

ANKSIOLITIKI

Anksioznost je občutek tesnobe zaradi zaskrbljenega pričakovanja. V razumnih mejah in ob pravem času je zaskrbljenost koristna in povsem normalno počutje (npr. pred izpiti študenta pripravi k študiju). Preveč dolgotrajne zaskrbljenosti pa je obremenjujoče. O patološki anksioznosti govorimo, ko je povsem neprimerna glede na dano situacijo ali pa je odziv na situacijo pretiran. Primer prve so nočni napadi panike – epizode skrajne anksioznosti, ki se pojavijo v enem od fiziološko najbolj mirnih delov dneva – v III. in IV. fazi spanja. Primer druge pa so specifične fobije – na primer nerazumni strah pred tveganjem zunaj posameznikovega doma.

V patofiziologijo anksioznosti je vpletenih veliko nevrottransmitorjev (GABA, noradrenalin, serotonin), nevromodulatorjev (npr. adenzin) in neuropeptidov (npr. holecistokinin, neuropeptid Y) preko zapletenih anatomskih in funkcijskih medsebojnih povezav. Stimulacija *locusa ceruleusa*, ki vsebuje celična telesa nevronov, katerih aksoni vsebujejo noradrenalin, povzroči agitacijo in strah pri laboratorijskih živalih. Benzodiazepini vplivajo na sproščanje noradrenalina preko stimulacije inhibitornih GABA receptorjev, ki se nahajajo na noradrenergičnih nevronih.

γ -Aminobutirna kislina (GABA) je najpogostejši inhibitorni nevrottransmitor v centralnem živčnem sistemu, saj se nahaja v približno eni tretjini vseh sinaps. Prevladujoča sta dva razreda GABA receptorjev: ionotropni GABA_A in metabotropni GABA_B. Obstaja tudi GABA_C ionotropni receptor, ki aktivira kloridni kanal, podobno kot GABA_A in naj bi bil vpleten v kognitivne in spominske funkcije CŽS.

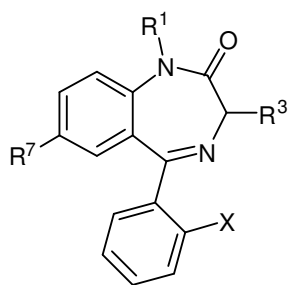
GABA_A receptor sestavlja pet podenot, ki so razporejene okoli centralnega ionskega kanala za Cl⁻. Na ekscitacelnarni N-terminalni regiji GABA_A so vezavna mesta za številne učinkovine: barbiturate, benzodiazepine, nevrosteroidne itd. Benzodiazepini se vežejo na benzodiazepinski receptor (BZR), ki ga glede na afinineto in učinek določata α in γ podenota. **Agonisti** ob vezavi na BZR ojačijo vezavo in delovanje GABA tako, da povečajo prevodnost kloridnih kanalov in posledično ojačijo fiziološke učinke GABA (npr. sedacija in antikonvulzivno delovanje). **Inverzni agonisti** se vežejo na BZR na GABA_A receptorskem kompleksu in zmanjšajo nevrofiziološko aktivnost GABA (zmanjša je prevodnost kloridnega kanala), kar privede do učinkov, ki so nasprotni fiziološkemu učinku GABA (npr. anksiozenza, prokonvulzivno delovanje). **Antagonisti** BZR zasedejo receptor brez intrinzične aktivnosti - ne vplivajo na vezavo in učinke GABA, vendar izpodrinejo morebitno vezan benzodiazepin. Flumazenil je primer antagonista BZR v klinični rabi, ki se uporablja pri predoziranju benzodiazepinov. BZR na GABA_A receptorskem kompleksu kaže na morebiten obstoj endogenih ligandov. Anksioznost bi bila lahko posledica bodisi pomanjkanja endogenih agonistov, bodisi presežka endogenih antagonistov ali inverznih agonistov.

