

Synthese und pharmakologische Charakterisierung dualer Histamin-H₁-/H₄-Rezeptorliganden

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Naturwissenschaftliche Fakultät IV - Chemie und Pharmazie -
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Eva Wagner

aus Großweil

2011



Synthese und pharmakologische Charakterisierung dualer Histamin-H₁-/H₄-Rezeptorliganden

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Naturwissenschaftliche Fakultät IV - Chemie und Pharmazie -
der Universität Regensburg

vorgelegt von

Eva Wagner

aus Großweil

2011



Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 2007 bis August 2011 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Sigurd Elz am Institut für Pharmazie der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV - Chemie und Pharmazie - der Universität Regensburg.

Promotionsgesuch eingereicht am 5. September 2011

Mündliche Prüfung: 14. Oktober 2011

Prüfungsausschuss: Prof. Dr. B. Dick (Vorsitzender)

Prof. Dr. S. Elz (Erstgutachter)

Prof. Dr. S. Mahboobi (Zweitgutachter)

Prof. Dr. J. Daub (Drittprüfer)

Danksagung

Ich möchte mich besonders bei Herrn Prof. Elz und Frau Dr. Straßer für die Vergabe des interessanten Themas und die freundliche Betreuung bedanken.

Des weiteren möchte ich mich bei folgenden Personen bedanken:

Frau C. Braun und Frau K. Röhrl für die Durchführung der pharmakologischen Testungen am Meerschweinchen-Ileum.

Frau G. Wilberg für die zuverlässige Bereitstellung der Sf9-Zellen.

Herrn Prof. Schlossmann für die Möglichkeit, an seinem Lehrstuhl die Membranassays durchzuführen.

Allen Mitarbeitern der analytischen Abteilungen der Fakultät für die Aufnahme der NMR- und Massenspektren sowie die Durchführung der Elementaranalysen.

Meiner Laborkollegin Regina Wildanger, Herrn Dr. H. Pongratz und all meinen anderen Kollegen, die durch das angenehme Arbeitsklima und ihre stete Hilfsbereitschaft sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Mahboobi für seine freundliche Unterstützung und seine Bereitschaft, das Amt des Zweitgutachters zu übernehmen.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Kurze Geschichte der Histamin-Forschung	1
1.2	Die vier Histamin-Rezeptoren im Überblick	3
1.3	Der H ₄ -Rezeptor und seine Liganden	4
1.4	Chronisch-entzündliche Erkrankungen und therapeutische Anwendungsmöglichkeiten für duale H ₁ -H ₄ -Rezeptorantagonisten	6
1.5	H ₁ -Rezeptoragonisten	6
2.	Chemischer Teil	8
2.1	H ₁ -/H ₄ -Rezeptor-Antagonisten	8
2.1.1	Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle	8
2.1.1.1	Synthesestrategie zur Darstellung der Derivate mit Verknüpfung an der basischen H ₄ R-Pharmacophor-Untereinheit (5 - 7, 13 - 14, 20)	9
2.1.1.2	Synthesestrategie für den Liganden mit Verbrückung am aromatischen Teil des H ₄ R-Pharmacophors (32)	13
2.1.2	Moleküle, abgeleitet von Astemizol	15
2.1.4	Aminopyrimidine	20
2.1.5	JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung	21
2.2	H ₁ -Rezeptor-Agonisten	23
2.2.1	Modifizierte Histamin-Liganden	25
2.1.2	Histaprodifen-Derivate	25
2.1.2.1	Histaprodifen-Synthese	25
2.1.2.2	Synthese der beiden Endverbindungen 113 und 117	27
2.1.2.3	Alternative Synthesestrategien und Fehlschläge	28

3. Pharmakologischer Teil	30
3.1 Pharmakologische Parameter	30
3.1.1 Pharmakologische Gleichungen	30
3.1.2 Molekulare Mechanismen der Hemmung durch Antagonisten	31
3.2 Durchführung der organpharmakologischen Untersuchung am Meerschweinchen-Ileum	33
3.3 Pharmakologische Charakterisierung an rekombinanten H ₁ - und H ₄ -Rezeptoren	34
3.3.1 Das Sf9-Zellen/Baculovirus Expressionssystem	34
3.3.2 Durchführung der Membranpräparation	35
3.3.3 Durchführung des Bindungsassays	35
3.3.4 Prinzip und Durchführung des [³⁵ S]GTPγS-Bindungsassays	37
3.4 Beschreibung des „Standardantagonisten“ am H ₄ -Rezeptor: JNJ777120	39
3.5 Ergebnisse aus den pharmakologischen Untersuchungen	40
3.5.1 H ₁ /H ₄ -Rezeptor-Antagonisten	40
3.5.1.1 Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle	40
3.5.1.2 Moleküle, abgeleitet von Astemizol	46
3.5.1.3 Aminopyrimidine	50
3.5.1.4 JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung	51
3.5.2 H ₁ -Rezeptor-Agonisten	52
3.5.2.1 Pharmakologische Parameter	52
3.5.2.2 Modifizierte Histamin-Liganden	53
3.5.2.3 Histaprodifen-Derivate	55

4.	Zusammenfassung	56
4.1	Duale H ₁ -/H ₄ -Rezeptorantagonisten	56
4.2	H ₁ -Rezeptoragonisten	59
5.	Experimenteller Teil	60
5.1	Allgemeine Angaben	60
5.2	Synthese von H ₁ R-/H ₄ R-Antagonisten	60
5.2.1	Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle	60
5.2.2	Moleküle, abgeleitet von Astemizol	84
5.2.3	Aminopyrimidine	104
5.2.4	JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung	106
5.3	H ₁ -Rezeptor-Agonisten	116
5.3.1	Modifizierte Histamin-Liganden	116
5.3.2	Histaprodifen-Derivate	124
5.3.3	Alternative Synthesestrategien	139
6.	Literaturverzeichnis	148
7.	Anhang	152
7.1	Abkürzungsverzeichnis	152
7.2	Posterpräsentationen und Publikationen	153
7.3	Lebenslauf	154

1. Einleitung

1.1 Kurze Geschichte der Histamin-Forschung

Beginnen möchte ich diese Arbeit mit einem Überblick auf über 100 Jahre Histamin-Forschung. Der Grundstein dafür wurde mit der ersten Histamin-Synthese von Windaus und Vogt¹ gelegt, die 1907 publiziert wurde. Darauf berufen sich auch die ersten pharmakologischen Untersuchungen von Sir Henry Dale, der 1936 den Nobelpreis für seine Entdeckungen über die chemische Transmission von Nervenimpulsen erhielt. Es ist faszinierend, wie Dale und seine Kollegen vor hundert Jahren das Verständnis der pharmakologischen Zusammenhänge von heute vorbereiteten. 1910 identifizierten Barger und Dale² Histamin als Verursacher der Uterus-Kontraktion von Katzen. Die Versuche führten sie mit Mutterkornextrakten durch. Bei der Analyse der Inhaltsstoffe fanden sie bereits 1909 Serotonin³, ein Jahr später Histamin. Sie konnten eine kleine Menge aus dem Extrakt kristallisieren und durch Substanzvergleich untermauern, dass sie Histamin in Händen hielten, das dann den pharmakologischen Effekt verursachte. Kurz darauf gelang es ihnen, Histamin aus dem Verdauungstrakt eines frisch geschlachteten Rindes zu isolieren⁴. So wurde erstmals Histamin als körpereigenes Molekül nachgewiesen, dies aber zunächst nur unter Vorbehalt: die Forscher konnten noch nicht sicher ausschließen, dass Histamin erst gebildet wird, wenn das Lebewesen getötet wird. In diesem Jahr veröffentlichten Dale und Laidlaw⁵ eine große Studie über die physiologischen Wirkungen von Histamin, bei der unter anderem der stimulierende Effekt auf glatte Muskulatur, die Bronchokonstriktion und das Auftreten eines anaphylaktischen Schocks durch Histamin beobachtet wurden.

Nächster Meilenstein in der Histamin-Forschung war die Entwicklung der ersten Antagonisten in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts von französischen Forschern (Staub A. M., Bovet D., Fourneau E.)^{6,7}. Deren Substanzen waren aber noch zu toxisch für eine therapeutische Anwendung. Es dauerte aber nicht mehr lange, bis die ersten Antihistaminika zur Behandlung von allergischen Krankheiten auf den Markt kamen, darunter auch Mepyramin (1942). Eine Erklärung, warum diese Substanzen keinerlei Wirkung auf die Sekretion der Magensäure ausüben oder als Nebenwirkung teilweise stark sedierend wirken, konnte zu dieser Zeit noch nicht gegeben werden.⁸

Die ersten pharmakologischen Werkzeuge in Form von Antagonisten waren nun vorhanden, so dass die nächste Erkenntnis, die Existenz von verschiedenen Histaminrezeptoren, gelingen sollte. 1966 schlugen Ash und Schild⁹ den Ausdruck **H₁-Rezeptor** vor. Damit definierten sie den Histaminrezeptor, dessen Effekte von bekannten Antihistaminika antagonisiert werden konnte. Die Erkenntnis, dass mindestens zwei

verschiedene Histaminrezeptoren existieren, beruhte auf der Tatsache, dass z. B. histamininduzierte Magensäuresekretion oder der positiv inotrope Effekt durch Mepyramin oder verwandte Substanzen nicht gehemmt werden konnte. Aber mangels weiterer selektiver Liganden musste die eindeutige Identifizierung des zweiten Histaminrezeptors noch einige Jahre warten. 1972 identifizierten Black et al.¹⁰ mit Hilfe von 2- bzw. 5-Methylhistamin den **H₂**-Rezeptor. Dafür testeten sie an fünf Systemen: zwei H₁R-Assays (Kontraktion des Meerschweinchenileums und Kontraktion eines Rattenmagens) und drei Assays, bei denen der Effekt durch Mepyramin nicht antagonisiert werden kann (Magensäuresekretion der Ratte, Kontraktion des rechten Vorhofs am Meerschweinchen und Uteruskontraktion der Ratte). Die beiden isomeren Methylhistamine diskriminieren signifikant zwischen den beiden Systemen, also Rezeptoren. 2-Methylhistamin ist ein H₁-Rezeptor-Agonist und 5-Methylhistamin ein „selektiver“ H₂-Rezeptor-Agonist (zu dieser Zeit selektiv; heute ist bekannt, dass 5-Methylhistamin ein selektiver H₄-Rezeptoragonist ist, sh. Kap. 1.3). Vervollständigt wurde die Studie mit der Identifizierung eines selektiven H₂-Rezeptor-Antagonisten, Burimamid.

In den 1980er Jahren bestanden kaum noch Zweifel, dass Histamin auch im zentralen Nervensystem eine Funktion als Neurotransmitter ausfüllt¹¹. Des weiteren war schon für andere Neurotransmitter bekannt, dass deren Freisetzung durch präsynaptische, sogenannte Autorezeptoren gesteuert wird. 1983 wiesen Arrang et al.¹² dieses Phänomen auch für Histamin nach und entdeckten dabei den **H₃**-Rezeptor. Dafür inkubierten sie Stücke des zerebralen Kortex der Ratte mit [³H]-Histidin. Die K⁺-induzierte Freisetzung von [³H]-Histamin konnte durch Zugabe von Histamin, N^ω-Methylhistamin oder N^ω-Dimethylhistamin um bis zu 60 % inhibiert werden. Nach Testung einer Reihe von H₁-/H₂-Liganden war klar, dass dieser Autorezeptor ein anderes und eigenes pharmakologisches Profil zeigt; er wurde daher H₃-Rezeptor genannt.

Im folgenden Jahrzehnt gelang die Klonierung der drei bekannten Histamin-Rezeptoren¹³⁻¹⁵, bevor schließlich im Jahr 2000 der bisher letzte, der **H₄**-Rezeptor identifiziert wurde^{16,17}. Er gehört, wie die anderen drei, zur Klasse der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCRs). Gelingen konnte dies durch Durchsuchen der Gendatenbanken mit bekannten GPCR-Sequenzen als Vorlage. Dadurch wurden „orphan GPCRs“ entdeckt, die nun wiederum mit den bekannten Histamin-Rezeptorsequenzen abgeglichen wurden. So wurde schließlich aus humaner Leukozyten-cDNA der hH₄-Rezeptor geklont, der ca. 40 % Übereinstimmung mit der Aminosäure-Sequenz im hH₃-Rezeptor aufweist. Im Gegensatz zum H₃-Rezeptor wird der H₄-Rezeptor im Gehirn nicht exprimiert und zeigt ein eigenständiges, pharmakologisches Profil in Bezug auf synthetische Liganden.

1.2 Die vier Histamin-Rezeptoren im Überblick

In der folgenden Tabelle sind die Orte der Expression, die biologische Antwort und der Signaltransduktionsweg zusammengefasst^{18,19}:

Rezeptor	Vorkommen	biol. Effekt	Effektor
H₁	glatte Muskulatur, ZNS, Endothelzellen, Nebennierenmark	Kontraktion glatter Muskulatur und Endothelzellen, NO- und Endothelzellen, NO- Bildung↑, vaskuläre Permeabilität↑, Hormon- Freisetzung↑, neg. inotrop	G _{q/11} IP ₃ /DAG↑
H₂	Belegzellen des Magens, Gefäßmuskulatur, regulatorische T-Zellen, Neutrophile, ZNS, Herz, Gebärmutter	Magensauresekretion↑, Relaxation glatter Muskulatur, pos. chronotrop und inotrop,	G _s cAMP↑
H₃	ZNS, periphere Nerven	Neurotransmitter-Freisetzung↓	G _{i/o} cAMP↓
H₄	Eosinophile, Basophile, Mastzellen, CD8 ⁺ -T-Zellen, dendritische Zellen, Knochenmark, Milz	Chemotaxis von Eosinophilen und Mastzellen, Aktinpolymerisation↑	G _{i/o} cAMP↓

Therapeutisch eingesetzt werden schon seit Jahrzehnten H₁-Rezeptorantagonisten, die klassischen „Antihistaminika“ zur Behandlung von allergischen Krankheiten und H₂-Rezeptorantagonisten zur Behandlung von Magengeschwüren. Bei ersteren unterscheidet man zwei Generationen von H₁R-Antagonisten (Abb. 1-1): wesentlicher Unterschied zwischen der ersten (z. B. Mepyramin, Diphenhydramin) und der zweiten ist die verminderte ZNS-Gängigkeit der neueren Substanzen, so dass die zentralnervösen Nebenwirkungen wie Sedierung, eingeschränkt oder eliminiert werden konnten.¹⁸

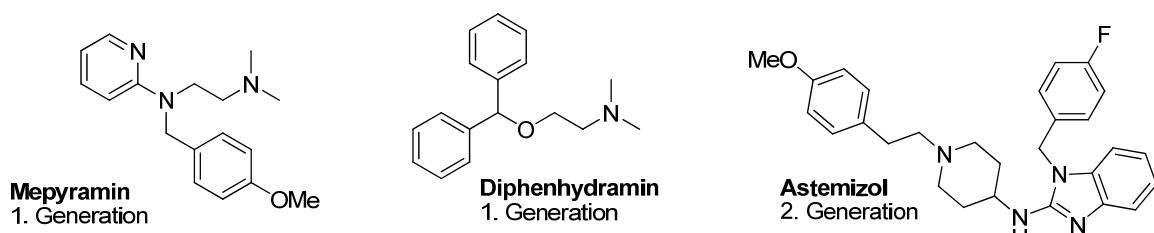


Abb. 1-1: Beispiele für H₁-Rezeptor-Antagonisten

Mittlerweile gibt es auch große Bemühungen den H₃- und den H₄-Rezeptor als therapeutisches Target zu nutzen. Mögliche Anwendungsgebiete sind die Behandlung von Adipositas und Gedächtnisstörungen durch H₃-Rezeptorantagonisten²⁰. H₄-Rezeptorantagonisten könnten in der Therapie von entzündlichen Krankheiten eingesetzt werden¹⁹.

1.3 Der H₄-Rezeptor und seine Liganden

Der H₄-Rezeptor, bestehend aus 390 Aminosäuren, ist am engsten verwandt mit dem H₃-Rezeptor, die Homologie beläuft sich auf 31¹⁹ – 38¹⁷ %. Betrachtet man nur die Homologie in den Transmembrandomänen, steigert sich der Wert auf 54 %¹⁹. Daher zeigen auch viele H₃-Rezeptorliganden Affinität zum H₄-Rezeptor, wenn auch nicht zwangsläufig die gleiche Funktionalität. Hier sind drei Beispiele von H₄-Rezeptoragonisten aufgeführt²¹:

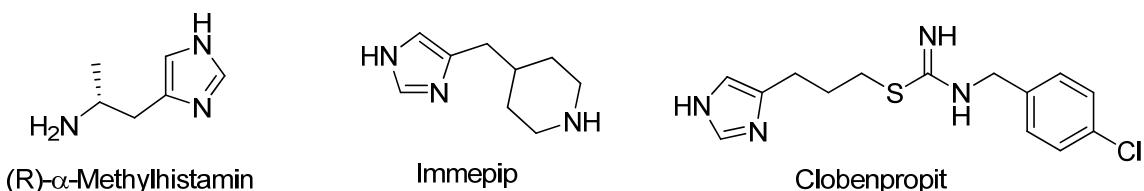


Abb. 1-2: Nichtselektive H₄-Rezeptoragonisten

(R)- α -Methylhistamin und Immepip sind potente H₃-Rezeptoragonisten, zeigen aber nur 40-fache Selektivität im Vergleich zum H₄-Rezeptor. Clobenpropit, ein inverser Agonist am H₃-Rezeptor, ist ein hochaffiner partieller Agonist am H₄-Rezeptor.

Die Sequenzhomologie des hH₄-Rezeptors zu den anderen beiden Histamin-Rezeptoren (hH₁-, hH₂-R) liegt nur noch bei etwa 22 %. Es finden sich aber auch hier Liganden, die auch Affinität zum hH₄-Rezeptor haben. Genannt werden soll hier das Beispiel der Methylhistamine, die dank ihrer Selektivität zwischen H₁- und H₂-Rezeptor in den 70er Jahren zur Identifizierung des H₂-Rezeptors führten (Kap. 1.1). 2-Methylhistamin stellte den ersten selektiven H₁-Rezeptoragonisten dar, ist aber auch nahezu ein voller Agonist am hH₄-Rezeptor ($\alpha = 0,9$). 5-Methylhistamin stellte sich nach Entdeckung des H₄-

Rezeptor als voller Agonist an diesem heraus, mit etwa fünfzigfacher Selektivität gegenüber dem H₂-Rezeptor²².

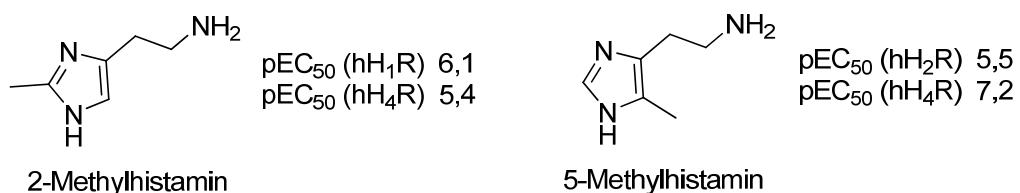


Abb. 1-3: pEC_{50} -Werte von 2- und 5-Methylhistamin

Als erster Antagonist am H₄-Rezeptor wurde Thioperamid identifiziert, welches ursprünglich als H₃-Rezeptor-Antagonist entwickelt wurde. Auch dieses Molekül enthält wieder eine Imidazolstruktur und agiert als inverser Agonist. Die Affinität zum H₃-Rezeptor ist nur zwei- bis dreimal höher als zum H₄-Rezeptor. Der erste, sehr potente nicht-imidazolhaltige Antagonist wurde in den Laboratorien von Johnson & Johnson mit Hilfe von high-throughput screenings entdeckt: JNJ7777120. Diese Verbindung wurde zum Standardantagonisten am H₄-Rezeptor, obwohl ihr pharmakologisches Profil nicht vollständig verstanden ist (Kap. 3.4). Als drittes, wichtiges Pharmakophor am H₄-Rezeptor sind substituierte Aminopyrimidine zu nennen. Die Bayer Healthcare AG publizierte als Erste die Identifizierung dieser neuen Verbindungsklasse als potente H₄-Rezeptorantagonisten. Charakteristisch für alle Liganden aus dieser Klasse ist der 2-Aminopyrimidinkern, der als Substituent auf einer Seite eine hydrophobe Gruppe trägt und auf der anderen Seite ein cyclisches Amin.²¹

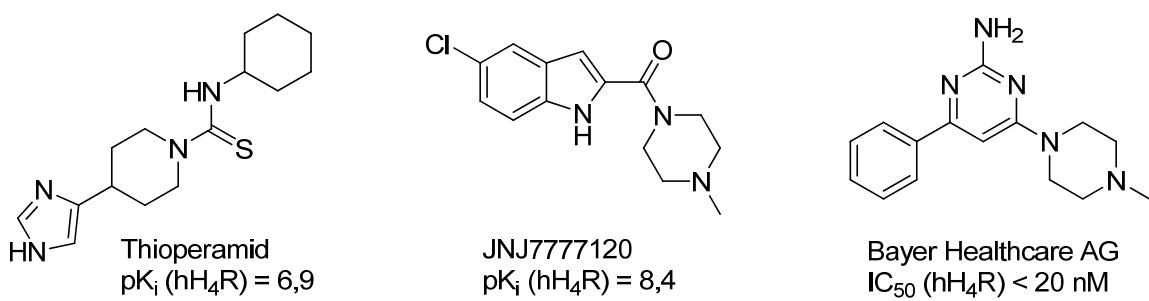


Abb. 1-4: H₄-Rezeptorantagonisten

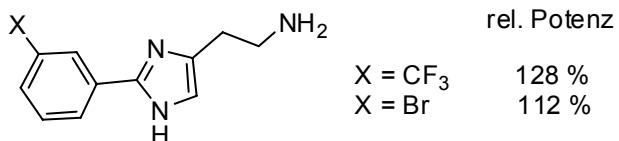
Innerhalb eines Jahrzehnts wurden so, auch mit Hilfe des high-throughput screenings, eine beachtliche Anzahl an H₄-Rezeptorliganden entwickelt.

1.4 Chronisch-entzündliche Erkrankungen und therapeutische Anwendungsmöglichkeiten für duale H₁/H₄-Rezeptorantagonisten

Unter dem Sammelbegriff chronisch-entzündlicher Erkrankungen werden Krankheitsbilder wie Asthma bronchiale, allergische Krankheiten des Gastrointestinaltrakts oder atopische Dermatitis (Neurodermitis) zusammengefasst. Charakteristisch für diese Erkrankungen ist die Migration und Anhäufung von Leukozyten, insbesondere von Eosinophilen, im entsprechenden Gewebe. Dieser hochkomplexe Prozess wird auch durch lösliche Moleküle, sog. Chemoattractants, gesteuert, indem sie GPCRs auf Leukozyten aktivieren. Beispiele für nichtselektive Chemoattractants, d. h. sie wirken auf viele Subtypen von Leukozyten chemotaktisch, sind Spaltfragmente des Komplementsystems, Leukotriene und der platelet-activation factor (PAF). Hier kommt nun auch Histamin als Chemoattractant ins Spiel, aber als selektives Chemoattractant von Eosinophilen und Mastzellen. Histamin, freigesetzt aus Mastzellen und basophilen Granulozyten, aktiviert den H₄-Rezeptor auf Eosinophilen und Mastzellen, dadurch wird z. B. die Polymerisation von Aktin induziert, die Form der Zelle verändert oder die Expression von Adhäsionsmolekülen hochreguliert. Diese Forschungsergebnisse geben Hoffnung, dass H₄-Rezeptorantagonisten in Zukunft ein weiteres therapeutisches Mittel darstellen könnten, um chronisch-entzündliche Krankheiten besser heilen zu können. Fest steht schon jetzt, dass diese in Kombination mit bereits bewährten Arzneistoffen eingesetzt werden müssten, wie z. B. Leukotrien- und PAF-Rezeptorantagonisten, aber natürlich auch mit H₁-Rezeptorantagonisten. So könnte man mit dualen H₁/H₄-Rezeptorantagonisten der akuten allergischen Reaktion vermittelt durch den H₁-Rezeptor, als auch dem chronisch-entzündlichen Prozess, mitverursacht vom H₄-Rezeptor, entgegenwirken.^{23,24}

1.5 H₁-Rezeptoragonisten

Im Gegensatz zu den H₁-Rezeptorantagonisten dauerte es lange, bis potente und selektive H₁-Rezeptoragonisten entwickelt wurden. Modifikationen an der Ethylamin-Seitenkette des Histamins führten nicht zum Erfolg, dagegen aber die Einführung von Substituenten in 2-Position des Imidazolrings von Histamin. So wurden in den 90er Jahren eine Reihe von substituierten 2-Phenylhistaminen synthetisiert²⁵, pharmakologisch charakterisiert und zu dieser Zeit als selektive H₁-Rezeptoragonisten identifiziert, die eine ähnliche Potenz wie Histamin am H₁-Rezeptor



aufweisen²⁶. Insbesondere 2-Phenylhistamine, die in meta-Position des Phenylrings einen Substituenten tragen, sind herausragende Agonisten. Mit der Entdeckung des H₄-Rezeptors mussten diese Liganden aber im Hinblick auf Selektivität noch einmal überprüft werden und das Ergebnis wurde 2011 von Straßer *et al.*²⁷ publiziert: N^α-methylierte Phenylhistamine zeigen am hH₄-Rezeptor signifikant höhere Affinität als am hH₁-Rezeptor.

Der nächste Meilenstein auf der Suche nach selektiven H₁-Rezeptoragonisten gelang mit der Entdeckung der Histaprodifene. Diese Histamin-Derivate tragen eine Diphenylpropyl-Seitenkette in 2-Position des Imidazolrings. Durch Vergleich mit H₁-Antagonistenstrukturen wie Clemastin, Oxatomid oder Cetirizin, die auch eine Diphenylpartialstruktur beinhalten, wurde die Idee umgesetzt, dieses Strukturelement in 2-Position des Imidazolrings einzuführen und auf potentielle agonistische Aktivität zu testen²⁸. Dies führte mit der optimierten Seitenkettenlänge von drei C-Atomen zum Erfolg. In der folgenden Abbildung sind zwei wichtige Beispiele gezeigt, Histaprodifen²⁸ und Suprahistaprodifen²⁹.

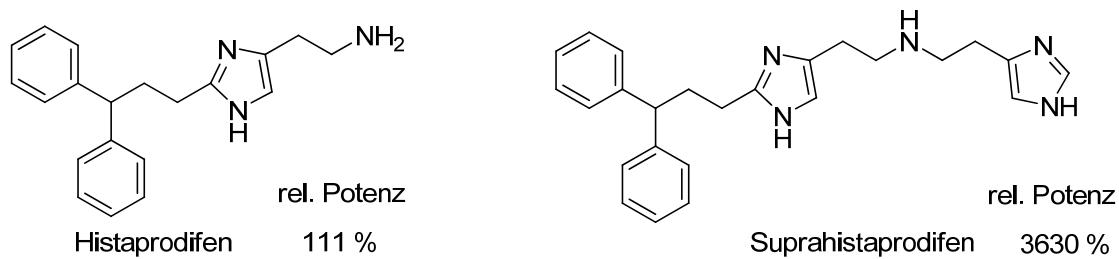


Abb. 1-5: Histaprodifen und Suprahistaprodifen

So sind nun mit den Phenylhistaminen und Histaprodifenen zwei Substanzklassen bekannt, die als potente H₁-Rezeptoragonisten dienen und es ermöglichen, durch Derivatisierung umfangreiche Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen am H₁-Rezeptor durchzuführen.

2. Chemischer Teil

2.1 H₁-/H₄-Rezeptor-Antagonisten

Diese Arbeit ist der Versuch, kombinierte H₁-/H₄-Rezeptor-Antagonisten zu entwickeln. Der noch nicht so lange bekannte H₄-Rezeptor, erstmals als eigenständiger Histamin-Rezeptor im Jahr 2000 entdeckt und publiziert, spielt wie der H₁-Rezeptor eine Rolle in der Pathogenese von allergischen Krankheiten¹⁵. Ausschlaggebend für diese Arbeit waren die Ergebnisse der *Neumann*-Forschungsgruppe³⁰: sie verabreichten Mepyramin und JNJ7777120 Mäusen, bei denen Asthma ausgelöst wurde. Dabei wurde ein synergistischer Effekt bei Gabe beider Substanzen beobachtet. Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten pro bronchoalveolärer Lavage war signifikant geringer als nach Gabe jeweils nur des H₁-Antagonisten oder H₄-Antagonisten. Diesem Sachverhalt entspringt der Wunsch, duale H₁-/H₄R-Antagonisten zu finden, was auch in Hinblick auf therapeutische Applikationen sehr sinnvoll sein könnte. Die Entwicklung dualer Liganden machten *Schulze et al.*³¹ bereits im H₁-/H₂-Rezeptor-Feld vor: die Gruppe synthetisierte erfolgreich kombinierte H₁-/H₂-Rezeptor-Antagonisten, indem sie Pharmakophore der jeweiligen Rezeptoren in einer idealen Weise in einem Molekül verbanden und so potente duale Liganden fanden. Sie verknüpften Mepyramin-, Pheniramin- und Cyclizin-Derivate mit Partialstrukturen von H₂-Antagonisten (Cimetidin, Ranitidin, Lamtidin und Tiotidin). Die „Brücke“ zwischen den Pharmakophoren bildeten Cyanoguanidin-, Harnstoff- und Nitroethendiamin-Partialstrukturen. Dabei führten natürlich nicht alle Kombinationen zu affinen, dualen H₁-/H₂-Antagonisten³².

Ausgehend von diesem Hintergrund wurde folgende Strategie verfolgt: Auswahl der H₁-antagonistischen Pharmakophore, Mepyramin und Astemizol, und als H₄-Pharmakophor den Standardantagonisten JNJ7777120 und substituierte 2-Aminopyrimidine.

2.1.1 Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle

Ausgehend von den Experimenten von *Deml et al.*³⁰ fiel die Entscheidung, als erstes Mepyramin als H₁-Pharmakophor (rot) mit JNJ7777120-Derivaten (blau) als H₄-Pharmakophor zu verbinden. Bei der ersten Ligandenserie sollte die Verknüpfung über die Amin-Funktion von Mepyramin zum Piperazin im JNJ7777120-Molekül erfolgen. Die Spacerlänge sollte nicht zu groß werden, damit das Molekül auch Platz findet in den Bindetaschen der beiden Rezeptoren. So wurden zwei verschiedene Spacerlängen gewählt, zum einen eine direkte Verknüpfung der beiden Pharmakophore (**5**, **6**, **7**) und zum anderen ein um zwei C-Einheiten längerer Spacer, der eine zusätzliche Aminfunktion trägt (**13**, **14**).

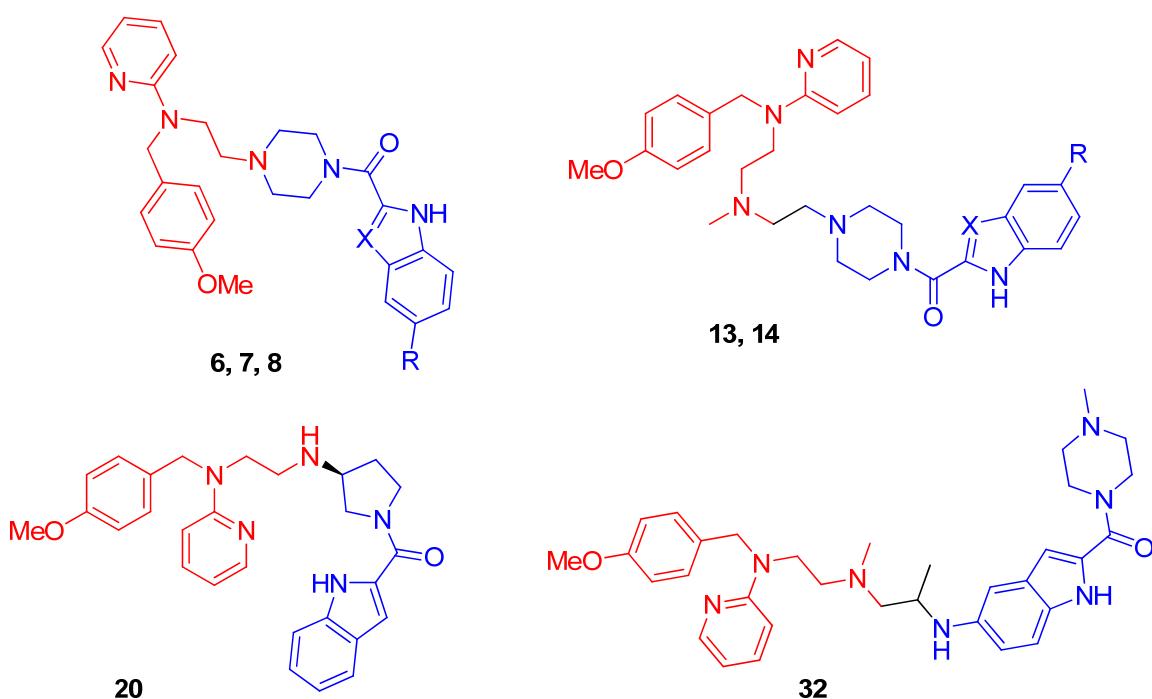


Abb. 2-1: Mepyramin-JNJ7777-Hybridmoleküle

Eine weitere Variation sollte an der Piperazin-Einheit vorgenommen werden. So wurde der starre Piperazin-Ring durch ein beweglicheres Bioisoster ausgetauscht, (S)-3-Aminopyrrolidin (**20**).

Bei Derivat **32** wurde der Verknüpfungspunkt geändert: Das Piperazin im H₄-Pharmakophor sollte nun frei bleiben, und die Verbindung zum H₁-Pharmakophor am aromatischen Teil des H₄-Pharmakophors erfolgen.

2.1.1.1 Synthesestrategie zur Darstellung der Derivate mit Verknüpfung an der basischen H₄R-Pharmacophor-Untereinheit (5 – 7, 13 – 14, 20)

Die kürzeren Derivate wurden über eine fünfstufige Synthese dargestellt. Ausgangspunkt hierfür ist *N*-(2-Hydroxyethyl)-piperazin. Nach Boc-Schützung des freien Amins³³ wird die Alkoholgruppe von **1** in einer Redoxkondensation nach Mukaiyama³⁴ in das Iodid **2** umgewandelt. Hier wurde die klassische Vorschrift, bei der eine Base (Imidazol) zugesetzt wird, ein wenig abgeändert: Durch Weglassen einer Base wird das Piperazin im Molekül während der Reaktion protoniert und am Ende kann das Produkt einfach abgesaugt werden, weil das resultierende Salz in DCM ausfällt. Somit entfällt die säulenchromatographische Reinigung vom Phosphinoxid und die freie Base wird durch alkalisches Ausschütteln erhalten. Nucleophile Substitution³⁵ durch 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin ergibt Intermediat **3**. Nach Entschützung erfolgt mit Hilfe

des Kopplungsreagenzes DEPBT (3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on)³⁶ die Knüpfung der Amidbindung mit einem Indol-2-carbonsäurederivat (**5**, **6**, **7**).

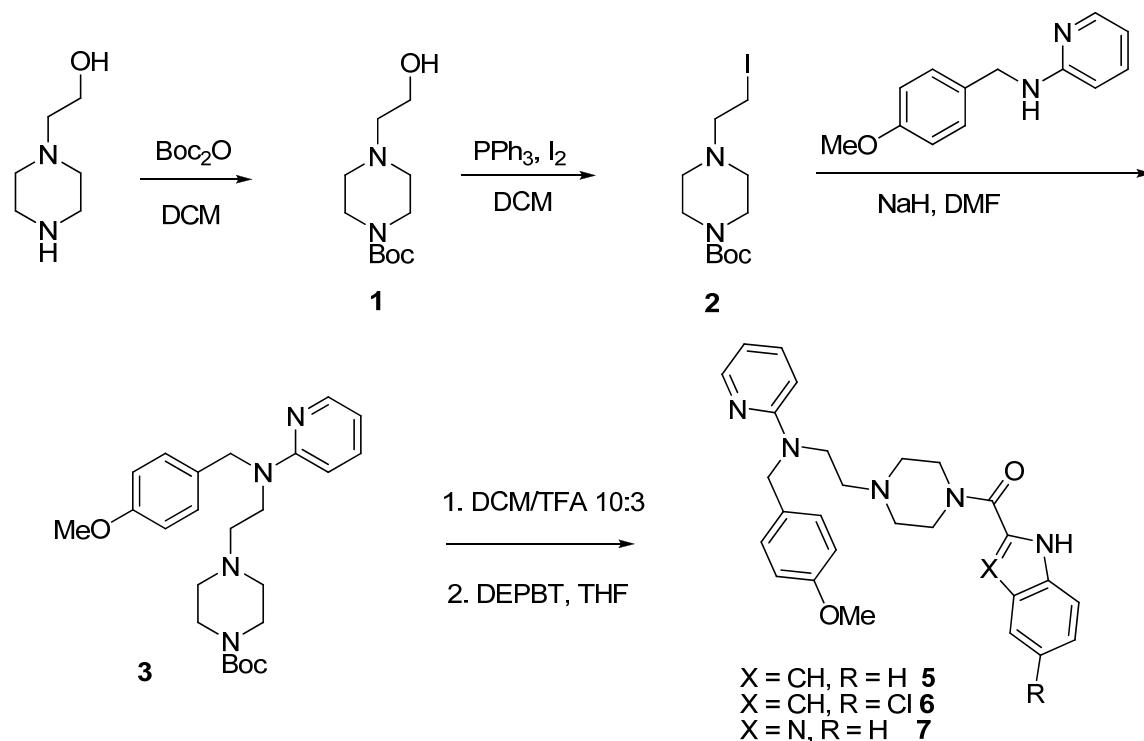


Abb. 2-2: Syntheseschema für **5**, **6** und **7**

Als Säurekopplungspartner dienten Indol-2-carbonsäure, 5-Chlorindol-2-carbonsäure und Benzimidazol-2-carbonsäure **9**. Letzteres wurde in einer zweistufigen Synthese dargestellt³⁷:

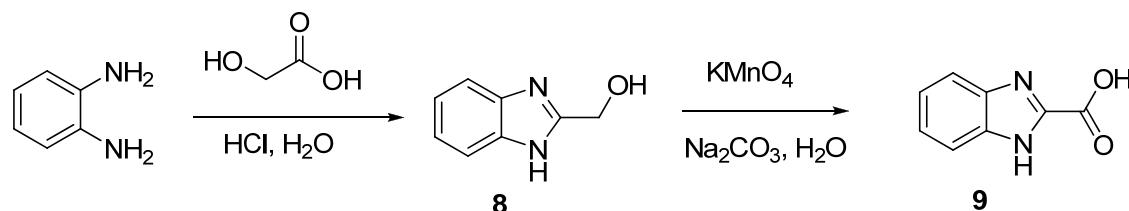


Abb. 2-3: Synthese der Benzimidazol-2-carbonsäure **9**

Es wurde auch das BOP-Reagenz (Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimethylamino)-phosphonium hexafluorophosphat) zum Knüpfen von Amidbindungen verwendet, aber häufig trat das Problem auf, dass das Produkt mit cancerogenem HMPA (Hexamethylphosphorsäuretriamid) verunreinigt war, das auch durch Säulen-chromatographie kaum eliminiert werden konnte. Deshalb wurde auf das Kopplungsreagenz DEPBT (Goodman's reagent) umgestiegen, bei dem es nicht zu unerwünschten Verunreinigungen des Produkts kam. In einer dreistufigen Synthese wurde das Reagenz selbst hergestellt³⁶:

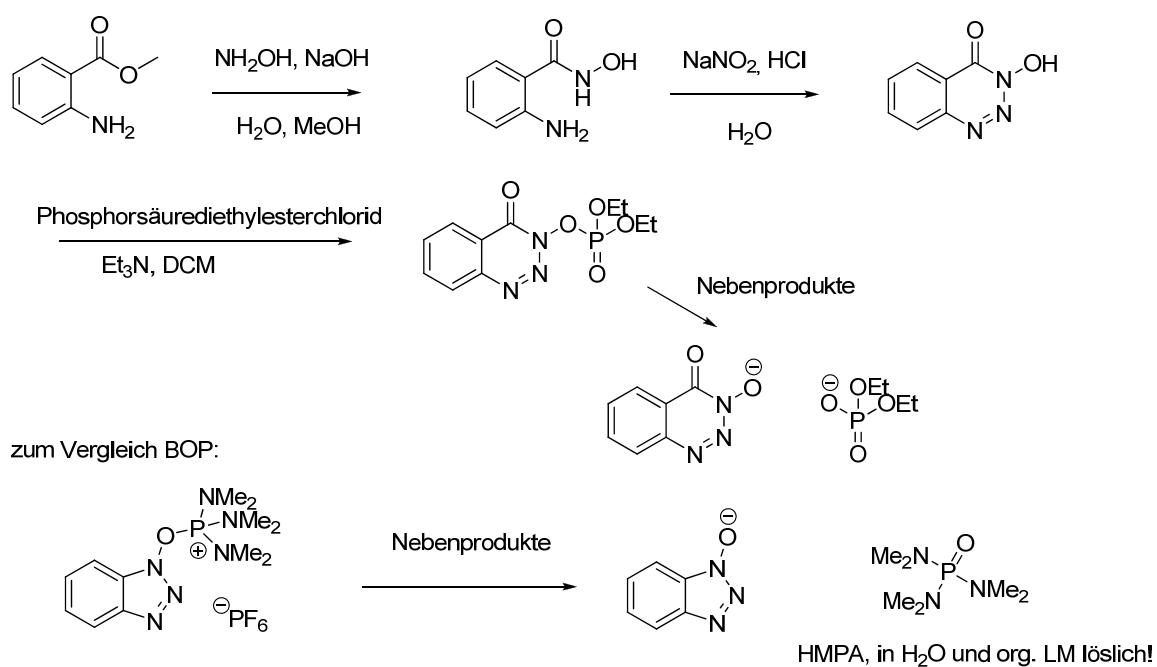


Abb. 2-4: Synthese von DEPBT und Vergleich mit BOP

Bei der längeren Variante der Ligandenreihe gibt es nur einen Unterschied in der Synthese: Das Edukt in der nucleophilen Substitution ist nicht mehr 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin, sondern das einfach demethylierte Mepyramin **10**. Es wurde auf die Synthesevorschriften von *Schunack und Wolf* zurückgegriffen³⁸, bei der durch Behandlung mit 1-Chlorethylchlorformiat zweifach methylierte Amine in die einfach methylierten umgewandelt werden.

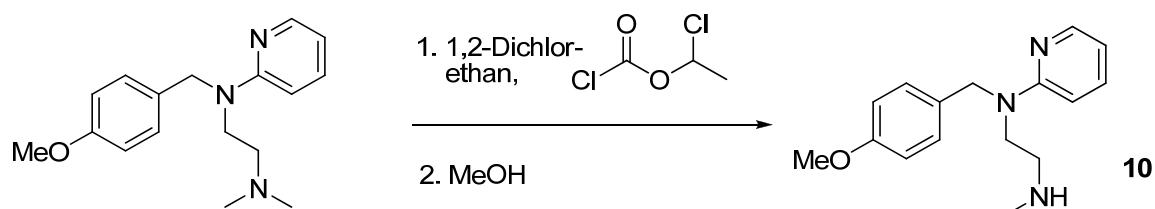


Abb. 2-5: Demethylierung von Mepyramin

Die Reaktion erfolgte nur mit sehr unbefriedigenden Ausbeuten, maximal 15 % im Vergleich zur Literatur mit Ausbeuten zwischen 46 bis 86 %, wobei *Schunack et al.*²⁹ jedoch andere Edukte verwendeten. Vermutlich stört der Pyridinring im Mepyramin-Molekül, so dass die Ausbeute nicht optimiert werden konnte. Der Versuch, einen alternativen Weg mit höherer Ausbeute zu finden, scheiterte. Erfolglos waren die Bemühungen von Substitutionsreaktionen^{35,39-41} am 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin mit verschiedenen C2-kettigen Bromderivaten (2-Bromethanol, *tert*-butyl 2-bromethylcarbamat⁴² **15** und Bromacetaldehyddiethylacetal).

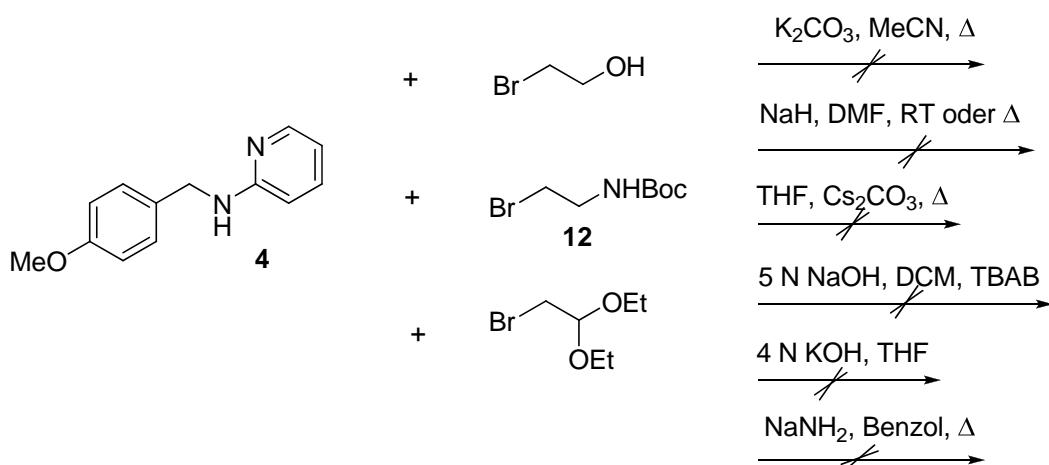


Abb. 2-6: fehlgeschlagene Substitutionsreaktionen

Somit wurden letztendlich die längeren Derivate **13** und **14** analog zur Synthesestrategie der kürzerkettigen Derivate dargestellt.

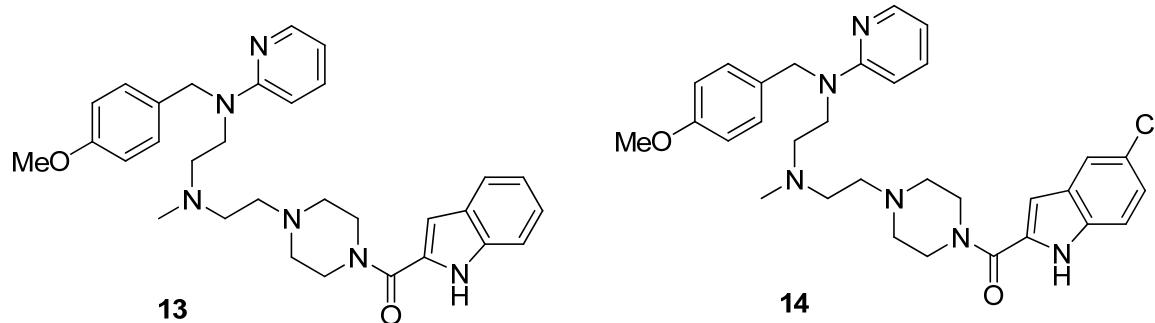


Abb. 2-7: Verbindungen **13** und **14**

Beim Austausch des Piperazins durch (S)-3-Aminopyrrolidin erweiterte sich der Syntheseweg, da dieses Edukt erst in das entsprechende Boc-geschützte, um eine Ethylkette verlängerte Bromintermediat **17** überführt werden musste: Anfangsschritt ist die selektive Boc-Schützung am sekundären Amin **16**⁴³, gefolgt von der Umsetzung mit Bromacetylbromid zum Bromacetamidopyrrolidin-Derivat **17**. Dieses Intermediat kann wie oben schon beschrieben mit 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin in einer Substitutionsreaktion umgesetzt werden (**18**). Bevor die Boc-Schutzgruppe entfernt wird und die Indol-2-carbonsäure angekoppelt wird, muss die Amidfunktion noch mit Boran⁴⁴ reduziert werden (**19**).

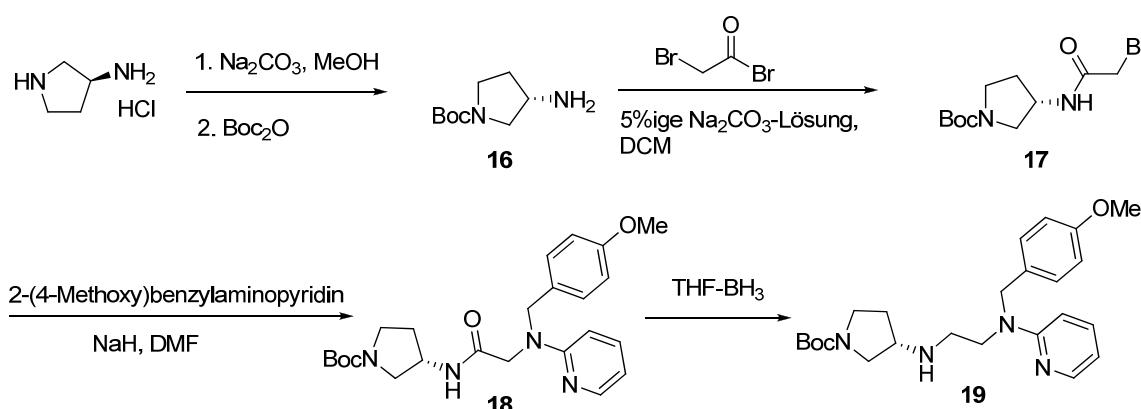


Abb. 2-8: Syntheseweg Verbindung 20

2.1.1.2 Synthesestrategie für den Liganden mit Verbrückung am aromatischen Teil des H₄R-Pharmacophors (32)

Nach retrosynthetischer Analyse wird schnell klar, dass zwei Bausteine synthetisiert werden müssen: ein (5-Aminoindol)(piperazin)methanon-Derivat (**29**) und eine Mepyramin-Struktur mit Carbonylspacer (**31**), damit diese zwei Einheiten im letzten Schritt durch eine reduktive Aminierung das gewünschte Molekül (**32**) ergeben (Abb. 2-9).

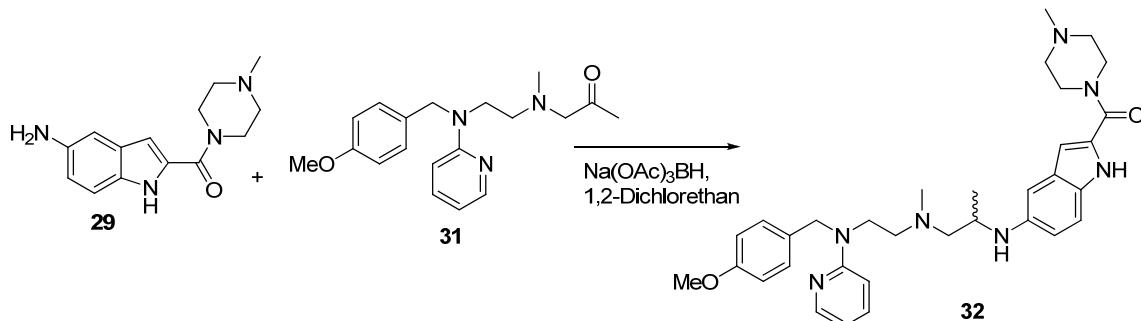


Abb. 2-9: Bausteine für 32

Ausgangspunkt der Synthese für das 5-Aminoindolderivat ist das Indolin-Molekül. Nachdem es mit der Phenylsulfonyl-Schutzgruppe versehen wurde (**21**), kann die Nitrogruppe durch Behandlung mit konz. HNO_3 eingeführt werden (**22**). Dann wird das Indolin-Grundgerüst mit MnO_2 zum Indol oxidiert (**23**), gefolgt von der Reduktion der Nitrogruppe mit $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ⁴⁵ (**24**). Die Nitrogruppe kann auch mit Ammoniumformiat und Pd/C als Katalysator reduziert werden. Es stellte sich aber heraus, dass die Reaktion mit SnCl_2 viel schneller abläuft, anstatt in 24 h war die Reaktion schon nach 2 h beendet. Die Aminogruppe wird nun Boc-geschützt (**25**), daraufhin kann bei -78 °C mit zwei Äquivalenten t-BuLi die Carboxylgruppe in Position 2 mit Trockeneis eingeführt werden (**26**)⁴⁶. Kopplung mit Methylpiperazin und DEPBT ergibt Intermediat **27**. Nun

müssen nur noch die beiden Schutzgruppen entfernt werden. Da **27** relativ schwerlöslich ist, ist darauf zu achten, dass erst mit DCM/TFA die Boc-Gruppe und dann unter basischen Bedingungen⁴⁷ die Phenylsulfonylgruppe (**29**⁴⁸) entfernt wird.

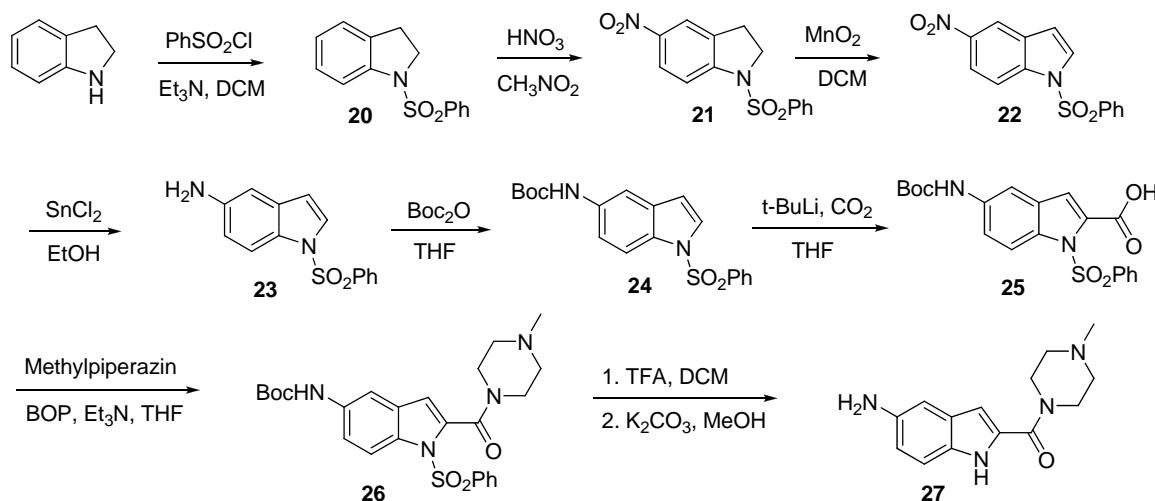


Abb. 2-10: Synthese von **29**

Bevor dieser Syntheseweg beschritten wurde, wurde ein alternativer Weg getestet, der um einiges kürzer erschien, aber nicht zum Erfolg führte. Die Idee war, das Amino-substituierte Benzimidazol-Analogon darzustellen, indem die oben schon beschriebene Kondensationsreaktion³⁷ aus 4-Nitro-1,2-phenylenediamin und Glykolsäure benutzt wird. Aber da die entstehenden Nitrozwischenprodukte, das alkoholische wie auch das zur Säure oxidierte, in gängigen Lösungsmitteln nicht mehr in Lösung zu bringen sind, konnte dieser Weg nicht weiter beschritten werden.

