



## SYNTHESE ET PROFIL PHARMACOLOGIQUE DE NOUVEAUX LIGANDS NICOTINIQUES♦

Yves Charton<sup>1</sup>, Claude Guillonnet<sup>1</sup>, Brian Lockhart<sup>2</sup>,  
Pierre Lestage<sup>2</sup>, Solo Goldstein<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut de Recherches Servier, Division de Chimie A,  
11 rue des Moulineaux, 92150 Suresnes, France*

<sup>2</sup>*Institut de Recherches Servier, Division de Pathologie Cérébrale,  
125 chemin de Ronde, 78290 Croissy-Sur-Seine, France*

**Abstract:** Different studies proofed that nicotine is able to improve cognition performances, both to humans and animals [1]. In a previous study [6] we have demonstrated that S35836-1, a carbamate analogue of acetylcholine, is a specific ligand of nicotinic neural receptors of acetylcholine (nAChRs), with influence in Alzheimer and Parkinson diseases. The present paper presents new synthesis schemes of receptors with restricted conformational mobility.

**Keywords:** *acetylcholine, neural receptors, Alzheimer, Parkinson, muscarinik receptors, nicotinic receptors*

### INTRODUCTION

Différentes études ont montré que la nicotine était susceptible d'améliorer les performances cognitives chez l'homme et chez l'animal [1]. Une diminution du nombre

---

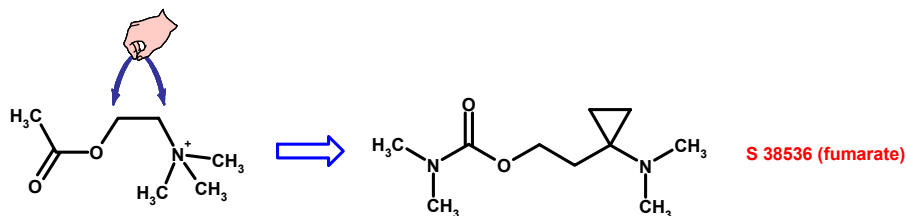
♦ Paper presented at **COFrRoCA 2006: Quatrième Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée**, 28 June – 2 July, Clermont-Ferrand, France

de récepteurs nicotiniques neuronaux à l'acétylcholine (nAChRs) a été observée dans des maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. L'implication de différents sous-types de récepteurs nicotiniques dans les pathologies cérébrales et leur intérêt comme cible pharmacologique a donc fait l'objet d'une attention particulière [2] ; il a été ainsi montré que le sous-type de récepteurs  $\alpha 4\beta 2$  est le plus abondant des nAChRs de haute affinité présents au niveau cérébral chez les mammifères.

L'utilisation clinique de ligands nicotiniques comme agents thérapeutiques est cependant sévèrement limitée par des effets secondaires cardiovasculaires et neuromusculaires résultants principalement d'une activation non-sélective de différents nAChRs. Néanmoins, un ligand sélectif pour un sous-type de nAChR, possédant des effets bénéfiques sur la cognition, mais dépourvu d'effets secondaires semblables à ceux associés à la nicotine, pourrait s'avérer d'une grande valeur thérapeutique pour le traitement des troubles cognitifs liés à l'âge ou dans le traitement des maladies d'Alzheimer et de Parkinson [3, 4].

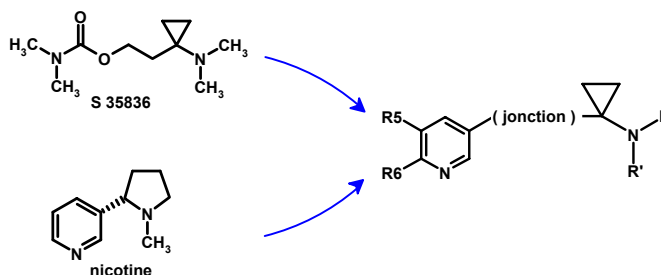
Afin d'obtenir de nouveaux ligands spécifiques et sélectifs des nAChRs, nous nous sommes intéressés à la conception et à la synthèse de composés incluant, à la fois des éléments structuraux de l'acétylcholine et de la nicotine, et caractérisés par une mobilité conformationnelle restreinte [5].

