnej, rozciągniętej konformacji. Co więcej, wraz ze wzrostem długości łącznika spadek aktywności jest bardziej widoczny. Odwrotny trend zaobserwowano w przypadku cząsteczek z łącznikiem diaminowym.

## 2.2. BIWALENTNE LIGANDY PEPTYDOWO-NIEPEPTYDOWE

W celu sprawdzenia, czy część adresowa endogennych peptydów opioidowych, odpowiedzialna za selektywność względem receptorów, może wpływać na selektywność farmakoforów alkaloidowych, Portoghese i współpracownicy [35] otrzymali analogi Leu-enkefaliny i dynorfiny, w których *N*-terminalny dipeptyd (fragment odpowiedzialny za „wiadomość”) zastąpili oksymorfonem bądź naltreksonem (Rys. 11). Fragment peptydowy (odpowiedzialny za „adres”) i alkaloidowy połączyli za pomocą mostka hydrazonego.



Rysunek 11. Struktury biwalentnych ligandów 47-50

Figure 11. Bivalent ligands 47-50 structures

Tabela 3. Aktywność opioidowa biwalentnych ligandów 47-50  
Table 3. Bivalent ligands 47-50 opioid activities

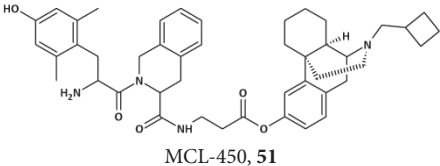
Związek	K <sub>p</sub> , nM		
	μ	δ	κ
47	14,8 ± 1,8	6,5 ± 0,18	96 ± 13
48	0,76 ± 0,08	3,1 ± 0,10	2,8 ± 0,20
49	15,5 ± 0,94	24 ± 0,84	9,8 ± 0,21
50	2,3 ± 0,36	5,7 ± 0,60	2,2 ± 0,41

Wyniki powinowactwa otrzymanych ligandów do receptorów opioidowych wskazują na to, że fragment peptydowy silnie wpływa na selektywność całej cząsteczki (Tab. 3). Selektywność jest wynikiem stanu równowagi pomiędzy powinowactwem części adresowej i części niosącej informację. W przypadku, gdy oba komponenty wykazywały podobne powinowactwa, domena adresowa silnie wpływała na selektywność, poprzez zwiększenie powinowactwa do jednego z receptorów opioidowych, a zmniejszenie wiązania z dwoma pozostałymi. W przypadku, gdy część niosąca wiadomość silniej wiązała się z jednym z receptorów to część adresowa wpływała głównie na zmniejszenie powinowactwa do receptorów innego typu.

W tym samym zespole zaprojektowano i otrzymano biwalentne ligandy oksymorfaminy i [D-Glu]<sup>2</sup>enkefalinę [36]. Tylko jeden z dwóch otrzymanych analogów wykazywał lepsze właściwości antynocyceptywne u myszy niż odpowiedni monowalentny ligand.

Podobne podejście w swoich badaniach wykorzystali Neumeyer i współpracownicy [37]. Zaprojektowany analog MCL-450 51, otrzymany przez połączenie δ-selektywnego peptydowego farmakoforu Dmt-Tic i μ,κ-selektywnego butorfanu, wykazywał wysokie powinowactwo do wszystkich trzech receptorów opioidowych (Tab. 4).

Tabela 4. Struktura i aktywność opioidowa MCL-450  
Table 4. Structure and opioid activities of MCL-450

Związek	K <sub>p</sub> , nM		
	μ	δ	κ
 <p>MCL-450, 51</p>	0,69 ± 0,04	1,5 ± 0,03	0,28 ± 0,03

W literaturze opisane są także analogi fentanylu, w których grupa fenyletylowa została zastąpiona przez aminokwasy aromatyczne [38]. Otrzymano μ-selektywne analogi wykazywały różne powinowactwo do receptorów opioidowych μ i δ.

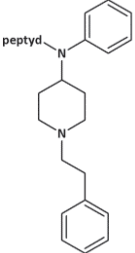
Przeprowadzono także badania pomiędzy strukturą a aktywnością konjugatów enkefalin i fentanylu [39]. Otrzymane analogi wykazywały wysokie powinowactwo do receptorów opioidowych  $\mu$  i  $\delta$  (Tab. 5), a także, w przeciwieństwie do enkefalin, charakteryzowały się dużą biodostępnością. Zastąpienie Tyr resztą Dmt **55**, **64** znacznie poprawiło powinowactwo do receptora  $\mu$ , inkorporacja D-Nle w pozycję 2 zwiększyła siłę wiązania z receptorem  $\delta$  **53**, **54**. Także halogenowanie pierścienia aromatycznego fenyloalaniny zwiększyło aktywność opioidową **56-63** (Tab. 5).

