

Kurzzusammenfassung

Zur Entwicklung neuer, zum hochaffinen und selektiven Adenosin A₁-Rezeptorantagonisten 8-Cyclopentyl-3-(3-[¹⁸F]fluorpropyl)-1-propylxanthin ([¹⁸F]CPFPX) analoger Radioliganden mit verbesserten metabolischen Eigenschaften für die molekulare Bildgebung mittels Positronen-Emissions-Tomographie wurden zunächst die Affinitäten unterschiedlicher im Haus dargestellter Xanthinderivate zum A₁-Adenosinrezeptor untersucht, um Zusammenhänge zwischen den Molekülstrukturen sowie den Bindungseigenschaften zu erkennen.

Auf dieser Grundlage und aus Ergebnissen vorheriger im Haus durchgeführter Metabolismusstudien, in der Literatur beschriebenen Eigenschaften sowie der computergestützten Bestimmung von Lipophilieparametern verschiedener Xanthinderivate wurden neue Verbindungen als möglichst metabolisch stabilere Liganden des A₁-Adenosinrezeptors konzipiert. Aus diesen gingen das 8-Cyclobutyl-1-cyclopropylmethyl-3-(3-fluorpropyl)xanthin (CBCPM) und das 1-Cyclopropylmethyl-3-(3-fluorpropyl)-8-(1-methylcyclobutyl)xanthin (CPMMCB) als vielversprechendste hervor.

Die nicht radioaktiven Zielverbindungen sowie ihre Mesylatvorläuferverbindungen für Radiofluorierungen konnten erfolgreich synthetisiert werden. Die Radiosynthesen erfolgten ausgehend von trägerarmem [¹⁸F]Fluorid durch nukleophile Substitution und anschließende Entschützung der Markierungsprodukte. Die Darstellung und Isolierung der radioaktiv markierten Produkte gelang mit einer radiochemischen Ausbeute (RCA) von $21,3 \pm 3,8 \%$ und einer molaren Aktivität von $12,3 \pm 0,2 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($0,33 \pm 0,01 \text{ Ci}/\mu\text{mol}$) im Fall des [¹⁸F]CBCPM, sowie mit $14,4 \pm 2,5 \%$ RCA und einer molaren Aktivität von $36,5 \pm 1,2 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($0,99 \pm 0,03 \text{ Ci}/\mu\text{mol}$) beim [¹⁸F]CPMMCB.

Beide Verbindungen weisen hohe Affinitäten zum Adenosin A₁-Rezeptor auf, welche durch *in vitro* Konkurrenzexperimente bestimmt wurden. Die entsprechenden Bindungsdissoziationskonstanten betragen $K_i = 10,1 \text{ nM}$ (CBCMP) und $K_i = 15,5 \text{ nM}$ (CPMMCB), wobei der K_i -Wert des etablierten CPFPX als Referenzverbindung in dieser Versuchsreihe $15,1 \text{ nM}$ betrug. Autoradiographische Untersuchungen der radiofluorierten Xanthinderivate bestätigten ebenfalls hohe Affinitäten sowie hohe Selektivitäten zum gewünschten Rezeptor. Die spezifischen Bindungen lagen bei $86,8 \%$ für [¹⁸F]CBCPM bzw. $84,8 \%$ für [¹⁸F]CPMMCB. Beide nicht radiofluorierten Verbindungen zeigten bei *in vitro* Studien einen deutlich langsameren Metabolismus durch humane Lebermikrosomen als das CPFPX.

So ist es gelungen, mit [¹⁸F]CBCPM und [¹⁸F]CPMMCB zwei neue, hochaffine und selektive Xanthinderivate als potentielle Radioliganden des Adenosin A₁-Rezeptors darzustellen. Der langsamere Abbau der Liganden bei *in vitro* Metabolismusstudien begründet die Annahme einer auch deutlich größeren *in vivo* Stabilität und damit verbunden einer angestrebten längeren biologischen Halbwertszeit.

Abstract

For the development of new analogues of the highly affine and selective radioligand 8-cyclopentyl-3-(3-[¹⁸F]fluoropropyl)-1-propylxanthine ([¹⁸F]CPFPX) for the adenosine A₁ receptor with improved metabolic stability for molecular imaging by positron-emission-tomography the affinities of different in-house synthesized xanthine derivatives to the adenosine A₁ receptor were investigated, in order to reveal relationships between molecular structure and binding properties of these ligands.

Based on these studies, on the results of earlier studies on metabolism in-house, known biological properties as well as computed lipophilicity parameters of various xanthine derivatives, new compounds were designed as possible adenosine A₁ receptor ligands. From a series of xanthine derivatives 8-cyclobutyl-1-cyclopropylmethyl-3-(3-fluoropropyl)xanthine (CBCPM) and 1-cyclopropylmethyl-3-(3-fluoropropyl)-8-(1-methylcyclobutyl)xanthine (CPMMCB) emerged as the most suitable candidates.

The non-radioactive target compounds and corresponding mesylate precursors for radiofluorination could successfully be synthesized. The labelled products were obtained by nucleophilic substitution with no-carrier-added [¹⁸F]fluoride and subsequent deprotection. [¹⁸F]CBCPM was obtained and isolated in radiochemical yields of $21,3 \pm 3,8 \%$ and a molar activity of $12.3 \pm 0.2 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($0.33 \pm 0.01 \text{ Ci}/\mu\text{mol}$). In the case of [¹⁸F]CPMMCB, a radiochemical yield of $14.4 \pm 2.5 \%$ and a molar activity of $36.5 \pm 1.1 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($0.99 \pm 0.03 \text{ Ci}/\mu\text{mol}$) could be achieved.

In vitro competition assays revealed a high affinity to the adenosine A₁ receptor for both compounds. The inhibition constants were $K_i = 10.1 \text{ nM}$ (CBCMP) and $K_i = 15.5 \text{ nM}$ (CPMMCB), while the K_i value of the established CPFPX as reference compound in this test series was 15.1 nM . Autoradiographic studies confirmed the high affinity as well as high selectivity of the radiofluorinated compounds to the target receptor. The specific binding amounted to 86.8% for [¹⁸F]CBCPM and 84.8% for [¹⁸F]CPMMCB. In *in vitro* studies using human liver microsomes both new non labeled xanthine derivatives show a distinctly slower metabolism than CPFPX.

Thus, it was successful to develop [¹⁸F]CBMCP and [¹⁸F]CPMMCB as two new, highly affine and selective xanthine derivatives, potential radioligands for the adenosine A₁ receptor. The slower degradation of the ligands in *in vitro* studies supports reasonable presumptions of a significantly higher *in vivo* stability causing the aspired longer biological half-life.