Benzodiazepini se vežejo na GABA_A receptorje in ostale tarčne makromolekule (kot npr. serotoninški nevroreceptorji). Klordiazepoksid je bil uveden v terapijo leta 1960 in je v primerjavi z barbiturati mnogo učinkovitejši in varnejši anksiolitik. Sledili so novi derivati, ki se med seboj razlikujejo v farmakokinetičnih lastnostih (hitrost in obseg absorpcije, metabolizem in lipofilnost). Benzodiazepini, ki se hitro absorbirajo, so lipofilni in brez aktivnih metabolitov, so bolj uporabni kot hipnotiki in manj za zdravljenje kroničnih anksioznih stanj. Na drugi strani pa so bolj učinkoviti anksiolitiki tisti analogi, ki se počasneje absorbirajo, tvorijo aktivne metabolite in so manj lipofilni.

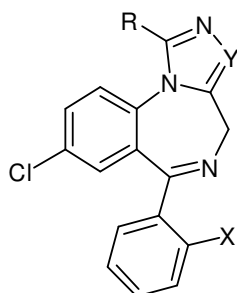
Ligandi BZR ne spremenijo neposredno transmembranske prevodnosti kloridnih ionov, ne glede na njihovo intrinzično aktivnost. BZR je alosterični modulator vezave GABA na GABA_A receptorski kompleks, ki tako posredno vpliva na prevodnost kloridnega kanala. V prisotnosti BZR agonistov ali delnih agonistov je v celoti ali deloma ojačana afiniteta vezave in učinek GABA na GABA_A receptorski kompleks, kar se odraža v povečani prevodnosti ionskega kanala za kloridne ione. Inverzni agonisti in delni inverzni agonisti pa zmanjšajo učinke GABA tako, da postane GABA_A receptorski kompleks manj občutljiv za vezavo GABA in posledično se zmanjša prevodnost za kloridne ione. Kompetitivni antagonisti BZR preprečijo dostop

Farmacevtska kemija III
Vaje in seminarji: Dodatne vsebine za razumevanje

agonistov do BZR, sami pa nimajo intrinzične aktivnosti, da bi vplivali na prevodnost ionskega kanala.



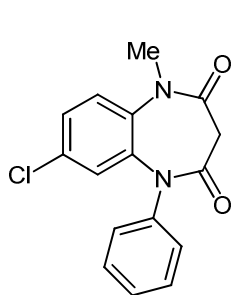
Ime	R ¹	R ³	R ⁷	X
klonazepam	H	H	NO ₂	Cl
klorazepat	H	COOK	Cl	H
diazepam	CH ₃	H	Cl	H
flurazepam	(CH ₂) ₂ NEt ₂	H	Cl	F
halazepam	CH ₂ CF ₃	H	Cl	H
lorazepam	H	OH	Cl	Cl
oksazepam	H	OH	Cl	H
temazepam	CH ₃	OH	Cl	H



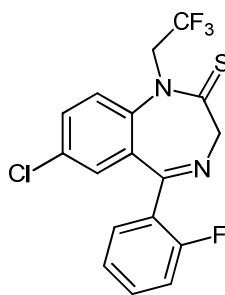
Ime	R	X	Y
alprazolam	CH ₃	H	N
estazolam	H	H	N
midazolam	CH ₃	F	CH
triazolam	CH ₃	Cl	N

Slika 15.1. Strukture benzodiazepinov I.: učinkovine v terapevtski rabi.