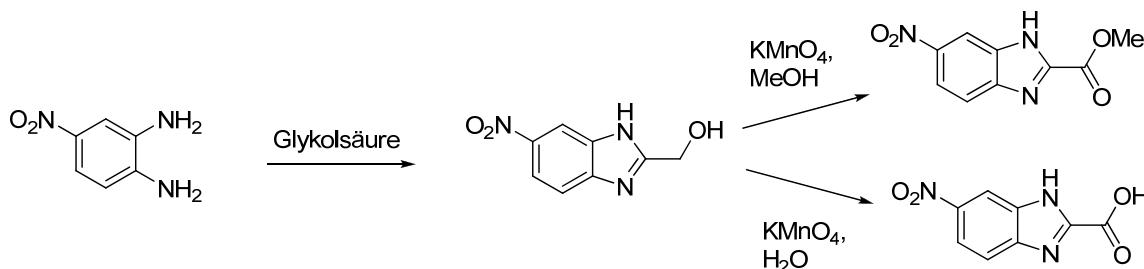


Abb. 2-11: Schwerlösliche Nitroverbindungen

Der zweite Baustein, mit dem dann die reduktive Aminierung⁴⁹ durchzuführen ist, geht vom demethylierten Mepyramin **10** aus. Hierfür wurde 1-Brompropan-2-on (**30**)⁵⁰ dargestellt, das in einer Substitutionsreaktion mit **10** umgesetzt wurde.

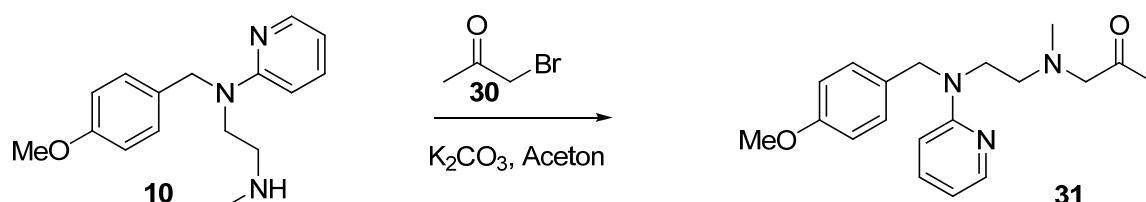
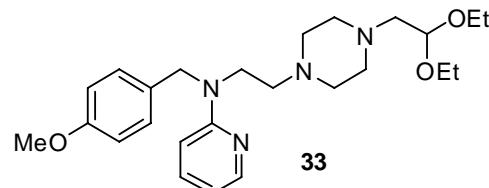
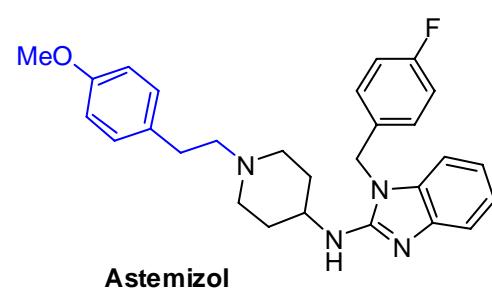


Abb. 2-12: Synthese von **31**

Es wurde auch versucht, den entsprechenden Aldehyd darzustellen, indem zunächst **10** mit Bromacetaldehyddiethylacetal umgesetzt wurde. Probleme machte dann aber die Hydrolyse des Acetals **33** unter sauren Bedingungen³⁵: unter Röhren in 0,7 M HCl in THF bei Raumtemperatur entstand der korrespondierende Aldehyd auch nach Tagen nur in Spuren. Bei forcierten Bedingungen zeigte sich die Instabilität des Moleküls: nach Erhitzen oder höherer Säurekonzentration konnte weder das Edukt noch das gewünschte Produkt isoliert werden. Deshalb wurde dann auf die Ketoverbindung **31** umgestiegen.



2.1.2 Moleküle, abgeleitet von Astemizol



Eine weitere Ligandenreihe ist angelehnt an Astemizol. Denkt man sich den Teil mit Ethyl-(4-methoxy)benzol-Teilstruktur weg (hier in blau), erinnert das verbleibende Gerüst im weitesten Sinne an die JNJ7777-Verbindung, mit dem Unterschied, dass die Amidbindung zum basischen Molekülteil durch eine Aminstruktur ersetzt ist und noch eine zusätzliche, flexible aromatische Einheit in Form des 4-Fluorbenzylsubstituenten vorhanden ist.

In Abb. 2-13 ist die von Janssens *et al.*⁵¹ beschriebene Synthese dargestellt: im 1. Schritt wird das Isothiocyanat **34** gebildet. Dieses wird mit Phenylendiamin zum Thioharnstoffderivat **35** umgesetzt. Durch Einsatz von Quecksilberoxid entschwefelt man dieses Molekül und erhält die Benzimidazolzwischenstufe **36**. Diese wurde einmal sofort von der Ethylcarboxylat-Schutzgruppe durch Refluxieren in konz. HBr befreit (**37**), um ohne zusätzlichen aromatischen Substituenten in den Bindungsassays getestet zu werden. Des weiteren wurden aber auch verschiedene aromatische Substituenten am Stickstoff des Benzimidazols eingeführt: 4-Fluorbenzyl-, 2-Fluorbenzyl-, (4-Trifluormethyl)benzyl-, Phenethyl- und 4-Fluorphenethyl-Substituenten.

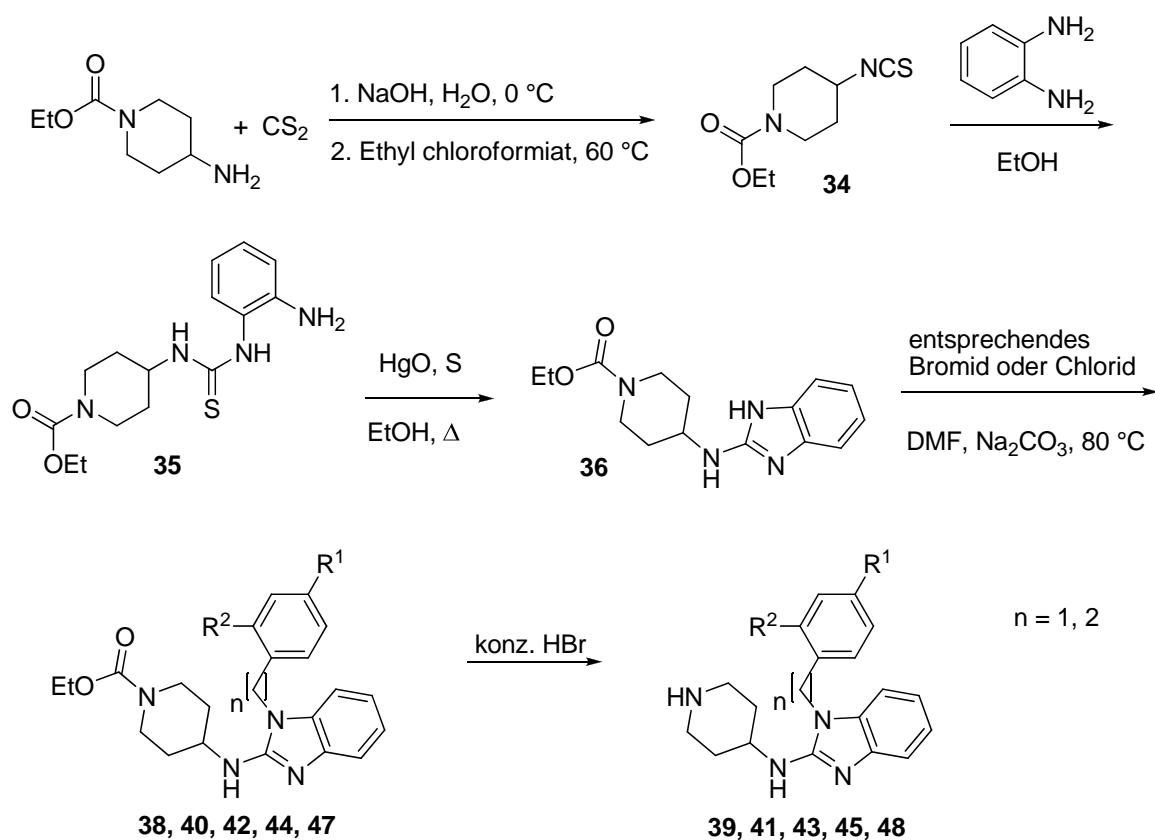


Abb. 2-13: Synthesestrategie nach Janssens et al.⁵¹

Am 4-Fluorethyl-substituierten Astemizol-Derivat **45** wurde am Piperidin-Ring mit Hilfe von Methyliodid eine Methylgruppe eingeführt (**46**).

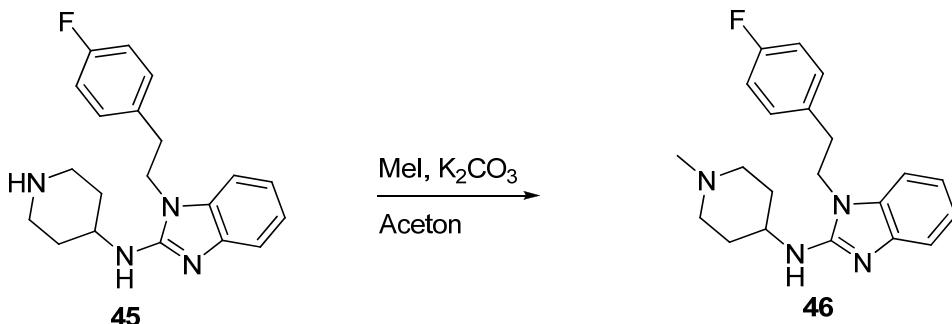


Abb. 2-14: Methylierung von **45**

Auch die beiden Isomere des chlorsubstituierten 1-(4-Fluorphenethyl)-*N*-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-amin **53** und **54** wurden synthetisiert. Dafür wurde wieder die Astemizol-Synthese von Janssens verfolgt (Abb. 2-15). Anstatt Phenylendiamin wird die Isothiocyanat-Zwischenstufe mit Chlorphenylendiamin zu den Thioharnstoffen **49** umgesetzt. Die beiden Isomere wurden nach diesem Schritt noch nicht getrennt, sondern als Gemisch analysiert und dem Desulfurierungsschritt unterworfen. Durch das tautomere Wasserstoff-Atom am Benzimidazol sind in diesem Zwischenprodukt **50** keine Isomere mehr zu unterscheiden.

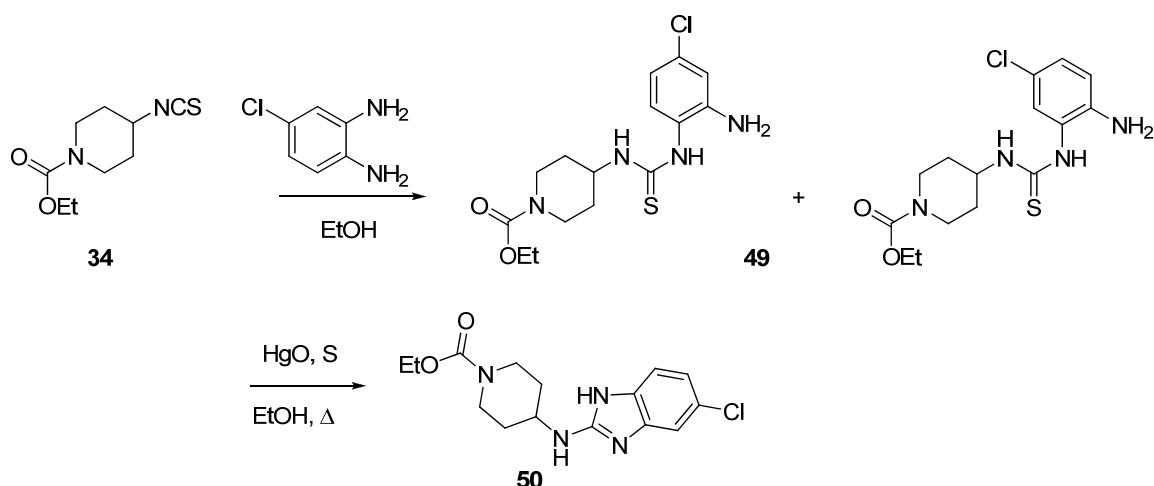


Abb. 2-15: Synthese von 50

Erst durch die Einführung des 4-Fluorphenethyl-Substituenten treten wieder zwei Isomere (**51**, **52**) auf, die durch Säulenchromatographie getrennt werden können. Durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie gelang die Strukturaufklärung der beiden Isomere. Dafür wurden zuerst die aromatischen Wasserstoffatome mittels COSY-Spektren zugeordnet. Wichtig dabei ist, das isolierte, hier rot eingezeichnete Wasserstoffatom zu identifizieren. Im $^1\text{H-NMR}$ zeigt dieser Wasserstoff eine Kopplungskonstante von 2,0 Hz, was ein charakteristischer Wert für die meta-Kopplungskonstante ist.

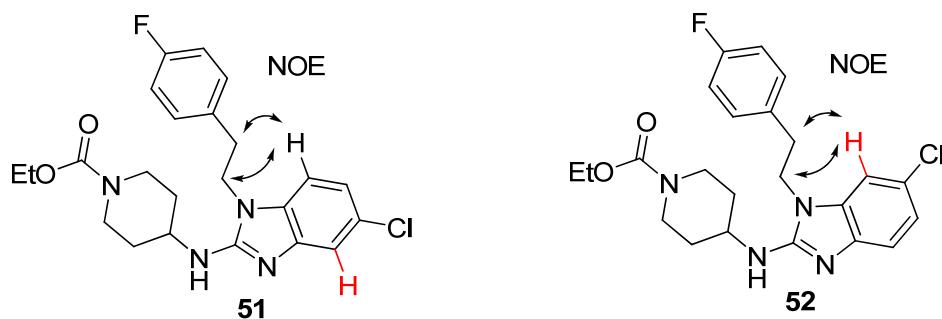


Abb. 2-16: Strukturen von 51 und 52

Mit Hilfe der NOESY-Spektren (Abb. 2-17 und 2-18) löst sich die Struktur dann auf: Man beobachtet nämlich eine direkte Kopplung zwischen der Ethylbrücke zum Wasserstoffatom in Position 4.

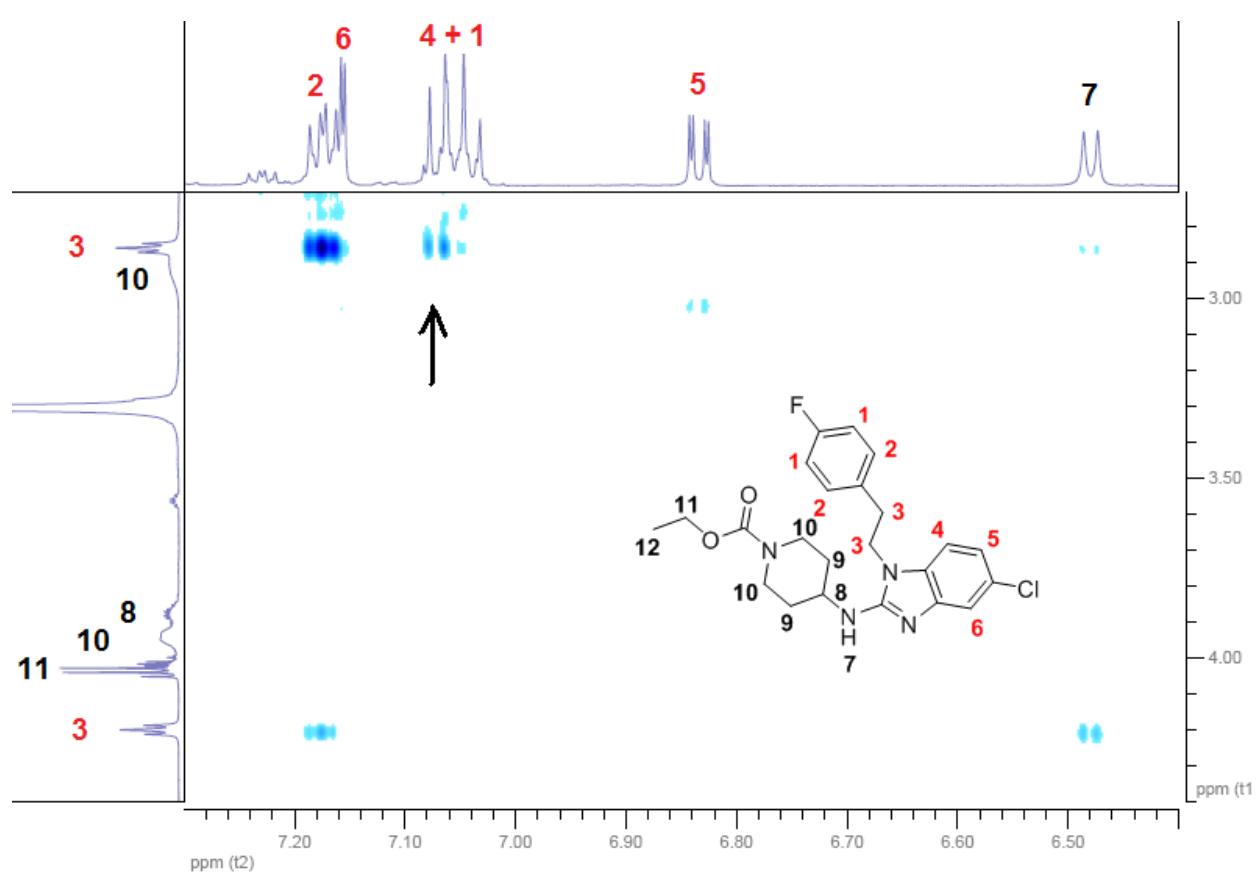


Abb. 2-17: Gespreiztes NOESY-Spektrum von 51

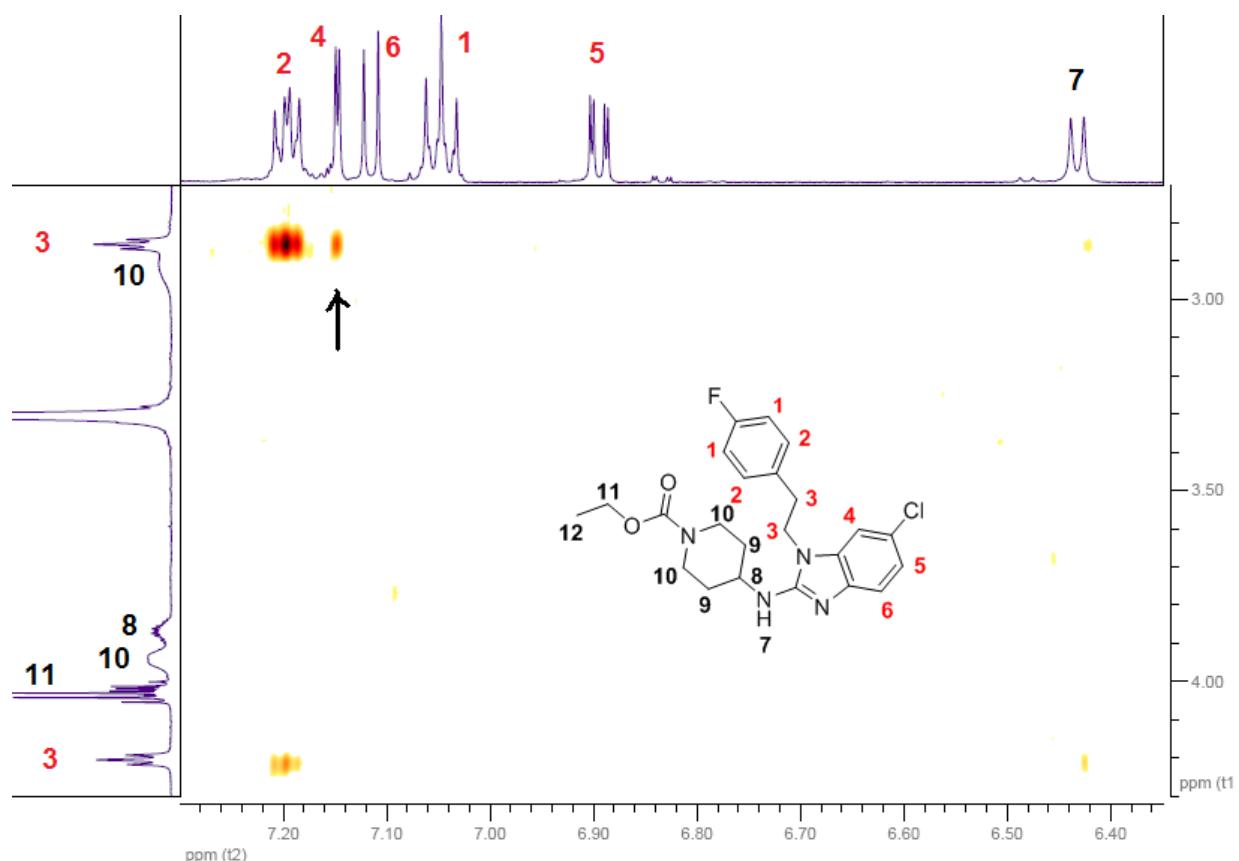


Abb. 2-18: Gespreiztes NOESY-Spektrum von 52

Angelehnt an die Astemizol-Struktur wurde auch ein JNJ7777-Derivat mit einem 4-Fluorobenzylsubstituenten am Indol-Stickstoff synthetisiert: durch Kopplung von Methylpiperazin an Indol-2-carbonsäure erhält man Intermediat **55**, das mit 4-Fluorobenzylchlorid in DMF und NaH umgesetzt wird⁵².

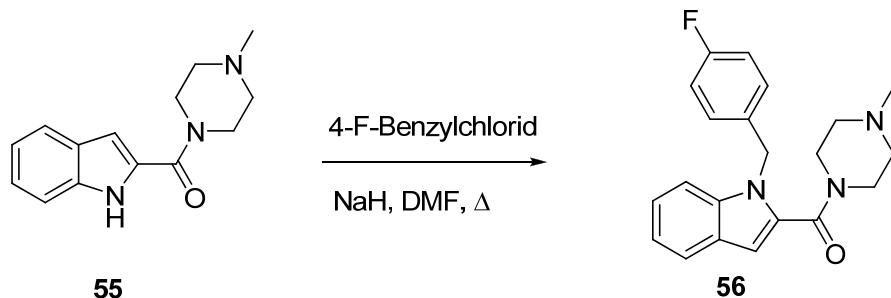
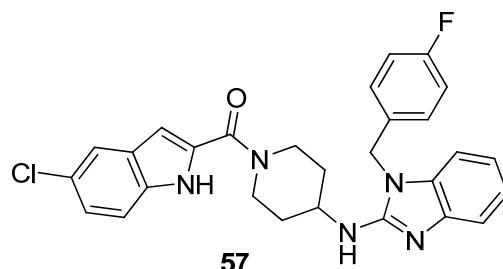


Abb. 2-19: Synthese von **56**

Es wurden noch drei Liganden synthetisiert, die das Astemizol-Motiv mit der JNJ7777-Substruktur in einem Molekül verknüpfen: in Verbindung **57** wurde die 5-Chlorindol-2-carbonsäure mit Hilfe des Kopplungsreagenzes DEPBT an das Piperidin des Astemizol-Derivats gekoppelt.



Auch zwei längere Derivate mit Piperazinethylspacer wurden dargestellt, wie in Abb. 2-20 zu sehen ist. Ausgangspunkt ist das Boc-geschützte Piperazinethyliodid **2**, das in einer Substitutionsreaktion an zwei Astemizol-Derivaten **39** und **45** umgesetzt wird. Zuerst wurde diese Reaktion unter Refluxieren in Aceton und K_2CO_3 durchgeführt, was meist zu einem unerwünschten, unbekannten Produkt führte, das zwei *t*-Butylgruppen im NMR zeigte. Die massenspektrometrische Untersuchung dieser Substanz führte auch nicht zur Klärung, welche Substanz nun eigentlich entstanden war. Für die Umsetzung von **45** mit **2** wurden dann andere Reaktionsbedingungen gewählt. Verwendet man DMF als Lösungsmittel und NaH zum Deprotonieren bei Raumtemperatur, entsteht die unbekannte Verbindung nicht. Die Entschützung und Kopplung mit Indol-2-carbonsäure von **58** und **60** erfolgt wie schon oben in Kap 2.1.2 beschrieben.

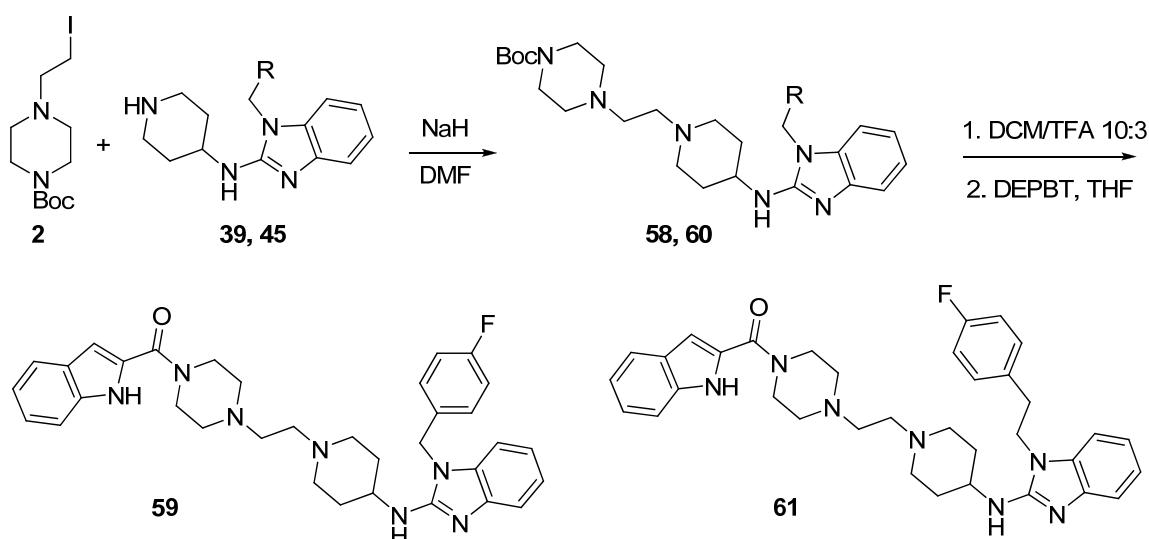
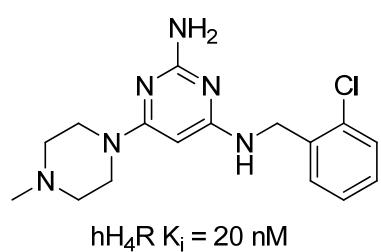


Abb. 2-20: Synthese von 59 und 61

2.1.4 Aminopyrimidine



Eine weitere bekannte Leitstruktur mit H_4R -antagonistischem Potential sind substituierte 2-Aminopyrimidine. Die Gruppe um Stark⁵³ synthetisierte eine Reihe von Liganden aus dieser Substanzklasse. Ein Beispiel ist links abgebildet, man findet wieder die basische Untereinheit in Form des Piperazin-Substituenten und einen aromatischen Substituenten.

Dieser aromatische Substituent sollte im Rahmen dieser Arbeit nun eine von Mepyramin abgeleitete Struktur sein, wie im folgenden dargestellt:

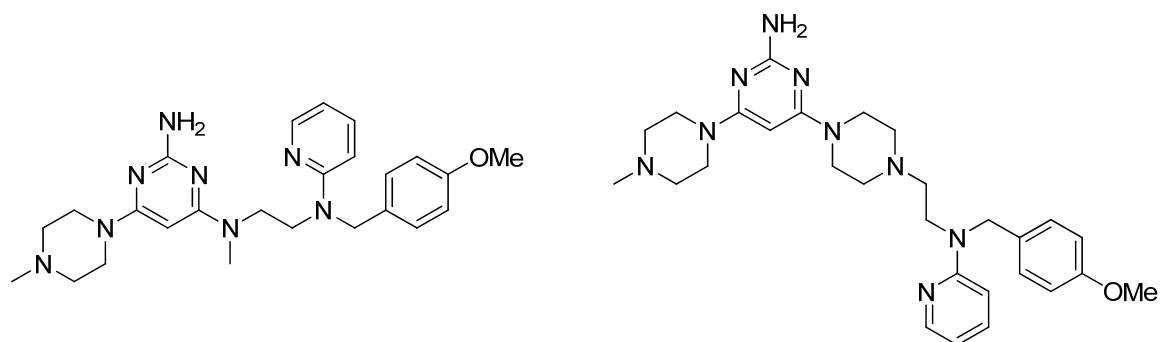


Abb. 2-21: Gewünschte Zielstrukturen

Diese zwei Verbindungen konnten nicht in reiner Form und größerer Menge dargestellt werden. Ausgangspunkt der Synthese ist 2-Amino-4,6-dichloropyrimidin bzw. 2-Amino-4-chloro-6-methylpyrimidin. Die erste nucleophile aromatische Substitution mit einem Amin verläuft nahezu quantitativ. Die Reaktion kann entweder konventionell durch Refluxieren in EtOH in ca. 12 h durchgeführt werden oder in 1 h als Mikrowellenreaktion⁵³. Das

Problem ist der zweite Substitutionsschritt. Nun ist der Aromat schon so elektronenreich durch den ersten Aminosubstituenten, dass die zweite Substitution nur noch zu ca. 5 % abläuft. Auch längere und harschere Reaktionsbedingungen konnten die Ausbeute nicht erhöhen. Nach säulenchromatographischer Reinigung stellte sich heraus, dass das isolierte Produkt nicht stabil ist. Nach einem Tag konnten mittels DC-Kontrolle schon wieder mehrere Zersetzungsprodukte festgestellt werden.

So blieben als Endverbindungen nur die einfach substituierten 2-Aminopyrimidine übrig:

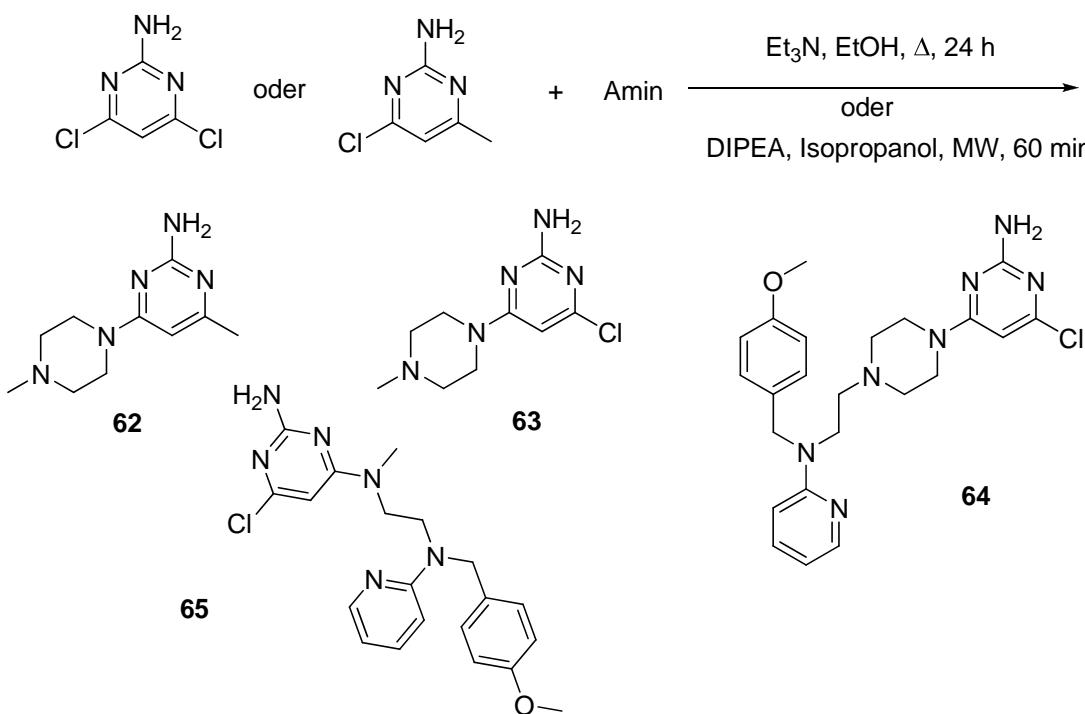


Abb. 2-22: Synthese der Aminopyrimidine

2.1.5 JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung

Dieses Unterkapitel stellt die Rückkehr zur ursprünglichsten Idee für diese Arbeit dar und es ist gleichzeitig die Brücke zum Kapitel 2.2, wo es um H₁R-Agonisten gehen wird. In meiner Diplomarbeit befasste ich mich noch ausschließlich mit der Synthese von H₁R-Agonisten. Und damals bestand schon das Interesse, H₁R-agonistische Strukturen (Histamin, Histaprodifen) mit einer oder zwei Aminosäuren zu koppeln. Im Hinblick auf die vielen Wechselwirkungsmöglichkeiten mit dem Rezeptorprotein schienen solche peptidischen Substrukturen interessant, sowohl für pharmakologische wie auch für Molecular Modelling Studien. Als das Thema dieser Arbeit auf H₁R-/H₄R-Antagonisten erweitert wurde, wurden auch vier Vertreter von Liganden synthetisiert, die die JNJ7777-Grundstruktur um 1 - 2 Aminosäuren erweitern. Verwendet wurden *L*-Serin, *L*-

Phenylalanin und *L*-Histidin, die über einen Ethylspacer an das Piperazin des H₄R-Pharmakophors gehängt wurden.

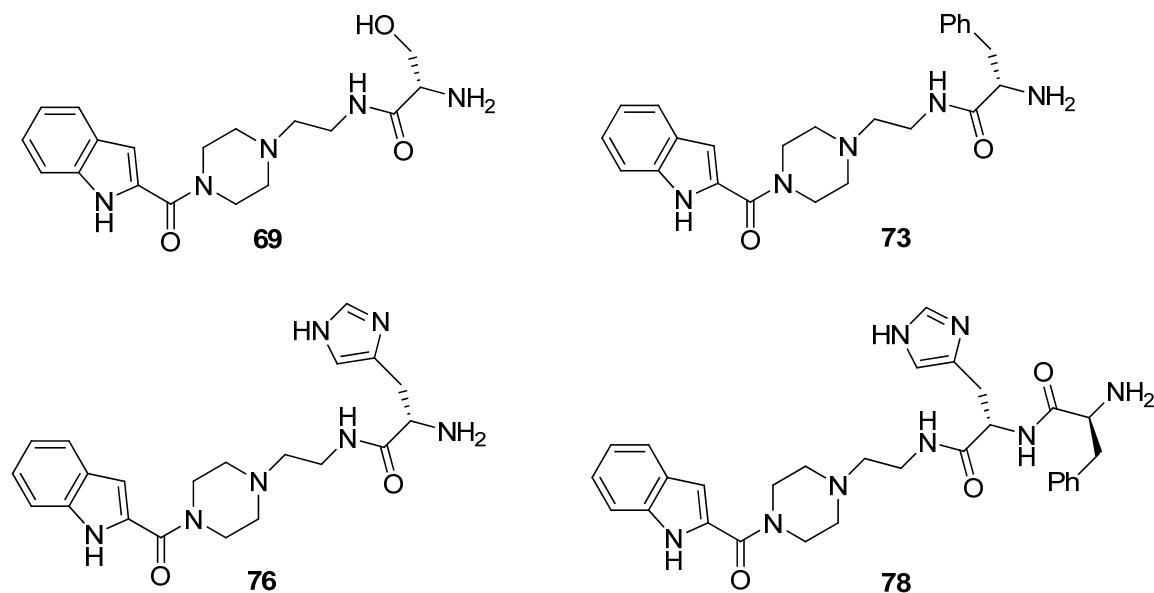
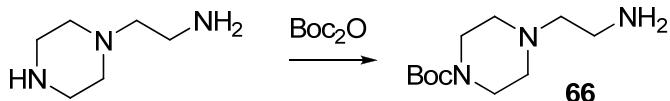


Abb 2-23: JNJ7777-Derivate mit Aminosäureverlängerung

Das schwierigste an der Synthese war, den Baustein 1-(2-Aminoethyl)piperazin selektiv an einer Aminogruppe zu schützen.



Standardverfahren aus der Literatur, um zwischen primären und sekundären Aminen in einem Molekül zu unterscheiden, verwenden Reagenzien wie Ethyltrifluoracetat, Tritylchlorid oder Benzaldehyd, die mit dem primären Amin reagieren. Die Literaturrecherche förderte aber auch eine elegantere Möglichkeit zu Tage. *Laduron et al.*⁵⁴ verwendeten Methylisobutylketon (MIBK) als Lösungsmittel und synthetisierten so erfolgreich *tert*-Butyl-4-(2-aminoethyl)piperazin-1-carboxylat. Basierend auf dieser Synthesevorschrift wurde 1-(2-Aminoethyl)piperazin erst 2 h in MIBK und Natriumsulfat als Trocknungsmittel refluxiert. Nun sollte die Iminbildung abgeschlossen sein. Nach dem Abkühlen wurde Boc-Anhydrid zugegeben. Nach Isolierung des geschützten Iminderivats sollte die Iminbindung durch Wasserzugabe und erhitzen auf 50 °C hydrolysiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit gelang es jedoch nicht, das gewünschte Produkt zu isolieren. Auch der Versuch, anstatt der Boc-Anhydridlösung gleich eine Lösung an aktivierter Indol-2-carbonsäure zuzugeben, scheiterte.

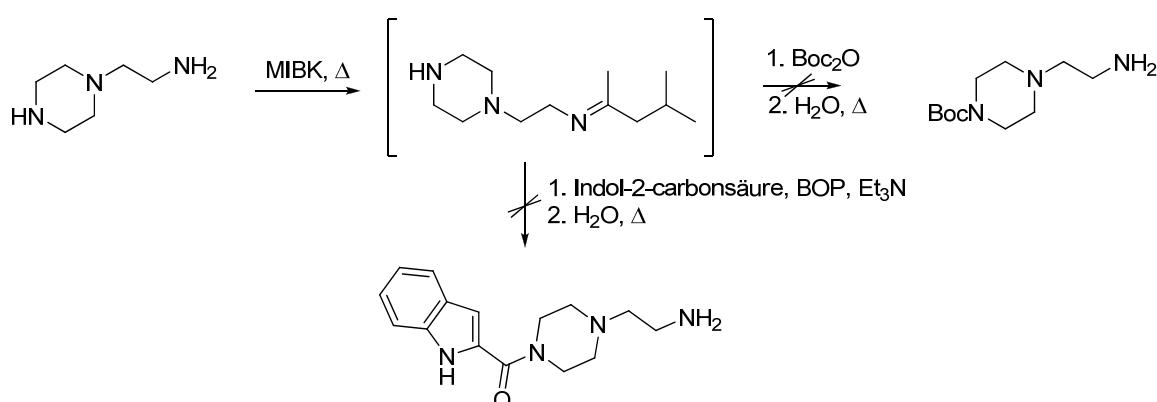


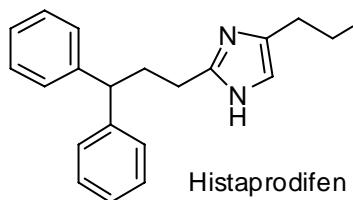
Abb. 2-24: Fehlgeschlagene Umsetzung von 1-(2-Aminoethyl)piperazin nach *Laduron et al.*⁴⁵

Eine andere Synthesevorschrift⁵⁵ führte aber dann zum Erfolg: In der Originalvorschrift ging es um die Einfachschützung eines Diaminopyridin-Derivats. Man gibt nur 0,9 Äquivalente Boc-Anhydrid zur Reaktionslösung und trennt dann beim Aufarbeiten durch saures Ausschütteln vom doppelt geschützten Produkt. Die Ausbeute ist mit 35 % zwar nicht sehr hoch, dafür ist die Reaktion einfach durchzuführen und das Produkt fällt sehr sauber an. Bemerkenswert ist auch der Umstand, dass die Einfachschützung selektiv am sekundären Amin stattfindet. Dieses wurde durch NMR-Experimente und Literaturvergleich⁵⁶ bewiesen.

Nachdem dieser etwas knifflige Reaktionsschritt etabliert war, stellte die restliche Synthese kein großes Problem mehr dar. Es müssen nur noch Amidbindungen geknüpft werden und die beiden orthogonalen Schutzgruppen entfernt werden. Die Aminosäuren wurden mit der Cbz-Schutzgruppe angekoppelt, welche im letzten Schritt durch Hydrierung entfernt wurde.

2.2 H₁-Rezeptor-Agonisten

Der andere Teil meiner Arbeit befasst sich mit H₁-Rezeptor-Agonisten. Für diese Substanzklasse ist zwar keine therapeutische Anwendung zu erkennen, aber trotzdem sind solche Liganden wichtig, um die Mechanismen und Kriterien der Rezeptoraktivierung auf molekularer Ebene besser zu verstehen. Und jeder potente Ligand kann helfen, Molecular Modelling Studien mit den Messergebnissen aus dem pharmakologischen Teil zu vergleichen und somit das computergestützte Design neuer Liganden zu verbessern. Aufbauend auf die Arbeiten von *Elz et al.*²⁸, *Menghin et al.*²⁹, *Kunze*⁵⁷ und *Striegl*⁵⁸, die Ligandenreihen basierend auf dem Grundkörper des Histaprodifens synthetisierten, sollten auch in dieser Arbeit Histaprodifen-Derivate synthetisiert werden.



Aber im Unterschied zu den früheren Arbeiten sollten nicht Phenylhistamine an das Histaprodifen gekoppelt werden, sondern peptidische Strukturen angebaut werden. Vorarbeiten dazu wurden schon in meiner Diplomarbeit⁵⁹ durchgeführt (Abb. 2-25), bei der das Histaprodifen durch Histamin ersetzt wurde und verschieden lange Spacers an das N^{α} des Histamins gehängt wurden, die von drei verschiedenen Amidbindungen abgeschlossen wurde (Dimethylamid, Benzylamid und Acetamid). Diese Liganden sollten erste Rückschlüsse liefern, in welcher Art und in welcher Entfernung vom Histaprodifen Aminosäuren gekoppelt werden sollen.

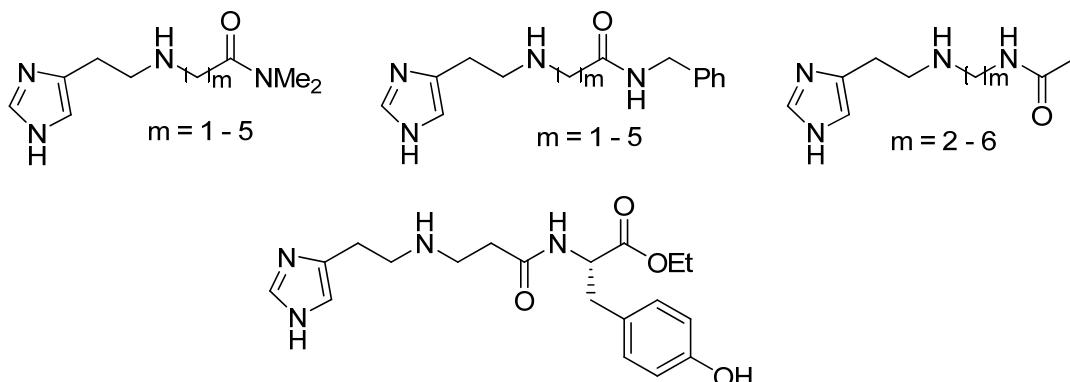
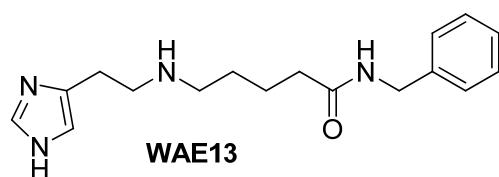


Abb. 2-25: Verbindungen aus der Diplomarbeit

Nach der Testung der Verbindungen aus der Diplomarbeit am Meerschweinchenileum stellte sich heraus, dass die Liganden durchwegs einen recht schwachen Agonismus am gpH₁R ausüben. Die pEC₅₀-Werte bewegen sich zwischen 4,3 und 5,3.



Ein positiver Ausreißer mit einem pEC₅₀-Wert von 5,9 stellte ein Vertreter aus der Benzylamid-substituierten Reihe dar (**WAE13**). Deshalb wurde zu Beginn dieser Doktorarbeit versucht, noch einige Verbindungen dieser Art zu synthetisieren. Die Spacerlänge von vier Kohlenstoffatomen sollte erhalten bleiben und verschiedene aromatische Substituenten am Amidende eingeführt werden.

2.2.1 Modifizierte Histamin-Liganden

Der Syntheseweg zu diesen Derivaten wurde in der Diplomarbeit schon etabliert und soll hier nur noch kurz skizziert werden. Der erste Schritt ist die nucleophile Öffnung des δ -Valerolactons durch ein Amin (Naphthylamin, substuierte Benzylamine und Aniline)⁶⁰. Der so entstandene Alkohol wird mittels Swern-Oxidation⁶¹ in den korrespondierenden Aldehyd überführt. Der Aldehyd wird in einer reduktiven Aminierung mit Histamin zum Endprodukt umgesetzt.

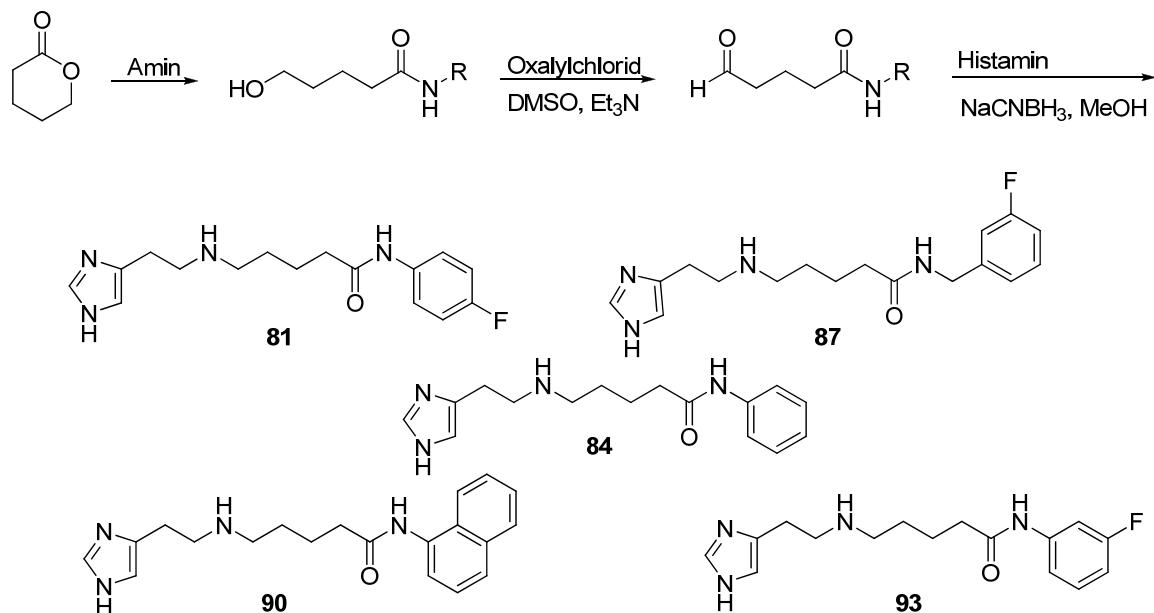
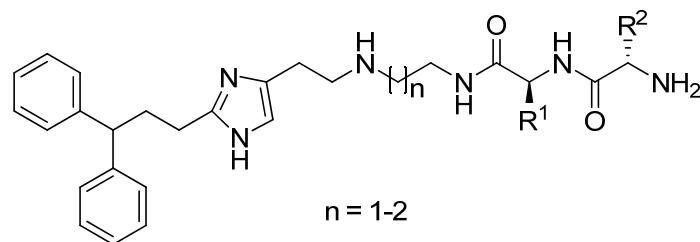


Abb. 2-26: Syntheseschema für die WAE13-analogen Substanzen

2.1.2 Histaprodifen-Derivate

2.1.2.1 Histaprodifen-Synthese

Nun sollten Histaprodifen-Derivate synthetisiert werden, die am N^{α} einen zwei bis drei C-Einheiten langen Spacer tragen, an dem dann ein bis zwei Aminosäuren angehängt werden.



Für den Histaprodifen-Teil des Moleküls wurde bis auf geringfügige Änderungen (Synthese von **98**)⁶² die von *Strieg*⁵⁸ und *Kunze*⁵⁷ entwickelte Synthesestrategie verwendet.

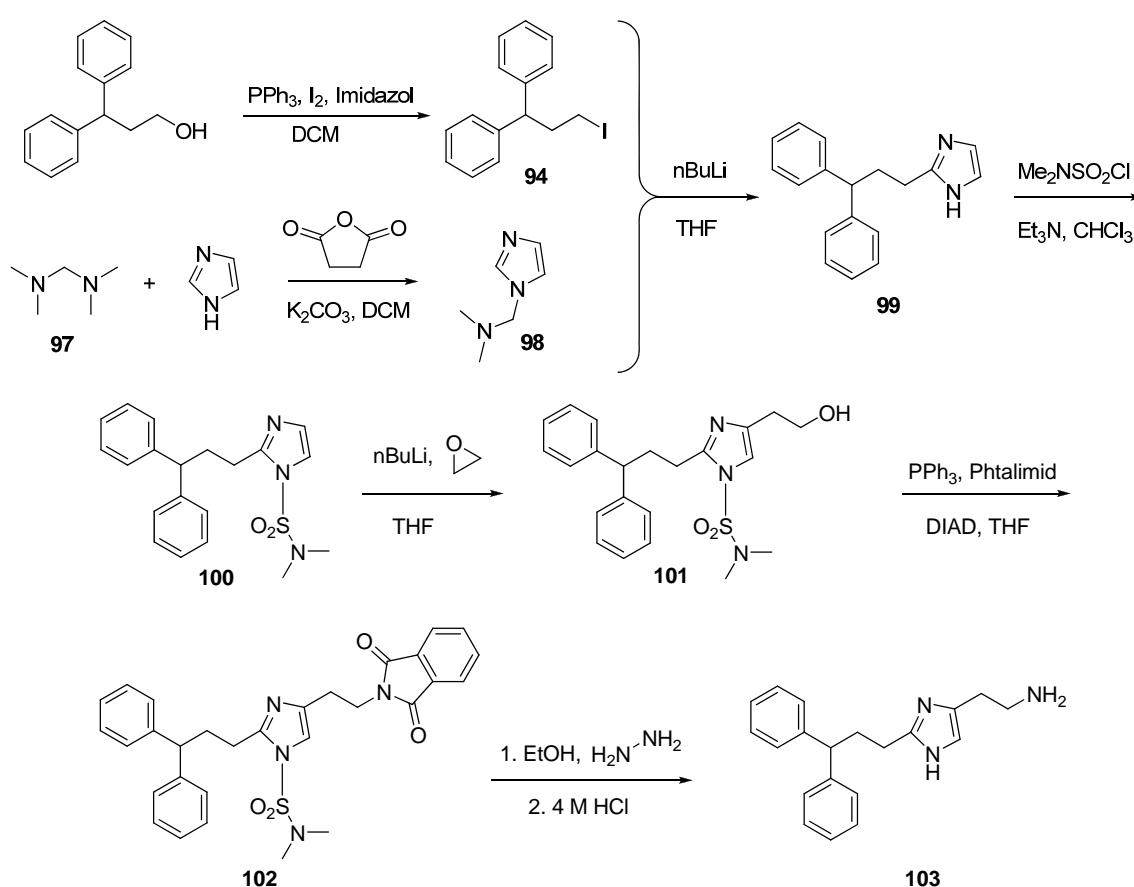


Abb. 2-27: Synthese von Histaprodifen 103

Der problematischste Schritt ist die Umsetzung von 3,3-Diphenylpropyliodid 94 mit dem geschützten Imidazol 98, welche im besten Falle mit einer Ausbeute von 22 % verläuft. Auch macht es keinen Unterschied, ob man die Diethylaminomethyl-Schutzgruppe oder die Dimethylaminomethyl-Schutzgruppe am Imidazol verwendet.

Versuche, die Synthese ein wenig abzukürzen, indem man geschütztes Histamin für die Reaktion einsetzt, scheiterten.

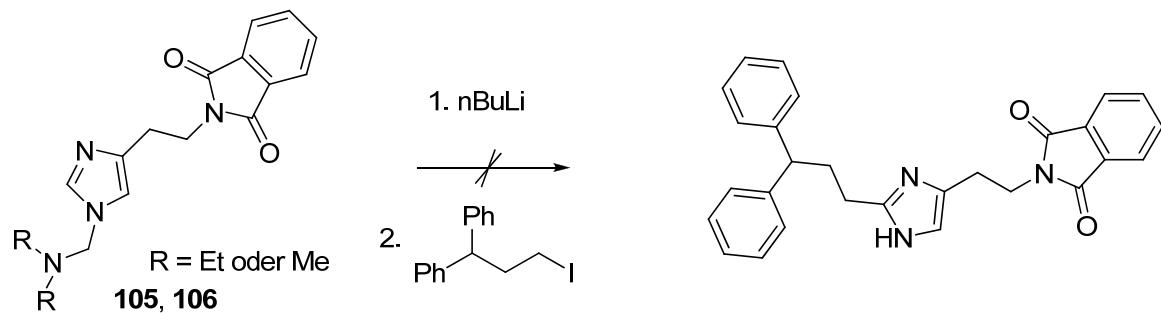


Abb. 2-28: Fehlgeschlagene Lithiierung an 105 und 106

2.1.2.2 Synthese der beiden Endverbindungen 113 und 117

Nach vielen Fehlschlägen in der Synthese der geplanten Zielmoleküle, auf die im letzten Unterkapitel noch kurz eingegangen werden soll, wurde der Aminosäure-Teil über eine Amidbindung an das Histaprodifen-Molekül gekoppelt.