Nous avons démontré dans une précédente étude que le S 35836-1, un analogue carbamate de l'acétylcholine possédant une mobilité conformationnelle restreinte induite par un cycle cyclopropane (Figure 1), est un ligand spécifique des nAChRs vis-à-vis des récepteurs muscariniques et aussi un ligand spécifique des nAChRs non- $\alpha 7$  [6].



**Figure 1.** Mobilité conformationnelle restreinte induite par un cycle cyclopropane

Lors de la conception de cette nouvelle série de composés, la chaîne conformationnellement restreinte du S 35836-1 (analogue de l'acétylcholine) a été associée avec le noyau pyridine de la nicotine (Figure 2).



**Figure 2.**

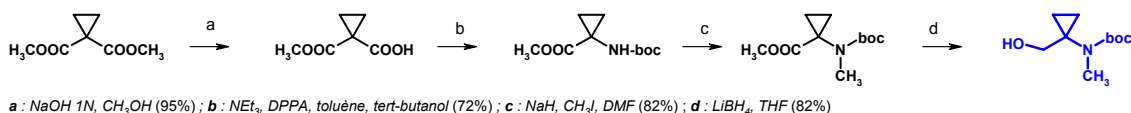
Des études de liaison aux récepteurs cholinergiques ont été réalisées sur membranes de rat et montrent que la plupart de ces nouvelles molécules sont des ligands spécifiques pour le récepteur  $\alpha 4\beta 2$  nicotinique par rapport aux récepteurs muscariniques<sup>1</sup> et au récepteur  $\alpha 7$  nicotinique<sup>2</sup>.

Dans cet article, les schémas de synthèses de ces nouveaux composés et les résultats des études de liaison aux récepteurs cholinergiques les concernant sont présentés et commentés.

## CHIMIE

La plupart des composés décrits dans cet article ont pour intermédiaire commun un alcool unique. Cet alcool a été obtenu à partir du diester méthylique de l'acide cyclopropane-1,1-dicarboxylique commercial, par une synthèse en quatre étapes incluant une réaction de Curtius et une réduction sélective d'une fonction ester (Schéma 1).

### Synthèse de l'intermédiaire alcool



**Schéma 1.**

Sept jonctions différentes entre le cycle cyclopropane et le noyau pyridyle et quatorze composés N-monométhylés différents ont été synthétisés à partir de cet intermédiaire-clé (Schéma 2).

Des composés N-diméthylés ont été synthétisés à partir des dérivés N-méthylés via une réaction de Eischweiler-Clark (Schéma 3). Les composés non méthylés ont été obtenus en quatre étapes à partir d'un carbamate précurseur de l'intermédiaire alcool (Schéma 4).