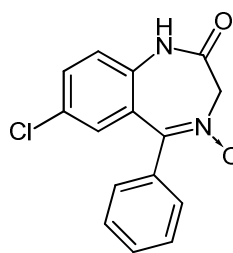
Povezavo med BZR in GABA_A receptorskim kompleksom lahko ponazorimo z modelom treh stanj. Model temelji na hipotezi, da se BZR in GABA_A receptor nahajata v treh spontano-oscilirajočih konformacijskih stanjih, ki jih funkcionalno opišemo kot »aktivno«, »nevtravno« ali »mirujoče« in »neaktivno«. Agonisti in delni agonisti se vežejo na BZR in stabilizirajo »aktivno« stanje z odprtim ionskim kanalom. Inverzni agonisti in delni inverzni agonisti se vežejo na »neaktivno« stanje in ga stabilizirajo, kar ohrani ionski kanal zaprt. Kompetitivni antagonisti BZR pa se enako dobro vežejo na obe stanji – »aktivno« in »neaktivno« (od tod »nevtravno« stanje) in ne povzročijo nobene konformacijske spremembe GABA_A.



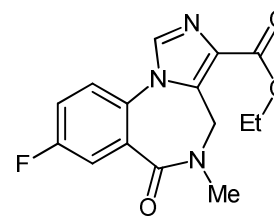
klobazam



kvazepam



demoksepam



flumazenil

Slika 15.2. Strukture benzodiazepinov II.: učinkovine v terapevtski rabi.

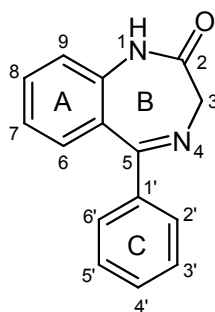
Odnos med strukturo in delovanjem

Iz različnih farmakoloških aktivnosti (agonist, antagonist, inverzni agonist) ligandov BZR lahko sklepamo na funkcijsko različna vezavna mesta na GABA_A receptorskem kompleksu. Strukturno podobni ligandi (benzodiazepini) izkazujejo paleto različnih učinkov; že majhne spremembe v kemijski strukturi liganda lahko spremenijo intrinzično aktivnost od agonista do antagonist in nadalje do inverznega agonista. Vsak funkcijski razred BZR ligandov lahko kompetitivno inhibira vezavo ligandov iz drugih dveh razredov, kakor tudi funkcijsko

Farmacevtska kemija III

Vaje in seminarji: Dodatne vsebine za razumevanje

antagonizira druga dva. Iz teh opažanj lahko sklepamo, da se vezavna mesta za funkcijsko različne BZR ligande prekrivajo.



Obroč A:

- Aromatski obroč (obroč A) tvori v π - π interakcije z aromatskimi ostanki aminokislin receptorja.
- Elektronegativna skupina (npr. halogen ali nitro) na mestu 7 znatno poveča funkcijsko anksiolitično aktivnost kljub temu, da učinki na vezavno afiniteto niso tako dramatični.
- Substituenti na mestih 6, 8 ali 9 na splošno zmanjšajo anksiolitično aktivnost.
- 1,4-Diazepinski derivati, pri katerih je obroč A nadomeščen s heterociklom, na splošno izkazujejo šibko vezavno afiniteto *in vitro* in še manjšo farmakološko aktivnost *in vivo* v primerjavi s fenil-substituiranimi analogi.

Obroč B:

- Optimalna afiniteta je dosežena, ko je proton-akceptorska skupina na mestu 2 obroča B (karbonilna skupina) koplanarna z aromatskim obročem A. Pri substituciji kisika z žveplom na mestu 2 (npr. pri kvazepamu) lahko dosežemo večjo selektivnost vezave na subpopulacijo GABA BZR, anksiolitična aktivnost pa je kljub temu ohranjena.
- Substitucija na metilenski skupini (mesto 3) ali na iminskem dušiku (mesto 4) je sterično neugodna za antagonistično aktivnost medtem ko na agonistično (tj. anksiolitično) aktivnost nima vpliva (npr. klobazam). 3-hidroksi derivati so po jakosti primerljivi z nehidroksiliranimi derivati in se hitreje izločajo. Prav tako je možna esterifikacija 3-hidroksi skupine brez izgube aktivnosti.
- Za *in vitro* vezavo na BZR ni potreben dušik na mestu 1 niti njegov substituent; mnoge učinkovine niso N-alkilirane. Kljub temu da tudi relativno dolge N-alkilne stranske verige znatno ne zmanjšajo BZR afinitete, pa sterično večji substituenti kot npr. terc-butil znatno zmanjšajo afiniteto do receptorja in *in vivo* aktivnost.
- Za *in vivo* anksiolitično aktivnost ni potreben dušik na mestu 4 niti 4,5-dvojna vez v obroču B kljub zmanjšani afiniteti do BZR *in vitro*. Predpostavljajo, da je *in vivo* aktivnost reduciranih derivatov posledica oksidacije amina nazaj do imina (C=N). N-oksido skupino na mestu 4 (klordiazepoksid) lahko odstranimo, ne da bi izgubili anksiolitično aktivnost.
- Dodaten elektron donorski (tj. proton akceptorski) obroč (triazol ali imidazol) prikondenziran na obroč B preko 1,2-vezi poveča afiniteto derivata do BZR.