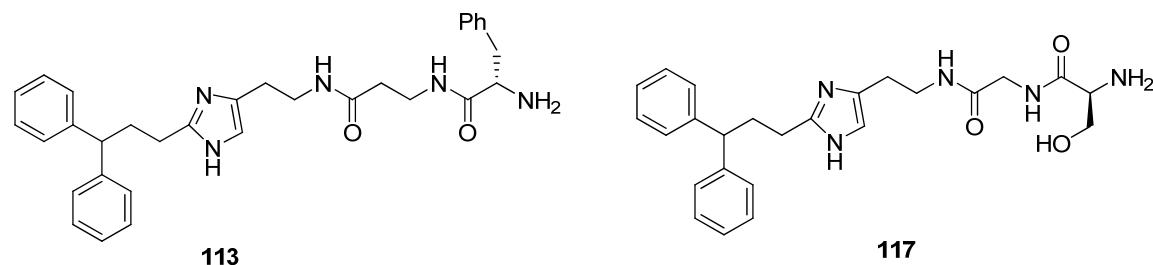


Abb. 2-29: Strukturen von 113 und 117

Dafür wurde im Fall von **113** die Verlängerungseinheit, das β -Alanin-*L*-Phenylalanin-Dipeptid synthetisiert, das dann an das geschützte Histaprodifen gekoppelt wurde. Abschließender Schritt ist die Entfernung der beiden Schutzgruppen.

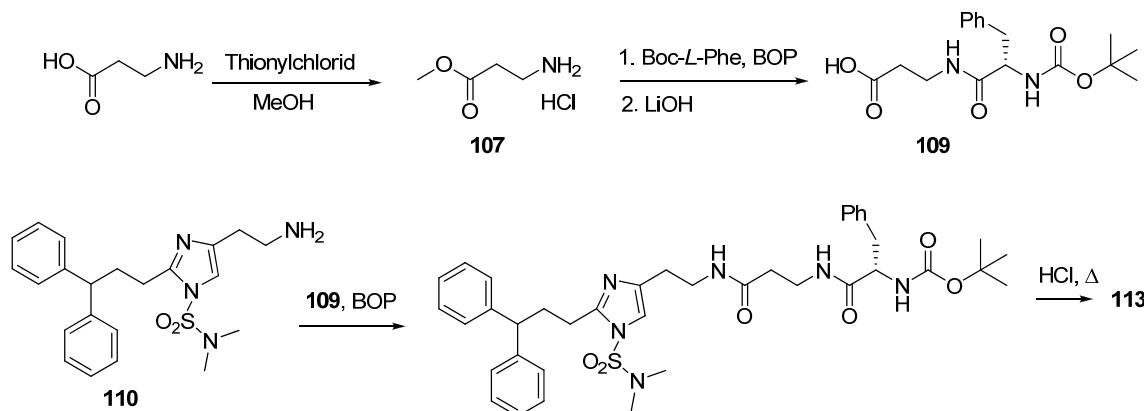


Abb. 2-30: Synthese von 113

Mit dem hydrophileren *L*-Serin gestaltete sich die Synthese des Dipeptids schwieriger, so dass hier erst Glycin an das Histaprodifen gekoppelt wurde und anschließend das *L*-Serin. Bei Einsatz des geschützten Histaprodifens **110** führen die relativ harschen Bedingungen zur Entfernung der Dimethylsulfamoyl-Schutzgruppe auch zu einem kleinen Teil dazu, dass die Amidbindungen am Ende wieder hydrolysiert werden, was die Reinigung dieses Gemisches sehr mühsam macht. Deshalb wurde zunächst getestet, ob die Bedingungen zur Boc-Schutzgruppenabspaltung, TFA in DCM bei Raumtemperatur, auch schon ausreichen, um die Dimethylsulfamoylschutzgruppe zu spalten. Das ist jedoch nicht der Fall.

2.1.2.3 Alternative Synthesestrategien und Fehlschläge

Es wurde natürlich auch versucht, Zielmoleküle darzustellen, bei denen das N^{α} des Histaprodifens als Amin erhalten bleibt. Das Mittel der Wahl, um dies zu erreichen, ist die reduktive Aminierung⁴⁹. So wurde zu Beginn versucht, den vom Histaprodifen abgeleiteten Aldehyd **118** mit entsprechenden Amin-Bauteilen (**119**⁶³, **122**, **124**) reduktiv zu aminieren. Die Reaktion verläuft jedoch so unsauber und mit derart schlechten Ausbeuten, dass dieser Weg aufgegeben wurde. Denn selbst wenn der kleine, entstandene Teil an Produkt isoliert werden konnte in der Unzahl an Nebenprodukten, war es nicht möglich, die Synthese durch Abspaltung der Schutzgruppen zu Ende zu führen, weil die Mengen einfach zu gering waren, um noch erfolgreich damit arbeiten zu können. Hinzuzufügen ist, dass an Edukten mindestens 1 mmol eingesetzt wurde.

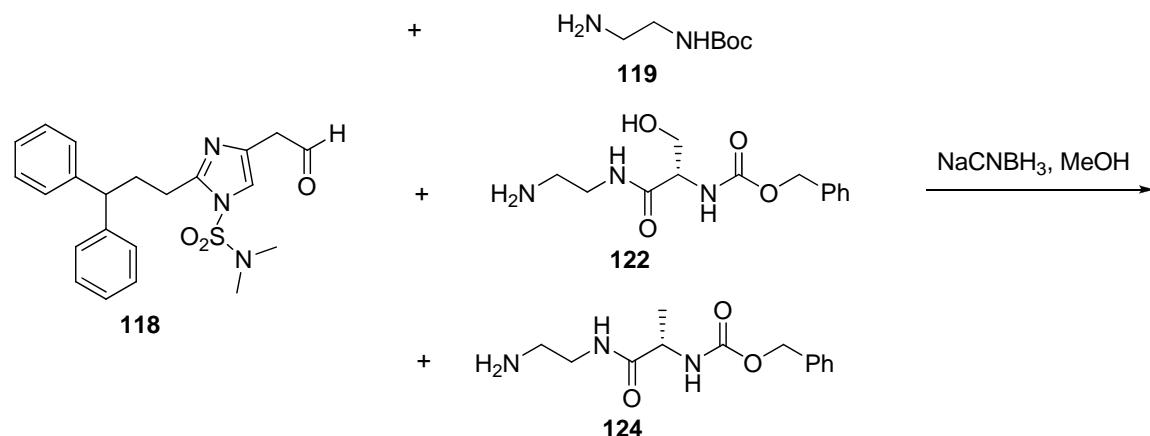


Abb. 2-31: Reduktive Aminierung mit **118**

Deshalb wurde die Strategie umgestellt: Histaprodifen (**103**) sollte nun an entsprechende Aldehyd-Einheiten (**126**, **130**, **132**) gekoppelt werden. Dadurch wurde auch vermieden, den instabilen, nicht-lagerungsfähigen Histaprodifen-Aldehyd (**118**) darzustellen, der auch nur in schlechten Ausbeuten zugänglich war.

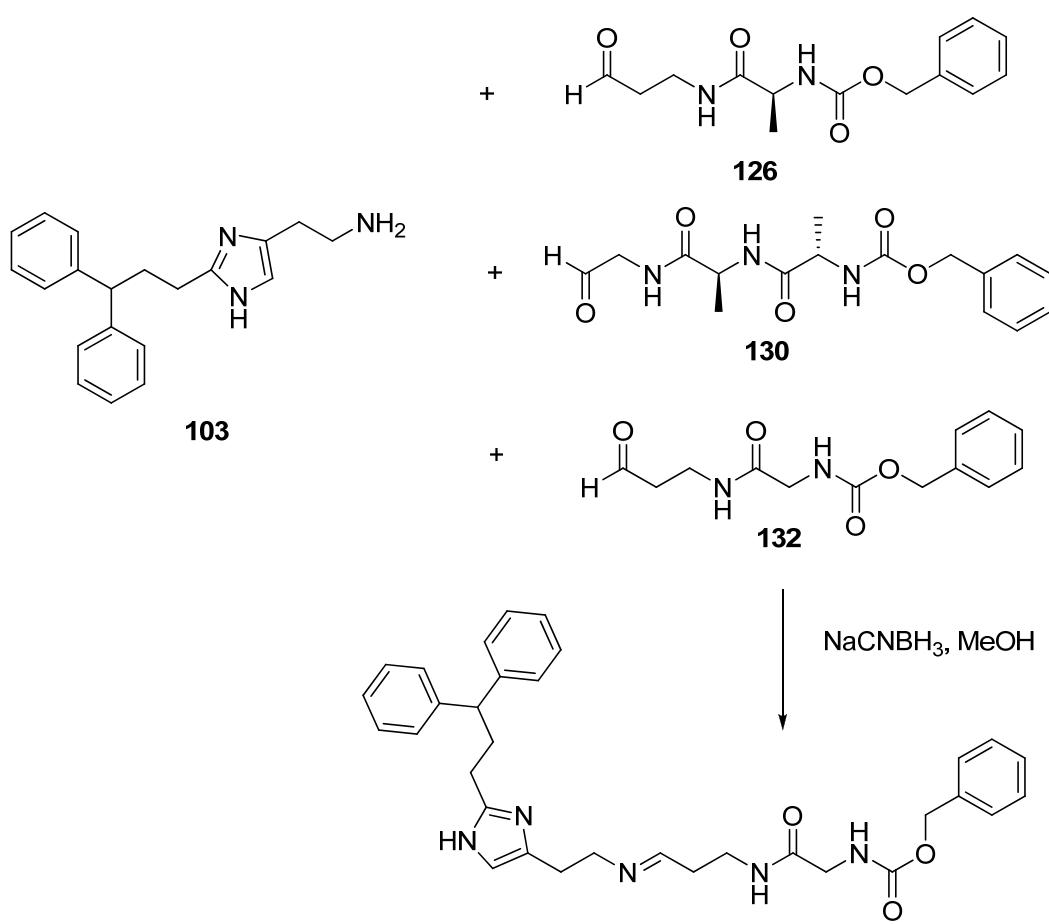


Abb. 2-32: Reduktive Aminierung mit 103

Es stellte sich aber heraus, dass das gebildete Imin so stabil ist, dass es mit den gängigen Reduktionsmitteln wie Natriumcyanoborhydrid oder Natriumtriacetoxyborhydrid nicht zum Amin reduziert werden konnte. Stärkere Reduktionsmittel wie Natriumborhydrid konnten nicht angewendet werden, da ansonsten die Amidbindungen auch reduziert worden wären.

3. Pharmakologischer Teil

In diesem Kapitel folgen nun die Besprechung der angewandten pharmakologischen Testsysteme und die Ergebnisse aus diesen Assays.

3.1 Pharmakologische Parameter

3.1.1 Pharmakologische Gleichungen⁶⁴

Zur Charakterisierung der Antagonisten in den funktionellen Assays dient die

$$\text{Schild-Gleichung: } \log K_b = \log [B] - \log(r-1)$$
$$\text{bzw. } pA_2 = -\log [B] + \log(r-1)$$

K_b :	Antagonist-Rezeptor Dissoziationskonstante
$[B]$:	Molare Konzentration des Antagonisten
r :	„concentration ratio“; antilog(ΔpEC_{50})
ΔpEC_{50} :	Differenz aus den pEC_{50} -Werten des Agonisten in An- und Abwesenheit des Antagonisten
EC_{50} :	Molare Konzentration eines Agonisten, die 50% des Maximaleffekts auslöst
A_2 :	Molare Konzentration des Antagonisten, die eine zweifache Rechtsverschiebung der Konzentration-Wirkungskurve des Agonisten herbeiführt; gute Abschätzung des K_b -Wertes bei Nichtkenntnis des Hemmmechanismus

Die Schild-Gleichung gilt nur, wenn es sich um einen rein kompetitiven und reversiblen Antagonismus handelt. Experimentell bestimmbar ist dies durch Vermessen des Antagonisten über einen weiten Konzentrationsbereich. Ergibt die Steigung des Schild-Plots 1 und erreicht der eingesetzte Agonist immer wieder den maximal möglichen Effekt, handelt es sich um einen rein kompetitiven, reversiblen Antagonisten.

Ist die Steigung des Schild-Plots ungleich 1 und/oder ist eine Depression der Konzentrations-Wirkungskurve des Agonisten zu beobachten, wird die Dissoziationskonstante des Antagonist-Rezeptor-Komplexes durch den pA_2 -Wert beschrieben. Dadurch wird ersichtlich, dass die Dissoziationskonstante angegeben wird, ohne eine Aussage über den Mechanismus der Inhibition des Antagonisten zu machen. In den folgenden Kapiteln sind teilweise zwei pA_2 -Werte angegeben. Ist die Steigung nicht signifikant von 1 verschieden, wird sie gleich 1 gesetzt. Für die Fälle, bei denen die Steigung signifikant von 1 verschieden ist, ermittelt durch den t-Test, findet man in der

Tabelle zwei pA_2 -Werte, ersterer errechnet mit der Steigung 1, der zweite Wert ist mit der tatsächlich vorgefundenen Steigung errechnet (pA_x).

Die Auswertung der Radioligand-Kompetitors-Bindungsassays erfolgt über die

Cheng-Prusoff-Gleichung:⁶⁵

$$K_i = IC_{50}/([A]/K_D + 1)$$

K_i : Gleichgewichts-Dissoziations-Konstante eines Liganden an Membranfragmenten in Konkurrenz mit einem Radioliganden (genähert)

K_D : Gleichgewichts-Dissoziations-Konstante eines Liganden, hier Radioligand

IC_{50} : Molare Konzentration eines Antagonisten, der den Effekt des Agonisten um 50% reduziert

[A]: Molare Konzentration des Agonisten

Diese Gleichung, wiederum abgeleitet vom Massenwirkungsgesetz, ergibt eine Abschätzung für die Dissoziationskonstante des Antagonisten unter folgenden Annahmen: Agonist wie Antagonist verhalten sich beide in einer reversiblen, kompetitiven Weise an der gleichen Bindungsstelle. Des Weiteren wird eine Gleichgewichtsreaktion vorausgesetzt und die Konzentrationen an freiem Agonist wie freiem Antagonist sind bekannt und konstant während des Experiments. Der K_D -Wert des Radioliganden muss ebenfalls bekannt sein ($K_D = 4,49 \pm 0,35$ nM für $[^3H]\text{Mepyramin}$ am hH_1R ⁶⁶, $K_D = 10,8 \pm 5,4$ nM für $[^3H]\text{Histamin}$ am hH_4R ⁶⁷).

3.1.2 Molekulare Mechanismen der Hemmung durch Antagonisten^{68, 69}

Die Bestimmung des Hemmmechanismus eines Antagonisten ist eine durchaus nicht triviale Aufgabe. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dies auch nicht ermittelt, die verschiedenen Möglichkeiten sollen hier aber kurz diskutiert werden.

Die beiden fundamentalsten Unterscheidungen gehen auf Sir John Gaddum aus dem Jahre 1957 zurück, der Antagonisten in kompetitive bzw. reversible (surmountable) und nichtkompetitive bzw. irreversible (insurmountable) unterteilte. Streng genommen können die Begriffe kompetitiv/nichtkompetitiv nur für Antagonisten verwendet werden, die im Experiment gleichzeitig mit dem Agonisten inkubiert wurden. Im klassischen Organbadsexperiment wird der Antagonist jedoch präinkubiert, also wird hier von reversiblem bzw. irreversiblem Antagonismus gesprochen. Ersterer führt zu einer Rechtsverschiebung der Agonistenskurve in Anwesenheit des Antagonisten, wobei der maximale Effekt stets wieder erreicht wird. Schild lieferte dazu die Standardmethode zur

Bestimmung der Potenz eines reversiblen Antagonisten (Kap. 3.1.1). Wird nun der maximale Effekt in Anwesenheit des Antagonisten nicht mehr erreicht, spricht man von irreversiblem Antagonismus und verschiedene Ursachen bzw. Hemmmechanismen können dem zugrundeliegen. Zuerst ist die Frage zu klären, ob es sich um einen orthosterischen (Konkurrenz mit dem Agonisten um die gleiche Bindungsstelle) oder einen allosterischen Antagonisten (Besetzung einer separaten Antagonisten-Bindungsstelle, die einen Konformationswechsel des Rezeptors nach sich zieht, der wiederum das Verhalten des Agonisten verändert) handelt.

Genauer sollen nun die möglichen Abläufe des orthosterischen Antagonismus besprochen werden. Extremfälle sind irreversible und pseudo-irreversible Antagonisten, was bedeutet, dass sie, innerhalb eines vernünftigen Zeitrahmens, durch Agonistenzugabe überhaupt nicht mehr verdrängt werden können. In diesem Sinne bedeutet irreversibel, dass eine kovalente Bindung zwischen Antagonist und Rezeptorprotein geknüpft wurde und pseudo-irreversibel, dass der Antagonist durch andere Wechselwirkungen oder extrem langsame Kinetik so stark an das Rezeptorprotein gebunden ist, dass er nicht mehr verdrängbar ist.

Oft, wie auch mit den im Rahmen dieser Arbeit ermittelten, pharmakologischen Daten ersichtlich wird, beobachtet man den Bereich zwischen den beiden Extremfällen des rein reversiblen und rein irreversiblen Antagonismus. Beeinflusst wird dies durch zwei Größen: Rezeptorreserve und Zeit. Im Experiment ist es häufig nicht möglich, die Zeit bis zur Aufnahme des agonistischen Effekts zu verlängern, obwohl dies nötig wäre, da die Reäquilibrierung zwischen Antagonist- und Agonist-Bindung im Rezeptor noch nicht erreicht ist. Oft liegt das am langsamen Offset, d. h. der langsamen Kinetik der Dissoziation des Antagonisten. Man spricht dann auch von Halb-Gleichgewichtsbedingungen. Ist dieses Zeitfenster zu eng, kommt es zur Depression der Agonistenkurve in Anwesenheit des Antagonisten. Das Maß der Depression hängt nun wieder von der Größe der Rezeptorreserve ab. Die Rezeptorreserve stellt ein Maß für die Zahl an Rezeptoren dar, die aktiviert werden müssen, um den maximalen Effekt auszulösen. Abhängig ist diese Zahl von der Rezeptorendichte, der Effizienz der Kopplung des Rezeptors in diesem Gewebe und schließlich der intrinsischen Aktivität des Agonisten. Verfügt das Gewebe über eine große Rezeptorreserve, kommt es erst bei höheren Antagonist-Konzentrationen zur Depression der Kurve. Würde man das gleiche Experiment an einem Gewebe ohne Rezeptorreserve durchführen, müsste es bei allen Antagonistenkonzentrationen zu einer Depression der Agonistenkurve führen.

3.2 Durchführung der organpharmakologischen Untersuchung am Meerschweinchen-Ileum

Meerschweinchen beiderlei Geschlechts (250 – 500 g) werden durch einen Genickschlag getötet und entblutet. Das Ileum wird entnommen, gespült und in Segmente von 1,5 – 2 cm Länge geschnitten. Die Organstücke werden in 20-mL-Organbäder gehängt (Vorlast: ca. 0,5 g), welche mit Tyrode-Lösung gefüllt sind. Die wässrige Tyrode-Lösung setzt sich wie folgt zusammen [mM]: NaCl 137, KCl 2,7, CaCl₂ 1,8, MgCl₂ 1,0, NaH₂PO₄ 0,4, NaHCO₃ 11,9 und D-Glucose 5,0. Die Lösung wird mit 95 % O₂-5 % CO₂ begast und auf einer konstanten Temperatur von 37 °C gehalten. Nach einer Äquilibrierungszeit von 30 Minuten werden die Organe je dreimal mit Histamin (1 µM, dann 10 µM) vorstimuliert und wieder ausgewaschen. Außerdem wird jeweils noch Atropin (0,05 µM) zugegeben, um cholinerge M-Rezeptoren zu blockieren.

Nun werden die Konzentrations-Wirkungskurven aufgenommen. Nach der Aufnahme einer Histamin-Standardkurve (0,01 µM bis 30 µM) folgt die Zugabe des Antagonisten, der 15 Minuten inkubiert, falls nicht anders angegeben. Darauf folgt die Aufnahme einer zweiten Histamin-Kurve. Hier ist das Beispiel mit Antagonist **5** zu sehen.

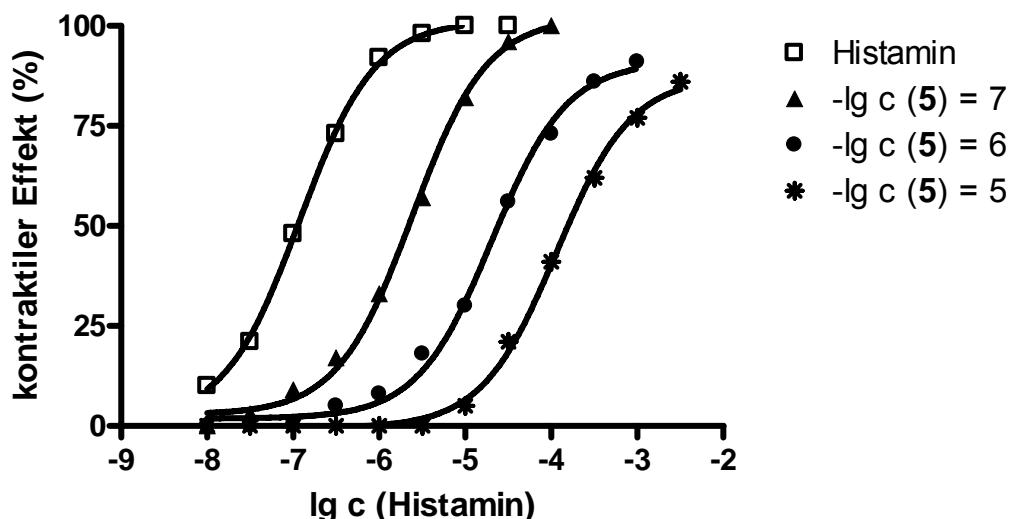


Abb. 3-1: Konzentrations-Wirkungskurven von Histamin in An- und Abwesenheit von Antagonist **5**

Sollen agonistische Substanzen vermessen werden, folgt nach der Histamin-Standardkurve die Zugabe des Agonisten in steigender Konzentration. Dieser wird nicht ausgewaschen, sondern inkubiert 30 Minuten. Dann erfolgt die Aufnahme einer zweiten Histaminkurve, um den pK_p-Wert eines partiellen Agonisten zu bestimmen. Parallel wird auch eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve des Agonisten in Anwesenheit von Mepyramin (2 nM), das 15 Minuten inkubiert wurde, aufgenommen.²⁸

3.3 Pharmakologische Charakterisierung an rekombinanten H₁- und H₄-Rezeptoren

3.3.1 Das Sf9-Zellen/Baculovirus Expressionssystem⁷⁰

Die Grundlage der pharmakologischen Charakterisierung an den humanen H₁- und H₄-Rezeptoren bildet das Sf9-Zellen/Baculovirus Expressionssystem. Die Insektenzelllinie, abstammend von *Spodoptera frugiperda*, stellt aus mehreren Gründen ein sehr gutes System dar, um pharmakologische Daten an G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR) zu erhalten.

Im Gegensatz zu Säugetierzellen tritt in diesem System nicht das Problem auf, dass verschiedene GPCRs exprimiert werden, die dann ungewollt mit dem zu untersuchenden Rezeptor interagieren, z. B. durch Rezeptorheterodimerisierung. Auch exprimiert die Sf9-Zelle endogen keine konstitutiv aktiven Rezeptoren, was zu einem geringeren Signal-Rausch-Verhältnis und somit zu viel höherer Sensitivität in funktionellen Assays führt.

Des weiteren kann an Sf9-Zellen auch G-Protein-Selektivität untersucht werden, da diese Zellen kaum G-Proteine endogen exprimieren. Ein G_{α_q}-Protein, wichtig für den GTPase Assay am hH₁-Rezeptor, wird exprimiert. Dessen Kopplung an GPCRs ist jedoch oft unzureichend, deshalb lässt man im Falle des H₁-Rezeptor noch zusätzlich das RGS4-Protein coexprimieren. Dieses RGS-Protein (regulators of G protein signaling) ist in der Lage, die Kopplung zwischen H₁-Rezeptor und G-Protein zu verbessern. Auch ein G_{α_i}-ähnliches Protein wurde in der Sf9-Zelle entdeckt. Es zeigt jedoch keine Kopplung zu den meisten GPCRs, weswegen für den H₄-Rezeptor auch ein G_{α_i}-Protein und ein G_{β₁γ₂} coexprimiert werden muss. Die Frage, warum die Kopplung mit dem endogenen G-Protein z. B. bei einigen Serotonin- und Dopamin Rezeptoren funktioniert, ist noch ungeklärt.

Das Sf9-Zellsystem exprimiert die gewünschten Proteine in viel höherer Konzentration als das mit Säugetierzellen möglich wäre, was wiederum zu stärkeren Signalen im Bindungsassay führt.

So umgeht man mit der Nutzung der Sf9-Zellen einige Schwierigkeiten bei der Verwendung von Säugetierzellen, kann aber trotzdem auf vergleichbare Ergebnisse zurückgreifen, da die Pharmakologie der GPCRs in Sf9-Zellen mit denen in Säugetierzellen sehr ähnlich ist.

3.3.2 Durchführung der Membranpräparation

100 mL Sf9-Zellkultur (3×10^6 Zellen/mL) werden mit jeweils 1 mL der Baculovirus-Lösung, die den gewünschten Vektor enthält, infiziert. Für die Expression des hH₁-Rezeptors werden zwei verschiedene, rekombinante Baculoviren verwendet, einen für die Expression des hH₁R und einen weiteren für die Expression des RGS4-Proteins. Bei der Herstellung der hH₄-Rezeptor-enthaltenden Membran werden neben der Infektionslösung für das Rezeptorprotein noch zwei weitere Baculovirenlösungen verwendet: eine Virenlösung, die den Vektor für das G α_{i2} -Protein trägt und eine weitere, die den Vektor für das G $\beta_1\gamma_2$ -Protein enthält. Anschließend werden die infizierten Zellen 48 Stunden bei 28 °C inkubiert. Die nun folgende Membranpräparation wird bei 4 °C durchgeführt. 100 mL der infizierten Zellsuspension wird zentrifugiert (1000 rpm, 10 min), mit 50 mL PBS-Puffer (100 mM NaCl, 80 mM Na₂HPO₄, 20 mM NaH₂PO₄; pH = 7,4) gewaschen und erneut zentrifugiert (1000 rpm, 10 min). Der Überstand wird erneut verworfen, die Zellen in 15 mL Lysis-Puffer aufgenommen (10 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA und Proteaseinhibitoren: 0,2 mM Phenylmethylsulfonylfluorid, 10 µg/mL Benzamidin und 10 µg/mL Leupeptin; pH = 7,4) und 25 mal im Dounce-Homogenisator homogenisiert. Daraufhin wird erneut zentrifugiert (500 rpm, 5 min) und das Pellet, das aus Zellkernen und intakten Zellen besteht, verworfen. Der Überstand wird nun 20 Minuten bei 18000 rpm zentrifugiert. Das Membranpellet wird in 20 mL Lysispuffer resuspendiert und erneut zentrifugiert (18000 rpm, 20 min). Abschließender Schritt ist die Resuspendierung des Membranpellets in 12,5 mL Binding-Puffer (12,5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 75 mM Tris/HCl; pH = 7,4). Das Homogenisat wird aliquotiert zu 1 mL-Portionen und bei -80 °C gelagert.⁷¹

Die Proteinkonzentration wird nach dem Einfrieren und Wiederauftauen nach Bradford mit dem DC-Protein Assay von Bio Rad bestimmt.

3.3.3 Durchführung des Bindungsassays

6 mL einer Membrancharge (ca. 1 - 2 mg/mL Proteingehalt) werden aufgetaut und stets bei 4 °C behandelt. Nach dem Homogenisieren wird zentrifugiert (13000 rpm, 10 min) und das Pellet in 1,5 mL (hH₁R-Assay) bzw. 3 mL (hH₄R-Assay) Binding-Puffer resuspendiert. In den Reaktionsgefäßeln wird zuerst Binding-Puffer vorgelegt. Nun wird der Ligand in steigender Konzentration (1 nM bis 1 mM) als Dublett pipettiert, inklusive zwei Lösungsmittel-Proben. Dabei wird das Lösungsmittel verwendet, in dem auch der Ligand gelöst wurde (20 - 50 % DMSO in H₂O). Darauf folgt die Zugabe einer konstanten

Menge Radioligand in jedes Vial (5 nM [3 H]-Mepyramin für den hH₁-R-Assay, 10 nM [3 H]-Histamin für den hH₄R-Assay). Abschließend werden die Membran-Suspension zupipettiert und die Proben 1,5 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt (250 rpm). Gebundener Radioligand wird von freiem durch Absaugen am Brandel-Harvester durch GF/C-Filter, die vorher mit 0,3 %iger Polyethyleniminlösung befeuchtet wurden, getrennt. Nach dem Absaugen wird noch einmal mit eiskaltem Binding-Puffer (2 mL) nachgewaschen. Die im Filter gebundene Radioaktivität wird durch Flüssigszintillationsmessung bestimmt.⁷²

Jeder Ligand wird in mindestens drei Assays mit jeweils verschiedenen Membranchargen vermessen. In den Graphen ist für beide Rezeptoren ein Beispiel für die resultierenden kompetitiven Bindungskurven zu sehen.

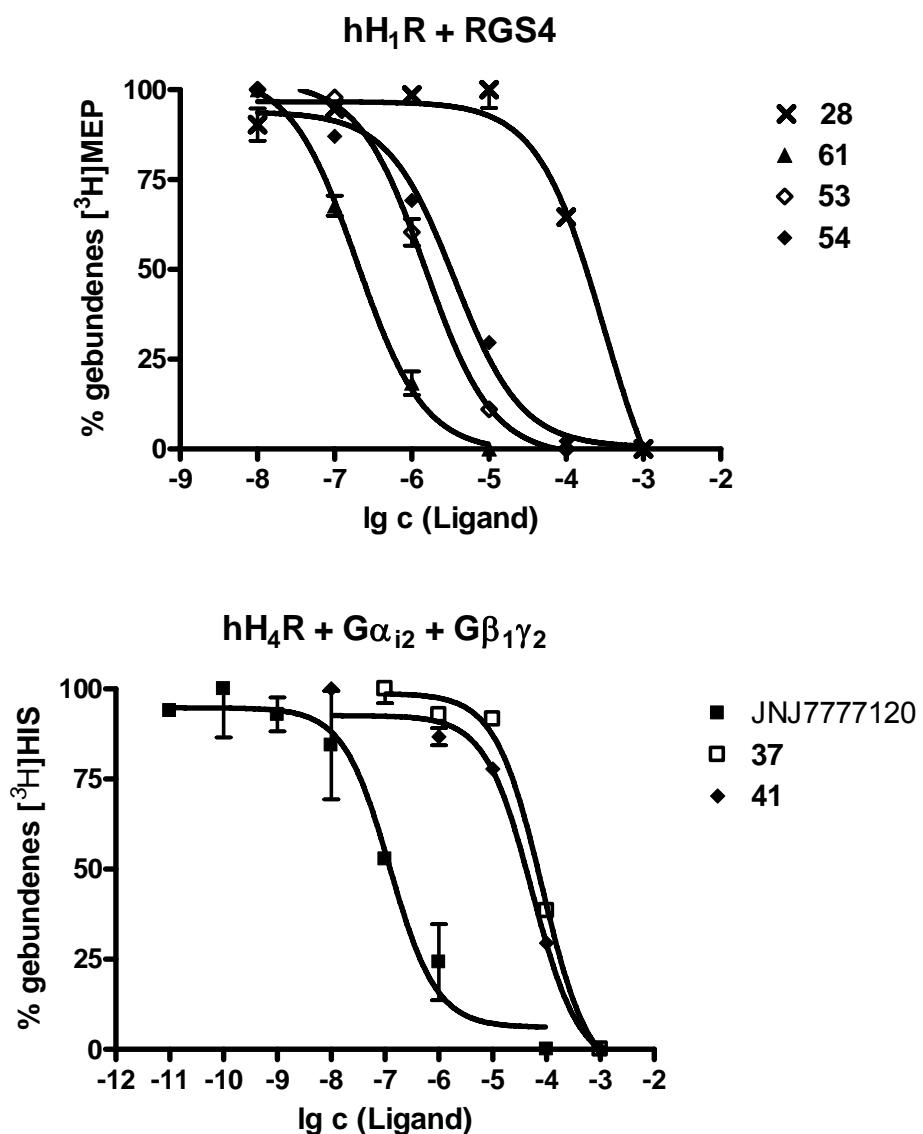


Abb. 3-2: Kompetitive Bindungskurven am hH₁-und hH₄-Rezeptor

3.3.4 Prinzip und Durchführung des $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ -Bindungsassays

Das folgende Schema, Abb. 3-3, entnommen von Schneider et al.⁷⁰, zeigt den G-Protein-Zyklus. Nach Bindung des Agonisten dissoziert GDP von der inaktiven Form der $\text{G}\alpha$ -Untereinheit ab und es bildet sich der ternäre Komplex aus Agonist, Rezeptor und G-Protein (2). Dies ist die Rezeptorkonformation mit der höchsten Affinität zu einem Agonisten. Durch Bindung von GTP oder anderen Guanin-Nucleotiden wird dieser Komplex gestört (3). Daraufhin dissoziert die aktive Form von $\text{G}\alpha$ ($\text{G}\alpha\text{-GTP}$) und die $\beta\gamma$ -Untereinheit ab, die nun beide mit weiteren Effektoren interagieren. Dann folgt die Hydrolyse von GTP durch die GTPase-Aktivität des $\text{G}\alpha$ -Proteins (5), und es kehrt somit in die inaktive $\text{G}\alpha\text{-GDP}$ -Form zurück. Nach Reassoziation mit $\text{G}\beta\gamma$ (6) kann ein neuer Zyklus beginnen.

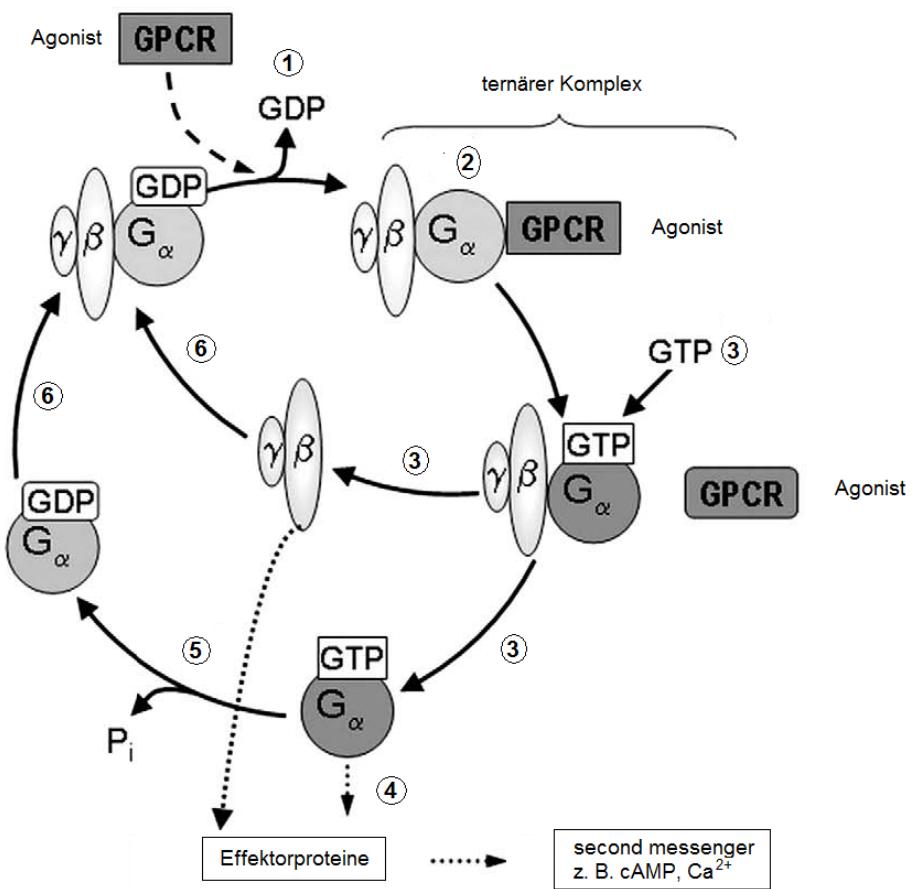


Abb. 3-3: Schema zum Ablauf des G-Protein-Zyklus

Der funktionelle Assay setzt bei der Bildung des ternären Komplexes an, dem Punkt mit der höchsten Affinität zum Agonisten, durch Zugabe von $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$. Es bindet wie GTP ebenfalls am $\text{G}\alpha$ und zerbricht den ternären Komplex. Im Unterschied zu GTP kann es von $\text{G}\alpha$ aber nicht hydrolysiert werden. So reichert sich $\text{G}\alpha\text{-}[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ in der Membran

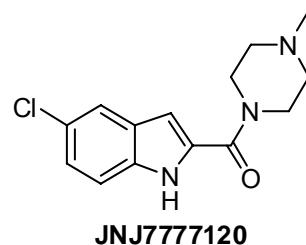
an und kann nach dem Abfiltrieren, wie beim Bindungsassay schon beschrieben, durch Szintillationsmessung bestimmt werden.

Dieser Assay ist am besten für $G\alpha_{i/o}$ -gekoppelte Rezeptoren geeignet, somit auch für den H_4 -Rezeptor. $G\alpha_q$ -gekoppelte Rezeptoren (z. B. der H_1 -Rezeptor) können in diesem Assay nicht verwendet werden. Das $G\alpha_q$ zeigt eine so langsame Guaninnucleotid-Austauschgeschwindigkeit, dass die Bestimmung der $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ -Bindung nicht möglich ist⁷⁰. Die funktionelle Charakterisierung von H_1 -Rezeptor-Liganden ist mit dem steady-state GTPase Assay möglich. Hier wird anstelle von $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ $[\gamma-^{32}\text{P}]GTP$ zu den Membranproben zugegeben. Dieses radioaktiv markierte GTP kann von $G\alpha_q$ hydrolysiert werden, unterstützt von coexprimiertem RGS-Protein. Die Hydrolysereaktion wird durch Zugabe von Aktivkohle beendet. Dadurch werden alle radioaktiven Bestandteile bis auf das anorganische $^{32}\text{P}_i$ adsorbiert. Nach Zentrifugation kann die Radioaktivität, verursacht durch das Phosphat ($^{32}\text{P}_i$), durch Cerenkov-Strahlung in Wasser bestimmt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der steady-state GTPase Assay am hH_1 -Rezeptor jedoch nicht durchgeführt. Exemplarisch wurden vier Verbindungen (**5**, **13**, **39** und **53**) im $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ -Bindungsassays am hH_4 -Rezeptor untersucht.

Die Durchführung des $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ -Bindungsassays verläuft ähnlich wie beim kompetitiven Radioligand-Bindungsassay. 2 mL einer Membrancharge werden aufgetaut, resuspendiert und zentrifugiert (4 °C, 13000 rpm, 10 min). Der Überstand wird verworfen und das Membran-Pellet in 1,4 mL Rea-Mix resuspendiert. Der Rea-Mix besteht aus Binding-Puffer, der zusätzlich 1,25 μM GDP, 125 mM NaCl und 0,063 % (w/v) bovines Serumalbumin (BSA) enthält. In den Reaktionsgefäßen wird 175 μL Rea-Mix vorgelegt, dann wird der Ligand in steigender Konzentration in Triplikaten pipettiert (25 μL), außerdem Histamin und JNJ7777120 als Referenzliganden und kaltes $GTP\gamma\text{S}$ zur Bestimmung der unspezifischen Bindung. Nachdem in jedes Vial 25 μL $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ ($c_{\text{final}} = 2 \text{ nM}$) pipettiert wurde, erfolgt die Zugabe von 25 μL Membransuspension. Die Proben werden zwei Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt (250 rpm), anschließend am Brandel-Harvester durch GF/C-Filter abgesaugt und noch einmal mit eiskaltem Binding-Puffer (2 mL) nachgewaschen. Die im Filter gebundene Radioaktivität wird durch Flüssigszintillationsmessung bestimmt.

3.4 Beschreibung des „Standardantagonisten“ am H₄-Rezeptor: JNJ7777120

Die Anführungszeichen bzgl. „Standardantagonist“ in der Überschrift sind schon der Hinweis darauf, dass die tatsächlichen Wechselwirkungen zwischen JNJ7777120 und dem H₄-Rezeptor weitaus komplizierter sind. Jüngste Arbeiten von *Rosethorne et al.*⁷³ beschreiben JNJ7777120 als einen „biased“ Agonisten. Sie führten verschiedene Assays an U2OS-H₄-Zellen (humane Osteosarkom Zelllinie) durch. Dabei verhielt sich JNJ7777120 im [³⁵S]GTPγS-Bindungsassay als neutraler Antagonist, im β-Arrestin Recruitment Assay jedoch als partieller Agonist. Eine Übersicht über die bisherigen pharmakologischen Ergebnisse über JNJ7777120 veröffentlichten *Seifert et al.*⁷⁴ in diesem Jahr. So agiert JNJ7777120 im [³⁵S]GTPγS-Bindungsassay an Sf9-Zellmembranen als inverser Agonist⁷⁵. Bei der Studie von *Schneider et al.*⁷⁵ zeigte sich auch eine große Diskrepanz zwischen dem pK_i-Wert aus dem Bindungsassay ($7,73 \pm 0,04$) und dem pEC₅₀-Wert aus dem [³⁵S]GTPγS-Bindungsassay ($7,11 \pm 0,16$). Vergleicht man alle bisher gesammelten Daten aus der Literatur, unterscheiden sich die Werte für Potenz und intrinsische Aktivität teilweise stark. So ermittelten *Ling et al.*⁷⁶ zum Beispiel einen 50fach höheren IC₅₀-Wert (300 nM) bei der histamininduzierten Formveränderung von Eosinophilen als *Barnard et al.*⁷⁷ bei der histamininduzierten Aktinpolymerisation (IC₅₀ = 6 nM). Dabei muss natürlich bedacht werden, dass verschiedene Zelllinien verwendet wurden und in diesem Beispiel verschiedene Parameter bestimmt wurden, aber verglichen mit anderen Antagonisten ergibt sich ein sehr unsicheres pharmakologisches Profil von JNJ7777120 am hH₄-Rezeptor.



Vermisst man JNJ7777120 nun an verschiedenen Spezies⁷⁸, verändert sich die Funktionalität dieses Liganden. So verhält er sich am H₄-Rezeptor von Maus, Ratte und Hund als partieller Agonist. Der Vergleich anderer Spezies mit dem hH₄-Rezeptor wird aber durch den Umstand erschwert, dass nur der hH₄-Rezeptor über eine sehr hohe konstitutive Aktivität verfügt.

Abschließend ist festzustellen, dass am H₄-Rezeptor und seinem „Standardantagonisten“ noch viele Untersuchungen durchzuführen sind, bis die erhaltenen Daten eindeutig eingeordnet werden können.

3.5 Ergebnisse aus den pharmakologischen Untersuchungen

Die rechnergestützte Auswertung der pharmakologischen Daten erfolgte mit der Software Prism 4.0 (GraphPad Software Inc.; San Diego, CA). Alle Messwerte sind mit dem Standardfehler des Mittelwerts angegeben.

3.5.1 H₁-/H₄-Rezeptor-Antagonisten

3.5.1.1 Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle

In der folgenden Abbildung sind die Strukturen der Hybridmoleküle aus Mepyramin und JNJ7777120 dargestellt. Im Text wird öfter die JNJ7777-Einheit genannt, damit ist JNJ7777120 und alle Moleküle mit enger Verwandtschaft zu ersterem gemeint, z. B. unsubstituierte Indol- oder Benzimidazolderivate, mit dem amidverknüpften Piperazin in 2-Position.

In der Abbildung 3-4 und in der Tabelle 3-1 ist der potenteste Ligand jeweils fett hervorgehoben. Generell zeigen alle Liganden, bis auf **28**, eine hohe Affinität zum H₁-Rezeptor und sehr geringe Affinität zum hH₄-Rezeptor.

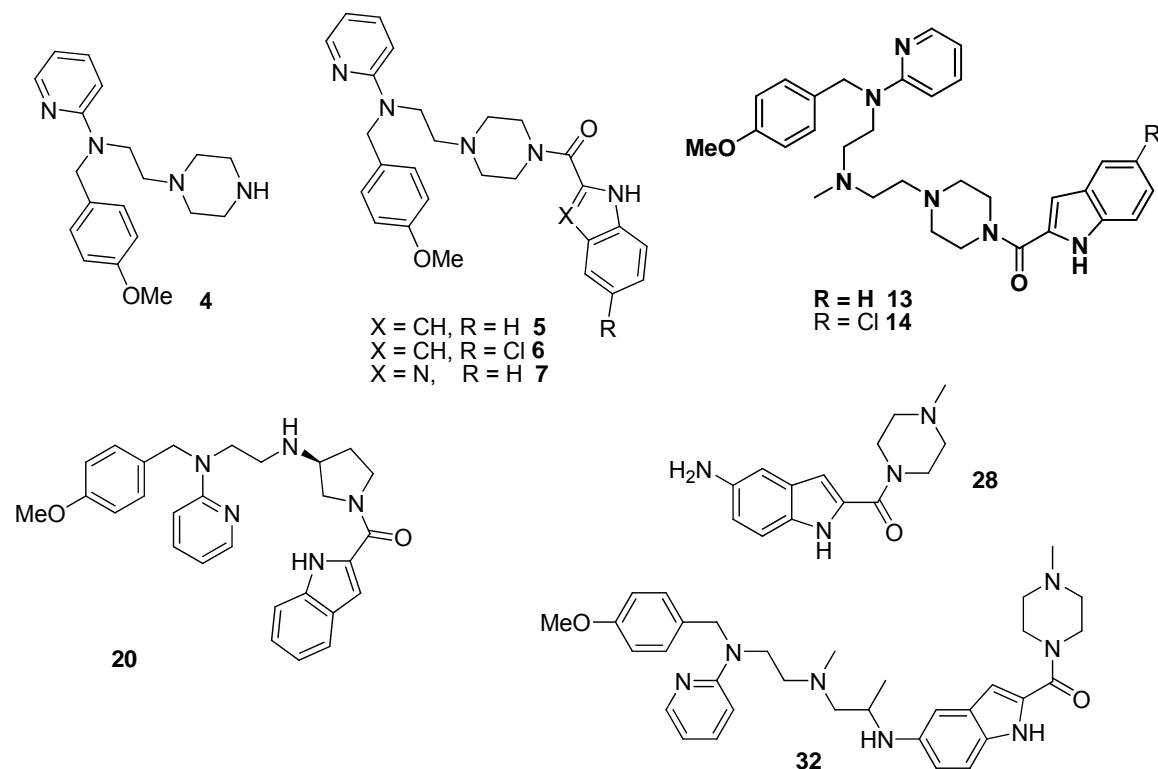


Abb. 3-4: Strukturen der Mepyramin-JNJ7777-Hybridmoleküle

Frau Dr. Straßer stellte mir zum Testen zwei ihrer synthetisierten Verbindungen zur Verfügung. In diesen findet man anstatt Mepyramin (MEP) zwei andere H₁R-Antagonisten-Strukturen wieder: Diphenhydramin (DPH) in **AS6** und eine von Hydroxyzin abgeleitete Struktur in **AS18**.

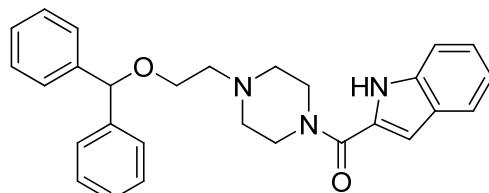
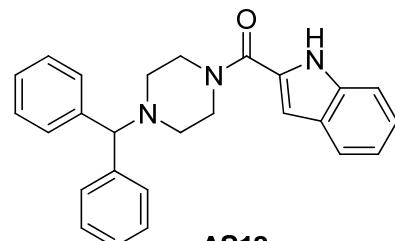
**AS6****AS18**

Tabelle 3-1: Affinitäten der Mepyramin-JNJ77777-verbrückten Moleküle am gpH₁-, hH₁- und hH₄-Rezeptor

	n	pA₂ gpH₁	m	pA_x	pK_i hH₁	pK_i hH₄
JNJ7777120	12	5,81 ± 0,13	1		4,33 ± 0,12	7,45 ± 0,10
MEP		9,07 ± 0,03 ²⁸	1		8,35 ± 0,03 ⁷⁹	< 4
DPH	63	7,90 ± 0,04	0,8	8,48	7,58 ± 0,09	4,37 ± 0,10 ³⁰
4	36	6,97 ± 0,04	0,9	7,08	6,06 ± 0,06	4,61 ± 0,04
5	30	7,84 ± 0,07	1		6,77 ± 0,05	5,21 ± 0,11
6	27	7,60 ± 0,08	1		6,11 ± 0,08	4,79 ± 0,29
7	36	8,01 ± 0,08	1		6,22 ± 0,07	4,64 ± 0,04
13	23	8,06 ± 0,06	1		8,15 ± 0,10	5,04 ± 0,11
14	34	7,94 ± 0,08	1,5	7,49	7,00 ± 0,03	5,17 ± 0,09
20	36	7,87 ± 0,07	0,8	8,14	6,34 ± 0,10	4,56 ± 0,09
28	31	5,49 ± 0,05	1		< 4	6,80 ± 0,13
32	54	7,73 ± 0,05	1		6,67 ± 0,09	4,85 ± 0,10
AS6		--			6,65 ± 0,06	4,74 ± 0,14
AS18		--			< 4	< 4

n: Anzahl der Versuche bezogen auf pA₂ gpH₁; m: Steigung des Schildplots

pA_x: Schnittpunkt mit der x-Achse im Schildplot für m ≠ 1

Die pK_i -Werte sämtlicher Derivate mit kurzem Spacer zwischen Mepyramin- und JNJ7777-Einheit (5 - 7, 20, 32) bewegen sich am hH_1R zwischen 6,1 und 6,8. In diesem Bereich sticht nur Ligand 5 mit einfacher Indol-Struktur hervor, die Affinität ist um ca. eine halbe log-Einheit höher ($P < 0,0005$). Dieser Umstand ist auch bei den Dissoziationskonstanten am hH_4 -Rezeptor wieder zu finden, aber generell in einem viel niedrigeren Bereich (pK_i -Werte zwischen 4,6 und 5,2). Vergleicht man das Molekül 20, bei dem das Piperazin durch das Bioisoster (S)-3-Aminopyrrolidin ersetzt wurde, mit 5, so lässt sich an beiden Rezeptoren eine Affinitätsabnahme feststellen. Bemerkenswert ist auch, dass es für beide Rezeptoren keinen Unterschied bezüglich der Affinität macht, ob die Amid-Bindung zur 5-Chloroindol-2-carbonsäure (6) bzw. Benzimidazolsäure (7) noch geknüpft wird, oder das Molekül ohne diesen aromatischen Rest verbleibt wie in 4 ($P > 0,1$ für hH_1 -R, $P > 0,6$ für hH_4 -R).

Herausragend ist der Effekt der längeren Derivate 13 und 14 am hH_1 -Rezeptor: durch das zusätzliche basische Amin im Zentrum des Moleküls erhöht sich vor allem wieder für das unsubstituierte Indol-Derivat 13 die Affinität deutlich ($P < 0,0001$). Mit einem pK_i -Wert von 8,15 ist die Dissoziationskonstante zwar noch nicht am Mepyramin-Wert angelangt, aber schon deutlich höher als für Diphenhydramin ($P < 0,002$). Bei Ligand 14 mit chlorsubstituiertem Indol ist die Affinitätssteigerung nicht so hoch, also setzen sich die Ergebnisse aus den kürzerkettigen Derivaten auch bei diesen beiden längerkettigen wieder fort. Am hH_4 -Rezeptor führt die Verlängerung der Moleküle beim unsubstituierten Indol-Derivat 13 zu keiner signifikanten Abnahme der Affinität im Vergleich zu 5 ($P > 0,3$), das chlorsubstituierte Derivat 14 zeigt dagegen auch keine signifikant höhere Affinität als das kürzerkettige Analogon 6 ($P > 0,3$).

Nach diesen Ergebnissen drängte sich die Vermutung auf, dass es für die hH_4 -Rezeptoraffinität wichtig sein könnte, dass das basische Strukturelement im JNJ7777-Molekülteil, das Piperazin, ohne größeren Substituenten verbleiben sollte. Auch Jablonowski *et al.*⁴⁸ stellten bei den Struktur-Wirkungsstudien nach der Entdeckung von JNJ7777120 fest, dass ein Ethylsubstituent und noch stärker ein Phenylethylsubstituent am Piperazin zu drastischer Affinitätsabnahme führt. So wurde 32 synthetisiert, mit Anbindung der Mepyramin-Struktur an Fragment 28. Verbindung 28 ist bereits als relativ potenter hH_4 -Rezeptor-Ligand aus der Literatur bekannt, mit einem pK_i -Wert von 7,8^{48,80} bzw. 7,7⁸¹, ebenfalls berechnet nach der Cheng-Prusoff-Gleichung. Meine Messungen ergaben nur einen pK_i -Wert von 6,8. Einziger Unterschied im experimentellen Ablauf der Bindungsstudien zur Literatur ist die Verwendung einer anderen Zelllinie. Thurmond *et al.*^{80,81} benutzten SK-N-MC-Zellen, eine humane Zelllinie, was möglicherweise zu

anderen Ergebnissen führen kann. Die Daten aus der Literatur von Schneider *et al.*⁷⁵ mit identischer, experimenteller Durchführung sind wieder in Übereinstimmung mit meinen Messwerten ($pK_i = 6,9$).

Die Verknüpfung zum Hybridmolekül **32** brachte jedoch keine Affinitätssteigerung. Wie alle anderen Verbindungen dieses Kapitels bleibt die Affinität am hH_4 -Rezeptor im μ molaren Bereich und deutlich unter den Werten für den H_1 -Rezeptor.

Die Vergleichssubstanz **AS6** mit Diphenydramin-Partialstruktur ist mit dem Mepyramin-Analogon **5** im Hinblick auf die Affinität am hH_1 -Rezeptor vergleichbar. Die Dissoziationskonstante am hH_4 -Rezeptor ist für **AS6** etwas geringer als für **5**. Die Kombination aus JNJ7777 und Hydroxyzin in **AS18** zeigt keinerlei Affinität zu beiden Rezeptoren. Eine mögliche Erklärung könnte die Position des basischen Amins sein: durch die Nähe der beiden Phenylringe wird möglicherweise die Wechselwirkung mit Asp^{3,32} verhindert.

Sieht man sich nun die errechneten pA_2 -Werte aus den Organversuchen am Meerschweinchen genauer an, fällt als erstes ins Auge, dass diese Werte durchgehend höher sind als die Bindungskonstanten am hH_1 -Rezeptor. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist jedoch nicht sinnvoll, da zum einen zwei verschiedene Testsysteme verwendet wurden: ein funktioneller Assay am Organ, dessen Messergebnis die Kontraktion des Muskels ist, also das Endergebnis der Signaltransduktionskaskade mit der damit einhergehenden Signalverstärkung, im Gegensatz zum Bindungsassay an Membranfragmenten für den hH_1 -R. Zum anderen muss man die Spezies-Unterschiede miteinbeziehen. Straßer *et al.*^{72,82} verglichen in mehreren Studien die pharmakologischen Profile von zahlreichen Histaprodifen-Derivaten (H_1 -Rezeptoragonisten) an vier bzw. zwei Spezies. Sie exprimierten den humanen, bovinen, Ratten- und Meerschweinchen- H_1 -Rezeptor in Sf9-Zellen und führten Bindungs- und steady-state GTPase-Assays durch. Die Sequenzhomologie zwischen hH_1 -Rezeptor und gpH_1 -Rezeptor beläuft sich auf 72 %, dementsprechend wurden in dieser Studie auch signifikante pharmakologische Unterschiede zwischen den beiden Rezeptoren festgestellt. So zeigten viele Liganden vergleichbare Affinitätswerte zwischen den beiden Rezeptoren, andere Verbindungen jedoch auch Unterschiede bis zu einer log-Einheit.