Tabela 5. Struktury i aktywność opioidowa koniugatów fentanylu i analogów enkefalin  
Table 5. Structures and opioid activities of fentanyl-enkephalin conjugates

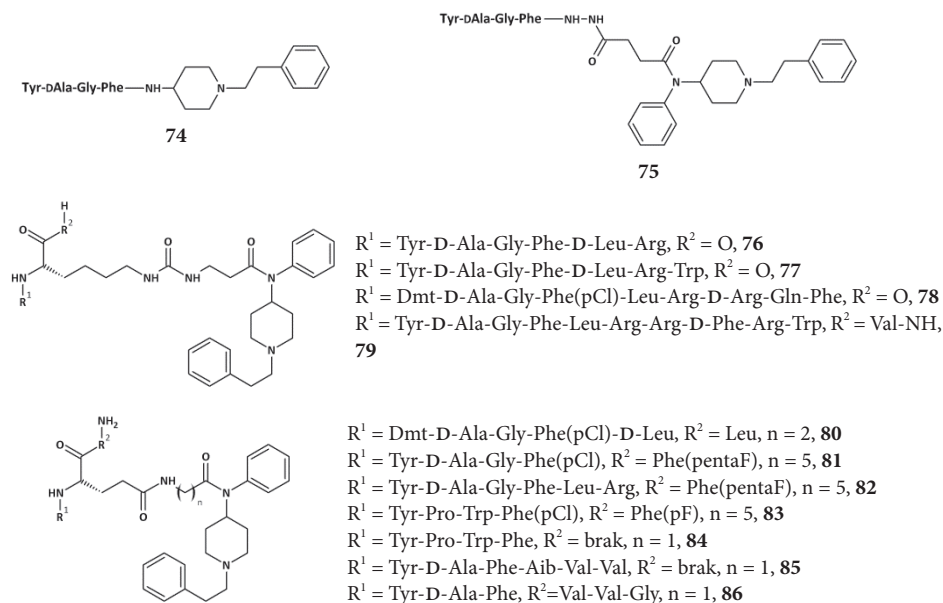
Związek	$K_i$ , nM	
	$\mu$	$\delta$
Peptyd =		
Tyr-D-Ala-Gly-Phe, <b>52</b>	23	0,69
Dmt-D-Nle-Gly-Phe, <b>53</b>	0,39	0,18
Dmt-D-Nle-Phe, <b>54</b>	0,36	1,1
Dmt-D-Ala-Phe, <b>55</b>	0,15	1,7
Dmt-D-Nle-Gly-Phe(pCl), <b>56</b>	0,10	0,08
Dmt-D-Nle-Gly-Phe(pF), <b>57</b>	0,02	0,40
Dmt-D-Ala-Gly-Phe(pCl), <b>58</b>	0,14	0,14
Dmt-D-Nle-Phe(pCl), <b>59</b>	5,0	19
Dmt-D-Ala-Phe(pCl), <b>60</b>	0,33	1,6
Dmt-D-Ala-Gly-Phe(pF), <b>61</b>	0,01	0,03
Dmt-D-Tic-Gly-Phe(pF), <b>62</b>	0,35	0,48
Dmt-D-Tic-Gly-Phe(pCl), <b>63</b>	0,15	0,11
Dmt-D-Ala-Gly-Phe, <b>64</b>	0,38	0,36

Zsyntezowano również analogi, w których resztę propionylową zastąpiono aminokwasami lub krótkimi peptydami. Taka modyfikacja powinna korzystnie wpływać na zmniejszenie toksyczności związku (Tab. 6) [40]. Zsyntezowane cząsteczki wykazywały wysoką  $\mu$ -selektywność. Analogi zawierające jedną bądź dwie reszty aminokwasowe **65-68** posiadały bardzo słabe powinowactwo do receptorów opioidowych. Natomiast większość związków z dłuższym fragmentem peptydowym **69-71** była wysoce aktywna.

Tabela 6. Struktury i aktywność opioidowa bivalentnych ligandów fentanylu  
Table 6. Structures and opioid activities of fentanyl bivalent ligands

Związek	$K_i$ , nM		
	$\mu$	$\delta$	
	Peptyd =		
	FmocGly, <b>65</b>	1000	1000
	PhtGly, <b>66</b>	2080	13000
	Ac $\beta$ Ala, <b>67</b>	1030	8400
	AcPhe- $\beta$ Ala, <b>678</b>	2680	7600
	Tyr-D-Ala-Gly-Phe- $\beta$ Ala, <b>69</b>	0,90	1,1
	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Gly, <b>70</b>	0,09	12
	Tyr-D-Abu-Gly-Phe-Leu-Gly, <b>71</b>	0,43	2,8
	Tyr-D-Pro-Gly-Phe-Leu-Gly, <b>72</b>	260	630
	Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Gly, <b>73</b>	13	27

Podobne modyfikacje przeprowadzono dla dynorfiny, deltorfiny oraz endomorfiny (Rys. 12) [39a, 40b].



