

6

**Jodium-123 en Fluor-18 gelabelde analoga van
WAY-100635 als potentiële radioliganden voor
het visualiseren van de 5-HT_{1A} receptor in de
hersenen**

**Samenvatting, resultaten en conclusies van het
onderzoek**

Samenvatting

De serotonine 1A (5-HT_{1A}) receptor komt bij de mens voornamelijk tot expressie in de raphe nuclei in de hersenstam, en in de limbische voorhersenen (hippocampus, entorhinale cortex en septum). Deze receptor lijkt een belangrijke rol te spelen bij een aantal aandoeningen zoals bv. depressie, angststoornissen, schizofrenie, en de ziekte van Alzheimer. Studies met behulp van partiële 5-HT_{1A} agonisten, zoals het anxiolytische middel buspiron, suggereren dat de 5-HT_{1A} receptor betrokken is bij het ontstaan en de behandeling van depressie. Deze gegevens impliceren het belang van de 5-HT_{1A} receptor als een target voor medicijnen en/of als een marker om de onderliggende pathofysiologie van een aantal belangrijke neuropsychiatrische aandoeningen te bestuderen. Moleculaire beeldvormingstechnieken zoals Positron Emission Tomography (PET) of Single Photon Emission Computerized Tomography (SPECT) kunnen waardevolle informatie verschaffen in het onderzoek naar de veranderingen in de beschikbaarheid van de 5-HT_{1A} receptor. Echter, het klinisch gebruik van de bekende PET tracer, de 5-HT_{1A} receptor antagonist [*carbonyl*-¹¹C]-WAY-100635, heeft als nadeel dat, *in vivo*, de amide binding snel hydrolyseert. Daarnaast kan deze tracer, door de korte halfwaardetijd van het koolstof-11 isotoop ($t_{1/2} = 20$ minuten), alleen worden gebruikt als zowel een cyclotron als een PET-camera in elkaars nabijheid zijn.

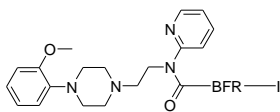
Dit proefschrift beschrijft de ontwikkeling van nieuwe jodiumhoudende (jodium-123, $t_{1/2} = 13,2$ uur) en gefluoreerde (fluor-18, $t_{1/2} = 109,8$ minuten) analoge van WAY-100635 als mogelijke SPECT of PET radiotracers voor de 5-HT_{1A} receptor. Hierbij werd uitgegaan van de hypothese dat een brug-gefuseerde ring (BFR) de metabole stabiliteit van deze verbindingen zou kunnen verhogen.

Hoofdstuk 1 is een algemene inleiding over/ kennismaking met de achtergrond en context van dit onderzoek, inclusief een uitgebreid overzicht van de mogelijke rol van de 5-HT_{1A} receptor in neuropsychiatrische aandoeningen. Uitgelegd wordt waarom moleculaire beeldvorming (SPECT en PET) een nuttig hulpmiddel is om de rol van de 5-HT_{1A} receptor in stoornissen van het centrale zenuwstelsel te bestuderen. Daarnaast bevat dit hoofdstuk een overzicht van goede gevalideerde

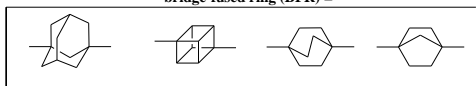
SPECT en PET radioliganden, met hun toepassingen en nadelen, gevolgd door het doel van het in dit proefschrift beschreven onderzoek.

Hoofdstuk 2 beschrijft de synthese, bindingsaffiniteit en selectiviteit van I-BRF analoga van WAY-100635. Om dit te bereiken zijn de cyclohexyl-groep van WAY-100635 en de *O-desmethyl* variant vervangen door een bruggenhoofd jodiumhoudende BFR, zoals adamantaan, cubaan, bicyclo[2.2.2]octaan en bicyclo[2.2.1]heptaan.

De farmacologische evaluatie van deze nieuwe liganden liet een hoge (sub)nanomolaire affiniteit en een goede selectiviteit voor de 5-HT_{1A} receptor zien.



bridge-fused ring (BFR) =

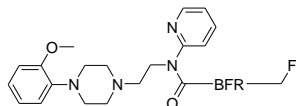


Alleen de cubaan analoga konden gemakkelijk worden gelabeld met jodium-123 en dus werden deze geselecteerd voor verdere *in vivo* evaluatie. Met betrekking tot de lipofiele (vet-minnende) eigenschap,

had vervanging van de methoxygroep door een hydroxygroep nauwelijks effect (respectievelijk log $D_{7,4}$ 4,14 en 4,04). De affiniteit voor de 5-HT_{1A} receptor was wel licht verbeterd (respectievelijk K_i 1,11 en 0,64), maar leidde niet tot een betere selectiviteit. Een radiosynthese kon worden uitgevoerd door een niet-isotopische uitwisselingsreactie op de overeenkomstige broom-verbindingen en dit resulteerde in een radiochemische opbrengst van respectievelijk 40% en 35% voor het [¹²³I]cubaan analogon en het [¹²³I]cubaan *O-desmethyl* analogon, met een specifieke activiteit van >1 TBq/μmol aan het eind van de synthese (EOS). De metabole stabiliteit van het [¹²³I]cubaan analogon werd onderzocht in humane levercellen en vergeleken met die van [¹⁸F]p-MPPF, een goed gevalideerde radiotracer voor de 5-HT_{1A} receptor. Na 15 minuten incubatie was >90% van het [¹²³I]cubaan analogon nog aanwezig in vergelijking met slechts 45% van het [¹⁸F]p-MPPF. Dit geeft aan dat de cubyl groep een opmerkelijke stabiliserend effect heeft met betrekking tot de hydrolyse van de amide binding. Daarnaast werd geen vrij jodium-123 gedetecteerd tot aan 150 minuten incuberen, wat aangeeft dat de koolstof-jodium binding metabool stabiel is in humane levercellen. Deze bond bleek ook stabiel in ratten;