Bei der Betrachtung der pA_2 -Werte ist festzustellen, dass im Wesentlichen die Trends erhalten bleiben, die schon am hH_1 -Rezeptor beobachtet wurden. Eine Ausnahme bildet die Reihe **5** bis **7**, also die kurzkettigen Hybride aus Mepyramin und JNJ7777-Derivaten. Am humanen H_1 -Rezeptor war **5** mit einfacher Indol-Struktur am JNJ7777-Gerüst

deutlich affiner als die anderen beiden Vertreter ($P < 0,0005$). Beim gpH₁-Rezeptor ist jedoch Verbindung **7** mit dem Benzimidazol-Strukturelement das Molekül mit der höchsten Affinität, vergleichbar mit **5** ($P > 0,4$). Man sieht hier auch deutlich den Unterschied zwischen **4**, bei dem das JNJ7777-Pharmakophor fehlt, zu den Hybridmolekülen. Ohne das zweite Pharmakophor nimmt die Affinität um ca. eine log-Einheit ab ($P < 0,0001$).

Hinzuzufügen ist noch der Umstand, dass alle Antagonisten zu einer mehr oder weniger starken Depression der Histamin-Kurve führen. Exemplarisch ist dies für die Verbindungen **13** und **7** gezeigt. Eine Ausnahme bildet hier nur der schwache Antagonist JNJ7777120, bei dessen Anwesenheit immer noch 100 % des ursprünglichen Effekts durch Histamin beobachtet werden. Irreversibler Antagonismus, verursacht durch kovalente Bindungen scheidet bei den hier getesteten Verbindungen aus. Verschiedene Prozesse können als mögliche Ursachen für die Depression der Kurve in Frage kommen, wie unter Kap. 3.1.2 schon diskutiert wurde.

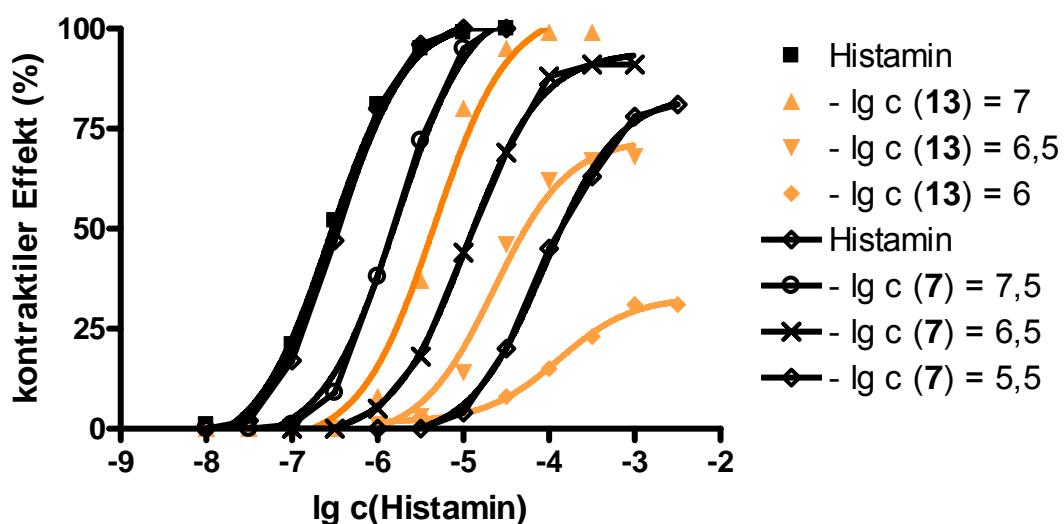


Abb. 3-5: Konzentrations-Wirkungskurven von Histamin in An- und Abwesenheit von **13** und **7**

Für die Verbindungen **5** und **13** ist im folgenden Graphen das Ergebnis des [³⁵S]GTP γ S-Bindungsassays zu sehen. Das Ergebnis ist verblüffend: **5**, das kurze Mepyramin-JNJ7777-Hybrid agiert als partieller Agonist, wohingegen sich das langkettige Analogon **13** als inverser Agonist verhält.

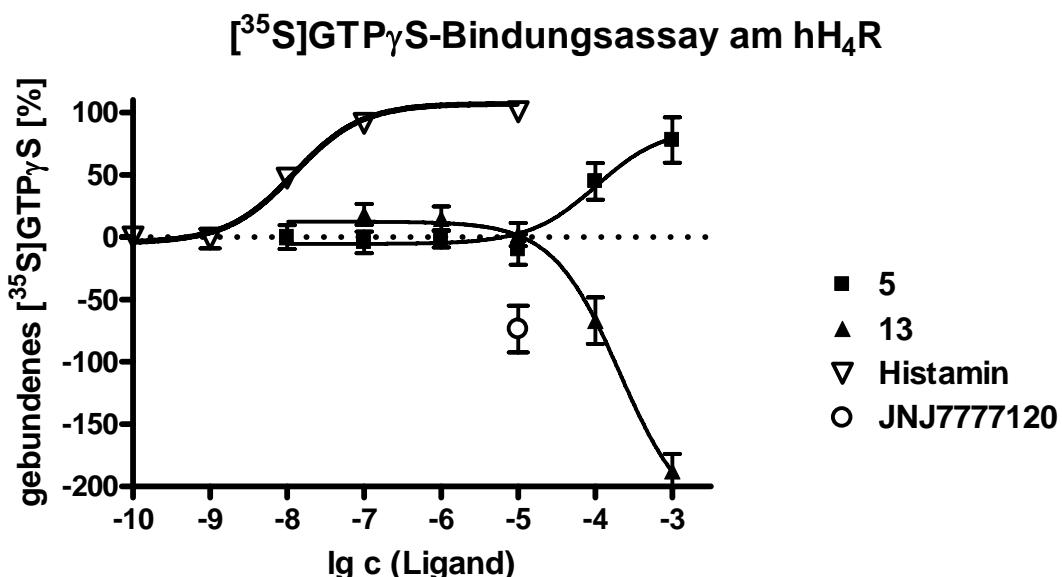


Abb. 3-6: [³⁵S]GTP γ S-Bindungsassay von 5 und 13

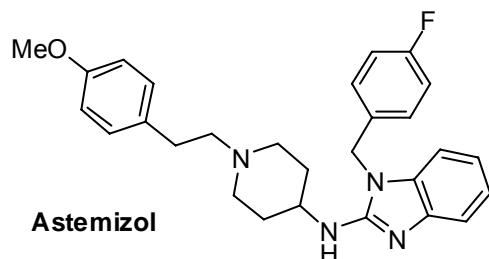
Tabelle 3-2: Affinität und Aktivität von 5 und 13 am hH₄-Rezeptor

	Histamin	JNJ7777120	5	13
pEC₅₀	7,86 ± 0,20 ³⁰	7,80 ± 0,21 ³⁰	3,98 ± 0,31	< 4
E_{max} [%]	100 ^a	-74 ± 19 ^b	88 ± 18	< -100

^aHistamin wurde in einer Konzentration von 10 μ M zugegeben und der resultierende maximale Effekt auf 100 % gesetzt. ^bJNJ7777120 wurde in der gleichen Konzentration zugegeben, und die intrinsische Aktivität relativ zu Histamin gesetzt.

3.5.1.2 Moleküle, abgeleitet von Astemizol

Die nun folgenden Daten der von Astemizol abgeleiteten Liganden zeigen erneut zum Teil sehr hohe Affinitätswerte zum H₁-Rezeptor und moderate Affinitätswerte zum hH₄-Rezeptor. Es wird auch deutlich, dass der Methoxyphenylethyl-substituent im Astemizolmolekül nicht zu einer Steigerung der Affinität am hH₁-Rezeptor beiträgt



(vgl. 41, $P > 0,2$), am gpH₁-Rezeptor sogar zu einer deutlichen Affinitätsabnahme führt ($P < 0,0001$). Der Benzylsubstituent hingegen ist essentiell für eine hohe Affinität am H₁-Rezeptor.

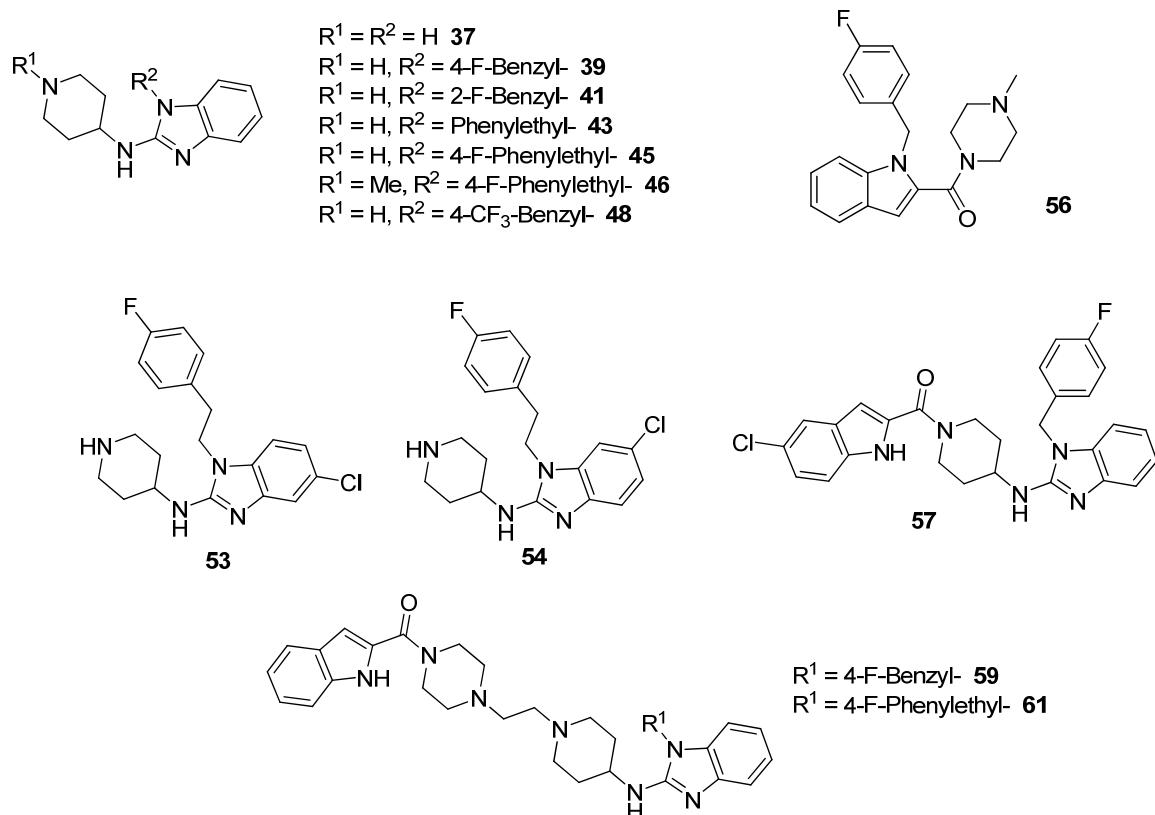


Abb. 3-7: Liganden mit Astemizol-Partialstruktur

Tabelle 3-3: Affinitäten der von Astemizol abgeleiteten Liganden am gpH₁-, hH₁- und hH₄-Rezeptor

	n	pA₂ gpH₁	m	pA_x	pK_i hH₁	pK_i hH₄
Astemizol	37	$8,02 \pm 0,05$	1		$8,68 \pm 0,05$	$5,10 \pm 0,06$ ³⁰
37	18	$6,59 \pm 0,08$	0,8	6,71	$5,35 \pm 0,06$	$4,40 \pm 0,15$
39	44	$9,65 \pm 0,06$	1		$8,77 \pm 0,05$	$4,41 \pm 0,14$
41	36	$8,96 \pm 0,05$	1,4	8,73	$8,13 \pm 0,07$	$4,88 \pm 0,31$
43	36	$8,03 \pm 0,07$	0,7	8,46	$7,07 \pm 0,04$	$5,64 \pm 0,09$
45	24	$7,87 \pm 0,05$	1		$7,03 \pm 0,02$	$5,22 \pm 0,03$
46	17	$8,14 \pm 0,06$	1		$7,55 \pm 0,07$	$5,15 \pm 0,08$

48	24	$8,36 \pm 0,05$	1		$7,44 \pm 0,07$	$4,95 \pm 0,01$
53	45	$6,97 \pm 0,05$	0,8	7,24	$6,15 \pm 0,02$	$4,66 \pm 0,09$
54	50	$6,58 \pm 0,05$	0,8	6,73	$5,67 \pm 0,06$	$5,18 \pm 0,07$
56	18	$6,06 \pm 0,03$	1		$5,28 \pm 0,04$	$4,46 \pm 0,11$
57	36	$7,03 \pm 0,07$	1		$5,70 \pm 0,09$	$5,20 \pm 0,06$
59	17	$8,25 \pm 0,07$	0,8	8,51	$8,26 \pm 0,07$	$4,98 \pm 0,04$
61	47	$7,73 \pm 0,07$	1		$6,93 \pm 0,10$	$4,96 \pm 0,11$

n: Anzahl der Versuche bezogen auf pA_2 gpH₁; m: Steigung des Schildplots

pA_x : Schnittpunkt mit der x-Achse im Schildplot für $m \neq 1$

Betrachtet man die Dissoziationskonstanten der von Astemizol abgeleiteten Substanzen zuerst am hH₁-Rezeptor, stellt man fest, dass der Austausch des Benzyl-Substituenten am Benzimidazol-Grundkörper durch einen Phenylethyl-Substituenten immer mit einem Verlust an Affinität einhergeht. Sieht man sich die Ergebnisse mit Hinblick auf die Substitution am Benzylring genauer an, ist erkennbar, dass der 4-Fluorosubstituent (**39**), wie er auch im Astemizol-Molekül vorhanden ist, essentiell für eine hohe Affinität zum hH₁-Rezeptor ist. Tauscht man diesen gegen eine 2-Fluorosubstitution (**41**), sinkt die Affinität um eine halbe Zehnerpotenz auf 8,1 ($P < 0,002$), durch Einführung einer Trifluormethylgruppe in Position 4 (**48**) sinkt sie schließlich auf 7,4 ab ($P < 0,0001$). Verzichtet man ganz auf den aromatischen Substituenten (**37**) reduziert sich die Affinität bis in den mikromolaren Bereich.

Bei den Molekülen mit Ethylbrücke zwischen Phenylring und Benzimidazol-Einheit (**43**, **45**) trägt der 4-Fluorosubstituent nicht mehr zu einer Affinitätssteigerung bei: beide Moleküle (unsubstituierter bzw. substituierter Phenylring) zeigen den gleichen pK_i-Wert von ca. 7. Dafür führt die Einführung der Methylgruppe am Piperdinring (**46**) zu einer Affinitätssteigerung um eine halbe Zehnerpotenz ($P < 0,002$).

Die Einführung eines Chlorosubstituenten am Benzimidazol-Gerüst führt zu einer deutlichen Abnahme der Affinität am hH₁-Rezeptor, wobei die Substitution in Position 5 (**53**) noch besser toleriert wird als in Position 6 (**54**) ($P < 0,002$). Das gleiche gilt für die direkte Verknüpfung der Astemizol-Teilstruktur mit 5-Chlorindolcarbonsäure (**57**). Dies liegt wahrscheinlich, wie bei den kürzeren Derivaten aus Kapitel 3.5.1.1, am fehlenden Amin. Durch die Amidbindung zur 5-Chlorindol-2-carbonsäure verliert man einen

basischen Molekülteil, der wohl essentiell für eine starke Bindung zum hH₁-Rezeptor ist. Diesen Umstand untermauert auch die Betrachtung der beiden längeren Varianten **59** und **61**, hier werden wieder Affinitäten im nanomolaren Bereich erreicht. Das 4-Fluorbenzyl-Derivat weist wiederum eine deutlich höhere Dissoziationskonstante als das 4-Fluorphenethyl-Derivat vor ($P < 0,0004$).

Die vorteilhafte Benzyl-Substitution für hohe Affinität am H₁-Rezeptor stellt sich am hH₄-Rezeptor als hinderlich dar. Die niedrigsten Dissoziationskonstanten findet man für die Liganden **37**, **39** und **56**. Ersteres ist das Molekül ohne aromatischen Substituenten am Benzimidazol, die beiden anderen tragen den 4-Fluorbenzylsubstituenten einmal am Atemizol-Derivat und zum anderen am Indol-Stickstoff des JNJ7777-Moleküls (ohne Chlorsubstitution). Verbrückt man den aromatischen Substituenten mit einer Ethylen-Einheit, steigt die Affinität am hH₄-Rezeptor schon etwas an. Vor allem gilt das für Ligand **43**, der keinen Fluorsubstituenten am Phenylring trägt. Aus der Literatur⁴⁸ ist bekannt, dass die Methylierung des Piperazins am JNJ7777-Pharmacophor (JNJ7777120 ohne Chlorsubstitution) noch einen kleinen Affinitätsgewinn brachte im Vergleich zum nicht methylierten. So wurde auch Ligand **45** am Piperidin-Ring methyliert (**46**). In diesem Fall kann jedoch keine Affinitätssteigerung erreicht werden.

Auch die Affinitäten der am Benzimidazol chlorsubstituierten Atemizol-Derivate **53** und **54** bewegen sich nur im mikromolaren Bereich. Im Unterschied zum H₁-Rezeptor stellt hier jedoch das 6-Chlorbenzimidazol-Derivat (**54**) noch das potentere Isomer dar.

Betrachtet man die pA₂-Werte am gpH₁-Rezeptor, lassen sich die Struktur-Wirkungsbeziehungen für den hH₁-Rezeptor auf den Meerschweinchen-Rezeptor übertragen. Die Werte sind allerdings, wie bereits oben erwähnt, um eine halbe bis ganze log-Einheit höher als bei den Dissoziationskonstanten im Bindungsassay. Die Ausnahme bildet hier die Referenzverbindung: Atemizol besitzt eine etwas höhere Affinität zum hH₁-Rezeptor im Bindungsassay als zum gpH₁-Rezeptor. Das ist auch bei der Atemizol-JNJ7777-Hybridverbindung **59** zu beobachten; hier sind die Dissoziationskonstanten in den beiden verschiedenen Assays an den verschiedenen Rezeptoren gleich.

Im [³⁵S]GTP γ S-Bindungsassay wurden noch zwei Liganden getestet: **39** und **53**. Trotz großer Ähnlichkeit dieser beiden Moleküle verhalten sie sich funktionell unterschiedlich. **39**, das Atemizol-Derivat mit dem 4-Fluorbenzylsubstituenten, ist ein neutraler Antagonist. **53**, das anstatt des Benzylsubstituenten den Ethylphenylsubstituenten trägt

und noch ein zusätzliches Chloratom am Benzimidazolgerüst besitzt, agiert als inverser Agonist.

Tabelle 3-4: Affinität und Aktivität von **39** und **53** am hH₄-Rezeptor

	Histamin	JNJ7777120	39	53
pEC₅₀	7,86 ± 0,20 ³⁰	7,80 ± 0,21 ³⁰	--	4,05 ± 0,08
E_{max} [%]	100	-74 ± 19	--	-401 ± 18

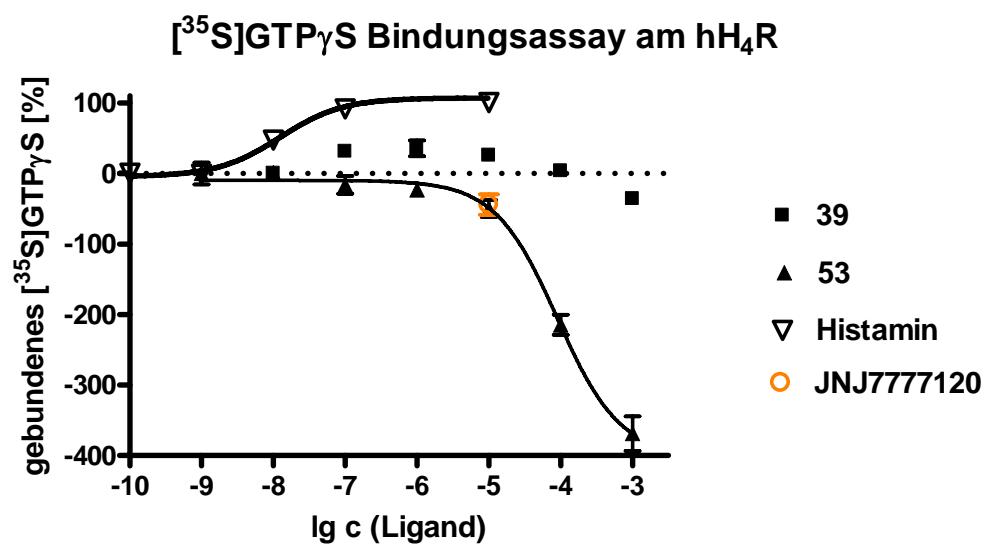


Abb. 3-8: [³⁵S]GTP γ S-Bindungsassay von **39** und **53**

3.5.1.3 Aminopyrimidine

In Abb. 3-9 ist die kleine Reihe an Aminopyrimidinen zu sehen. Wie in Kap. 2.1.4 schon ausgeführt wurde, konnten wegen Problemen bei der Synthese nicht die zu **64** und **65** analogen Verbindungen dargestellt werden, bei denen der Chlorsubstituent durch Methylpiperazin ersetzt wird.

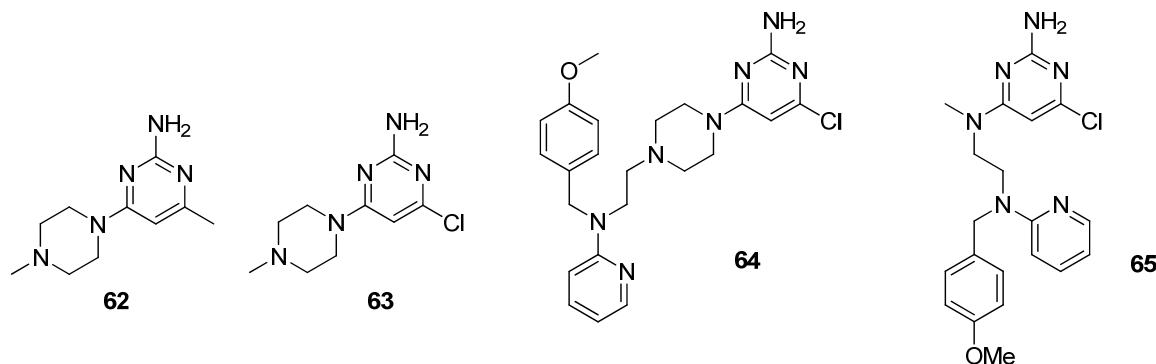


Abb. 3-9: Strukturen der Aminopyrimidine

Tabelle 3-5: Affinitäten der Aminopyrimidine am gpH₁-, hH₁- und hH₄-Rezeptor

	n	pA₂ gpH₁	m	pA_x	pK_i hH₁	pK_i hH₄
62	9	4,12 ± 0,09	1		4,54 ± 0,04	6,84 ± 0,10
63	17	5,57 ± 0,06	1		4,55 ± 0,08	4,44 ± 0,09
64	36	8,54 ± 0,09	1		6,78 ± 0,03	4,90 ± 0,10
65	8	5,64 ± 0,12	0,3	5,80	< 4	4,68 ± 0,04

n: Anzahl der Versuche bezogen auf pA₂ gpH₁; m: Steigung des Schildplots

pA_x: Schnittpunkt mit der x-Achse im Schildplot für m ≠ 1

Beginnend mit den Dissoziationskonstanten am H₁-Rezeptor, sticht nur Ligand **64** mit einer Affinität im höheren, nanomolaren Bereich hervor. Und wie auch schon in den oberen Kapiteln festzustellen war, mag dies erneut am zusätzlichen basischen Zentrum im Molekül liegen.

Am hH₄-Rezeptor zeigt nur Ligand **62** eine beachtliche Affinität. Dies ist wohl nicht allzu verwunderlich, wenn man diesen mit den Aminopyrimidinen aus der Literatur⁵³ vergleicht. Bei **62** fehlt nur der aromatische Substituent, der die Affinität in diesem H₄-Pharmakophor noch weiter erhöhen kann (siehe auch Kap. 2.1.4). Man kann ebenfalls festhalten, dass chlorsubstituierte Aminopyrimidine kaum Affinität zum hH₄-Rezeptor zeigen.

3.5.1.4 JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung

In Analogie zum zweiten, kleineren Bereich dieser Arbeit, bei der H₁-Agonisten mit peptidischen Strukturen untersucht werden sollten, wurden auch an das JNJ7777-Grundgerüst Aminosäuren über einen Ethylspacer angehängt.

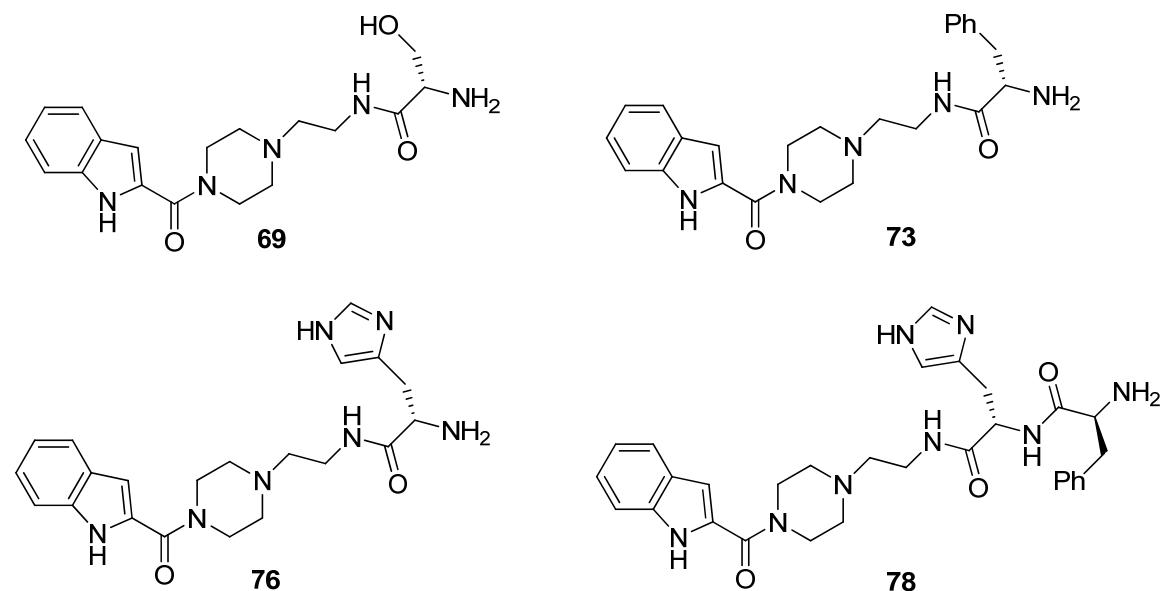


Abb. 3-10: JNJ7777-Derivate mit Aminosäureverlängerung

Tabelle 3-6: Affinitäten von 69, 73, 76 und 78 am gpH₁-Rezeptor

	n	pA ₂ gpH ₁	m	pA _x
69	18	5,58 ± 0,13	1	
73	18	5,54 ± 0,08	0,6	5,76
76	18	5,47 ± 0,12	0,3	6,14
78	25	5,41 ± 0,07	1	

n: Anzahl der Versuche; m: Steigung des Schildplots

pA_x: Schnittpunkt mit der x-Achse im Schildplot für m ≠ 1

Für die vier JNJ7777-Derivate mit Aminosäure-Verlängerung sind nur die pA₂-Werte aus den Organversuchen aufgelistet, da diese Verbindungen keine messbare Affinität zum H₁- und H₄-Rezeptor im Bindungsassay zeigen. Die pK_i-Werte sind alle kleiner als 4. Die Affinitäten am gpH₁-Rezeptor sind moderat und bewegen sich im mikromolaren Bereich. Die schwache Bindung zeigt sich auch im Verlauf der Konzentrations-

Wirkungskurven: Bei jeder Konzentration des Antagonisten werden bei der Histaminkurve wieder 100 % des ursprünglichen Effekts erreicht.

3.5.2 H₁-Rezeptor-Agonisten

3.5.2.1 Pharmakologische Parameter

Die angegebenen pEC₅₀-Werte stellen korrigierte Werte dar in Bezug auf den laborinternen Standardwert von Histamin (6,7). Dafür wurden die Differenzen aus den pEC₅₀-Werten der Histamin-Standardkurve und der Agonistenkurve gebildet (ΔpEC_{50}) und abschließend die Differenz aus 6,7 und dem ermittelten ΔpEC_{50} -Wert.

Die relative Potenz ist bezogen auf Histamin. Errechnet wird sie aus der Differenz der pEC₅₀-Werte von Histamin (6,7) und (partiellem) Agonist:

$$\text{Rel. Pot.} = [10^{-(6,7 - pEC_{50}(\text{Agonist}))}] \times 100 \quad [\%]$$

Die Abschätzung des pK_P-Wertes (partieller Agonist-Rezeptor-Dissoziationskonstante) erfolgt über die Methode von Kaumann und Marano⁸³. Dafür wird eine zweite Histaminkurve aufgenommen, nachdem der partielle Agonist (P) zuvor 30 Minuten inkubierte. Diese zweite Histaminkurve ist nun im Vergleich zur ersten Histaminkurve in Abwesenheit des partiellen Agonisten rechtsverschoben. Der Vergleich der Histaminkonzentrationen aus den zwei Kurven, die den gleichen biologischen Effekt erzeugen, führt zu folgender Grundgleichung:

$$c(A) = m \cdot c(A)^* + b$$

c(A): Konzentration von Histamin in Abwesenheit des partiellen Agonisten

c(A)*: Konzentration von Histamin in Anwesenheit des partiellen Agonisten

m: Steigung der gewichteten Regressionsgerade des Graphen aus der Auftragung
von c(A) gegen c(A)*

b: Ordinatenschnittpunkt der gewichteten Regressionsgerade

Der pK_P-Wert ergibt sich dann aus folgender Gleichung:

$$pK_P = \log[(1/m) - 1] - \log c(P)$$

Trägt man $\log[(1/m) - 1]$ gegen die Konzentration des partiellen Agonisten ($-\log c(P)$) auf, erhält man den Kaumann-Marano-Plot. Daraus könnte man noch überprüfen, ob die Steigung gleich 1 ist, was ein Beleg dafür ist, dass nur einziger Rezeptor(subtyp) involviert ist. Dies wurde bei den folgenden Ergebnissen aber vorausgesetzt und somit kein Kaumann-Marano-Plot erstellt. Auch fehlte dafür eine breite Variation der Konzentration an partiellem Agonisten bei diesen Experimenten.

Um schließlich den H₁R-vermittelten Effekt der Liganden nachzuweisen, wurden die partiellen Agonisten auch in Anwesenheit von Mepyramin (2 nM) untersucht. Aus der Rechtsverschiebung wurde, wie unter 3.1.1 beschrieben, der pA₂-Wert von Mepyramin errechnet.

3.5.2.2 Modifizierte Histamin-Liganden

In der Abb. 3-11 ist die Verbindung **WAE13** zu sehen, die im Rahmen meiner Diplomarbeit synthetisiert und am gpH₁-Rezeptor charakterisiert wurde. Da sie die potenteste Verbindung darstellte (siehe Kap. 2.2), wurde eine Reihe von analogen Verbindungen synthetisiert, die sich nur im abschließenden Amid unterscheiden.

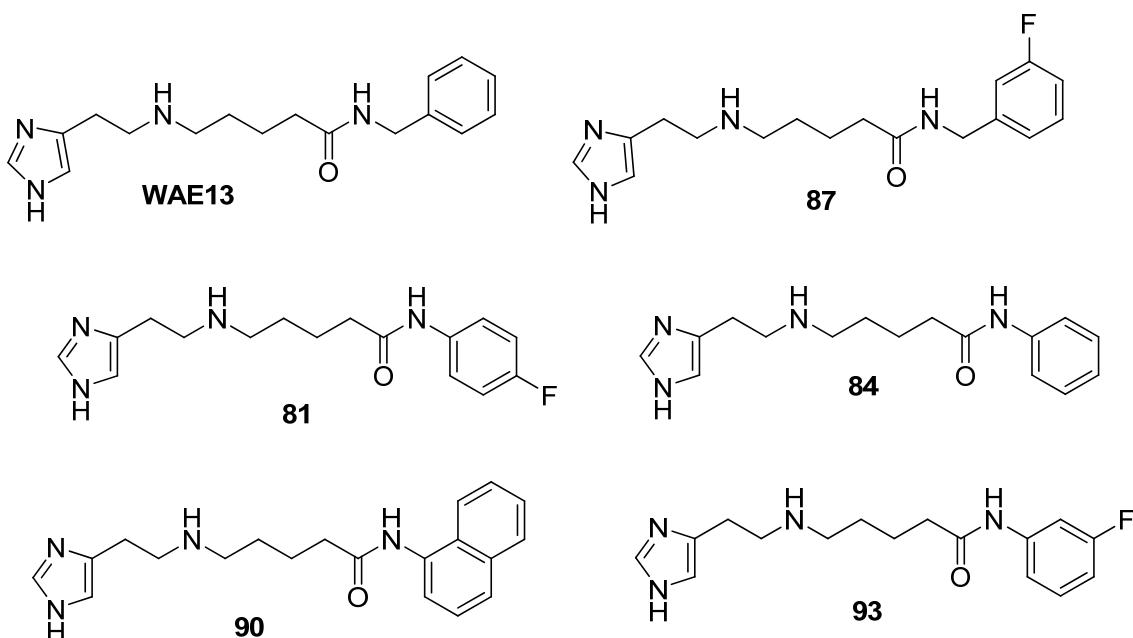


Abb. 3-11: Strukturen der modifizierten Histamin-Liganden

Tabelle 3-7: Affinität und Aktivität am gpH₁-Rezeptor

	n	pEC ₅₀	Rel. Pot.	E _{max} [%]	pK _P	pA ₂ (MEP)
Histamin		6,70 ± 0,02 ⁴¹	100 %	100		9,1 ⁴¹
WAE13	11	5,90 ± 0,04	16 %	101 ± 1	5,06 ± 0,04	8,9 ± 0,1
87	5	5,98 ± 0,07	19 %	100 ± 1	5,41 ± 0,02	9,2 ± 0,1
81	4	6,33 ± 0,19	43 %	17 ± 1	5,03 ± 0,14	--
84	5	5,80 ± 0,22	13 %	15 ± 2	5,19 ± 0,19	8,7 ^a
90	7	5,86 ± 0,11	15 %	91 ± 4	4,77 ± 0,08	9,2 ± 0,1
93	4	6,14 ± 0,05	27 %	24 ± 5	5,24 ± 0,05	8,8 ^a

n: Anzahl der Versuche bezogen auf pEC₅₀ und pK_P; ^a nur ein Experiment, deshalb keine Fehlerangabe

Betrachtet man die Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser sechs Liganden, fällt folgendes auf: die Liganden mit Benzyl- (**WAE13**, **87**) bzw. Naphthylende (**90**) verfügen über eine hohe intrinsische Aktivität, die beim Austausch durch die anilidischen Strukturen fast verloren geht.

Alle Liganden werden durch Mepyramin gehemmt, bei Verbindung **81** so sehr, dass kein pA₂-Wert mehr ermittelt werden konnte.

Vier der Liganden wurden auch im Radioligand-Kompetitions-Bindungsassay am gpH₁-, hH₁- und hH₄-Rezeptor vermessen. Eine Übersicht der Daten ist in Tab. 3-8 zu sehen.

Tabelle 3-8: Affinitäten am gpH₁-, hH₁- und hH₄-Rezeptor

	pK _i gpH ₁	pK _i hH ₁	pK _i hH ₄
Histamin	5,50 ± 0,03	5,62 ± 0,03	8,07 ± 0,14
87	4,87 ± 0,10	5,20 ± 0,11	5,28 ± 0,10
81	5,30 ± 0,09	4,85 ± 0,14	5,30 ± 0,13
84	5,28 ± 0,07	4,91 ± 0,11	4,87 ± 0,11
90	5,07 ± 0,10	4,89 ± 0,12	5,59 ± 0,10

Hier ist zu bemerken, dass das Benzylamid (**87**) etwas höhere Affinität zum hH₁- als zum gpH₁-Rezeptor besitzt ($P < 0,02$). Umgekehrt gilt dies für die Anilid-substituierten Liganden **81**, **84**. Mit der Naphthyl-Substitution (**90**) wird beim hH₄-Rezeptor die Affinität leicht erhöht (vs. **81**, $P < 0,02$).

3.5.2.3 Histaprodifen-Derivate

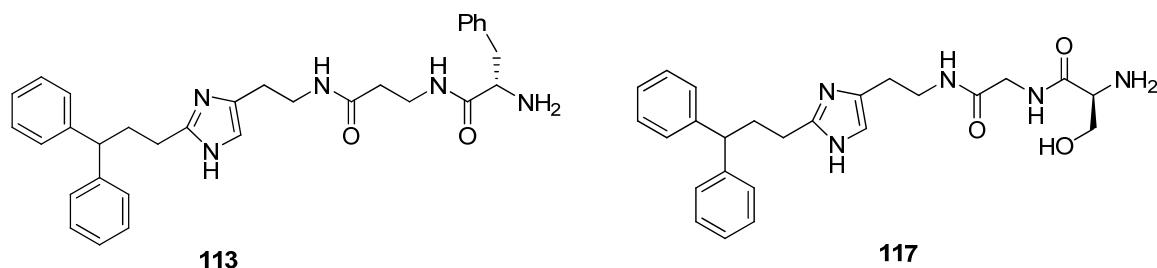


Tabelle 3-9: Affinitäten von **113** und **117** am gpH₁-Rezeptor

	n	pA ₂ gpH ₁	m
113	10	5,71 ± 0,09	1
117	10	4,72 ± 0,08	1

Diese beiden Liganden waren als partielle Agonisten gedacht, stammen sie doch von den Histaproifen-Derivaten ab, die äußerst potente partielle Agonisten darstellen. Wie sich im Experiment herausstellte, zeigen diese beiden Vertreter keinerlei agonistische Aktivität am Meerschweinchen-Ileum. Wahrscheinlich ist die Eliminierung des basischen Zentrums im Moleköl durch die Knüpfung der Amidbindung am N^{α} der Grund. Sie zeigen nur noch eine relativ schwache, antagonistische Wirkung. Wobei die Affinität von **113** mit *L*-Phenylalanin noch deutlich höher ist im Vergleich zum *L*-Serin enthaltenden Liganden **117** ($P < 0,0001$).

4. Zusammenfassung

4.1 Duale H₁-/H₄-Rezeptorantagonisten

Im Rahmen dieses Projekts wurden je zwei Ligandstrukturen des H₁- und des H₄-Rezeptors ausgewählt, die zu einer Hybridverbindung zusammengeführt wurden, um beide Rezeptoren zu adressieren.

Ausgehend von den Experimenten mit Mepyramin und JNJ7777120 im akuten Mäuseasthmamodell von *Deml et al.*³⁰ wurden zunächst diese beiden Pharmakophore miteinander kombiniert. In einer fünf- bis sechstufigen Synthese wurden kurze und lange Derivate dargestellt, wobei die Mepyramin-Untereinheit an das Piperazin bzw. das bioisostere (S)-3-Aminopyrrolidin der JNJ7777-Untereinheit geknüpft wurde. In den Radioligand-Kompetitions-Bindungsassays zeigten diese Verbindungen am hH₁-Rezeptor Affinitäten im nanomolaren Bereich. Besonders hervorzuheben ist Derivat **13** ($pK_i = 8,15$), das zeigt, wie essentiell ein zusätzliches basisches Zentrum ist, um hohe Affinität am hH₁-Rezeptor zu erreichen. Dieses Ergebnis steht auch im Einklang mit den Ergebnissen aus den Untersuchungen der dualen H₁-/H₂-Antagonisten: *Schulze et al.*⁸⁴ konnten die Affinität ihrer Hybridmoleküle zum H₁-Rezeptor steigern, in dem sie das basische Amin in der Seitenkette des H₁-Pharmakophors beibehielten.

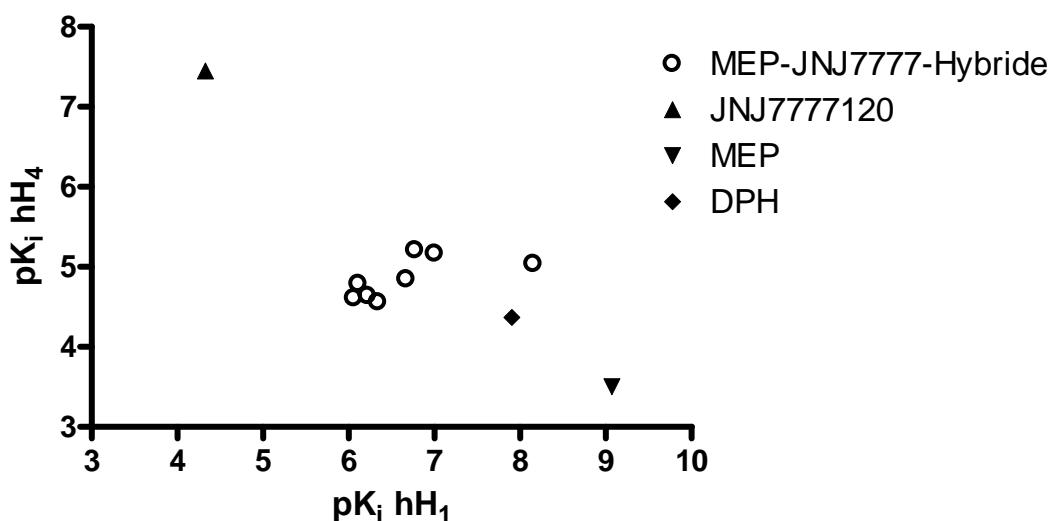
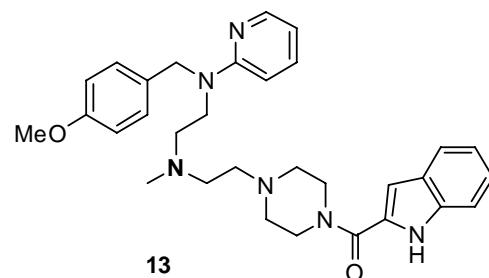


Abb. 4-1: pK_i -Werte der Mepyramin-JNJ7777 verknüpften Moleküle am hH₁- und hH₄-Rezeptor

Die Affinitäten am hH₄-Rezeptor liegen stark unter denen am hH₁-Rezeptor. Die K_i -Werte bewegen sich von 6 bis 30 μM .

Der zweite Ansatz beinhaltet Verbindungen, die entweder von Astemizol abgeleitet sind oder das Astemizol-Motiv mit der JNJ7777-Einheit verknüpfen. Die von *Janssens et al.*⁵¹ beschriebene Synthese konnte sehr gut auf alle dargestellten Derivate angewendet werden. In pharmakologischer Hinsicht ist in dieser Klasse eine viel breitere Streuung bei den pK_i -Werten an den beiden Rezeptoren zu beobachten als im vorangegangenen Feld (Abb. 4-2).

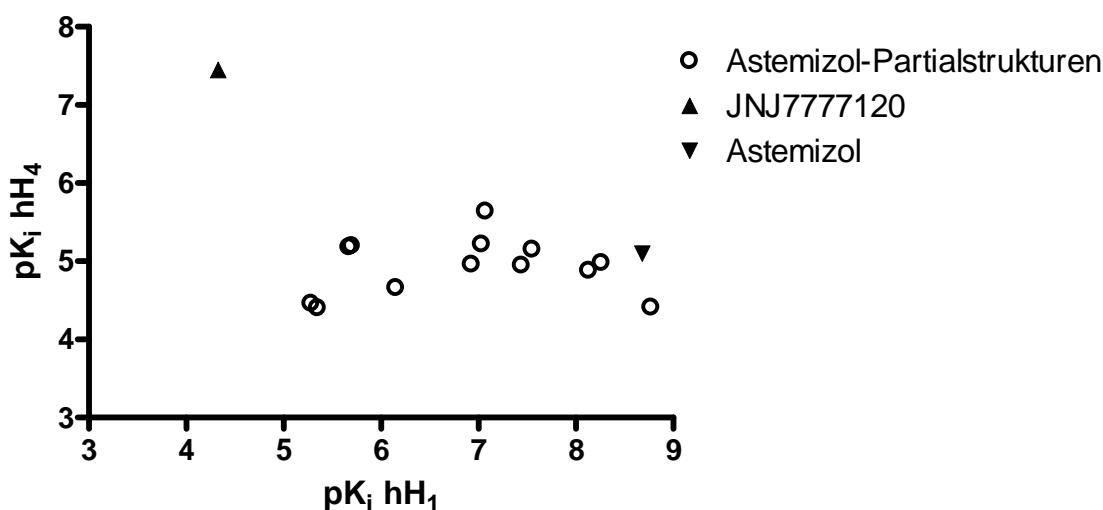


Abb. 4-2: pK_i -Werte der von Astemizol abgeleiteten Moleküle am hH_1 - und hH_4 -Rezeptor

In Abb. 4-3 ist Derivat **43** dargestellt: durch den Ersatz des Benzyl-Substituenten am Astemizol-Grundgerüst durch einen Phenethyl-Substituenten konnte die Affinität am hH_4 -Rezeptor ($pK_i = 5,64$) etwas gesteigert werden. Die Hybridverbindung **59** aus Astemizol-Gerüst und JNJ7777120 zeigte am hH_1 -Rezeptor eine hohe Affinität ($pK_i = 8,26$). Dieses Molekül ähnelt dem Astemizol, das auch eine zweite aromatische Struktur im „östlichen“ Molekülteil aufweist und beinhaltet wieder ein zusätzliches, basisches Zentrum, das H_1 -antagonistische Aktivität fördert.

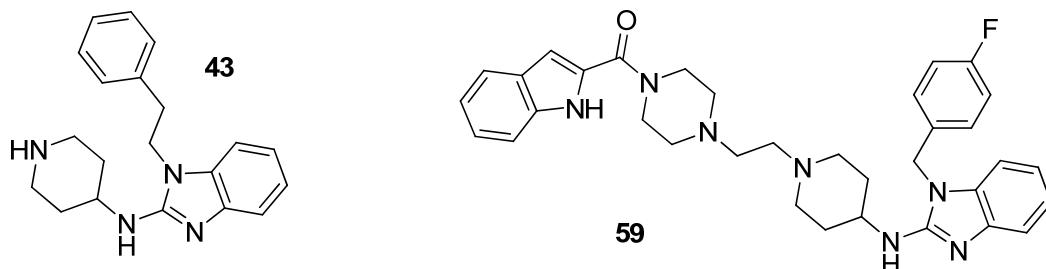


Abb. 4-3: Ausgewählte Beispiele, **43** und **59**

Bleibt noch die Zusammenfassung für die Derivate des zweiten verwendeten H_4 -Pharmakophors: substituierte 2-Aminopyrimidine.

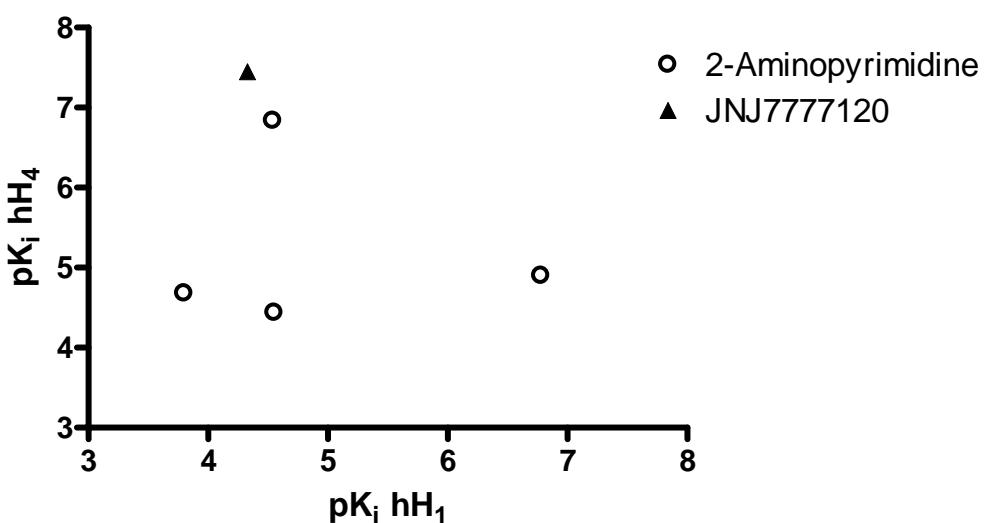


Abb. 4-4: pK_i -Werte der substituierten 2-Aminopyrimidine am hH_1 - und hH_4 -Rezeptor

Hier zeigt das einfache Derivat **62** eine beachtliche Affinität am hH_4 -Rezeptor ($K_i = 145$ nM) und dagegen kaum Affinität am hH_1 -Rezeptor. Bei Verbindung **64** dreht sich dieses Ergebnis um: Affinität am hH_1 -Rezeptor, kaum Affinität am hH_4 -Rezeptor.

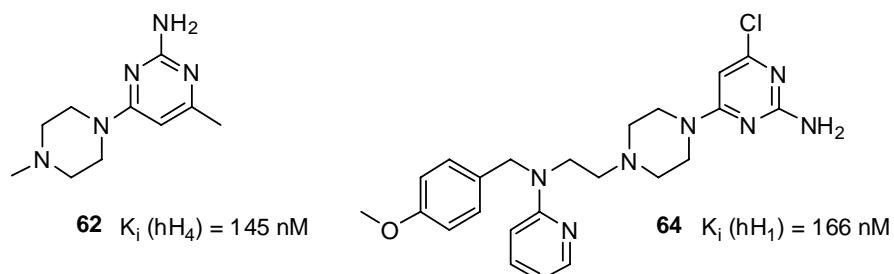
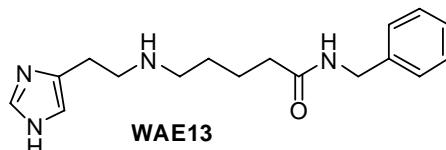


Abb. 4-5: Ausgewählte Beispiele, **62** und **64**

Abschließend lässt sich festhalten, dass einige Hybridliganden entwickelt wurden, die hohe Affinität zum hH_1 -Rezeptor aufweisen. Die Affinität der Verbindungen zum hH_4 -Rezeptor konnte jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht zufriedenstellend erhöht werden. Dieser Rezeptorsubtyp stellt eine große Herausforderung dar, denn schon kleine Modifikationen am Liganden können zu drastischen Änderungen der Affinität (Jablonowski *et al.*⁴⁸) oder auch Funktionalität führen. Letzteres offenbarte sich auch in den $[^{35}\text{S}]GTP\gamma\text{S}$ -Bindungsassays mit den Derivaten **5** und **13** aus der Klasse der MEP-JNJ7777-Hybride, bei denen sich die „kurze“ Verbindung **5** als partieller Agonist verhielt, das „lange“ Analogon **13** als inverser Agonist.

4.2 H₁-Rezeptoragonisten

Im Rahmen des zweiten Teils dieser Arbeit wurden fünf von Histamin abgeleitete Liganden synthetisiert. Dabei diente als Leitstruktur die potenteste Verbindung (**WAE13**) aus meiner Diplomarbeit⁵⁹. Die Spacerlänge von vier Methyleneeinheiten am N^α des Histamins blieb erhalten, nur das abschließende Amid wurde modifiziert. Das Ergebnis der organpharmakologischen Testung am Meerschweinchenileum zeigte, dass alle Liganden als H₁-Agonisten wirken (pEC₅₀: 5,8 - 6,3) und in Bezug auf die intrinsische Aktivität stark variieren (E_{max}: 15 - 100 %).



Des weiteren wurden zwei Histaprodifen-Derivate (**113, 117**) dargestellt, die am N^α über einen Spacer mit einer Aminosäure (Phe, Ser) verbunden sind. Der Spacer wurde als Amidbindung angeknüpft. Die daraus resultierende Eliminierung des basischen Zentrums hatte wohl zur Folge, dass die beiden Liganden nur noch schwache Affinität zum gpH₁-Rezeptor aufweisen und darüber hinaus noch als Antagonisten wirken.

5. Experimenteller Teil

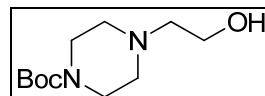
5.1 Allgemeine Angaben

Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Büchi Melting Point B-545 Gerät gemessen und die Werte wurden nicht korrigiert. Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit einem Avance 300- bzw. 600-Spektrometer von Bruker aufgenommen. Die Auflistung der Daten erfolgt durch Angabe der chemische Verschiebung (δ) in ppm gegenüber dem internen Standard, der Multiplizität (s, Singulett; d, Dublett etc.), der Kopplungskonstante (J) in Hertz und der Anzahl der Protonen. Als Lösungsmittel wurden DMSO-d_6 , CDCl_3 , MeOD-d_4 , Aceton- d_6 oder D_2O verwendet. Zur analytischen Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel 60 F_{254} -Folien der Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland, verwendet und für die präparative Säulenchromatographie Kieselgel Geduran SI 120 (Merck, Darmstadt). Bei der Laufmittelbezeichnung MeOH/NH_3 handelt es sich um eine ca. 7 molare Lösung NH_3 in MeOH , bezogen von Acros Organics. Die Aufnahme der Cl^- bzw. ES-Massenspektren erfolgte mit einem Finnigan MAT SSY 710 A. Die Bestimmungen der Elementaranalysen (CHN) wurden mit dem Gerät Heraeus CHN Rapid ausgeführt. Alle Daten sind in Prozent angegeben und liegen innerhalb von $\pm 0,4\%$ der theoretischen Werte.