Rysunek 12. Struktury bivalentnych ligandów fentanylu i peptydów opioidowych  
Figure 12. Structures of fentanyl-opioid peptides bivalent ligands

Wszystkie analogi dynorfiny (**76-79**) oraz enkefaliny (**75, 80-82**) wykazywały wysokie powinowactwa do obu receptorów opioidowych. Tylko analog **74**, który nie zawierał pierścienia *N*-fenylowego był nieznacznie mniej aktywny. Analogi endomorfiny (**83-84**) wykazywały mniejszą aktywność niż macierzysty peptyd. Analog deltorfiny **85** zachował wysoką  $\delta$ -selektywność, natomiast analog **86** wykazywał nieznaczną  $\mu$ -selektywność. Z przeprowadzonych badań wynika, że obecność frag-

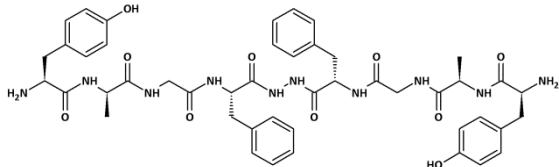


mentu anilidopiperidyiny w znacznym stopniu wpływa na aktywność i funkcjonalność otrzymanych związków

### 2.3. BIWALENTNE LIGANDY PEPTYDOWE

Wśród homobivalentnych ligandów na szczególną uwagę zasługuje bifalina [Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH-]<sub>2</sub> **87**, otrzymana przez Lipkowskiego i współpracowników [41]. Bifalina zbudowana jest z dwóch aktywnych tetrapeptydów, wywodzących się z enkefalin, połączonych ze sobą w sekwencji palindromowej, ogon do ogona, za pomocą mostka hydrazynowego. Peptyd ten posiada wysoką aktywność i wiele zalet terapeutycznych (Tab. 7). W zależności od sposobu podania, bifalina może wykazywać do 257 razy wyższą aktywność niż morfina [42].

Tabela 7. Struktura i aktywność opioidowa bifaliny  
Table 7. Biphalin structure and opioid activities

	Związek	IC50 (nM)	
		$\delta$	$\mu$
<b>87</b>		2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4

Badania wykazały, że bifalina jest obiecującym lekiem przeciwbólowym, wywołującym w przeciwieństwie do morfiny, tylko drugorzędne objawy uzależnienia [43]. Prawdopodobnie jest to wynikiem różnej selektywności tych związków względem receptorów. Morfina wykazuje duże powinowactwo do receptora  $\mu$ , natomiast bifalina dobrze wiąże się zarówno z receptorem  $\delta$  jak i  $\mu$  [44]. Poza tym posiada ona nieznaczące, ale wystarczające powinowactwo do receptora  $\kappa$ . Aktywacja receptora  $\kappa$  zapobiega niektórym niepożądanym efektom indukowanym przez agonistów receptorów  $\mu/\delta$ , np. tolerancji na lek, uzależnieniu fizycznemu i psychicznemu.

W zespole Hruby'ego [45] zsyntezowano analogi bifaliny modyfikowane w pozycjach 3,3' oraz 4,4', w celu zbadania ich aktywności biologicznej (Tab. 8). Wprowadzenie reszty *p*-fluoro-feniloalaninowej w pozycję 4 i 4' (**89**) zwiększało 8-krotnie powinowactwo do receptora  $\delta$ , a 2-krotnie do receptora  $\mu$ . Jednak wraz ze wzrostem wielkości wprowadzanego do cząsteczki halogenu (**90** i **91**) powinowactwo do obu receptorów malało. Wbudowanie w łańcuch *p*-nitro-feniloalaniny (**92**) prowadziło do otrzymania analogu o wartościach wiązania z receptorami pośrednich między analogiem z *p*-fluoro i *p*-chloro-feniloalaniną. Wprowadzenie grupy aminowej w pozycję para feniloalaniny (**93**) powodowało 46-krotny spadek powinowactwa do receptora  $\delta$  i praktycznie wyeliminowało powinowactwo do recep-

tora  $\mu$ -opiodowego. Zastąpienie reszt glicyny resztami fenyloalaniny w pozycjach 3 i 3' (**88**) powodowało obniżenie powinowactwa do obydwu receptorów. Także Li i współpracownicy zaprojektowali i otrzymali analogi modyfikowane w pozycjach 4, 4' (**94-98**) [46]. Modyfikacje te doprowadziły do otrzymania wysoce  $\mu$ -selektywnych analogów.

Tabela 8. Struktury i aktywność opiodowa analogów bifaliny modyfikowanych w pozycjach 3,3' i 4,4'  
Table 8. Structures and opioid activities of biphalin analogs modified in positions 3,3' and 4,4'

Związek	IC <sub>50</sub> (nM)	
	$\delta$	$\mu$
[Tyr-D-Ala-Phe-Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>88</b>	65 ± 31	6,5 ± 2,7
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(pF)-NH-] <sub>2</sub> , <b>89</b>	0,31 ± 0,12	0,64 ± 0,38
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(pCl)-NH-] <sub>2</sub> , <b>90</b>	0,54 ± 0,05	2,44 ± 1,8
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(pI)-NH-] <sub>2</sub> , <b>91</b>	5,20 ± 0,30	24,5 ± 5,3
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(pNO <sub>2</sub> )-NH-] <sub>2</sub> , <b>92</b>	0,63 ± 0,10	0,94 ± 0,12
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(pNH <sub>2</sub> )-NH-] <sub>2</sub> , <b>93</b>	120 ± 34	10000
[Tyr-D-Ala-Gly-(2S,3R)- $\beta$ -MePhe-NH-] <sub>2</sub> , <b>94</b>	110 ± 13	1,3 ± 0,19
[Tyr-D-Ala-Gly-(2S,3S)- $\beta$ -MePhe-NH-] <sub>2</sub> , <b>95</b>	11 ± 1,7	3,0 ± 1,0
[Tyr-D-Ala-Gly-1'-Nal-NH-] <sub>2</sub> , <b>96</b>	6,4 ± 2,6	0,79 ± 0,16
[Tyr-D-Ala-Gly-2'-Nal-NH-] <sub>2</sub> , <b>97</b>	7,4 ± 1,9	1,7 ± 0,52
[Tyr-D-Ala-Gly-Phe(2,3,4,5,6-F)-NH-] <sub>2</sub> , <b>98</b>	7,8 ± 2,5	0,91 ± 0,21

