

Synthese fluorsubstituierter 5-(Pyrimidin-4-yl)-isooxazol-Derivate als potentielle Radioliganden für die PET

V. Kramer¹, V. Bockhardt², H. Lüddens², F. Rösch¹

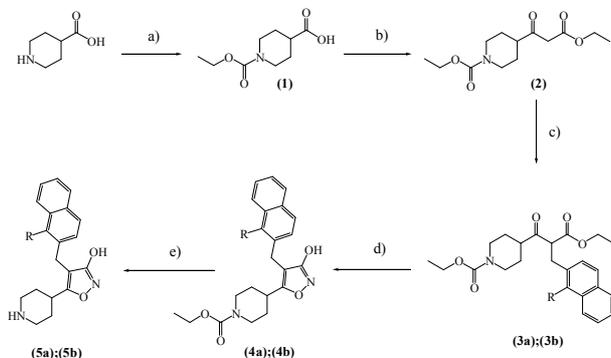
¹Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität, D-55128 Mainz, Germany;

²Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Unikliniken Mainz, Johannes Gutenberg-Universität, D-55128 Mainz, Germany

Einleitung: Die Positronen-Emissions-Tomographie spielt bei der Diagnose und Therapiekontrolle von neurodegenerativen und psychischen Erkrankungen eine wichtige Rolle. Hochaffine, kompetitive Rezeptorliganden sind zur Messung endogener Neurotransmitterkonzentrationen besonders wichtig, und wurden bereits für das serotonerge und dopaminerge Nervensystem beschrieben. Bis heute gibt es jedoch keine vergleichbaren Liganden für das GABA_A Nervensystem, was für die Behandlung von Erkrankungen wie Alzheimer, Epilepsie, Depressionen und Neurosen sowie zur Erforschung des ZNS besonders wichtig wäre.

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl neuer hochaffiner und kompetitiver Rezeptorliganden an den GABA_A-Rezeptor beschrieben, welche sich von der Grundstruktur des 4PIOLs ableiten^[1]. Ziel dieser Arbeit war es daher neue fluorierte 5-(Pyrimidin-4-yl)-isooxazol-Derivate als potentielle Radioliganden für die PET zu entwickeln.

Experimentelles: Die Synthese der Referenzverbindungen (**5a**) und (**5b**) wurde nach einer modifizierten Literatursynthese durchgeführt. Dazu wurde zunächst die Aminofunktion des Isonipicotats als Ethylcarbamat geschützt und anschließend die freie Säure mit DCC und Meldrums Säure in den β -Ketoester (**2**) überführt. Dieser wurde mit Natriumethanolat deprotoniert und mit den entsprechenden Alkylbromiden in α -Position alkyliert. Bildung des Amids mit Hydroxylamin bei -30 °C und anschließendes Erhitzen auf 80 °C in konz. Salzsäure ergab die entsprechenden Isooxazole (**4a**) und (**4b**). Durch Abspalten der Schutzgruppe in 48% HBr in Essigsäure wurden die Referenzverbindungen (**5a**) und (**5b**) erhalten (siehe Abb. 1).



a: R = Br

b: R = Fluorethoxy

Abbildung 1: Synthese der Referenzverbindungen: a) Ethylchloroformiat, Na₂CO₃, THF, 99%; b) DCC, DMAP, Meldrums Säure, 71%; c) NaOEt, EtOH, RBr, 56%; d) H₂NOH, NaOH, dann HCl konz., 40%; e) HBr/HOAc, 91%

Die *in vitro*-Affinitäten der neu synthetisierten Liganden wurden mittels eines „radioligand binding assays“ gegen [³H]Muscimol bestimmt. Dabei wurden sowohl Membranen von Hirnzelllysaten der Ratte, als auch GABA_A-Rezeptor exprimierende Zellen verwendet.

Als Maß für die Lipophilie wurden die Log P-Werte mittels HPLC und Sörensenpuffer als Laufmittel bestimmt.

Ergebnisse: Die Synthese der Referenzverbindungen konnte mit guten Ausbeuten durchgeführt werden. Lediglich bei dem Ringschluss zum Isoxazol konnte die Literaturausbeute nicht reproduziert werden, da Hydroxylamin bevorzugt mit der reaktiveren Ketogruppe des β -Ketoesters (**2**) reagiert. Die Referenzverbindungen (**5a**) und (**5b**) wurden in einer Gesamtausbeute von 12% bzw. 16% erhalten und die chemische Reinheit mittels HPLC bestimmt. Diese lag für beide Verbindungen bei $\geq 96\%$. Die mittels *in vitro* binding assay bestimmten Affinitäten zur GABA binding site des GABA_A-Rezeptors und die Lipophilie der Referenzverbindungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Affinitäten und Lipophilie der Referenzverbindungen

Verbindung	K _i [nM]	Log P
(5a)	14	1,1
(5b)	145	0,9

Für Verbindung (**5a**), welche hier als Standard dienen soll, wurde ein K_i-Wert von 14 nM bestimmt, was mit den in der Literatur angegebenen Werten (10 nM) gut übereinstimmt^[1]. Die Affinität des fluorethoxy-substituierten Liganden (**5b**) wurde mit 145 nM bestimmt und ist im Vergleich zu Verbindung (**5a**) deutlich erniedrigt, was auf den größeren Platzbedarf zurückzuführen ist. Dies ist in gewisser Weise verwunderlich, da in Position 1 des Naphthylrings auch sterisch anspruchsvolle Gruppen wie Phenylringe toleriert werden.

Die Log-P Werte liegen in einem sehr niedrigen Bereich, was auf eine positive Ladung am Stickstoff des Piperidinrings bewirkt wird. Daraus könnte eine geringe Passage der Blut-Hirn-Schranke resultieren.

Ausblick: Zur Verbesserung der biologischen Eigenschaften sollen neue Liganden mit einem geringeren Raumanpruch des Fluorlabels sowie einer auf Isothiazolen basierenden Grundstruktur entwickelt werden.

References

[1] Frolund et al.; J Med Chem; **2005**; 48; 427.