5.2 Synthese von $\text{H}_1\text{R}/\text{H}_4\text{R}$ -Antagonisten

5.2.1 Mepyramin-JNJ7777120-verbrückte Moleküle

tert-Butyl 4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-carboxylat (1)



$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$

$M_r = 230,30$

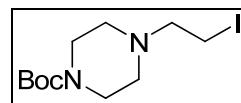
Ausbeute: 4,28 g, 18,6 mmol, 96 % farbloses Öl

Zu einer eisgekühlten Lösung aus 2,51 g, 19,3 mmol *N*-(2-Hydroxyethyl)-piperazin in 10 mL DCM tropft man eine Lösung aus 4,21 g, 19,3 mmol Boc_2O in 20 mL DCM. Nachdem eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man nimmt das zurückbleibende Öl in 20 mL H_2O auf und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Et_2O (je 20 mL). Nach dem Trocknen der vereinigten org. Phasen über Na_2SO_4 wird abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3,64 – 3,60 (m, 2H), 3,45 – 3,41 (m, 4H), 2,69 (bs, 1H), 2,56 – 2,53 (m, 2H), 2,46 – 2,43 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

CI-MS: m/z (%): 231 (100) [MH⁺].

tert-Butyl-4-(2-iodoethyl)piperazin-1-carboxylat (2)



C₁₁H₂₁IN₂O₂

M_r = 340,20

Ausbeute: 3,87 g, 11,4 mmol, 72 % farbloser Feststoff Schmp.: 66,0 °C

Eine Lösung aus 6,79 g, 25,9 mmol PPh₃ und 5,98 g, 23,6 mmol I₂ in 80 mL DCM wird 10 Minuten gerührt. Dann folgt die tropfenweise Zugabe von 3,62 g, 15,7 mmol **1** in 10 mL DCM, und nach erfolgter Zugabe lässt man weitere 20 h rühren. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, die Mutterlauge eingeengt und erneut abfiltriert. Der Niederschlag wird mit Aceton gewaschen, in 5%iger Na₂CO₃-Lösung aufgenommen und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

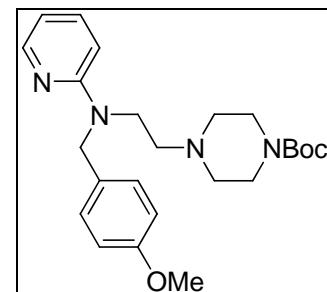
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,44 – 3,41 (m, 4H), 3,22 – 3,17 (m, 2H), 2,75 – 2,70 (m, 2H), 2,45 – 2,41 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 341 (100) [MH⁺], 382 (15) [MH]⁺ + MeCN].

CHN (C₁₁H₂₁IN₂O₂): Ber. C 38,84 H 6,22 N 8,23

Gef. C 38,98 H 6,34 N 8,20

tert-Butyl-4-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)piperazin-1-carboxylat (3)



C₂₄H₃₄N₄O₃

M_r = 426,55

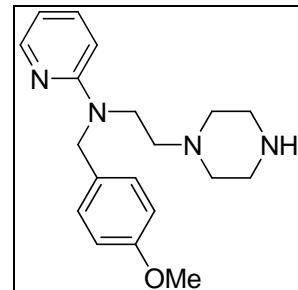
Ausbeute: 0,27 g, 0,63 mmol, 45 % farbloses Öl

Zu einer Suspension aus 0,07 g, 1,70 mmol NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl) in 2 mL DMF gibt man 0,30 g, 1,41 mmol 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin und lässt eine Stunde röhren. Dann fügt man langsam 0,48 g, 1,41 mmol **2** in 2 mL DMF hinzu und lässt über Nacht weiterröhren. Durch Zugabe von 5%iger Na₂CO₃-Lösung zerstört man überschüssiges NaH. Die Lösung wird dreimal mit Diethylether extrahiert und die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 1:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,15 (dd, 1H, J = 1,2 Hz, J = 4,9 Hz), 7,37 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,9 Hz), 7,15 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,83 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,53 (dd, 1H, J = 5,5 Hz, J = 7,0 Hz), 6,44 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,69 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,71 – 3,66 (m, 2H), 3,42 – 3,38 (m, 4H), 2,56 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,44 – 2,41 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 427 (100) [MH⁺], 255 (28) [(M+2H+2MeCN)²⁺].

***N*-(4-Methoxybenzyl)-*N*-(2-(piperazin-1-yl)ethyl)pyridin-2-amin (4)**



C₁₉H₂₆N₄O

M_r = 326,44

Ausbeute: 0,29 g, 0,89 mmol, 89 % farbloses Öl

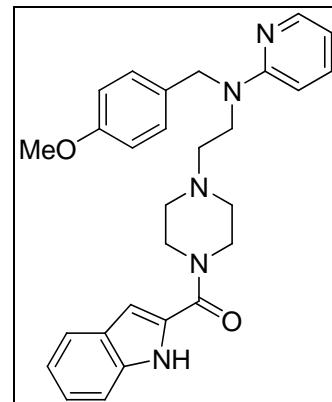
0,44 g, 1 mmol **3** werden in 10 mL DCM und 3 mL TFA eine Stunde geröhrt. Nach dem Abtrennen des Lösungsmittels wird das verbleibende Öl mit 15 mL 2 N NaOH aufgenommen und dreimal mit 20 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das bräunliche Öl wird säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 8,04 (dd, 1H, J = 1,3 Hz, J = 5,0 Hz), 7,44 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,9 Hz), 7,15 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,85 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,61 –

6,54 (m, 2H), 4,68 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,71 – 3,66 (m, 2H), 2,82 (t, 4H, $J = 4,9$ Hz), 2,48 – 2,56 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 327 (100) [MH^+], 185 (76) [$(\text{M} + 2\text{H} + \text{MeCN})^{2+}$], 205 (75) [$(\text{M} + 2\text{H})^{2+} + \text{MeCN}$].

(1*H*-Indol-2-yl)(4-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)methanon (5)



$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_2$

$M_r = 469,58$

Ausbeute: 0,34 g, 0,7 mmol, 80 % farbloser Feststoff Schmp.: 97,5 °C

0,18 g, 1,1 mmol Indol-2-carbonsäure, 0,49 g, 1,1 mmol BOP und 0,30 mL, 2,2 mmol Et_3N werden in 10 mL DCM gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 0,36 g, 1,1 mmol **4** und lässt den Ansatz zwei Stunden röhren. Die Lösung wird mit 5 %iger Na_2CO_3 -Lösung und ges. NaCl -Lösung gewaschen. Die org. Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch: zuerst mit dem Laufmittel EE und zur endgültigen Reinigung mit folgendem Gradienten: EE:PE 1:1 bis EE.

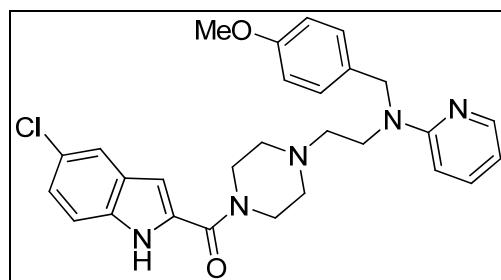
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 9,91 (s, 1H), 8,15 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,61 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,39 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz), 7,24 – 7,07 (m, 4H), 6,83 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,74 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz), 6,53 (dd, 1H, $J = 5,0$ Hz, $J = 7,0$ Hz), 6,44 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 4,68 (s, 2H), 3,89 (bs, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,72 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,62 – 2,54 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 470 (100) [MH^+].

CHN ($\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 1 \text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$): Ber. C 66,67 H 7,18 N 12,16

Gef. C 66,92 H 6,87 N 12,18

(5-Chloro-1*H*-indol-2-yl)(4-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)methanon (6)



Ausbeute: 0,23 g, 0,46 mmol, 77 % farbloser Feststoff Schmp.: 135,9 °C

0,26 g, 0,6 mmol **3** werden in 3 mL DCM und 1 mL TFA eine halbe Stunde gerührt. Die Lösung wird im Vakuum eingeengt und mit 7 N NH_3 in MeOH basisch gemacht. Das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck wieder abdestilliert und das Zwischenprodukt am Ölumpenvakuum getrocknet. Eine Lösung aus 0,12 g, 0,6 mmol 5-Chlorindol-2-carbonsäure, 0,27 g, 0,61 mmol BOP und 0,17 mL, 1,2 mmol Et_3N in 8 mL MeCN wird zu einer Lösung aus entschütztem **3** in 3 mL MeCN gegeben. Nach drei Stunden wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 20 mL EE aufgenommen. Es wird einmal mit 5%iger Na_2CO_3 -Lösung gewaschen, dann über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Feststoff wird aus EE umkristallisiert.

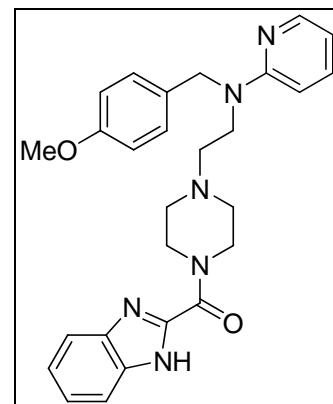
1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 9,16 (s, 1H), 8,16 (ddd, 1H, $J = 0,5$ Hz, $J = 1,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,60 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,42 – 7,37 (m, 1H), 7,34 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,23 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 8,7$ Hz), 7,17 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,85 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,69 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz), 6,55 (dd, 1H, $J = 5,0$ Hz, $J = 6,5$ Hz), 6,46 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 4,70 (s, 2H), 3,89 (bs, 4H), 3,79 (s, 3H), 3,74 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 2,65 – 2,57 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 504 (100) [MH^+]

CHN ($C_{28}H_{30}ClN_5O_2$): Ber. C 66,72 H 6,00 N 13,89

Gef. C 66,68 H 5,99 N 14,04

(1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-yl)(4-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)methanon (7)



$C_{27}H_{30}N_6O_2$

$M_r = 470,57$

Ausbeute: 0,09 g, 0,19 mmol, 35 % gelblicher Schaum Schmp.: 104 – 105 °C

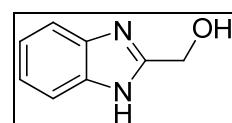
0,18 g, 0,55 mmol **4**, 0,09 g, 0,55 mmol Benzimidazol-2-carbonsäure **9**, 0,25 g, 0,56 mmol BOP und 0,15 mL, 1,1 mmol Et_3N werden in 8 mL $CHCl_3$ vier Stunden gerührt. Dann wird die Mischung einmal mit 5 %iger Na_2CO_3 -Lösung gewaschen. Die org. Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 13,12 (s, 1H), 8,08 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,74 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,53 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,44 (ddd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 7,1$ Hz, $J = 8,8$ Hz), 7,34 – 7,28 (m, 1H), 7,27 – 7,22 (m, 1H), 7,18 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,88 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,55 (dd, 2H, $J = 5,4$ Hz, $J = 10,4$ Hz), 4,69 (s, 2H), 4,43 (bs, 4H), 3,72 (s, 3H), 3,69 – 3,64 (m, 2H), 2,57 – 2,54 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 471 (100) $[MH^+]$

CHN ($C_{27}H_{30}N_6O_2 \cdot 0,5 CH_3CO_2C_2H_5$):	Ber. C 67,68	H 6,66	N 16,33
	Gef. C 67,34	H 6,92	N 16,13

(1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-yl)methanol (8)





$$M_r = 148,16$$

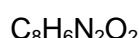
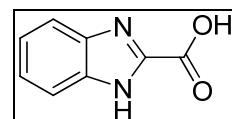
Ausbeute: 2,33 g, 15,7 mmol, 36 %

beiger Feststoff

Zu einer Lösung aus 4,68 g, 43,3 mmol o-Phenyldiamin und 4,94 g, 65,0 mmol Glykolsäure in 17 mL 4 N HCl und 17 mL Wasser gibt man 0,22 g Aktivkohle und lässt die Mischung anschließend 45 min refluxieren. Nachdem die Mischung auf Raumtemperatur gekommen ist, wird über Celite filtriert und gut nachgewaschen. Dann wird vorsichtig mit konz. NH₃ neutralisiert, das Produkt fällt aus und kann abgesaugt werden. Es wird aus 50%igem EtOH umkristallisiert.

Analytische Daten entsprechen Lit. ³⁷.

1H-Benzo[d]imidazol-2-carbonsäure (9)



$$M_r = 162,15$$

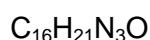
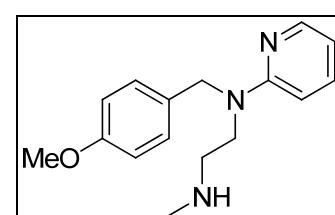
Ausbeute: 0,87 g, 5,4 mmol, 34 %

beiger Feststoff

2,33 g, 15,7 mmol **8** und 2,04 g, 19,3 mmol Na₂CO₃ werden separat in so wenig heißem H₂O wie möglich gelöst und dann vereinigt. Bei 100 °C gibt man zu dieser Mischung portionsweise, innerhalb von einer Stunde, 2,20 g, 13,9 mmol KMnO₄. Die heiße Lösung wird über Celite abfiltriert und man wäscht mehrmals mit heißem H₂O nach. Nach dem Abkühlen wird das Filtrat vorsichtig mit verd. HOAc neutralisiert. Dabei fällt das Produkt aus und kann abfiltriert werden. Umkristallisation erfolgt aus EtOH.

Analytische Daten entsprechen Lit. ³⁷.

N¹-(4-Methoxybenzyl)-N²-methyl-N¹-(pyridin-2-yl)ethan-1,2-diamin (10)



$$M_r = 271,36$$

Ausbeute: 0,15 g, 0,6 mmol, 15 %

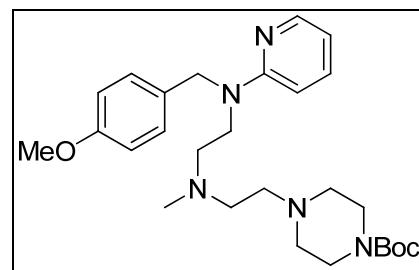
farbloses Öl

1,05 g, 3,7 mmol Mepyramin werden in 15 mL 1,2-Dichlorethan gelöst und man fügt noch eine Spatelspitze Na_2CO_3 hinzu. Zu dieser Lösung tropft man bei 0 °C 1,06 g, 7,4 mmol 1-Chloroethylchlorformiat hinzu. Nach beendeter Zugabe wird noch 10 min bei 0 °C gerührt und dann für zwei Stunden auf 50 °C erhitzt. Die abgekühlte Lösung wird filtriert und das Lösungsmittel abgezogen. Der ölige Rückstand wird mit 20 mL MeOH behandelt und nochmal für 2 Stunden refluxiert. Dann wird das Lösungsmittel unter verminderterem Druck abdestilliert, das zurückbleibende braune Öl in 2 N NaOH-Lösung aufgenommen und dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:MeOH/ NH_3 9:1. Dabei kann auch wieder Edukt zurückgewonnen werden.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 8,15 (ddd, 1H, J = 0,6 Hz, J = 1,9 Hz, J = 4,9 Hz), 7,37 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,8 Hz), 7,14 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,83 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,53 (dd, 1H, J = 5,0 Hz, J = 7,0 Hz), 6,48 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,80 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,68 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,80 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,41 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 272 (100) $[\text{MH}^+]$.

tert-Butyl-4-((2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)(methyl)amino)ethyl)piperazin-1-carboxylat (11)



$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_3$

$M_r = 483,65$

Ausbeute: 0,67 g, 1,4 mmol, 73 % gelbes Öl

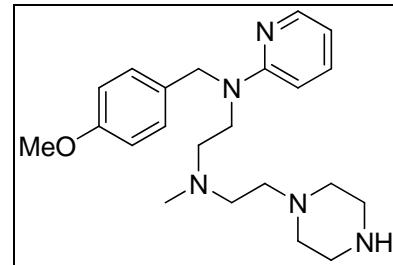
0,52 g, 1,9 mmol **10** werden zu einer Suspension von 0,09 g, 2,3 mmol NaH (60 %ige Dispersion in Mineralöl) in 2 mL DMF gegeben und die Mischung wird eine Stunde gerührt. Dann tropft man eine Lösung aus 0,68 g, 2 mmol **2** in 2 mL DMF hinzu und lässt über Nacht weiterrühren. Aufgearbeitet wird durch Zugabe von 5%iger Na_2CO_3 -Lösung. Die wässrige Phase wird dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen

werden über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,09 (dd, 1H, J = 1,8 Hz, J = 4,9 Hz), 7,32 (ddd, 1H, J = 1,9 Hz, J = 7,2 Hz, J = 8,9 Hz), 7,10 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 6,78 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,47 (dd, 1H, J = 5,1 Hz, J = 6,9 Hz), 6,39 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,63 (s, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,59 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 3,35 (t, 4H, J = 5,1 Hz), 2,56 – 2,53 (m, 6H), 2,33 (t, 4H, J = 5,1 Hz), 2,24 (s, 3H), 1,40 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 484 (100) [MH^+].

N¹-(4-Methoxybenzyl)-N²-methyl-N²-(2-(piperazin-1-yl)ethyl)-N¹-(pyridin-2-yl)ethan-1,2-diamin (12)



$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}$

$M_r = 383,53$

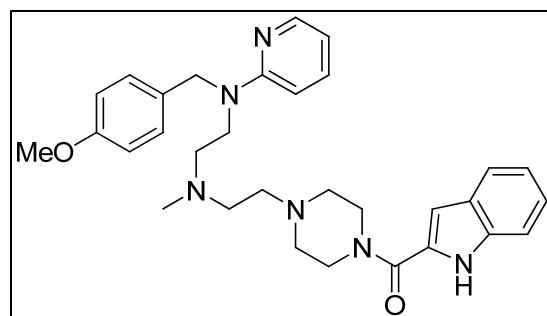
Ausbeute: 0,46 g, 1,2 mmol, 86 %

farbloses Öl

0,67 g, 1,4 mmol **11** in 8 mL DCM und 1,5 mL TFA eine Stunde rühren lassen. Dann wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit 7 N NH₃ in MeOH alkalisiert. Endgültige Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,11 (dd, 1H, J = 1,3 Hz, J = 4,9 Hz), 7,34 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,8 Hz), 7,11 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,80 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,49 (dd, 1H, J = 5,0 Hz, J = 7,1 Hz), 6,41 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,65 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,61 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,85 – 2,78 (m, 6H), 2,57 – 2,48 (m, 2H), 2,44 – 2,38 (m, 6H), 2,25 (s, 3H).

(1*H*-Indol-2-yl)(4-(2-((2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)(methyl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)methanon (13)



$C_{31}H_{38}N_6O_2$

$M_r = 526,67$

Ausbeute: 0,58 g, 1,1 mmol, 79 % gelblicher Schaum Schmp.: 64 °C

0,67 g, 1,4 mmol **11** werden in 8 mL DCM und 1,5 mL TFA eine Stunde gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand in 10 mL MeCN wieder-aufgenommen und durch Zugabe von Et_3N auf einen basischen pH-Wert eingestellt. Eine separate Lösung aus 0,23 g, 1,4 mmol Indol-2-carbonsäure, 0,62 g, 1,4 mmol BOP und 0,2 mL, 1,4 mmol Et_3N in 10 mL MeCN wird nach 5 min mit der anderen Lösung vereinigt und drei Stunden gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert, der Rückstand in 30 mL EE aufgenommen und einmal mit 5%iger Na_2CO_3 -Lösung waschen. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch erst mit dem Laufmittel DCM:MeOH/ NH_3 9:1 und in einem zweiten Chromatographieschritt mit dem Laufmittel EE:MeOH/ NH_3 .

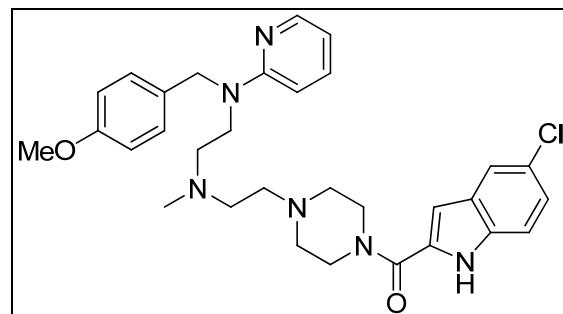
1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 9,31 (s, 1H), 8,15 (dd, 1H, $J = 1,3$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,65 (dd, 1H, $J = 0,5$ Hz, $J = 8,0$ Hz), 7,42 (dd, 1H, $J = 0,6$ Hz, $J = 8,3$ Hz), 7,40 – 7,34 (m, 1H), 7,28 (ddd, 1H, $J = 1,1$ Hz, $J = 7,0$ Hz, $J = 8,2$ Hz), 7,17 – 7,11 (m, 3H), 6,84 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,76 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz), 6,53 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, $J = 6,8$ Hz), 6,45 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 4,70 (s, 2H), 3,91 (bs, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,70 – 3,65 (m, 2H), 2,62 – 2,49 (m, 10H), 2,33 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 527 (100) [MH^+]

CHN ($C_{31}H_{38}N_6O_2 \cdot 1 CH_3OH \cdot 0,5 H_2O$): Ber. C 67,70 H 7,63 N 14,80

Gef. C 67,91 H 7,26 N 14,79

(5-Chloro-1*H*-indol-2-yl)(4-(2-((2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)(methyl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)methanone (14)



$$\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{ClN}_6\text{O}_2$$

$$M_r = 561,12$$

Ausbeute: 0,03 g, 0,05 mmol, 13 % gelber Feststoff Schmp.: 67,5 – 68,0 °C

Analog zu **13**: 0,2 g, 0,4 mmol **11** werden nach Entschützung an 5-Chloroindol-2-carbonsäure gekoppelt.

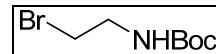
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,69 (s, 1H), 8,15 (dd, 1H, J = 1,5 Hz, J = 4,7 Hz), 7,59 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 7,44 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,2 Hz, J = 8,8 Hz), 7,36 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,21 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 8,7 Hz), 7,12 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,84 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,65 – 6,61 (m, 2H), 6,57 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,64 (s, 2H), 3,95 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 3,83 (bs, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,23 – 3,16 (m, 4H), 2,77 (t, 2H, J = 5,9 Hz), 2,58 – 2,55 (m, 4H), 2,02 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 561 (100) [MH^+], 302 (68) [$(\text{M} + 2\text{H})^{2+} + 2\text{MeCN}$], 281 (20) [$(\text{M} + 2\text{H})^{2+}$].

CHN ($C_{31}H_{37}ClN_6O_2 \cdot 1 H_2O \cdot 1 CH_3OH$): Ber. C 62,89 H 7,09 N 13,75

Gef. C 62,95 H 6,83 N 13,88

tert-Butyl-2-bromoethylcarbamat (15)



$C_7H_{14}BrNO_2$

$$M_r = 224,10$$

Ausbeute: 1,7 g, 7,6 mmol, 78 %

farbloses Öl

Zu einer Lösung aus 2,0 g, 9,8 mmol 2-Bromoethylamin-Hydrobromid in 120 mL MeOH und 14 mL, 10,22 g, 101 mmol Et_3N gibt man 4,15 g, 19,0 mmol eq Boc_2O . Die Mischung wird eine Stunde auf 60 °C erwärmt und dann 14 h bei RT weitergerührt. Das

Lösungsmittel wird unter verminderem Druck abdestilliert, der Rückstand mit 40 mL DCM wiederaufgenommen und sukzessive mit 1 M HCl, 5%iger Na₂CO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen (je 30 mL). Die org. Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁴².

(S)-tert-Butyl-3-aminopyrrolidin-1-carboxylat (16)



C₉H₁₈N₂O₂

M_r = 186,25

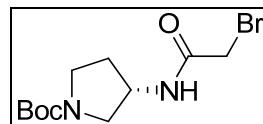
Ausbeute: 1,97 g, 10,6 mmol, 52 % farblose Flüssigkeit

Zu einer Suspension von 3,61 g, 22,7 mmol, 1 eq (S)-3-Aminopyrrolidin Dihydrochlorid in 60 mL MeOH fügt man 5,3 g, 49,9 mmol, 2,2 eq Na₂CO₃ hinzu und lässt 45 min röhren. Dann wird im Eisbad gekühlt, 4,46 g, 20,4 mmol, 0,9 eq Boc₂O in 60 mL MeOH zugetropft und für weitere 3 h bei 0 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in 60 mL 1 N HCl-Lösung aufgenommen. Der pH-Wert muss bei ca. 2 liegen, gegebenenfalls ist noch 1 N HCl-Lösung hinzuzufügen. Die wässrige Phase wird einmal mit DCM ausgeschüttelt, um doppelgeschütztes (S)-3-Aminopyrrolidin zu entfernen. Die wässrige Phase wird durch Zugabe von festem K₂CO₃ alkalisiert und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,40 – 3,26 (m, 3H), 3,23 – 3,13 (m, 1H), 2,85 (dd, 1H, J = 4,6 Hz, J = 10,3 Hz), 1,85 (dq, 1H, J = 6,0 Hz, 12,3 Hz), 1,52 (ddd, 1H, J = 6,3 Hz, J = 13,6 Hz, J = 20,2 Hz), 1,39 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 187 (100) [MH⁺], 228 (86) [(MH)⁺ + MeCN], 373 (30) [2MH⁺], 172 (21) [(MH)⁺ + MeCN - C₄H₈], 131 (20) [MH⁺ - C₄H₈].

(S)-tert-Butyl 3-(2-bromoacetamido)pyrrolidin-1-carboxylat (17)



$C_{11}H_{19}BrN_2O_3$ $M_r = 307,18$

Ausbeute: 2,56 g, 8,3 mmol, 92 % farbloser, klebriger Schaum, der nach längerer Zeit fest wird Schmp.: 103,0 -103,4 °C

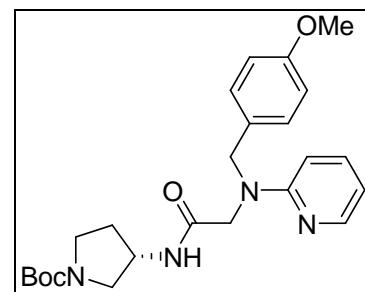
Zu einer eisgekühlten Lösung aus 1,7 g, 9,1 mmol **16** in 28 mL 5%iger Na_2CO_3 -Lösung und 28 mL DCM tropft man 0,87 mL, 10,0 mmol Bromoacetylchlorid. Man lässt 1,5 h im Eisbad röhren und anschließend noch weitere 2 h bei Raumtemperatur. Die Mischung wird mit 20 mL DCM und 15 mL H_2O verdünnt und die org. Phase abgetrennt. Diese wird noch mit 40 mL 1 N HCl-Lösung und 40 mL ges. $NaCl$ -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,51 (bs, 1H), 4,44 (qd, 1H, $J = 5,9$ Hz, $J = 11,7$ Hz), 3,87 (s, 2H), 3,65 (dd, 1H, $J = 6,3$ Hz, $J = 11,5$ Hz), 3,45 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz), 3,22 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 2,18 (dt, 1H, $J = 7,6$ Hz, $J = 13,4$ Hz), 1,87 (dt, 1H, $J = 6,1$ Hz, $J = 12,4$ Hz), 1,47 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 294 (100) $[(MH)^+ + MeCN - C_4H_8]$, 309 (58) $[MH^+]$, 251 (30) $[(MH)^+ - C_4H_8]$.

CHN ($C_{11}H_{19}BrN_2O_3 \cdot 0,13 H_2O$): Ber. C 42,92 H 6,49 N 9,03
Gef. C 42,70 H 6,27 N 9,05

(S)-tert-Butyl-3-((2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)acetamido)pyrrolidin-1-carboxylat (18)



$C_{24}H_{32}N_4O_4$ $M_r = 440,54$

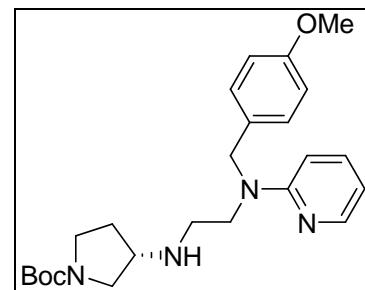
Ausbeute: 0,36 g, 0,8 mmol, 12 % gelbliches Öl

Analog zu **11**: 1,44 g, 6,7 mmol 2-(4-Methoxy)benzylaminopyridin und 2,06 g, 6,7 mmol **17** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,17 (dd, 1H, J = 1,1 Hz, J = 4,8 Hz), 7,46 (ddd, 1H, J = 1,9 Hz, J = 7,3 Hz, J = 8,8 Hz), 7,16 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,86 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,67 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 6,8 Hz), 6,53 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,70 (d, 2H, J = 4,2 Hz), 4,35 (tt, 1H, J = 5,9 Hz, J = 11,9 Hz), 4,11 (s, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,56 – 2,95 (m, 4H), 2,06 – 1,95 (m, 1H), 1,68 – 1,52 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 441 (100) [MH⁺].

(S)-tert-Butyl-3-((2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethylamino)pyrrolidin-1-carboxylat (19)



C₂₄H₃₄N₄O₃

M_r = 426,55

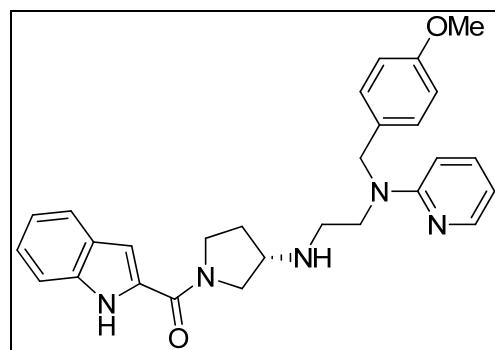
Ausbeute: 0,07 g, 0,16 mmol, 26 % farbloses Öl

Zu einer eisgekühlten Lösung aus 0,28 g, 0,64 mmol **18** in 2 mL THF tropft man 1,3 mL, 1,3 mmol einer 1 M Boranlösung in THF und lässt anschließend 5,5 Stunden refluxieren. Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur gekommen ist, gibt man 10 mL 5 %ige Na₂CO₃-Lösung hinzu und extrahiert die wässrige Phase mit EE (3 × 10 mL). Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,17 (dd, 1H, J = 1,8 Hz, J = 5,4 Hz), 7,37 (ddd, 1H, J = 1,8 Hz, J = 7,2 Hz, J = 8,7 Hz), 7,12 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,82 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,54 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 6,8 Hz), 6,46 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,66 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,68 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 3,53 – 3,34 (m, 2H), 3,26 (td, 2H, J = 5,8 Hz, J = 11,9 Hz), 3,00 (ddd, 1H, J = 5,3 Hz, J = 10,7 Hz, J = 22,1 Hz), 2,82 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,17 (bs, 1H), 2,03 – 1,91 (m, 1H), 1,67 – 1,55 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 427 (100) [MH⁺].

(S)-(1H-Indol-2-yl)(3-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethylamino)pyrrolidin-1-yl)methanon (20)



$C_{28}H_{31}N_5O_2$

$M_r = 469,58$

Ausbeute: 0,04 g, 0,09 mmol, 43 % farbloser Feststoff Schmp.: 55,2 – 56,0 °C

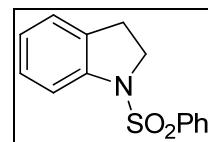
0,09 g, 0,21 mmol **19** werden durch einstündiges Röhren in 3 mL DCM und 0,75 mL TFA entschützt. Das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck abdestilliert, der Rückstand in 5 mL DCM wieder aufgenommen und die Lösung durch Zugabe von Et_3N alkalisiert. Zu dieser Lösung gibt man 0,04 g, 0,25 mmol Indol-2-carbonsäure, 0,07 g, 0,25 mmol DEPBT und 0,05 g, 0,5 mmol Et_3N und lässt über Nacht röhren. Man wäscht einmal mit 5%iger Na_2CO_3 -Lösung, trocknet die organische Phase über Na_2SO_4 und zieht das Lösungsmittel im Vakuum ab. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgt einmal mit dem Laufmittel DCM:MeOH 9:1 und abschließend noch mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 9,52 (s, 1H), 8,15 (ddd, 1H, $J = 0,5$ Hz, $J = 1,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,67 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,44 (dd, 1H, $J = 0,5$ Hz, $J = 8,3$ Hz), 7,37 (ddd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 7,2$ Hz, $J = 8,8$ Hz), 7,29 (ddd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 6,9$ Hz, $J = 7,7$ Hz), 7,14 (d, 3H, $J = 8,8$ Hz), 6,83 (d, 3H, $J = 8,6$ Hz), 6,54 (t, 1H, $J = 5,9$ Hz), 6,47 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 4,67 (s, 2H), 4,09 – 3,83 (m, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,76 – 3,72 (m, 2H), 3,53 – 3,41 (m, 2H), 2,92 (t, 2H, $J = 6,1$ Hz), 2,19 – 2,00 (m, 2H).

ES-MS: m/z (%): 470 (100) [MH^+].

CHN ($C_{28}H_{31}N_5O_2 \cdot 1 CH_3CO_2C_2H_5 \cdot 0,5 H_2O$): Ber. C 67,82 H 7,11 N 12,36

Gef. C 67,78 H 7,25 N 12,40

1-(Phenylsulfonyl)indolin (21) $C_{14}H_{13}NO_2S$ $M_r = 259,32$

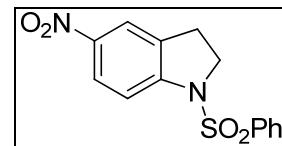
Ausbeute: 43,6 g, 0,168 mol, 80 % bräunlicher Feststoff Schmp.: 129,2 – 130,0 °C

23,5 mL, 0,21 mol Indolin werden in 300 mL DCM gelöst, dazu gibt man 35 mL, 0,25 mol Et_3N und eine katalytische Menge DMAP. Nun tropft man 28,1 mL, 0,22 mmol Phenylsulfonylchlorid innerhalb von einer halben Stunde zu und lässt 16 h bei RT röhren. Die org. Phase wird sukzessive mit 1 N HCl-Lösung, 5%iger Na_2CO_3 -Lösung und ges. $NaCl$ -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,81 (td, 2H, $J = 2,4$ Hz, $J = 3,5$ Hz), 7,72 – 7,65 (m, 1H), 7,56 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 7,48 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,18 (dd, 2H, $J = 7,8$ Hz, $J = 17,0$ Hz), 6,98 (dt, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 7,4$ Hz), 3,91 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz), 2,88 (t, 2H, $J = 8,4$ Hz).

CI-MS: m/z (%): 277 (100) $[MNH_4^+]$, 260 (15) $[MH^+]$.

CHNS ($C_{14}H_{13}NO_2S$):	Ber. C 64,84	H 5,05	N 5,40	S 12,36
	Gef. C 64,79	H 5,25	N 5,34	S 12,40

5-Nitro-1-(phenylsulfonyl)indolin (22) $C_{14}H_{12}N_2O_4S$ $M_r = 304,32$

Ausbeute: 4,95 g, 16,3 mmol, 81 % gelblicher Feststoff Schmp.: 127,2 – 127,8 °C

Zu einer eisgekühlten Lösung aus 5,19 g, 20 mmol **21** in 50 mL Nitromethan tropft man langsam, innerhalb von 50 min, eine Lösung aus 0,88 mL, 0,21 mmol rauchender HNO_3 (70 %) in 10 mL CH_3NO_2 hinzu und lässt eine weitere Stunde im Eisbad röhren. Danach kippt man die Lösung auf 60 mL Wasser, neutralisiert mit 2 N NaOH-Lösung und

trocknet die org. Phase über Na_2SO_4 . Das Lösungsmittel wird unter verminderem Druck abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 3:7 gereinigt.

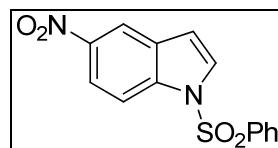
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 8,12 (dd, 1H, J = 2,3 Hz, J = 8,9 Hz), 8,03 (s, 1H), 7,93 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 7,74 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,63 (dd, 3H, J = 6,4 Hz, J = 8,3 Hz), 4,06 (t, 2H, J = 8,5 Hz), 3,11 (t, 2H, J = 8,6 Hz).

CI-MS: m/z (%): 304 (100) $[\text{M}^+]$, 117 (94) $[\text{M}^+ - \text{PhSO}_2^- - \text{NO}_2^-]$, 77 (53) $[\text{C}_6\text{H}_5^+]$, 163 (34) $[\text{M}^+ - \text{PhSO}_2^-]$, 141 (31) $[\text{PhSO}_2^+]$.

CHN ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$): Ber. C 55,25 H 3,97 N 9,21

Gef. C 55,32 H 3,82 N 9,19

5-Nitro-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol (23)



$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ $M_r = 302,31$

Ausbeute: 0,69 g, 2,3 mmol, 33 % farbloser Feststoff Schmp.: 131,6 – 132,2 °C

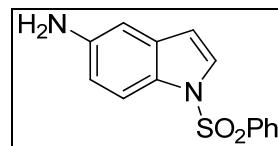
Einer Lösung aus 2,11 g, 6,9 mmol **22** in 35 mL DCM p.A. fügt man 6,3 g, 69 mmol, 10 eq aktiviertes MnO_2 und 3Å-Molekularsieb hinzu und lässt die Mischung 24 Stunden refluxieren. Nach dem Abkühlen wird die Suspension über Celite abgesaugt, die org. Phase einmal mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Abtrennung vom Edukt gelingt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 3:7.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 8,59 (d, 1H, J = 1,8 Hz), 8,22 (dd, 1H, J = 2,2 Hz, J = 9,2 Hz), 8,17 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 8,10 (d, 1H, J = 3,7 Hz), 8,07 (d, 2H, J = 7,3 Hz), 7,74 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,63 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 7,09 (d, 1H, J = 3,8 Hz).

CI-MS: m/z (%): 77 (100) $[\text{C}_6\text{H}_5^+]$, 141 (59) $[\text{PhSO}_2^+]$, 302 (49) $[\text{M}^+]$.

CHN ($\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$): Ber. C 55,62 H 3,33 N 9,27

Gef. C 55,76 H 3,08 N 9,00

1-(Phenylsulfonyl)-1*H*-indol-5-amin (24) $C_{14}H_{12}N_2O_2S$ $M_r = 272,32$

Ausbeute: 1,1 g, 4,0 mmol, 93 % schwach rosa Feststoff Schmp.: 116,4 – 116,8 °C

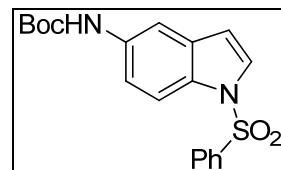
Eine Lösung aus 1,3 g, 4,3 mmol **23** und 4,9 g, 21,5 mmol $SnCl_2 \times 2 H_2O$ in 30 mL EtOH wird 2 Stunden refluxiert (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck abrotiert und der Rückstand in 40 mL ges. $NaHCO_3$ -Lösung und 50 mL EE aufgenommen. Die weiße Emulsion wird über Celite abfiltriert, die org. Phase abgetrennt und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,90 – 7,86 (m, 2H), 7,69 – 7,63 (m, 1H), 7,58 – 7,52 (m, 4H), 6,64 – 6,58 (m, 3H), 4,97 (bs, 2H).

CI-MS: m/z (%): 131 (100) $[C_6H_5^+]$, $[M^+-PhSO_2^-]$, 272 (47) $[M^+]$.

CHN ($C_{14}H_{12}N_2O_2S$): Ber. C 61,75 H 4,44 N 10,29

Gef. C 62,03 H 4,52 N 10,22

tert-Butyl-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-5-ylcarbamat (25) $C_{19}H_{20}N_2O_4S$ $M_r = 372,44$

Ausbeute: 2,77 g, 7,4 mmol, 93 % farbloser Feststoff Schmp.: 168,8 – 169,6 °C

Zu einer Lösung aus 2,18 g, 8,0 mmol **24** in 20 mL THF gibt man 1,75 g, 8,5 mmol Boc_2O . Nachdem die Mischung 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde, arbeitet man die Reaktion durch Zugabe von 40 mL Wasser auf. Man fügt noch 40 mL EE hinzu, trennt die org. Phase ab und extrahiert die wässrige Phase ein weiteres Mal mit 40 mL

EE. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die endgültige Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 3:7.

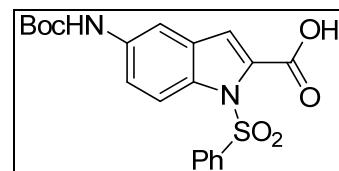
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 9,37 (s, 1H), 7,94 (td, 2H, J = 2,4 Hz, J = 3,4 Hz), 7,80 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 7,73 (d, 1H, J = 3,7 Hz), 7,68 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,57 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 7,35 (dd, 1H, J = 2,1 Hz, J = 9,0 Hz), 6,78 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 1,46 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 414 (100) $[(\text{MH})^+ + \text{MeCN}]$, 745 (60) $[(2\text{MH})^+]$, 390 (14) $[\text{MNH}_4^+]$, 372 (12) $[\text{MH}^+]$.

CHN ($\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$): Ber. C 61,27 H 5,41 N 7,52

Gef. C 61,26 H 5,56 N 7,26

5-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (26)



$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $M_r = 416,45$

Ausbeute: 1,47 g, 3,5 mmol, 93 % farbloser Feststoff Schmp.: 90 °C

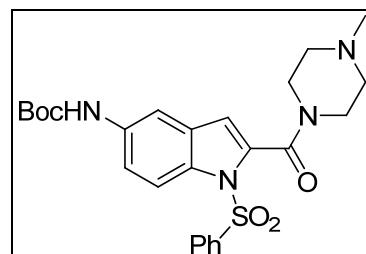
Eine Lösung aus 2,77 g, 7,4 mmol **25** in 65 mL THF wird unter N_2 -Atmosphäre auf -78 °C gekühlt. Man tropft langsam 9,4 mL, 15 mmol *t*-BuLi (1,6 M-Lösung in Hexan) hinzu, die Lösung färbt sich dabei rötlich. Nach beendeter Zugabe lässt man eine Stunde bei -78 °C weiterrühren und gibt dann ca. 60 mL CO_2 als Trockeneis hinzu. Über Nacht lässt man die Mischung auftauen und rotiert das THF vorsichtig ab. Der Rückstand wird in 65 mL Wasser aufgenommen. Dabei fällt noch vorhandenes Edukt aus, wird abfiltriert und kann somit rückgewonnen werden. Die wässrige Lösung wird nun unter Rühren vorsichtig mit 1 N HCl-Lösung angesäuert. Die milchige Suspension wird dreimal mit EE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 13,57 (bs, 1H), 9,48 (s, 1H), 7,95 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 7,89 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 7,84 (s, 1H), 7,69 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,59 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 7,43 (dd, 1H, J = 2,1 Hz, J = 9,1 Hz), 7,28 (s, 1H), 1,47 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 458 (100) $[(M + H + MeCN)^+]$, 834 (75) $[2MH^+]$, 434 (60) $[MNH_4^+]$, 417 (20) $[MH^+]$.

CHN ($C_{20}H_{20}N_2O_6S \cdot 0,5 CH_3CO_2C_2H_5$):	Ber. C 58,39	H 5,35	N 6,19
	Gef. C 58,59	H 5,43	N 5,94

tert-Butyl-2-(4-methylpiperazin-1-carbonyl)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-5-yl-carbamat (27)



$C_{25}H_{30}N_4O_5S$ $M_r = 498,59$

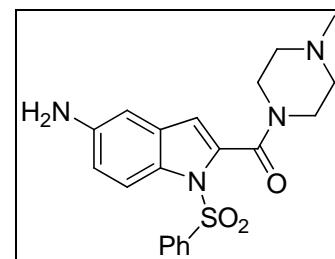
Ausbeute: 1,00 g, 2,00 mmol, 84 % farbloser Feststoff Schmp.: 245,2 – 245,9 °C

Zu einer Lösung aus 1,19 g, 2,4 mmol **26** in 25 mL THF gibt man 1,06 g, 2,4 mmol BOP und 0,66 mL, 4,8 mmol Et_3N . Nach 5 Minuten fügt man 0,27 mL, 2,4 mmol Methylpiperazin hinzu. Nach etwa einer Stunde ist aus der klaren Lösung eine Suspension geworden. Also wird das Lösungsmittel unter verminderterem Druck abdestilliert, der Rückstand in einem EE/Diethylether-Gemisch wieder aufgenommen und das feinkristalline Produkt abgesaugt.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,43 (s, 1H), 8,07 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,82 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 7,75 (s, 1H), 7,68 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz), 7,58 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 7,38 (dd, 1H, $J = 1,9$ Hz, $J = 9,1$ Hz), 6,89 (s, 1H), 3,67 (bs, 2H), 3,33 (bs, 2H), 2,41 (bs, 2H), 2,35 (bs, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 499 (100) $[MH^+]$, 540 (38) $[(M + H + MeCN)^+]$, 998 (12) $[2MH^+]$.

CHN ($C_{25}H_{30}N_4O_5S \cdot 0,5 H_2O$):	Ber. C 59,15	H 6,16	N 11,04
	Gef. C 59,18	H 6,08	N 10,92

(5-Amino-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon (28)**C₂₀H₂₂N₄O₃S****M_r = 398,48**

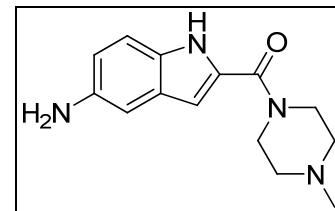
Ausbeute: 0,30 g, 0,76 mmol, 95 % farbloser Schaum Schmp.: 105,0 °C

0,41 g, 0,8 mmol **27** lässt man in 6 mL DCM und 1,5 mL TFA eine Stunde röhren. Unter verminderterem Druck wird die Lösung eingeengt, mit 10 mL 2 N NaOH-Lösung alkalisiert und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,99 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,68 – 7,53 (m, 4H), 6,70 (s, 1H), 6,67 – 6,62 (m, 2H), 5,16 (bs, 2H), 3,67 (bs, 2H), 3,32 (bs, 2H), 2,46 (bs, 2H), 2,41 (bs, 2H), 2,26 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 399 (100) [MH⁺], 241 (76) [(M + 2H + 2MeCN)²⁺], 798 (26) [2MH⁺].

CHN (C₂₀H₂₂N₄O₃S · H₂O): Ber. C 57,68 H 5,81 N 13,45
Gef. C 57,85 H 5,49 N 13,14

(5-Amino-1*H*-indol-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon (29)**C₁₄H₁₈N₄O****M_r = 258,32**

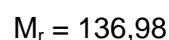
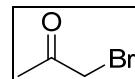
Ausbeute: 0,2 g, 0,77 mmol, 70 % farbloser Feststoff

Eine Lösung aus 0,44 g, 1,1 mmol **28** und 0,64 g, 4,6 mmol K₂CO₃ in 13 mL MeOH und 4,5 mL H₂O 20 Stunden bei 65 °C röhren lassen. Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung wird MeOH im Vakuum entfernt, mit 10 mL Wasser verdünnt und die

wässrige Phase dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert. Bei Bedarf kann der Feststoff aus MeOH umkristallisiert werden.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁴⁸.

1-Bromopropan-2-on (30)

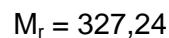
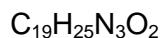
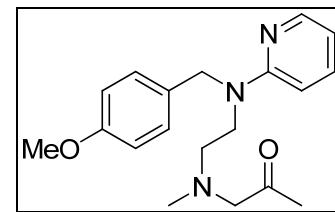


Ausbeute: 65,95 g, 0,48 mol, 71 % farblose Flüssigkeit

In einem Dreihalskolben vereinigt man 160 mL H_2O , 50 mL, 0,68 mol Aceton und 37,2 mL, 0,65 mmol Eisessig und erhitzt die Lösung auf 70 °C. Zu der heißen Lösung tropft man über 1,5 h 36 mL, 0,73 mol Brom. Nach der Zugabe entfärbt sich die Lösung, die Heizung wird entfernt und 80 mL kaltes Wasser hinzugefügt. Im Eisbad wird mit festem Na_2CO_3 alkalisiert und eine Ölschicht trennt sich ab. Über den Scheidetrichter wird diese abgetrennt und über 8 g CaCl_2 getrocknet und kühl gelagert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 3,88 (s, 2H), 2,34 (s, 3H).

1-((2-((4-Methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)(methyl)amino)propan-2-on (31)



Ausbeute: 0,16 g, 0,49 mmol, 89 % bräunliches Öl

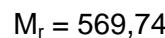
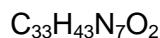
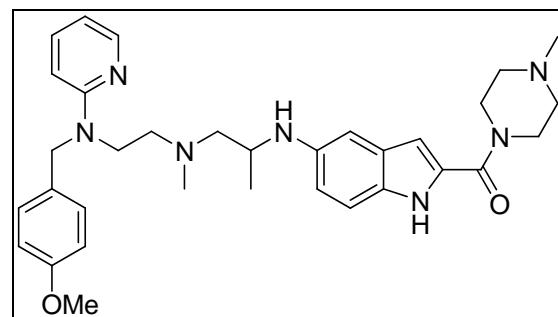
Zu einer Lösung aus 0,15 g, 0,55 mmol **10** in 5 mL Aceton gibt man 0,23 g, 1,66 mmol K_2CO_3 und 0,09 g, 0,66 mmol **30** und lässt refluxieren. Nach zwei Stunden fügt man noch einmal 1,2 eq **30** hinzu und refluxiert noch weitere zwei Stunden. Über Nacht lässt man auf Raumtemperatur kommen, fügt 15 mL H_2O hinzu und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit je 20 mL DCM. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 , wird das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE zu EE:MeOH 9:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,15 (ddd, 1H, J = 0,8 Hz, J = 2,0 Hz, J = 5,0 Hz), 7,39 (ddd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,9 Hz), 7,15 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,84 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,54 (ddd, 1H, J = 0,5 Hz, J = 5,0 Hz, J = 7,1 Hz), 6,47 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,67 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,71 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 3,36 (s, 2H), 2,71 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,38 (s, 3H), 2,11 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 375 (100) [M⁺], 185 (10) [(M + 2H)²⁺ + MeCN], 205 (8) [(M + 2H)²⁺ + 2MeCN].

(5-((1-((2-((4-Methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)(methyl)amino)propan-2-ylamino)-1*H*-indol-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon (32)



Ausbeute: 0,02 g, 0,04 mmol, 15 %

bräunliches Wachs

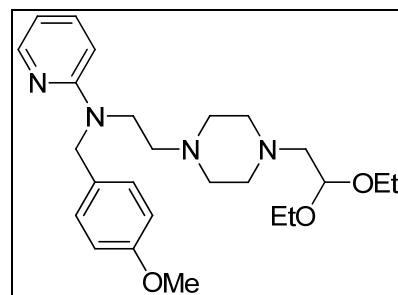
0,08 g, 0,24 mmol **31** und 0,08 g, 0,31 mmol **29** werden in 2 mL Dichlorethan und 1 mL THF gelöst. Das THF ist notwendig, um auch **29** in Lösung zu bringen. Man fügt 3Å-Molekularsieb, zwei Tropfen Eisessig und 0,08 g, 0,36 mmol Natriumtriacetoxyborhydrid hinzu und lässt über Nacht rühren. Nach dem Abfiltrieren vom Molekularsieb wird 5 mL 5%ige Na₂CO₃-Lösung hinzugegeben und die wässrige Phase dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt: einmal mit dem Laufmittel EE:MeOH/NH₃ 9:1 und ein zweites Mal mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,97 (s, 1H), 8,12 (dd, 1H, J = 1,3 Hz, J = 4,9 Hz), 7,21 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,09 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,80 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 6,77 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 6,69 (dd, 1H, J = 2,1 Hz, J = 8,7 Hz), 6,61 (d, 1H, J = 1,3 Hz), 6,47 (dd, 1H, J = 5,2

Hz, $J = 6,8$ Hz), 6,33 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 4,65 (s, 2H), 3,94 (bs, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,63 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz), 3,45 – 3,36 (m, 1H), 2,68 (td, 1H, $J = 7,1$ Hz, $J = 13,9$ Hz), 2,58 – 2,47 (m, 6H), 2,41 – 2,37 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,20 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz).

ES-MS: m/z (%): 306 (100) $[(M + 2H)^{2+} + 2\text{MeCN}]$, 570 (40) $[\text{MH}^+]$.

N-(2-(4-(2,2-Diethoxyethyl)piperazin-1-yl)ethyl)-N-(4-methoxybenzyl)pyridin-2-amin (33)



$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_3$

$M_r = 442,59$

Ausbeute: 0,11 g, 0,25 mmol, 28 % farbloses Öl

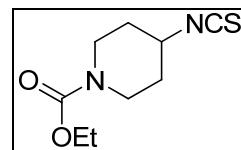
Zu einer Suspension aus 0,05 g, 1,2 mmol NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl) in 3 mL DMF gibt man 0,3 g, 0,9 mmol **4** und lässt 45 Minuten röhren. Dann wird eine Lösung aus 0,15 mL, 1 mmol Bromacetaldehyddiethylacetal in 2 mL DMF hinzutropft. Die Mischung wird über Nacht bei 40 °C gerührt. Nachdem die Suspension abgekühlt ist, verdünnt man mit 10 mL einer eisgekühlten 5%igen Na_2CO_3 -Lösung und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit je 10 mL Ether. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1 gereinigt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 8,15 (dd, 1H, $J = 1,3$ Hz, $J = 4,9$ Hz), 7,37 (ddd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 7,1$ Hz, $J = 8,9$ Hz), 7,15 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,82 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,52 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, $J = 6,6$ Hz), 6,45 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 4,70 (s, 2H), 4,63 (t, 1H, $J = 5,2$ Hz), 3,78 (s, 3H), 3,71 – 3,62 (m, 4H), 3,53 (qd, 2H, $J = 7,0$ Hz, $J = 9,4$ Hz), 2,58 – 2,53 (m, 12H), 1,20 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz).

ES-MS: m/z (%): 222 (100) $[(M + 2H)^{2+}]$, 443 (60) $[\text{MH}^+]$.

5.2.2 Moleküle, abgeleitet von Astemizol

Ethyl-4-isothiocyanatopiperidin-1-carboxylat (34)



$C_9H_{14}N_2O_2S$

$M_r = 214,28$

Ausbeute: 10,2 g, 47,5 mmol, 95 %

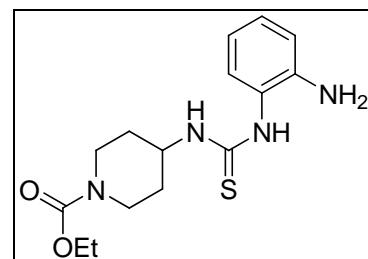
farbloses Öl

Zu einer eisgekühlten Lösung aus 2 g, 50 mmol NaOH in 30 mL Wasser gibt man 3,13 mL, 3,75 g, 50 mmol CS_2 und 8,6 g, 50 mmol Ethyl-4-amino-1-piperidincarboxylat. Die Temperatur soll nicht über 10 °C steigen und die Mischung färbt sich leuchtend orange. Nachdem die Mischung eine halbe Stunde unter 10 °C gerührt wurde, tropft man 5,45 g, 4,8 mL, 50 mmol Ethylchloroformiat hinzu und erhitzt dann die Lösung zwei Stunden auf 60 °C. Nach dem Abkühlen wird die Mischung zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 3:7.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 4,12 (q, 2H, $J = 7,1$ Hz), 3,91 (tt, 1H, $J = 3,8$ Hz, $J = 7,3$ Hz), 3,64 (ddd, 2H, $J = 3,8$ Hz, $J = 7,6$ Hz, $J = 13,8$ Hz), 3,40 (ddd, 2H, $J = 3,8$ Hz, $J = 7,3$ Hz, $J = 13,9$ Hz), 1,90 (ddd, 2H, $J = 3,8$ Hz, $J = 7,6$ Hz, $J = 15,1$ Hz), 1,76 (ddt, 2H, $J = 3,8$ Hz, $J = 7,3$ Hz, $J = 11,1$ Hz), 1,24 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz).