Niesymetryczne analogi bifaliny zostały zsyntezowane przez zespół Lipkowskiego (Rys. 13) [47]. Wcześniej wykazano, że obecność dwóch aktywnych farmakoforów w cząsteczce nie jest konieczna dla oddziaływań z receptorem  $\mu$ . Nawet monohydryd tetrapeptydu wykazywał zadawalające powinowactwo do tego receptora.

### Tyr-D-Ala-Gly-X-NH-NH-Y

(X=Trp, Y=Phe <b>99</b> ,	X=Phe, Y=D-Nle <b>103</b> ,
X=Phe, Y=Phe <b>100</b> ,	X=Phe, Y=Tyr <b>104</b> ,
X=Phe, Y=D-Phe <b>101</b> ,	X=Phe, Y=Trp <b>105</b> ,
X=Phe, Y=Nle <b>102</b> ,	X=Phe, Y=dansyl <b>106</b> ).

Rysunek 13. Niesymetryczne analogi bifaliny

Figure 13. Nonsymmetric biphalin analogs

Wprowadzenie do łańcucha lipofilowej norleucyny **102** i **103** zamiast aromatycznej fenyloalaniny nie zmieniło w znaczący sposób selektywności bifaliny. Także zmiana chiralności aminokwasu nie miała wyraźnego wpływu na wiązanie z receptorami **100** i **101**, **102** i **103**. Analogi **104** i **105**, w których reszta fenyloalaniny została zastąpiona innym aminokwasem aromatycznym zachowały wysokie powinowactwo do receptora  $\mu$  przy obniżonym powinowactwie do receptora  $\delta$  o jeden rząd wielkości. Wprowadzenie reszty dansylowej dało wysoce aktywny analog **106**. Obecność podstawnika fluorescencyjnego, umożliwiła przeprowadzenie licznych badań farmakokinetycznych i farmakodynamicznych.

Pierwsze cykliczne analogi bifaliny otrzymano w zespole Hruby'ego [48]. Reszty D-alaniny w pozycjach 2 i 2' zastąpiono D- i L-cysteiną, a następnie utwo-

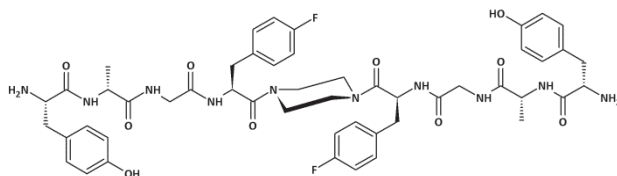
rzono mostek disulfidowy pomiędzy grupami tiolowymi. Otrzymano dwie różne struktury. Wprowadzenie dwóch reszt D-cysteiny nie zmieniało heterochiralnej struktury bifaliny, natomiast wprowadzenie dwóch reszt L-cysteiny doprowadziło do utworzenia nowego homochiralnego peptydu, składającego się wyłącznie z L-aminokwasów. Analog zawierający reszty D-cysteiny wykazał wyższą aktywność niż homochiralny analog, a nawet większą niż wykazuje sama bifalina.

Otrzymano także analogi bifaliny modyfikowane  $\beta^3$ -*h*-aminokwasami (Tab. 9) [49]. Wbudowanie reszty  $\beta^3$ -*h*-Tyr w pozycji 1,1' **107**,  $\beta^3$ -*h*-Gly w pozycje 2,2' **108** lub 3,3' **109** prowadziło do  $\mu$ -selektywnych analogów o słabym powinowactwie receptorowym. Tylko inkorporacja  $\beta^3$ -*h*-Phe w pozycji 4,4' **110** dała analog o aktywności porównywalnej z bifaliną. Badania te potwierdziły znaczenie odpowiedniego dystansu pomiędzy resztami fenyloalaniny a tyrozyny. W przypadku analogu modyfikowanego  $\beta^3$ -*h*-Phe zmianie uległa tylko odległość pomiędzy dwoma farmakoforami, co zwiększa elastyczność peptydu i ułatwia dopasowanie do kieszeni receptora. Już wcześniej wykazano, że odległość pomiędzy obydwoma ligandami może być zmieniana bez znacznej utraty aktywności [50].