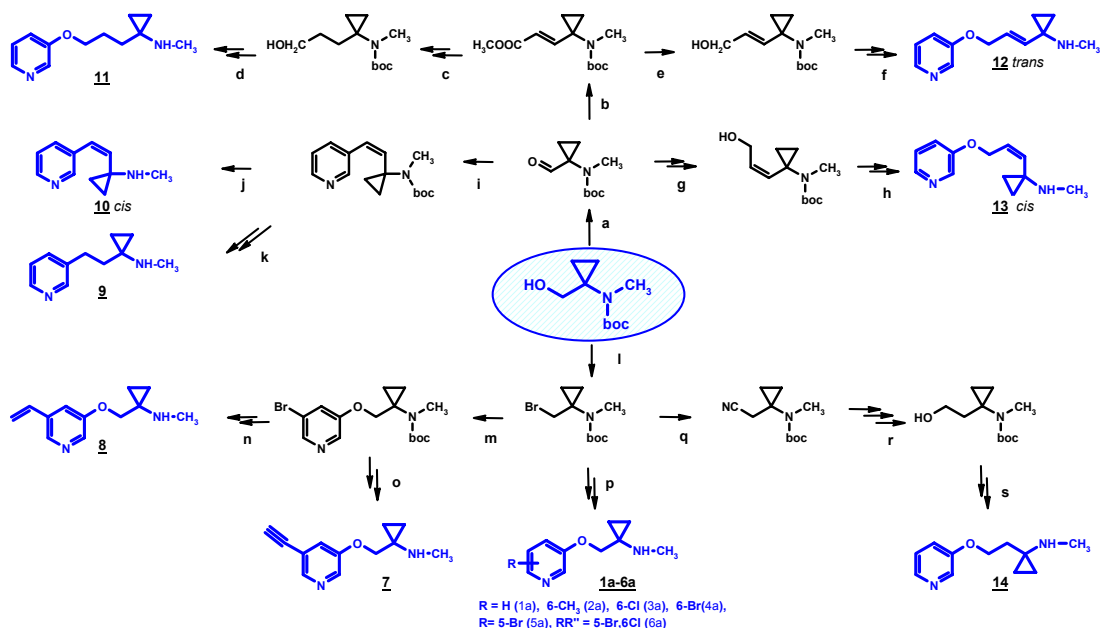
## PHARMACOLOGIE

L'influence sur l'affinité pour les récepteurs cholinergiques, de la nature de la jonction entre le cycle cyclopropane et le reste pyridyle et l'influence des variations des substitutions du groupe amino et du cycle pyridine ont été étudiées. Ces résultats sont présentés dans les tableaux 1 à 4.

<sup>1</sup> Ki (M<sub>2</sub>/M<sub>4</sub>) [<sup>3</sup>H]-oxotremorine-M, cerveau de rat ;

<sup>2</sup> Ki  $\alpha 4\beta 2$ , [<sup>3</sup>H]-cytisine, cerveau de rat ; Ki  $\alpha 7$ , [<sup>128</sup>I]- $\alpha$ -bungarotoxin, cerveau de rat ;

## Synthèse des composés N-monométhylés



a : ClCOCOCI, DMSO, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (87%); b : Ph<sub>3</sub>P=CHCOOEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (trans/cis >90/10) (95%); c : H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOH (90%) puis LiBH<sub>4</sub>/THF (97%); d : 3-hydroxypyridine, résine Ph<sub>3</sub>P-PS, DIAD, THF (75%) puis HCl/dioxanne et acide fumarique, EtOH (60%); e : dibal/hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (65%); f : 3-hydroxypyridine, résine Ph<sub>3</sub>P-PS, DIAD, THF (40%) puis HCl/dioxanne (50%); g : (PhO)<sub>2</sub>POCH<sub>2</sub>COOtBu, triton B, THF (75%) puis dibal/hexane (45%); h : 3-hydroxypyridine, résine Ph<sub>3</sub>P-PS, DIAD, THF (45%) puis HCl/dioxanne (40%); i : 3-(Ph<sub>3</sub>P<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>)-pyridine, Cl<sup>-</sup>, tBuOK, DMSO (55%); j : HCl/dioxanne puis acide fumarique, EtOH (50%); k : H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH (90%) puis HCl/dioxanne (95%); l : CBr<sub>4</sub>, PPh<sub>3</sub>, éther (95%); m : 3,5-diBr-pyridine, HNa, DMSO (81%); n : Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>C=CHSnBu<sub>3</sub>, toluène (80%) puis HCl/dioxanne (65%); o : Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SiCCH, Et<sub>3</sub>N, CuI (78%) puis TBAF, THF et HCl/dioxanne (80%); p : 3-hydroxypyridine substituée en position 5 ou 6, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, butanone (70-90%) puis HCl/EtOH (60-85%); q : KCN, KI, DMSO (95%); r : HCl/MeOH (73%) puis Boc<sub>2</sub>O, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (90%) et LiBH<sub>4</sub>/THF (84%); s : 3-hydroxypyridine, Ph<sub>3</sub>P, DIAD, THF (70%) puis HCl/dioxanne et acide fumarique, EtOH (80%)

Schéma 2.

## Synthèse de composés N-diméthylés

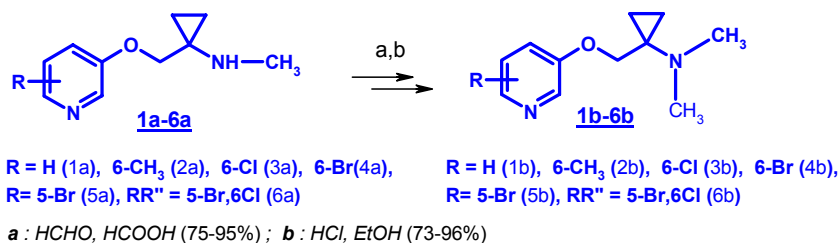
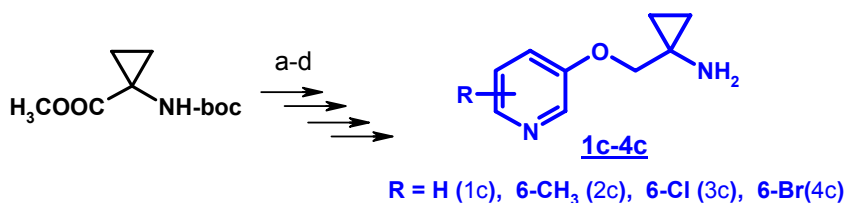


Schéma 3.

