

POTENTIELLE PET-LIGANDEN FÜR α 5-UNTEREINHEITEN ENTHALTENDE GABA_A REZEPTOREN: *in vitro* BINDUNG AN HETEROLOG EXPRIMIERTE GABA_A REZEPTORSUBTYPEN

Fabian Debus¹, Tanja Capito², Markus Piel², Frank Rösch² und Hartmut Lüddens¹
¹Klinik für Psychiatrie, ²Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Eigenschaften von fünf Substanzen mit einer potentiellen Selektivität für den α 5-Rezeptorsubtyp der GABA_A/Benzodiazepinrezeptoren (GBR) wurden *in vitro* auf ihre Verdrängungseigenschaften gegenüber [³H]Ro15-4513 als markiertem Liganden getestet. Dafür wurden α i β 3 γ 2 (i= 1-6) Untereinheitenkombinationen eingesetzt, die in HEK 293 Zellen heterolog exprimiert wurden. Alle Substanzen leiten sich von publizierten Substanzen ab (van Niel et al., 2005), die derart modifiziert wurden, dass sie für eine schnelle Einführung einer [¹⁸F]ethyl-Gruppe geeignet sind.

	K _i [nM]		
	TC07	TC08	TC10
α 1 β 3 γ 2	>1000	>1000	>1000
α 2 β 3 γ 2	198	>1000	>1000
α 3 β 3 γ 2	131	>1000	>1000
α 4 β 3 γ 2	334	506	>1000
α 5 β 3 γ 2	10	>1000	>1000
α 6 β 3 γ 2	>1000	>1000	>1000

Tabelle 1: K_i-Werte für TC07, TC08 und TC10 gegenüber [³H]Ro15-4513 an GBR der Untereinheitenkombinationen α i β 3 γ 2 (i= 1-6). Die K_i-Werte wurden aus den IC₅₀-Werten mit Hilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung (Cheng and Prusoff, 1973) berechnet.

	K _i [nM]	
	TC11	TC12
α 1 β 3 γ 2	>1000	>1000
α 2 β 3 γ 2	112	31
α 3 β 3 γ 2	335	56
α 4 β 3 γ 2	188	38
α 5 β 3 γ 2	17	3,9
α 6 β 3 γ 2	>1000	>1000

Tabelle 2: K_i-Werte für TC11 und TC12 gegenüber [³H]Ro15-4513 an GBR der Untereinheitenkombinationen α i β 3 γ 2 (i= 1-6). Die K_i-Werte wurden aus den IC₅₀-Werten mit Hilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung (Cheng and Prusoff, 1973) berechnet.

Die Substanzen TC08 und TC10 sind offensichtlich auf Grund ihrer geringen Affinität für den weiteren Einsatz uninteressant. TC12 weist zwar die höchste Affinität gegenüber α 5 β 3 γ 2-Rezeptoren auf, hat aber zu α 2 β 3 γ 2-Rezeptoren nur eine um den Faktor 8 verringerte Affinität, während TC07 das größte Differential zu allen anderen Rezeptorsubtypen aufzeigt. Diese Daten würden eine Präferenz für weitere Analysen in der Reihenfolge TC07-TC12-TC11 unterstützen.

Experimentelles:

Human Embryonic Kidney (HEK) 293-Zellen werden mit der Calciumphosphat-Methode (Chen and Okayama, 1987) transfiziert. Die eingesetzte DNA-Konzentration ist für jede Untereinheit optimiert (Lüddens and Korpi, 1997). Die Zellen werden abgerntet und eine grobe Membranfraktion hergestellt (Lüddens et al., 1994). Die Bestimmung der IC₅₀-Werte erfolgte mit > 7 Konzentrationen der TC-Substanzen in Gegenwart von 6 nM [³H]Ro15-4513 nach Inkubation für 60 min auf Eis mit nachfolgender Trennung von gebundenem und freiem Liganden über eine Glasfasermembran. Die verbleibende Radioaktivität wurde in einem Szintillationszähler bestimmt.

Literatur:

- Chen C, Okayama H (1987) High-efficiency transformation of mammalian cells by plasmid DNA. *Mol Cell Biol* 7:2745-2752.
- Cheng YC, Prusoff WH (1973) Relationship between the inhibitory constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (IC₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol* 22:3099-3108.
- Lüddens H, Korpi ER (1997) Methods for Transient Expression of Hetero-Oligomeric Ligand-Gated Ion Channels. In: *Methods in Molecular Biology* (Challiss RAJ, ed), pp 55-63. Totowa, NJ, USA: Humana Press Inc.
- Lüddens H, Seeburg PH, Korpi ER (1994) Impact of β and γ variants on ligand-binding properties of γ -aminobutyric acid type A receptors. *Mol Pharmacol* 45:810-814.
- van Niel MB, Wilson K, Adkins CH, Atack JR, Castro JL, Clarke DE, Fletcher S, Gerhard U, Mackey MM, Malpas S, Maubach K, Newman R, O'Connor D, Pillai GV, Simpson PB, Thomas SR, MacLeod AM (2005) A New Pyridazine Series of GABA_A α 5 Ligands. *J Med Chem* 48:6004-6011.