Tabela 9. Struktury i aktywność opioidowa analogów bifaliny modyfikowanych  $\beta^3$ -*h*-aminokwasami  
Table 9. Structures and opioid activities of biphalin analogs modified with  $\beta^3$ -*h*-amino acids

Związek	K <sub>i</sub> [49a] (IC <sub>50</sub> ) [49b] (nM)	
	$\delta$	$\mu$
[ $\beta^3$ - <i>h</i> -Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>107</b>	480 (IC <sub>50</sub> >10 000)	62 (IC <sub>50</sub> >10 000)
[Tyr- $\beta^3$ - <i>h</i> -Gly-Gly-Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>108</b>	450	57
[Tyr-D-Ala- $\beta^3$ - <i>h</i> -Gly-Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>109</b>	240	172
[Tyr-D-Ala-Gly- $\beta^3$ - <i>h</i> -Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>110</b>	0,72 (1.26)	1,1 (316)
( $\beta^3$ - <i>h</i> -Tyr-D-Ala- $\beta^3$ - <i>h</i> -Phe-NH) <sub>2</sub> , <b>111</b>	(794)	(>10 000)

Zaprojektowano i zsyntezowano także analogi bifaliny, zawierające cykliczny alifatyczny bądź aromatyczny mostek [51]. Analogi o krótszej sekwencji peptydowej wykazywały bardzo słabe powinowactwo do receptorów opioidowych. Równoczesna modyfikacja pozycji 4 i 4' resztami *p*-fluorofenyloalaniny i modyfikacja łącznika doprowadziły do uzyskania bardzo aktywnych analogów [52]. Analog z mostkiem piperazynowym posiada wyższe powinowactwo do obydwu receptorów opioidowych, natomiast analog z mostkiem 1,2-fenyldiaminowym tylko do receptora  $\mu$ . Testy MVD i GPI pokazują jednak, że oba analogi są bardziej aktywne niż sama bifalina. Najaktywniejszy analog AM-94 jest obecnie intensywnie badany (Rys. 14) [53].



112

Rysunek 14. Struktura analogu bifaliny AM-94

Figure 14. AM-94 structure

Oprócz dimerycznych analogów enkefalin, otrzymano także dimeryczne analogi dermorfin (Tab. 10) [54]. Dimeryczne tetrapeptydy **114-120** wykazują właściwości odmienne niż dermorfina. Peptydy te posiadają porównywalne powinowactwo do receptora  $\mu$  i dużo wyższe do receptora  $\delta$ . Co więcej, wydłużanie długości łącznika **115-117** prowadziło do spadku aktywności. Zastąpienie Gly resztami Sar, dało analogi o lepszych właściwościach, natomiast zastąpienie D-Ala resztą D-Arg prowadziło do znacznego zmniejszenia wiązania z receptorem  $\delta$ . Dimeryczna dermorfina **125** wykazuje lepsze właściwości niż monomeryczny peptyd.

Tabela 10. Struktury i aktywność opioidowa dimerycznych analogów dermorfiny

Table 10. Structures and opioid activities of dermorphin bivalent ligands

Związek	IC <sub>50</sub> [nM]	
	$\mu$	$\delta$
[Tyr-D-Ala-Phe-NH-] <sub>2</sub> , <b>113</b>	99,8 ± 7,39	402,8 ± 66,2
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-NH-] <sub>2</sub> , <b>114</b>	9,50 ± 1,36	101,9 ± 4,27
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-NH-CH <sub>2</sub> -] <sub>2</sub> , <b>115</b>	9,04 ± 1,42	185,1 ± 22,2
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -] <sub>2</sub> , <b>116</b>	9,68 ± 1,80	58,3 ± 0,87
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -] <sub>2</sub> , <b>117</b>	72,3 ± 4,79	110,6 ± 10,5
[Tyr-D-Ala-Phe-Sar-NH-CH <sub>2</sub> -] <sub>2</sub> , <b>118</b>	5,20 ± 0,46	109,6 ± 18,9
[Tyr-D-Arg-Phe-Sar-NH-CH <sub>2</sub> -] <sub>2</sub> , <b>119</b>	1,98 ± 0,51	369,9 ± 83,2
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-NH-] <sub>2</sub> , <b>120</b>	0,27 ± 0,04	7,88 ± 0,07
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-NH-CH <sub>2</sub> -] <sub>2</sub> , <b>121</b>	0,91 ± 0,15	44,7 ± 9,74
[Tyr-D-Ala-Phe-Sar-Tyr-NH-] <sub>2</sub> , <b>122</b>	0,38 ± 0,06	23,9 ± 5,89
[Tyr-D-Arg-Phe-Sar-Tyr-NH-] <sub>2</sub> , <b>123</b>	1,52 ± 0,33	27,0 ± 3,42
[Tyr-D-Ala-Phe-D-Ala-Tyr-NH-] <sub>2</sub> , <b>124</b>	1,02 ± 0,22	49,6 ± 8,06
[Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH-] <sub>2</sub> , <b>125</b>	0,27 ± 0,03	46,2 ± 6,30

Otrzymano także całą serię bivalentnych ligandów zawierających ugrupowania Dmt i Dmt-Tic [55]. Związki zawierające resztę Dmt połączone mostkami metylenowymi o różnej długości są wysoce  $\mu$ -selektywne, natomiast analogi zawierające Dmt-Tic są nieznacznie  $\delta$ -selektywne. Aktywność biologiczna otrzymanych analogów silnie zależała od długości łącznika. Dimeryczne analogi Dmt-Tic, niezależnie od natury łącznika, były silnymi antagonistami obu receptorów opioidowych, przez co mogą być potencjalnie stosowane w walce z uzależnieniem od alkoholu.