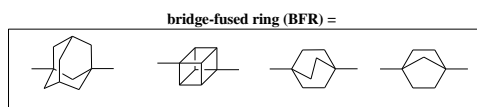
tijdens de biodistributie studies werd er geen opname van radioactief jodide waargenomen in de schildklier. Helaas, toonden beide radioliganden een slechte opname in de hersenen van de rat 45 minuten na injectie. Ook een lage specifieke tot niet-specifieke bindingsratio werd waargenomen in de hersenen voor beide analoga (de ratio's van de opname in de hippocampus over het cerebellum waren respectievelijk 2,51 en 2,38). Bovenstaande resultaten geven aan dat de ontworpen [¹²³I]liganden niet geschikt zijn voor SPECT imaging van de hersenen.

Hoofdstuk 3 beschrijft een nieuwe serie van acht (WAY-100635 en *O-desmethyl* WAY-100635) analoga waarin dezelfde BFR's werden gebruikt, maar in dit geval met een fluormethyl groep i.p.v. een jodium atoom. Dit heeft geleid tot een verbetering van de lipofiliciteit ten opzicht van de jodiumhoudende BFR analoga



van WAY-100635.

In vitro toonden alle analoga een hoge (sub)nanomolaire affiniteit en een goede selectiviteit voor de 5-HT_{1A} receptor. Drie liganden (cubaan, bicyclo[2.2.2]octaan en bicyclo[2.2.1]heptaan) werden geselecteerd voor verdere evaluatie. De lipofiliciteit



van deze liganden (respectievelijk $\log D_{7.4}$ 2,94, 3,37 en 2,70) was in dezelfde orde van grootte als die van WAY-100635 ($\log D_{7.4}$ 3,33). Het onderzoeken naar de metabole stabiliteit van het [¹⁸F]fluormethyl cubaan analogon in humane levercellen toonde aan dat >73% van de oorspronkelijke verbinding nog steeds aanwezig was na 15 minuten incuberen. De *in vitro* resultaten maakten deze liganden de moeite waard voor verder *in vivo* onderzoek als potentiële 5-HT_{1A} receptor liganden en veelbelovende ¹⁸F-gelabelde PET tracers.

Hoofdstuk 4 beschrijft het onderzoek met de drie geselecteerde, en nieuwe, radiogefluoreerde BFR analoga van WAY-100635. Syntheseroutes werden ontwikkeld voor de precursors die nodig zijn voor het uitvoeren van een radiofluoreringsreactie. Een nucleofiele substitutie met behulp van fluor-18 gaf de radioliganden in een matige tot goede radiochemische opbrengst (24-45%), met een specifieke activiteit van ongeveer 100 GBq/ μ mol. De biodistributie studies bij

ratten toonden aan dat de opname van de radioactiviteit van deze radioliganden bijna gelijk is aan die van de jodium-123 analoga, maar de specifieke tot niet-specifieke bindingsratio's waren opvallend beter (de ratio's van de opname in de hippocampus over het cerebellum waren respectievelijk 5,55, 4,79 en 5,45). Het was echter nogal teleurstellend dat de PET-studies in ratten een hoge accumulatie van ^{18}F in de botten lieten zien. De snelheid van botopname en dus de mate van defluorering was voor geteste radioliganden als volgt: $[^{18}\text{F}]\text{bicyclo}[2.2.1]\text{heptaan} \approx [^{18}\text{F}]\text{cubaan} > [^{18}\text{F}]\text{bicyclo}[2.2.2]\text{octaan}$. Door de *in vivo* instabiliteit zijn deze radioliganden waarschijnlijk niet beter dan de reeds klinisch gebruikte WAY-100635 analoga.

Alle, hiervoor beschreven, nieuwe BFR analoga van WAY-100635 werden ontworpen met als doel SPECT of PET radioliganden te verkrijgen met een hoge metabole stabiliteit. Hoewel het uiteindelijke doel niet werd bereikt, hebben deze gesynthetiseerde liganden ons meer inzicht gegeven in de structurele vereisten die van belang zijn voor de lipofiliciteit, affiniteit en selectiviteit van potentiële radioliganden voor de $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ receptor, evenals voor de metabole stabiliteit met betrekking tot de hydrolyse van de amide binding en de deiodering of defluorering. De opgedane kennis kan helpen om radioliganden te ontwikkelen met een verbeterde stabiliteit, zoals derivaten met een CF_3 groep i.p.v. de CH_2F of derivaten waar het fluor atoom direct aan het bruggenhoofd zit.