

Kurzzusammenfassung

Der A_{2A} -Adenosin-Rezeptor ($A_{2A}AR$) spielt im Gehirn eine wichtige Rolle bei der Regulation von Glutamat und der Freisetzung von Dopamin. Neurodegenerative Erkrankungen wie die Parkinson-Krankheit weisen ein verändertes Expressionsprofil des $A_{2A}AR$ auf, welches mit Hilfe entsprechend sensitiver Radioliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) nachgewiesen werden kann. Daher war das Ziel der vorliegenden Arbeit die Entwicklung eines potenten, hochaffinen und selektiven $A_{2A}AR$ -Liganden, der mit [^{18}F]Fluorid markiert wurde.

Hierfür wurde eine Reihe von $A_{2A}AR$ -Antagonisten hergestellt, die als Leitstruktur eine Benzothiazolstruktur enthielten. Ausgehend von 4-Methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amin wurden acht verschiedene potentielle Liganden synthetisiert. Durch *in vitro* Experimente wurde ihre Affinität und Subtypselektivität für den $A_{2A}AR$ und den komplementären A_1 -Adenosinrezeptor (A_1AR) bestimmt. Diese Experimente zeigten, dass 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid den vielversprechendsten Kandidaten darstellte. In einem zweiten Schritt wurden verschiedene Radiofluorierungsvorläufer mit unterschiedlichen Abgangsgruppen an der primären Hydroxylfunktion (Mesylat, Tosylat, Nosylat) und verschiedenen Schutzgruppen an der tertiären Hydroxylfunktion (THP, Acetyl, Boc) und am Carboxamidstickstoff (POM, Boc) hergestellt.

Der Zielligand und die entsprechenden Vorläufer wurden in ausreichender Menge und Reinheit synthetisiert und durch entsprechende physikalisch-chemische Methoden charakterisiert. Bindungsstudien zeigten eine hohe Affinität von 4-(Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid zum $A_{2A}AR$ (K_i von 0,7 nM und 2,1 nM) in Kombination mit einer hohen Selektivität gegenüber dem A_1AR ($K_i \gg 1 \mu M$). Erste Radiofluorierungsexperimente zeigten eine Inkompatibilität gegenüber den eingesetzten Acetyl- und THP-Schutzgruppen und führten unter den basischen ^{18}F -Markierungsbedingungen zum Eliminierungsprodukt. Daher wurden verschiedene, alternative Schutzgruppenstrategien entwickelt, die sowohl den amidischen Stickstoff als auch die tertiäre Hydroxylfunktion einschlossen. Als zielführend erwies sich die Verwendung eines zyklischen Sulfits, das sowohl als Schutzgruppe als auch als Abgangsgruppe diente.

Über den zyklische Sulfitvorläufer wurde das gewünschte Produkt 4-([^{18}F]Fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidin-1-carboxamid nach Isolierung mittels HPLC in radiochemischen Ausbeuten von $7 \pm 3 \%$ erhalten. Erste pharmakologische Studien zeigten eine hochaffine und selektive Bindung des Liganden exklusiv im *Corpus Striatum* von Rattenhirnschnitten. Weitere *in vivo* Studien werden zeigen, ob dieser neue Ligand für die *in vivo* PET-Bildgebung geeignet ist.

Abstract

The A_{2A} adenosine receptor (A_{2A}AR) localized in the brain has important roles in the regulation of glutamate and dopamine release. In several brain disorders like Parkinson's disease the expression profile of A_{2A}AR is altered which can be sensitively detected with the aid of corresponding radioligands for the positron emission tomography (PET). Therefore, the aim of the present study was to develop a potent and selective A_{2A}AR ligand radiolabeled with no-carrier-added (n.c.a.) [¹⁸F]fluoride.

A series of A_{2A}AR antagonists containing the benzothiazole as lead structure were prepared for this project. Starting from 4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-amine, eight different potential radioligands were synthesized. In *in vitro* experiments the affinity and subtype selectivity of different ligands for the A_{2A}AR and the complementary A₁ adenosine receptor (A₁AR) were determined. These experiments showed that 4-(fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide represented the most promising candidate. In a second step, various labelling precursors bearing different leaving groups at the 1° hydroxyl function (mesylate, tosylate, nosylate), and different protecting groups at the 3° hydroxyl function (THP, acetyl, Boc), and at the carboxamide nitrogen (POM, Boc) were prepared.

The target ligand and the corresponding precursors were synthesized in sufficient amounts and purities and were characterized by appropriate physicochemical methods. Binding studies revealed a high affinity of 4-(fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide for the A_{2A}AR (K_i 0.7 nM and 2.1 nM) in combination with a high selectivity over the A₁AR (K_i >> 1 μM). First radiofluorination experiments revealed incompatibility of the acetyl and THP protecting groups to the basic labelling conditions and resulted in dehydration. Therefore, alternative protection group strategies were developed to overcome these obstacles. The use of cyclic sulfites proved to be successful and the product 4-([¹⁸F]fluormethyl)-4-hydroxy-N-(4-methoxy-7-morpholinobenzo[d]thiazol-2-yl)piperidine-1-carboxamide was obtained after HPLC separation in 7±3 % radiochemical yields. First autoradiographic studies showed a highly affine and selective binding exclusively at the striatum on rat brain slices with a low unspecific binding. Further *in vivo* studies will show, if this new ligand is suitable for *in vivo* PET-imaging.