CI-MS: m/z (%): 232 (100) [MNH_4^+], 215 (26) [MH^+].

Ethyl-4-(3-(2-aminophenyl)thioureido)piperidin-1-carboxylat (35)



$C_{15}H_{22}N_4O_2S$

$M_r = 322,43$

Ausbeute: 13,8 g, 42,8 mmol, 86 %

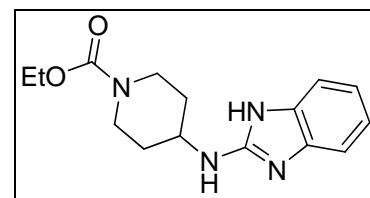
farbloser Schaum

Eine Mischung aus 10,7 g, 50 mmol **34** und 5,4 g, 50 mmol o-Phenyldiamin in 150 mL EtOH wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter verminderterem Druck abdestilliert und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1 erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,75 (s, 1H), 6,97 (dd, 2H, J = 7,5 Hz, J = 15,1 Hz), 6,73 (dd, 1H, J = 1,0 Hz, J = 7,9 Hz), 6,55 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,6 Hz), 4,28 (bs, 2H), 4,36 – 4,20 (m, 1H), 4,02 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,89 (d, 3H, J = 13,1 Hz), 2,89 (m, 2H), 1,87 (dd, 2H, J = 2,7 Hz, J = 12,1 Hz), 1,35 (dq, 2H, J = 3,9 Hz, J = 11,9 Hz), 1,17 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 323 (100) [MH⁺].

Ethyl-4-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (36)



C₁₅H₂₀N₄O₂

M_r = 288,34

Ausbeute: 1,3 g, 4,5 mmol, 30 % bräunlicher Feststoff Schmp.: 239,5 °C

Eine Suspension aus 4,77 g, 14,8 mmol **35**, 6,41 g, 29,6 mmol gelbes HgO und 0,09 g Schwefelpulver in 90 mL EtOH wird zwei Stunden refluxiert. Dabei färbt sich die vormals orange Lösung braun. Dann wird über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das Produkt kann ohne weitere Reinigung verwendet werden. Für die Analytik wurde eine säulenchromatographische Reinigung mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1 durchgeführt.

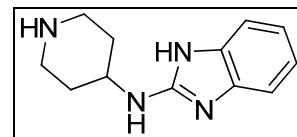
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 10,64 (s, 1H), 7,13 – 7,10 (m, 2H), 6,85 (dd, 2H, J = 3,2 Hz, J = 5,7 Hz), 6,56 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,94 (d, 2H, J = 13,4 Hz), 3,83 – 3,71 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 1,95 (dd, 2H, J = 2,9 Hz, J = 12,4 Hz), 1,37 (dq, 2H, J = 4,1 Hz, J = 12,3 Hz), 1,19 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 289 (100) [MH⁺], 330 (22) [MH⁺ + MeCN], 577 (20) [2MH⁺].

CHN (C₁₅H₂₀N₄O₂):

Ber. C 62,48 H 6,99 N 19,43

Gef. C 62,10 H 7,31 N 19,43

N-(Piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (37) $C_{12}H_{16}N_4$ $M_r = 216,28$

Schmp. (Dihydrobromid): 309,0 °C

Ausbeute: 0,31 g, 0,8 mmol, 80 %

bräunl. Feststoff

Eine Lösung aus 0,29 g, 1,0 mmol **36** in 8,5 mL 47%iger HBr wird drei Stunden refluxiert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in 3 mL EtOH suspendiert. Das Produkt kann als Dihydrobromid abgesaugt werden.

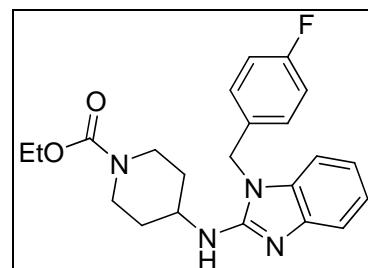
¹H-NMR (300MHz, D_2O): δ 7,36 (dd, 2H, J = 3,1 Hz, J = 6,1 Hz), 7,26 (dd, 2H, J = 3,3 Hz, J = 5,9 Hz), 3,89 (tt, 1H, J = 4,0 Hz, J = 10,4 Hz), 3,50 (td, 2H, J = 3,6 Hz, J = 13,6 Hz), 3,17 (dt, 2H, J = 3,1 Hz, J = 13,3 Hz), 2,30 (dd, 2H, J = 3,2 Hz, J = 14,3 Hz), 1,93 - 1,79 (m, 2H).

ES-MS: m/z (%): 171 (100) $[(M + 2H)^{2+} + 3 \text{ MeCN}]$, 217 (60) $[MH^+]$, 191 (58) $[(M + 2H)^{2+} + 4 \text{ MeCN}]$, 150 (28) $[(M + 2H)^{2+} + 2 \text{ MeCN}]$.

CHN ($C_{12}H_{16}N_4 \cdot 2 \text{ HBr} \cdot 1,5 \text{ H}_2O$):

Ber. C 35,58 H 5,22 N 13,83

Gef. C 35,46 H 5,11 N 14,15

Ethyl-4-(1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (38) $C_{22}H_{25}FN_4O_2$ $M_r = 396,46$

Ausbeute: 0,41 g, 1,0 mmol, 29 % farbloser Feststoff Schmp.: 180,5 °C

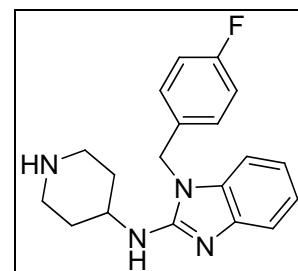
Zu einer Lösung aus 1,03 g, 3,57 mmol **36** in 22 mL DMF gibt man 0,46 g, 4,3 mmol Na₂CO₃ und 0,52 g, 3,57 mmol 4-Fluorobenzylchlorid und lässt über Nacht bei 70 °C röhren. Nach dem Abkühlen wird die Lösung auf 20 mL eisgekühlte, 5%ige Na₂CO₃-Lösung gegossen und die wässrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH 9:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,23 – 7,12 (m, 5H), 7,06 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 6,93 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,6 Hz), 6,84 (dt, 1H, J = 1,0 Hz, J = 7,5 Hz), 6,66 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 5,26 (s, 2H), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,99 – 3,93 (m, 3H), 2,95 (bs, 2H), 1,99 (dd, 2H, J = 2,8 Hz, J = 12,5 Hz), 1,41 (dq, 2H, J = 4,1 Hz, J = 12,2 Hz), 1,19 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 397 (100) [MH⁺].

CHN (C ₂₂ H ₂₅ FN ₄ O ₂ · 0,67 H ₂ O):	Ber. C 64,69	H 6,50	N 13,72
	Gef. C 64,60	H 6,54	N 13,68

1-(4-Fluorobenzyl)-N-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (39)



C₁₉H₂₁FN₄ M_r = 324,40

Ausbeute: 0,17 g, 0,96 mmol, 96 % bräunlicher Feststoff Schmp.: 208,0 °C

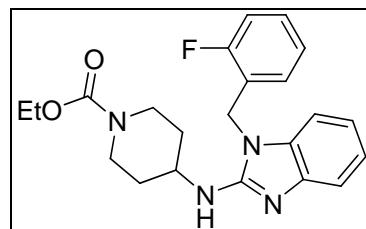
Eine Lösung aus 0,41 g, 1 mmol **38** in 8,5 mL 47%iger HBr wird drei Stunden refluxiert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in 10 mL 2 N NaOH aufgenommen und die wässrige Phase dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck abdestilliert. Falls das Produkt noch nicht sauber anfällt (DC-Kontrolle), kann noch eine säulenchromatographische Reinigung mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 durchgeführt werden.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,28 – 7,16 (m, 9H), 5,40 (s, 2H), 4,00 (m, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,01 (dd, 2H, J = 10,3 Hz, J = 20,4 Hz), 2,16 (d, 2H, J = 12,1 Hz), 1,78 (dd, 2H, J = 11,0 Hz, J = 23,2 Hz).

ES-MS: m/z (%): 325 (100) [MH⁺], 204 (86) [(M + 2H)²⁺ + 2MeCN].

CHN (C₁₉H₂₁FN₄ · H₂O): Ber. C 66,65 H 6,77 N 16,36
Gef. C 66,53 H 6,55 N 16,41

Ethyl-4-(1-(2-fluorobenzyl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (40)



C₂₂H₂₅FN₄O₂ M_r = 396,46

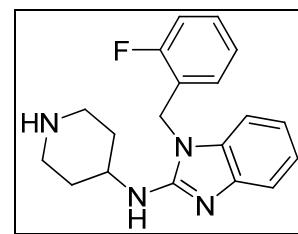
Ausbeute: 0,2 g, 0,5 mmol, 39 % bräunlicher Feststoff Schmp.: 177,3 – 178,0 °C

Analog zu **38**: 0,37 g, 1,28 mmol **36** und 0,19 g, 1,28 mmol 2-Fluorobenzylchlorid werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,51 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,35 – 7,28 (m, 1H), 7,17 – 7,04 (m, 6H), 5,12 (s, 2H), 4,18 – 4,01 (m, 6H), 3,02 (t, 2H, J = 12,2 Hz), 2,13 (d, 2H, J = 12,5 Hz), 1,36 (dt, 2H, J = 4,1 Hz, J = 15,1 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 397 (100) [MH⁺], 793 (10) [2MH⁺].

CHN (C₂₂H₂₅FN₄O₂): Ber. C 66,65 H 6,36 N 14,13
Gef. C 66,37 H 6,40 N 13,96

1-(2-Fluorobenzyl)-N-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (41)**C₁₉H₂₁FN₄****M_r = 324,40**

Ausbeute: 0,11 g, 0,34 mmol, 85 % bräunlicher Feststoff

Analog zu **39**: 0,16 g, 0,4 mmol **40** werden eingesetzt.

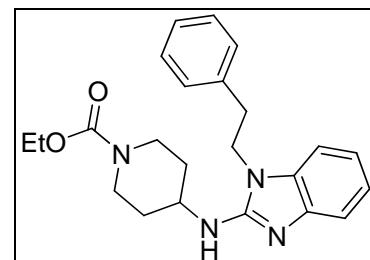
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,49 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 6,6 Hz), 7,34 – 7,27 (m, 1H), 7,16 – 7,01 (m, 6H), 5,15 (s, 2H), 4,13 (m, 1H), 3,26 (td, 2H, J = 3,0 Hz, J = 5,3 Hz), 2,91 (dt, 2H, J = 2,5 Hz, J = 12,6 Hz), 2,31 – 2,23 (m, 2H), 1,64 (dt, 2H, J = 3,6 Hz, J = 14,2 Hz).

ES-MS: m/z (%): 225 (100) [(M + 2H)²⁺ + 3MeCN], 204 (99) [(M + 2H)²⁺ + 2MeCN], 325 (76) [MH⁺], 649 (33) [2MH⁺].

CHN (C₁₉H₂₁FN₄ · CH₃OH):

Ber. C 67,39 H 7,07 N 15,72

Gef. C 67,75 H 6,76 N 16,07

Ethyl-4-(1-phenethyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (42)**C₂₃H₂₈N₄O₂****M_r = 392,49**

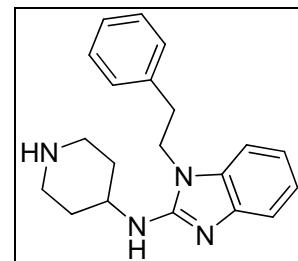
Ausbeute: 0,47 g, 1,2 mmol, 42 % bräunlicher Schaum Schmp.: 46,0 °C

Analog zu **38**: 0,82 g, 2,8 mmol **36** und 0,57 g, 3,1 mmol (2-Bromoethyl)benzol werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,29 – 7,11 (m, 7H), 6,95 – 6,83 (m, 2H), 6,30 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 4,09 – 3,88 (m, 5H), 2,98 – 2,85 (m, 4H), 1,92 (dd, 2H, J = 2,8 Hz, J = 12,8 Hz), 1,38 (dq, 2H, J = 4,2 Hz, J = 12,2 Hz), 1,19 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 393 (100) [MH⁺].

1-Phenethyl-N-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (43)



C₂₀H₂₄N₄

M_r = 320,43

Ausbeute: 0,33 g, 1,0 mmol, 94 % bräunlicher Feststoff Schmp.: 180,2 – 180,7 °C

Analog zu **39**: 0,42 g, 1,1 mmol **42** werden eingesetzt.

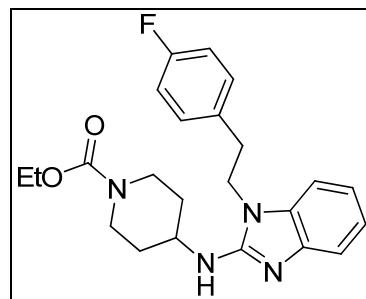
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,30 – 7,09 (m, 7H), 6,88 (dtd, 2H, J = 1,2 Hz, J = 7,4 Hz, J = 20,1 Hz), 6,29 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 7,8 Hz), 3,79 – 3,68 (m, 1H), 2,98 (d, 2H, J = 12,3 Hz), 2,88 (t, 2H, J = 7,6 Hz), 2,58 – 2,51 (m, 2H), 1,87 (dd, 2H, J = 1,8 Hz, J = 11,7 Hz), 1,37 (dq, 2H, J = 4,0 Hz, J = 12,0 Hz).

ES-MS: m/z (%): 202 (100) [(M + 2H)²⁺ + 2MeCN], 223 (98) [(M + 2H)²⁺ + 3MeCN], 321 (48) [MH⁺].

CHN (C₂₀H₂₄N₄ · 0,75 H₂O): Ber. C 71,93 H 7,70 N 16,78

Gef. C 72,11 H 7,46 N 16,42

Ethyl-4-(1-(4-fluorophenethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (44)



$C_{23}H_{27}FN_4O_2$

$M_r = 410,48$

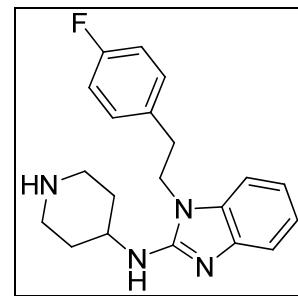
Ausbeute: 0,19 g, 0,5 mmol, 46 % braunes Wachs

Analog zu **38**: 0,29 g, 1,0 mmol **36** und 0,22 g, 1,1 mmol 4-Fluorophenethylbromid werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,25 – 7,04 (m, 6H), 6,89 (dtd, 2H, J = 1,0 Hz, J = 7,4 Hz, J = 19,8 Hz), 6,31 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,20 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 4,05 (dd, 2H, J = 6,6 Hz, J = 13,6 Hz), 3,99 – 3,87 (m, 3H), 2,95 (bs, 2H), 2,88 (t, 2H, 7,4 Hz), 1,92 (dd, 2H, J = 2,7 Hz, J = 12,1 Hz), 1,37 (dq, 2H, J = 4,3 Hz, J = 13,4 Hz), 1,18 (dd, 3H, J = 6,8 Hz, J = 13,6 Hz).

ES-MS: m/z (%): 411 (100) [MH^+], 822 (100) [2 MH^+].

1-(4-Fluorophenethyl)-*N*-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (45)



$C_{20}H_{23}FN_4$

$M_r = 338,42$

Ausbeute: 0,12 g, 0,35 mmol, 77 % farbloser Feststoff Schmp.: 194,0 °C

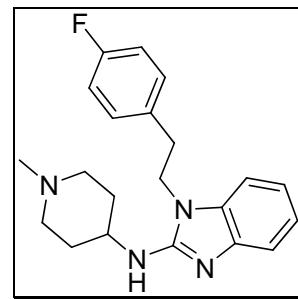
Analog zu **39**: 0,19 g, 0,46 mmol **44** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,25 – 7,04 (m, 6H), 6,89 (dtd, 2H, J = 1,2 Hz, J = 7,4 Hz, J = 19,3 Hz), 6,43 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 4,23 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,92 – 3,83 (m, 1H), 3,18 (d, 2H, J = 12,7 Hz), 2,91 – 2,80 (m, 4H), 2,00 (dd, 2H, J = 2,3 Hz, J = 12,8 Hz), 1,55 (dq, 2H, J = 3,8 Hz, J = 13,2 Hz).

ES-MS: m/z (%): 211 (100) [(M + 2H)²⁺ + 2 MeCN], 339 (40) [MH⁺], 677 (3) [(2MH)⁺].

CHN ($C_{20}H_{24}N_4 \cdot 0,14\text{ CH}_3\text{OH}$): Ber. C 70,53 H 6,93 N 16,33
Gef. C 70,86 H 7,33 N 15,93

1-(4-Fluorophenethyl)-N-(1-methylpiperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (46)



$C_{21}H_{25}FN_4$ $M_r = 352,45$

Ausbeute: 0,12 g, 0,34 mmol, 46 % farbloser Schaum Schmp.: 60,5 – 61,0 °C

Zu einer Lösung aus 0,25 g, 0,74 mmol **45** in 10 mL Aceton gibt man 0,31 g, 2,2 mmol K_2CO_3 und 0,05 mL, 0,81 mmol Mel. Nach 45 Minuten wird die Reaktion nach DC-Kontrolle durch Zugabe von 15 mL H_2O beendet, das Aceton unter verminderter Druck abdestilliert und die wässrige Phase dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel DCM:MeOH/ NH_3 9:1 erhalten.

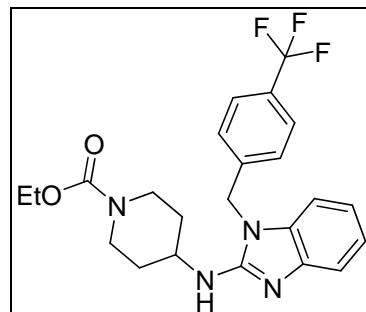
¹H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,48 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,15 – 7,04 (m, 3H), 6,98 (s, 2H), 6,95 (s, 2H), 4,06 (t, 2H, J = 6,3 Hz), 3,79 – 3,66 (m, 1H), 3,13 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 3,02 (t, 2H, J = 6,3 Hz), 2,73 (d, 2H, J = 11,7 Hz), 2,27 (s, 3H), 2,12 (dt, 2H, J = 2,5 Hz, J = 11,9 Hz), 1,90 (dd, 2H, J = 3,4 Hz, J = 12,7 Hz), 1,26 (dq, 2H, J = 3,8 Hz, J = 11,6 Hz).

ES-MS: m/z (%): 218 (100) [(M + 2H)²⁺ + 2MeCN], 353 (90) [MH⁺].

CHN ($C_{21}H_{25}FN_4 \cdot 0,5\text{ CH}_3\text{OH}$): Ber. C 70,08 H 7,39 N 15,21

Gef. C 69,99 H 7,02 N 15,23

Ethyl-4-(1-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidine-1-carboxylat (47)

 $C_{23}H_{25}F_3N_4O_2$ $M_r = 446,47$

Ausbeute: 0,32 g, 0,7 mmol, 40 % brauner Feststoff Schmp.: 167,0 °C

Analog zu **38**: 0,52 g, 1,8 mmol **36**, 0,39 g, 2,0 mmol 4-(3-Fluoromethyl)benzylchlorid und eine katalytische Menge KI werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE.

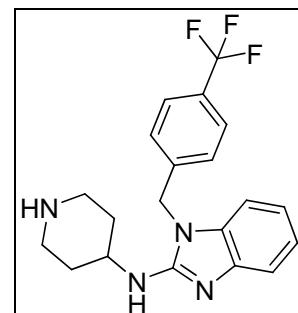
1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,64 – 7,53 (m, 3H), 7,38 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,22 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 7,11 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 6,95 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,6 Hz), 6,85 (dt, 1H, J = 0,9 Hz, J = 7,5 Hz), 6,70 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 5,38 (s, 2H), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 4,00 – 3,91 (m, 3H), 3,00 – 2,92 (m, 2H), 1,97 (dd, 2H, J = 2,8 Hz, J = 12,5 Hz), 1,40 (dq, 2H, J = 4,1 Hz, J = 11,9 Hz), 1,18 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

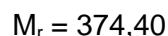
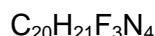
ES-MS: m/z (%): 447 (100) $[MH^+]$.**CHN** ($C_{23}H_{25}FN_4O_2$):

Ber. C 61,87 H 5,64 N 12,55

Gef. C 61,54 H 5,67 N 12,26

N-(Piperidin-4-yl)-1-(4-(trifluoromethyl)benzyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (48)





Ausbeute: 0,07 g, 0,19 mmol, 85 % brauner Feststoff Schmp.: 185,0 °C

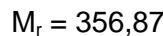
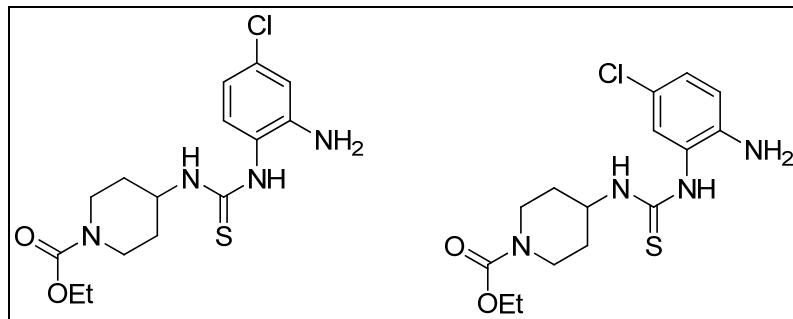
Analog zu **39**: 0,1 g, 0,2 mmol **47** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,64 – 7,53 (m, 3H), 7,39 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,20 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 6,93 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,6 Hz), 6,83 (dt, 1H, J = 1,0 Hz, J = 7,5 Hz), 6,68 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 5,39 (s, 2H), 3,88 – 3,75 (m, 1H), 2,97 (d, 2H, J = 12,4 Hz), 2,58 – 2,51 (m, 2H), 1,91 (dd, 2H, J = 1,9 Hz, J = 12,0 Hz), 1,37 (dq, 2H, J = 3,7 Hz, J = 11,6 Hz).

ES-MS: m/z (%): 250 (100) $[(M + 2H)^{2+} + 3\text{MeCN}]$, 229 (99) $[(M + 2H)^{2+} + 2\text{MeCN}]$, 375 (60) $[\text{MH}^+]$.

CHN ($C_{20}H_{24}N_4 \cdot 0,5\text{CH}_3\text{OH}$): Ber. C 63,06 H 5,94 N 14,35
Gef. C 63,32 H 5,68 N 14,01

Ethyl-4-(3-(2-amino-5(6)-chlorophenyl)thioureido)piperidin-1-carboxylat (49)



Ausbeute: 7,18 g, 20,1 mmol, 91 % bräunlicher Schaum

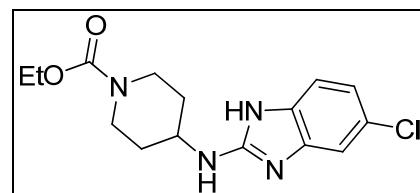
Eine Mischung aus 4,74 g, 22,1 mmol **34** und 3,15 g, 22,1 mmol Chlorphenylendiamin in 67 mL EtOH wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck abdestilliert und die beiden Isomere nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE erhalten. Auf eine Trennung der Isomere wird verzichtet, da durch den nächsten Schritt die Isomerie durch Tautomerie im Molekül aufgehoben wird.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,69 (s, 1H), 7,00 – 6,95 (m, 1H), 6,75 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 6,53 (dd, 1H, J = 2,4 Hz, J = 8,3 Hz), 5,10 (bs, 2H), 4,33 – 4,23 (m, 1H), 4,02 (q, 2H, J =

7,1 Hz), 3,90 (d, 2H, J = 14,7 Hz), 2,87 (m, 2H), 1,86 (dd, 2H, J = 3,4 Hz, J = 12,4 Hz), 1,35 (ddd, 2H, J = 4,1 Hz, J = 12,3 Hz, J = 15,8 Hz), 1,17 (t, 3H, J = 7,0 Hz).

ES-MS: m/z (%): 357 (100) [MH^+], 398 (30) [$\text{MH}^+ + \text{MeCN}$].

Ethyl-4-(5-chloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (50)



$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2$

$M_r = 322,79$

Ausbeute: 1,04 g, 3,2 mmol, 40 % beiger Feststoff Schmp.: 227,5 – 227,9 °C

Analog zu **36**: 2,85 g, 8,0 mmol **49** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 10,78 (s, 1H), 7,13 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,09 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 6,85 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 6,78 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,94 (d, 2H, J = 13,3 Hz), 3,83 – 3,70 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 1,94 (dd, 2H, J = 2,9 Hz, J = 12,6 Hz), 1,36 (dq, 2H, J = 4,1 Hz, J = 12,5 Hz), 1,19 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

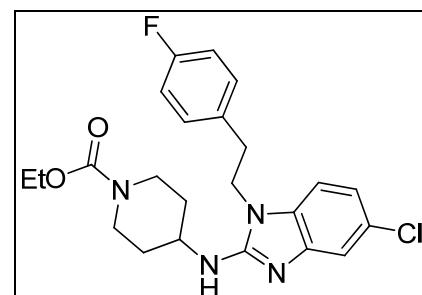
ES-MS: m/z (%): 323 (100) [MH^+], 364 (85) [$\text{MH}^+ + \text{MeCN}$].

CHN ($\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2$):

Ber. C 55,81 H 5,93 N 17,36

Gef. C 55,71 H 5,82 N 17,19

Ethyl-4-(5-chloro-1-(4-fluorophenethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (51)



 $M_r = 444,93$

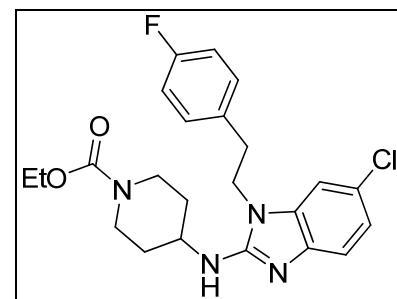
bräunliches Wachs

Analog zu **38**: 0,63 g, 2,0 mmol **36** und 0,39 g, 2,0 mmol 4-Fluorophenethylbromid werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE. Eine Bestimmung der Ausbeute ist nicht möglich, da einige Mischfraktionen der beiden Isomere **51** und **52** anfallen.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO): δ 7,17 (dd, 2H, J = 5,6 Hz, J = 8,6 Hz), 7,16 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,08 – 7,03 (m, 3H), 6,83 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 8,3 Hz), 6,48 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,20 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,95 – 3,85 (m, 3H), 2,91 (bs, 2H), 2,86 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 1,88 (dd, 2H, J = 2,7 Hz, J = 12,4 Hz), 1,36 (dq, 2H, J = 3,5 Hz, J = 12,2 Hz), 1,18 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 445 (100) [MH^+], 486 (10) [$MH^+ + MeCN$].

Ethyl-4-(6-chloro-1-(4-fluorophenethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-carboxylat (52)

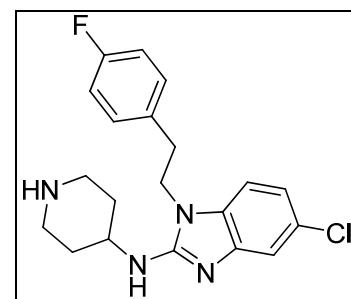
 $M_r = 444,93$

bräunliches Wachs

Analog zu **38**: 0,63 g, 2,0 mmol **36** und 0,39 g, 2,0 mmol 4-Fluorophenethylbromid werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE. Eine Bestimmung der Ausbeute ist nicht möglich, da einige Mischfraktionen der beiden Isomere **51** und **52** anfallen.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO): δ 7,20 (dd, 2H, J = 5,6 Hz, J = 8,6 Hz), 7,15 (d, 1H, J = 2,0 Hz), 7,12 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,05 (t, 2H, J = 8,9 Hz), 6,89 (dd, 1H, J = 2,1 Hz, J = 8,3 Hz), 6,43 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,20 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 4,04 (q, 2H, J = 7,1 Hz), 3,94 – 3,84 (m, 3H), 2,91 (bs, 2H), 2,86 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 1,89 (dd, 2H, J = 2,8 Hz, J = 12,5 Hz), 1,36 (dq, 2H, J = 4,4 Hz, J = 12,8 Hz), 1,18 (t, 3H, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 445 (100) [MH^+], 486 (5) [$MH^+ + MeCN$].

5-Chloro-1-(4-fluorophenethyl)-N-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (53) $C_{20}H_{22}ClFN_4$ $M_r = 372,87$

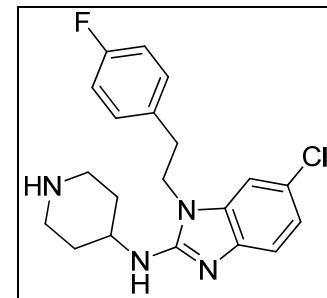
Ausbeute: 0,08 g, 0,21 mmol, 79 % farbloser Feststoff Schmp.: 135,0 °C

Analog zu **39**: 0,12 g, 0,27 mmol **51** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,21 (dd, 2H, J = 5,8 Hz, J = 8,5 Hz), 7,14 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 7,12 – 7,03 (m, 3H), 6,89 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 8,3 Hz), 6,44 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 3,78 - 3,67 (m, 1H), 2,98 (d, 2H, J = 12,4 Hz), 2,86 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 2,58 – 2,52 (m, 2H), 1,85 (dd, 2H, J = 1,6 Hz, J = 11,2 Hz), 1,36 (dq, 2H, J = 3,2 Hz, J = 12,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 373 (100) [MH^+], 248 (60) [$(M + 2H)^{2+} + 3MeCN$].

CHN ($C_{20}H_{22}ClFN_4 \cdot 0,5\text{ CH}_3\text{OH}$): Ber. C 63,31 H 6,22 N 14,41
Gef. C 63,61 H 6,24 N 14,76

6-Chloro-1-(4-fluorophenethyl)-N-(piperidin-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amin (54) $C_{20}H_{22}ClFN_4$ $M_r = 372,87$

Ausbeute: 0,03 g, 0,08 mmol, 83 % farbloser Feststoff Schmp.: 142,0 °C

Analog zu **39**: 0,04 g, 0,09 mmol **52** werden eingesetzt.

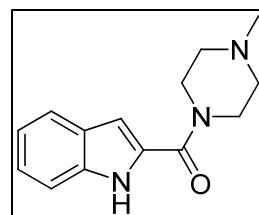
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,24 – 7,19 (m, 2H), 7,14 – 7,03 (m, 4H), 6,89 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, J = 8,3 Hz), 6,44 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 3,78 – 3,63 (m, 1H), 2,98 (d, 2H, J = 12,4 Hz), 2,86 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 2,54 (t, 2H, J = 10,2 Hz), 1,85 (dd, 2H, J = 2,2 Hz, J = 11,8 Hz), 1,43 – 1,29 (m, 2H).

ES-MS: m/z (%): 373 (100) [MH⁺], 248 (70) [(M + 2H)²⁺ + 3MeCN].

CHN (C₂₀H₂₂ClFN₄ · 0,25 H₂O):

Ber.	C 63,65	H 6,01	N 14,85
Gef.	C 63,80	H 6,28	N 14,68

(1*H*-Indol-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon (55)



C₁₄H₁₇N₃O

M_r = 243,14

Ausbeute: 1,14 g, 4,7 mmol, 64 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 185,8 °C

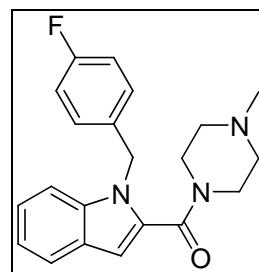
Eine Lösung aus 1,19 g, 7,4 mmol Indol-2-carbonsäure, 0,82 mL, 7,4 mmol 1-Methylpiperazin, 2,42 g, 8,1 mmol DEPBT und 2,05 mL, 14,8 mmol Et₃N in 30 mL THF wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter verminderterem Druck abdestilliert, der Rückstand mit 30 mL EE wieder aufgenommen und mit 5%iger Na₂CO₃-Lösung, H₂O und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die org. Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Feststoff wird aus EtOH umkristallisiert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,25 (bs, 1H), 7,65 (dd, 1H, J = 0,8 Hz, J = 8,0 Hz), 7,43 (dd, 1H, J = 0,8 Hz, J = 8,3 Hz), 7,31 – 7,26 (m, 1H), 7,14 (ddd, 1H, J = 1,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,0 Hz), 6,78 (dd, 1H, J = 0,8 Hz, J = 2,1 Hz), 3,96 (bs, 4H), 2,53 – 2,49 (m, 4H), 2,36 (s, 3H).

CI-MS: m/z (%): 244 (100) [MH⁺].

CHN (C₁₄H₁₇N₃O):

Ber.	C 69,00	H 7,19	N 17,24
Gef.	C 69,11	H 7,04	N 17,27

(1-(4-Fluorobenzyl)-1*H*-indol-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon (56)**C₂₁H₂₂FN₃O****M_r = 351,42**

Ausbeute: 0,50 g, 1,42 mmol, 77 % farbloser Feststoff Schmp.: 123,5 °C

0,45 g, 1,85 mmol, 1 eq **55** gibt man zu einer Suspension aus 0,22 g, 5,55 mmol, 3 eq NaH (60 %ig) in 21 mL DMF und lässt eine halbe Stunde röhren. Dann tropft man 0,27 g, 1,85 mmol, 1 eq 4-Fluorobenzylchlorid in 12 mL DMF hinzu und erhitzt anschließend auf 60 °C. Nach drei Stunden ist laut DC kein Edukt mehr vorhanden, also lässt man auf Raumtemperatur kommen, kippt die Mischung auf 40 mL einer eisgekühlten, 5%igen Na₂CO₃-Lösung und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit je 50 mL Ether. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der gelbliche Feststoff wird aus MeOH umkristallisiert.

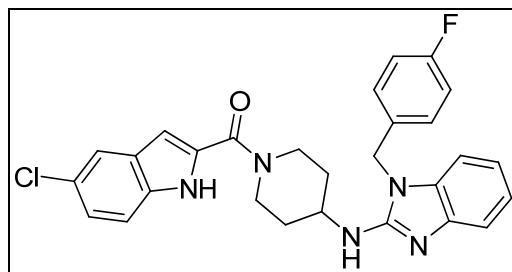
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,65 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,40 (dd, 1H, J = 0,6 Hz, J = 8,3 Hz), 7,31 – 7,26 (m, 1H), 7,16 (ddd, 1H, J = 1,0 Hz, J = 7,1 Hz, J = 7,9 Hz), 7,11 – 7,06 (m, 2H), 6,93 (t, 2H, J = 8,7 Hz), 6,62 (d, 1H, J = 0,6 Hz), 5,49 (s, 2H), 3,64 (bs, 4H), 2,24 (s, 3H), 2,36 – 2,02 (bs, 4H).

ES-MS: m/z (%): 393 (100) [MH⁺ + MeCN], 352 (60) [MH⁺].

CHN (C₂₁H₂₂FN₃O): Ber. C 71,77 H 6,31 N 11,96

Gef. C 71,96 H 6,38 N 11,97

(5-Chloro-1*H*-indol-2-yl)(4-(1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-yl)methanon (57)



$C_{28}H_{25}ClFN_5O$

$M_r = 501,98$

Ausbeute: 0,17 g, 0,34 mmol, 85 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 254,0 °C

Eine Lösung aus 0,13 g, 0,4 mmol **39**, 0,08 g, 0,4 mmol 5-Chloroindol-2-carbonsäure, 0,15 g, 0,5 mmol DEPBT und 0,14 mL, 1,0 mmol Et_3N in 6 mL $CHCl_3$ fünf Stunden röhren lassen. Daraufhin wird die Mischung mit 5 mL $CHCl_3$ verdünnt, einmal mit 5 mL 5%iger Na_2CO_3 -Lösung gewaschen, die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Feststoff wird aus DCM umkristallisiert.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,82 (s, 1H), 7,67 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz), 7,43 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,24 – 7,07 (m, 7H), 6,94 (dt, 1H, $J = 1,1$ Hz, $J = 7,6$ Hz), 6,85 (dt, 1H, $J = 1,0$ Hz, $J = 7,6$ Hz), 6,78 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz), 6,75 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 5,28 (s, 2H), 4,42 (d, 1H, $J = 13,2$ Hz), 4,11 (dd, 4H, $J = 5,0$ Hz, $J = 10,1$ Hz), 2,12 (d, 2H, $J = 10,5$ Hz), 1,55 (dt, 2H, $J = 3,5$ Hz, $J = 14,4$ Hz).

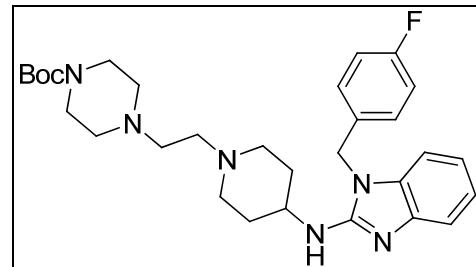
ES-MS: m/z (%): 502 (100) $[MH^+]$.

CHN ($C_{28}H_{25}ClFN_5O$):

Ber. C 66,99 H 5,02 N 13,95

Gef. C 66,87 H 5,36 N 13,94

tert-Butyl-4-(2-(4-(1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-yl)ethyl)piperazin-1-carboxylat (58)



$C_{30}H_{41}FN_6O_2$ $M_r = 536,68$

Ausbeute: 0,21 g, 0,4 mmol, 43 % farbloser Schaum

Eine Lösung aus 0,29 g, 0,9 mmol **39**, 0,34 g, 1,0 mmol **2** und 0,41 g, 3,0 mmol K_2CO_3 in 28 mL Aceton über Nacht refluxieren lassen. Das Lösungsmittel wird unter verminderter Druck abdestilliert, der Rückstand in 30 mL DCM aufgenommen und einmal mit H_2O gewaschen. Die org. Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 erhalten.

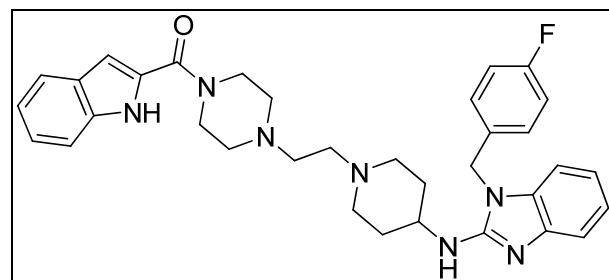
¹H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,52 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,17 – 7,00 (m, 7H), 5,05 (s, 2H), 4,03 – 3,90 (m, 1H), 3,73 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 3,42 (t, 5H, $J = 4,8$ Hz), 2,86 – 2,74 (m, 2H), 2,52 (bs, 4H), 2,41 (t, 5H, $J = 4,8$ Hz), 2,26 (t, 2H, $J = 10,9$ Hz), 2,09 (dd, 2H, $J = 4,2$ Hz, $J = 13,4$ Hz), 1,46 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 289 (100) $[(M + 2H)^{2+} + MeCN]$, 537 (65) $[MH^+]$, 269 (28) $[(M + 2H)^{2+}]$, 310 (22) $[(M + 2H)^{2+} + 2MeCN]$.

CHN ($C_{30}H_{41}FN_6O_2 \cdot 0,75 H_2O$): Ber. C 65,49 H 7,79 N 15,27

Gef. C 65,63 H 7,82 N 14,89

(4-(2-(4-(1-(4-Fluorobenzyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-yl)ethyl)piperazin-1-yl)(1*H*-indol-2-yl)methanon (59)



$C_{34}H_{38}FN_7O$ $M_r = 579,71$

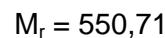
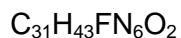
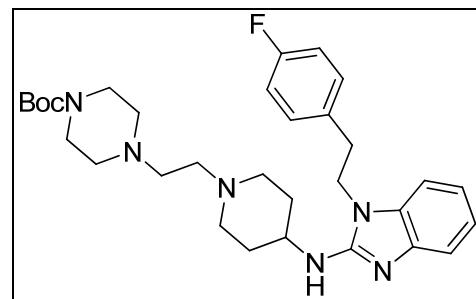
Ausbeute: 0,06 g, 0,1 mmol, 47 % farbloser Feststoff Schmp.: 98,0 °C

Analog zu **20**: 0,12 g, 0,22 mmol **58** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:MeOH/NH₃ 9:1. Dabei ist darauf zu achten, das Rohprodukt vorher auf Kieselgel zu ziehen, da es ansonsten beim Auftragen auf die Säule ausfällt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,34 (s, 1H), 7,64 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,52 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,42 (dd, 1H, J = 0,6 Hz, J = 8,3 Hz), 7,28 (ddd, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,1 Hz, J = 8,2 Hz), 7,16 – 6,93 (m, 8H), 6,76 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 5,05 (s, 2H), 3,99 – 3,88 (m, 5H), 3,76 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 2,76 (d, 2H, J = 10,7 Hz), 2,60 – 2,48 (m, 8H), 2,22 (t, 2H, J = 10,1 Hz), 2,08 (d, 2H, J = 10,5 Hz), 1,39 (dd, 2H, J = 9,7 Hz, J = 20,5 Hz).

ES-MS: m/z (%): 580 (100) [MH⁺], 311 (95) [(M + 2H)²⁺ + MeCN], 290 (35) [(M + 2H)²⁺].

tert-Butyl-4-(2-(4-(1-(4-fluorophenethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-yl)ethyl)piperazin-1-carboxylat (60)



Ausbeute: 0,3 g, 0,54 mmol, 61 % farbloser Feststoff Schmp.: 57,0 °C

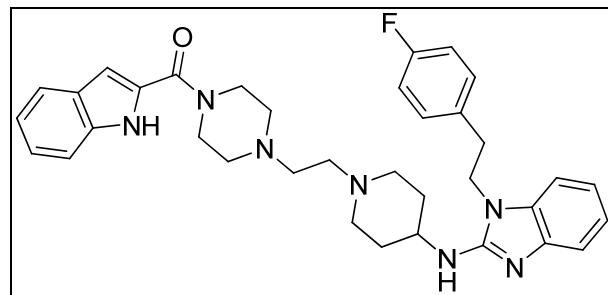
0,31 g, 0,9 mmol **45** gibt man zu einer Suspension aus 0,04 g, 1,0 mmol NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl) in 6 mL DMF und lässt eine halbe Stunde röhren. Anschließend fügt man zur Mischung 0,31 g, 0,9 mmol **2** hinzu und lässt über Nacht bei Raumtemperatur röhren. Nach Zugabe von 10 mL 5%iger Na₂CO₃-Lösung wird die wässrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,22 (dd, 2H, J = 5,7 Hz, J = 8,5 Hz), 7,16 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,10 – 7,04 (m, 3H), 6,91 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,4 Hz), 6,84 (dt, 1H, J = 1,1 Hz, J = 7,5 Hz), 6,24 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 4,20 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 3,65 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 3,72 – 3,58 (m, 1H), 2,90 – 2,85 (m, 4H), 2,43 (bs, 4H), 2,35 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 2,06 – 1,99 (m, 2H), 1,88 (dd, 2H, J = 2,1 Hz, J = 11,8 Hz), 1,49 (ddd, 2H, J = 3,4 Hz, J = 12,4 Hz, J = 24,3 Hz), 1,39 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 551 (100) [MH⁺], 297 (88) [(M + 2H)²⁺ + MeCN], 276 (30) [(M + 2H)²⁺].

CHN ($C_{31}H_{43}FN_6O_2 \cdot 1,5 H_2O$):	Ber. C 64,45 H 8,03 N 14,55
	Gef. C 64,55 H 7,74 N 14,78

(4-(2-(4-(1-(4-Fluorophenethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylamino)piperidin-1-yl)ethyl)piperazin-1-yl)(1*H*-indol-2-yl)methanon (61)



$C_{35}H_{40}FN_7O$ $M_r = 593,74$
 Ausbeute: 0,18 g, 0,30 mmol, 83 % farbloser Feststoff Schmp.: 109,1 °C

Analog zu **20**: 0,20 g, 0,36 mmol **60** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

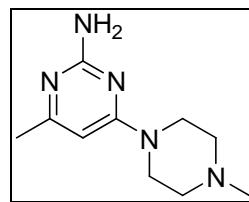
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,20 (s, 1H), 7,65 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,48 (d, 1H, *J* = 7,6 Hz), 7,43 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 7,28 (t, 1H, *J* = 6,9 Hz), 7,16 – 7,06 (m, 4H), 6,98 (s, 2H), 6,96 (s, 2H), 6,78 (d, 1H, *J* = 1,3 Hz), 4,08 (t, 2H, *J* = 6,3 Hz), 3,94 (bs, 4H), 3,83 – 3,75 (m, 1H), 3,26 (bs, 1H), 3,02 (t, 2H, *J* = 6,3 Hz), 2,95 (d, 2H, *J* = 9,4 Hz), 2,63 – 2,58 (m, 8H), 2,30 (t, 2H, *J* = 10,8 Hz), 1,94 (d, 2H, *J* = 10,9 Hz), 1,39 (d, 2H, *J* = 11,4 Hz).

ES-MS: m/z (%): 594 (100) [MH⁺], 318 (95) [(M + 2H)²⁺ + MeCN], 297 (55) [(M + 2H)²⁺].

CHN ($C_{35}H_{40}FN_7O \cdot 1,5 H_2O$):	Ber. C 67,72 H 6,98 N 15,79
	Gef. C 67,38 H 6,64 N 14,41

5.2.3 Aminopyrimidine

4-Methyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2-amin (62)



$C_{10}H_{17}N_5$

$M_r = 207,28$

Ausbeute: 0,98 g, 4,7 mmol, 99 % farbloser Feststoff Schmp.: 157,0 – 157,3 °C

Eine Mischung aus 0,68 g, 4,74 mmol 2-Amino-4-chloro-6-methylpyrimidin, 0,58 mL, 5,2 mmol Methylpiperazin und 0,70 mL, 5,08 mmol Et_3N wird 24 Stunden in 10 mL EtOH refluxiert. Nach dem Abkühlen gibt man 60 mL 1 N NaOH-Lösung zum Reaktionsansatz und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 75 mL DCM. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 5,83 (s, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,61 – 3,57 (m, 4H), 2,45 – 2,41 (m, 4H), 2,32 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

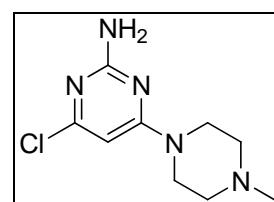
ES-MS: m/z (%): 208 (100) [MH^+], 146 (34) [$(M + 2H)^{2+} + 2 MeCN$].

CHN ($C_{10}H_{17}N_5$):

Ber. C 57,95 H 8,27 N 33,79

Gef. C 57,68 H 8,36 N 33,81

4-Chloro-6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2-amin (63)



$C_9H_{14}ClN_5$

$M_r = 227,69$

Ausbeute: 1,30 g, 5,7 mmol, 87 % farbloser Feststoff Schmp.: 175,5 °C

Eine Lösung aus 1,21 g, 7,4 mmol Dichloropyrimidin, 0,74 mL, 6,6 mmol Methylpiperazin und 2,4 mL, 14,7 mmol *N,N*-Diisopropylethylamin in 15 mL Isopropanol

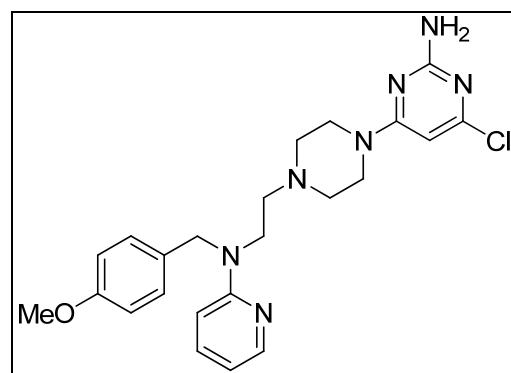
wird 50 Minuten in der Mikrowelle bei 100 W und 160 °C gerührt. Nach dem Abkühlen fällt das Produkt aus und kann abgesaugt werden.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 6,48 (bs, 2H), 6,09 (s, 1H), 3,53 – 3,50 (m, 4H), 2,32 – 2,28 (m, 4H), 2,19 (s, 3H).

ES-MS: m/z (%): 228 (100) [MH⁺], 269 (70) [(MH)⁺ + MeCN].

CHN (C ₉ H ₁₄ CIN ₅):	Ber. C 47,47	H 6,20	N 30,76
	Gef. C 47,49	H 6,15	N 30,67

4-Chloro-6-(4-(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)pyrimidin-2-amin (64)



C ₂₃ H ₂₈ CIN ₇ O	M _r = 453,97	
Ausbeute: 0,50 g, 1,1 mmol, 92 %	farbloser Schaum	Schmp.: 62,0 °C

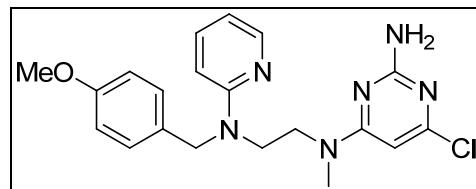
Eine Lösung aus 0,22 g, 1,3 mmol Dichlorpyrimidin, 0,39 g, 1,2 mmol **4** und 0,44 mL, 2,4 mmol *N,N*-Diisopropylethylamin in 5 mL Isopropanol wird 50 Minuten in der Mikrowelle bei 100 W und 160 °C gerührt. Nach dem Abkühlen werden 30 mL 1 N NaOH-Lösung hinzugefügt und die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,07 (dd, 1H, J = 1,5 Hz, J = 5,1 Hz), 7,43 (t, 1H, J = 8,8 Hz), 7,16 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 6,87 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 6,55 – 6,48 (m, 4H), 6,08 (s, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,64 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 3,49 (bs, 4H), 2,50 (m, 2H), 2,44 – 2,41 (m, 4H).

ES-MS: m/z (%): 248 (100) [(M + 2H)²⁺ + MeCN], 454 (84) [MH⁺], 227 (18) [(M + 2H)²⁺].

CHN ($C_{23}H_{28}ClN_7O \cdot 0,17 CH_3CO_2C_2H_5$):	Ber.	C 60,65	H 6,31	N 20,92
	Gef.	C 60,56	H 6,24	N 21,02

6-Chloro- N^4 -(2-((4-methoxybenzyl)(pyridin-2-yl)amino)ethyl)- N^4 -methylpyrimidin-2,4-diamin (65)



$C_{20}H_{23}ClN_6O$	$M_r = 398,89$	
Ausbeute: 0,41 g, 1,0 mmol, 90 %	farbloser Feststoff	Schmp.: 150,0 °C

Analog zu **64**: 0,31 g, 1,14 mmol **10** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:PE 1:1.

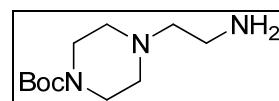
1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,11 (d, 1H, J = 2,6 Hz), 7,47 (ddd, 1H, J = 1,9 Hz, J = 7,3 Hz, J = 8,8 Hz), 7,15 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,86 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,59 (dd, 2H, J = 8,5 Hz, J = 13,9 Hz), 6,42 (bs, 2H), 5,92 (bs, 1H), 4,64 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,63 – 3,50 (m, 4H), 2,96 (bs, 3H).

ES-MS: m/z (%): 399 (60) [MH^+], 221 (20) [$(M + 2H)^{2+}$ + MeCN].

CHN ($C_{20}H_{23}ClN_6O$):	Ber.	C 60,22	H 5,81	N 21,07
	Gef.	C 59,96	H 5,64	N 21,04

5.2.4 JNJ7777120-Derivate mit Aminosäureverlängerung

tert-Butyl-4-(2-aminoethyl)piperazin-1-carboxylat (66)



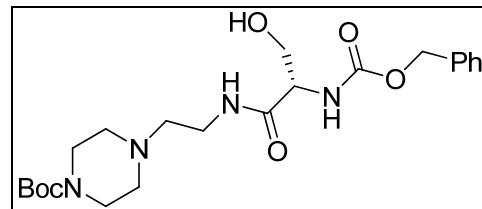
$C_{11}H_{23}N_3O_2$	$M_r = 229,32$	
Ausbeute: 0,89 g, 3,9 mmol, 37 %	farbloser Feststoff	

Zu einer eisgekühlten Lösung aus 1,46 g, 11,3 mmol 1-(2-Aminoethyl)piperazin in 10 mL DCM tropft man eine Lösung aus 2,29 g, 10,5 mmol Boc₂O in 10 mL DCM und lässt über Nacht bei Raumtemperatur röhren. Die Mischung wird mit 13 mL 1 N HCl-Lösung ausgeschüttelt und die organische Phase, die zweifach geschütztes Edukt enthält, wird verworfen. Die wässrige Phase wird noch ein zweites Mal mit DCM ausgeschüttelt und die org. Phase erneut verworfen. Anschließend wird die wässrige Phase durch Zugabe von 1,1 g, 8,0 mmol K₂CO₃ alkalisiert und zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,39 – 3,36 (m, 4H), 2,74 (t, 2H, J = 6,1 Hz), 2,40 – 2,32 (m, 6H), 1,41 (s, 9H), 1,35 (bs, 2H).

ES-MS: m/z (%): 230 (100) [MH⁺].

(S)-tert-Butyl-4-(2-(benzyloxycarbonylamino)-3-hydroxypropanamido)ethylpiperazin-1-carboxylat (67)



C₂₂H₃₄N₄O₄

M_r = 450,53

Ausbeute: 0,86 g, 1,9 mmol, 76 % farbloser Schaum Schmp.: 51,0 °C

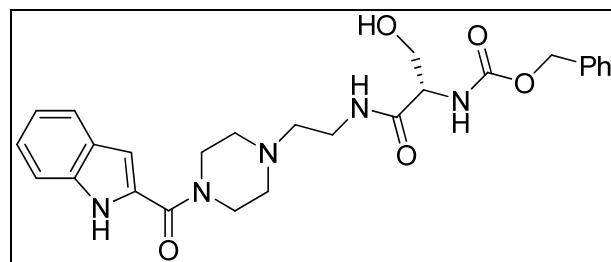
Eine Lösung aus 0,60 g, 2,5 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-serin, 1,11 g, 2,5 mmol BOP, 0,70 mL, 5,0 mmol Et₃N und 0,57 g, 2,5 mmol **66** in 10 mL MeCN lässt man vier Stunden röhren. Die Lösung wird unter verminderter Druck eingeengt, der Rückstand in 20 mL EE wieder aufgenommen und die org. Phase einmal mit 5%iger Na₂CO₃-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der org. Phase über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt nach Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1 erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,79 (t, 1H, J = 5,1 Hz), 7,37 – 7,31 (m, 5H), 7,20 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 5,03 (s, 2H), 4,86 (bs, 1H), 4,04 – 3,96 (m, 1H), 3,54 (dq, 2H, J = 5,8 Hz, J = 10,9 Hz), 3,27 (bs, 4H), 3,22 – 3,11 (m, 2H), 2,37 – 2,32 (m, 6H), 1,39 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 451 (100) [MH⁺].