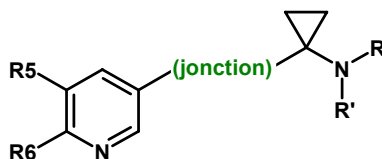
## Synthèse des composés non-méthylés



a : LiBH<sub>4</sub>, THF (95%); b : CBr<sub>4</sub>, Ph<sub>3</sub>P, éther (65%); c : 3-hydroxypyridine substituée en position 6, HNa, DMSO (45-65 %); d : HCl/dioxanne (75-85%)

Schéma 4.

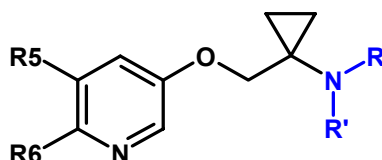
Tableau 1. Variation de la jonction



Composé	Sel	Jonction	N-RR'	R <sub>5</sub> , R <sub>6</sub>	Récepteurs nicotiniques		Récepteurs muscariniques M2/M4 (Ki, nM)
					α4β2 (Ki, nM)	α7 (Ki, nM)	
<b>1a</b>	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	H	<b>3</b>	> 10000	> 10000
9	HCl	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	H	251	1910	> 10000
10	Fumarate	CH=CH	CH <sub>3</sub> -NH	H	1160	3460	> 10000
11	Fumarate	O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	H	2460	> 10000	> 10000
12	HCl	O-CH <sub>2</sub> -CH=CH <i>trans</i>	CH <sub>3</sub> -NH	H	1100	> 10000	> 10000
13	HCl	O-CH <sub>2</sub> -CH=CH <i>cis</i>	CH <sub>3</sub> -NH	H	2280	> 10000	> 10000
14	Fumarate	O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	H	109	> 10000	> 10000
Ach	-	-	-	-	39	3509	85
Nicotine	-	-	-	-	4	1500	> 10000

- Tous les composés sont des ligands spécifiques pour α4β2 nAChR VS les récepteurs muscariniques.
- Tous les composés à jonction éther sont spécifiques pour α4β2 nAChR VS α7 nAChR.
- Les composés à jonction carbonés **9** et **10** sont sélectifs pour α4β2 nAChR VS α7 nAChR.
- Pour les jonctions de deux atomes de longueur, une affinité meilleure pour α4β2 nAChR est observée pour l'éther **1a** VS les composés carbonés **9** et **10**.
- Plus la longueur de la jonction éther est courte plus l'affinité pour α4β2 nAChR est bonne.

Tableau 2. Variation de la substitution de l'amine

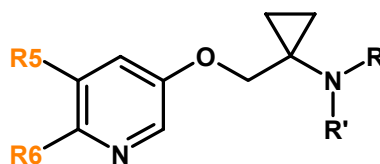


Composé *	Sel	Jonction	N-RR'	R <sub>5</sub> , R <sub>6</sub>	Récepteurs nicotiniques		Récepteurs muscariniques M2/M4 (Ki, nM)
					α4β2 (Ki, nM)	α7 (Ki, nM)	
<b>1a</b>	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	H	<b>3</b>	> 10000	> 10000
1b	HCl	O-CH <sub>2</sub>	N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	95	> 10000	> 10000
1c	HCl	O-CH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H	34	> 10000	> 10000
15	HCl	O-CH <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -NH	H	1010	> 10000	> 10000
16	Fumarate	O-CH <sub>2</sub>	N-pyrrolidine	H	1610	> 10000	> 10000
Ach	-	-	-	-	39	3509	85
Nicotine	-	-	-	-	4	1500	> 10000

\* synthèse des composés 15 et 16 non présentée

- Tous les composés sont des ligands spécifiques pour α4β2 nAChR VS α7 nAChR et les récepteurs muscariniques.
- La meilleure affinité pour α4β2 nAChR est observée pour le composé monométhylé **1a**.
- Pour les amines secondaires et tertiaires, l'encombrement stérique est défavorable vis-à-vis de l'affinité pour α4β2 nAChR (**1a** VS **15**, **1b** VS **16**).