## PODSUMOWANIE

Dimeryzacja/oligomeryzacja GPCR poprzez homo- i heterodimeryzację może wpływać w znacznym stopniu na właściwości receptorów m.in. na wiązanie z ligandami, sygnalizację, a także ich transport. Ważnym kierunkiem badań jest więc opracowanie narzędzi chemicznych do farmakologicznego charakteryzowania heterodimerów receptorów opioidowych a także poszukiwanie ich ligandów o potencjalnym zastosowaniu jako leki. Odpowiednio zaprojektowane biwalentne ligandy mogą potencjalnie służyć jako selektywne i skuteczne leki przeciwbólowe.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] X. Ruan, *Pain Phys.*, 2007, **10**, 357.
- [2] (a) T. Dzierżanowski, J. Jarosz, *Onkol. Prak. Klin.*, 2009, **5**, 47. (b) P. Holzer, *Eur. Rev. Med., Pharmacol. Sci.*, 2008, **12**, 119. (c) F. Porreca, M. Ossipov, *Pain Medicine*, 2009, **10**, 654.
- [3] C. Pasero, *J. Perianesth. Nurs.*, 2009, **24**, 186.
- [4] (a) S. Silverman, *Pain Physician*, 2009, **12**, 679. (b) L. Chu, D. Clark, M. Angs, *J. Pain*, 2006, **7**, 43.
- [5] R. Abs, J. Verhelst, J. Maeyaert, J. Buyten, F. Opsomer, H. Adriaensen, J. Verlooy, T. Havenbergh, M. Smet, K. Acker, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, **85**, 2215.
- [6] (a) S. Jan, *J. Manag. Care Pharm.*, 2010, **16**, 4. (b) H. Adriaensen, K. Vissers, H. Noorduyn, T. Meert, *Acta Anaesth. Belg.*, 2003, **54**, 37.
- [7] B. Cox, A. Borsodi, G. Caló, C. Chavkin, M. Christie, O. Civelli, L. Devi, C. Evans, G. Henderson, V. Höllt, B. Kieffer, I. Kitchen, M. Kreek, L. Liu-Chen, J. Meunier, P. Portoghese, T. Shippenberg, E. Simon, L. Toll, J. Traynor, H. Ueda, Y. Wong, *Opioid receptors*. [online], IUPHAR database (IUPHAR-DB), [dostęp: 2013-11-26]. Dostępny w Internecie: <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=50>.
- [8] B. Dhawan, F. Cesselin, R. Raghurir, T. Reisine, P. Bradley, P. Portoghese, M. Hamon, *Pharmacol. Rev.*, 1996, **48**, 567.
- [9] C. Mollereau, M. Parmentier, P. Maillieux, J. Butour, C. Moisand, P. Chalon, D. Caput, G. Vassart, J. Meunier, *FEBS Lett.*, 1994, **341**, 33.
- [10] (a) L. Chiou, Y. Liao, P. Fan, P. Kuo, C. Wang, C. Riemer, E. Prinssen, *Curr. Drug Targets*, 2007, **8**, 117. (b) M. Connor, M. Christie, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 1999, **26**, 493.
- [11] (a) B. Kieffer, K. Befort, C. Gaveriaux-Ruff, C. Hirth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, **89**, 12048. (b) S. Li, J. Zhu, C. Chen, Y. Chen, J. Dieriel, B. Ashby, L. Liu-Chen, *Biochem. J.*, 1993, **295**, 629. (c) Y. Chen, A. Mestek, J. Liu, L. Yu, *Biochem. J.*, 1993, **295**, 625.
- [12] (a) C. Hiller, J. Kuhhorn, P. Gmeiner, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 6542. (b) B. Levac, B. O'Dowd, R. George, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2002, **2**, 76. (c) C. Hiller, J. Kuhhorn, P. Gmeiner, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 6542.
- [13] (a) S. Angers, A. Salahpour, M. Bouvier, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2002, **42**, 409. (b) C. Rios, B. Jordan, I. Gomes, L. Devi, *Pharmacol. Ther.*, 2001, **92**, 71. (c) I. Gomes, B. Jordan, A. Gupta, N. Trapaidze, V. Nagy, L. Devi, *J. Neurosci.*, 2000, **20**, 1. (d) P. Portoghese, M. Lunzer, *Eur. J. Pharmacol.*, 2003, **467**, 233. (e) B. Jordan, L. Devi, *Nature*, 1999, **399**, 697. (f) D. Wang, X. Sun, L. Bohn, W. Sadee, *Mol. Pharmacol.*, 2005, **67**, 2173.
- [14] S. George, T. Fan, Z. Xie, R. Tse, V. Tam, G. Varghese, B. O'Dowd, *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**, 26128.
- [15] S. Ballet, M. Pietsch, A. Abell, *Protein Peptide Lett.*, 2008, **15**, 668-682.
- [16] J. Shonberg, P. Scammells, B. Capuano, *Chem. Med. Chem.*, 2011, **6**, 963.