CHN (C₂₂H₃₄N₄O₄ · 0,5 H₂O): Ber. C 57,50 H 7,68 N 12,19
Gef. C 57,40 H 7,82 N 12,04

(S)-Benzyl-1-(2-(4-(1*H*-indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethylamino)-3-hydroxy-1-oxopropan-2-ylcarbamat (68)



C₂₆H₃₁N₅O₅ M_r = 493,55

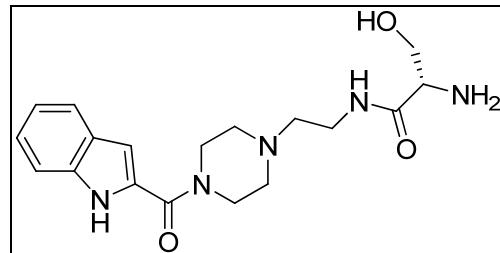
Ausbeute: 0,15 g, 0,3 mmol, 28 % Farbloses Wachs

Analog zu **20**: 0,51 g, 1,1 mmol **67** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:MeOH 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,56 (s, 1H), 7,83 (t, 1H, J = 5,3 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,37 – 7,28 (m, 5H), 7,22 – 7,15 (m, 1H), 7,04 (t, 1H, J = 7,1 Hz), 6,77 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 6,68 (bs, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,88 (bs, 1H), 4,04 – 3,98 (m, 1H), 3,73 (bs, 4H), 3,62 – 3,51 (m, 2H), 3,28 – 3,15 (m, 2H), 2,54 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 494 (100) [MH⁺].

(S)-N-(2-(4-(1*H*-Indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethyl)-2-amino-3-hydroxypropan-amid (69)



C₁₈H₂₅N₅O₃ M_r = 359,42

Ausbeute: 0,2 g, 0,6 mmol farbloser Schaum Schmp.: 73,2 °C

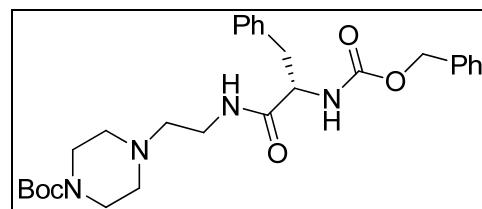
Eine Lösung aus 0,12 g, 0,24 mmol **68** in 5 mL MeOH wird zum Sieden erhitzt. Man gibt eine Spatelspitze Ammoniumformiat und eine katalytische Menge Pd auf Aktivkohle hinzu, daraufhin kommt es zur sichtbaren H₂-Entwicklung. Mittels DC wird das Reaktionsende festgestellt, das nach ca. 15 Minuten eintritt. Man lässt auf Raumtemperatur kommen, filtriert die Suspension über Na₂SO₄ ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Die endgültige Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,57 (s, 1H), 7,94 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,18 (t, 1H, J = 7,2 Hz), 7,04 (t, 1H, 7,2 Hz), 6,78 (s, 1H), 4,81 (bs, 1H), 3,74 (bs, 4H), 3,53 (dd, 1H, J = 4,7 Hz, J = 10,4 Hz), 3,42 (dd, 1H, J = 6,5 Hz, J = 10,5 Hz), 3,26 – 3,22 (m, 3H), 2,47 – 2,40 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 360 (100) [MH⁺].

CHN (C₁₈H₂₅N₅O₃ · 1,5 CH₃OH): Ber. C 57,48 H 7,67 N 17,19
Gef. C 57,28 H 7,86 N 16,91

(S)-tert-Butyl-4-(2-(2-(benzyloxycarbonylamino)-3-phenylpropanamido)ethyl)piperazin-1-carboxylat (70)



C₂₈H₃₈N₄O₅ M_r = 510,63

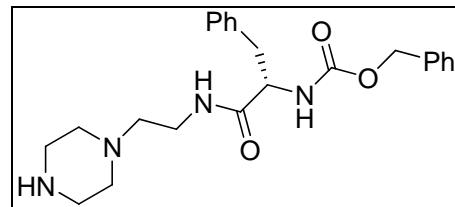
Ausbeute: 1,65 g, 3,2 mmol, 85 % farbloses Öl

Analog zu **67**: 1,14 g, 3,8 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-phenylalanin werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,18 – 7,38 (m, 10H), 6,09 (s, 1H), 5,46 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 5,09 (s, 2H), 4,32 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, J = 14,4 Hz), 3,31 – 3,23 (m, 6H), 3,11 (dd, 1H, J = 6,2 Hz, J = 13,5 Hz), 2,97 (dd, 1H, J = 8,2 Hz, J = 13,4 Hz), 2,26 – 2,30 (m, 6H), 1,45 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 511 (100) [MH⁺].

(S)-Benzyl-1-oxo-3-phenyl-1-(2-(piperazin-1-yl)ethylamino)propan-2-ylcarbamat (71)



C₂₃H₃₀N₅O₃

M_r = 410,51

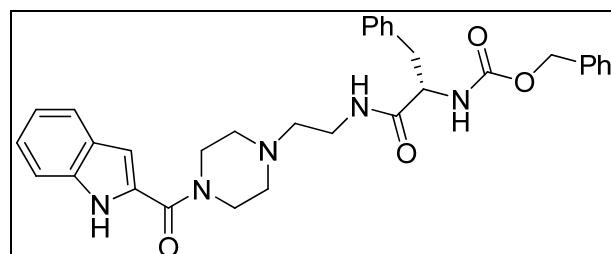
Ausbeute: 1,07 g, 2,6 mmol, 81 % farbloser Feststoff

Eine Lösung aus 1,63 g, 3,2 mmol **70** wird eine Stunde in 15 mL DCM:TFA (8:2) gerührt. Die Lösung wird unter verminderem Druck eingeengt und durch Zugabe von 15 mL 2 N NaOH-Lösung alkalisiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,87 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 7,51 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,17 – 7,36 (m, 10H), 4,94 (s, 2H), 4,19 (dt, 1H, J = 4,6 Hz, J = 9,9 Hz), 3,06 – 3,23 (m, 3H), 2,96 (dd, 1H, J = 4,5 Hz, J = 13,6 Hz), 2,74 (dd, 1H, J = 10,5 Hz, J = 13,8 Hz), 2,67 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 2,28 – 2,24 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 411 (100) [MH⁺].

(S)-Benzyl-1-(2-(4-(1*H*-indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-ylcarbamat (72)



C₃₂H₃₅N₅O₄

M_r = 553,65

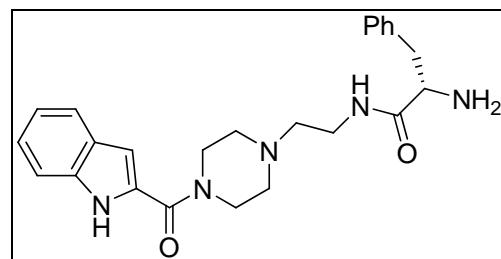
Ausbeute: 0,95 g, 1,7 mmol, 65 % farbloses Öl

Zu einer Lösung aus 0,42 g, 2,6 mmol Indol-2-carbonsäure, 1,22 g, 2,76 mmol BOP und 0,72 mL, 5,2 mmol Et_3N in 18 mL MeCN gibt man 1,07 g, 2,6 mmol **71**, gelöst in 8 mL MeCN. Nach vier Stunden wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 40 mL DCM aufgenommen und zweimal mit 5%iger Na_2CO_3 -Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 11,58 (s, 1H), 7,96 (t, 1H, J = 4,9 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,54 (d, 1H, 8,6 Hz), 7,42 (dd, 1H, J = 0,6 Hz, J = 8,2 Hz), 7,36 – 7,16 (m, 11 H), 7,04 (t, 1H, J = 7,9 Hz), 6,77 (d, 1H, 1,2 Hz), 4,95 (s, 2H), 4,21 (dt, 1H, J = 4,7 Hz, J = 9,8 Hz), 3,73 (bs, 4H), 3,22 (tt, 2H, J = 6,5 Hz, J = 13,3 Hz), 2,98 (dd, 1H, J = 4,6 Hz, J = 13,6 Hz), 2,76 (dd, 1H, J = 10,2 Hz, J = 13,6 Hz), 2,45 – 2,38 (m, 6H).

ES-MS: m/z (%): 554 (100) $[\text{MH}^+]$.

(S)-N-(2-(4-(1H-Indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethyl)-2-amino-3-phenylpropanamid (73)



$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_2$

$M_r = 419,52$

Ausbeute: 0,37 g, 0,9 mmol, 64 % farbloser Feststoff Schmp.: 148,0 °C

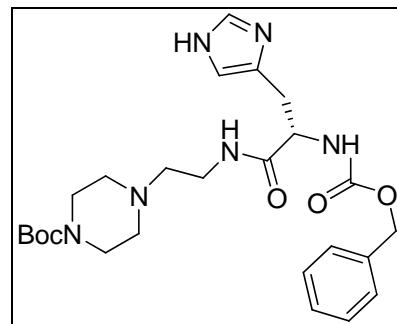
Analog zu **69**: 0,79 g, 1,4 mmol **72** werden eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 11,57 (s, 1H), 7,85 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,32 – 7,16 (m, 6H), 7,04 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 6,78 (d, 1H, 1,3 Hz), 3,73 (bs, 4H), 3,39 (dd, 1H, J = 5,3 Hz, J = 7,9 Hz), 3,19 – 3,16 (m, 2H), 2,93 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 13,3 Hz), 2,64 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, J = 13,3 Hz), 2,44 – 2,41 (m, 4H), 2,35 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,00 (bs, 2H).

ES-MS: m/z (%): 420 (100) $[\text{MH}^+]$.

CHN ($C_{24}H_{29}N_5O_2 \cdot 0,5 CH_3OH \cdot H_2O$):	Ber.	C 64,88	H 7,33	N 15,44
	Gef.	C 65,27	H 7,06	N 15,53

(S)-tert-Butyl-4-(2-(2-(benzyloxycarbonylamino)-3-(1*H*-imidazol-4-yl) propanamido) ethyl)piperazin-1-carboxylat (74)



$C_{25}H_{36}N_6O_5$	$M_r = 500,59$
Ausbeute: 1,03 g, 2,1 mmol, 72 %	farbloser Feststoff Schmp.: 73,3 °C

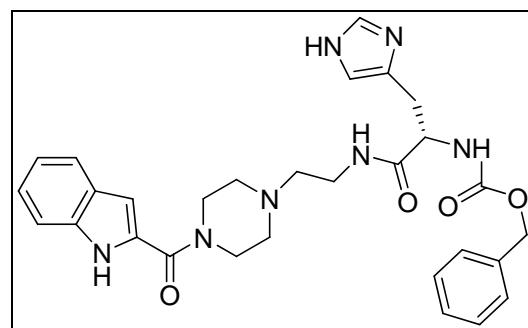
Analog zu **67**: 0,83 g, 2,9 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-histidin werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,78 (bs, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,43 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,35 – 7,30 (m, 5H), 6,09 (s, 1H), 4,99 (s, 2H), 4,17 (dd, 1H, J = 9,1 Hz, J = 14,3 Hz), 3,34 – 3,27 (m, 6H), 2,86 – 2,70 (m, 2H), 2,29 (m, 6H), 1,39 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 501 (100) [MH⁺], 271 (85) [(M+2H)²⁺ + MeCN], 251 (10) [(M+2H)²⁺].

CHN ($C_{25}H_{36}N_6O_5 \cdot H_2O$):	Ber.	C 57,90	H 7,39	N 16,21
	Gef.	C 57,87	H 7,25	N 16,29

(S)-Benzyl-1-(2-(4-(1*H*-indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethylamino)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)-1-oxopropan-2-ylcarbamat (75)



$C_{29}H_{33}N_7O_4$

$M_r = 543,62$

Ausbeute: 0,94 g, 1,7 mmol, 85 % farbloser Feststoff Schmp.: 110,4 °C

Analog zu **20**: 1,01 g, 2,0 mmol **74** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

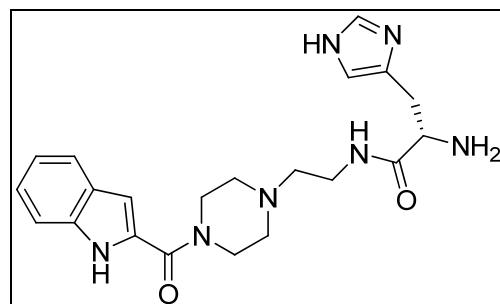
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,57 (s, 1H), 7,80 (t, 1H, J = 5,3 Hz), 7,64 (d, 1H, J = 0,6 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,47 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,37 – 7,28 (m, 5H), 7,18 (t, 1H, J = 7,1 Hz), 7,04 (t, 1H, J = 7,2 Hz), 6,83 (s, 1H), 6,77 (d, 1H, 1,5 Hz), 5,00 (s, 2H), 4,20 (dt, 1H, J = 5,6 Hz, J = 8,3 Hz), 3,73 (bs, 4H), 3,33 – 3,20 (m, 2H), 2,91 (dd, 1H, J = 5,2 Hz, J = 14,7 Hz), 2,77 (dd, 1H, J = 8,7 Hz, J = 14,6 Hz), 2,45 – 2,41 (m, 4H), 2,37 (t, 2H, J = 6,6 Hz).

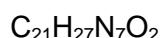
ES-MS: m/z (%): 544 (100) [MH^+], 293 (52) [$(M + 2H + MeCN)^{2+}$].

CHN ($C_{29}H_{33}N_7O_4 \cdot H_2O$): Ber. C 62,02 H 6,28 N 17,46

Gef. C 62,01 H 6,25 N 17,44

(S)-N-(2-(4-(1*H*-Indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethyl)-2-amino-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propanamid (76)





Ausbeute: 0,24 g, 0,59 mmol, 79 % farbloser Feststoff Schmp.: 111,4 °C

Analog zu **69**: 0,41 g, 0,75 mmol **75** werden eingesetzt.

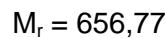
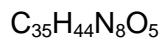
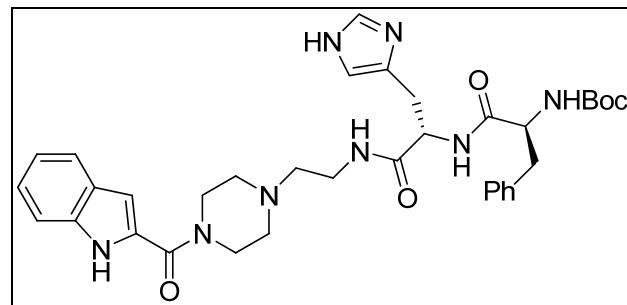
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,57 (s, 1H), 7,98 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,55 (d, 1H, J = 0,5 Hz), 7,41 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,18 (t, 1H, J = 7,1 Hz), 7,04 (t, 1H, J = 7,1 Hz), 6,84 (s, 1H), 6,78 (d, 1H, 1,5 Hz), 3,74 (bs, 4H), 3,46 (dd, 1H, J = 4,7 Hz, J = 8,2 Hz), 3,22 (dd, 2H, J = 4,4 Hz, J = 5,3 Hz), 2,89 (dd, 1H, J = 4,6 Hz, J = 14,5 Hz), 2,60 (dd, 1H, J = 8,3 Hz, J = 14,4 Hz), 2,45 (t, 4H, J = 4,8 Hz), 2,39 (t, 2H, J = 6,6 Hz).

ES-MS: m/z (%): 410 (100) [MH⁺].

CHN ($C_{21}H_{27}N_7O_2 \cdot H_2O \cdot CH_3OH$): Ber. C 57,50 H 7,24 N 21,34

Gef. C 57,34 H 7,11 N 21,71

tert-Butyl-(S)-1-((S)-1-(2-(4-(1H-indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethylamino)-3-(1H-imidazol-4-yl)-1-oxopropan-2-ylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-ylcarbamat (77)



Ausbeute: 0,22 g, 0,33 mmol, 76 % farbloser Feststoff Schmp.: 136,6 °C

Zu einer Lösung aus 0,12 g, 0,44 mmol N^{α} -tert-butyloxycarbonyl-L-phenylalanin, 0,20 g, 0,45 mmol BOP und 0,09 g, 0,9 mmol Et₃N in 5 mL MeCN gibt man 1,07 g, 2,6 mmol **76**, gelöst in 5 mL MeCN. Nach vier Stunden wird der ausgefallene, farblose Feststoff abfiltriert und mit MeCN gewaschen.

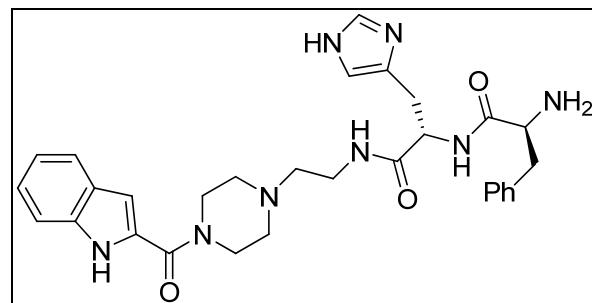
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,83 (bs, 1H), 11,57 (s, 1H), 8,17 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,68 (bs, 1H), 7,59 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,55 (s, 1H), 7,41 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,28 – 7,22 (m, 4H), 7,18 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 7,04 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 6,82 (s, 1H), 6,75 (d, 1H, 1,5

Hz), 4,44 (dd, 1H; J = 7,0 Hz, J = 14,1 Hz), 4,14 (dt, 1H, J = 4,0 Hz, J = 10,0 Hz), 3,73 (bs, 4H), 3,16 (ddd, 2H, J = 6,5 Hz, J = 12,8 Hz, J = 26,9 Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 4,0 Hz, J = 13,9 Hz), 2,87 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,72 (dd, 1H, J = 10,5 Hz, J = 13,6 Hz), 2,43 (t, 4H, J = 4,5 Hz), 2,33 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 1,30 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 657 (100) [MH⁺], 350 (68) [(M + 2H + MeCN)²⁺], 329 (68) [(M + 2H)²⁺].

CHN (C₃₅H₄₄N₈O₅ · H₂O): Ber. C 62,30 H 6,87 N 16,61
Gef. C 62,26 H 6,96 N 16,57

(S)-N-(2-(4-(1H-Indol-2-carbonyl)piperazin-1-yl)ethyl)-2-((S)-2-amino-3-phenylpropanamido)-3-(1H-imidazol-4-yl)propanamid (78)



C₃₀H₃₆N₈O₃

M_r = 556,66

Ausbeute: 0,05 g, 0,09 mmol, 60 % gelblicher Feststoff Schmp.: 164,0 °C

0,1 g, 0,15 mmol **77** werden eine Stunde in 4 mL DCM und 0,75 mL TFA gerührt. Die Lösung wird unter verminderterem Druck eingeengt, mit 7 N NH₃ in MeOH alkaliert und direkt einer säulenchromatographischen Reinigung mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 unterworfen.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 11,57 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,75 (t, 1H, J = 5,3 Hz), 7,60 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,52 (s, 1H), 7,41 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,31 – 7,15 (m, 6H), 7,04 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 6,77 (s, 2H), 4,45 (q, 1H; J = 6,7), 3,73 (bs, 4H), 3,45 (dd, 1H, J = 4,5 Hz, J = 8,5 Hz), 3,21 – 3,13 (m, 2H), 2,94 (dd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 13,5 Hz), 2,84 – 2,82 (m, 2H), 2,56 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 13,6 Hz), 2,43 (bs, 4H), 2,33 (t, 2H, J = 6,5 Hz).

ES-MS: m/z (%): 300 (100) [(M + 2H + MeCN)²⁺], 557 (72) [MH⁺], 279 (100) [(M + 2H)²⁺].

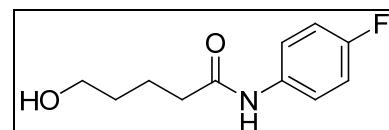
CHN (C₃₀H₃₆N₈O₃ · 0,5 H₂O · 2 CH₃OH): Ber. C 61,03 H 7,20 N 17,79

Gef. C 61,38 H 6,84 N 17,81

5.3 H₁-Rezeptor-Agonisten

5.3.1 Modifizierte Histamin-Liganden

5-Hydroxy-pentansäure-(4-fluorophenyl)-amid (79)

C₁₁H₁₄FNO₂M_r = 211,23

Ausbeute: 2,67 g, 12,6 mmol, 63 % brauner Feststoff Schmp.: 52,5 – 53,0 °C

Zu einer Lösung aus 2,44 g, 22 mmol 4-Fluoroanilin in 100 mL trockenem THF gibt man bei 0 °C 27,5 mL, 44 mmol einer 1,6 M nBuLi-Lösung in Hexan. Die braune Lösung färbt sich dunkelrot. Man lässt 1 h bei Raumtemperatur röhren und kühlt dann auf -78 °C ab. Nun tropft man 2,00 g, 20 mmol δ-Valerolacton hinzu. Nach einer Stunde röhren bei -78 °C wird die Reaktion durch Zugabe von 200 mL ges. NH₄Cl-Lösung gestoppt und die wässrige Phase dreimal mit je 100 mL EE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wird durch Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE gereinigt.

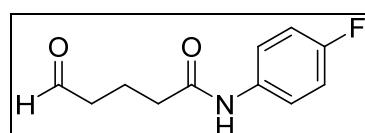
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,49 - 7,44 (m, 3H), 7,04 - 6,96 (m, 2H), 3,71 (t, 2H, J = 6,1 Hz), 2,42 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 1,89 – 1,62 (m, 5H).

CI-MS: m/z (%): 212 (100) [MH⁺], 229 (22) [MNH₄⁺].

CHN (C₁₁H₁₄FNO₂): Ber. C 62,55 H 6,68 N 6,63

Gef. C 62,41 H 6,62 N 6,46

5-Oxo-pentansäure-(4-fluorophenyl)-amid (80)

C₁₁H₁₂FNO₂M_r = 209,22

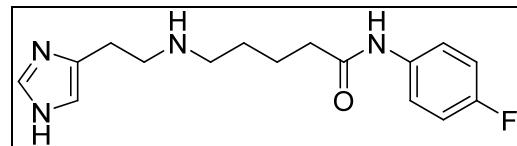
Ausbeute: 0,39 g, 1,9 mmol, 20 % braune Flüssigkeit

0,89 mL, 10,4 mmol Oxalylchlorid werden in 24 mL trockenem DCM gelöst und auf -60 bis -70 °C gekühlt. Zu dieser Lösung tropft man 1,49 mL, 20,9 mmol DMSO und lässt zwei Minuten röhren. Anschließend lässt man innerhalb von fünf Minuten 2,01 g, 9,5 mmol **79**, gelöst in 9,5 mL DCM, hinzutropfen. Die Mischung wird 30 Minuten bei tiefer Temperatur gerührt und dann folgt die Zugabe von 6,57 mL, 47,5 mmol Et₃N. Nach weiteren fünf Minuten Röhren bei tiefer Temperatur lässt man auf Raumtemperatur kommen. Man gibt 50 mL Wasser hinzu und extrahiert die wässrige Phase mit 50 mL DCM. Die org. Phase wird sukzessive mit 0,5 N HCl-Lösung, 5%iger Na₂CO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen der org. Phase über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückbleibende braune Öl wird säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:PE 4:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,71 (s, 1H), 7,63 - 7,56 (m, 3H), 6,93 - 6,87 (m, 2H), 2,49 - 2,44 (m, 2H), 2,27 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 1,90 - 1,85 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 227 (100) [MNH₄⁺], 210 (53) [MH⁺].

5-[2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethylamino]pentansäure-(4-fluorophenyl)-amid (81)



C₁₆H₂₁FN₄O

M_r = 304,36

Ausbeute: 0,09 g, 0,3 mmol, 21 % gelbliches Öl

Zu einer Lösung aus 0,3 g, 1,4 mmol **80** in 3 mL MeOH gibt man 0,16 g, 1,4 mmol Histamin. Nach 5 Minuten fügt man 3Å-Molekularsieb hinzu und lässt weitere 1,5 h röhren, bevor man 0,13 g, 2,1 mmol, 1,5 eq NaCNBH₃ zugibt und über Nacht weiterröhren lässt. Durch Zugabe von 5%iger Na₂CO₃-Lösung wird die Reaktion gestoppt und Methanol im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wird dreimal mit DCM extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel MeCN:NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,96 (s, 1H), 7,62 - 7,57 (m, 3H), 7,51 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 7,12 (t, 2H, J = 8,9 Hz), 6,77 (s, 1H), 2,79 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 2,67 - 2,58 (m, 4H), 2,29 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 1,65 - 1,57 (m, 2H), 1,51 - 1,41 (m, 2H).

ES-MS: m/z (%): 305 (100) [MH⁺].

Als Oxalat: farbloser Feststoff

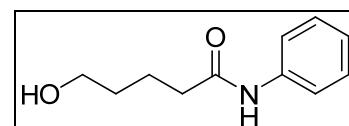
Schmp.: 175,4 – 175,9 °C

CHN ($C_{16}H_{21}FN_4O \cdot 2 C_2H_2O_4 \cdot 0,5 C_2H_5OH \cdot 0,5 H_2O$):

Ber. C 48,84 H 5,66 N 10,85

Gef. C 48,98 H 5,55 N 11,12

5-Hydroxy-pentansäure-phenylamid (82)



$C_{11}H_{15}NO_2$

$M_r = 193,24$

Ausbeute: 1,04 g, 5,4 mmol, 54 % brauner Feststoff Schmp.: 63,2 °C

Analog zu **79**: 1,2 g, 11,0 mmol Anilin werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,51 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,32 (t, 3H, J = 7,9 Hz), 7,10 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 3,71 (t, 2H, J = 6,1 Hz), 2,44 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 1,90 - 1,81 (m, 2H), 1,72 - 1,63 (m, 2H).

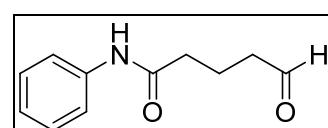
CI-MS: m/z (%): 194 (100) [MH⁺].

CHN ($C_{11}H_{15}NO_2 \cdot 0,125 C_4H_8O_2$):

Ber. C 67,62 H 7,90 N 6,86

Gef. C 67,93 H 7,61 N 7,05

5-Oxo-pentansäurephenylamid (83)



$C_{11}H_{13}NO_2$

$M_r = 191,23$

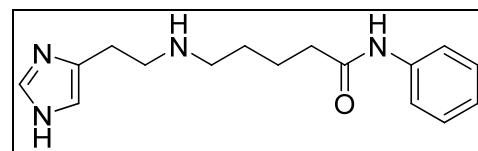
Ausbeute: 0,42 g, 2,2 mmol, 31 % gelbes Öl

Analog zu **80**: 1,37 g, 7,1 mmol **82** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,81 (s, 1H), 7,50 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,38 - 7,33 (m, 3H), 7,11 (t, 1H, J = 7,3 Hz), 2,71 (t, 2H, J = 7,9 Hz), 2,62 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 2,11 - 2,04 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 192 (100) [MH⁺], 209 (45) [MNH₄⁺].

5-[2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethylamino]pentansäurephenylamid (84)



C₁₆H₂₂N₄O M_r = 286,37

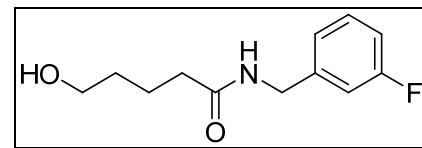
Ausbeute: 0,23 g, 0,8 mmol, 38 % farbloses Öl

Analog zu **81**: 0,4 g, 2,1 mmol **83** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,89 (s, 1H), 7,58 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,53 (s, 1H), 7,28 (t, 2H, J = 7,9 Hz), 7,01 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 6,82 (s, 1H), 2,90 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 2,75 - 2,67 (m, 4H), 2,32 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 1,67 - 1,59 (m, 2H), 1,56 - 1,48 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 287 (79) [MH⁺], 194 (100) [MH⁺-PhNH₂].

5-Hydroxy-pentansäure-3-fluorobenzyl-amid (85)



C₁₂H₁₆FNO₂ M_r = 225,26

Ausbeute: 4,28 g, 19 mmol, 95 % gelbe, zähe Flüssigkeit

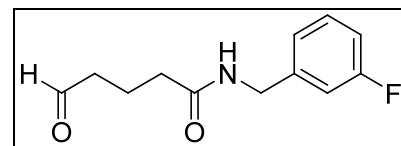
Zu 2,28 mL, 2,5 g, 20 mmol 3-Fluorobenzylamin gibt man 2,00 g, 20 mmol δ-Valerolacton und lässt über Nacht rühren. Das Produkt kristallisiert aus, wird abgesaugt

und noch mit PE gewaschen. Man löst den Feststoff in 40 mL DCM wieder auf und wäscht die organische Phase mit 1%iger HCl-Lösung und H₂O. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel abgezogen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,28 - 7,33 (m, 1H), 7,05 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 6,99 - 6,93 (m, 2H), 5,90 (bs, 1H), 4,44 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 3,66 (t, 2H, J = 6,2 Hz), 2,29 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 1,83 - 1,73 (m, 3H), 1,66 - 1,59 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 226 (100) [MH⁺], 243 (24) [MNH₄⁺].

5-Oxo-pentansäure-3-fluorobenzyl-amid (86)



C₁₂H₁₄FNO₂

M_r = 223,24

Ausbeute: 0,63 g, 2,8 mmol, 45 %

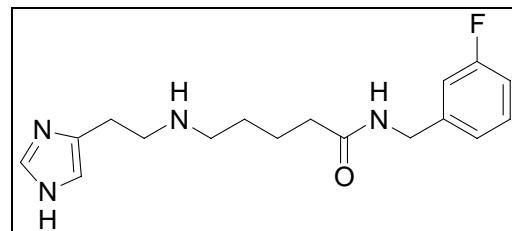
Gelbe Flüssigkeit

Analog zu **80**: 1,42 g, 6,3 mmol **85** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,76 (t, 1H, J = 1,3 Hz), 7,32 - 7,25 (m, 1H), 7,02 - 6,92 (m, 3H), 5,90 (bs, 1H), 4,43 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 2,53 - 2,52 (m, 2H), 2,28 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 1,90 - 1,93 (m, 2H).

ES-MS: m/z (%): 223 (100) [MH⁺].

5-[2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethylamino]pentansäure-3-fluorobenzyl-amid (87)



C₁₇H₂₃FN₄O

M_r = 318,39

Ausbeute: 0,28 g, 0,9 mmol, 35 %

Farbloses Wachs

Analog zu **81**: 0,56 g, 2,5 mmol **86** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,40 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 7,56 (s, 1H), 7,37 - 7,29 (m, 2H), 7,19 - 7,03 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 4,28 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 3,08 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 2,89 (m, 2H), 2,79 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 2,22 - 2,18 (m, 2H), 1,57 (m, 4H).

ES-MS: m/z (%): 319 (100) [MH⁺].

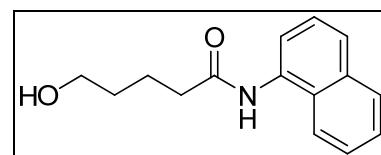
Als Oxalat: farbloser Feststoff Schmp.: 169,0 °C

CHN ($C_{17}H_{23}FN_4O \cdot 2 C_2H_2O_4 \cdot 0,5 C_2H_5OH \cdot 0,5 H_2O$):

Ber. C 49,81 H 5,89 N 10,56

Gef. C 49,82 H 5,56 N 10,20

5-Hydroxy-pentansäure-naphthalen-1-yl-amid (88)



$C_{15}H_{17}NO_2$

$M_r = 243,30$

Ausbeute: 1,24 g, 5,1 mmol, 46 % roter Feststoff Schmp.: 100,7 – 101,1 °C

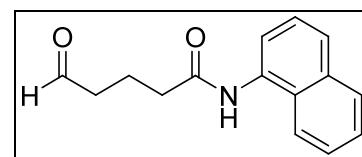
Analog zu **79**: 1,58 g, 11 mmol 1-Naphthylamin werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,87 (s, 1H), 8,07 - 8,04 (m, 1H), 7,95 - 7,92 (m, 1H), 7,75 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 7,58 - 7,46 (m, 3H), 4,44 (t, 1H, J = 5,2 Hz), 3,46 (dd, 2H, J = 6,2 Hz, J = 11,8 Hz), 2,48 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 1,75 - 1,65 (m, 2H), 1,53 (td, 2H, J = 6,4 Hz, J = 13,2 Hz).

CI-MS: m/z (%): 244 (100) [MH⁺].

CHN ($C_{15}H_{17}NO_2$):

Ber.	C 74,05	H 7,04
Gef.	C 73,90	H 6,95
		N 5,76
		N 5,58

5-Oxo-pentansäure-naphthalen-1-yl-amid (89) $C_{15}H_{15}NO_2$ $M_r = 241,29$

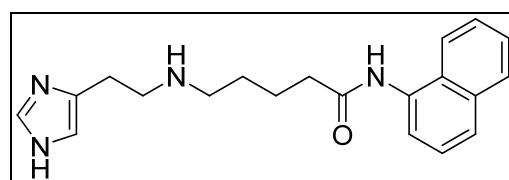
Ausbeute: 0,25 g, 1,0 mmol, 34 % roter Feststoff Schmp.: 64 °C

Analog zu **80**: 0,72 g, 2,9 mmol **88** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,84 (s, 1H), 8,07 - 8,04 (m, 1H), 7,95 - 7,92 (m, 1H), 7,75 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 7,58 - 7,46 (m, 3H), 2,76 - 2,66 (m, 2H), 2,40 - 2,33 (m, 2H), 2,00 - 1,92 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 259 (100) $[MNH_4^+]$, 242 (97) $[MH^+]$.

CHN ($C_{15}H_{15}NO_2 \cdot 0,25 H_2O$): Ber. C 73,30 H 6,36 N 5,70
Gef. C 73,31 H 6,37 N 5,38

5-[2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethylamino]pentansäure-naphthalen-1-yl-amid (90) $C_{20}H_{24}N_4O$ $M_r = 336,43$

Ausbeute: 0,25 g, 0,75 mmol, 25 % brauner Feststoff Schmp.: 61,4 °C

Analog zu **81**: 0,72 g, 3,0 mmol **89** werden eingesetzt.

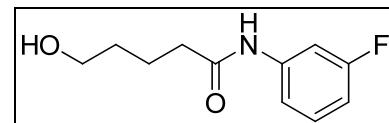
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 9,88 (s, 1H), 8,07 - 8,04 (m, 1H), 7,95 - 7,92 (m, 1H), 7,75 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,55 - 7,48 (m, 4H), 6,76 (s, 1H), 2,77 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 2,66 - 2,59 (m, 4H), 2,48 (m, 2H), 1,74 - 1,63 (m, 2H), 1,57 - 1,48 (m, 2H).

Als Oxalat: rosa Feststoff

ES-MS: m/z (%): 337 (100) $[MH^+]$. Schmp.: 173,8 – 174,6 °C

CHN ($C_{20}H_{24}N_4O \cdot 2 C_2H_2O_4$):	Ber. C 55,81	H 5,46	N 10,85
	Gef. C 55,88	H 5,74	N 11,23

5-Hydroxy-pentansäure-(3-fluorophenyl)-amid (91)



$C_{11}H_{14}FNO_2$ $M_r = 211,23$

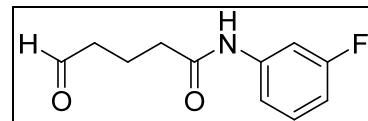
Ausbeute: 2,00 g, 9,47 mmol, 47,3 % braunes Öl

Analog zu **79**: 2,2 g, 20,0 mmol 3-Fluoroanilin werden eingesetzt.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,85 (bs, 1H), 7,48 (d, 1H, $J = 11,0$ Hz), 7,27 - 7,13 (m, 2H), 6,78 (dt, 1H, $J = 1,6$ Hz, $J = 8,3$ Hz), 3,69 (t, 2H, $J = 6,1$ Hz), 2,42 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz), 2,27 (bs, 1H), 1,88 - 1,79 (m, 2H), 1,69 - 1,60 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 212 (100) $[MH^+]$, 229 (30) $[MNH_4^+]$.

5-Oxo-pentansäure-(3-fluorophenyl)-amid (92)



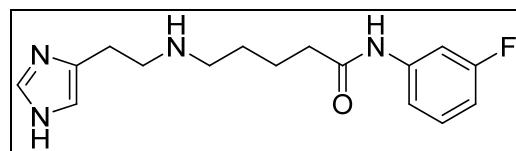
$C_{11}H_{12}FNO_2$ $M_r = 209,22$

Ausbeute: 0,71 g, 3,4 mmol, 48 % braunes Öl

Analog zu **80**: 1,50 g, 7,1 mmol **91** werden eingesetzt.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 9,39 (s, 1H), 7,48 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz), 7,20 - 7,11 (m, 2H), 6,80 (dt, 1H, $J = 1,6$ Hz, $J = 8,3$ Hz), 2,68 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz), 2,41 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz), 2,03 - 1,94 (m, 2H).

CI-MS: m/z (%): 227 (100) $[MNH_4^+]$, 210 (56) $[MH^+]$.

5-[2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethylamino]pentansäure-(3-fluorophenyl)-amid (93)**C₁₆H₂₁FN₄O****M_r = 304,36**

Ausbeute: 0,14 g, 0,46 mmol, 10 % braunes Öl

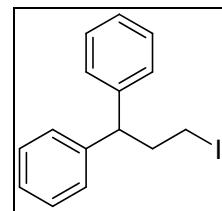
Analog zu **81**: 0,96 g, 4,6 mmol **92** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 10,13 (s, 1H), 7,64 - 7,58 (m, 1H), 7,54 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 7,36 - 7,26 (m, 2H), 6,89 - 6,82 (m, 2H), 2,92 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,76 - 2,68 (m, 4H), 2,34 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 1,67 - 1,49 (m, 4H).

Als Oxalat: farbloser Feststoff Schmp.: 179,9 °C

ES-MS: m/z (%): 305 (100) [MH⁺].

CHN (C₁₆H₂₁FN₄O · 2 C₂H₂O₄): Ber. C 49,59 H 5,20 N 11,57
Gef. C 49,73 H 5,49 N 11,67

5.3.2 Histaprodifen-Derivate**3,3-Diphenylpropyliodid (94)****C₁₅H₁₅I****M_r = 322,18**

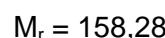
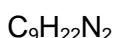
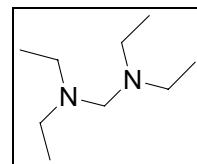
Ausbeute: 19,31 g, 60,0 mmol, 88% farbloser Feststoff Schmp.: 53,2 °C

Eine Lösung aus 29,6 g, 112,8 mmol Triphenylphosphin und 26,0 g, 102,6 mmol Iod in 200 mL Dichlormethan wird 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 11,6 g, 171,0 mmol Imidazol wird nochmals 10 Minuten gerührt. Eine Lösung aus 14,5 g, 68,4 mmol 3,3-Diphenylpropan-1-ol in 40 mL Dichlormethan wird langsam zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit 200 mL

10%iger NaHSO_4 -Lösung versetzt und die wässrige Phase noch einmal mit 40 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in DCM gelöst und durch Chromatographie mit dem Laufmittel EE:PE 4:1 gereinigt.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

Bis(diethylamino)methan (95)



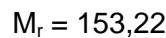
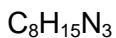
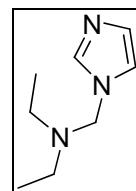
Ausbeute: 130,84 g, 0,83 mol, 83 %

farblose Flüssigkeit

210 mL, 2 mol Diethylamin werden zu 74 mL, 1 mol einer eisgekühlten 37%igen wässrigen Formaldehyd-Lösung zugetropft. Die Lösung wird über Nacht gerührt und anschließend mit festem KOH gesättigt. Die obere Phase wird getrennt und über KOH-Plätzchen getrocknet. Das Produkt wird durch fraktionierte Destillation unter verminderter Druck erhalten.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁸⁵.

1-(*N,N*-Diethylaminomethyl)imidazol (96)



Ausbeute: 12,00 g, 0,078 mol, 78 %

farbloses Öl

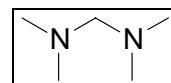
6,81 g, 0,1 mol Imidazol, 17,66 g, 0,112 mol Bis(diethylamino)methan **95** und 15,21 g, 0,110 mol K_2CO_3 werden in 50 mL trockenem DCM aufgenommen. Zu dieser Mischung gibt man bei 0°C und unter Rühren 11,04 g, 0,110 mol Bernsteinsäureanhydrid hinzu. Die Temperatur steigt auf 38 °C. Nachdem die Temperatur auf 20°C gesunken ist, wird

das Eisbad entfernt und man lässt noch zwei Stunden röhren. Nun wird die Lösung mit 150 mL DCM verdünnt und sukzessive mit 100 mL 3 M NaOH-Lösung, 50 mL 6 M NaOH-Lösung und 25 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7,36 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 4,67 (s, 2H), 2,41 (q, 4H, $J = 7,2$ Hz), 0,96 (t, 6H, $J = 7,2$ Hz).

ES-MS: m/z (%): 86 (100) $[\text{CH}_2=\text{N}(\text{Et}_2)^+]$, 154 (25) $[\text{MH}^+]$.

Bis(dimethylamino)methan (97)



$\text{C}_5\text{H}_{14}\text{N}_2$

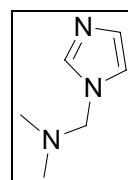
$M_r = 102,18$

Ausbeute: 81,3 g, 0,80 mol, 80 % farblose Flüssigkeit Siedep.: 79 °C

Analog zu **95**: 253 mL, 2,0 mol 40%ige, wässrige Dimethylamin-Lösung werden eingesetzt.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁸⁵.

1-(*N,N*-Dimethylaminomethyl)imidazol (98)



$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3$

$M_r = 125,17$

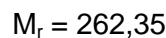
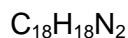
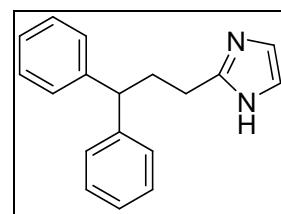
Ausbeute: 9,14 g, 0,073 mol, 73 % farblose Flüssigkeit

Analog zu **96**: 11,40 g, 0,112 mol **97** und werden eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7,43 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 4,60 (s, 2H), 2,22 (s, 6H).

CI-MS: m/z (%): 126 (100) $[\text{MH}^+]$.

2-(3,3-Diphenylpropyl)imidazol (99)

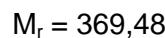
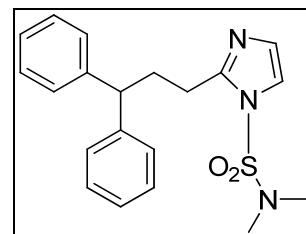


Ausbeute: 1,21 g, 4,6 mmol, 23,1 % farbloser Feststoff Schmp.: 162,0 – 162,7 °C

0,02 mol **96** oder **98** werden in 50 mL trockenem THF unter N₂-Atmosphäre gelöst und auf -40 °C abgekühlt. Dann werden 14,8 mL, 0,024 mol einer 1,6 M n-Butyllithium-Lösung in Hexan zugetropft. Es entsteht eine gelbe Lösung, welche während 45 Minuten auf 0 °C erwärmt und wieder auf -40 °C abgekühlt wird. Nach Zugabe von 7,7 g, 0,024 mol **94** wird über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Es entsteht eine rote Lösung. Nach Zugabe von 50 mL Diethylether wird mit 2 M HCl-Lösung (4 × 50 mL) extrahiert. Die sauren Phasen werden mit festem NaHCO₃ neutralisiert und mit DCM (4 × 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird durch Chromatographie mit dem Laufmittel EE gereinigt. Nach Umkristallisation aus EE erhält man einen farblosen Feststoff.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

1-(*N,N*-Dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)imidazol (100)



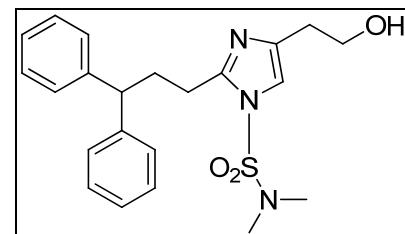
Ausbeute: 3,3 g, 9,01 mmol, 79 % Farblose Kristalle Schmp.: 75,5 – 76,0 °C

3,0 g, 11,4 mmol **99** werden in 25 mL trockenem Chloroform und 5 mL trockenem Methanol gelöst. Zuerst werden 1,76 g, 12,5 mmol Dimethylsulfamoylchlorid, anschließend 1,9 mL, 13,7 mmol Et₃N zugegeben. Es wird 24 h bei Raumtemperatur

gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit Wasser gewaschen ($2 \times 40 \text{ mL}$) und die vereinigten wässrigen Phasen werden noch mit 50 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird durch Chromatographie mit dem Laufmittel EE gereinigt.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

2-(1-(*N,N*-Dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)imidazol-5-yl)ethanol (101)



$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$

$M_r = 413,53$

Ausbeute: 2,11 g, 5,1 mmol, 63 %

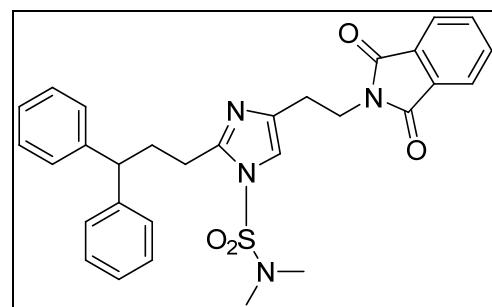
farbloser Feststoff

Schmp.: 132,9 °C

3,0 g, 8,1 mmol **100** werden in 40 mL trockenem THF unter N_2 -Atmosphäre gelöst und auf -60°C abgekühlt. Dann werden $5,6 \text{ mL}$, 8,9 mmol n-BuLi in Hexan (1,6 M) zugetropft. Es fällt weißes Lithiumsalz aus. Man lässt die Reaktionsmischung auf -40°C erwärmen. Gleichzeitig werden ca. $2,0 \text{ mL}$ Oxiran in 2 mL trockenem THF verflüssigt. Diese Lösung wird nach ca. 25 Minuten über einen Ausgießer zur Reaktionsmischung bei -40°C gegeben. Nun wird auf Raumtemperatur erwärmt. Es entsteht eine gelbe Lösung. Nach Zugabe von 60 mL NH_4Cl -Lösung wird mit EE ($4 \times 50 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird durch Chromatographie mit dem Laufmittel EE gereinigt. Bei Bedarf kann das Produkt durch Umkristallisation aus EE noch weiter gereinigt werden.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

2-(2-(1-(*N,N*-Dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)imidazol-5-yl)ethyl)isoindol-1,3-dion (102)



$C_{30}H_{30}N_4O_4S$

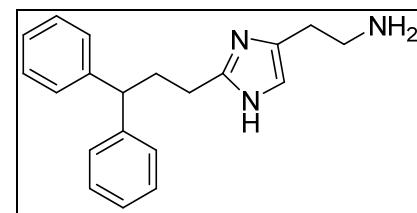
$M_r = 542,65$

Ausbeute: 5,2 g, 9,6 mmol, 88 % farbloser Feststoff Schmp.: 137,0 – 137,5 °C

3,08 g, 7,4 mmol **101**, 1,95 g, 7,4 mmol Triphenylphosphin und 1,09 g, 7,4 mmol Phthalimid werden in 40 mL trockenem THF gelöst. Dann werden langsam 1,6 mL, 7,4 mmol Diisopropylazodicarboxylat zugetropft. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 100 mL Wasser wird mit EE (3 × 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 100 mL NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird durch Chromatographie mit dem Laufmittel EE:PE 4:1 gereinigt.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

2-(2-(3,3-Diphenylpropyl)imidazol-4-yl)ethylamin (Histaprodifen) (103)



$C_{20}H_{23}N_3$

$M_r = 305,42$

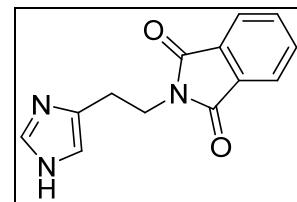
Ausbeute: 0,86 g, 2,8 mmol, 90 % gelbes Öl

Es werden 1,7 g, 3,1 mmol **102** in 70 mL EtOH gelöst und 2 mL Hydrazin-Monohydrat werden hinzugefügt. Es wird drei Stunden unter Rückfluss erhitzt, bis der weiße Niederschlag vollständig ausgefallen ist. Nach dem Abkühlen werden 15 mL 4 M HCl zugegeben und es wird 4 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird gekühlt und der ausgefallene Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird mit EtOH gewaschen und im Vakuum fast bis zur Trockene eingeengt. Es wird nochmals filtriert,

bevor das Filtrat vollständig im Vakuum eingeengt wird. Der Rückstand wird mit 30 mL 2 M NaOH-Lösung aufgenommen und mit Ethylacetat (4 × 30 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird als gelbliches Öl erhalten, das durch Säulenchromatographie mit dem Laufmittel DCM:MeOH:NH₃ 8:1,5:0,5 gereinigt wird.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

2-(2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethyl)isoindol-1,3-dion (104)



C₁₃H₁₁N₃O₂

M_r = 241,25

Ausbeute: 21,06 g, 0,087 mol, 87%

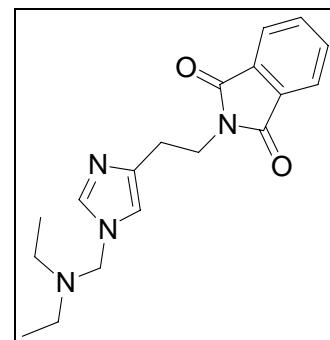
farblose Kristalle

Schmp.: 188,0 °C

Zu einer Lösung aus 18,4 g, 0,1 mol Histamin-Dihydrochlorid und 21,2 g, 0,2 mol Na₂CO₃ in 500 mL H₂O gibt man innerhalb von einer halben Stunde 25,0 g, 0,11 mol Phthalimid-*N*-carbonsäureethylester hinzu. Man lässt zwei Stunden bei Raumtemperatur röhren. Den entstandenen farblosen Feststoff filtriert man ab und kristallisiert das Produkt in wässrigem EtOH um.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁸⁶.

2-(2-(1-Diethylaminomethyl-1*H*-Imidazol-4-yl)-ethyl)isoindol-1,3-dion (105)



C₁₈H₂₂N₄O₂

M_r = 326,39

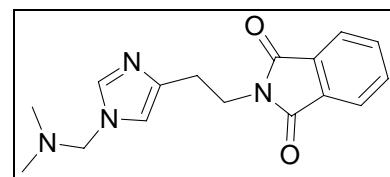
Ausbeute: 13,72 g, 42,1 mmol, 81 % gelbliches Öl

Analog zu **96**: 12,56 g, 52,1 mmol **104** werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel MeCN:NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,81 – 7,78 (m, 2H), 7,69 – 7,66 (m, 2H), 7,35 (d, 1H, J = 1,2 Hz), 6,68 (s, 1H), 4,69 (s, 2H), 3,97 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,96 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,42 (q, 4H, J = 7,2 Hz), 1,02 (t, 6H, J = 7,2 Hz).

CI-MS: m/z (%): 327 (19) [MH⁺].

2-(2-(1-Dimethylaminomethyl-1*H*-Imidazol-4-yl)-ethyl)isoindol-1,3-dion (**106**)



C₁₆H₁₈N₄O₂

M_r = 298,34

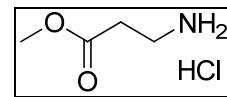
Ausbeute: 7,01 g, 23,5 mmol, 68 % Farbloses Öl

Analog zu **96**: 8,37 g, 34,7 mmol **104** und 3,96 g, 38,8 mol **97** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,80 (dd, 2H, J = 3,0 Hz, J = 5,5 Hz), 7,67 (dd, 2H, J = 3,1 Hz, J = 5,4 Hz), 7,35 (d, 1H, J = 1,1 Hz), 6,70 (s, 1H), 4,54 (s, 2H), 3,98 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,96 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,19 (s, 6H).

CI-MS: m/z (%): 299 (63) [MH⁺].

Methyl-3-aminopropanoat-Hydrochlorid (**107**)



C₄H₁₀CINO₂

M_r = 139,58

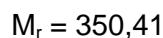
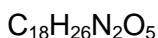
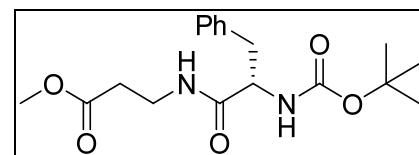
Ausbeute: 14,5 g, 103,8 mmol, 97 % farbloser Feststoff Schmp.: 97,0 – 97,4 °C

9,53 g, 107,0 mmol β -Alanin in 75 mL MeOH suspendieren und 10,2 mL, 16,7 g, 140,6 mmol Thionylchlorid in die eisgekühlte Mischung tropfen. Nachdem die Suspension 18

Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird sie unter verminderem Druck eingeengt. Der farblose Feststoff wird abgesaugt und mit Ether gewaschen.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁸⁷.

(S)-Methyl-3-(2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanamido)propanoat (108)



Ausbeute: 1,60 g, 4,6 mmol, 65 %

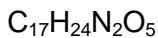
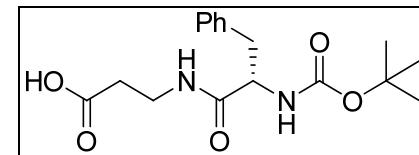
farbloses Öl

Zu einer Lösung aus 1,86 g, 7 mmol *N*²-*tert*-Butyloxycarbonyl-*L*-phenylalanin, 3,15 g, 7,1 mmol BOP und 2 mL, 14,5 mmol Et₃N in 30 mL MeCN gibt man nach 5 Minuten 1,05 g, 7,5 mmol **107** und lässt 3,5 Stunden röhren. Das Lösungsmittel wird unter verminderem Druck abdestilliert und der Rückstand in 40 mL EE wieder aufgenommen. Die org. Phase wird sukzessive mit je 30 mL 5%iger NaHSO₄-Lösung, 5%iger Na₂CO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der org. Phase über Na₂SO₄ erfolgt die endgültige Reinigung säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,30 - 7,16 (m, 5H), 6,33 (s, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,27 (d, 1H, J = 5,6 Hz), 3,63 (s, 3H), 3,51 - 3,31 (m, 2H), 3,16 - 2,95 (m, 2H), 2,49 - 2,29 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 702 (100) [2MH⁺], 351 (83) [MH⁺], 368 (58) [MNH₄⁺], 719 (50) [2MNH₄⁺].

(S)-3-(2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanamido)propansäure (109)



Ausbeute: 0,70 g, 2,1 mmol, 46 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 160,0 – 160,3 °C

Zu einer Lösung aus 1,58 g, 4,5 mmol **108** in 10 mL THF gibt man 10 mL einer 1 M LiOH-Lösung. Nach zwei Stunden (DC-Kontrolle) wird das org. Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase wird mit konz. HCl auf einen pH-Wert von ca. 4 eingestellt, woraufhin das Produkt ausfällt und abgesaugt werden kann.