Obroč C:

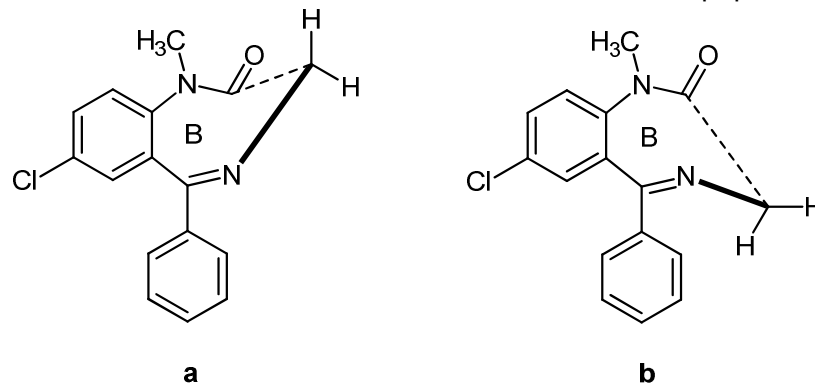
- Fenilni obroč C na mestu 5 doprinese k ugodnejšim hidrofobnim ali steričnim interakcijam ob vezavi na receptor. Substitucija obroča C na mestu 4' ni ugodna za aktivnost agonistov, medtem ko substitucija na mestu 2' ne moti. Iz navedenega sledi, da je omejitev na para mestu prej sterične in ne elektronske narave.

Stereokemijske lastnosti benzodiazepinov

Večina benzodiazepinov kot zdravilnih učinkovin nima kiralnega centra. 7-členski obroč B lahko zavzame eno od dveh možnih konformacij kadi (**a** in **b**), ki sta enatiomerni druga drugi (zrcalni sliki). Z NMR študijami so potrdili hiter prehod med eno in drugo konformacijsko obliko pri sobni temperaturi, kar otežuje napoved katera od konformacij se veže na BZR. Stereoselektivno delovanje benzodiazepinov so študirali z uvedbo metilne skupine na mesto

Farmacevtska kemija III
Vaje in seminarji: Dodatne vsebine za razumevanje

3 benzodiazepinske molekule. Iz *in vitro* vezavnih afinitet na BZR in *in vivo* anksiolitičnih aktivnosti številnih na mestu 3 metiliranih enantiomerov so aktivnost pripisali *S*-izomerom.



S-enantiomer 3-metildiazepam zavzame stabilnejšo konformacijo **a** za obroč B, medtem ko je za *R*-enantiomer stabilnejša konformacija **b**. Kljub dokazani enantioselektivnosti pri benzodiazepinih so 3-hidroksi derivati (npr. lorazepam in oksazepam) običajno dostopni le kot racemne zmesi.

LITERATURA:

1. Lemke, T. L.; Williams, D. A. Foye's principles of medicinal chemistry. 6. ed.; Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer; 2008, 615-624.
2. <http://en.wikipedia.org/wiki/Benzodiazepine>.
3. <http://en.wikipedia.org/wiki/Diazepam>.