- [17] J. Soulier, O. Russo, M. Giner, L. Rivali, M. Berthouze, S. Ongeri, B. Maigret, R. Fischmeister, F. Lezoualch, S. Sicsic, I. Berque-Bestel, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 6220.
- [18] K. Jacobson, P. Galen, M. Williams, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 407.
- [19] P. Karellas, M. McNaughton, S. Bakern, P. Scammells, *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 6128.
- [20] Y. Zheng, E. Akgu, K. Harikumar, I. Hopson, M. Powers, M. Lunzer, L. Miller, P. Portoghese, *J. Med. Chem.* 2009, **52**, 247.
- [21] P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 2259.
- [22] (a) R. Bhushan, S. Sharma, Z. Xie, D. Daniels, P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 2004, **47**, 2969. (b) S. Zhang, A. Yekkirala, Y. Tang, P. Portoghese, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 6978.
- [23] M. Weber, A. Bujotzek, R. Haag, *J. Chem. Phys.*, 2012, **137**, 1.
- [24] G. Vauquelin, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2013, **386**, 949.
- [25] M. Erez, A. Takemori, P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 1982, **25**, 841.
- [26] (a) P. Portoghese, G. Ronsisvalle, D. Lamon, A. Takemori, *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 1650. (b) P. Portoghese, D. Larson, C. Yim, L. Sayre, G. Ronsisvalle, A. Lipkowski, A. Takemori, K. Rice, S. Tam, *J. Med. Chem.*, 1985, **28**, 1140. (c) P. Portoghese, D. Larson, L. Sayre, C. Yim, G. Ronsisvalle, S. Tam, A. Takemori, *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 1855.
- [27] (a) P. Portoghese, H. Nagase, A. Lipkowski, D. Larson, A. Takemori, *J. Med. Chem.*, 1988, **31**, 836. (b) P. Portoghese, A. Garzon-Aburbbeh, H. Nagase, C. Lin, A. Takemori, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 1292. (c) P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 1927.
- [28] (a) S. Archer, A. Seyed-Mozaffari, Q. Jiang, J. Bidlack, *J. Med. Chem.*, 1994, **37**, 1578. (b) S. Archer, S. Glick, I. Maisonneuve, J. Bidlack, J. Xu, M. Teitler, A. Sebastian, W. El-Hamouly, I. Hutchinson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, **6**, 1139. (c) S. Archer, S. Glick, J. Bidlack, *Neurochem. Res.*, 1996, **21**, 1369.
- [29] (a) J. Neumeyer, A. Zhang, W. Xiong, X. Gu, J. Hilbert, B. Knapp, S. Negus, N. Mello, J. Bidlack, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 5162. (b) J. Mathews, X. Peng, W. Xiong, A. Zhang, S. Negus, J. Neumeyer, J. Bidlack, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, **315**, 821. (c) X. Peng, B. Knapp, J. Bidlack, J. Neumeyer, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 256. (d) X. Peng, B. Knapp, J. Bidlack, J. Neumeyer, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 2254. (e) M. Decker, B. Fulton, B. Zhang, B. Knapp, J. Bidlack, J. Neumeyer, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 7389. (f) B. Fulton, B. Knapp, J. Bidlack, J. Neumeyer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 1507. (g) B. Zhang, T. Zhang, A. Sromek, T. Scrimale, J. Bidlack, J. Neumeyer, *Bioorg. Med. Chem.* 2011, **19**, 2808.
- [30] R. Jones, P. Portoghese, *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, **396**, 49.
- [31] D. Daniels, A. Kulkarni, Z. Xie, R. Bhushan, P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 1713.
- [32] (a) D. Daniels, N. Lenard, C. Etienne, P. Law, S. Roerig, P. Portoghese, *PNAS*, 2005, **102**, 19208. (b) N. Lenard, D. Daniels, P. Portoghese, S. Roerig, *Eur. J. Pharmacol.*, 2007, **566**, 75. (c) M. Aceto, L. Harris, S. Negus, M. Banks, L. Hughes, E. Akgun, P. Portoghese, *Int. J. Med. Chem.*, 2012, ID 327257, 6 pages. (d) A. Yekkirala, A. Kalyuzhny, P. Portoghese, *ACS Chem. Biol.*, 2013, **8**, 1412.
- [33] J. Harvey, D. Long, P. England, J. Whistler, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2012, **3**, 640.
- [34] M. Giudice, A. Borioni, G. Bastanzio, M. Sbraccia, C. Mustazza, I. Sestili, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 1207.
- [35] A. Lipkowski, S. Tam, P. Portoghese, *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 1222.
- [36] P. Portoghese, D. Larson, G. Ronsisvalle, P. Schiller, T. Nguyen, C. Lemieux, A. Takemori, *J. Med. Chem.*, 1987, **30**, 1991.
- [37] J. Neumeyer, X. Peng, B. Knapp, J. Bidlack, L. Lazarus, S. Salvadori, C. Trapella, G. Balboni, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 5640.
- [38] Y. Lee, J. Nyberg, S. Moye, R. Agnes, P. Davis, S. Ma, J. Lai, F. Porreca, R. Vardanyan, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 2161.