Tableau 3. Variation de la substitution de la pyridine

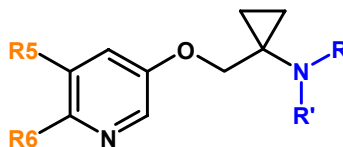


Composé *	Sel	Jonction	N-RR'	R <sub>5</sub> , R <sub>6</sub>	Récepteurs nicotiniques		Récepteurs muscariniques M2/M4 (Ki, nM)
					α4β2 (Ki, nM)	α7 (Ki, nM)	
1a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6H	3	> 10000	> 10000
2a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6-CH <sub>3</sub>	40	> 10000	> 10000
3a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5H, 6-Cl	13	> 10000	> 10000
4a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5H, 6-Br	38,8	> 10000	> 10000
5a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-Br, 6H	1,07	> 10000	> 10000
6a	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-Br, 6-Cl	5,37	> 10000	> 10000
7	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-ethyny, 6-H	6,56	> 10000	> 10000
8	HCl	O-CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -NH	5-vinyl, 6-H	70,1	> 10000	179
Ach	-	-	-	-	39	3509	85
Nicotine	-	-	-	-	4	1500	> 10000

-L'éther **8**, dérivé de la 5-vinyl-pyridine, est le seul composé de cette étude possédant une affinité pour les récepteurs muscariniques, tous les autres composés sont des ligands spécifiques pour α4β2 nAChR VS α7 nAChR et les récepteurs muscariniques.

- De bonnes à excellentes affinités pour α4β2 nAChR sont observées pour tous les composés.

Tableau 4. Substitution de la pyridine VS substitution de l'amine



Composé	Sel	N-RR'	R <sub>5</sub> , R <sub>6</sub>	Récepteur nicotinique α4β2 Ki (nM)
1a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6-H	3
1b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-H, 6-H	95
1c	HCl	NH <sub>2</sub>	5-H, 6-H	34
2a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6-CH <sub>3</sub>	40
2b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-H, 6-CH <sub>3</sub>	1090
2c	HCl	NH <sub>2</sub>	5-H, 6-CH <sub>3</sub>	266
3a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6-Cl	13
3b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-H, 6-Cl	304
3c	HCl	NH <sub>2</sub>	5-H, 6-Cl	98
4a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-H, 6-Br	38.8
4b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-H, 6-Br	394
5a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-Br, 6-H	1,07
5b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-Br, 6-H	273
6a	HCl	CH <sub>3</sub> -NH	5-Br, 6-Cl	5,37
6b	HCl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5-Br, 6-Cl	110

- Affinité pour  $\alpha 4\beta 2$  nAChR :  $\text{NH-CH}_3 > \text{NH}_2 > \text{N(CH}_3)_2$
- $\text{N(CH}_3)_2$  VS  $\text{NHCH}_3 \approx$  diminution de 10-100 fois pour affinité vis-à-vis  $\alpha 4\beta 2$  nAChR

## DISCUSSION

Lors de ces travaux, de nouveaux ligands nicotiniques puissants et sélectifs  $\alpha 4\beta 2$  nAChR ont été obtenus par la combinaison d'éléments structuraux de l'acétylcholine et de la nicotine et la restriction de la mobilité conformationnelle induite par un cycle cyclopropane.

Pour la plupart des composés synthétisés aucune affinité pour les récepteurs muscariniques n'a été observée. La plupart des composés synthétisés sont des ligands spécifiques pour  $\alpha 4\beta 2$  nAChR VS  $\alpha 7$  nAChR.

L'affinité de ces ligands  $\alpha 4\beta 2$  nAChR est modulée principalement par la nature et la longueur de la jonction entre le noyau pyridyle et le cyclopropane ainsi que par le degré de substitution de l'amine. Les meilleures affinité pour  $\alpha 4\beta 2$  nAChR sont observées pour les composés N-monométhylés comportant une jonction oxyméthylène (éthers **1a-6a, 7**).

La substitution en position 5 ou 6 du noyau pyridine de l'éther **1a** conduit à des composés montrant de bonnes à excellentes affinités pour  $\alpha 4\beta 2$  nAChR. Une étude des paramètres ADME-TOX de ces composés devrait s'avérer utile afin de les différencier et d'aider à la sélection d'une molécule candidate à une évaluation pharmacologique plus poussée.