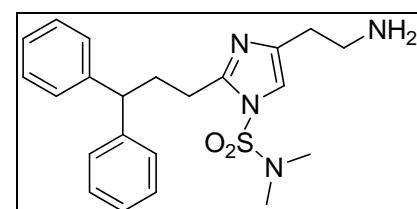
¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,96 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 7,28 - 7,15 (m, 5H), 6,88 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 4,09 (dt, 1H, J = 4,6 Hz, J = 9,7 Hz), 3,34 - 3,16 (m, 2H), 2,91 (dd, 1H, J = 4,6 Hz, J = 13,7 Hz), 2,70 (dd, 1H, J = 10,1 Hz, J = 13,5 Hz), 2,31 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 1,29 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 673 (100) [2MH⁺], 691 (88) [2MNH₄⁺], 337 (68) [MH⁺], 354 (47) [2MNH₄⁺], 1027 (34) [3MNH₄⁺].

CHN ($C_{17}H_{24}N_2O_5 \cdot 0,5 H_2O$): Ber. C 59,12 H 7,30 N 8,11

Gef. C 59,40 H 7,07 N 8,05

4-(2-Aminoethyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)-N,N-dimethyl-1*H*-imidazol-1-sulfonamid (110)



$C_{22}H_{28}N_4O_2S$

$M_r = 412,55$

Ausbeute: 1,26 g, 3,05 mmol, 57 %

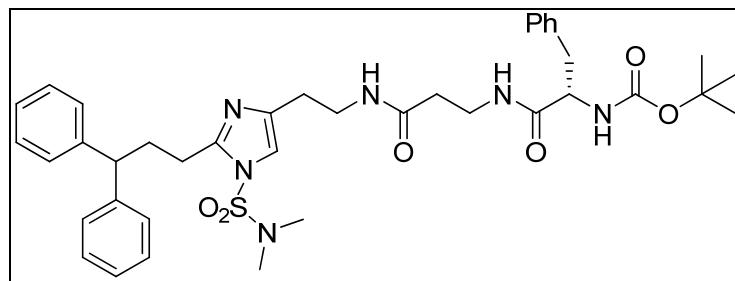
farbloses Öl

2,93 g, 5,4 mmol **102** werden in 81 mL EtOH aufgenommen und nach Zugabe von 1,66 mL, 16,2 mmol ethanolischer MeNH₂-Lösung (33 % wt.) wird für 4 h auf 70 °C erhitzt. Das Edukt löst sich erst in der Hitze. Danach wird die Lösung mit 81 mL H₂O verdünnt, mit konz. HCl angesäuert (pH < 2) und Ethanol unter verminderter Druck abdestilliert. Die wässrige Phase wird einmal mit Ether gewaschen, anschließend mit festem KOH alkalisiert und dreimal mit EE extrahiert. Nach dem Trocknen der vereinigten org. Phasen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,30 - 7,23 (m, 8H), 7,18 - 7,12 (m, 2H), 6,70 (s, 1H), 4,06 (t, 1H, J = 7,9 Hz), 2,97 (dd, 2H, J = 3,6 Hz, J = 10,3 Hz), 2,84 (dd, 4H, J = 7,0 Hz, J = 13,9 Hz), 2,65 (s, 6H), 2,61 - 2,53 (m, 2H), 1,32 (bs, 2H).

ES-MS: m/z (%): 413 (100) [MH⁺].

(S)-tert-Butyl-1-(3-(2-(1-(N,N-dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino)-3-oxopropylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-ylcarbamat (111)



C₃₉H₅₀N₆O₆S

M_r = 730,92

Ausbeute: 0,93 g, 1,3 mmol, 85 % farbloser Feststoff Schmp.: 151,3 °C

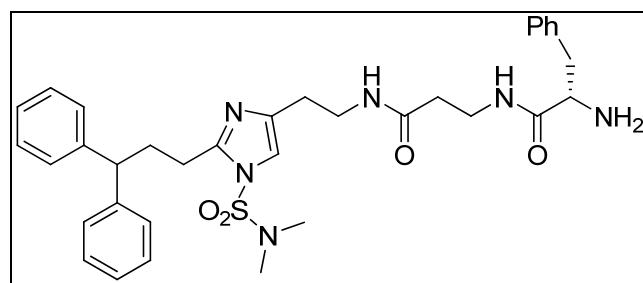
Zu einer Lösung aus 0,50 g, 1,5 mmol **109**, 0,68 g, 1,55 mmol BOP und 0,42 mL, 3 mmol Et₃N in 10 mL MeCN gibt man nach 5 Minuten 0,62 g, 1,5 mmol **110**. Nach 2 Stunden wird der ausgefallene Feststoff abfiltriert und aus MeCN umkristallisiert.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,00 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 7,93 (t, 1H, J = 5,6 Hz), 7,33 - 7,21 (m, 12H), 7,19 - 7,14 (m, 3H), 7,93 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 6,75 (s, 1H), 4,08 (t, 2H, J = 7,7 Hz), 3,32 - 3,17 (m, 4H), 2,91 (dd, 1H, J = 4,4 Hz, J = 13,6 Hz), 2,80 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,74 - 2,69 (m, 3H), 2,63 (s, 6H), 2,49 - 2,43 (m, 2H), 2,20 (t, 2H, J = 7,0 Hz), 1,28 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 732 (100) [MH⁺].

CHN (C ₃₉ H ₅₀ N ₆ O ₆ S · 0,5 H ₂ O):	Ber.	C 63,31	H 6,95	N 11,36	S 4,33
	Gef.	C 63,45	H 6,60	N 11,52	S 4,54

(S)-2-Amino-N-(3-(2-(1-(N,N-dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino)-3-oxopropyl)-3-phenylpropanamid (112)



Ausbeute: 0,69 g, 1,09 mmol, 84 %

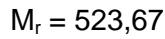
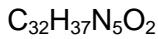
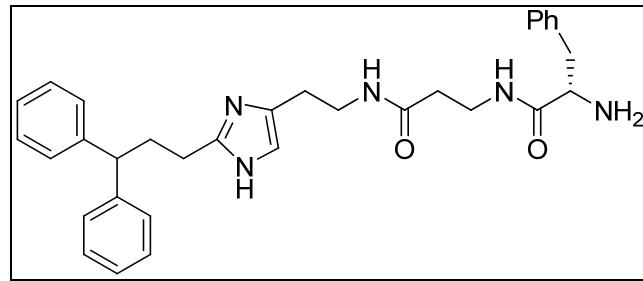
gelbliches Öl

0,93 g, 1,3 mmol **111** in 6 mL DCM und 4 mL TFA röhren lassen. Nach einer Stunde wird die Lösung eingeengt und mit 7 N NH₃ in MeOH alkalisiert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,99 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 7,92 (t, 1H, J = 5,7 Hz), 7,32 - 7,24 (m, 10H), 7,20 - 7,14 (m, 5H), 6,75 (s, 1H), 4,11 (dd, 2H, J = 5,0 Hz, J = 10,1 Hz), 3,31 - 3,28 (m, 2H), 3,24 (dd, 2H, J = 7,0 Hz, J = 13,3 Hz), 2,91 (dd, 1H, J = 4,8 Hz, J = 13,3 Hz), 2,80 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,71 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 2,64 (s, 6H), 2,59 (dd, 1H, J = 4,8 Hz, J = 13,2 Hz), 2,49 - 2,43 (m, 2H), 2,20 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 1,81 (bs, 2H).

ES-MS: m/z (%): 631 (100) [MH⁺], 337 (50) [(M + 2H + MeCN)²⁺], 316 (40) [(M + 2H)²⁺].

(S)-2-Amino-N-(3-(2-(2-(3,3-diphenylpropyl)-1H-imidazol-4-yl)ethylamino)-3-oxopropyl)-3-phenylpropanamid (113)



Ausbeute: 0,25 g, 0,5 mmol, 45 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 63,3 °C

0,66 g, 1,05 mmol **112** werden in 2 mL MeOH, 4 mL Wasser und 2 mL konz. HCl gelöst und 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das org. Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, die verbleibende Lösung mit 2 N NaOH-Lösung alkalisiert und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, das

Lösungsmittel unter verminderter Druck abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 gereinigt.

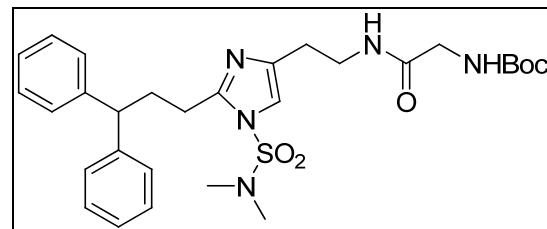
¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 7,29 - 7,11 (m, 15H), 6,66 (s, 1H), 3,91 (t, 1H, J = 7,6 Hz), 3,47 (dd, 1H, J = 6,4 Hz, J = 7,3 Hz), 3,38 - 3,33 (m, 2H), 3,30 (td, 2H, J = 1,6 Hz, J = 3,3 Hz), 2,95 (dd, 1H, J = 6,4 Hz, J = 13,3 Hz), 2,76 (dd, 1H, J = 7,4 Hz, J = 13,3 Hz), 2,68 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 2,61 - 2,55 (m, 2H), 2,43 (dd, 2H, J = 6,8 Hz, J = 15,6 Hz), 2,26 (dt, 2H, J = 4,5 Hz, J = 6,9 Hz).

ES-MS: m/z (%): 283 (100) [(M + 2H + MeCN)²⁺], 524 (90) [MH⁺].

CHN (C₃₂H₃₇N₅O₂ · H₂O): Ber. C 70,95 H 7,26 N 12,93

Gef. C 71,08 H 7,59 N 12,79

tert-Butyl-2-(2-(1-(N,N-dimethylsulfamoyl)-2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino)-2-oxoethylcarbamat (114)



C₂₉H₃₉N₅O₅S

M_r = 569,72

Ausbeute: 0,27 g, 0,47 mmol, 47 % farbloser Schaum Schmp.: 96 – 97 °C

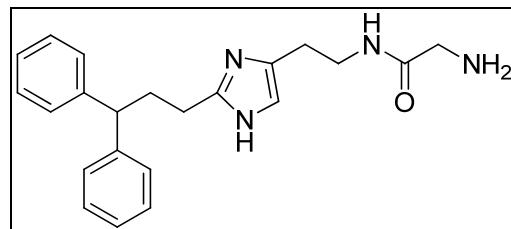
Zu einer Lösung aus 0,18 g, 1,0 mmol *N*^a-*tert*-butyloxycarbonyl-glycin, 0,32 g, 1,05 mmol DEPBT und 0,28 mL, 2,0 mmol Et₃N in 10 mL THF gibt man nach 5 Minuten 0,41 g, 1,0 mmol **110**. Nach 4 Stunden wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 20 mL DCM wieder aufgenommen und einmal mit 5%iger Na₂CO₃-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit dem Laufmittel EE gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,29 - 7,23 (m, 8H), 7,18 - 7,12 (m, 2H), 6,71 (s, 1H), 6,39 (t, 1H, J = 5,8 Hz), 5,15 (bs, 1H), 4,06 (t, 1H, J = 7,8 Hz), 3,74 (d, 2H, J = 5,9 Hz), 3,51 (q, 2H, J = 6,6 Hz), 2,94 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,84 - 2,79 (m, 2H), 2,65 (s, 6H), 2,56 (dd, 2H, J = 7,8 Hz, J = 15,6 Hz), 1,43 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 570 (100) [MH⁺].

CHN ($C_{29}H_{39}N_5O_5S \cdot 0,3 H_2O$):	Ber.	C 60,50	H 6,94	N 12,16	S 5,57
	Gef.	C 60,83	H 7,19	N 11,76	S 5,24

2-Amino-N-(2-(2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)acetamid (115)



$C_{22}H_{26}N_4O$ $M_r = 362,47$

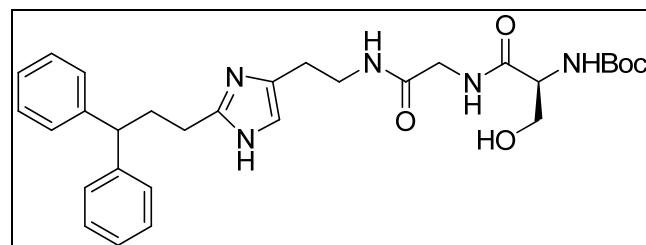
Ausbeute: 0,34 g, 0,9 mmol, 47 % gelbes Öl

1,13 g, 2,0 mmol **114** werden zwei Stunden in 5 mL MeOH, 10 mL H_2O und 5 mL konz. HCl auf 65 °C erhitzt. Nachdem die Mischung im Vakuum eingeengt wurde, wird mit 2 N NaOH-Lösung alkalisiert und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,76 (t, 1H, $J = 5,2$ Hz), 7,27 – 7,12 (m, 10H), 6,58 (s, 1H), 3,85 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 3,47 (dd, 2H, $J = 6,5$ Hz, $J = 12,7$ Hz), 3,19 (s, 2H), 2,71 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 2,60 – 2,55 (m, 2H), 2,43 (dd, 2H, $J = 7,2$ Hz, $J = 15,4$ Hz).

ES-MS: m/z (%): 223 (100) $[(M + 2H + 2\text{MeCN})^{2+}]$, 363 (40) $[\text{MH}^+]$, 223 (25) $[(M + H + \text{MeCN})^+]$.

(S)-tert-Butyl-1-(2-(2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino)-2-oxoethylamino)-3-hydroxy-1-oxopropan-2-ylcarbamat (116)



$C_{30}H_{39}N_5O_5$ $M_r = 549,66$

Ausbeute: 0,11 g, 0,2 mmol, 51 % farbloser Feststoff Schmp.: 34 °C

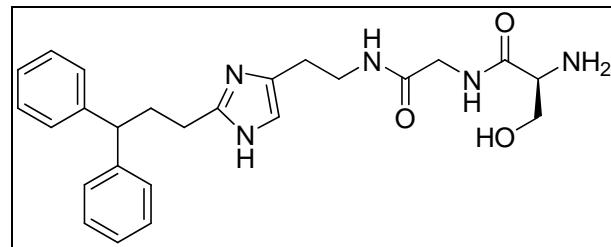
Analog zu **114**: 0,14 g, 0,4 mmol **115** und 0,08 g, 0,4 mmol *N*^ε-*tert*-Butyloxycarbonyl-*L*-serin werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1.

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ 7,56 (bs, 1H), 7,47 (t, 1H, J = 5,2 Hz), 7,26 - 7,11 (m, 10H), 6,49 (s, 1H), 5,78 (d, 1H, J = 5,9 Hz), 4,14 (bs, 1H), 3,90 - 3,79 (m, 4H), 3,55 (dd, 1H, J = 4,7 Hz, J = 10,1 Hz), 3,30 (d, 2H, J = 4,9 Hz), 2,62 - 2,53 (m, 4H), 2,43 - 2,35 (m, 2H), 1,43 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 550 (100) [MH⁺].

CHN (C ₃₀ H ₃₉ N ₅ O ₅ · 1,3 H ₂ O):	Ber.	C 62,81	H 7,32	N 12,21
	Gef.	C 62,99	H 7,36	N 12,58

(S)-2-Amino-*N*-(2-(2-(3,3-diphenylpropyl)-1*H*-imidazol-4-yl)ethylamino)-2-oxoethyl)-3-hydroxypropanamid (117)



C₂₅H₃₁N₅O₃

M_r = 449,55

Ausbeute: 0,05 g, 0,11 mmol, 90 %

farbloses Öl

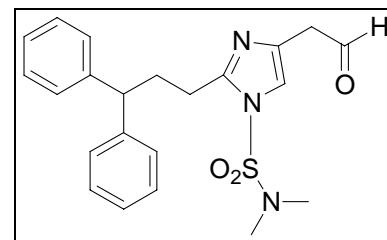
0,07 g, 0,12 mmol **116** werden eine Stunde in 3 mL DCM und 0,75 mL TFA gerührt. Die Lösung wird unter verminderterem Druck eingeengt, mit 7 N NH₃ in MeOH alkalisert und durch Säulenchromatographie mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ 7,30 - 7,26 (m, 8H), 7,22 - 7,16 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 3,99 (dd, 2H, J = 5,7 Hz, J = 10,1 Hz), 3,92 - 3,90 (m, 2H), 3,87 (s, 2H), 3,45 (t, 2H, J = 6,7 Hz), 2,92 - 2,87 (m, 2H), 2,78 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,56 (dd, 2H, J = 7,8 Hz, J = 15,7 Hz).

ES-MS: m/z (%): 246 (100) [(M + 2H + MeCN)²⁺], 450 (84) [MH⁺], 267 (30) [(M + 2H + 2MeCN)²⁺].

5.3.3 Alternative Synthesestrategien

2-(3,3-Diphenylpropyl)-4-(2-oxo-ethyl)-imidazol-1-sulfonsäure-dimethylamid (118)



$C_{22}H_{25}N_3O_3S$

$M_r = 411,52$

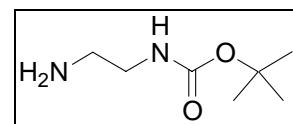
Ausbeute: 0,36 g, 0,87 mmol, 43,5 %

gelbes Öl

0,21 mL, 2,5 mmol Oxalylchlorid werden in 5 mL $CHCl_3$ gelöst und auf -50 bis -60 °C gekühlt. Zu dieser Mischung werden 0,36 mL, 5,0 mmol DMSO getropft und zwei Minuten gerührt. Eine Lösung aus 0,9 g, 2,0 mmol **101** in 2 mL $CHCl_3$ und etwas DMSO werden zugetropft. Nach einer halben Stunde gibt man 1,4 mL, 10,0 mmol Et_3N und lässt noch weitere 5 Minuten bei tiefer Temperatur rühren. Nachdem die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gekommen ist, fügt man etwas Kieselgel hinzu und destilliert das Lösungsmittel unter verminderterem Druck ab. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:DCM 3:2.

Analytische Daten entsprechen Lit.⁵⁸.

(2-Aminoethyl)carbamidsäure-*tert*-butylester (119)



$C_7H_{16}N_2O_2$

$M_r = 160,21$

Ausbeute: 1,95 g, 12,2 mmol, 87 %

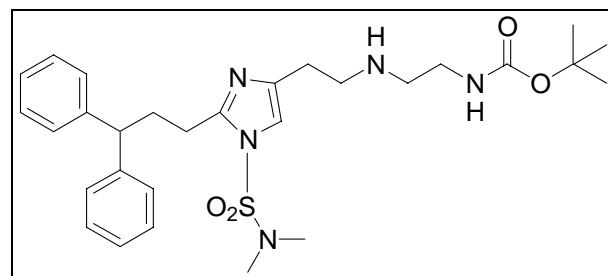
farblose Flüssigkeit

5,0 g, 83 mmol Ethylenediamin werden in 25 mL DCM gelöst. 3,05 g, 14,0 mmol Boc-Anhydrid werden in 200 mL DCM gelöst und über 6 Stunden zur Ethylenediaminlösung getropft. Man lässt noch weitere 24 Stunden rühren und zieht daraufhin das Lösungsmittel ab. Der ölige Rückstand wird in 40 mL 2 M Na_2CO_3 -Lösung aufgenommen und dreimal mit 50 mL DCM extrahiert. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel abgezogen.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4,91 (bs, 1H, NH), 3,16 (dd, 2H, J = 5,8 Hz, J = 11,7 Hz), 2,78 (t, 2H, J = 5,9 Hz), 1,43 (s, 9H).

CI-MS: m/z (%): 161 (100) [MH⁺], 105 (32) [MH⁺-C₄H₈].

(2-(2-(1-Dimethylsulfamoyl-2-(3,3-diphenyl-propyl)-1*H*-imidazol-4-yl)-ethylamino)ethyl)carbamidsäure-*tert*-butylester (120)



C₂₉H₄₁N₅O₄S

M_r = 555,73

Ausbeute: 100 mg, 0,18 mmol, 16 %

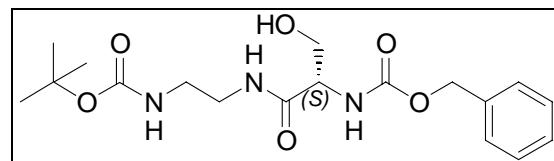
leicht gelbliches Öl

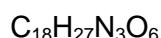
Zu einer Lösung aus 0,47 g, 1,1 mmol **118** und 0,19 g, 1,2 mmol **119** in 5 mL MeOH fügt man 3Å-Molekularsieb hinzu und lässt 1,5 Stunden röhren. Nun folgt die Zugabe von 0,9 g, 1,5 mmol NaCNBH₃ und man lässt über Nacht weiterröhren. Die Mischung wird über Na₂SO₄ abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 10 mL 2 N NaOH-Lösung aufgenommen und dreimal mit EE extrahiert. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ erfolgt die säulenchromatographische Reinigung mit dem Laufmittel EE.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,29 - 7,23 (m, 7H), 7,20 - 7,13 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 4,86 (bs, 1H), 4,06 (t, 1H, J = 7,9 Hz), 3,89 (dd, 1H, J = 7,4 Hz, J = 17,0 Hz), 3,23 - 3,15 (m, 4H), 2,99 - 2,93 (m, 2H), 2,82 - 2,72 (m, 4H), 2,63 (s, 6H), 2,60 - 2,54 (m, 2H), 1,43 (s, 9H).

ES-MS: m/z (%): 299 (100) [M + 2H⁺ + MeCN], 556 (64) [MH⁺].

(S)-(1-(2-*tert*-Butoxycarbonylamo-ethylcarbamoyl)-2-hydroxy-ethyl)-carbamidsäurebenzylester (121)



 $M_r = 381,42$

Ausbeute: 4,82 g, 12,6 mmol, 95 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 113,4 °C

Zu einer Lösung aus 2,13 g, 13,3 mmol **119** und 3,18 g, 13,3 mmol *N*-Benzylxycarbonyl-*L*-serin in 180 mL MeCN gibt man 5,88 g, 13,3 mmol BOP und abschließend noch 3,7 mL, 27 mmol Et₃N. Nach ca. 4 h wird das Lösungsmittel abgezogen und der gelbliche Feststoff in 60 mL EE wieder aufgenommen. Die organische Phase wird nun nacheinander mit 5%iger NaHSO₄-Lösung, H₂O, 5%iger Na₂CO₃-Lösung und schließlich noch mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel abgezogen. Der erhaltene Feststoff wird aus EE umkristallisiert.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,93 (t, 1H, *J* = 5,1 Hz), 7,40 - 7,29 (m, 5H), 7,15 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 6,78 (t, 1H, *J* = 5,3 Hz), 5,03 (d, 2H, *J* = 4,7 Hz), 4,82 (t, 1H, *J* = 5,6 Hz), 3,98 (dd, 1H, *J* = 6,1 Hz, *J* = 13,0 Hz), 3,62 - 3,47 (m, 2H), 3,09 - 3,05 (m, 2H), 2,97 (dd, 2H, *J* = 5,8 Hz, *J* = 11,7 Hz), 1,37 (s, 9H).

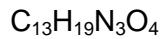
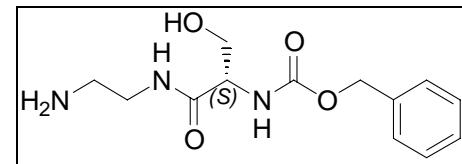
ES-MS: m/z (%): 399 (100) [MNH₄⁺], 780 (68) [2MNH₄⁺], 382 (38) [MH⁺], 763 (22) [2MH⁺].

CHN (C₁₈H₂₇N₃O₆ · 0,67 H₂O):

Ber. C 54,95 H 7,26 N 10,68

Gef. C 54,68 H 7,60 N 10,75

(S)-(1-(2-Amino-ethylcarbamoyl)-2-hydroxy-ethyl)-carbamidsäurebenzylester (122)

 $M_r = 281,31$

Ausbeute: 0,1 g, 0,4 mmol, 8 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 146 °C

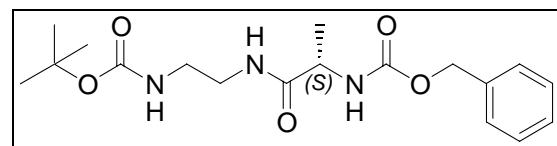
Eine Lösung aus 0,47 g, 1,2 mmol **121** in 10 mL DCM und 4 mL TFA wird eine Stunde gerührt und die Lösung dann unter verminderter Druck eingeengt. Der Rückstand wird mit 7 N NH₃ in MeOH alkalisiert und säulenchromatographisch mit dem Laufmittel DCM:MeOH/NH₃ 9:1 gereinigt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,85 (t, 1H, J = 5,7 Hz), 7,37 - 7,29 (m, 5H), 7,18 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 5,03 (d, 2H, J = 1,6 Hz), 4,00 (td, 1H, J = 5,7 Hz, J = 7,8 Hz), 3,60 - 3,49 (m, 2H), 3,32 (bs, 2H), 3,08 (dd, 2H, J = 5,9 Hz, J = 11,9 Hz), 2,57 (t, 2H, J = 6,3 Hz).

CI-MS: m/z (%): 282 (100) [MH⁺], 563 (8) [2MH⁺].

CHN ($C_{13}H_{19}N_3O_4 \cdot 0,5 H_2O \cdot 0,5 CH_3OH$): Ber. C 52,93 H 7,24 N 13,72
Gef. C 53,03 H 7,06 N 13,98

(S)-(1-(2-tert-Butoxycarbonylamino-ethylcarbamoyl)ethyl)carbamidsäurebenzylester (123)



$C_{18}H_{27}N_3O_5$ $M_r = 365,42$

Ausbeute: 2,37 g, 6,8 mmol, 56 % farbloser Feststoff Schmp.: 161,2 °C

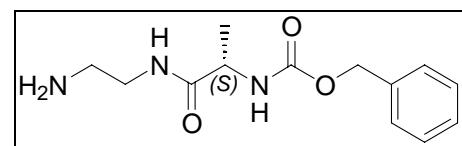
Analog zu **121**: 1,92 g, 12,0 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-alanin werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,90 (t, 1H, J = 5,1 Hz), 7,41 - 7,28 (m, 6H), 6,78 (t, 1H, J = 5,1 Hz), 5,01 (d, 2H, J = 5,7 Hz), 3,97 (p, 1H), 3,12 - 3,03 (m, 2H), 2,99 - 2,93 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,18 (d, 3H, J = 7,1 Hz).

CI-MS: m/z (%): 383 (100) [MNH₄⁺], 366 (74) [MH⁺], 327 (54) [MNH₄⁺-C₄H₈], 310 (29) [MH⁺-C₄H₈].

CHN ($C_{18}H_{27}N_3O_5$): Ber. C 59,16 H 7,45 N 11,50
Gef. C 59,15 H 7,53 N 11,43

(S)-(1-(2-Amino-ethylcarbamoyl)-ethyl)-carbamidsäurebenzylester (124)



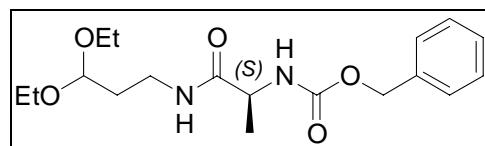
$C_{13}H_{19}N_3O_3$ $M_r = 265,31$

Ausbeute: 0,31 g, 1,2 mmol, 83 % farbloses Öl

Analog zu **122**: 0,51 g, 1,4 mmol **123** werden eingesetzt.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,17 (s, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 6H), 5,02 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 4,05 - 3,95 (m, 1H), 3,33 - 3,27 (m, 2H), 2,84 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 1,21 (d, 3H, J = 7,2 Hz).

(S)-(1-(3,3-Diethoxy-propylcarbamoyl)-ethyl)-carbamidsäurebenzylester (125)



C₁₈H₂₈N₂O₅

M_r = 352,43

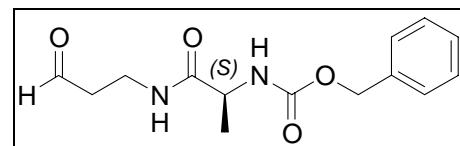
Ausbeute: 4,24 g, 12,0 mmol, 80% gelbliches Öl

Analog zu **121**: 3,35 g, 15,0 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-alanin und 2,21 g, 15 mmol 1-Amino-3,3-diethoxypropan werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:DCM:MeOH 60:40:5.

¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 7,38 - 7,28 (m, 6H), 6,49 (d, 1H, J = 5,9 Hz), 5,07 (d, 2H, J = 2,9 Hz), 4,56 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 4,05 (q, 1H), 3,62 (tt, 2H, J = 7,1 Hz, J = 14,1 Hz), 3,52 - 3,41 (m, 2H), 3,26 (dd, 2H, J = 6,7 Hz, J = 12,8 Hz), 1,75 (dd, 2H, J = 6,8 Hz, J = 12,5 Hz), 1,32 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,13 (dt, 6H, J = 1,2 Hz, J = 7,1 Hz).

ES-MS: m/z (%): 722 (100) [2 MNH₄⁺], 307 (84) [MH⁺ - EtOH], 370 (62) [MNH₄⁺].

(S)-(1-(3-Oxo-propylcarbamoyl)ethyl)carbamidsäurebenzylester (126)



C₁₄H₁₈N₂O₄

M_r = 278,30

Ausbeute: 0,32 g, 1,15 mmol, 29 % farbloser Feststoff Schmp.: 96,0 °C

Eine Lösung aus 1,39 g, 3,9 mmol **125** in 9 mL EtOH wird mit 3 mL einer 5-6 M HCl in Isopropanol versetzt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum

entfernt, der Rückstand in EE aufgenommen und die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel unter verminderterem Druck abdestilliert. Endgültige Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit dem Laufmittel EE:DCM:MeOH 60:40:5.

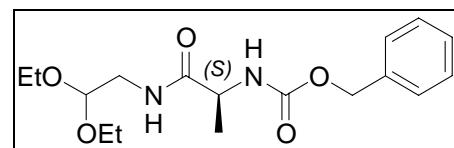
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 9,62 (s, 1H), 7,97 (t, 1H, J = 5,4 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,31 – 7,35 (m, 5H), 5,01 (d, 2H, J = 4,2 Hz), 3,95 (p, 1H, J = 7,2 Hz), 3,31 (m, 2H), 2,56 (m, 2H), 1,16 (d, 3H, J = 7,2 Hz).

ES-MS: m/z (%): 557 (100) [2MH $^+$], 279 (64) [MH $^+$].

CHN ($\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$): Ber. C 60,42 H 6,52 N 10,07

Gef. C 60,29 H 6,80 N 9,95

(S)-(1-(2,2-Diethoxy-ethylcarbamoyl)ethyl)carbamidsäurebenzylester (127)



$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$

$M_r = 338,40$

Ausbeute: 4,06 g, 12,0 mmol, 98 % farbloser Feststoff Schmp.: 72,5 °C

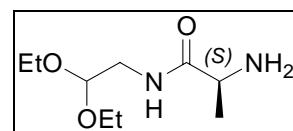
Analog zu **121**: 2,75 g, 12,3 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-alanin und 1,64 g, 12,3 mmol 1-Amino-2,2-diethoxyethan werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:DCM:MeOH 60:40:5.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 7,86 (t, 1H, J = 5,7 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,35 – 7,29 (m, 5H), 5,01 (d, 2H, J = 2,0 Hz), 4,45 (t, 1H, J = 5,5 Hz), 4,06 – 3,99 (m, 1H), 3,64 – 3,54 (m, 2H), 3,50 – 3,40 (m, 2H), 3,20 – 3,07 (m, 2H), 1,19 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 1,10 (t, 6H, J = 7,0 Hz).

CI-MS: m/z (%): 293 (100) [MH $^+$ -EtOH], 231 (46) [MH $^+$ -PhCH $_2$ OH], 356 (16) [MNH $_4^+$], 339 (10) [MH $^+$].

CHN ($\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$): Ber. C 59,55 H 7,79 N 8,17

Gef. C 59,36 H 7,80 N 8,04

(S)-2-Amino-*N*-(2,2-diethoxy-ethyl)propionamid (128) $C_9H_{20}N_2O_3$ $M_r = 204,27$

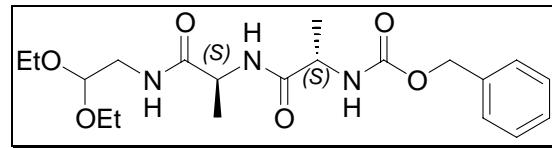
Ausbeute: 0,54 g, 2,6 mmol, 94 %

Gelbes Wachs

0,96 g, 2,8 mmol **127** werden in 30 mL trockenem MeOH gelöst und auf 75 °C erhitzt. Man gibt so lange Ammoniumformiat und Pd/C hinzu, bis die H_2 -Entwicklung zu beobachten ist. Nach ca. 15 Minuten (DC-Kontrolle) ist die Hydrierung abgeschlossen. Man filtriert Pd/C ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das salzhaltige Produkt wird in DCM gerührt und der pH-Wert mit 7 N NH_3 in MeOH basisch eingestellt. Nun kann die Mischung vom Salz abfiltriert werden und das Produkt bleibt nach Abtrennen vom Lösungsmittel als gelbes Wachs zurück.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 8,14 (t, 1H, $J = 5,6$ Hz), 6,26 (bs, 2H), 4,47 (t, 1H, $J = 5,5$ Hz), 3,61 (tt, 2H, $J = 7,1$ Hz, $J = 14,2$ Hz), 3,41 – 4,54 (m, 3H), 3,08 – 3,25 (m, 2H), 1,20 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz), 1,12 (t, 6H, $J = 7,0$ Hz).

CI-MS: m/z (%): 205 (100) $[MH^+]$.

(S,S)-(1-(1-(2,2-Diethoxy-ethylcarbamoyl)ethylcarbamoyl)ethyl)carbamidsäure benzylester (129) $C_{20}H_{31}N_3O_6$ $M_r = 409,48$

Ausbeute: 0,5 g, 1,22 mmol, 53 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 142,0 °C

Analog zu **121**: 0,47 g, 2,3 mmol **128** und 0,51 g, 2,3 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-*L*-alanin werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung ist nicht notwendig.

1H -NMR (300 MHz, DMSO): δ 7,96 – 7,86 (m, 2H), 7,48 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,35 – 7,31 (m, 5H), 5,02 (d, 2H, $J = 1,0$ Hz), 4,44 (t, 1H, $J = 5,5$ Hz), 4,26 (p, 1H, $J = 7,0$ Hz), 4,05

(p, 1H, $J = 7,1$ Hz), 3,58 (dqd, 2H, $J = 1,8$ Hz, $J = 7,1$ Hz, $J = 8,8$ Hz), 3,50 - 3,39 (m, 2H), 3,22 - 3,04 (m, 2H), 1,19 (d, 6H, $J = 7,1$ Hz), 1,10 (t, 6H, $J = 7,0$ Hz).

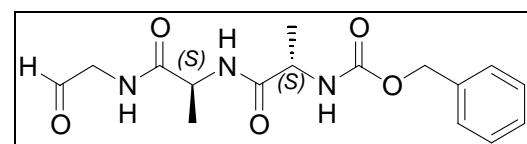
ES-MS: m/z (%): 820 (100) [2 MH^+], 410 (76) [MH^+], 364 [$\text{MH}^+ \text{-EtOH}$].

CHN ($\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot 1,5 \text{ H}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3\text{CN} \cdot \text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$):

Ber. C 55,21 H 8,02 N 9,90

Gef. C 55,23 H 7,66 N 10,06

(S,S)-(1-(1-(2-Oxo-ethylcarbamoyl)ethylcarbamoyl)ethyl)carbamidsäurebenzylester (130)



$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5$

$M_r = 335,36$

Ausbeute: 0,19 g, 0,57 mmol, 68 %

farbloser Feststoff

Analog zu **126**: 0,34 g, 0,83 mmol **129** werden eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 9,42 (s, 1H), 8,26 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 8,02 (d, 1H), 7,47 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,31 – 7,39 (m, 5H), 5,01 (s, 2H), 4,33 (p, 1H, $J = 7,1$ Hz), 4,06 (p, 1H, $J = 7,1$ Hz), 3,90 (dd, 2H, $J = 2,7$ Hz, $J = 5,2$ Hz), 1,20 (d, 6H, $J = 7,1$ Hz).

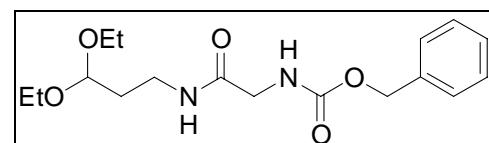
ES-MS: m/z (%): 336 (100) [MH^+].

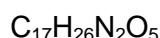
CHN ($\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot 0,25 \text{ CH}_3\text{OH} \cdot 0,5 \text{ CH}_4\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$):

Ber. C 56,58 H 6,76 N 10,85

Gef. C 56,63 H 6,95 N 10,69

((3,3-Diethoxy-propylcarbamoyl)-methyl)-carbamidsäurebenzylester (131)





$M_r = 338,40$

Ausbeute: 4,47 g, 13,2 mmol, 88 %

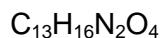
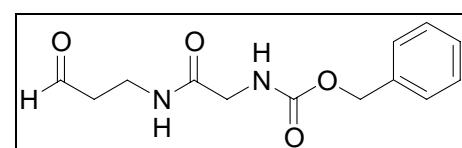
farbloses Öl

Analog zu **121**: 3,14 g, 15,0 mmol *N*-Benzylloxycarbonyl-glycin und 2,21 g, 15 mmol 1-Amino-3,3-diethoxypropan werden eingesetzt. Säulenchromatographische Reinigung erfolgt mit dem Laufmittel EE:DCM:MeOH 60:40:5.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 7,81 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 7,44 (t, 1H, $J = 6,1$ Hz), 7,37 - 7,29 (m, 5H), 5,03 (s, 2H), 4,50 (t, 1H, $J = 5,6$ Hz), 3,57 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 3,61 - 3,51 (m, 2H), 3,42 (qd, 2H, $J = 7,0$ Hz, $J = 14,1$ Hz), 3,10 (dd, 2H, $J = 6,7$ Hz, $J = 12,9$ Hz), 1,65 (dd, 2H, $J = 6,7$ Hz, $J = 12,9$ Hz), 1,11 (t, 6H, $J = 7,0$ Hz).

CI-MS: m/z (%): 293 (100) [$\text{MH}^+ \text{-EtOH}$], 356 (9) [MNH_4^+], 339 (3) [MH^+].

((3-Oxo-propylcarbamoyl)methyl)carbamidsäurebenzylester (**132**)



$M_r = 264,28$

Ausbeute: 0,74 g, 2,8 mmol, 74 %

farbloser Feststoff

Schmp.: 76,5 °C

Analog zu **126**: 1,27 g, 3,8 mmol **131** werden eingesetzt.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 9,63 (s, 1H), 7,96 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 7,44 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz), 7,37 - 7,29 (m, 5H), 5,03 (s, 2H), 3,56 (d, 2H, $J = 6,1$ Hz), 3,34 (q, 2H, $J = 6,4$ Hz), 2,56 (dt, 2H, $J = 1,3$ Hz, $J = 6,5$ Hz).

ES-MS: m/z (%): 529 (100) [2MH^+], 265 (74) [MH^+], 282 (66) [MNH_4^+].

6. Literaturverzeichnis

1. Windaus A.; Vogt W. *Chem. Ber.* **1907**, *40*, 3691.
2. Barger G.; Dale H. H. *J. Chem. Soc., Tr.* **1910**, *97*, 2592-2595.
3. Barger G.; Dale H. H. *Proc. Physiol. Soc.*, **1909**, *May 15th*, 77-81.
4. Barger G.; Dale H. H. *J. Physiol.* **1911**, *41*, 499-503.
5. Dale H. H.; Laidlaw P. P. *J. Physiol.* **1910**, *41*, 318-344.
6. Fournau E.; Bovet D. *Arch. Int. Pharmacodyn. Thér.* **1933**, *46*, 178.
7. Staub, A. M.; Bovet D. *Compt. Rend. Soc. Biol.* **1937**, *125*, 818.
8. Feinberg S. M. *Am. J. Med.* **1947**, *3*, 560-570.
9. Ash A. S. F.; Schild H. O. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* **1966**, *27*, 427-439.
10. Black J. W.; Duncan W. A. M.; Durant C. J.; Ganellin C. R.; Parsons E. M. *Nature* **1972**, *236*, 385-390.
11. Schwartz J.-C.; Pollard H.; Quach T. T. *J. Neurochem.* **1980**, *35*, 26-33.
12. Arrang J.-M.; Garbarg M.; Schwartz J.-C. *Nature* **1983**, *302*, 832-837.
13. De Backer M. D.; Gommeren W.; Moereels H.; Nobels G.; Van Gompel P.; Leysen J. E.; Luyten W. H. M.L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *197*, 1601-1608.
14. Gantz I.; Munzert G.; Tashiro T.; Schaffer M.; Wang L.; Del Valle J.; Yamada T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *178*, 1386-1392.
15. Lovenberg T. W.; Roland B. L.; Wilson S. J.; Jiang X.; Pyati J.; Huvar A.; Jackson M. R.; Erlander M. G. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *55*, 1101-1107.
16. Nakamura T.; Itadani H.; Hidaka Y.; Ohta M.; Tanaka K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *279*, 615-620.
17. Oda T.; Morikawa N.; Saito Y.; Masuho Y.; Matsumoto S. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 36781-36786.
18. Hill S. J.; Ganellin C. R.; Timmerman H.; Schwartz J.-C.; Shankley N. P.; Young J. M.; Schunack W.; Levi R.; Haas H. L. *Pharmacol. Rev.* **1997**, *49*, 253-278.
19. de Esch I. J. P.; Thurmond R. L.; Jongejan A.; Leurs R. *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, *26*, 462-469.
20. Leurs R.; Bakker R. A.; Timmerman H.; de Esch I. J. P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 107-120.
21. Smits R. A.; Leurs R.; de Esch I. J. P. *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 745-753.
22. Igel P.; Dove S.; Buschauer A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 7191-7199.
23. Daugherty B. L. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *142*, 5-7.
24. Thurmond R. L.; Gelfand E. W.; Dunford P. J. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7*, 41-53.
25. Zingel V.; Elz S.; Schunack W. *Eur. J. Med. Chem.* **1990**, *25*, 673-680.
26. Leschke C.; Elz S.; Garbarg M.; Schunack W. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1287-1294.

27. Wittmann H.-J.; Elz S.; Seifert R.; Straßer A. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2011**, doi:10.1007/s00210-011-0671-5.
28. Elz S.; Kramer K.; Pertz H.; Detert H.; Laak A.; Kühne R.; Schunack W. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1071-1084.
29. Menghin S.; Pertz H. H.; Kramer K.; Seifert R.; Schunack W.; Elz S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5458-5470.
30. Deml K.-F.; Beermann S.; Neumann D.; Strasser A.; Seifert R. *Mol. Pharmacol.* **2009**, *76*, 1019-1030.
31. Schulze F. R., Alisch R. A., Buschauer A., Schunack W. *Arch. Pharm.* **1994**, *327*, 455-462.
32. Wolf C., Schulze F. R., Buschauer A., Schunack W. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1998**, *6*, 187-196.
33. Thurmond J.; Butchbach M. E. R.; Palomo M.; Pease B.; Rao M.; Bedell L.; Keyvan M.; Pai G.; Mishra R.; Haraldsson M.; Andresson T.; Bragason G.; Thosteinsdottir M.; Bjornsson J. M.; Coovert D. D.; Burghes A. H. M.; Gurney M. E.; Singh J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 449-469.
34. Brückner R. *Reaktionsmechanismen*, Spektrum Akademischer Verlag, 3. Auflage München **2004**.
35. Li J.; Sun C.; Lee D. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6640-6641.
36. Li H.; Jiang X.; Ye Y.; Fan C.; Romoff T.; Goodman M. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 91-93.
37. Orjales A.; Alonso-Cires L.; López-Tudanca P.; Tapia I.; Mosquera R.; Labeaga L. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 415.
38. Wolf C.; Schunack W. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1996**, *329*, 87-94.
39. Jeong E.; Freeman H. S.; Claxton L. D. *Dyes and Pigments* **2010**, *87*, 100-108.
40. Chen Z. Venkatesan A. M.; Dehnhardt C. M.; Ayral-Kaloustian S.; Brooijmans N.; Mallon R.; Feldberg L.; Hollander I.; Lucas J.; Yu K.; Kong F.; Mansour T. S. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3169-3182.
41. Mayur Y. C.; Zaheeruddin, Peters G. J.; Lemos C.; Kathmann I.; Prasad V. V. S. R. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2009**, *342*, 640-650.
42. Sakai N.; Gerard D.; Matile S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2517-2524.
43. Kawamoto I.; Shimoji Y.; Kanno O.; Kojima K.; Ishikawa K.; Matsuyama E.; Ashida Y.; Shibayama T.; Fukuoka T.; Ohya S.; *J. Antibiotics* **2003**, *56*, 565-579.
44. Choi E. T.; Lee M. H.; Kim Y.; Park Y. S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 1515-1522.
45. Singh V.; Kanojiya S.; Batra S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10100-10110.
46. Mahboobi S.; Ücker A.; Sellmer A.; Cénac C.; Höcher H.; Pongratz H.; Eichhorn E.; Hufsky H.; Trümpler A.; Sicker M.; Heidel F.; Fischer T.; Stocking C.; Elz S.; Böhmer F.-D.; Dove S. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3101-3115.

47. Gribble G.; Saulnier M. G.; Obaza-Nutaitis J. A.; Ketcha D. M. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 5891-5899.
48. Jablonowski J. A.; Grice C. A.; Chai W.; Dvorak C. A.; Venable J. D.; Kwok A. K.; Ly K. S.; Wei J.; Baker S. M.; Desai P. J.; Jiang W.; Wilson S. J.; Thurmond R. L.; Karlsson L.; Edwards J. P.; Lovenberg T. W.; Carruthers N. I. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 3957-3960.
49. Abdel-Magid A. F.; Carson K. G.; Harris B. D.; Maryanoff C. A.; Shah R. D. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3849-3862.
50. Levene P. A. *Org. Synth. Coll. Vol. II.* **1943**, 88-89.
51. Janssens F.; Torremans J.; Janssen M.; Stokbroekx R. A.; Luyckx M.; Janssen P. A. *J. J. Med. Chem.* **1985**, 28, 1925-1933.
52. Baraldi P. G.; Bovero A.; Fruttarolo F.; Romagnoli R.; Tabrizi M. A.; Preti D.; Varani K.; Borea P. A.; Moorman A. R. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 4161-4169.
53. Sander K.; Kottke T.; Tanrikulu Y.; Proschak E.; Weizel L.; Schneider E. H.; Seifert R.; Schneider G.; Stark H. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 7186-7196.
54. Laduron F.; Tamborowski V.; Moens L.; Horváth A.; De Smaele D.; Leurs S. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, 9, 102-104.
55. Caron S.; Do N. M.; McDermott R. E.; Bahmanyar S. *Org. Process Res. Dev.* **2006**, 10, 257-261.
56. Hamul'aková S.; Kristian P.; Jun D.; Kuča K., Imrich J.; Daniel I.; Böhm S.; Klika K. D. *Heterocycles* **2008**, 76, 1219-1235.
57. Kunze M. *Dissertation*, Universität Regensburg **2006**
58. Striegl B. *Dissertation*, Universität Regensburg **2006**
59. Wagner E. *Diplomarbeit*, Universität Regensburg **2007**
60. Ooi T.; Tayama E.; Yamada M.; Maruoka K. *Synlett* **1999**, 6, 729-730.
61. Mancuso A. J.; Swern D. *Synthesis* **1981**, 3, 165 -185.
62. Love B. E. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 630-632.
63. Jensen K. B., Braxmeier T. M., Demarcus M., Frey J. G., Kilburn J. D. *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1300-1309.
64. Jenkinson D. H.; Barnard E. A.; Hoyer D.; Humphrey P. P. A.; Leff P.; Shankley N. P. *Pharmacol. Rev.* **1995**, 47, 255-266.
65. Lazareno S.; Birdsall N. J. M. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, 109, 1110-1119.
66. Seifert R.; Wenzel-Seifert K.; Bürckstümmer T.; Pertz H. H.; Schunack W.; Dove S.; Buschauer A.; Elz S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, 305, 1104-1115.
67. Schneider E. H.; Schnell D.; Papa D.; Seifert R. *Biochemistry* **2009**, 48, 1424-1438.
68. Kenakin T.; Jenkinson S.; Watson C. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, 319, 710-723.

69. Vauquelin G.; Van Liefde I.; Birzbier B. B.; Vanderheyden P. M. L. *Fund. Clin. Pharmacol.* **2002**, 16, 263-272.
70. Schneider E. H.; Seifert R. *Pharmacol. Ther.* **2010**, 128, 387-418.
71. Seifert R.; Lee T. W.; Lam V. T.; Kobilka B. K. *Eur. J. Biochem.* **1998**, 255, 369-382.
72. Straßer A.; Striegl B.; Wittmann H.-J.; Seifert R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, 324, 60-71.
73. Rosethorne E. M.; Charlton S. *J. Mol. Pharmacol.* **2011**, 79, 749-757.
74. Seifert R.; Schneider E. H.; Dove S.; Brunskole I.; Neumann D.; Strasser A.; Buschauer A. *Mol. Pharmacol.* **2011**, 79, 631-638.
75. Schneider E. H.; Strasser A.; Thurmond R. L.; Seifert R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, 334, 513-521.
76. Ling P.; Ngu K.; Nguyen S.; Thrumond R. L.; Edwards J. P.; Karlsson L.; Fung-Leung W. P. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, 142, 161-171.
77. Barnard R.; Barnard A.; Salmon G.; Liu W.; Sreckovich S. *Cytometry A* **2008**, 73, 299-304.
78. Schnell D.; Brunskole I.; Ladova K.; Schneider E. H.; Igel P.; Dove S.; Buschauer A.; Seifert R. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2011**, 383, 457-470.
79. Wittmann H.-J.; Seifert R.; Straßer A. *Mol. Pharmacol.* **2009**, 76, 25-37.
80. Venable J. D.; Cai H.; Chai W.; Dvorak C. A.; Grice C. A.; Jablonowski J. A.; Shah C. R.; Kwok A. K.; Ly K. S.; Pio B.; Wei J.; Pragnya J. D.; Jiang W.; Nguyen S.; Ling P.; Wilson S. J.; Dunford P. J.; Thurmond R. L.; Lovenberg T. W.; Karlsson L.; Carruthers N. I.; Edwards J. P. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 8289-8298.
81. Thurmond R. L. WO2004/021999 A2
82. Strasser A.; Wittmann H.-J.; Kunze M.; Elz S.; Seifert R. *Mol. Pharmacol.* **2009**, 75, 454-465.
83. Kaumann A. J.; Marano M. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1982**, 318, 192-201.
84. Schulze F. R., Buschauer A., Schunack W. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1998**, 6, 177-186.
85. Heaney H.; Papageorgiou G.; Wilkins R. F. *Tetrahedron* **1997**, 53, 2941-2958.
86. Kim S. H. and Moreau J.-P. United States Patent, Patent Number: 4,495,193, **1985**.
87. Zhang W.; Sun T.-T.; Li Y.-X. *J. Pept. Sci.* **2009**, 15, 366-368.

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-Gruppe
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BOP	(Benzotriazol-1-yloxy)-tris-(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
Cbz-Schutzgruppe	Benzylloxycarbonyl-Schutzgruppe
CI-MS	Chemische Ionisation - Massenspektrometrie
COSY	correlation spectroscopy (englisch)
DAG	1,2-Diacylglycerol
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEPBT	3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3 <i>H</i>)-on
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPH	Diphenhydramin
EE	Ethylacetat
ES-MS	Elektrospray-Ionisation - Massenspektrometrie
GDP	Guanosindiphosphat
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor
GTP	Guanosintriphosphat
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
LM	Lösungsmittel
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MEP	Mepyramin
MW	Mikrowelle
NEt ₃	Triethylamin
NOE	Kern-Overhauser-Effekt
NOESY	nuclear overhauser enhancement spectroscopy (englisch)
org.	organisch
P	P-Wert, Signifikanzwert
PE	Petrolether
rpm	Umdrehungen pro Minute

RT	Raumtemperatur
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran

7.2 Posterpräsentationen und Publikationen

Posterpräsentationen:

Joint meeting of the Austrian and German pharmaceutical societies in Innsbruck,
20. - 23.9.2011

Mepyramine-JNJ7777120-hybrid compounds show high affinity to hH₁R, but low affinity to hH₄R

EFMC-ISMC 2010, XXIst International Symposium on Medicinal Chemistry in Brüssel,
5.9. - 9.9.2010

5th Summer School Medicinal Chemistry in Regensburg, 13.9. - 15.9.2010

Synthesis, pharmacological characterization and molecular modeling of dual histamine H₁-/H₄-receptor antagonists

4th Summer School Medicinal Chemistry in Regensburg, 29.9. - 1.10.2008:

Synthesis and in-vitro pharmacology of new histamine H₁-receptor agonists

Publikation:

Mepyramine-JNJ7777120-hybrid compounds show high affinity to hH₁R, but low affinity to hH₄R

Eva Wagner, Hans-Joachim Wittmann, Sigurd Elz und Andrea Straßer

Bioorg. Med. Chem. Lett. **2011**, 21, 6274-6280.

7.3 Lebenslauf

Eva Maria Wagner
Adalbert-Stifter-Str. 5
93051 Regensburg

geb. am 23.10.1981 in Garmisch-Partenkirchen
ledig

Studium

11/2007 – 10/2011	Doktorarbeit: <i>Synthese und pharmakologische Charakterisierung dualer Histamin-H₁-/H₄-Rezeptorliganden</i> Chemiestudium an der Universität Regensburg
10/2002 – 09/2007 01/2007 – 09/2007	Diplomarbeit: <i>Synthese neuer Histamin-H₁-Rezeptoragonisten und deren biologische Prüfung am Meerschweinchen-Ileum</i> Diplomprüfungen
12/2006	Abschluss Basisstudium
09/2005 – 09/2007	Beginn des Vertiefungsstudiengangs Medizinische Chemie Hauptfach: Organische Chemie 1. Nebenfach: Medizinische Chemie 2. Nebenfach: Bioanalytische Chemie

Praktika, berufliche Tätigkeiten

05/2009 – 08/2009	Forschungsaufenthalt bei Prof. Dr. Wipf an der University of Pittsburgh
04/2007 – 09/2007	studentische Hilfskraft in der Teilbibliothek Biologie, Universität Regensburg
08/2005 – 09/2005	Praktikum bei WTW (Wissenschaftlich-technische Werkstätten), Weilheim

Schule, Orientierungsjahr

09/1992 – 06/2001	Staffelsee-Gymnasium Murnau
11/2001 – 03/2002	Südostasienreise

Regensburg, 19.10.2011

Eva Wagner

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe des Literaturzitats gekennzeichnet.

Regensburg,