- [39] (a) Lee Y., R. Petrov, C. Park, S. Ma, P. Davis, J. Lai, F. Porreca, R. Vardanyan, V. Hruby, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 5528. (b) Y. Lee, V. Kulkarani, S. Cowell, S. Ma, P. Davis, K. Hanlon, T. Vanderah, J. Lai, F. Porreca, R. Vardanyan, V. Hruby, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 382.
- [40] (a) R. Petrov, R. Vardanyan, Y. Lee, S. Ma, P. Davis, L. Begay, J. Lai, F. Porreca, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 4946. (b) R. Petrov, Y. Lee, R. Vardanyan, L. Liu, S. Ma, P. Davis, J. Lai, F. Porreca, T. Vanderah, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**, 3434.
- [41] (a) A. Lipkowski, A. Konecka, I. Sroczyńska, *Peptides*, 1982, **3**, 697. (b) F. Feliciani, F. Pinnen, A. Stefanucci, R. Costante, I. Cacciatore, G. Lucente, A. Mollica, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2013, **13**, 11.
- [42] (a) B. Silbert, A. Lipkowski, M. Cepeda, S. Szyfelbein, P. Osgood, D. Carr, *Agents Actions*, 1991, **33**, 382. (b) P. Horan, A. Mattie, E. Bilsky, S. Weber, T. Davis, H. Yamamura, E. Malatynska, S. Appleyard, J. Slaninova, A. Misicka, A. Lipkowski, V. Hruby, F. Porreca, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1993, **265**, 1446.
- [43] M. Yamazaki, T. Suzuki, M. Narita, A. Lipkowski, *Life Sci.*, 2001, **69**, 1023.
- [44] (a) A. Lipkowski, A. Konecka, I. Sroczyńska, R. Przewłocki, L. Stala, S. Tam, *Life Sci.*, 1987, **40**, 2283. (b) A. Misicka, A. Lipkowski, R. Horvath, P. Davis, T. Kramer, H. Yamamura, V. Hruby, *Life Sci.*, 1992, **51**, 1025.
- [45] A. Misicka, A. Lipkowski, R. Horvath, P. Davis, F. Porreca, H. Yamamura, V. Hruby, *Life Sci.*, 1997, **60**, 1263.
- [46] G. Li, W. Haq, L. Xiang, B. Lou, R. Hughes, I. Leon, P. Davis, T. Gillespie, M. Romanowski, X. Zhu, A. Misicka, A. Lipkowski, F. Porreca, T. Davis, H. Yamamura, D. O'Brien, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem.*, 1998, **8**, 555.
- [47] (a) A. Lipkowski, A. Misicka, P. Davis, D. Stropova, J. Janders, M. Lachwa, F. Porreca, H. Yamamura, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1999, **9**, 2763. (b) A. Lipkowski, A. Misicka, D. Kosson, P. Kosson, M. Lachwa-From, A. Brodzik-Bienkowska, V. Hruby, *Life Sci.*, 2002, **70**, 893.
- [48] A. Mollica, P. Davis, S. Ma, F. Porreca, J. Lai, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 367.
- [49] (a) A. Mollica, F. Pinnen, R. Costante, M. Locatelli, A. Stefanucci, S. Pieretti, P. Davis, J. Lai, D. Rankin, F. Porreca, V. Hruby, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 3419. (b) O. Frączak, A. Lasota, D. Podwysocka, A. Olma, A. Leśniak, A. Lipkowski. Dostępny w Internecie: [http://21pps.umb.edu.pl/conference\\_book\\_suprasl\\_2011.pdf](http://21pps.umb.edu.pl/conference_book_suprasl_2011.pdf).
- [50] J. Stepinski, I. Zajaczkowski, D. Kazem-Bek, A. Temeriusz, A. Lipkowski, S. Tam, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1991, **38**, 588.
- [51] A. Mollica, P. Davis, S. Ma, J. Lai, F. Porreca, V. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 2471.
- [52] A. Mollica, F. Pinnen, F. Feliciani, F. Stefanucci, G. Lucente, P. Davis, F. Porreca, S. Ma, J. Lai, V. Hruby, *Amino Acids*, 2011, **40**, 1503.
- [53] (a) S. Leone, A. Chiavaroli, G. Orlando, A. Mollica, C. Nisio, L. Brunetti, M. Vacca, *Eur. J. Pharmacol.*, 2012, **685**, 70. (b) A. Mollica, R. Costante, A. Stefanucci, F. Pinnen, G. Lucente, S. Fidanzad, S. Pieretti, *J. Pept. Sci.*, 2013, **19**, 233.
- [54] L. Lazarus, A. Guglietta, W. Wilson, B. Irons, R. Castiglione, *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**, 354.
- [55] (a) Y. Jinsmaa, A. Miyazaki, Y. Fujita, T. Li, Y. Fujisawa, K. Shiotani, Y. Tsuda, T. Yokoi, A. Ambo, Y. Sasaki, S. Bryant, L. Lazarus, Y. Okada, *J. Med. Chem.*, 2004, **47**, 2599. (b) T. Li, Y. Fujita, K. Shiotani, A. Miyazaki, Y. Tsuda, A. Ambo, Y. Sasaki, Y. Jinsmaa, E. Marczak, S. Bryant, S. Salvadori, L. Lazarus, Y. Okada, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 8035.