Une affinité  $\alpha 4\beta 2$  nAChR intermédiaire de celles observées pour les composés N-monométhylés **1a-3a** et les composés N-diméthylés **1b-3b** est observée pour les amines primaires **1c-3c**. Malgré un encombrement stérique plus faible, (facilité d'interaction de la tête amino avec le site de liaison du récepteur), l'affinité observée dans le cas des amines primaires **1c-3c** est donc inférieure à celle observée pour les amines secondaires **1a-3a**. Parmi les éléments pouvant être impliqués dans cette perte d'affinité, un ajustement moindre au niveau du site de fixation du récepteur  $\alpha 4\beta 2$  ainsi qu'une perte d'interaction hydrophobe (groupement méthyle manquant) pourraient être invoqués.

Les résultats d'études biologiques et comportementales en cours seront rapportés ultérieurement.

## EXPERIENCES DE LIAISON AUX RECEPTEURS CHOLINERGIQUES

Toutes les expériences sont réalisées dans un volume final de 250  $\mu\text{L}$  dans des plaques de 96 puits. Le marquage des récepteurs  $\alpha 7$  est effectué en incubant les membranes cellulaires de cerveau de rat (500  $\mu\text{g/mL}$ ) avec [ $^{125}\text{I}$ ]- $\alpha$ -BgTx (2 nM), 5 h à 37°C. La liaison non spécifique est déterminée par incubation des préparations de membranes

avec 1  $\mu\text{M}$   $\alpha\text{-BgTx}$ . Le marquage des récepteurs  $\alpha 4\beta 2$  est effectué en incubant les préparations de membranes (250  $\mu\text{g/mL}$ ) avec [ $^3\text{H}$ ]-cytisine, 2 h à température ambiante. La liaison non spécifique est déterminée par incubation des préparations de membranes avec 10  $\mu\text{M}$  (-)nicotine [7]. Le marquage des récepteurs muscariniques M2/M4 est effectué en incubant les préparations de membranes (250  $\mu\text{g/mL}$ ) avec [ $^3\text{H}$ ]-oxotremorine-M (2 nM), 2 h à température ambiante. La liaison non spécifique est déterminée par incubation des préparations de membranes avec 1  $\mu\text{M}$  atropine [8].

## REFERENCES

1. Newhouse, P.A., Potter, A., Lenox, R.H.: The effects of nicotinic agents on human condition : Possible therapeutic applications in Alzheimer's and Parkinson diseases, *Med. Chem. Res.*, **1993**, 2, 628-642
2. Holladay, M.W., Dart, M.J., Lynch, J.K.: Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as targets for drug discovery, *J. Med. Chem.*, **1997**, 40(26), 4169-4194
3. Armeric, S.P., Sullivan, J.P., Williams, M., Neuronal nicotinic acetylcholine receptors : Novel targets for CNS therapeutics, In: *Psychopharmacology the fourth generation of progress*, Bloom, F.E., Kupfer, J., Eds, Raven Press (NY) **1995**, 94-110
4. Rezvani, A.H., Levin, E.D.: Cognitive effects of nicotine, *Biol Psychiatry*, **2001**, 49, 258-267
5. Goldstein, S., Guillonneau, C., Charton, Y., Lockhart, B., Lestage, P.: 1,1 and 1,2-disubstituted cyclopropanes, process for their preparation and pharmaceutical compositions thereof. EP 117081 A1 ADIR et Compagnie, 92415 Courbevoie, France
6. Guillonneau, C., Charton, Y., Lockhart, B., Lestage, P., Goldstein, S. : Novel nicotinic ligands : design, synthesis and pharmacological characterization, *Drugs Fut*, **2002**, 27, (Suppl. A), 259 : XVII<sup>th</sup> Int. Symp. on Medicinal Chemistry.
7. Pabreza, L.A., Dhawan, S., Kellar, K.: [ $^3\text{H}$ ]-Cytisine binding to cholinergic receptors in brain, *Molec. Pharmacol*, **1990**, 39, 9-12
8. Lockhart, B., Closier, M., Howard, K., Stewart, C., Lestage, P.: Differential inhibition of [ $^3\text{H}$ ]-oxotremorine-M and [ $^3\text{H}$ ]-quinuclidinyl benzylate binding to muscarinic receptors in rat membranes with acetylcholinesterase inhibitors, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **2001**, 363, 429-438